

วารสาร
เทคนิคการแพทย์
เชียงใหม่



BULLETIN OF CHIANG MAI ASSOCIATED MEDICAL SCIENCES

ปีที่ 46 ฉบับที่ 2 พฤษภาคม 2556

ISSN : 0125-5347

เทคนิคการแพทย์ กายภาพบำบัด กิจกรรมบำบัด รังสีเทคนิค

Explore new dimensions in flow cytometry

PCL HOLDING
www.pclholding.com

Flow Cytometer

Cytomich™ FC500



CyAn™ ADP



Gallios



MoFlo™ XDP Experience Xtremes



Cell Preparation

TQ-Prep

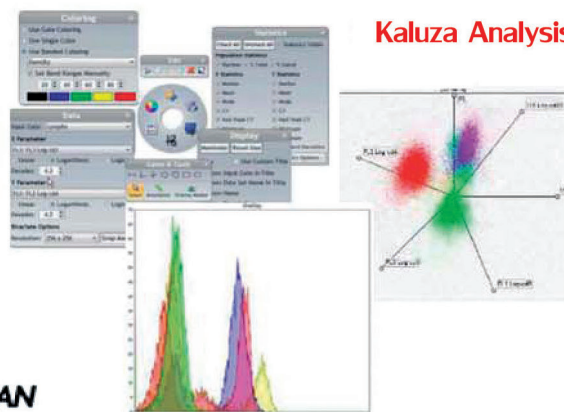


FP1000



The future of flow cytometry software

Kaluza Analysis Software



**BECKMAN
COULTER.**



บริษัท พี ซี แอล โฮลดิ้ง จำกัด

224/16-17 ซอยจรัสกลาง ถนนสีรินธร เขตบางพลัด
กรุงเทพมหานคร 10700 โทร. (662) 881-0650-57
แฟกซ์ : (662) 881-0989

Where you can find a complete diagnostic solutions.





สารบัญ

วารสารเทคโนโลยีการแพทย์เชียงใหม่

นิพนธ์ปริทรรศน์

- 81 เทคโนโลยีการสร้างภาพทางการแพทย์PET-MR-เอ็มอาร์
PET-MR medical imaging technology
ณจุปนกรณ์ เดชสุภา

นิพนธ์ต้นฉบับ

- 107 การประยุกต์ใช้เทคนิค 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
กรรณภรณ์ อินทชัย ชัญญานุช ภูทิม วัชรระ กสิณฤกษ์
ชัชชัย ตะยาภิวัฒนา บดินทร์ บุตรอินทร์
- 122 ผลของการออกกำลังกายด้วยเกมเต้นของเครื่องนินเทนโดวีต่อดัชนีมวลกายและระบบหัวใจและหลอดเลือดในคนอ้วนเพศหญิง
The effect of exercise with dance game of Nintendo Wii toward body mass index
and cardiovascular system in obese women
ศรายุทธ มงคล ประมุข พงษ์สุวรรณ พณรุช เมธานนท์
รัฐพล นุ่มหอม Tribikram Thapa สันติ พุฒิพิริยะ
- 131 การเคลื่อนที่ของลำตัวขณะทดสอบลุกจากนั่งขึ้นยืนในผู้ใหญ่ตอนต้น
Research Article Trunk Displacement during the Sit-to-Stand Tests in Young Adults
สมรรถชัย จำนงค์กิจ เอกกราช วงษ์ศายะ สายนที ปราบธนาผล

- 141 บทคัดย่อ

- 187 แนะนำผู้เขียน

- 189 ใบสมัครสมาชิก



BULLETIN OF CHIANG MAI ASSOCIATED MEDICAL SCIENCES

Objective: Bulletin of Chiang Mai Associated Medical Sciences (Bull Chiang Mai Assoc Med Sci) is a tertially 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	Kasinrer	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. Raweeewan	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.	Raweeewan	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	Muttarak, M.D.	Faculty of Medicine, Chiang Mai University
Professor	Dr. Tanongkiat	Kiatsiroat	Faculty of Engineering, Chiang Mai University

Published: Tertiary (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 outsiders.

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

วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่

วัตถุประสงค์

วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ (ISSN 0125-5347) จัดทำขึ้นเพื่อเผยแพร่ผลงานทางวิชาการในสาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ รังสีเทคนิค กิจกรรมบำบัด และกายภาพบำบัด ภายใต้ระบบและกระบวนการตรวจประเมินคุณภาพของบทความทางวิชาการด้วยผู้ทรงคุณวุฒิ ผู้มีความเชี่ยวชาญในสาขานั้น

เจ้าของ

คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

บรรณาธิการ

รองศาสตราจารย์ ดร. ปรียานาถ วงศ์จันทร์

รองบรรณาธิการ

รองศาสตราจารย์ ดร. ธนศักดิ์ ตาตุ

กองบรรณาธิการ

สาขาวิชาเทคนิคการแพทย์

ศาสตราจารย์	ดร. วัชระ	กลินฤกษ์
รองศาสตราจารย์	ดร. ชัชชัย	ตะยาภิวัฒนา
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ดร. รัชดา	เครสซี่
อาจารย์ ดร.	พูนทรัพย์	ผลาขจรศักดิ์
ศาสตราจารย์เกียรติคุณ	ดร. นพ. ปัญจะ	กุลพงษ์
ศาสตราจารย์	ดร. นพ. สุทัศน์	ฟูเจริญ
ศาสตราจารย์	ดร. ผาสุก	มหรฆานุเคราะห์
ศาสตราจารย์	นพ. ธาณินทร์	ภูพัฒน์
รองศาสตราจารย์	ดร. ปรัชญา	สมบูรณ์
ศาสตราจารย์	พญ. เลิศลักษณ์	ภูพัฒน์
ศาสตราจารย์	นพ. ธีระ	ศิริสันตะ
ศาสตราจารย์	ดร. เกศรา	ณ บางช้าง
ศาสตราจารย์	พญ. อรุณี	เจตศรีสุภาพ
รองศาสตราจารย์	ดร. สุพรรณ	ฟูเจริญ
รองศาสตราจารย์	กุลณา	ฟูเจริญ
รองศาสตราจารย์	ดร. กาญจนา	เลิศมีมงคลชัย
รองศาสตราจารย์	ดร. ณัฐยา	แซ่ฮ้าง
รองศาสตราจารย์	ดร. กนกวรรณ	แสนไชยสุริยา
ศาสตราจารย์	พญ. นวพรรณ	จารุรักษ์
รองศาสตราจารย์	วารุณี	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
โรงพยาบาลบำรุงราษฎร์ กรุงเทพมหานคร
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สาขาวิชากายภาพบำบัด

ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ทศพร	พิชัยยา
อาจารย์ ดร.	อารยา	ญาณกษา
รองศาสตราจารย์	ดร. จงจินตน์	รัตนากินันท์ชัย
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ดร. ประภาส	โพธิ์ทองเจริญ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ดร. สมพร	สังขรัตน์
รองศาสตราจารย์	ดร. รุ่งทิพา	วัจฉลลลลิต
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ดร. ประวิตร	เจนววรรณกุล
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ดร. รสสิยา	กัลยาณพจน์พร
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ดร. กานดา	ชัยภิญโญ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ดร. รัมภา	บุญสินสุข
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ดร. วรธนะ	ชลาชนเดชะ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ดร. ระวีวรรณ	เล็กสกุลไชย
อาจารย์ ดร.	ศุภลักษณ์	เข็มทอง
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ดร. พรวิชนี	วิระพงษ์

คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
คณะกายภาพบำบัด มหาวิทยาลัยมหิดล
คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
คณะกายภาพบำบัด มหาวิทยาลัยมหิดล
คณะกายภาพบำบัด มหาวิทยาลัยมหิดล
คณะกายภาพบำบัด มหาวิทยาลัยมหิดล
คณะกายภาพบำบัด มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

สาขาวิชากิจกรรมบำบัด

รองศาสตราจารย์	ดร. วรณิภา	บุญระยอง	คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
รองศาสตราจารย์	ดร. เมธิศา	พงษ์ศักดิ์ศรี	คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ดร. สุภาพร	ชินชัย	คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ดร. พิรยา	มันเชตวิทย์	คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
อาจารย์ ดร.	สรินยา	ศรีเพชรารุณ	คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
รองศาสตราจารย์	นพ. เทอดชัย	ชีวะเกตุ	มูลนิธิขาเทียมในสมเด็จพระศรีนครินทราบรมราชชนนี

สาขาวิชารังสีเทคนิค

รองศาสตราจารย์	ระวีวรรณ	กันไพเราะ	คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
รองศาสตราจารย์	ดร. สำรี	มันเชตต์กรัน	คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ดร. สุชาติ	โกทันย์	คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	จิตติพร	เขียนประสิทธิ์	คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
อาจารย์ ดร.	สุวิทย์	แซ่ไคว้	คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ศาสตราจารย์	นพ. เฉลียว	ปิยะชน	คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ศาสตราจารย์	พญ. มาลัย	มุตตารักษ์	คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ศาสตราจารย์	ดร. ทนงเกียรติ	เกียรติศิริโรจน์	คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

กำหนดออก

ราย 4 เดือน (มกราคม พฤษภาคม กันยายน)

ผู้จัดการ

นางจริยา กาทอง

เหรียญก

นางสาวอังศุมาลี ศรีทิเรื่อน

ฝ่ายจัดการและฝ่ายทะเบียน

นายธนกร การลักษณี

นายมนต์ มะโนคำ

สารสนเทศ

นายอนุรักษ์ บุญปัน

นายรูปพล คำน้อย

ดำเนินงานจัดทำโดย

คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
เลขที่ 110 ถนนอินทวโรรส ตำบลสุเทพ อำเภอเมือง
จังหวัดเชียงใหม่ 50200
โทรศัพท์ 053 945072 โทรสาร 053 946042
Homepage [http:// www.ams.cmu.ac.th](http://www.ams.cmu.ac.th)

จัดพิมพ์โดย : ไอเด็ม กรุ๊ป 106 ซ.7 ต.ศรีภูมิ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ โทร. 053216962 idem_groups@hotmail.com



บรรณาธิการ

ช่วงฤดูร้อนที่ผ่านมาอากาศร้อนจัดมากในทุกภาคของประเทศไทย เป็นการตอกย้ำให้เราว่าละเลยการดูแลสุขภาพสิ่งแวดล้อม แต่ยังไม่สายเกินไปนะคะที่ทุกท่านจะช่วยกันคนละไม้คนละมือ ทำอะไรก็ได้ที่เรามีศักยภาพจะทำได้ อย่ามัวผัดวันประกันพรุ่ง ร่วมกันรักษาสิ่งแวดล้อมไว้ให้ลูกหลานในวันข้างหน้า หากมองไปรอบ ๆ ตัวก็จะเห็นว่าหลายองค์กร หลายหน่วยงานมีกิจกรรมรณรงค์และสร้างสำนึกรักษาสิ่งแวดล้อมกันอย่างเข้มแข็ง ดิฉันเชื่อว่าคนไทยทำได้หากคิดจะทำ ช่วยกันนะคะ

จากการเข้าร่วมสัมมนาแนวทางการจัดทำวารสารวิชาการให้ทันสมัย และเข้าสู่สากล และด้วยนโยบายการประหยัดทรัพยากรและพลังงานเพื่อรักษาสิ่งแวดล้อม วารสารวิชาการด้านการแพทย์มีความเห็นพ้องต้องกันในการปรับปรุงสถานภาพและคุณภาพของวารสาร ด้วยการใช้ระบบอิเล็กทรอนิกส์ในการผลิต ทั้งนี้ หมายรวมในทุกกระบวนการตั้งแต่การรับพิจารณาบทความ การประเมินบทความ และการจัดทำในรูปแบบของวารสารอิเล็กทรอนิกส์ ยกเลิกกระบวนการจัดพิมพ์เอกสาร แต่สามารถเข้าสู่สืบค้นและสั่งพิมพ์ได้ทางเว็บไซต์ ด้วยรูปแบบนี้จะสามารถพัฒนาระบบวารสารวิชาการด้านการแพทย์ของไทยให้เข้าสู่มาตรฐานสากล วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ จึงมีแนวทางตอบสนองนโยบายดังกล่าวข้างต้น โดยจะเริ่มดำเนินการวารสารอิเล็กทรอนิกส์ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2557 เป็นต้นไป สมาชิกทุกท่านและผู้สนใจสามารถเข้าสู่สืบค้นและดาวน์โหลดบทความวิชาการได้ตลอดเวลาไม่เสียค่าใช้จ่าย แต่อย่างใด ความคืบหน้าจะเรียนให้ทุกท่านทราบเป็นระยะ

สำหรับฉบับพฤษภาคมนี้ มีบทความที่น่าสนใจจากหลากหลายสาขาวิชาทั้งด้านกายภาพบำบัด รังสีเทคนิคและเทคนิคการแพทย์ รวมถึงการนำเสนอความก้าวหน้าทางวิชาการของเทคนิคการแพทย์ในรูปแบบของบทความย่อภาคินิพนธ์ของนักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ ซึ่งนับว่ามีการพัฒนาก้าวหน้าเป็นอย่างมาก

พบกันใหม่ฉบับหน้า สวัสดีค่ะ

รองศาสตราจารย์ ดร.ปริยานาถ วงศ์จันทร์
บรรณาธิการ

ข้อมูล ทรัพย์สิน 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

นิพนธ์ปริทรรศน์

เทคโนโลยีการสร้างภาพทางการแพทย์เพท-เอ็มอาร์

ณัฐปรณ์ เดชสุภา*

ศูนย์วิจัยเพื่อความเป็นเลิศด้านการสร้างภาพระดับโมเลกุล
ภาควิชารังสีเทคนิค คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

* ผู้รับผิดชอบบทความ (Email: Nathupakorn@cemithai.com)

บทนำ

เทคโนโลยีการสร้างภาพทางการแพทย์ถูกผสมเกิดขึ้นเนื่องจากข้อจำกัดของเทคโนโลยีการสร้างภาพทางการแพทย์ที่ไม่สามารถให้ข้อมูลที่สมบูรณ์เพียงพอสำหรับการวินิจฉัยโรคได้ในคราวเดียว จึงจำเป็นต้องมีการได้มาของข้อมูลเพิ่มเติมจากเทคนิคการสร้างภาพอื่นประกอบการวินิจฉัย ประสิทธิภาพในการตรวจวินิจฉัยโรคของแพทย์นั้นจะสัมพันธ์กับข้อมูลปรากฏของผู้ป่วย การมีข้อมูลที่ถูกต้องและมีรายละเอียดมากเพียงพอจะเป็นประโยชน์สำหรับแพทย์คือจะสามารถวินิจฉัยโรคได้อย่างถูกต้องแม่นยำและส่งผลดีต่อสุขภาพของผู้ป่วย ในที่สุด มีแนวคิดพื้นฐานสองข้อในการพัฒนาเทคโนโลยีถูกผสมคือการต้องการรายละเอียดของข้อมูลทางการแพทย์ที่เป็นประโยชน์ต่อผู้ป่วยให้มากที่สุด และเพื่อเพิ่มขีดความสามารถและเสริมสมรรถนะของเทคโนโลยีการตรวจวินิจฉัยให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น การสร้างภาพเพท-เอ็มอาร์เป็นเทคโนโลยีถูกผสมระหว่างเทคโนโลยีการสร้างภาพเพทและการสร้างภาพเอ็มอาร์ไอ จากข้อดีของเทคนิคเอ็มอาร์ไอที่สามารถให้ข้อมูลด้านโครงสร้างเนื้อเยื่ออ่อนนุ่มและไม่มีการให้รังสีก่อไอออนซึ่งเหนือกว่าซีที และการให้ภาพที่มีรายละเอียดสูงและความถูกต้องในระยะเวลาอันสั้น ร่วมกับข้อดีของเพทที่สามารถให้ข้อมูลด้านการสร้างภาพการทำงานในระดับเซลล์และระดับโมเลกุลทั้งในสภาวะปกติและสภาวะเป็นโรคได้ดีมีความไวและความจำเพาะสูง การนำเทคโนโลยีทั้งสองมารวมไว้ให้เป็นเทคโนโลยีเพท-เอ็มอาร์ทำให้ขีดความสามารถสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับเทคโนโลยีเพทหรือเอ็มอาร์ไอ ระบบเพท-เอ็มอาร์จึงเป็นเทคโนโลยีที่ท้าทาย และเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการใช้เป็นเครื่องมือสำหรับศึกษาวิจัยการตรวจวินิจฉัยโรค การวางแผนการรักษาและติดตามการรักษาโรคในสิ่งมีชีวิตและการพัฒนายา บทความนี้จะได้นำเสนอการพัฒนาเทคโนโลยีเพท-เอ็มอาร์ หลักการพื้นฐานที่เกี่ยวข้องตลอดจนการประยุกต์ใช้ในทางคลินิก

วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2556; 46(2): 81-106

เทคโนโลยีการสร้างภาพทางการแพทย์เพท-เอ็มอาร์

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

probes) ร่วมในกระบวนการสร้างภาพ การสร้างภาพระดับโมเลกุลจัดเป็นเทคนิคแบบไม่ทำลายและไม่ก่ออันตรายกับสิ่งตรวจวัด (non-destructive and non-invasive technique) สามารถศึกษาการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นภายในสิ่งมีชีวิต เช่น สัตว์ทดลองหรือมนุษย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพและติดตามได้อย่างต่อเนื่องในขณะที่ยังคงมีชีวิต¹ การสร้างภาพระดับโมเลกุลสามารถแบ่งได้เป็น 6 กลุ่มหลักโดยอาศัยความ

แตกต่างด้านพลังงานและกระบวนการเกิดได้แก่ ซีทีหรือเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ เอ็มอาร์ไอ สเปค เพท อัลตราซาวด์ และการสร้างภาพด้วยระบบออปติค อย่างไรก็ตามในแต่ละเทคโนโลยีของการสร้างภาพย่อมมีข้อดีและข้อจำกัดแตกต่างกัน¹⁻⁶ ในการให้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อการตรวจวินิจฉัย การประเมิน รักษา และติดตามการรักษาโรค (ดังตารางที่ 1) ตัวอย่างเช่น ซีทีให้ข้อมูลด้านโครงสร้างของร่างกายได้ดีแต่ผู้ป่วยมีความเสี่ยงในการได้รับอันตรายจากรังสี⁵ เอ็มอาร์ไอให้ข้อมูลด้านโครงสร้างได้ดีเช่นกันและโดยเฉพาะเนื้อเยื่ออ่อนนุ่ม^{7,8} เช่น กล้ามเนื้อ เนื้อเยื่อสมองไขกระดูก เป็นต้น แต่ผู้ป่วยต้องเข้าอุโมงค์ที่มีเสียงดังรบกวน ส่วนเพทให้ข้อมูลด้านเมตาบอลิซึมและการทำงานในระดับเซลล์ได้ดีกว่าเทคนิคอื่นแต่ต้องการไซโคลตรอนหรือเจเนอเรเตอร์สำหรับผลิตเรดิโอนิวไคลด์^{2, 5} ในการเพิ่มขีดความสามารถในการตรวจวินิจฉัย การติดตาม และการรักษาโรคให้มีประสิทธิภาพที่สูงขึ้นได้มีการพัฒนาเทคโนโลยีการสร้างภาพลูกผสม (hybrid technology) หรือเป็นแบบหลายเทคโนโลยี (multimodality) ให้มีการชดเชยข้อด้อยและเพิ่มจุดเด่นของแต่ละเทคโนโลยีรวมไว้ในเครื่องเดียวกัน⁸ ตัวอย่างเช่น ในปลายทศวรรษ 1980 เทคโนโลยีการสร้างภาพสเปค-ซีทีเป็นเทคโนโลยีลูกผสมแบบแรกที่เกิดขึ้น^{9,10} หลังจากนั้นปี ค.ศ. 1998 เพท-ซีทีก็ถูกสร้างขึ้น^{11,12} และเมื่อเดือนพฤษภาคม ค.ศ. 2001 เพท-ซีทีเครื่องแรกถูกติดตั้งเพื่อใช้ในทางคลินิกที่ศูนย์การแพทย์ มหาวิทยาลัยพิตส์เบิร์ก (The University of Pittsburgh Medical Center) และปี ค.ศ. 2011 เทคโนโลยีเพท-เอ็มอาร์ไอก็ได้ถูกสร้างขึ้นและนำมาใช้ในทางคลินิก นอกจากการพัฒนาด้านเครื่องมือแล้ว ได้มีการพัฒนาโมเลกุลสร้างภาพ (molecular imaging probes) ที่มีความไวและจำเพาะต่อเป้าหมายควบคู่กับเทคโนโลยีการสร้างภาพระดับโมเลกุลในแต่ละชนิดคู่ขนานกันไป

นิยามและการพัฒนาการของเทคโนโลยีเพท-เอ็มอาร์

เทคโนโลยีการสร้างภาพทางการแพทย์เพท-เอ็มอาร์ (PET-MR medical imaging technology) เป็นเทคโนโลยีลูกผสม ที่รวมเทคโนโลยีการสร้างภาพเพทและเทคโนโลยีการสร้างภาพด้วยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าหรือเอ็มอาร์ไอเข้าด้วยกัน เพื่อเพิ่มขีดความสามารถและเสริมสมรรถนะของเทคโนโลยีให้ดียิ่งขึ้นและเพื่อให้ได้รายละเอียดของข้อมูลทางการแพทย์ที่เป็นประโยชน์ต่อผู้ป่วยให้มากที่สุด ด้วยข้อดีของเทคนิคเอ็มอาร์ไอที่สามารถให้ข้อมูลด้านโครงสร้าง เนื้อเยื่ออ่อนนุ่มและไม่มีการให้รังสีก่อไอออนซึ่งเหนือกว่าซีที และการให้ภาพที่มีรายละเอียดสูงและความถูกต้องในระยะเวลาล

สั้นๆ (high spatial and temporal resolution) ร่วมกับข้อดีของเพทที่สามารถให้ข้อมูลด้านการสร้างภาพการทำงานในระดับเซลล์และระดับโมเลกุลได้ดีมีความไวและความจำเพาะสูง (ดูตารางที่ 1 และรูปที่ 1 ประกอบ) การนำเทคโนโลยีทั้งสองมารวมไว้ให้เป็นเทคโนโลยีเพท-เอ็มอาร์ทำให้ขีดความสามารถด้านต่างๆ สูงขึ้นหรือเทียบเท่าเมื่อเปรียบเทียบกับเทคโนโลยีเพทหรือเอ็มอาร์ไอ^{8, 9} (ดูรูปที่ 1) เพท-เอ็มอาร์จึงเป็นเทคโนโลยีที่ทำนาย น่าสนใจและเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการใช้เป็นเครื่องมือสำหรับศึกษาวิจัย การตรวจวินิจฉัยโรค การรักษาและติดตามการรักษาโรคในสิ่งมีชีวิต และการพัฒนายา เป็นต้น

การพัฒนาระบบเพท-เอ็มอาร์ในระยะต้นมีความกังวลอยู่ 3 เรื่อง ได้แก่

1. สนามแม่เหล็กของเครื่องเอ็ม อาร์ไอ รบกวนการทำงานของหัววัดในเครื่องเพท
2. ผลกระทบที่เกิดขึ้นขณะเครื่องเอ็ม อาร์ไอทำงาน เช่น การเกิด eddy current การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิ เป็นต้น
3. หัววัดในเครื่องเพท (โดยทั่วไปเป็นแบบหัววัดชนิดเรืองแสง และประกบติดกับหลอด พีเอ็ม) และอิเล็กทรอนิกส์ที่ใช้ในเครื่องมีความไวสูงต่อสนามแม่เหล็ก ทำให้เกิดคลื่นวิทยุซึ่งไปรบกวนการทำงานของเครื่องเอ็มอาร์ไอ¹³ ทำอย่างไรให้สามารถสร้างภาพเพทและเอ็มอาร์ไอได้พร้อมกัน (simultaneous PET-MR) สิ่งเหล่านี้ได้เป็นความท้าทายและปัจจุบันได้ถูกแก้ไขเป็นอย่างดี¹⁴ แนวคิดการรวมระบบเพทเข้ากับเอ็มอาร์ไอไม่ใช่สิ่งใหม่ โดยปี ค.ศ. 1997 Simon Cherry และ Paul Marsden ได้นำระบบเพทและเอ็มอาร์ไอมาใช้ในการศึกษาตำแหน่งและการกระจายของสารรังสีในสัตว์ทดลอง และได้จัดประกายให้มีการพัฒนางานวิจัยระบบเพท-เอ็มอาร์เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง มีความพยายามที่จะรวมสนามแม่เหล็กและตัวตรวจวัด PMT ไว้ในระบบเดียวกัน ปัจจุบันได้ใช้ไดโอดรับแสงที่ไม่มีความไวต่อสนามแม่เหล็กเป็นตัวตรวจวัดสำหรับเพท เครื่องต้นแบบที่ได้พัฒนาขึ้นโดยบริษัทซีเมนส์ก่อนหน้านี้ได้ออกแบบเพื่อใช้สำหรับสัตว์ทดลอง¹⁵ และใช้สำหรับการสร้างภาพสมองเท่านั้น ส่วนบริษัทฟิลิปส์เป็นบริษัทแรกที่พัฒนาเพท-เอ็มอาร์ไอสำหรับการสร้างภาพทั้งร่างกายโดยเครื่องเพทและเครื่องเอ็มอาร์ไอยังคงแยกกันอยู่ เพท-เอ็มอาร์เครื่องแรกของโลกติดตั้งที่โรงพยาบาลเมาท์เซนาเย (Mount Sinai University) นิวยอร์ก ประเทศอเมริกา เครื่องที่สองติดตั้งที่ยุโรป ณ โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยเจนีวา (The University Hospitals of Geneva, HUG) ประเทศสวิตเซอร์แลนด์ เพท-เอ็มอาร์ช่วยทำให้

Table 1 Disadvantages and advantages of different clinical molecular imaging modalities⁴⁻⁸

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

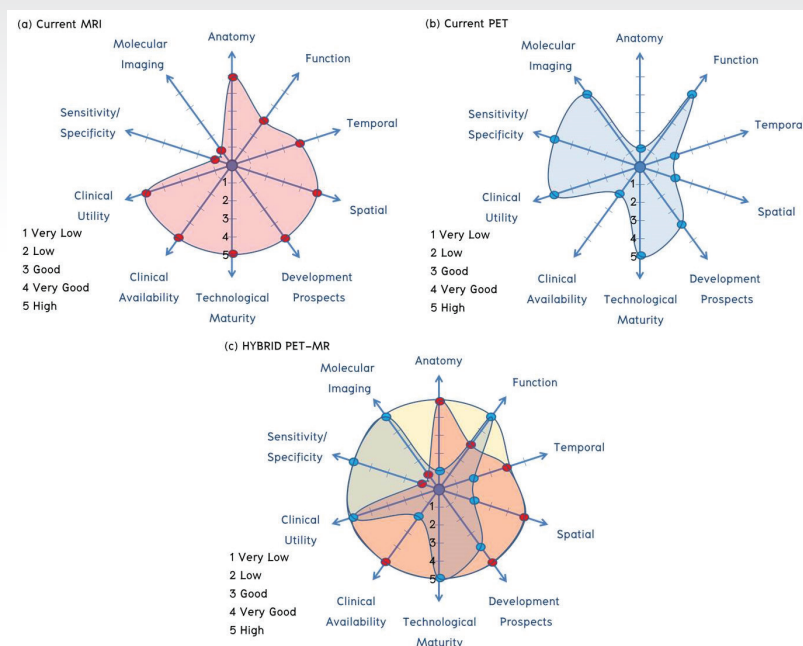


Figure 1 Diagrams represent an overview of the strengths of (a) MRI, (b) PET and (c) hybrid PET-MR. Starting at the origin, the further one traverses along a given axis (1 to 5), the better that particular attribute is fulfilled. MRI can provide superior tissue structure, spatial resolution and the technology 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.⁸

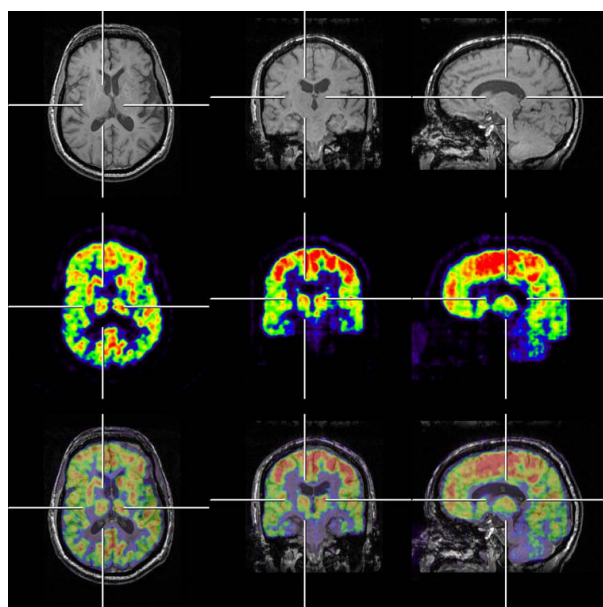


Figure 2 PET-MR imaging with BrainPET system in a volunteer. Three representative orthogonal slices demonstrate (upper row) the alignment of anatomic (3-D T1-weighted MRI), (middle row) metabolic images (^{18}F -FDG-PET), and (lower row) fusion imaged PET-MR.¹⁹

เกิดความเข้าใจธรรมชาติและการเกิดของโรคที่ซับซ้อนได้ดียิ่งขึ้น ไม่ว่าจะเป็นมะเร็งชนิดศีรษะและคอ มะเร็งเต้านม มะเร็งต่อมลูกหมากและการติดตามการรักษา นอกจากการใช้ศึกษาวิจัยโรคมะเร็งแล้ว เพท-เอ็มอาร์ยังใช้สำหรับโรคทางด้านระบบประสาท โรคหัวใจ การติดเชื้อและการอักเสบ

เพท-เอ็มอาร์สำหรับคลินิกได้ออกสู่ตลาดอเมริกาครั้งแรกเมื่อเดือนมิถุนายน ค.ศ. 2011 โดยบริษัทซีเมนส์เฮลท์แคร์เป็นบริษัทแรกที่ผลิตเครื่องเพท-เอ็มอาร์ รุ่น Biograph mMR (molecular MR) ได้ผ่านการอนุมัติจาก FDA ว่ามีความปลอดภัยและใช้กับมนุษย์ได้ เครื่องเพท-เอ็มอาร์ไอเครื่องแรกนี้เป็นการรวมเอาเทคโนโลยีเพทและเอ็มอาร์ไอความแรง 3

เทสลาไว้ในเครื่องเดียวกันซึ่งสามารถสร้างภาพโครงสร้างและการทำงานรวมทั้งเมตาบอลิซึมของอวัยวะได้ในภาพเดียวกันโดยไม่จำเป็นต้องเคลื่อนย้ายผู้ป่วยเข้าออกระหว่างเครื่องเพทสแกนและเอ็มอาร์ไอทำให้ลดปัญหาเรื่องตำแหน่งผู้ป่วยที่ไม่ตรงกันระหว่างเครื่องสแกนทั้งสอง ซึ่งภาพที่ได้มีความถูกต้องใกล้เคียงความเป็นจริงมากที่สุดช่วยให้แพทย์ทราบข้อมูลและทำการตรวจวินิจฉัยได้อย่างมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น¹⁶⁻¹⁸

การพัฒนาระบบเพท-เอ็มอาร์

ในข้อเท็จจริงการผสมผสาน (integration) ระหว่าง

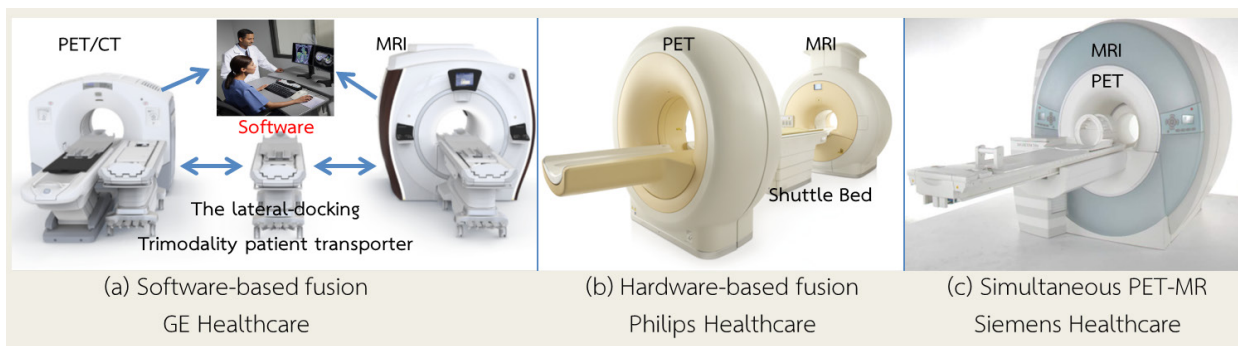


Figure 3 PET-MR systems; (a) software-based fusion²⁰, (b) hardware-based fusion²¹ and (c) fully integrated system.¹⁸

เทคโนโลยีแต่ละชนิดสามารถทำได้โดยการใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์รวมภาพที่ได้ในแต่ละเทคนิคเข้าด้วยกันและโดยการรวมระบบฮาร์ดแวร์ (hardware) ให้เป็นระบบเดียวกัน ตัวอย่างภาพเพท-เอ็มอาร์แสดงดังรูปที่ 2¹⁹ ในการผสมผสานเทคโนโลยีเพทและเอ็มอาร์ไอเข้าด้วยกัน⁹ (ดูรูปที่ 3) สามารถทำได้ 3 วิธีด้วยกันดังนี้

1. การสร้างภาพแยกจากกันอย่างอิสระในแต่ละระบบ (separate imaging) แล้วนำภาพเพทและภาพเอ็มอาร์ไอมาทำการซ้อนทับกันโดยอาศัยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ช่วยวิธีนี้ผู้ป่วยจะถูกสร้างภาพด้วยเครื่องสแกนแต่ละชนิดที่แยกการทำงานกันอย่างอิสระดังนั้นจึงต้องมีการจัดตำแหน่งผู้ป่วยใหม่ในแต่ละครั้งที่ทำการสร้างภาพ ระบบการผสมผสานโดยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ (software-based fusion) นี้หากต้องการสแกนเพียงระบบใดระบบหนึ่งก็สามารถทำได้โดยที่เครื่องมือในแต่ละระบบไม่ส่งผลกระทบต่อการสร้างภาพอีกระบบหนึ่งแต่อย่างใด ระบบนี้เป็นระบบแรกที่ได้มีการผสมผสานเทคโนโลยีเพทและเอ็มอาร์ไอเข้าด้วยกันปัญหาที่พบคือตำแหน่งภาพของผู้ป่วยจากทั้งสองระบบจะไม่ซ้อนทับกันพอดี

การอ่านผลจากภาพซ้อนทับจึงทำได้ลำบากเป็นข้อจำกัดของระบบการผสมผสานแบบนี้รวมทั้งใช้เวลาในการสแกนนาน บริษัทจีอีได้พัฒนาเทคโนโลยีลูกผสมด้วยแนวทางวิธีนี้²⁰

2. การสร้างภาพเป็นลำดับ (sequential imaging หรือ tandem PET-MR) คือการสร้างภาพด้วยเครื่องเอ็มอาร์ไอแล้วต่อด้วยเครื่องเพท (เพท-ซีที) โดยผู้ป่วยจะถูกจัดเตรียมไว้บนเตียงขนส่งผู้ป่วย (shuttle bed) ที่สามารถใช้ได้กับเครื่องสแกนทั้งสอง ผู้ป่วยไม่ต้องลงจากเตียงแต่อย่างใดพอสร้างภาพจากระบบหนึ่งเสร็จก็ย้ายเตียงเข้าสู่การสร้างภาพอีกระบบหนึ่ง เครื่องมือทั้งสองระบบนี้จะตั้งอยู่ไม่ไกลกัน อาจอยู่ในห้องเดียวกัน ห้องติดกัน หรือห้องถัดออกไป การที่ผู้ป่วยไม่ต้องลงจากเตียงและจัดตำแหน่งการถ่ายภาพใหม่ทำให้กำจัดปัญหาตำแหน่งการซ้อนทับภาพออกไป ระบบการผสมผสานนี้จัดเป็นการผสมผสานด้านเครื่องมือ (hardware-fused) บริษัทฟิลิปส์ได้พัฒนาระบบเพท-เอ็มอาร์นี้²¹

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

เครื่องมือและโปรแกรม²¹ มีข้อดีคือสามารถสร้างภาพเพทและเอ็มอาร์ไอได้พร้อมกัน ไม่ต้องมีการเคลื่อนย้ายผู้ป่วยลงจากเตียง ลดปัญหาเรื่องความคลาดเคลื่อนด้านตำแหน่งผู้ป่วยลดระยะเวลาในการสแกนลงเมื่อเทียบกับระบบอื่น และต้องการพื้นที่เพียง 1 ห้อง บริษัทซีเมนส์เป็นบริษัทแรกที่พัฒนาระบบเพท-เอ็มอาร์ไอ¹⁸

ข้อมูลเปรียบเทียบระบบเพท-เอ็มอาร์ระหว่างผู้ผลิตหลัก

บริษัทที่พัฒนาเครื่องมือการสร้างภาพด้วยระบบเพท-เอ็มอาร์สำหรับการประยุกต์ใช้ในทางคลินิกปัจจุบันมีอยู่ 3 บริษัทได้แก่ บริษัทจีอี (GE Healthcare) บริษัทฟิลิปส์ (Philips Healthcare) และบริษัทซีเมนส์ (Siemens Healthcare) โดยมีแนวคิดในการพัฒนาเทคโนโลยีแตกต่างกันดังกล่าวข้างต้น มีรายละเอียดข้อมูลทั่วไป การผ่านการรับรองเพื่อการใช้ทางคลินิก (FDA, CE, TGA) และข้อมูลด้านเทคนิค (NEMA Standards NU 2-2007 test) ของผลิตภัณฑ์^{16-19, 21, 23-27} แสดงดังตารางที่ 2 และ 3

องค์ความรู้สำหรับเทคโนโลยีเพท-เอ็มอาร์

จะเห็นว่าเพท-เอ็มอาร์นั้นเกิดจากสองเทคโนโลยีเพทและเอ็มอาร์ไอ ดังนั้นองค์ความรู้จึงประกอบไปด้วยองค์ความรู้พื้นฐานในแต่ละเทคโนโลยีการสร้างภาพดังกล่าว นอกจากนี้ยังมีความรู้ใหม่ที่เกิดขึ้นตามมา เช่น การแก้ค่าการลดทอนพลังงานโฟตอนด้วยเอ็มอาร์ไอ การพัฒนาสารเภสัชรังสีและสารเปรียบต่างที่ใช้ในการสร้างภาพ และลำดับพัลส์ที่ใช้ในระบบเพท-เอ็มอาร์เป็นต้น องค์ความรู้ดังกล่าวนี้จะได้กล่าวถึงต่อไป

1. หลักการพื้นฐานของระบบเพทและเอ็มอาร์ไอ

1.การสร้างภาพเพท หรือโพซิตรอนอิมิชชันโตโมกราฟี (positron emission tomography; PET) เป็นการสร้างภาพแกมมาโฟตอน (gamma photon) ที่เกิดจากการชนและรวมตัวกันระหว่างอนุภาคโพซิตรอน (β^+ or e^+) กับอิเล็กตรอนของตัวกลางเรียกว่าเกิดปรากฏการณ์แอนนิฮิเลชัน (annihilation) แล้วได้แกมมาโฟตอน 2 ตัวเกิดขึ้นมีพลังงาน 511 กิโลอิเล็กตรอนโวลต์ในทิศทางตรงข้ามกัน²⁸ (รูปที่ 4) อนุภาคโพซิตรอนมาจากการสลายตัวของเรดิโอไอโซโทปที่ไม่เสถียรเช่น ^{18}F , ^{64}Cu และ ^{68}Ga ^{28, 29} (ดูตารางที่ 4) เคลื่อนที่ในตัวกลางด้วยพลังงานจลน์ที่สูงค่าหนึ่งและมีค่าพลังงานลดลงตามระยะทาง เมื่อพลังงานจลน์ลดลงถึงค่าพลังงานเทอร์มัล (thermal energy) จึงเกิดอันตรกิริยากับอิเล็กตรอนของตัวกลางด้วยแรงทางไฟฟ้า (coulomb

interaction) คู่อแกมมาโฟตอนที่เกิดขึ้นและอยู่ในแนวเส้นตอบสนอง (line of response; LOR) จะถูกตรวจวัดโดยชุดตัวตรวจวัดเพท (PET detector module) ที่มีผลึกของสารอนินทรีย์หรือซินทิลเลเตอร์ (scintillator) (ตารางที่ 5) เช่น NaI(Tl), BGO, LSO และ LYSO เป็นต้น³⁰⁻³³ ทำหน้าที่เปลี่ยนพลังงานโฟตอนให้อยู่ในรูปของแสงสว่างเป็นองค์ประกอบและบรรจุจัดเรียงตัวในบล็อก (block detector) แต่ละบล็อกจะนำมาเรียงแถวต่อกันเป็นวงแหวนหลายวง (multiple-rings PET detectors) ด้วยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางต่างกันตามขนาดตัวอย่างที่ต้องการตรวจวัด นอกจากนี้ในชุดตรวจวัดระบบเพทยังมีชุดวงจรสำหรับวัดปริมาณแสงที่มาจากซินทิลเลเตอร์ด้วยโดยตัวตรวจวัดแสง (photodetector) ที่นิยมใช้ได้แก่ PMT, APD และ SiPM ตำแหน่งการเกิดแอนนิฮิเลชันและสัญญาณแกมมาโฟตอนที่ชนกับซินทิลเลเตอร์ในแนวเส้นตอบสนองเดียวกัน ในช่วงเวลาเดียวกัน (coincidence time) จะถูกสร้างเป็นภาพเพทตามวิธีการสร้างภาพทางเวชศาสตร์นิวเคลียร์มาตรฐานแบบ 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)^{28, 34} เทคโนโลยีเพทปัจจุบัน คือ TOF (time of flight) มีความไวในการบอกตำแหน่งของการเกิดแอนนิฮิเลชันได้เร็วและแม่นยำยิ่งขึ้น โดยจะมีหน้าต่างเวลา (coincidence timing window) ของการนับวัดคู่อแกมมาโฟตอนแท้จริงที่ต่ำกว่า 12 นาโนวินาที โดยที่บริษัทผู้ผลิตระบบเพท-ซีทีต่างๆ จะพัฒนาขีดความสามารถในการวัดคู่อแกมมาโฟตอนแท้จริงได้ความไวที่แตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับผลึกอนินทรีย์ที่ใช้³⁵ โดยทางบริษัทฟิลิปส์ได้พัฒนาเทคโนโลยี “Astonish TF time of flight technology” ในระบบเพทที่สามารถวัดคู่อแกมมาโฟตอนได้เร็วสุดถึง 495 พิโควินาที³⁶

2.การสร้างภาพเอ็มอาร์ไอ (magnetic resonance imaging; MRI) ในทางคลินิกเป็นการสร้างภาพโปรตอนที่เป็นองค์ประกอบของสารชีวโมเลกุล น้ำและเนื้อเยื่อของร่างกายภายใต้สนามแม่เหล็กที่มีความแรงคงที่ (B_0 ; 1.5 หรือ 3.0 เทสลา) โดยอาศัยหลักการที่นิวไคลด์ที่มีเลขอะตอมเป็นเลขคี่ เช่น ^1H , ^{13}C , ^{15}O , ^{19}F , ^{23}Na และ ^{31}P เป็นต้น นิวเคลียสเหล่านี้จะแสดงคุณสมบัติทางแม่เหล็กเรียกว่านิวเคลียร์แมกเนติกส์โมเมนต์ (μ) เมื่ออยู่ภายใต้สนามแม่เหล็กหลักคงที่ จะเกิดการสั่นควงด้วยความถี่ลาร์มอร์ (Larmor frequency: $\omega_0 = \gamma \cdot B_0$, เมกกะเฮิรต) โดยที่นิวไคลด์แต่ละชนิดดังกล่าวจะมีสัดส่วนการสั่นควงต่อสนาม

Table 2 A comparison of PET-MR system from major vendors^{16-18, 21, 23-24}

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 ³)	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	Yes -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 Conformance European Marking; *** TGA is Therapeutic Goods Administration.

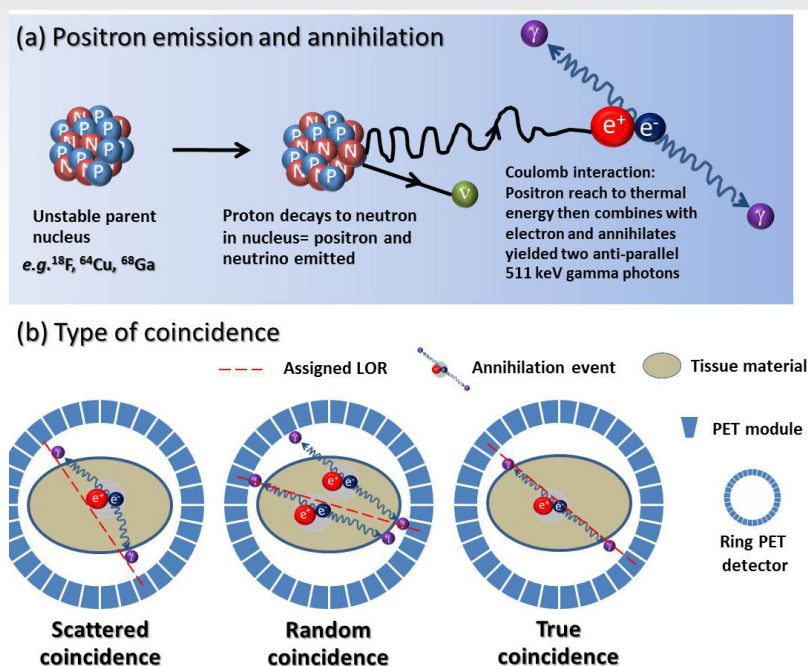


Figure 4 Principle of positron emission tomography; (a) positron emission and annihilation, and (b) type of coincidence.

Table 3 A comparison technical information of commercially PET-MR systems²⁵⁻²⁷

	Biograph mMR Siemens' technologies	Philips Ingenuity TF PET/MR Acheiva3.0T X-series Philips	GE Healthcare
MRI module			
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
PET Module			
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 mmx 4 mm x 20 mm)	LYSO (4 mmx 4 mm x 22 mm)	LYSO (4.2mmx6.2 mmx30 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 ⁻¹	88.5 kcps at 13.7 kBq.mL ⁻¹ , 41 kcps at 9 kBq.mL ⁻¹ , 16 kcps at 5.8 kBq.mL ⁻¹	139.1 kcps at 29.0 kBq.mL ⁻¹ (at center of bore)
Spatial resolution (FWHM, mm):			
Transverse (1 cm)	4.3	4.7	4.70
Axial (1 cm)	4.3	4.6	4.74
Radial (10 cm)	5.2	5.0	5.06
Axial (10 cm)	6.6	5.0	5.55
Tangential (10 cm)	4.8	5.3	-
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 (γ_0 ; gyromagnetic ratio, เมกกะเฮิร์ตต่อเทสลา) ที่จำเพาะสำหรับโปรตอนมีค่าเท่ากับ 42.58 เมกกะเฮิร์ตต่อเทสลา ดังนั้นที่ความแรงสนามแม่เหล็ก 1.5 และ 3 เทสลา โปรตอนจะมีความถี่ลาร์มอร์ 63.9 และ 127.8 เมกกะเฮิร์ตตามลำดับ ปกติภายในร่างกายจะมีทิศทางของนิวเคลียสสปินแบบสุ่มแต่เมื่ออยู่ในอุโมงค์สนามแม่เหล็กหลักโปรตอนบางส่วนจะมีการจัดเรียงตัวโดยมีทิศทางที่ขนาน (parallel) และบางส่วนมีทิศทางต้านสนามแม่เหล็กหลัก (anti-parallel) แต่ผลรวมของสนามแม่เหล็กของโปรตอน (net magnetization

vector; NMV) จะมีทิศทางไปในแนวเดียวกับทิศทางของสนามแม่เหล็กหลัก หากมีการให้ความถี่วิทยุ (radiofrequency; RF) ที่เท่ากับความถี่ลาร์มอร์ของโปรตอน (resonance frequency) โปรตอนจะดูดกลืนพลังงานและอยู่ในสถานะกระตุ้น (RF excitation) ทำให้สนามแม่เหล็กรวมของโปรตอนมีทิศทางเบี่ยงเบน (tilt) ไปจากแนวสนามแม่เหล็กหลัก เมื่อหยุดให้คลื่นความถี่วิทยุกับโปรตอนจะเกิดการคายพลังงานออกมาในรูปคลื่นความถี่วิทยุเช่นกัน 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 PET²⁹

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

*⁸²Rb and ⁶⁸Ga are produced by radionuclide generators.

Table 5 Physical properties of scintillator materials commonly used for PET detector^{30, 31}

Scintillator material	Composition	Density (g/cm ³)	Zeff	Linear Attenuation coefficient at 511-keV gammas (μ , cm ⁻¹)	Probability of Photoelectric Effect (%)	Light output (ph/MeV)	Decay time (ns)	Scint emission wave length (nm)	Hygroscopic	Refractive index
BGO	Bi ₄ Ge ₃ O ₁₁	7.13	75	0.96	40	9,000	300	480	No	2.15
LSO	Lu ₂ SiO ₅ :Ce	7.4	66	0.87	32	30,000	40	420	No	1.82
LYSO	Lu _{0.6} Y _{1.4} SiO ₅ :Ce	5.37	54	0.50	33	46,000	53	420	No	1.81
NaI:Tl	NaI:Tl	3.67	51	0.35	17	41,000	230	410	Yes	1.85
CsI:Tl	CsI:Tl	4.51	52	0.44	21	66,000	900	550	Slightly	1.80
GSO	Gd ₂ SiO ₅ :Ce	6.7	59	0.71	25	8,000	60	440	No	1.85
LGSO	Lu _{1.8} O ₂ SiO ₃ :Ce					23,000	40	420	No	
LuAP	LuAlO ₃ :Ce	8.3	64.9	0.95	30	12,000	18	365	No	1.94
YAP	YAlO ₃ :Ce	5.5	33.5	0.47	4.2	17,000	30	350	No	1.95
LPS	Lu ₂ Si ₂ O ₇ :Ce	6.2	63.8	0.71	29	30,000	30	380	No	
LuAG	Lu ₃ Al ₅ O ₁₂ :Ce	6.7	62.9	0.75	27	5,606		510	No	
BaF ₂	BaF ₂	4.9	52	0.44		2,000	0.6	310	No	1.49

coils สุดท้าย NMV จะกลับคืนสู่สถานะเดิมเหมือนก่อนการได้รับพลังงานด้วยค่าเวลาหนึ่ง เวลาในการคืนกลับสู่สถานะเดิมหรือเวลาการผ่อนคลาย (relaxation time) ของโปรตอนในแต่ละเนื้อเยื่อจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับความหนาแน่นของโปรตอน (ρ) หรือนิวเคลียสสปิน (spin) และสิ่งแวดล้อม (lattice) เช่น สารชีวโมเลกุล สารเมตาบอลิซึมและสารอิเล็กโตรไลต์ในบริเวณข้างเคียงกับโปรตอนที่พิจารณาการวัดสัญญาณเอ็มอาร์ไอจะมีคอยล์สำหรับรับสัญญาณคลื่นวิทยุที่คายออกมาจากโปรตอนใน 2 ทิศทาง คือตามทิศทางของสนามแม่เหล็กหลัก (longitudinal axis หรือ T1) กำหนดเป็นแนวแกน Z และแนวตั้งฉากกับสนามแม่เหล็กหลัก (transverse axis หรือ T2) กำหนดเป็นแนวแกน xy นิยมเขียน NMV ในแนวแกน z เป็น M_z และในแนวแกน xy ได้เป็น M_{xy} เราสามารถกำหนดให้ NMV ทำมุมจากแนวแกน z ในมุมต่างๆ (Flip angle, α) เช่น 10, 30, 90 และ 180 องศาโดยการปรับแต่งขนาดของคลื่นวิทยุ (β) ในกรณีที่ผลึกสัญญาณ NMV ให้ทำมุม 90 องศา เมื่อติดตามสัญญาณโปรตอนตามเวลาหลังจากมีการให้แล้วหยุดให้คลื่นความถี่วิทยุจะพบว่า M_z จะมีลักษณะคืนกลับของสัญญาณเพิ่มขึ้นเป็นกราฟเอกโปเนนเชียล (longitudinal relaxation หรือ T1 recovery; $M_z = M_{z0} \times [1 - e^{-TR/T1}]$) สปินของโปรตอนจะถ่ายเทพลังงานให้กับสิ่งแวดล้อม เรียกว่าเกิด spin-lattice interaction ในขณะที่ M_{xy} จะมีลักษณะสัญญาณลดลงเป็นกราฟเอกโปเนนเชียล (transverse relaxation or T2 decay; $M_{xy} = M_{xy0} \times e^{-TE/T2}$)

หรือเรียกว่าสัญญาณความถี่วิทยุ FID (free induction decay) ที่ถูกปลดปล่อยโดยโปรตอน M_{xy} จะเกิดจากการแลกเปลี่ยนพลังงานระหว่างสปินทำให้สปินเกิดการสูญเสียเฟส (dephasing) จากการเกิด Spin-Spin interaction และจากการไม่สม่ำเสมอของสนามแม่เหล็กหลัก (inhomogeneity of static field B_0)^{37,38} ในข้อเท็จจริงสัญญาณ NMV ประกอบด้วยสัญญาณ M_z และ M_{xy} รวมกันและความเข้มของสัญญาณเอ็มอาร์ไอ (intensity $\propto \rho \cdot [1 - e^{-TR/T1}] \cdot e^{-TE/T2}$) จะสัมพันธ์กับความหนาแน่นของโปรตอน ค่าคงที่ T1 (= $0.63M_{z0}$) และ T2 (= $0.37M_{xy0}$) ของเนื้อเยื่อ³⁹ (ตารางที่ 6) และขึ้นกับค่าเวลาการให้ความถี่วิทยุ TR (repetition time) และค่าเวลาการเก็บสัญญาณ TE (time to echo) สัญญาณของโปรตอนในพิกัด (x,y,z) ต่างๆ จะถูกเก็บไว้ในพื้นที่ที่เรียกว่า k-space และจะถูกแปลงเป็นภาพเอ็มอาร์ไอขาวและดำด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์ม (fourier transform)^{37,38}

2. ระบบเพท-เอ็มอาร์ไอแบบการผสมผสานสมบูรณ์แบบ

ดังได้กล่าวข้างต้นบริษัทซีเมนส์เฮลท์แคร์เป็นบริษัทแรกและบริษัทเดียวที่พัฒนาระบบเพท-เอ็มอาร์ไอที่มีการผสมผสานระหว่างระบบเพทและเอ็มอาร์ไออย่างสมบูรณ์แบบ โดยพัฒนาจากการนำตัวตรวจวัดเพทสำหรับการสร้างภาพสมองไปใส่ในอุโมงค์แม่เหล็ก^{18, 40} ดังแสดงในรูปที่ 5 วงแหวนตัวตรวจวัดแบบบล็อกของระบบเพทที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 65.6 ซม. ซึ่งสามารถใส่คอยล์สำหรับเอ็มอาร์

(มี FOV ขนาด 25.8 ซม.) ถัดออกไปด้านนอกจะมีผนัง (wall) กั้นระหว่างตัวตรวจวัดเพทและระบบเอ็มอาร์ไอที่ประกอบด้วย ส่วนของกราเดียนท์คอยล์ (gradient coil) และส่วนระบบ แม่เหล็กหลัก (magnet cryostat) ในแต่ละโมดูลของเพท (PET module) ประกอบไปด้วยส่วนต่างๆ ตามลำดับดังนี้

1. ส่วนผลึกซินทิลเลเตอร์ (scintillators) ในตระกูล ของ LSO ซึ่งมีคุณสมบัติที่ดี คือเวลาการคายพลังงานสั้น

ให้การส่องสว่างต่อโฟตอนสูง ไม่ไวต่อความชื้น และ คุณสมบัติทางฟิสิกส์ของผลึกอนินทรีย์อื่น ๆ แสดงดัง ตารางที่ 3 ผลึก LSO จะวางเรียงแถวแบบอาร์เรย์ (เช่น 8x8 แถว) คอยทำหน้าที่เปลี่ยนปริมาณแอนนิฮิเลชันโฟตอน เป็นสัญญาณแสง การทำให้ผลึกซินทิลเลเตอร์มีขนาดเล็ก จะเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพด้านการนับวัดและรายละเอียด ของภาพ ในแต่ละบริษัทจะเลือกใช้ผลึกที่แตกต่างกันแต่อยู่

Table 6 Tissue specific T1 and T2 values at 1.5 Tesla³⁹

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. ส่วนบริษัทจีอีเลือกใช้ LYSO ขนาด 4.2x6.2x30 ลบ.มม. ในระบบเพท-เอ็มอาร์ไอที่ใช้ในงาน ปรีคลินิกที่มีขนาดความแรงสนามแม่เหล็กสูงผลึกที่ใช้จะถูก พัฒนาให้มีขนาดเล็กลง เช่น LSO (4x8 array; 2.22 × 2.22 × 5 มม.)⁴¹ Yoon และคณะได้สร้างระบบเพทแบบหลายช่อง ตรวจวัด (8x8 ช่องสัญญาณ) ประกอบด้วยตัวตรวจวัดชนิด ซิลิคอนโฟโตมัลติพลายเออร์ทั้งหมด 12 โมดูลบรรจุใน วงแหวนที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 16.3 ซม. และหนา 3.2 ซม. สำหรับใช้ในระบบปรีคลินิกเพท-เอ็มอาร์ไอ ตัวตรวจ วัดในแต่ละโมดูลจะถูกผนึกอย่างดีเพื่อกันสัญญาณรบกวน จากคลื่นวิทยุของระบบเอ็มอาร์ไอทั้งนี้ได้ใช้ผลึก Lu(1.9) Gd(0.1)SiO(5):Ce ขนาด 1.5 × 1.5 × 7 ลบ.มม. จำนวน 20 × 18 ผลึกเป็นตัวย่อยสัญญาณของโฟตอน การทดลองใน เนื้อเยื่อสมมูลและในหนูได้ภาพเพทที่ดีไม่มีสัญญาณรบกวน เนื่องจากสนามแม่เหล็กแต่ภาพเอ็มอาร์ไอมีคุณภาพด้อยลง เล็กน้อย⁴²

2. ส่วนตัววัดสัญญาณแสง (photodetector)

ทำหน้าที่เปลี่ยนสัญญาณแสงเป็นสัญญาณไฟฟ้า ตัวตรวจวัด ในเพทที่จะใช้ร่วมกับระบบเอ็มอาร์ไอเป็นหัวข้อใหญ่ ที่ได้รับการสนใจและพัฒนางานวิจัยอย่างต่อเนื่อง ในช่วงแรกได้มีการ พัฒนาด้านแบบตัวตรวจวัดโดยใช้ระบบออปติคานำแสง จากคริสตัลด้วยระยะทางยาว 2-3 เมตรไปยังตัว PMT (photomultiplier tube) ที่อยู่ภายใต้สนามแม่เหล็กความแรงต่ำ⁴³ ปัจจุบันนิยมใช้โฟโตไดโอดชนิดอะวาลันเช (APD, avalanche

photodiode) ที่สามารถทนต่อสนามแม่เหล็กที่มีความแรงสูง ได้และมีขนาดเล็ก Pichler และคณะ (2006) ได้ใช้ LSO-APD เป็นตัวตรวจวัดในระบบเพท-เอ็มอาร์ไอขนาด 7 เทสลา⁴⁴ APD สามารถขยายสัญญาณโฟตอนได้สูงสุด 10^3 แต่ยังคงต่ำกว่า PMT (10^6) APD จะถูกออกแบบเป็นอาร์เรย์ต่างๆ เช่น 3x3 บ.ซีเมนส์ (ดังรูปที่ 5) อย่างไรก็ตามการพัฒนาตัววัดสัญญาณ แสงเพื่อใช้งานในระบบเพทก็ยังเป็นสิ่งท้าทาย ซิลิคอน โฟโตมัลติพลายเออร์ (silicon photomultiplier; SiPM) เป็น ตัวตรวจวัดแสงโฟตอนชนิดใหม่ล่าสุดในปัจจุบัน⁴⁵ ซึ่งจัดเป็น อะวาลันเชชนิดหนึ่งคือไกเกอร์โหมดอะวาลันเชโฟโตไดโอด (Geiger-mode avalanche photodiode; G-APD) และมีชื่อเรียก ได้อีกหลายชื่อ ได้แก่ มัลติพิกเซลโฟตอนเคาน์เตอร์ หรือเอ็มพีพีซี (multi-pixel photon counter; MPPC) และซิลิคอนโฟตอน เคาน์เตอร์ (solid-state photon counter; SSPC) ตัววัดโฟตอน ชนิดนี้มีขนาดเล็ก มีการขยายผลสัญญาณในระดับสูง และมีความไวต่อสนามแม่เหล็กต่ำ จึงได้รับการพัฒนา สำหรับการใช้เป็นตัวตรวจวัดโฟตอนสำหรับระบบ เพท-เอ็มอาร์ไอและสเปค-เอ็มอาร์ไอ เช่น ถูกพัฒนาในระบบตรวจวัด DOI-PET และระบบ 4D-MPET (4 dimensions magnetic compatible module for positron emission tomography) ซึ่งเป็นโครงการพัฒนาด้านตัวตรวจวัดเพทให้มีการใช้งานใน สนามแม่เหล็กอย่างดี โดยมีการทำงานร่วมกับการใช้ผลึก LSYO ร่วมกับ SiPM เปรียบเทียบกับการใช้ APD พบว่า SiPM มีการเพิ่มสัญญาณที่ดีกว่าและตอบสนองต่ออุณหภูมิ ที่เปลี่ยนแปลงน้อยกว่า APD โดยสามารถวัดจำนวนโฟตอน ได้ตั้งแต่ 1-1000 โฟตอน ทั้งนี้มีพัฒนาการมาจาก APD

แต่มีกำลังขยายสัญญาณเท่าเทียมกับ PMT (10^6) ทั้ง APD และ SiPM สามารถทำงานได้ภายใต้สนามแม่เหล็กไม่เหมือนกับ PMT ดังนั้นจึงมีการใช้ APD และ SiPM เป็นตัวตรวจวัดในระบบเพท-เอ็มอาร์ไอ^{42, 46, 47} ปัญหาหลักของการใช้ SiPM ในระบบเพท-เอ็มอาร์ไอคือการเกิดการรบกวนสัญญาณระหว่างระบบ¹⁶ และการขยายสัญญาณขึ้นกับอุณหภูมิ APD จะมีการเลื่อน (gain drifts) ของสัญญาณเพิ่มขึ้น 3.5 เปอร์เซ็นต์ต่อองศาเซลเซียส ซึ่งมีผลต่อการปรับแต่งสัญญาณการรบกวนมีผลต่อความไวในการวัดไม่คงที่และส่งผลต่อการวัดปริมาณของสารรังสีในการสร้างภาพเพท¹⁴ Yamamoto และคณะพบว่าการนับวัดคู่โฟตอนเปลี่ยนแปลงแบบผกผัน 10 เปอร์เซ็นต์ต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ 1.5 องศาเซลเซียสและนำมาใช้ในระบบเพท-เอ็มอาร์ไอแบบผสานสมบูรณ์ 0.15 เทสลา โดยไม่พบเกิดการรบกวนสัญญาณภาพเพทแต่อย่างใด แต่ค่า SNR ในภาพเอ็มอาร์ไอมีค่าลดลงในการสร้างภาพสมองหนู^{40, 49} Maramraju และคณะ (2011) ใช้สารเภสัชรังสี¹¹ C-raclopride และ 2-deoxy-2-¹⁸F-fluoro-D-glucose ศึกษาสมองหนูด้วยระบบเพท-เอ็มอาร์ไอผสานสมบูรณ์แบบ 9.4 เทสลา ด้วยตัวตรวจวัด LSO-APD ที่สร้างขึ้นใหม่พบว่าเกิดสัญญาณการรบกวนจากวงจรอิเล็กทรอนิกส์และสนามแม่เหล็กน้อยมากและมีผลต่อค่า SNR ต่ำ⁵⁰

3. ส่วนขยายสัญญาณ (preamplifier ASIC board)

วงจรขยายสัญญาณไฟฟ้าให้สูงขึ้นต่อรวมอยู่กับแผงวงจรอิเล็กทรอนิกส์ ASIC (application specific integrated circuit) ซึ่งมีหลายช่องสัญญาณ

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

ปัจจุบันเครื่องเพท-เอ็มอาร์ไอเมนส์ไบโอกราฟเอ็มเอ็มอาร์ (Siemens Biograph mMR) เท่านั้นที่มีการรวมกันอย่างสมบูรณ์แบบระหว่างระบบเพทและระบบเอ็มอาร์ไอที่สามารถสร้างภาพการทำงานและด้านโครงสร้างที่ตำแหน่งใด ๆ ได้ในเวลาเดียวกัน เครื่องของซิเมนส์จะนำระบบเพทสแกนทั้งตัวติดตั้งอยู่ภายในสนามแม่เหล็กคงที่ 3 เทสลาของเครื่องเอ็มอาร์ไอ และมีซอฟต์แวร์ Syngo.via ในการสร้างภาพระบบเพท-เอ็มอาร์ไอหรือสร้างภาพเฉพาะระบบเพทและระบบเอ็มอาร์ไอก็ได้ ระบบเพท-เอ็มอาร์ไอนี้ไม่ต้องมีการพื้นที่หรือห้องที่ใหญ่ไปกว่าห้องเอ็มอาร์ไอปกติ (33 ตรม.) ซิเมนส์ไบโอกราฟเอ็มเอ็มอาร์ไอนี้ยังสามารถใช้สร้างภาพเฉพาะเอ็มอาร์ไออย่างเดียวได้⁵¹

3. การแก้ค่าลดทอนพลังงานด้วยเอ็มอาร์ไอ (MR-based attenuation correction; MRAC)

แกมมาโฟตอนที่เกิดจากแอนนิลเลชันเมื่อเคลื่อนที่ผ่านตัวกลาง เช่น เนื้อเยื่อที่มีความหนาแน่นหลากหลาย จะเกิดการสูญเสียพลังงานโดยจะถูกลดทอนและมาถึงตัวนับวัดไม่ตรงความเป็นจริง ดังนั้นจึงส่งผลให้ภาพทางนิวเคลียร์ของโฟตอนไม่ถูกต้อง จำเป็นต้องมีการแก้ค่าการลดทอน (attenuation correction) พลังงานของโฟตอนที่ 511

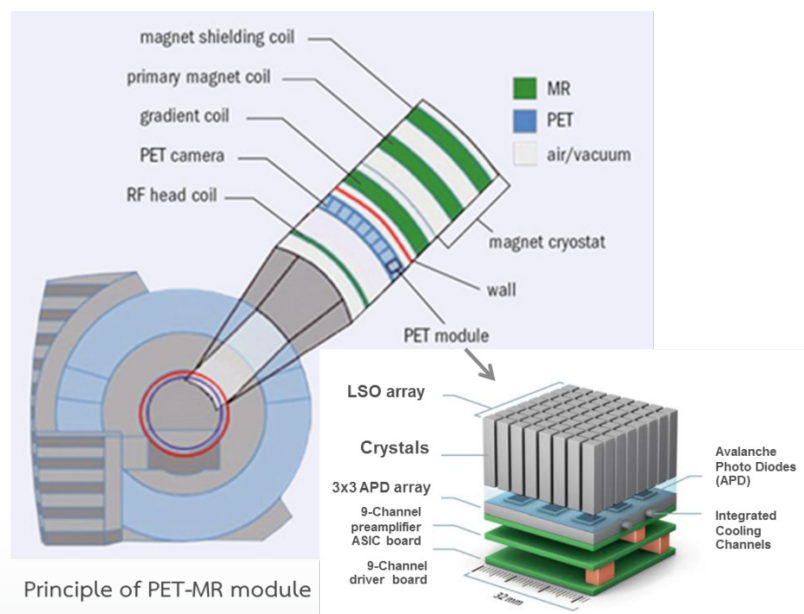


Figure 5 Principle of simultaneous PET-MR system.^{18, 40}

กิโลอิเล็กตรอนโวลต์ในตัวกลางต่าง ๆ ให้ตรงกับความเป็นจริง เพื่อจะได้สร้างภาพตำแหน่งและการกระจายตัวของสารเภสัชรังสีที่แผ่ให้อนุภาคโพซิตรอนและตำแหน่งการเกิดแอนนิฮิเลชันในตัวกลางได้อย่างถูกต้องแม่นยำรวมทั้งใช้ในการวัดเชิงปริมาณการสะสมของสารเภสัชรังสีด้วย เช่นเดียวกับระบบเพท-ซีทีที่ต้องทำการแก้ค่าการลดทอนพลังงานเนื่องจากการเกิดปรากฏการณ์คอมป์ตันและโฟโตอิเล็กตริก โดยปัจจุบันใช้ซีทีในการแก้ค่าการลดทอน (CT attenuation correction) สำหรับเพท-เอ็มอาร์ในการแก้ค่าต้องคำนึงถึงแหล่งกำเนิดของการสูญเสียพลังงานของโฟตอน ซึ่งมีการสูญเสียพลังงานได้จาก 2 สาเหตุ คือ 1) การลดทอนพลังงานของโฟตอนเนื่องจากผลของกราดิเอนต์ของสนามแม่เหล็กและคอยล์รับส่งสัญญาณวิทยุพร้อมวงจรอิเล็กทรอนิกส์ และ 2) การลดทอนพลังงานของโฟตอนเนื่องจากเนื้อเยื่อของผู้ป่วย นอกจากตัวผู้ป่วยแล้วในส่วนของเตียงยังมีค่าการลดทอนพลังงานด้วยเช่นกัน ด้วยเทคนิคเอ็มอาร์ไอเป็นการวัดสัญญาณของโปรตอน สัญญาณความสว่างของภาพเอ็มอาร์ไอหนึ่ง ๆ มีความสอดคล้องกับค่า HU ได้หลายค่า⁵² เช่น ภาพเอ็มอาร์ไอของกระดูกและอากาศจะมีค่าความสว่างใกล้เคียงกันไม่สามารถจำแนกออกจากกันได้ แต่สำหรับเพทสามารถจำแนกระหว่างกระดูกและอากาศออกจากกันได้ เพราะสัญญาณภาพจะแตกต่างกันมากโดยที่กระดูกจะมีการลดทอนพลังงานของโฟตอนได้สูงในขณะที่อากาศไม่เกิดการลดทอนพลังงานของโฟตอน ดังนั้นจึงเป็นความท้าทายของนักวิจัยที่จะแก้ค่าการลดทอนในระบบเพท-เอ็มอาร์ไอให้ถูกต้องยิ่งขึ้น ปัจจุบันระบบเพท-เอ็มอาร์ไอได้มีการพัฒนาวิธีการแก้ค่าการลดทอนพลังงานอยู่หลายวิธีด้วยกัน⁵³⁻⁵⁶ อาศัยเทคนิคการสร้างแผนที่การลดทอน (μ -Map) สามารถแบ่งวิธีการแก้ค่าการลดทอนพลังงานของแกมมาโฟตอนได้เป็น 3 วิธี ดังนี้

1. Segmentation-based methods เป็นการจำแนกกลุ่มเนื้อเยื่อออกเป็นกลุ่ม ๆ และมีค่าสัมประสิทธิ์การลดทอนพลังงานที่เฉพาะ เป็นวิธีการแก้ค่าการลดทอนพลังงานที่นิยมมากที่สุดของระบบเพท-เอ็มอาร์ไอยุคเริ่มต้นนี้สามารถแบ่งได้เป็น 2 ขั้นตอน โดยเริ่มจากการแยกกลุ่มเนื้อเยื่อจากภาพเอ็มอาร์ไอโดยอาศัยความแตกต่างของความเข้มของสัญญาณในแต่ละพิกเซล ขอบเขตและส่วนประกอบของเนื้อเยื่อ⁵⁶ ให้มีค่าของการลดทอนพลังงานเป็นเชิงเส้น และจากนั้นกำหนดโดยการคำนวณให้แต่ละพิกเซลมีค่าสัมประสิทธิ์การลดทอนเฉพาะ โดยมีการประยุกต์ใช้ในการศึกษาการแยกส่วนเนื้อเยื่อในสมองและสำหรับทั้งร่างกาย (whole body; WB) ในการสร้างภาพเอ็มอาร์ไอในเนื้อเยื่อที่มีค่า T2 ที่สั้นมาก เช่น กระดูก (cortical bone, tendons,

ligaments, menisci, and periosteum as well as brain, liver, and spine) จึงเป็นการยากที่จะแก้การลดทอนพลังงานที่ 511 กิโลอิเล็กตรอนโวลต์ ด้วยลำดับพัลส์ปกติ ยิ่งในสมองจะมีสัดส่วนของกระดูกที่มากทำให้มีการลดทอนพลังงานของสารเภสัชรังสีที่กระจายอยู่ในศีรษะ ในเนื้อเยื่อสมองส่วนต่าง ๆ ทำได้ยาก ปัจจุบันได้มีลำดับพัลส์ที่เร็วมากสำหรับการสร้างภาพสมอง คือ UTE (Ultrashort-Echo-Time; ~ 8 ไมโครวินาที) เพื่อใช้สร้างภาพกระดูกเนื้อแน่น (cortical bone)⁵⁷ Keereman และคณะ (2010) ได้สร้างภาพเพท-เอ็มอาร์ไอในแฟนทอมและสมองมนุษย์โดยทำการแก้ค่าการลดทอนด้วยเอ็มอาร์ลำดับพัลส์ UTE และใช้ซีที (CTAC) ซึ่งทั้งสองเทคนิคเกิดการจำแนกส่วนกระดูก เนื้อเยื่ออ่อนนุ่ม และอากาศโดยเกิดข้อผิดพลาดเฉลี่ย 5 เปอร์เซ็นต์⁵⁸ ด้วยเทคนิคนี้ Catana และคณะสร้างภาพเพท-เอ็มอาร์ไอของสมองและจำแนกกลุ่มเนื้อเยื่อออกเป็นกระดูก เนื้อเยื่ออ่อนนุ่ม และอากาศ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การลดทอนเชิงเส้น (linear attenuation coefficient, cm^{-1}) เท่ากับ 0.151 cm^{-1} , 0.096 cm^{-1} และ 0 cm^{-1} ตามลำดับ⁵⁹ Berker และคณะ (2012) ใช้ลำดับพัลส์ UTE triple-echo (UTILE) ในอาสาสมัครและจำแนกเนื้อเยื่อออกเป็น อากาศ (0 cm^{-1}) เนื้อเยื่อไขมัน (0.090 cm^{-1}) เนื้อเยื่ออ่อน (0.100 cm^{-1}) และกระดูก (0.172 cm^{-1})⁶⁰ ในการสร้างภาพทั้งร่างกายการใช้ลำดับพัลส์ UTE เพื่อจำแนกกระดูกซึ่งถูกจัดเป็นเนื้อเยื่ออ่อนไม่มีความเหมาะสมเพราะต้องใช้เวลาในการสแกนที่นาน จึงมีการพัฒนาการจำแนกกลุ่มเนื้อเยื่ออยู่ในช่วง 3-5 กลุ่มเนื้อเยื่อ ได้แก่ อากาศ ปอด เนื้อเยื่ออ่อนนุ่ม ไขมันและเนื้อเยื่อที่ไม่ใช่ไขมัน ด้วยการใช้ลำดับพัลส์ใหม่ เช่น 2-point DIXON^{61, 62}, T1W-3D TSE THRIVE⁶³, 3D-T1W TSE spoiled gradient echo⁶⁴ และ 3D-T1W multistation spoiled gradient echo⁶⁵ เป็นต้น

2. Atlas- and machine learning-based methods เกิดจากการพยายามแปลงค่าสัญญาณของเอ็มอาร์ไอ (intensity) เทียบกับค่าการดูดกลืนพลังงานในซีที (Hounsfield unit; HU) ให้มีค่าสัมประสิทธิ์การลดทอนพลังงานซีทีแบบเทียม (pseudo CT) แล้วนำไปใช้แก้ค่าการลดทอนพลังงานโฟตอนในระบบเพทแบบเดียวกับวิธี CTAC ในการสร้างชุดข้อมูลเอ็มอาร์ไอและซีที (MRI and CT Atlas data base) นั้นทำได้โดยสร้างภาพเอ็มอาร์ไอและภาพซีทีในผู้ป่วยคนเดียวกันให้มีตำแหน่งตรงกันและนำค่าภาพมากำหนดเทียบค่า (intensity-MR, μ -CT) ในตำแหน่งต่าง ๆ โดยทำในผู้ป่วยจำนวนมากและนำค่าเฉลี่ยมาบันทึกและสร้างเป็นแบบ (template) ไว้ใช้เทียบและทำนายค่า μ กับผู้ป่วยรายใหม่ซึ่งต้องสร้างภาพเอ็มอาร์ไอด้วยโปรโตคอลเดียวกับที่ใช้กับ MR Atlas สำหรับวิธี

แมชชีนเลิร์นนิง (machine learning-based) นั้นจะอาศัยข้อมูล Atlas ประกอบในการจำรูปแบบ (pattern recognition) ของภาพด้วยการเรียนรู้ของโปรแกรมการคำนวณคอร์เนลแมชชีน (Kernel machine) โหมดเกาสเซียน (Gaussian process regression) และกำหนดค่า μ_i ในวอกเซล (voxel) ข้างเคียงกับคู่ตำแหน่งอ้างอิงจาก Atlas กลุ่มของ Hofmann^{52, 62} และ Johansson^{66, 67} ได้พัฒนาการแก้ค่าด้วยวิธีนี้อย่างต่อเนื่องเพื่อลดความจำเป็นในการสร้างภาพเอ็มอาร์สำหรับการแก้ค่าการลดทอนพลังงาน

3. Reconstruction of attenuation maps from emission data ในทางปฏิบัติระบบเพท-ซีทีผู้ป่วยจะใช้เวลาไม่นานและในการสแกนส่วนบนของลำตัวและศีรษะจะไม่รวมส่วนแขนด้วยจึงให้ผู้ป่วยยกแขนขึ้นเหนือศีรษะเพื่อลดสัญญาณรบกวน (truncated artifact) ที่เกิดจากส่วนเกินของลำตัวที่อยู่นอกขอบเขตพื้นที่การสแกน (field of view; FOV) แต่สำหรับระบบเพท-เอ็มอาร์การสร้างภาพทั้งตัวผู้ป่วยจะต้องใช้เวลาในการสแกนนานจึงไม่สะดวกที่จะยกแขนค้างไว้นานเช่นเดียวกับการทำเพท-ซีที จึงเกิดข้อจำกัดของการแก้ค่าการลดทอนพลังงานในการสร้างภาพทั้งตัวเรื่อง FOV ของเอ็มอาร์ไอดังนั้นภาพเพทที่อยู่นอกเหนือ FOV (ปัจจุบันค่ามากที่สุด 50 ซม.) จะไม่ถูกสร้างขึ้น เช่น การถ่ายภาพช่วงบนของลำตัวภาพเพท-เอ็มอาร์ที่ได้ส่วนแขนของผู้ป่วยจะไม่ได้ถูกสร้างขึ้นเพราะอยู่นอก FOV กลุ่มของ Delso และ Martinez-Möller ก็ได้เห็นปัญหานี้และได้สร้างแบบในการชดเชยภาพส่วนแขนที่หายไปขึ้นมา (reconstruction) ด้วยวิธีการทำนายค่าการลดทอนพลังงานจากข้อมูลภาพเพทที่เป็นเนื้อเยื่อชนิดเดียวกันจากตำแหน่งอื่นมาทดแทน (truncation correction)^{61, 68, 69} บริษัทซิเมนส์ได้ใช้วิธีการนี้แก้ค่าการลดทอนพลังงานในระบบเพท-เอ็มอาร์สำหรับการสร้างภาพทั้งตัว

4. สารเปรียบต่างและสารเภสัชรังสีสำหรับระบบเพท-เอ็มอาร์

เรดิโอนิวไคลด์ดังแสดงในตารางที่ 4 สามารถติดฉลากเข้ากับโมเลกุลหลายชนิดที่เป็นสารชีวบ่งชี้ (Biomarkers) เช่น กลูโคส กรดอะมิโน กรดไขมัน โปรตีน แอพตาเมอร์ แอนติบอดี หรือไลแกนด์สำหรับรีเซพเตอร์และเอนไซม์ เป็นต้น ดังนั้นจึงสามารถติดตามและสร้างภาพสารเภสัชรังสีที่สะสมยังตำแหน่งต่างๆ ได้อย่างจำเพาะเจาะจงและสัมพันธ์กับเมตาบอลิซึม สารเมตาบอลิต์ การทำงานของเซลล์และรอยโรคได้ดีขึ้น^{29, 70} สารเภสัชรังสีที่ใช้ในระบบเพทดังตารางที่ 7 สามารถนำมาใช้ได้ในระบบเพท-เอ็มอาร์ สำหรับการสร้างภาพเอ็มอาร์ไอนอกจากส่วนของลำดับพัลส์ ความแรงสนาม

แม่เหล็กและคอยล์รับส่งสัญญาณวิทยุแล้วที่มีผลต่อความคมชัดของภาพและรอยโรค สารเปรียบต่างสำหรับเอ็มอาร์ไอ (MRI contrast agents) ยังมีส่วนสำคัญทำให้ภาพเอ็มอาร์ไอมีความคมชัดและมีความจำเพาะกับรอยโรคสูงขึ้น สารเปรียบต่างดังกล่าวมีคุณสมบัติเป็นสารพาราแมกเนติกส์หรือเฟอโรแมกเนติกส์ (para- or ferro-magnetic agents) โดยมีโลหะไอออน เช่น แกดโดลิเนียม (Gd^{3+}) แมงกานีส (Mn^{2+}) หรือเหล็ก ($Fe^{2+/3+}$) รวมทั้งเหล็กออกไซด์ (superparamagnetic iron oxides; SPIOs) เป็นองค์ประกอบในโมเลกุลมีผลในการเปลี่ยนแปลงสิ่งแวดล้อมของเนื้อเยื่อทำให้ความหนาแน่นของโปรตอนเปลี่ยนแปลง มีการสะสมก่อเกิดสนามแม่เหล็กย่อยขึ้น (local magnets) ในเนื้อเยื่อและเกิดอันตรกิริยากับโปรตอน ส่งผลต่อเวลาการคลายตัวของโปรตอนทั้งในแนว T1 และ T2 ของเนื้อเยื่อนั้นๆ เช่น Gd-DTPA, Gd-dTP-MB, Gd-DOTA มีผลต่อการเพิ่มความสว่างของสัญญาณภาพในเทคนิค T1W ส่วน SPIOs มีผลต่อการลดลงของความสว่างของภาพในเทคนิค T2W เป็นต้น⁷¹ สารเปรียบต่างในทุกเทคนิคในโลยีการสร้างภาพที่มีใช้ในคลินิกและผ่านการรับรองจาก FDA ในฐานข้อมูล MICAD (molecular imaging and contrast agent database) ฉบับออนไลน์ (ปรับปรุงล่าสุดอ้างอิงวันที่ 8 มกราคม 56) มี 236 รายการ จากจำนวนทั้งหมด 1,361 รายการที่มีรายงานการศึกษาวิจัย สำหรับสารเปรียบต่างเอ็มอาร์ไอที่มีการศึกษาวิจัยมีทั้งสิ้น 154 รายการ และผ่าน FDA แล้ว 12 รายการ⁷⁰ จากข้อดีในการบูรณาการศาสตร์หลายสาขาเข้าด้วยกันโดยเฉพาะด้านนาโนเทคโนโลยีทางการแพทย์ทำให้มีการพัฒนาสารเปรียบต่างไปอย่างมากจากการสร้างภาพด้านโครงสร้าง การสร้างภาพหลอดเลือด การสร้างภาพการทำงานของอวัยวะและการสร้างภาพในระดับเซลล์ที่จำเพาะมากขึ้น ตลอดจนพัฒนาสารเปรียบต่างที่มีทั้งคุณสมบัติการตรวจวินิจฉัยโรคและการรักษาโรค (theranostic agents) อยู่ในโมเลกุลเดียวเพื่อประยุกต์ใช้กับโรคต่างๆ โดยเฉพาะในโรคมะเร็ง⁷⁰ ดังตารางที่ 8

และในปัจจุบันได้มีการพัฒนาสารเปรียบต่างชนิดหลายตัวตรวจวัด (multimodality probes)⁷²⁻⁷⁸ รวมทั้งเพท-เอ็มอาร์มากขึ้นซึ่งอยู่ในขั้นวิจัยก่อนคลินิกสำหรับการติดฉลากและติดตามเซลล์ต้นกำเนิด การสร้างภาพเนื้อเยื่อมะเร็งและดูการกระจายตัวของมะเร็ง ดังตารางที่ 9

5. ลำดับพัลส์สำหรับระบบเพท-เอ็มอาร์

ลำดับพัลส์ที่ใช้ในระบบเอ็มอาร์ไอบกตินสามารถเข้ากับระบบเพท-เอ็มอาร์ได้และใช้ร่วมกับสารเปรียบต่างได้เช่นเดียวกัน ลำดับพัลส์ที่จำเป็นในการทำ MRCA การสร้างภาพ

Table 7 PET radiopharmaceuticals as molecular imaging probes^{29, 70}

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

Table 8 MRI contrast agents and clinical applications⁷⁰

Agent (abbreviated name)	Application	Target
GdAβ42 (Gd-DOTA-pF(ab') ₂ 4.1)	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 ₂	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 αvβ3
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
¹⁸ F-cit-NPs	Cell labelling	Non-specific	¹⁸ F-NaY0.2Gd0.6Yb0.18Er0.02F4 nanophosphors	72
⁶⁴ Cu-Gd ³⁺ -EP-2104R	Thrombus imaging	Fibrin		73
⁶⁴ Cu-SPIOs ⁶⁴ Cu-MnO	Stem cell labelling	Non-specific	⁶⁴ Cu-Fe3O4-DOPA-DOTA, ⁶⁴ Cu(MnO)7- DOPA-DOTA, ⁶⁴ Cu(MnO)20-DOPA-DOTA	74
⁶⁴ Cu-DOTA-IO-RGD	Tumor cell imaging	integrin αvβ3	⁶⁴ Cu-DOTA-Iron oxides-coated cyclic arginine-glycine aspartic (RGD) peptides	75
⁶⁴ Cu-DTPA-CLIO-VT680 or ⁶⁴ Cu trireporter nanoparticle	Atherogenesis	Macrophages	⁶⁴ Cu-Labeled diethylenetriamine pentaacetic acid (DTPA)-CLIO-Vivotag 680 (VT680)	76
⁶⁴ Cu-DOTA-HSA-IONPs	Tumor imaging	Dopamine receptor	⁶⁴ Cu-DOTA-Iron nanoparticles-coated human serum albumin	77
ZW800 @MSN@Gd@ ⁶⁴ Cu	Tumor metastasis	Sentinel lymph nodes	Near IR fluorescence dye, ZW800-embed mesoporous silica nanoparticles (MSNs) labeled with Gd ³⁺ and ⁶⁴ 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^{79, 80}, T2 weighted single shot fast spin echo sequence-HASTE, UTE (ultra short echo), 2point DIXON^{61, 62}, T1W-3D TSE THRIVE⁶³, 3D-T1W TSE Spoiled gradient echo⁶⁴ และ 3D-T1W multistation spoiled gradient echo⁶⁵ 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^{8, 25, 81}

งานวิจัยและการประยุกต์ใช้เพท-เอ็มอาร์ในทางคลินิก

ระบบเพท-เอ็มอาร์ได้ถูกใช้ในทางคลินิกมากขึ้นทั้งด้านมะเร็ง หัวใจ สมองและระบบประสาท เพื่อสร้างภาพเมตาบอลิซึม ดูแผนที่ของรีเซพเตอร์ ดูการทำงานของสมอง^{19, 82, 83} Pauleit และคณะ (2005) ได้ศึกษามะเร็งสมองในผู้ป่วย 28 ราย โดยทำการนำภาพเพทจากการสร้างภาพด้วยสารเภสัชรังสี FET (O-(2-¹⁸F-fluoroethyl)-L-tyrosine) ในโหมด 3D และภาพเอ็มอาร์ไอ (1.5 เทสลา) ด้วยเทคนิค MPRAGE และ FLAIR ร่วมกับ Gd-DTPA มาซ้อนทับกันโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ (MPI tool version 3.28; ATV, Kerpen, Germany) พบว่าความไวในการตรวจวัดมีค่าลดลงเล็กน้อยจาก 96% เป็น 93% แต่มีความจำเพาะต่อมะเร็งสมองเพิ่มขึ้นจาก 53 เป็น 94 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทำการตรวจวินิจฉัยด้วยระบบเอ็มอาร์ไอและระบบเพท-เอ็มอาร์ตามลำดับ⁸⁴ Herzog พบว่าการใช้สารรังสี ¹⁸F-fluoro-ethyl-tyrosine (FET), ¹¹C-flumazenil และ ¹⁸F-FP-CIT ในการสร้างภาพสมองระบบเพท-เอ็มอาร์ โดยใช้เครื่องตรวจวัดเพทต้นแบบ (2.5 mm LSO-APD system) ใส่ในอุโมงค์แม่เหล็กขนาด 3 เทสลา ให้ภาพที่มีคุณภาพที่ดีมีอำนาจการแยกแยะสูงกว่าการสร้างภาพสมองด้วยระบบเพทกำลังขยายสูงปกติ⁸⁵ Ledezma และคณะ (2009) ได้ใช้ ¹⁸F-FDOPA เป็นสารเภสัชรังสีที่มีความไวสูงกว่า ¹⁸F-FDG ในการสร้างภาพเนื้อเยื่อสมองชนิด Glioma ในผู้ป่วยด้วยระบบเพทและตามด้วยการสร้างภาพเอ็มอาร์ไอร่วมกับสารเปรียบต่างทั้ง T1W และ T2W จากนั้นนำภาพจากทั้งสองระบบมาซ้อนทับกันด้วยโปรแกรม Mirada Fusion7D (Vital Images, Inc., Minnetonka, MN, USA) ตรวจพบตำแหน่งของมะเร็งสอดคล้องกับการสะสมของ ¹⁸F-FDOPA ถึง 90 เปอร์เซ็นต์ และการบอกตำแหน่งของมะเร็งด้วยระบบเพท-เอ็มอาร์ดี

ขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับการทำเพทสแกนเพียงอย่างเดียว⁸⁶ Jon Shah และคณะ (2012) ประยุกต์ใช้ระบบเพท-เอ็มอาร์ความแรงสนามแม่เหล็กสูง (3 และ 9.4 เทสลา) ในการสร้างภาพระบบประสาท โดยใช้เวลาการสร้างภาพด้วยลำดับพัลส์หลายแบบทั้งหมดในเวลา 1 ชั่วโมง⁸ จากประสบการณ์ของทีม Martinez-Möller ในการสร้างภาพมะเร็งต่างๆ เช่น มะเร็งสมอง มะเร็งลำไส้ มะเร็งระบบประสาท มะเร็งต่อมลูกหมาก และสร้างภาพการกระจายและกลูกลามของมะเร็ง ด้วยการสร้างภาพเพท-เอ็มอาร์เฉพาะอวัยวะและการสร้างภาพทั้งตัวทั้งใช้และไม่ใช้สารเปรียบต่างร่วมกับสารเภสัชรังสี เช่น ¹⁸F-FDG, ⁶⁸Ga-DOTATOC และ ¹¹C-Choline พบว่าการสร้างภาพเฉพาะอวัยวะจะใช้ระยะเวลาสูงสุด 45 นาที และการสร้างภาพทั้งตัวใช้เวลาสูงสุด 70 นาที⁸³ ส่วน Garibotto และคณะ (2013) ใช้เวลาน้อยกว่า 2 ชั่วโมง การสร้างภาพเพท-เอ็มอาร์แบบลำดับส่วนในผู้ป่วยเป็นโรคสมองและระบบประสาทถูกทำลายและในผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งสมองขั้นสูงและการใช้ระบบเพท-เอ็มอาร์นี้ปริมาณรังสีที่ผู้ป่วยได้รับ (จาก ¹⁸F-FDG) จะน้อยกว่าการตรวจวินิจฉัยด้วยเพท-ซีที⁸⁷ ผู้รับบริการเพท-ซีทีจะได้รับปริมาณรังสีสูงขึ้นจากเครื่องเอกซเรย์ซีที (2-3 มิลลิซีเวิร์ต) และจากสารเภสัชรังสีที่ใช้ในการสร้างภาพเพท (การใช้ ¹⁸F-FDG จะได้รับปริมาณรังสียั้งผลช่วง 7-15 มิลลิซีเวิร์ตขึ้นอยู่กับปริมาณรังสีที่ใช้) โดยจะได้รับปริมาณรังสีรวมประมาณ 20 มิลลิซีเวิร์ต⁹ Buchbender และคณะ (2012) ได้ทำการวินิจฉัยและกำหนดตำแหน่งและการกระจายของมะเร็งในผู้ป่วยมะเร็งจำนวน 14 ราย ด้วยเทคนิค DWI (diffusion weight imaging) โดยสร้างภาพด้วยระบบเพท-เอ็มอาร์แบบทั้งตัวพบว่าค่า ADC (apparent diffusion coefficient) และค่า SNR (signal to noise ratio) ในเนื้อเยื่อต่างๆ รวมทั้งตำแหน่งที่มีการกระจายตัวของมะเร็งในโหมดที่เปิดและปิดระบบเพทไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ⁸⁸ Drzezga และคณะ (2012) ศึกษาผู้ป่วยมะเร็งชนิดต่างๆ เช่น มะเร็งผิวหนัง มะเร็งเต้านม มะเร็งลำไส้ใหญ่ มะเร็งเม็ดเลือด มะเร็งตับ มะเร็งตับอ่อน มะเร็งต่อมไทรอยด์ มะเร็งกล่องเสียง มะเร็งทวารหนักและมะเร็งหลอดอาหาร เป็นต้น จำนวน 32 ราย ด้วยระบบเพท-เอ็มอาร์แบบผสานสมบูรณแบบใช้เวลาในการสร้างภาพทั้งตัวเฉลี่ยน้อยกว่า 20 นาที ทั้งนี้ได้ทำการวัดค่า SUV ของ ¹⁸F-FDG ในเนื้อเยื่อมะเร็งดังกล่าวและที่เนื้อเยื่ออื่นๆ ได้แก่ ตับ ปอด ตับอ่อน กระดูกและกล้ามเนื้อ เปรียบเทียบกันกับการวัดด้วยเทคนิคเพท-ซีทีโดยใช้แพทย์สองทีมทำการประเมินการสะสมแบบค่าระดับพบว่าทั้งสองเทคนิคให้ผลด้านการบอกโครงสร้างอยู่ในระดับเดียวกันและค่า SUV วัดด้วยเพท-ซีทีจะมีค่ามากกว่าวัดด้วย

ระบบเพท-เอ็มอาร์ แต่เมื่อทำการปรับค่า SUV เทียบกับ กล้ามเนื้อจะพบว่าจะมีการสะสมของ ^{18}F -FDG ในเนื้อเยื่อ ที่สงสัยว่าเป็นมะเร็งสูงกว่าในระบบเพท-ซีที ทั้งนี้ค่าเฉลี่ย SUV ในเนื้อเยื่อมะเร็งที่ได้จากทั้งสองระบบมีค่าสัมประสิทธิ์ ความสัมพันธ์สเปียร์แมน (spearman correlation coefficient) ที่สูงเท่ากับ 0.93⁸⁹ เช่นเดียวกับ Boss และคณะ (2012) ก็ได้ แสดงให้เห็นว่าระบบเพท-เอ็มอาร์สามารถให้ค่าความถูกต้อง ทั้งด้านโครงสร้างและด้านการสะสมของ ^{18}F -FDG ในผู้ป่วย มะเร็งศีรษะและลำคอ (8 ราย) ดีเท่าเทียมกันกับระบบเพท-ซีที โดยมีค่าความสัมพันธ์ (R) เท่ากับ 0.99 และ 0.96 ตามลำดับ⁷⁸ Lee และคณะ (2012) ได้สร้างภาพในหนูที่กระตุ้นให้เกิด กล้ามเนื้อหัวใจตาย (myocardial infarction; MI) และ สร้างภาพด้วยไมโครเพท-เอ็มอาร์ (^{18}F -FDG/Gd-DTPA) พบว่าสารเภสัชรังสีจะสะสมยังตำแหน่งที่เกิดกล้ามเนื้อ หัวใจตายมากที่สุดในวันที่ 5 หลังจากการทำให้เกิด MI ซึ่งสอดคล้องกับภาพเพท-ซีทีในผู้ป่วยที่หลอดเลือดแดง โคโรนารีขวาอุดตันเป็นเวลา 5 วัน จะพบการสะสมของ ^{18}F -FDG เพิ่มขึ้นที่ตำแหน่งของผนังกล้ามเนื้อหัวใจล่างซ้าย ที่เกิดการบาดเจ็บ⁹⁰ Ratib และคณะ (2011) ได้ศึกษาผู้ป่วย มะเร็ง (จำนวน 62 ราย) ชนิดต่างๆ เช่น มะเร็งต่อมลูกหมาก (9) มะเร็งเต้านม (8) มะเร็งปอด (5) มะเร็งช่องคลอด (5) มะเร็งต่อมน้ำเหลือง (4) ซาโครมาและเนื้องอกกระดูก (4) มะเร็งทางเดินอาหาร (4) เนื้องอกในสมอง (4) เนื้องอกในทางเดินอาหาร (3) เมลาโนมา (2) มะเร็งตับอ่อน (2) การสอบสวนมุ่งเน้นการวิจัยโรคลมชัก (2) และกรณีของโรคที่มี พยาธิสภาพอื่นๆ (10) ด้วยการสร้างภาพระบบเพท-เอ็มอาร์ แบบลำดับส่วนและเทียบกับการสร้างภาพเพท-ซีที ค่า SUV ของ ^{18}F -FDG ในเนื้อเยื่อมะเร็ง และในเนื้อเยื่ออื่น ได้แก่ สมอง ปอด หัวใจ ตับ กระดูก L4 และกล้ามเนื้อ ไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อพิจารณาค่า SUV ในเนื้อเยื่อ มะเร็งระหว่างเพท-เอ็มอาร์และเพท-ซีทีที่มีความสัมพันธ์กัน ด้วยค่า R^2 เท่ากับ 0.89 และ 0.91 สำหรับค่าเฉลี่ยและ ค่าสูงสุดตามลำดับ⁸¹ Thorwarth และคณะ (2011) ได้รายงาน เป็นกลุ่มแรกถึงกรณีศึกษาการนำระบบเพท-เอ็มอาร์ไอ แบบผสมผสานมาใช้สำหรับวางแผนการรักษาผู้ป่วย เมเนงจิโอมา (meningioma) จำนวน 1 ราย ด้วยวิธีการฉาย รังสีแบบ IMRT (intensity-modulated radiation therapy) โดยให้ ปริมาณรังสีรวม 54 เกรย์ (Gray) IMRT เป็นวิธีการรักษาผู้ป่วย มะเร็งชนิดเมเนงจิโอมาหนึ่งที่มีประสิทธิภาพสูง เปรียบเทียบ กับการวางแผนการรักษาในปัจจุบันที่ใช้การสร้างภาพด้วย ซีที เพท-ซีที (^{68}Ga -DOTATOC) ร่วมกับเอ็มอาร์ไอเพื่อกำหนด ตำแหน่ง หาปริมาตรของก้อนมะเร็ง (gross target volume:

GTVPET/CT+MR) และสร้างปริมาตรสำหรับการฉายรังสี (planning target volume: PTV_{PET/CT+MR}) จากการศึกษาการหา ปริมาตรเป้าหมายด้วยวิธีการสร้างภาพเพท-เอ็มอาร์แบบ ผสานผสมผสานนี้ไม่แตกต่างจากการหาด้วยเทคนิคมาตรฐานคือ เพท-ซีทีร่วมกับเอ็มอาร์ แต่การใช้ระบบผสมผสานจะลดขั้นตอน การสร้างภาพก่อนเพท-ซีทีลงไปเหลือเพียงสร้างภาพซีทีและ สร้างภาพเพท-เอ็มอาร์เท่านั้น⁷⁸ Neuner และคณะ (2012) ได้ทดสอบการมองเห็นในอาสาสมัครโดยใช้ EEG ร่วมกับการ สร้างภาพด้วยระบบเพท-เอ็มอาร์ 3 เทสลา ซึ่งให้ผล เช่นเดียวกันกับการสร้างภาพด้วยเอ็มอาร์ไอปกติ⁹¹

ข้อดีและข้อด้อยของเพท-เอ็มอาร์

จากการเปรียบเทียบจุดเด่นจุดด้อยระหว่างเพท-ซีที และเพท-เอ็มอาร์ของ Von Schulthess และคณะ (2009)⁹ รวมทั้งข้อมูลการศึกษาวิจัยทางคลินิกในช่วงระยะเวลา เริ่มต้นของเทคโนโลยีเพท-เอ็มอาร์ดังที่ได้กล่าวข้างต้น 7, 8, 19, 78, 81-91 สามารถสรุปเป็นจุดเด่นและจุดด้อยได้ดังนี้

จุดเด่น

1. เพท-เอ็มอาร์ให้รายละเอียดด้านโครงสร้างของ เนื้อเยื่ออ่อน สมอง ตับ และไขกระดูกได้ดีกว่าการสร้างภาพ เพท-ซีที
2. การศึกษาเปรียบเทียบการสร้างภาพทั้งร่างกาย ระหว่างเพท-เอ็มอาร์กับเพท-ซีที แสดงให้เห็นว่าเอ็มอาร์ไอ มีข้อดีกว่าในการตรวจพบในระยะต้นของการกระจายมะเร็ง สมอง มะเร็งตับ และมะเร็งไขกระดูก ซึ่งสอดคล้องกันเมื่อ พิจารณาระบบเพท-เอ็มอาร์ที่ผสมผสานอย่างสมบูรณ์จะ เห็นดีกว่าเพท-ซีทีในการสร้างภาพมะเร็งบางชนิด
3. เพท-เอ็มอาร์สามารถให้ข้อมูลด้านโครงสร้างและ การทำงานของอวัยวะได้หลายอย่าง เช่น การทำเพอร์ฟิวชัน อธิบายความหนาแน่นของเซลล์ โครงสร้างระดับจุลภาค และ อธิบายเมตาบอลิซึม เซลล์ตาย การเจริญเติบโตของเซลล์ การทำงานของสมอง นอกจากนี้เพท-เอ็มอาร์ยังสามารถใช้ ศึกษาพลศาสตร์และจุลศาสตร์ของยาได้
4. เพท-เอ็มอาร์ระบบการผสมผสานแบบสมบูรณ์สามารถ สร้างภาพเพทได้อย่างต่อเนื่องและพร้อมกันกับการสร้างภาพ เอ็มอาร์ไอทั้งด้านโครงสร้างและการทำงานของอวัยวะ
5. เพท-เอ็มอาร์ระบบผสมผสานแบบสมบูรณ์เอ็มอาร์ไอ สามารถใช้เป็นตัวกำหนดเวลาในการเก็บสัญญาณของเพท ได้เมื่อต้องการเก็บข้อมูลในช่วงเวลาที่เท่ากัน
6. ส่วนของเอ็มอาร์ไอไม่ให้รังสีชนิดที่ก่อให้เกิด ไอออน ดังนั้นการแทนที่ซีทีด้วยเอ็มอาร์ไอในเทคโนโลยีแบบ

ถูกผสมร่วมกับเพทจึงทำให้ลดปริมาณรังสีในผู้ป่วยลงได้ และสามารถใช้ได้กับการสร้างภาพผู้ป่วยเด็กและสตรี

7. ระบบเพท-เอ็มอาร์ที่มีการผสมแบบสมบูรณจะลดระยะเวลาในการสแกนผู้ป่วยลงเมื่อเปรียบเทียบกับ การสแกนแบบทีละระบบ

จุดด้อย

1. มีอำนาจการจำแนกหรือวินิจฉัยต่ำในเนื้อเยื่อปอด ก่อนในปอด และกระดูกเนื้อแข็ง
2. การแก้ค่าการลดทอนพลังงานที่ 511 กิโลอิเล็กตรอน โวลต์ด้วยเอ็มอาร์ไอยังมีขีดจำกัด
3. ระยะเวลาในการสแกนยังคงมากกว่าเพทซีที
4. ข้อมูลการศึกษาวิจัยในคลินิกยังมีน้อย
5. ราคาสูงกว่าเพท-ซีที เนื่องจากเป็นเทคโนโลยีใหม่ (ระบบเพท-เอ็มอาร์ของบริษัทซีเมนส์ ราคาเครื่องประมาณ 4.7 ล้านบาททั้งนี้ขึ้นอยู่กับออปชั่น²³)

บทสรุป

เทคโนโลยีการสร้างภาพเพท-เอ็มอาร์ขนาดความแรงสนามแม่เหล็ก 3 เทสลา ได้รับการรับรองและและอนุญาตให้ใช้กับมนุษย์ในทางคลินิกเมื่อปี ค.ศ. 2011 โดยมีบริษัทผู้ผลิตหลัก 3 ได้แก่ บริษัทซีเมนส์พัฒนาระบบเพท-เอ็มอาร์แบบสมบูรณแบบสร้างภาพเพทและเอ็มอาร์ในเวลาเดียวกัน บริษัทฟิลิปส์พัฒนาระบบเพท-เอ็มอาร์แบบผสมเครื่องต่อเข้ากันและสร้างภาพเอ็มอาร์ไอและสร้างภาพเพทตามลำดับ และบริษัทจีพีพัฒนาระบบเพท-เอ็มอาร์แบบการผสมภาพในแต่ละระบบที่สร้างภาพเป็นอิสระต่อกันแล้วนำมาซ้อนทับกันด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ สำหรับข้อมูลทางคลินิกและจำนวนหน่วยระบบเพท-เอ็มอาร์ยังคงจำกัดเนื่องจากเป็นยุคเริ่มต้นและราคาต่อหน่วยยังคงสูง เพท-เอ็มอาร์ถูกประยุกต์ใช้ในการแพทย์สำหรับการตรวจวินิจฉัยโรคมะเร็ง การหาตำแหน่ง ระยะและการกระจายของมะเร็ง ประยุกต์ใช้กับโรค

ที่มีสาเหตุจากสภาวะเสื่อมและชราภาพของเซลล์สมองและระบบประสาท และประยุกต์ใช้ในการวางแผนการรักษามะเร็งด้วยรังสีในสถานการณ์ปัจจุบันนี้เห็นว่าระบบเพท-เอ็มอาร์สามารถให้ข้อมูลด้านโครงสร้าง ด้านการทำงานในระดับเซลล์และโมเลกุลที่เป็นประโยชน์และช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจวินิจฉัยและรักษาโรคได้อย่างดี พัฒนาการของเทคโนโลยีเพท-เอ็มอาร์ยังไม่ถึงขั้นสูงสุดสามารถที่จะพัฒนาได้อีกในทุกๆ ด้าน ทั้งด้านเครื่องมือ ความแรงสนามแม่เหล็ก เทคนิคและโปรโตคอลการให้คลื่นวิทยุที่เหมาะสมในแต่ละ การตรวจวินิจฉัย เทคนิคการแก้ค่าการลดทอนพลังงานงาน และระบบการสร้างภาพเพท-เอ็มอาร์ สามารถพัฒนาทางด้านความไวในการตรวจวัดตรวจวัดและความถูกต้องแม่นยำ ในการกำหนดตำแหน่งของแอนนินิลิชั่นโฟตอนของตัวตรวจวัดในระบบเพท และรวมทั้งด้านโปรแกรมคอมพิวเตอร์ ในการจัดการภาพที่ได้ในแต่ละระบบและการซ้อนทับกัน ตลอดจนด้านการพัฒนาสารเปรียบต่างและสารเภสัชรังสี ระบบเพท-เอ็มอาร์จะเข้ามามีบทบาทมากขึ้นเรื่อยๆ เพราะให้ข้อมูลบางอย่างที่เทคโนโลยีอื่นไม่สามารถให้ได้ จะเกิดประโยชน์ต่อวงการแพทย์ในการตรวจวินิจฉัย การค้นพบก่อนเกิดโรค การเข้าใจชีววิทยาของโรค การกำหนดสถานะของโรค การวางแผนและการติดตามการรักษาโรคที่เหมาะสมต่อผู้รับบริการเฉพาะรายในที่สุด อย่างไรก็ตามสำหรับประเทศไทยต้องใช้เวลามากกว่า 5 ปี จึงจะมีเทคโนโลยีเพท-เอ็มอาร์ใช้เมื่อถึงเวลาดังกล่าวคาดว่าจะผู้ที่เกี่ยวข้องโดยตรงในการจัดการองค์ความรู้และเทคโนโลยีการสร้างภาพทางการแพทย์เพท-เอ็มอาร์ เช่น นักรังสีเทคนิคจะมีความพร้อมทางด้านความรู้ความสามารถในการจัดการองค์ความรู้ดังกล่าวและมีจำนวนที่เพียงพอ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ศ.ดร.สำร มั่นเขตต์กรณ์ ดร.ชชนก อุดมธนากุลชัยและ ดร.วินิจ ช้อยประเสริฐ เป็นอย่างสูงในการให้คำแนะนำและตรวจแก้ต้นฉบับ

เอกสารอ้างอิง

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, Na'gele 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.
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.
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.
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, Fuirst 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.
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 Phy 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, Vandenberghe 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, Vandenberghe 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, Ched'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, Börner 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, Askund 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. Simultaneous 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-Moeller 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-[18F]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, Fuirst S, Martinez-Moeller 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, Gorbato 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 Intachai¹, Chanyanuch Putim¹, Watchara Kasinrer^{2,3},
Chatchai Tayapiwatana^{2,3}, Bordin Butr-Indr^{1*}

¹Division of Clinical Microbiology, Department of Medical Technology, Faculty of Associated Medical Science, Chiang Mai University

²Division of Clinical Immunology, Department of Medical Technology, Faculty of Associated Medical Science, Chiang Mai University

³Medical 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. Simultaneous 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-Mo'ller 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, Reifemberger G, Müller HW, et al. O-(2-[18F]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, Fu'rst S, Martinez-Mo'ller 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, Gorbato 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 Intachai¹, Chanyanuch Putim¹, Watchara Kasinrer^{2,3},
Chatchai Tayapiwatana^{2,3}, Bordin Butr-Indr^{1*}

¹Division of Clinical Microbiology, Department of Medical Technology, Faculty of Associated Medical Science, Chiang Mai University

²Division of Clinical Immunology, Department of Medical Technology, Faculty of Associated Medical Science, Chiang Mai University

³Medical 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

การประยุกต์ใช้เทคนิค SDS-PAGE เพื่อตรวจหาปริมาณโปรตีน Extracellular Recombinant Single-chain Variable Fragment Anti-HIV-1 p17 จากโปรตีนรวม

กรรณภรณ์ อินทชัย¹,
ชัชชัย ตะยาภักดิ์^{2,3}

ชัยบุญนุช ภูทิม¹
บดินทร์ บุตรอินทร์¹

วัชร กสิณฤกษ์^{2,3}

¹แขนงวิชาจุลชีววิทยาคลินิก ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

²แขนงวิชาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

³ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีชีวการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

* ผู้รับผิดชอบบทความ

บทคัดย่อ

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนลูกผสมที่จำเพาะจากโปรตีนรวมทำได้ยาก เนื่องจากโปรตีนที่ต้องการยังไม่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ ปัจจุบันการพัฒนาเทคนิคการหาปริมาณโปรตีนลูกผสมที่จำเพาะจากโปรตีนรวมโดยตรงด้วยวิธี quantitative sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) นำมาใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนหลายชนิด เช่น การหาโปรตีน Tamm-Horsfall glycoprotein เพื่อตรวจคัดกรองผู้ป่วยโรคนี้ในไต และการตรวจหาปริมาณโปรตีน 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 และตัวควบคุมภายใน จากการศึกษาพบว่า การสร้างกราฟมาตรฐานโปรตีน BSA จากพื้นที่ใต้กราฟที่วิเคราะห์จากความเข้มของแถบโปรตีน 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 ทำให้ทราบปริมาณโปรตีนโดยไม่ต้องผ่านขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์โปรตีน ช่วยลดระยะเวลา และการสูญเสียโปรตีน สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับการหาปริมาณโปรตีนบ่งชี้ที่สำคัญทางการแพทย์ได้ในอนาคต **วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2556; 46(2): 107-121**

คำรหัส: : โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต พอลิอะคริลามิได์เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส ซิงเกิลเชน แวเรียเบิล แฟรกเมนต์ เมทริกซ์ โปรตีนพี-17 เอชไอวี-1

บทนำ

เทคโนโลยีการผลิตโปรตีนลูกผสม (recombinant protein) เพื่อใช้ในการวินิจฉัย การรักษาโรค และงานวิจัย เช่น การผลิตโปรตีนอินซูลินเพื่อช่วยรักษาผู้ป่วยเบาหวาน¹ การผลิตโปรตีน single chain variable fragment (scFv) ที่มีความสามารถในการจับอย่างจำเพาะกับแอนติเจนได้หลากหลาย

ชนิด เพื่อใช้ในการรักษาการตรวจวินิจฉัยมะเร็งชนิดต่าง ๆ เช่น มะเร็งเม็ดเลือดขาว มะเร็งต่อมน้ำเหลือง และมะเร็งลำไส้ เป็นต้น² จากประโยชน์ดังกล่าวการผลิต scFv เพื่อใช้ในการแพทย์มีความสำคัญเป็นอย่างมาก การทดสอบประสิทธิภาพการผลิตโปรตีนลูกผสมมีหลายขั้นตอน การหา

ปริมาณโปรตีนเป็นขั้นตอนหนึ่งที่แสดงถึงผลผลิตโปรตีนที่ได้ มีปริมาณมากเพียงพอต่อการใช้งานหรือไม่ วิธีการหาปริมาณโปรตีนโดยทั่วไปคือ วิธี Kjeldahl วิธี Biuret วิธี Lowry-Folin และวิธี Bradford การหาปริมาณโปรตีนด้วยวิธีข้างต้น นิยมใช้คำนวณหาปริมาณโปรตีนในรูปแบบการหาโปรตีนรวมจึงไม่สามารถหาปริมาณโปรตีนที่จำเพาะจากโปรตีนที่ไม่ผ่านขั้นตอนการทำบริสุทธิ์ได้

เทคนิค quantitative sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis (quantitative SDS-PAGE) เป็นเทคนิคที่นำมาใช้ในงานวิเคราะห์โปรตีนชนิดใดชนิดหนึ่งจากโปรตีนรวม โดยแยกโปรตีนภายใต้สนามไฟฟ้าอาศัยความแตกต่างของน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนที่มีโครงสร้างปฐมภูมิต่างกัน และหาปริมาณโปรตีนจากความเข้มของแถบโปรตีนที่จำเพาะเมื่อเทียบกับโปรตีนมาตรฐาน การวิเคราะห์โปรตีนด้วยเทคนิค quantitative SDS-PAGE เป็นเทคนิคที่ง่าย และน่าเชื่อถือ จากการศึกษที่ผ่านมา เทคนิค quantitative SDS-PAGE ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร และทางการแพทย์ Tomaszewska-Gras และคณะได้ศึกษาหาปริมาณโปรตีน titin และ nebulin ในเนื้อไก่ด้วยเทคนิค SDS-PAGE โดยใช้ β -galactosidase เป็นตัวควบคุมภายใน พบว่าปริมาณโปรตีนที่คำนวณได้มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์คิดเป็น 0.91-0.99³ การศึกษาของ Hofman และคณะตรวจหาปริมาณคอลลาเจนที่มีความเข้มข้นต่ำ ในการผลิตเบียร์ด้วยเทคนิค semi-quantitative SDS-PAGE โดยสามารถตรวจหาคอลลาเจนที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 0.03 ppm การศึกษาของ Wai-hoe และคณะหาปริมาณ Tamm-Horsfall glycoprotein (THP) ด้วยวิธี SDS-PAGE โดยใช้โปรตีน THP มาตรฐาน เป็นตัวควบคุมภายนอกเพื่อใช้ในการคัดกรองผู้ป่วยโรคนี้ในไตจากการศึกษาให้ค่าความสามารถในการให้ผลซ้ำ (Reproducibility) และค่าความสามารถในการวัดซ้ำ (Repeatability) เท่ากับ 4.8 % CV และ 2.6 % CV ตามลำดับ พบว่าสามารถคัดกรองผู้ป่วยออกจากคนปกติได้ โดยมีความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) สูงถึง 92.3% และ 83.3% ตามลำดับ⁴ การศึกษาของ Li และคณะทำการตรวจหาปริมาณโปรตีนในน้ำตาที่เปลี่ยนแปลงในผู้ป่วยโรคตาด้วยวิธี SDS-PAGE densitometry โดยใช้โปรตีน soybean trypsin inhibitor (SBTI) เป็น ตัวควบคุมภายใน พบว่า เทคนิคนี้สามารถใช้ในการวินิจฉัยการเกิดโรคตาได้โดยวิเคราะห์จากปริมาณโปรตีนในน้ำตาที่เปลี่ยนแปลงไป⁵ Ricný และคณะศึกษาการหาปริมาณ myosin heavy chain (MyHC) isoforms ในกล้ามเนื้อด้วยวิธี ELISA เปรียบเทียบกับวิธี SDS-PAGE พบว่าความถูกต้อง และความเร็วของวิธี ELISA ให้ผลใกล้เคียงกับการหา

ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE⁶

ในการศึกษาครั้งนี้คณะผู้วิจัยผลิตโปรตีน single-chain variable fragment anti-p17 (scFv anti-p17) ออกนอกเซลล์จากเชื้อ *Escherichia coli* สายพันธุ์ HB2151 ซึ่ง scFv เป็นโปรตีนลูกผสมที่มีขนาดโมเลกุลขนาดเล็กกว่าแอนติบอดีปกติ (intact antibody) 5-6 เท่าโดยมีขนาดโมเลกุลประมาณ 27-30 กิโลดาลตัน โครงสร้างของ scFv ประกอบด้วย variable light chain และ variable heavy chain โดยต่อกันด้วยสายเปปไทด์สายสั้น ๆ ขนาด 10-25 กรดอะมิโน สามารถจับอย่างจำเพาะกับแอนติเจน และแทรกเข้าสู่เนื้อเยื่อต่าง ๆ ได้ดีเมื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการรักษาโรคในผู้ป่วย scFv มีโอกาสกระตุ้นให้ผู้ป่วยสร้างแอนติบอดีของผู้ป่วยต่อ scFv ได้น้อยกว่าเมื่อเทียบกับการใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดีในการรักษา จากความสำคัญของ scFv ดังกล่าวมาข้างต้น นักวิทยาศาสตร์จึงศึกษาคุณสมบัติและการใช้งาน scFv มากขึ้นจากการศึกษาของ Lim และคณะทำการผลิต และทำบริสุทธิ์ scFv ต่อ exotoxin ของเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* จาก *E. coli* สายพันธุ์ HB2151 พบว่าโปรตีนที่ผลิตได้มีขนาดโมเลกุลประมาณ 27.5 กิโลดาลตัน และสามารถนำไปใช้ในการทดลองอื่นต่อไปได้⁷ Tragoolpua และคณะได้ศึกษาการแสดงออกของ scFv-M6-1B9 intrabody ที่มีความจำเพาะกับ CD147 พบว่าสามารถลดการแสดงออกของ CD147 บนผิวเซลล์ 239A⁸ และการศึกษาของ Mukhtar และคณะเกี่ยวกับการแสดงออกของ single chain intracellular antibodies ที่มีความจำเพาะกับ nucleoprotein ของเชื้อไวรัส influenza ชนิด A พบว่าสามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อไวรัส influenza ชนิด A ได้⁹ Gal-Tanamy และคณะสร้าง intrabodies ต่อเอนไซม์ NS3 protease เพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ NS3 protease ของเชื้อไวรัสตับอักเสบบีชนิดซี พบว่าสามารถลดการเพิ่มจำนวนของไวรัสตับอักเสบบีชนิดซี¹¹ จากการศึกษที่ผ่านมาแสดงให้เห็นการใช้ประโยชน์ scFv ในรูปแบบต่าง ๆ แต่การผลิต scFv เพื่อใช้ประโยชน์ยังมีปัญหาในการหาปริมาณของ scFv ที่ผลิตได้ การผลิต scFv โดยแบคทีเรียมีขั้นตอนการทำบริสุทธิ์โปรตีนหลายขั้นตอนทำให้โปรตีนที่ได้สูญเสียไปในขั้นตอนการทำบริสุทธิ์ และการติดตามโปรตีนเป้าหมายทำได้ยาก ดังนั้นการศึกษานี้จึงได้พัฒนาเทคนิค quantitative SDS-PAGE เพื่อใช้ในการหาปริมาณโปรตีน scFv anti-p17 ที่ผลิตโดยเชื้อ *E. coli* สายพันธุ์ HB2151 หลังออกนอกเซลล์โดยตรงจากโปรตีนรวม เพื่อลดขั้นตอนการทำบริสุทธิ์โปรตีน ตรวจติดตามปริมาณโปรตีนในแต่ละขั้นตอนของการทำบริสุทธิ์ และสามารถประยุกต์ใช้กับการผลิตโปรตีนลูกผสมชนิดต่าง ๆ จากเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้ในอนาคต

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_2PO_4 , 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 เขย่า 200 รอบต่อวินาที เป็นเวลา 16 ชั่วโมง ตกตะกอนโปรตีนจากอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตความเข้มข้น 70% ปั่นแยกโปรตีนที่ตกตะกอนด้วยเครื่องเหวี่ยงสารตกตะกอน ที่ความเร็วรอบ 6000 g นำโปรตีนผ่านการตกตะกอนไปผ่านกระบวนการไดอะไลซิส (dialysis) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นนำโปรตีนไปหาปริมาณด้วยวิธี SDS-PAGE ต่อไป

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 นำไปต้มที่ 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 โดยใช้น้ำยาและสีย้อมปริมาตร 15 มิลลิลิตร ต่อการย้อม polyacrylamide gel 1 เจล

Table 1 Coomassie Blue staining protocol³

	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 จากนั้นย้ายโปรตีนจากเจลสู่แผ่นเมมเบรน polyvinylidene difluoride (PVDF) ด้วยเครื่อง electroblot ใช้กระแสไฟฟ้า 54 มิลลิแอมแปร์ เวลา 110 นาที จากนั้นเดิม 5% skim milk/phosphate buffer saline (PBS, pH 7.2) บนเมมเบรน PVDF บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง เดิม 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 เดิม 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 เดิม chemiluminescent substrates (Pierce, USA) ลงบนแผ่นเมมเบรน และประกบฟิล์มในท้องมืดทิ้งไว้ 30 นาที

4. การตรวจสอบโปรตีน scFv anti-p17 ด้วยวิธี direct ELISA

เพื่อทดสอบความสามารถในการจับกับแอนติเจนของโปรตีน scFv anti-p17 และยืนยันว่ามีโปรตีน scFv anti-p17 อยู่ในโปรตีนรวม โดยเคลือบแอนติเจนเปปไทด์ p17 ที่จำเพาะต่อ scFv anti-p17 ในไมโครเพลททิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ซ้ำมคืน ล้างเพลทด้วย 0.05% Tween20/TBS 3 ครั้ง เดิม 2% BSA /TBS หลุมละ 200 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 ชั่วโมง จากนั้นล้างเพลทด้วย 0.05% Tween20/TBS 3 ครั้ง เจือจางโปรตีน scFv anti-p17 ที่ผลิตได้ให้มีความเข้มข้นโปรตีนรวม 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเติมลงไปในหลุม ปริมาตร 50 ไมโครลิตร สำหรับหลุมควบคุมชนิดผลบวก (positive control) เดิม scFv anti-p17 ที่เคยทำการทดสอบแล้วได้ผลบวกลงในหลุม ปริมาตร 50 ไมโครลิตร หลุมควบคุมชนิดผลลบ (negative control) เดิม scFv-M61B9 ลงในหลุม ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง จากนั้นล้างออก ด้วย 0.05% Tween20/TBS 3 ครั้ง เดิม 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 ปิดฝาครอบไว้ในที่มืดทิ้งนาน 30 นาที หยุดการทำปฏิกิริยาด้วยการเติม 1N HCl หลุมละ 50 ไมโครลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร

5. การหาปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Quantitative SDS-PAGE

5.1 การสร้างกราฟมาตรฐาน

วิเคราะห์ความเข้มของแถบโปรตีนบนเจลที่ย้อมด้วยสี coomassie brilliant blue ด้วยเครื่อง Image Scanner III (GE healthcare) โปรแกรม ImageQuant TL programme

5.1.1 การสร้างกราฟมาตรฐาน โดยใช้โปรตีน BSA มาตรฐานเป็นตัวควบคุมภายนอก

แยกโปรตีน BSA มาตรฐานความเข้มข้น 1.875, 0.9375, 0.469, 0.234 และ 0.117 ไมโครกรัม ด้วยวิธี SDS-PAGE และวิเคราะห์พื้นที่ใต้กราฟของ โปรตีน BSA มาตรฐาน สร้างกราฟมาตรฐานจากค่าพื้นที่ใต้กราฟของโปรตีน BSA มาตรฐาน โดยกำหนดให้แกนตั้งแสดงพื้นที่ใต้กราฟ และแกนนอนแสดงความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐาน ในหน่วยไมโครกรัม

คำนวณความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐานจากกราฟ และสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐานที่ทราบค่า และความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐานที่คำนวณได้จากกราฟ

5.1.2 การสร้างกราฟมาตรฐาน โดยใช้โปรตีน BSA มาตรฐานเป็นตัวควบคุมภายใน

แยกโปรตีน BSA มาตรฐานความเข้มข้น 1.875, 0.9375, 0.469, 0.234 และ 0.117 ไมโครกรัม ผสมกับโปรตีนรวมความเข้มข้น 20 ไมโครกรัม ด้วยวิธี SDS-PAGE และวิเคราะห์พื้นที่ใต้กราฟของโปรตีน BSA มาตรฐาน สร้างกราฟมาตรฐานจากพื้นที่ใต้กราฟของโปรตีน BSA มาตรฐาน

โดยกำหนดให้แกนตั้งแสดงพื้นที่ใต้กราฟ และแกนนอนแสดงความเข้มข้นของโปรตีน BSA ในหน่วยไมโครกรัม

คำนวณความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐานจากกราฟ และสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐานที่โหลดลงในเจล และความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐานที่คำนวณได้จากกราฟ

5.2 การหาปริมาณโปรตีน scFv anti-p17 โดยใช้โปรตีน BSA มาตรฐานเป็นตัวควบคุมภายใน

เตรียมโปรตีน BSA มาตรฐาน ความเข้มข้น 1.875, 0.9375, 0.469, 0.234 และ 0.117 ไมโครกรัม ผสมโปรตีนรวมความเข้มข้น 20 ไมโครกรัม นำไปวิเคราะห์โปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE และ western immunoblotting คำนวณหาความเข้มข้นของ scFv anti-p17 จากค่าพื้นที่ใต้กราฟของความเข้มของแถบโปรตีน scFv anti-p17 จากการประยุกต์สูตรการคำนวณของ Tomaszewska-Gras J. และคณะ³

ผลการทดลอง

1. กราฟมาตรฐานจากโปรตีน BSA มาตรฐาน และกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐานที่ทราบค่า และความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐานที่คำนวณได้โดยใช้โปรตีน BSA มาตรฐานเป็นตัวควบคุมภายนอก

แยกโปรตีน BSA มาตรฐานความเข้มข้น 1.875, 0.9375, 0.469, 0.234 และ 0.117 ไมโครกรัม ด้วยวิธี SDS-PAGE พบแถบโปรตีนของโปรตีน BSA มาตรฐานเป็นแถบเดียว น้ำหนักโมเลกุลประมาณ 65 กิโลดาลตัน เมื่อเทียบกับ molecular weight marker ความเข้มของแถบโปรตีนลดลงตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 1 เมื่อวิเคราะห์ความเข้มของแถบโปรตีนในเจลด้วยโปรแกรม ImageQuant TL programme ซึ่งแสดงผลเป็นค่าพื้นที่ใต้กราฟ พบว่า ค่าพื้นที่

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

สมการคำนวณปริมาณโปรตีนที่ประยุกต์จากการศึกษาของ Tomaszewska-Gras J. และ คณะ³

โดย	X	แทน	ความเข้มข้นของโปรตีนที่คำนวณได้ในหน่วยเปอร์เซ็นต์
	P _(protein peak)	แทน	ค่าพื้นที่ใต้กราฟของโปรตีนที่ต้องการทราบความเข้มข้น
	P _(int. standard)	แทน	ค่าพื้นที่ใต้กราฟของตัวควบคุมภายใน
	S _(int. standard)	แทน	ความเข้มข้นของตัวควบคุมภายใน
	S _(total protein)	แทน	ความเข้มข้นของโปรตีนรวม

ได้กราฟ ลดลงตามความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐานที่
ลดลงตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 2 และตารางที่ 2 ตามลำดับ
เมื่อนำค่าพื้นที่ได้กราฟ จากตารางที่ 2 มาสร้างกราฟ

มาตรฐาน ได้กราฟเส้นตรงมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ $R \geq 0.98$ ดังแสดงในรูปที่ 3 ผลการคำนวณค่าความเข้มข้น
ของโปรตีน BSA มาตรฐานจากกราฟ และค่าสัมประสิทธิ์

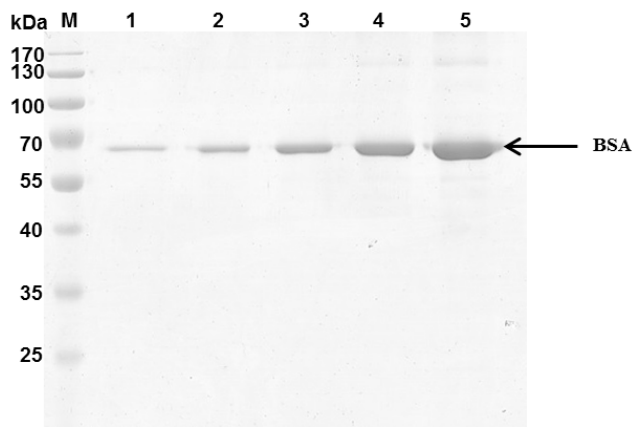


Figure 1 SDS-PAGE analysis of various concentrations of standard BSA; Lane 1-5: 1.875, 0.9375, 0.469, 0.234, 0.117 μg , respectively, Lane M: Prestained protein ladder

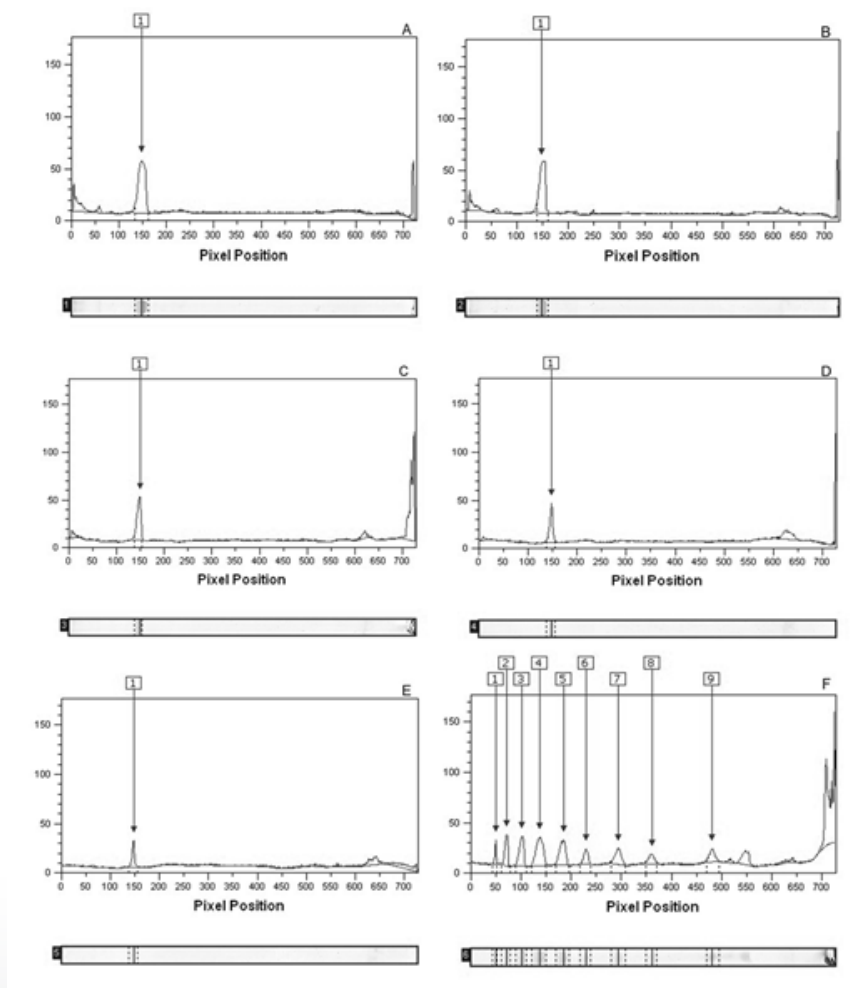


Figure 2 Peak areas of various concentrations of standard BSA intensity; (A-E) Peak areas of 1.875, 0.9375, 0.469, 0.234, 0.117 μg , respectively. (F) Peak area of molecular weight marker intensity

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. (μ 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 มาตรฐานที่คำนวณได้จากกราฟต่อความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐานที่ทราบค่า คือ 1.862, 0.952, 0.495, 0.245, และ 0.099 ไมโครกรัม ตามลำดับ ค่าความคลาดเคลื่อนสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนได้ 2.11, 8.58, 10.83, 10.72 และ 39.35 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3 โดยค่าความเข้มข้นที่คำนวณได้จะยอมรับที่ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนน้อยกว่า 35% จากการทดลองพบว่าความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐาน เท่ากับ 0.099 ไมโครกรัม มีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนมากกว่า 35% ที่ความเข้มข้นดังกล่าวจึงไม่นำมา

ใช้เป็นตัวควบคุมภายนอกในการคำนวณปริมาณโปรตีน ในการทดลองครั้งนี้เมื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐานที่คำนวณได้จากกราฟกับค่าความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐาน ได้กราฟเส้นตรงที่ทับกันดังแสดงในรูปที่ 4 ซึ่งเป็นการยืนยันความน่าเชื่อถือ และความถูกต้องของการคำนวณหาปริมาณโปรตีนจากกราฟมาตรฐานที่สร้างขึ้น โดยมีโปรตีน BSA มาตรฐานเป็นตัวควบคุมภายนอก เพื่อใช้ในการหาปริมาณโปรตีนจากเจลที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.245 – 1.862 ไมโครกรัม

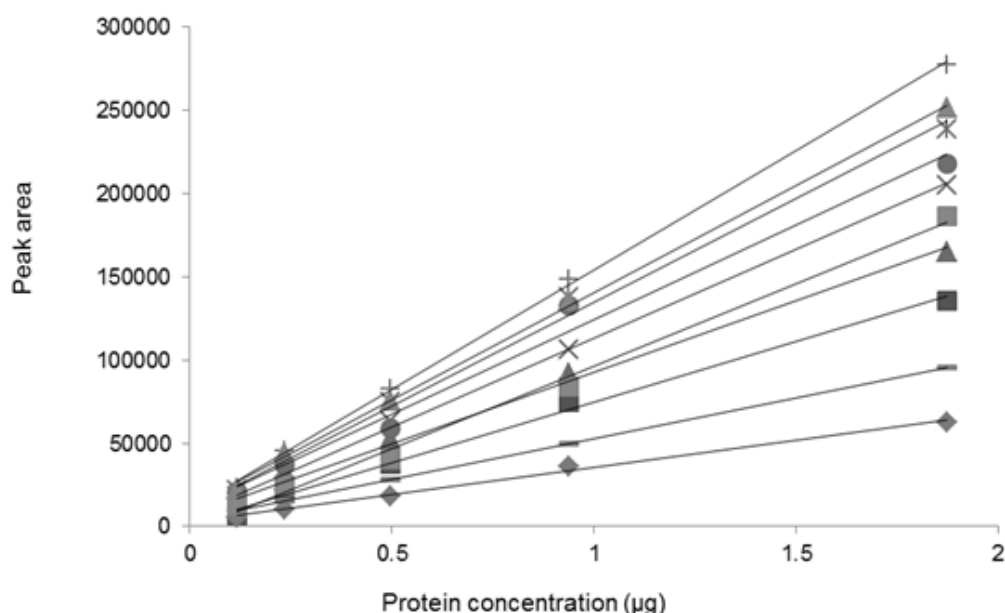


Figure 3 Standard curve of quantitative determination of scFv anti-p17 protein using standard BSA as external control from 10 experiment

Table 3 Concentration of standard BSA calculated by standard curve

Standard BSA concentration (µg)	Standard BSA concentration (µg) 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

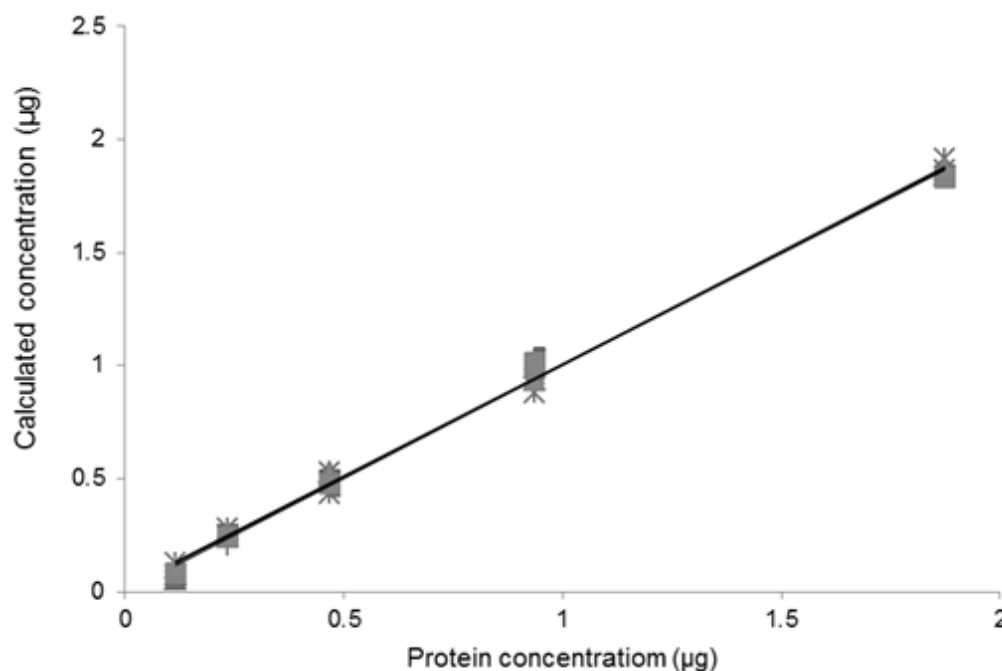


Figure 4 Relationship between standard BSA concentrations determined by standard curve actual loaded into gel from 10 experiments

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 มาตรฐานมีขนาดโมเลกุลประมาณ 65 กิโลดาลตัน เมื่อเทียบกับ molecular

weight marker โดยความเข้มของแถบโปรตีนลดลงตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 5 เมื่อวิเคราะห์ความเข้มของแถบโปรตีนในเจลด้วยโปรแกรม ImageQuant TL programme ซึ่งแสดงผลเป็นค่าพื้นที่ใต้กราฟ พบว่าค่าพื้นที่ใต้กราฟลดลงตามความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐานที่ลดลงตามลำดับดังแสดงในรูปที่ 6 และตารางที่ 4

สร้างกราฟมาตรฐานจากค่าพื้นที่ใต้กราฟในตารางที่ 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 ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน

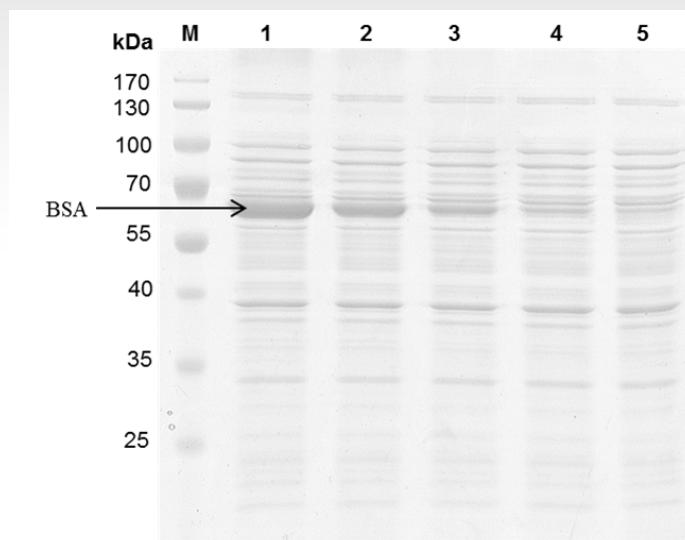


Figure 5 SDS-PAGE analysis of various concentrations of standard BSA; Lane 1-5: 1.875, 0.9375, 0.469, 0.234, 0.117 μ g, respectively, (Arrows), Lane M: Prestained protein ladder

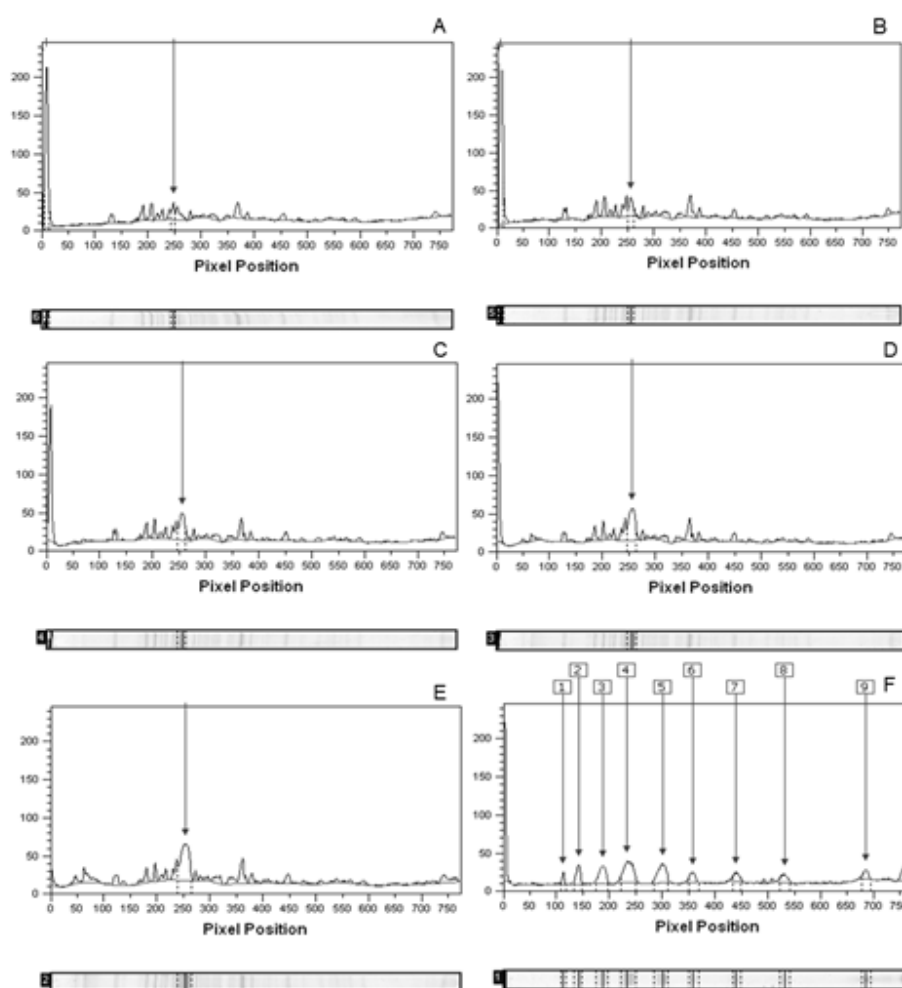


Figure 6 Peak areas of various concentrations of standard BSA intensity. (A-E) Peak areas of 1.875, 0.9375, 0.469, 0.234 and 0.117 μ g, respectively, (Arrows), (F) Peak areas of molecular weight marker intensity

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

Std BSA Conc. (μ 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 มาตรฐานที่คำนวณได้จากกราฟต่อความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐานที่ทราบค่า คือ 2.459, 6.605, 10.054, 17.442 และ 62.282 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 5 โดยค่าความเข้มข้นที่คำนวณได้จะยอมรับที่ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนน้อยกว่า 35%³ เมื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐานที่คำนวณได้จากกราฟกับค่าความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐานที่กำหนดค่า ได้กราฟเส้นตรงดังแสดงใน รูปที่ 8 เป็นการยืนยันความน่าเชื่อถือ และความถูกต้องของการคำนวณหาปริมาณโปรตีนจากกราฟมาตรฐานที่สร้างขึ้น โดยมีโปรตีน BSA มาตรฐาน เป็นตัวควบคุมภายในเพื่อใช้ในการหาปริมาณโปรตีนจากเจลที่ความเข้มข้นตั้งแต่

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 มาตรฐานความเข้มข้น 1.875 ไมโครกรัม เป็นตัวควบคุมภายใน และตรวจหาโปรตีน scFv anti-p17 ด้วยวิธี western immunoblotting พบแถบโปรตีน scFv anti-p17 ขนาด 27 กิโลดาลตัน ดังแสดงในรูปที่ 9 และ 10 และให้ผลบวกเมื่อตรวจสอบโปรตีนด้วยวิธี ELISA

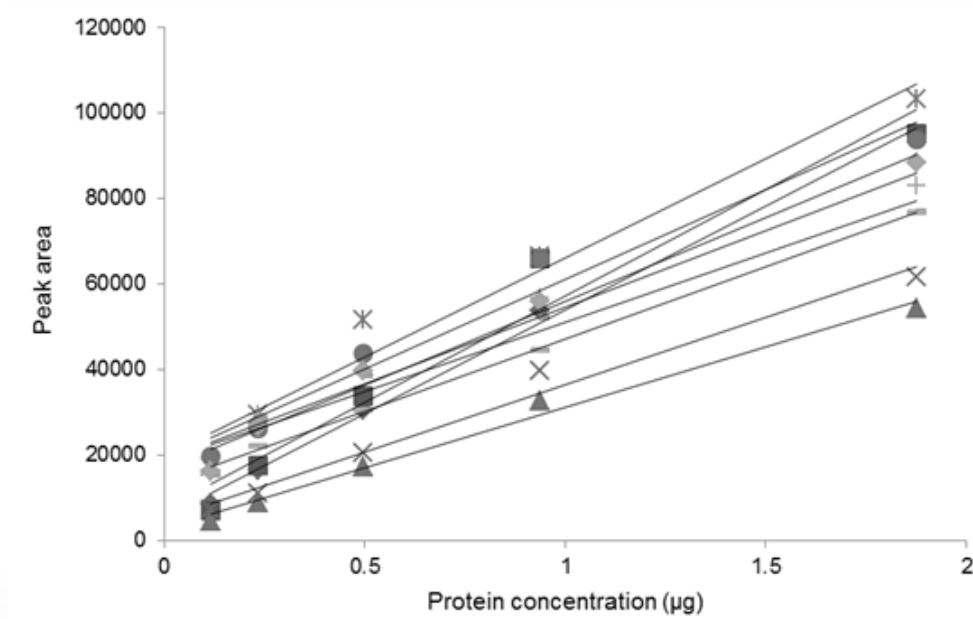


Figure 7 Standard curves of quantitative determination of scFv anti-p17 protein using standard BSA as internal control from 10 experiments

Table 5 Concentrations of standard BSA calculated by standard curve

Standard BSA concentration (μg)	Standard BSA concentration (μg) 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

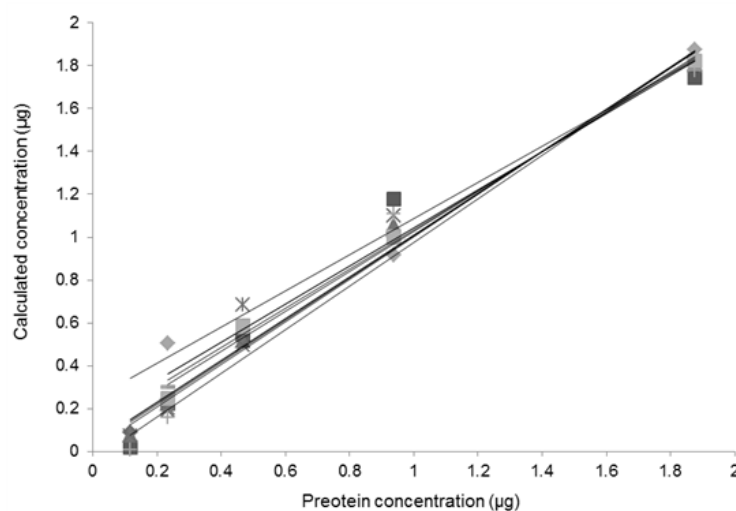


Figure 8 Relationship between standard BSA concentrations determined by standard curve and actual loaded into gel from 10 experiments

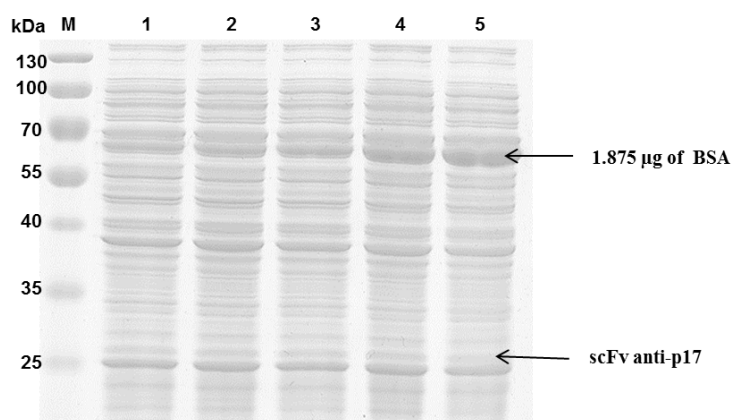


Figure 9 SDS-PAGE analysis for quantitative determination of scFv anti-p17 using 1.875 μg of standard BSA as internal control; Lane 1-5: crude protein (Solid arrows) mixed with 1.875 μg of standard BSA (Dash arrows), Lane M: Prestained protein ladder

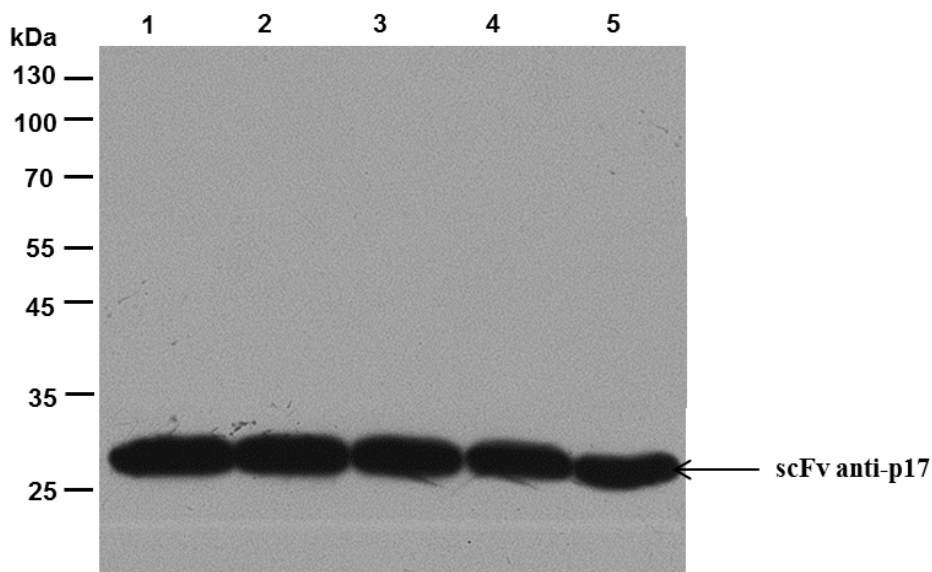


Figure 10 Western immunoblotting analysis of scFv anti-p17; Lane 1-5: 20 µg of crude protein mixed with 1.875 µg of standard BSA

จากการวิเคราะห์พื้นที่ใต้กราฟของโปรตีน scFv anti-p17 ด้วยโปรแกรม ImageQuant TL programme ได้ค่าเฉลี่ยพื้นที่ใต้กราฟของ 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 มิลลิกรัมต่อปริมาตรการเลี้ยงเชื้อ 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 จากโปรตีนรวม โดยหาปริมาณโปรตีน scFv anti-p17 จากโปรตีนรวมที่ผลิตได้จำนวน 19 ตัวอย่าง โดยใช้โปรตีน BSA มาตรฐานความเข้มข้น 1.875 ไมโครกรัม เป็นตัวควบคุมภายใน เมื่อทดสอบโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE และ western immunoblotting พบแถบโปรตีนขนาด 27 กิโลดาลตัน และให้ผลบวกเมื่อทดสอบ

โปรตีนด้วยวิธี ELISA เมื่อวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนจากการคำนวณพื้นที่ใต้กราฟของความเข้มของแถบโปรตีนตามสูตรที่กล่าวมาข้างต้น 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	IPTG ^a (μ M)	Temperature ($^{\circ}$ C)	Time (h)	Agitation rate (rpm)	Total extracellular protein (TP) (mg/ml)	Recombinant scFv anti-p17 ^b (p17) (OD450nm)	scFv anti-p17 ^c (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

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

0.117 ไมโครกรัม เป็นตัวควบคุมภายนอก สามารถสร้างกราฟเส้นตรง ($R \geq 0.98$) ดังนั้นหากความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐานเพิ่มขึ้น ค่าพื้นที่ใต้กราฟที่วิเคราะห์ได้จะเพิ่มขึ้นตาม เมื่อดำเนินการหาปริมาณของโปรตีน BSA มาตรฐาน จากกราฟมาตรฐาน โดยกำหนดให้ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนน้อยกว่า 35%³ พบว่า โปรตีน BSA มาตรฐาน ที่ความเข้มข้น 0.117 ไมโครกรัม ค่าความคลาดเคลื่อนสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนได้ 39.35% ซึ่งมากกว่าค่าที่กำหนดไว้ ดังนั้นหากโปรตีนมีความเข้มข้นน้อยกว่า 0.234 ไมโครกรัม เมื่อนำมาคำนวณหาปริมาณโปรตีนค่าที่ได้ไม่อยู่ในช่วงค่าที่ยอมรับ และเมื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐานที่คำนวณได้จากกราฟกับความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐานที่ทราบค่า พบว่าได้กราฟเส้นตรงทั้ง 10 เส้น ทับกันทั้งหมด มีค่า $R \geq 0.98$ แสดงให้เห็นว่าโปรตีน BSA มาตรฐานที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 0.234 ไมโครกรัม สามารถใช้เป็นตัวควบคุมภายนอกได้

เมื่อสร้างกราฟมาตรฐานโดยใช้โปรตีน BSA มาตรฐาน ความเข้มข้น 1.875, 0.9375, 0.469, 0.234 และ 0.117 ไมโครกรัม เป็นตัวควบคุมภายใน ของโปรตีนรวมที่มีความเข้มข้น เท่ากับ 20 ไมโครกรัม สามารถสร้างกราฟเส้นตรง ($R \geq 0.98$) แสดงให้เห็นว่าค่าพื้นที่ใต้กราฟที่วิเคราะห์ได้เพิ่มขึ้นตามค่าความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐาน และปริมาณของโปรตีน BSA มาตรฐานที่คำนวณได้จากกราฟมาตรฐาน มีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนน้อยกว่า 35% แต่พบว่าโปรตีน BSA มาตรฐาน ที่ความเข้มข้น 0.117 ไมโครกรัม มีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนเท่ากับ 62.282 ซึ่งมากกว่าค่าที่

กำหนดไว้ ดังนั้นหากปริมาณโปรตีนมีความเข้มข้นน้อยกว่า 0.234 ไมโครกรัม เมื่อนำมาคำนวณหาปริมาณค่าที่ได้ไม่อยู่ในช่วงค่าที่ยอมรับ และเมื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐานที่คำนวณได้จากกราฟกับความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐานที่ทราบค่า พบว่าได้กราฟเส้นตรงทั้ง 10 เส้น ($R \geq 0.98$) ดังนั้นโปรตีน BSA มาตรฐาน ที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 0.234 ไมโครกรัม สามารถใช้เป็นตัวควบคุมภายในได้

นอกจากการสร้างกราฟมาตรฐานโดยใช้โปรตีน BSA มาตรฐาน เป็นตัวควบคุมภายนอก และตัวควบคุมภายใน ปัจจัยที่มีผลต่อค่าความถูกต้องในการหาปริมาณโปรตีน ด้วยเทคนิค quantitative SDS-PAGE คือขั้นตอนการย้อมโปรตีน และปริมาตรโปรตีนที่โหลดในเจล การศึกษาครั้งนี้ ย้อมโปรตีนด้วย Coomassie blue R-250 และล้างสีส่วนเกินออกด้วยกรดอะซิติก ความเข้มข้น และปริมาตรของสีย้อมระยะเวลาในการย้อม และการล้างสีส่วนเกิน มีความสำคัญอย่างมากในการหาปริมาณโปรตีนด้วยเทคนิคนี้ เนื่องจากต้องคำนวณปริมาณจากพื้นที่ใต้กราฟของความเข้มของแถบโปรตีน ดังนั้นในขั้นตอนการย้อมโปรตีนแต่ละครั้ง ระยะเวลาและปริมาตรของสารที่ใช้ต้องเท่ากันทุกครั้ง³ และปริมาตรของโปรตีนตัวอย่างที่ใช้โหลดลงในเจล ต้องเป็นปริมาตรที่พอดีกับปริมาตรของหลุมบนเจล ซึ่งหากโหลดโปรตีนปริมาณมากเกินไปจนล้นออกนอกหลุม อาจทำให้ค่าปริมาณโปรตีนที่ต้องการไม่สอดคล้องกับปริมาตรโปรตีนที่โหลดลงบนเจล หรือหากโหลดโปรตีนน้อยเกินไปอาจทำให้ไม่ปรากฏแถบโปรตีนที่ต้องการวัดปริมาณบนเจล ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ได้

โพลีโปรตีนปริมาตร 12.5 ไมโครลิตร ซึ่งเป็นปริมาตรที่พอดีและไม่ล้นออกนอกหลอด

จากการสร้างกราฟมาตรฐานจากโปรตีน BSA มาตรฐาน โดยได้กราฟเชิงเส้น ใช้โปรตีน BSA มาตรฐานเป็นตัวควบคุมภายใน ในการหาปริมาณโปรตีน scFv anti-p17 โดยกำหนดตำแหน่งแถบโปรตีนที่ต้องการวิเคราะห์ด้วยวิธี western immunoblotting และทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง พบว่าโปรตีน scFv anti-p17 มีขนาดโมเลกุลเท่ากับ 27 กิโลดาลตัน จึงเลือกแถบโปรตีนตำแหน่งนี้ในการหาปริมาณโปรตีน scFv anti-p17 โดยใช้สูตรคำนวณดังที่กล่าวมาข้างต้น ใช้โปรตีน BSA มาตรฐานความเข้มข้น 1.875 ไมโครกรัม เป็นตัวควบคุมภายใน เนื่องจากให้ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนน้อยที่สุด พบว่าสามารถคำนวณปริมาณโปรตีน scFv anti-p17 ได้ 3.275% คิดเป็น 1.637 มิลลิกรัมต่อปริมาตรการเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร และการใช้โปรตีน BSA มาตรฐาน เป็นตัวควบคุมภายใน เพื่อคำนวณหาปริมาณโปรตีนมีค่าความไวที่ 0.234 ไมโครกรัม หากโปรตีนที่ต้องการหาปริมาณมีค่าต่ำกว่า 0.234 ไมโครกรัม จะไม่สามารถคำนวณได้ด้วยวิธีนี้ เนื่องจากค่าไม่อยู่ในช่วงกราฟมาตรฐานที่สร้างขึ้น

เมื่อทดลองสูตรตัวอย่างโปรตีน scFv anti-p17 จากโปรตีนรวมจำนวน 19 ตัวอย่าง ในการเลี้ยงเชื้อที่สภาวะต่าง ๆ แตกต่างกัน 19 สภาวะ โดยใช้โปรตีน BSA มาตรฐานที่ความเข้มข้น 1.875 ไมโครกรัม เป็นตัวควบคุมภายใน ซึ่งอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ พบว่าสามารถคำนวณปริมาณโปรตีนได้จากสูตรทุกตัวอย่าง และเมื่อนำโปรตีน scFv anti-p17 มาทดสอบด้วย western immunoblotting และ ELISA พบว่าให้ผลการทดลองที่สอดคล้องกับวิธี quantitative SDS-PAGE

การศึกษานี้เป็นงานวิจัยที่ประยุกต์ใช้วิธี SDS-PAGE เพื่อหาปริมาณ extracellular protein ที่ผลิตจากเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งผลการศึกษาในครั้งนี้เป็นครั้งแรกที่มีการประยุกต์ใช้เทคนิค quantitative SDS-PAGE ในการหาปริมาณโปรตีนที่สร้างจากเชื้อจุลินทรีย์นอกเซลล์ โดยพัฒนาเทคนิคจากการศึกษาของ Wai-hoe และคณะ⁴ การศึกษานี้มี

ความสัมพันธ์กับการศึกษาของ Zupan และคณะได้พัฒนาเทคนิคการแยกและวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนผนังเซลล์จากเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ชนิดลูกกลม และไม่ลูกกลม ด้วยวิธี SDS-PAGE โดยโปรตีนตัวอย่างไม่ผ่านการทำบริสุทธิ์จากการทดลองสามารถแยกโปรตีนได้กว่า 20 ชนิดที่มีขนาดตั้งแต่ 60 ถึง 220 กิโลดาลตัน และคำนวณค่าความสามารถในการให้ผลซ้ำ (reproducibility) เท่ากับ 0.3 %CV¹² ผลการศึกษาที่ได้ยังมีความสัมพันธ์กับ LI และคณะที่ได้ตรวจหาปริมาณโปรตีนในน้ำตาโดยใช้ SBIT เป็นตัวควบคุมภายใน พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนน้อยกว่า 10% ซึ่งเป็นวิธีที่สะดวกกว่าเมื่อเทียบกับการแยกโปรตีนด้วยวิธี high performance liquid chromatography (HPLC) และใช้สิ่งส่งตรวจปริมาณน้อยกว่าเมื่อเทียบกับการหาปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Bradford ที่ใช้น้ำตาปริมาตร 10 ไมโครลิตร⁵ จะเห็นได้ว่าเทคนิค SDS-PAGE แม้จะเป็นเทคนิคในการแยกโปรตีนชนิดต่าง ๆ ออกจากโปรตีนรวมโดยอาศัยขนาดของโปรตีนซึ่งใช้ทั่วไปในงานวิจัย เพื่อใช้ตรวจหาคุณภาพโปรตีนในโปรตีนรวมเท่านั้น แต่ในการศึกษานี้ได้ประยุกต์ใช้เทคนิคดังกล่าวในการหาปริมาณโปรตีนเป้าหมายจากโปรตีนรวมด้วยวิธีการอย่างง่าย อย่างไรก็ตามการหาปริมาณโปรตีนด้วยวิธีนี้ต้องทราบขนาดที่จำเพาะของโปรตีนที่ต้องการตรวจวัด และควรมีตัวบ่งชี้ที่ชัดเจนที่สามารถบอกตำแหน่งของโปรตีนในเจลได้ เพื่อให้ทราบตำแหน่งของแถบโปรตีนที่แน่นอน และต้องอาศัยผู้ปฏิบัติงานที่มีความชำนาญเพื่อต้องการให้ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนน้อยที่สุด เนื่องจากวิธีนี้เป็นการประยุกต์ใช้การหาปริมาณโปรตีนจากโปรตีนรวมด้วยวิธี quantitative SDS-PAGE และคำนวณหาปริมาณโปรตีนโดยใช้สูตรคำนวณทางคณิตศาสตร์เทียบกับกราฟมาตรฐานที่สร้างขึ้น ซึ่งเทคนิคนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับโปรตีนชนิดอื่นที่มีขั้นตอนการทำบริสุทธิ์ที่ซับซ้อน การหาปริมาณโปรตีนด้วยเทคนิคนี้จะช่วยลดขั้นตอนการทำบริสุทธิ์โปรตีน และสามารถหาปริมาณโปรตีนที่ต้องการได้จากโปรตีนรวมโดยตรง

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ ทูสนับสนุนการวิจัยจากสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีแห่งชาติ และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ขอขอบคุณทูสนับสนุนการวิจัยบางส่วนจากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

เอกสารอ้างอิง

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, Kasinrerker W, Mai S, Yuan Y, Tayapiwatana C. Generation of functional scFv intrabody to abate the expression of CD147 surface molecule of 293A cells. *BMC Biotechnol* 2008; 8(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^{1*}
Ruttapol Numhom¹

Pramook Pongsuwan¹
Tribikram Thapa¹

Phonnawut Methanon¹
Sunti Putthipiriya²

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

²Chiangrai 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

พลของการออกกำลังกายด้วยเกมเดินของเครื่องนินเท็นโดวีต่อดัชนีมวลกายและระบบหัวใจและหลอดเลือดในคนอ้วนเพศหญิง

สรายุธ มงคล¹
พนวุธ เมธานนท์¹
Tribikram Thapa¹

ประมุข พงษ์สุวรรณ¹
รัฐพล นุ่มหอม¹
สันติ พุฒิพิริยะ²

¹สาขาวิชากายภาพบำบัด สำนักวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง จ.เชียงราย
²โรงพยาบาลเชียงรายประชานุเคราะห์ จ.เชียงราย

ผู้รับผิดชอบบทความ (E-mail: grn_pt15@hotmail.com; 085-0406342)

บทคัดย่อ

โรคอ้วน เป็นปัญหาสำคัญต่อระบบสาธารณสุขทั่วโลก เนื่องจากเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคตามมา การออกกำลังกายเป็นวิธีที่สามารถลดภาวะโรคอ้วนได้ การศึกษาครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการออกกำลังกายด้วยเกมเดินของเครื่องนินเท็นโดวี ต่อดัชนีมวลกายและระบบหัวใจและหลอดเลือดในคนอ้วนเพศหญิง อาสาสมัครจำนวน 32 คน แบ่งเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มออกกำลังกายจำนวน 15 คนและกลุ่มไม่ออกกำลังกายจำนวน 17 คน อาสาสมัครทุกคนได้รับการทดสอบสมรรถภาพด้วยเครื่องวัดองค์ประกอบของร่างกายจากการต้านทานไฟฟ้า (BIA) เพื่อหาดัชนีมวลกาย และทดสอบ astrand rhyming cycle ergometry test เพื่อหาค่าปริมาณการใช้ออกซิเจนสูงสุด ($VO_2 \max$) ก่อนและหลังโปรแกรมออกกำลังกายครบ 4 สัปดาห์ กลุ่มออกกำลังกายได้รับโปรแกรมการออกกำลังกายด้วยเครื่องเล่นนินเท็นโดวี ครั้งละ 30 นาที 3 ครั้งต่อสัปดาห์ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ที่ระดับความหนักปานกลาง และกลุ่มไม่ออกกำลังกายจะให้กลับไปดำเนินชีวิตประจำวันตามปกติจนครบ 4 สัปดาห์ ผลการศึกษาพบว่า อาสาสมัครกลุ่มออกกำลังกาย มีอัตราการใช้ออกซิเจนสูงสุด สูงกว่าอาสาสมัครกลุ่มไม่ออกกำลังกายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และดัชนีมวลกายในกลุ่มออกกำลังกายหลังครบโปรแกรมการออกกำลังกายลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) จึงแสดงให้เห็นว่าการออกกำลังกายด้วยเกมเดินของเครื่องนินเท็นโดวี สามารถลดดัชนีมวลกายและเพิ่มการทำงานของระบบหัวใจและหลอดเลือดในคนอ้วนเพศหญิงได้ **วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2556; 46(2): 122-130**

คำรหัส: ดัชนีมวลกาย ระบบหัวใจและหลอดเลือด โรคอ้วน นินเท็นโดวี

บทนำ

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

หรือเท่ากับ 23 กิโลกรัมต่อเมตร² ซึ่งแสดงว่าเป็นโรคอ้วนและมีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง¹⁻² รวมทั้งเพศหญิงมีภาวะโรคอ้วนมากกว่าเพศชายในทุกช่วงอายุ³ เนื่องจากมีระบบการเผาผลาญพลังงานที่น้อยกว่าเพศชาย ทำให้ปริมาณไขมันใน

ร่างกายของเพศหญิงสะสมได้ง่ายกว่าเพศชาย⁴ ในปัจจุบันมีเกณฑ์ที่นิยมใช้วัดระดับความอ้วนในคนไทย ได้แก่ การหาค่าดัชนีมวลกาย โดยค่าดัชนีมวลกายที่เพิ่มขึ้น มีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงที่จะเป็นโรคแทรกซ้อนจากโรคอ้วน⁵ เช่น โรคความดันโลหิตสูง โรคหัวใจขาดเลือด โรคหลอดเลือดสมองในเลือด โรคไตรกลีเซอไรด์สูงในเลือด โรคเบาหวาน และโรคทางระบบหัวใจและหลอดเลือด⁶

การออกกำลังกายเป็นวิธีหนึ่งในการควบคุมดัชนีมวลกายเพื่อป้องกันโรคอ้วน เนื่องจากการออกกำลังกาย 3-5 วันต่อสัปดาห์ ครั้งละ 30-60 นาที ในคนที่น้ำหนักเกินหรือในคนอ้วน สามารถลดปริมาณไขมันในร่างกาย และยังช่วยเพิ่มสมรรถภาพการทำงานของระบบหัวใจและระบบไหลเวียนโลหิต ซึ่งประโยชน์และสำคัญอย่างยิ่งสำหรับบุคคลที่มีน้ำหนักเกินเกณฑ์หรือคนที่เป็โรคอ้วน⁶ การออกกำลังกายควรทำอย่างสม่ำเสมอ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผู้ที่เป็นโรคอ้วน จะต้องอาศัยแรงจูงใจเพื่อให้สามารถออกกำลังกายได้เป็นประจำนอกจากการออกกำลังกายแบบทั่วไปแล้ว การออกกำลังกายด้วยวิดีโอเกมต้นกับเครื่องนินเทนโดวีเป็นอีกสิ่งหนึ่งที่ช่วยเพิ่มแรงจูงใจในการออกกำลังกาย⁷

เครื่องนินเทนโดวี (Nintendo Wii) คือ เครื่องวิดีโอเกมที่ผลิตโดยบริษัท นินเทนโด และมีจัดจำหน่ายทั่วโลก ซึ่งสร้างความตื่นตัวให้ทั้งวงการเกม และวงการแพทย์ที่มีความสนใจจะนำเครื่องนินเทนโดวีนี้มาประยุกต์ใช้ ในวงการแพทย์อีกด้วย เนื่องจากเครื่องนินเทนโดวี เป็นเกมที่จำลองสภาพเสมือนจริง (Virtual reality) มีการแสดงข้อมูลแบบป้อนกลับ (Visual feedback) ส่งผลให้ผู้ที่เล่นเกม ทราบความถูกต้องของการเดินโดยแสดงเป็นคะแนน นอกจากนั้นยังสามารถเล่นได้มากที่สุด 4 คนซึ่งทำให้ผู้ที่เล่นเกมมีการปฏิสัมพันธ์กับผู้อื่น ส่งเสริมให้มีกิจกรรมทางกายในคนปกติ รวมทั้งสามารถใช้ในการฝึกผู้ป่วยที่มีปัญหาด้านร่างกายและจิตใจ รวมทั้งช่วยลดความเครียดหลังจากการทำงานด้วยเสียงเพลงที่สนุกสนาน⁸ ซึ่งการศึกษาที่ผ่านมา ได้มีการนำเครื่องนินเทนโดวี มาใช้ในงานวิจัยต่าง ๆ มากขึ้น จากการศึกษาด้วยเกม

ชกมวยของเครื่องนินเทนโดวี ในกลุ่มนักเรียนและผู้ใหญ่ที่มีสุขภาพดี พบว่าชกมวยของเครื่องนินเทนโดวีสามารถเพิ่มอัตราการใช้พลังงานได้ทั้งสองกลุ่ม และสามารถลดแคลอรีได้ดีกว่าการออกกำลังกายด้วยเกม Dance dance revolution, Eye toy และ Treadmill⁹ ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะศึกษาการออกกำลังกายด้วยเกมต้นโดยใช้เครื่องนินเทนโดวี เพื่อศึกษาผลของการออกกำลังกายด้วยเกมต้นของเครื่องนินเทนโดวีต่อดัชนีมวลกายและระบบหัวใจและหลอดเลือดในคนอ้วนเพศหญิง

วัสดุและวิธีการ

1. กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

อาสาสมัครเพศหญิงที่มีอายุระหว่าง 18 – 23 ปี จำนวน 40 คน มีเกณฑ์คัดเข้า คือ มีค่าดัชนีมวลกายมากกว่า 23 กิโลกรัม/เมตร² ไม่ได้รับการออกกำลังกายอย่างสม่ำเสมออย่างน้อย 3 เดือน และมีเกณฑ์คัดออก คือ เป็นนักกีฬา ผู้ที่มีระบบหัวใจและหลอดเลือดทำงานไม่คงที่ มีโรคประจำตัวเกี่ยวกับระบบทางเดินหายใจ ได้รับการผ่าตัดในระยะ 3 เดือน หรือมีการบาดเจ็บของกระดูกและกล้ามเนื้อของร่างกายและขา อันเป็นอุปสรรคต่อการออกกำลังกายในการศึกษานี้ ผู้ที่มีปัญหาด้านการสื่อสารการมองเห็นและการรับรู้ความเข้าใจ และผู้ที่ไม่ผ่านการทดสอบแบบสอบถามเพื่อประเมินความพร้อมก่อนออกกำลังกาย (Physical activity readiness questionnaire) โดยอาสาสมัครต้องผ่านเกณฑ์อย่างน้อย 8 ข้อ จากคำถามทั้งหมด 10 ข้อ

เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษานี้คือ แบบสอบถามข้อมูลส่วนบุคคล แบบประเมินความพร้อมก่อนการออกกำลังกายสำหรับบุคคลทั่วไป จักรยานวัดงาน (Bike Monark Cardio Care 827 E, ประเทศอเมริกา) นาฬิกาวัดชีพจร (Polar T 31 Coded Transmitter) เครื่องชั่งน้ำหนัก (Camry-DT-602, ประเทศจีน) เครื่องวัดความดันโลหิต (Omron HEM, 7200, ประเทศไทย) สายวัดสำหรับวัดส่วนสูง เครื่องเล่นวิดีโอเกมนินเทนโดวี และเกม Just dance 3 (Wii Fit Plus, Nintendo Wii, ประเทศญี่ปุ่น)

2. วิธีการศึกษา

การศึกษาครั้งนี้ผ่านการรับรองจริยธรรมงานวิจัยในมนุษย์ของสำนักวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง โดยขั้นตอนการวิจัยประกอบด้วย อาสาสมัครที่สนใจเข้าร่วมลงชื่อในใบยินยอมเข้าร่วมการศึกษาและตอบแบบสอบถามโดยผู้ที่ผ่านเกณฑ์คัดเข้าและคัดออกจำนวน 40 คน จะถูกแบ่งกลุ่มตัวอย่างเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มออกกำลังกายจำนวน 20 คน และกลุ่มไม่ออกกำลังกายจำนวน 20 คน ซึ่งการศึกษานี้จะใช้การสุ่มโดยการจับฉลาก อาสาสมัครทั้งสองกลุ่มจะได้รับคำแนะนำเกี่ยวกับการควบคุมน้ำหนักและการรับประทานอาหารจากผู้วิจัย หลังจากนั้นจะได้รับการทดสอบสมรรถภาพก่อนและหลังการทดลองด้วย การชั่งน้ำหนักและวัดส่วนสูง โดยนำค่ามาคำนวณหาดัชนีมวลกาย วัดองค์ประกอบของร่างกายจากการต้านทานไฟฟ้าด้วย BIA วัดอัตราการใช้ออกซิเจนสูงสุด (Maximal oxygen consumption; VO_2 max) ด้วย Cycle ergometry training โดยใช้ Astrand rhyming cycle ergometry test¹⁰ ซึ่งผู้วัดในการศึกษานี้ จะไม่ทราบว่าอาสาสมัครคนใดอยู่ในกลุ่มใด

เมื่อทำการทดสอบสมรรถภาพก่อนการทดลองเสร็จ อาสาสมัครกลุ่มไม่ออกกำลังกายจะให้กลับไปดำเนินชีวิตประจำวันตามปกติ แต่แนะนำให้หลีกเลี่ยงการออกกำลังกายหนักระหว่างการทดลอง ส่วนอาสาสมัครกลุ่มออกกำลังกายจะได้รับการสาธิตการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ต่าง ๆ ของเครื่องเล่นวิดีโอเกมมินิเทนโดวี และจะให้อาสาสมัครกลุ่มที่ให้การออกกำลังกายทดลองใช้เครื่องมินิเทนโดวีเพื่อปรับความคุ้นเคยก่อนได้รับโปรแกรมการออกกำลังกาย ก่อนเริ่มโปรแกรมออกกำลังกายอาสาสมัครกลุ่มออกกำลังกายจะได้รับการวัดความดันโลหิตและอัตราการเต้นของหัวใจในขณะพักทุกครั้งก่อนการออกกำลังกายเพื่อความปลอดภัย และจะได้รับการใส่เครื่องวัดอัตราการเต้นของหัวใจ เพื่อใช้วัดอัตราการเต้นของหัวใจขณะออกกำลังกาย

การออกกำลังกายด้วยเครื่องเล่นวิดีโอเกมมินิเทนโดวีจะใช้ระยะเวลาทั้งสิ้น 4 สัปดาห์ โดยจะออกกำลังกายที่ระดับความหนักปานกลาง (60-75%

ของอัตราการเต้นของหัวใจสูงสุด) 3 ครั้งต่อสัปดาห์ และในการออกกำลังกายจะใช้เวลาทั้งหมด 50 นาที โดยแบ่งออกเป็น 3 ช่วง คืออบอุ่นร่างกาย 10 นาที ด้วยการยืดกล้ามเนื้อ ออกกำลังกายด้วยเกมเดิน 30 นาที ในขณะที่อาสาสมัครทำการเดิน จะมีการถามค่าอัตราการเต้นของหัวใจในช่วงกลางของการออกกำลังกาย (ในนาทีที่ 15 ของการออกกำลังกาย) เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงของอัตราการเต้นของหัวใจขณะเดิน โดยให้อาสาสมัครดูอัตราการเต้นของหัวใจที่นาฬิกาจับชีพจร และยืดกล้ามเนื้อและผ่อนคลาย 10 นาที อาสาสมัครจะถูกวัดอัตราการเต้นของหัวใจทุก 2 นาที จนถึงอัตราการเต้นของหัวใจใกล้เคียงกับอัตราการเต้นของหัวใจในขณะพัก เพื่อดูการฟื้นตัวการทำงานของหัวใจพร้อมบันทึกระยะเวลาที่อัตราการเต้นของหัวใจเข้าใกล้ปกติ ซึ่งอาสาสมัครในกลุ่มที่ออกกำลังกายด้วยเครื่องเล่นวิดีโอเกมมินิเทนโดวีสามารถออกกำลังกายถึงอัตราการเต้นของหัวใจที่ตั้งเป้าหมายไว้ได้ทุกคน

หลังจากสิ้นสุดการออกกำลังกายด้วยเครื่องเล่นวิดีโอเกมมินิเทนโดวีเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์แล้วจะวัดสมรรถภาพหลังการทดลองของอาสาสมัครกลุ่มออกกำลังกายและกลุ่มไม่ออกกำลังกาย ภายใน 1 สัปดาห์หลังจากสิ้นสุดการออกกำลังกาย นำค่าที่สนใจได้แก่ ดัชนีมวลกาย อัตราการใช้ออกซิเจนสูงสุด (VO_2 max) ค่าไขมันในร่างกาย อัตราการเต้นของหัวใจในขณะพักและความดันโลหิตในขณะพัก มาเปรียบเทียบก่อนและหลังการทดลองภายในกลุ่ม และเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มออกกำลังกายและกลุ่มไม่ออกกำลังกาย

3. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

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

ผลการศึกษา

ผลของการออกกำลังกายด้วยเกมต้นของเครื่อง นินเท็นโดวีต้อัดขัณนิมวลกายและระบบหัวใจและ หลอดเลือดในคนอ้วนเพศหญิง หลังจากครบ 4 สัปดาห์ มีอาสาสมัครกลุ่มออกกำลังกายจำนวน 2 คน ที่ไม่มา ออกกำลังกายอย่างต่อเนื่อง และ 3 คน ไม่ให้ความ ร่วมมือระหว่างการทำออกกำลังกาย อาสาสมัครกลุ่มไม่ ออกกำลังกายจำนวน 2 คน ไม่ได้มาทำการทดสอบ สมรรถภาพก่อนการทดลองและ 1 คน ไม่ได้มาทำการ ทดสอบสมรรถภาพหลังการทดลอง จึงเหลืออาสาสมัคร 32 คน แบ่งเป็นกลุ่มออกกำลังกาย 15 คน และกลุ่ม ไม่ออกกำลังกาย 17 คน ในการคำนวณทางสถิติ เมื่อ เปรียบเทียบข้อมูลพื้นฐานของอาสาสมัครกลุ่มออก กายและกลุ่มไม่ออกกำลังกายพบว่า อายุ ส่วนสูง ค่าดัชนีมวลกาย ไขมันในร่างกาย อัตราการใช้ออกซิเจน สูงสุดของร่างกาย อัตราการเต้นของหัวใจขณะพัก ค่า ความดันโลหิตขณะหัวใจบีบตัว และค่าความดันโลหิต ขณะหัวใจคลายตัวไม่มีความแตกต่างกัน ดังตารางที่ 1

เมื่อเปรียบเทียบสมรรถภาพการทำงานของ ร่างกายต่อดัชนีมวลกายและระบบหัวใจและหลอดเลือด ก่อนและหลังการทดลองในอาสาสมัครกลุ่มออกกำลังกาย พบว่า น้ำหนัก ดัชนีมวลกาย ไขมันในร่างกาย มีค่าลดลง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และอัตราการใช้ ออกซิเจนสูงสุดของร่างกาย พบว่ามีค่าเพิ่มขึ้นอย่าง

มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนอัตราการเต้นของ หัวใจขณะพัก ความดันโลหิตขณะหัวใจบีบตัวและ ความดันโลหิต ขณะหัวใจคลายตัวพบว่าไม่มีการ เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงตารางที่ 2

เมื่อเปรียบเทียบสมรรถภาพการทำงานของ ร่างกายต่อดัชนีมวลกายและระบบหัวใจและหลอดเลือด ก่อนและหลังการทดลอง ในอาสาสมัครกลุ่มไม่ออก กายพบพบว่า น้ำหนัก ค่าดัชนีมวลกาย ไขมันใน ร่างกาย อัตราการใช้ออกซิเจนสูงสุดของร่างกาย ส่วน อัตราการเต้นของหัวใจในขณะพัก ความดันโลหิต ขณะหัวใจบีบตัว และความดันโลหิตขณะหัวใจ คลายตัว ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ ดังแสดงตารางที่ 3

เมื่อเปรียบเทียบสมรรถภาพการทำงานของ ร่างกายต่อดัชนีมวลกายและระบบหัวใจและ หลอดเลือด หลังการทดลอง ในอาสาสมัครกลุ่ม ออกกำลังกายและกลุ่มไม่ออกกำลังกายพบว่า อัตราการใช้ออกซิเจนสูงสุดของร่างกาย มีความ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่ น้ำหนัก ดัชนีมวลกาย ไขมันในร่างกาย อัตรา การเต้นของหัวใจขณะพัก ความดันโลหิตขณะ หัวใจบีบตัว และความดันโลหิตขณะหัวใจคลาย ตัวไม่มีการเปลี่ยนแปลง อย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ 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 ²)	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 ₂ 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 VO₂ 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 ²)	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 ₂ 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 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 (kg/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
VO_2 max (mL/kg/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 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 ²)	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
VO_2 max (mL/kg/min)	38.13 \pm 6.80	33.35 \pm 5.86*

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

วิจารณ์ผลการศึกษา

การออกกำลังกายด้วยเกมเต้นของเครื่องนินเท็นโดวีต่อดัชนีมวลกายและระบบหัวใจและหลอดเลือด ในคนอ้วนเพศหญิงหลังออกกำลังกายในอาสาสมัครกลุ่มออกกำลังกายและไม่ออกกำลังกายพบว่า ค่าดัชนีมวลกาย และน้ำหนัก ไม่มีความแตกต่างกันเนื่องจากระยะเวลาในการทดลองมีระยะเวลา 4 สัปดาห์ ซึ่งเป็นระยะเวลาที่น้อยจึงยังเห็นความแตกต่างของน้ำหนักและค่าดัชนีมวลกายได้ไม่ชัดเจน โดยระยะเวลายาวจะทำให้เห็นความแตกต่างระหว่างกลุ่มต้องมากกว่า 6 สัปดาห์ขึ้นไป¹¹

เมื่อเปรียบเทียบดัชนีมวลกายและน้ำหนัก ก่อนและหลังการทดลองของอาสาสมัครกลุ่มออกกำลังกาย พบว่ามีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากการออกกำลังกาย แบบแอโรบิค เป็นระยะเวลา 30 นาทีขึ้นไป เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ทำให้ร่างกายเกิดการเผาผลาญพลังงานมากขึ้น เกิดกระบวนการนำไขมันที่สะสมไว้ในร่างกายรูปแบบต่าง ๆ มาเปลี่ยนเป็นพลังงาน ทำให้น้ำหนักลดลง ส่งผลให้มีค่าดัชนีมวลกายที่ลดลงตามไปด้วย¹¹⁻¹⁴

อัตราการใช้ออกซิเจนสูงสุดระหว่างอาสาสมัครกลุ่มออกกำลังกายและกลุ่มไม่ออกกำลังกาย หลังการทดลองพบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เนื่องจากการออกกำลังกาย 3 – 5 ครั้งต่อสัปดาห์ ครั้งละ 30 นาทีในความหนักปานกลางที่ 60-75% จะส่งผลต่อร่างกายทำให้มีการเผาผลาญไขมัน น้ำหนักลด ซึ่งส่งผลทำให้ค่าดัชนีมวลกายลดลง และเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของระบบหลอดเลือดและหัวใจได้¹⁵⁻¹⁶

ในการศึกษานี้พบว่า อัตราการใช้ออกซิเจนสูงสุดในอาสาสมัครกลุ่มออกกำลังกายเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบก่อนและหลังการทดลอง แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพการทำงานของระบบหัวใจ และหลอดเลือดที่เพิ่มขึ้นของอาสาสมัครที่ผ่านการออกกำลังกายด้วยเกมเต้นของเครื่องนินเท็นโดวี ในระยะเวลา 4 สัปดาห์ 14 สอดคล้องกับการศึกษาของ Mejia-Downs และคณะ ในปี 201¹⁷ ซึ่งศึกษาการออกกำลังกายด้วยเกมเต้น Step dance

ในกลุ่มผู้ใหญ่ พบว่าเกมเต้น Step dance สามารถไปกระตุ้นให้อัตราการเต้นของหัวใจและการไหลเวียนโลหิตและการใช้ออกซิเจนของอาสาสมัครถึงเป้าหมายที่การศึกษาต้องการ ส่งให้อาสาสมัครมีอัตราการเพิ่มขึ้นของค่าการใช้ออกซิเจนสูงสุด และมีสมรรถภาพการทำงานของระบบหัวใจและหลอดเลือดเพิ่มขึ้น

เมื่อเปรียบเทียบก่อนและหลังการทดลองในอาสาสมัครกลุ่มออกกำลังกาย พบว่ามีค่าไขมันในร่างกายน้อยลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากการออกกำลังกายจะส่งผลทำให้กระตุ้นการทำงานของ Hormone sensitive lipase (HSL) ทำให้เกิดกระบวนการนำไขมันที่สะสมไว้ในร่างกายรูปแบบต่าง ๆ มาเปลี่ยนเป็นพลังงาน¹² และการออกกำลังกาย 30 นาทีด้วยเกมเต้นโดยเครื่องเล่นวีดีโอเกมนินเท็นโดวีสามารถเพิ่มอัตราการใช้พลังงานในร่างกายส่งผลทำให้ค่าไขมันในร่างกายลดลงได้^{11, 15}

การศึกษานี้มีการแนะนำการควบคุมอาหาร แต่มีอาสาสมัครบางคนไม่ทำตามคำแนะนำ จึงได้คัดอาสาสมัครที่ไม่ทำตามคำแนะนำออกจากการศึกษา รวมทั้งการศึกษานี้มีระยะเวลาเพียง 4 สัปดาห์ ทำให้ผลที่ได้ไม่เห็นการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจน ซึ่งในการศึกษารั้งต่อไปควรมีการควบคุมและจำกัดอาหาร มีการเปรียบเทียบอาสาสมัครเพศหญิงและเพศชาย และควรมีระยะเวลาการทดลองมากกว่านี้ เพื่อให้เห็นผลการทดลองที่ชัดเจนและความแตกต่างระหว่างกลุ่มประชากรที่มาทำการศึกษามากยิ่งขึ้น

การศึกษานี้พบว่าการใช้เกมเต้นด้วยเครื่องนินเท็นโดวี โดยใช้โปรแกรมเกมเต้น Just Dance 3 นั้นอาสาสมัครสามารถมองเห็นท่าทางการขยับร่างกาย และมีข้อมูลป้อนกลับทางการมองเห็นจากการเล่นเกม ซึ่งข้อมูลเหล่านี้จะช่วยบอกความสามารถในการเคลื่อนไหวขณะเต้น ทำให้อาสาสมัครปรับท่าทางและจังหวะการเต้นไปตามเพลงได้อย่างเหมาะสม ดังนั้นการออกกำลังกายด้วยเกมเต้นของเครื่องนินเท็นโดวีจึงเป็น อีกแนวทางของการออกกำลังกายรูปแบบใหม่ซึ่งมีผลทำให้ลดดัชนีมวลกาย 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, Rhyding 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 Chamnongkich¹ Eakarach Wongsaya² Sainatee Pratanaphon¹

¹ Department of Physical Therapy, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand

² 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 ± 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

การเคลื่อนที่ของลำตัวบน:ทดสอบลูกจากนั่งขึ้นยืนในผู้ใหญ่ตอนต้น

สมรรถชัย จ่านักกิจ*

เอกราช วงศ์ษายะ²สายันที ปรารณนาผล¹¹ ภาควิชากายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ. เมือง จ. เชียงใหม่² สาขาวิชากายภาพบำบัด คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา อ. เมือง จ. พะเยา

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

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างตัวแปรการเคลื่อนที่ของลำตัวระหว่างการลุกจากนั่งขึ้นยืนด้วยขาสองข้างและการลุกจากนั่งขึ้นยืนด้วยขาข้างเดียว และเพื่อหาความสัมพันธ์ของการทดสอบการลุกจากนั่งขึ้นยืน 2 รูปแบบในการประเมินค่าความแข็งแรงของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่า โดยการหาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรค่ากำลังที่ได้จากการทดสอบลูกจากนั่งขึ้นยืน (Power STS) กับค่าแรงหดตัวสูงสุดของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่า (MVC) **วัสดุและวิธีการ** ผู้เข้าร่วมการทดสอบ 44 คน เป็นเพศชาย 22 คน และเพศหญิง 22 คน อายุเฉลี่ย 21.0 ± 1.6 ปี ได้รับการทดสอบลูกจากนั่งขึ้นยืน 2 รูปแบบ เพื่อวัดเวลาและคำนวณค่า Power และการทดสอบวัดแรงหดตัวสูงสุดของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่าด้วยชุดอุปกรณ์วัดแรง ใช้สถิติ Pearson product moment correlation เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปร และใช้สถิติ Paired sample t-test ในการเปรียบเทียบตัวแปรการเคลื่อนที่ของร่างกายระหว่างการลุกจากนั่งขึ้นยืน 2 รูปแบบ โดยกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ $p \leq 0.05$ **ผลการศึกษา** พบว่าการทดสอบลุกขึ้นยืนด้วยขาข้างเดียวมีระยะการเคลื่อนที่ของส่วนลำตัวในแนวหน้าหลังและด้านข้างมากกว่าการลุกขึ้นยืนด้วยขา 2 ข้าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) ไม่มีความแตกต่างของระยะการเคลื่อนที่ของส่วนลำตัวในแนวตั้งระหว่างการลุกจากนั่งขึ้นยืน 2 รูปแบบ จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรการศึกษาพบว่าค่ากำลังของการลุกขึ้นยืนทั้ง 2 รูปแบบมีความสัมพันธ์เชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความแข็งแรงของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่า ค่ากำลังของการลุกขึ้นยืนด้วยขาข้างเดียวมีความสัมพันธ์ในระดับสูงมากกับค่าแรงหดตัวสูงสุดของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่า ($R_{\text{Power-MVC}} = 0.832, p < 0.001$) **วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา** การลุกขึ้นยืนด้วยขาข้างเดียวใช้กล้ามเนื้อขาเพียงข้างเดียวในการออกแรงให้เกิดการเคลื่อนที่ของร่างกายไปข้างหน้าและขึ้นบนเพื่อลุกขึ้นยืนตรง ทำให้ต้องส่งเสริมการเกิดโมเมนต์ด้วยการโน้มตัวไปข้างหน้ามากขึ้น การเคลื่อนที่ของลำตัวไปในแนวด้านข้างที่เพิ่มขึ้นขณะลุกขึ้นยืนด้วยขาข้างเดียวเป็นการขัดขวางต่อการลดลงของพื้นที่รองรับของร่างกายและช่วยในการควบคุมการทรงตัว ซึ่งเป็นการปรับกลยุทธ์การเคลื่อนไหวตามปกติของร่างกาย ค่ากำลังของการลุกจากทำนั่งขึ้นยืนด้วยขาข้างเดียวสามารถใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงความแข็งแรงของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่าได้ดีกว่าตัวแปรที่ได้จากการลุกจากทำนั่งขึ้นยืนด้วยขาสองข้างสำหรับการทดสอบในวัยผู้ใหญ่ตอนต้น *วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2556; 46(2): 131-140*

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

บทนำ

การเคลื่อนไหวจากท่านั่งไปทำยืน (sit-to-stand; STS) เป็นการเคลื่อนไหวพื้นฐานของการเคลื่อนย้ายตัวที่มีความสำคัญต่อการเริ่มต้นทำกิจกรรมอื่น ๆ ในชีวิตประจำวัน การเคลื่อนไหว STS อาศัยแรงจากกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่าถึงร้อยละ 72 ของแรงจากกล้ามเนื้อบริเวณสะโพกและเข่า¹ จากการศึกษาที่ผ่านมา การลุกจากนั่งขึ้นยืนด้วยขาสองข้าง (two-leg STS) เป็นการทดสอบที่นิยมใช้ในทางกายภาพบำบัดเพื่อประเมินความสามารถทางกายและความแข็งแรงของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่าในผู้สูงอายุ²⁻⁵

Hughes และคณะ⁴ พบว่าความแข็งแรงของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่าในผู้สูงอายุมีค่าน้อยกว่าวัยหนุ่มสาวถึงกว่าร้อยละ 50 ส่งผลให้ผู้สูงอายุใช้แรงกว่าร้อยละ 78 ของค่าแรงหดตัวสูงสุดของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่าในการลุกขึ้นยืนจากนั่งบนเก้าอี้ ในขณะที่วัยหนุ่มสาวใช้แรงกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่า ประมาณ ร้อยละ 34 ในการเคลื่อนไหวเดียวกัน จึงอาจกล่าวได้ว่าการทดสอบ two-leg STS เป็นการทดสอบที่มีความท้าทายเชิงกลต่อการทำงานของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่าสำหรับผู้สูงอายุ แต่อาจไม่เหมาะในการนำมาใช้ทดสอบความสามารถทางกายของผู้ทดสอบวัยหนุ่มสาว เนื่องจากความสามารถในการออกแรงของกล้ามเนื้อที่ได้เปรียบกว่าผู้สูงอายุเมื่อต้องเคลื่อนไหวในลักษณะเดียวกัน⁶

การทดสอบลุกจากท่านั่งขึ้นยืนและลงนั่งด้วยขาข้างเดียว (one-leg STS) เป็นการทดสอบแบบใหม่ที่ถูกพัฒนาขึ้นเพื่อนำมาใช้ประเมินความแข็งแรงของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่าในวัยผู้ใหญ่ตอนต้น โดยในการศึกษาก่อนหน้านี้ของกลุ่มผู้วิจัย พบว่าค่ากำลังของการเคลื่อนไหว (power STS) ที่คำนวณจากน้ำหนักตัว ระยะการเคลื่อนที่ของศูนย์กลางมวลของร่างกายในแนวดิ่ง และเวลาที่ใช้ในการทดสอบ STS มีความสัมพันธ์เชิงบวกในระดับสูงกับค่าแรงหดตัวสูงสุดของกลุ่มกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่า แสดงให้เห็นว่าค่า power ของ one-leg STS มีความตรง (valid) ในประเมินความแข็งแรงของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่า จึงสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ในการประเมินความแข็งแรงของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่าในวัยผู้ใหญ่ตอนต้นได้⁷

Roebroek และคณะ⁸ ให้คำจำกัดความของการเคลื่อนไหวลุกจากนั่งขึ้นยืนว่าเกี่ยวข้องกับการควบคุมจุดศูนย์กลางมวลของร่างกายจากตำแหน่งที่อยู่ต่ำกว่าในท่านั่งไปสู่ตำแหน่งที่สูงกว่าในทำยืนโดยไม่สูญเสียการทรงตัว การลุกจากท่านั่งขึ้นยืนด้วยขาสองข้างมีฐานรองรับการเคลื่อนไหวที่มั่นคง และเป็นการเคลื่อนไหวของร่างกายที่เกิดขึ้นในระนาบ sagittal เป็นหลัก โดยมีการหมุนของร่างกาย

ก่อนบนไปข้างหน้า ในขณะที่มีการเหยียดของร่างกายเพื่อเคลื่อนร่างกายขึ้นในแนวดิ่ง ในขณะที่การลุกจากนั่งขึ้นยืนด้วยขาข้างเดียวมีพื้นที่ฐานรองรับการเคลื่อนไหวที่แคบกว่า เมื่อเทียบกับการลุกจากนั่งขึ้นยืนด้วยขาสองข้าง ดังนั้นผู้ถูกทดสอบอาจมีการปรับรูปแบบการเคลื่อนไหวของร่างกายที่แตกต่างไปจากการลุกขึ้นยืนด้วยขาทั้งสองข้าง จากการทบทวนวรรณกรรม ยังไม่พบว่ามีการศึกษาใดที่ศึกษาถึงการเคลื่อนที่ของร่างกายระหว่างการทดสอบ one-leg STS มาก่อน ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษานี้จึงเพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างระยะการเคลื่อนที่ของลำตัวระหว่างการทดสอบ two-leg STS และ one-leg STS และเพื่อทดสอบความตรงตามสภาพ (concurrent validity) ของการทดสอบ STS ทั้ง 2 รูปแบบ ในผู้ใหญ่ตอนต้นอายุ 18 - 25 ปี

วัสดุและวิธีการ

งานวิจัยนี้ได้ผ่านการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และอาสาสมัครทุกคนลงนามยินยอมการเข้าร่วมการศึกษา อาสาสมัครที่เข้าร่วมการศึกษามาจากการติดประกาศหาผู้สนใจเข้าร่วมโครงการวิจัย โดยเป็นบุคคลอยู่ในช่วงอายุ 18-25 ปี ทั้งเพศชายและหญิง กำหนดเกณฑ์คัดออกคือ ผู้ที่มีการบาดเจ็บต่อระบบโครงร่างและกล้ามเนื้อ หรือผู้ที่ได้รับการวินิจฉัยเป็นโรคที่เกี่ยวข้องกับระบบประสาทและระบบโครงร่างกล้ามเนื้อที่มีผลต่อการทดสอบความแข็งแรงของกล้ามเนื้อและการเคลื่อนไหว คำนวณจำนวนกลุ่มตัวอย่างโดยกำหนดระดับ alpha level เท่ากับ 0.05, power เท่ากับ 0.80 อ้างอิงข้อมูลจากการศึกษาที่ผ่านมา⁹ ใช้โปรแกรม PS: Power and Sample Size Calculation¹⁰ ได้จำนวนกลุ่มตัวอย่างที่ต้องการ คือ 40 คน

ผู้วิจัยแจ้งแก่อาสาสมัครถึงวัตถุประสงค์และขั้นตอนการเก็บข้อมูลการศึกษา พร้อมกับให้อาสาสมัครเซ็นใบยินยอมเข้าร่วมการศึกษา อาสาสมัครเข้ารับการทดสอบตามลำดับ คือ 1) การทดสอบ two-leg STS และ one-leg STS ชนิดลุกขึ้นและลงนั่ง 5 รอบ¹¹ โดยลำดับของการทดสอบทำโดยการสุ่มเลือก และ 2) การวัดแรงเหยียดเข่าสูงสุดแบบเกร็งค้างไว้ (maximum voluntary isometric contraction; MVC) เพื่อกำหนดเป็นค่าแรงหดตัวสูงสุดของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่า

การทดสอบ STS

ผู้วิจัยแนะนำให้อาสาสมัครยืดกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่าทั้งสองข้างก่อนเริ่มการทดสอบ จากนั้นให้อาสาสมัครนั่งบนเก้าอี้ทดสอบที่มีการปรับความสูงของเก้าอี้

ให้พอดีกับอาสาสมัครแต่ละราย โดยจัดให้ท่อนขาส่วนบนขนานกับเก้าอี้หนึ่ง สำหรับการทดสอบ one-leg STS ทำการทดสอบกับขาข้างถนัดเพียงข้างเดียว โดยจัดตำแหน่งข้อเข่าของขาข้างถนัดให้อยู่ในมุมงอ 100 องศา และจัดให้ขาข้างที่ไม่ได้ทดสอบยกขึ้นสูงจากพื้น ดังแสดงในรูปที่ 1 เมื่อเริ่มต้นการทดสอบ ผู้วิจัยให้คำสั่งเพื่อเริ่มการเคลื่อนไหวโดยให้อาสาสมัครลุกขึ้นยืนและลงนั่งให้เร็วที่สุดและอย่างปลอดภัยที่สุด เป็นจำนวน 5 รอบ ติดต่อกันโดยไม่มีช่วงพัก โดยแต่ละรอบการเคลื่อนไหวนั้นลุกขึ้นยืนให้ข้อสะโพกและข้อเข่าเหยียดสุดก่อนที่จะย่อตัวลงนั่ง และเมื่อลงนั่งต้องนั่งให้ก้นสัมผัสเก้าอี้เต็มทีก่อนที่จะลุกขึ้นยืนในรอบถัดไป โดยขาข้าง

ที่ไม่ได้ทดสอบยกขึ้นและไม่สัมผัสพื้น ผู้วิจัยเริ่มจับเวลาเมื่อผู้วิจัยพูดคำว่า “เริ่ม” และสิ้นสุดการจับเวลาเมื่ออาสาสมัครลงนั่งก้นสัมผัสกับที่นั่งหลังจากการยืนขึ้นในรอบที่ 5 ของการเคลื่อนไหวให้อาสาสมัครพัก 2 นาที ทำการทดสอบซ้ำอีก 1 ครั้ง บันทึกค่าการทดสอบที่ใช้เวลาน้อยกว่า สำหรับการวิเคราะห์ต่อไป สำหรับการทดสอบ two-leg STS ดำเนินการทดสอบเช่นเดียวกับ one-leg STS แต่จัดให้เท้าทั้งสองข้างวางบนพื้น จากนั้นคำนวณค่ากำลังของการเคลื่อนไหว (power STS)⁹ ของอาสาสมัครแต่ละรายจาก คำนำน้หนักตัว ระยะการเคลื่อนที่ของศูนย์กลางมวลของร่างกายในแนวดิ่งที่ประมาณจากความยาวขาตอนบน และเวลาที่ใช้ในการทดสอบ STS⁷

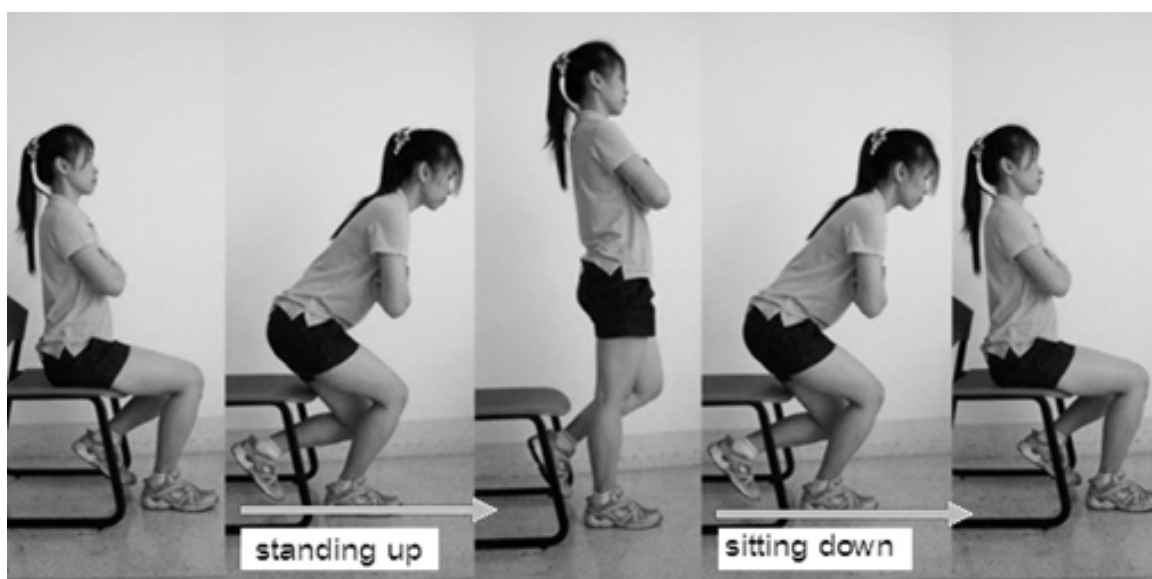


Figure 1. Illustration of the sit-to-stand test

การบันทึกภาพการเคลื่อนไหว

ผู้วิจัยติดจุดกำหนดตำแหน่ง (marker) ชนิดลูกกลม บนสายรัดลำตัวของอาสาสมัครที่ตำแหน่งตรงกับกระดูกสันหลังชั้นที่ 3 เพื่อเป็นตำแหน่งแทนจุดศูนย์กลางมวลของร่างกาย¹² โดยติดที่ตำแหน่งทางด้านหลังของลำตัว 1 ชิ้นและที่ด้านหน้าของลำตัว 1 ชิ้น ผู้วิจัยติดตั้งกล้องดิจิตอลวิดีโอ (Sony DRC-TRV18, Japan) ทางด้านขวาและด้านหน้าของอาสาสมัคร ที่ระยะห่าง 6 เมตรจากร่างกายของอาสาสมัคร ปรับความสูงของกล้องให้สามารถจับการเคลื่อนไหวของอาสาสมัครได้ทั้งตัว ผู้วิจัยบันทึกภาพการเคลื่อนไหวตลอดช่วงการทดสอบ STS ทั้ง 2 รูปแบบ นำข้อมูลภาพเคลื่อนไหวที่บันทึกได้เข้าโปรแกรม Dartfish TeamPro (Fribourg,

Switzerland) เพื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลแนวการเคลื่อนที่ของ marker ได้ตัวแปรระยะขจัดของลำตัวใน 3 ทิศทาง คือ ระยะขจัดของ marker บนส่วนลำตัวในแนวหน้าหลัง (anteroposterior displacement) แนวดิ่ง (vertical displacement) และแนวด้านข้าง (mediolateral displacement) ดังแสดงในรูปที่ 2

การวัดแรงเหยียดเข้าสูงสุดแบบเกร็งค้างไว้

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

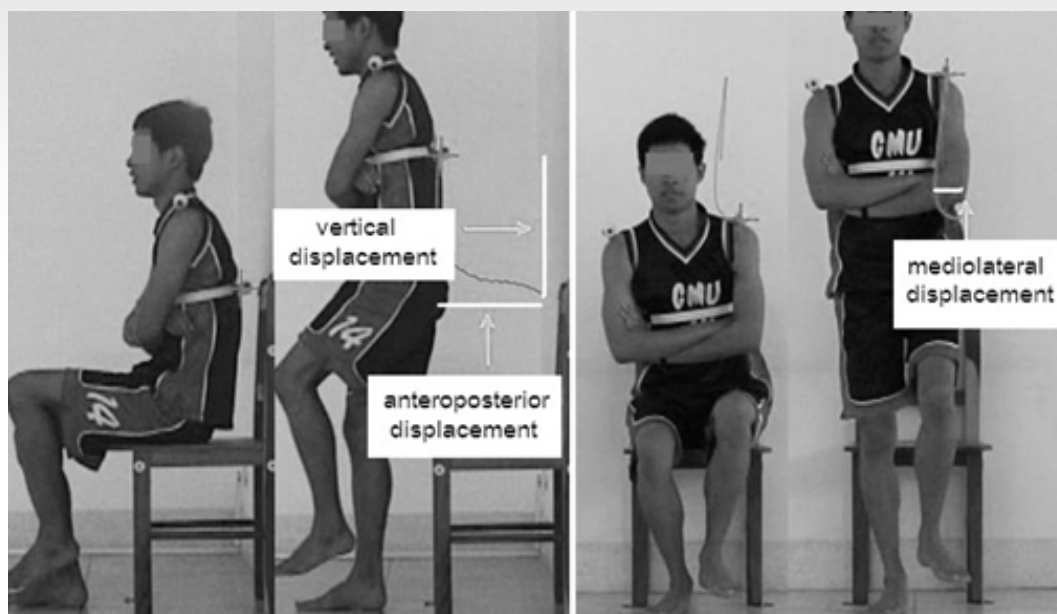


Figure 2 Trunk displacement in three orthogonal directions

ได้ฝึกซ้อมให้คุ้นชินกับกระบวนการทดสอบด้วยการออกแรงเหยียดเข้าด้านกับอุปกรณ์ทดสอบที่แรงระดับต่ำกว่าแรงเหยียดสูงสุด (submaximal contraction) สำหรับการทดสอบจริงให้อาสาสมัครออกแรงเหยียดข้อเข้าให้ได้แรงมากที่สุดเท่าที่ทำได้โดยผู้วิจัยออกคำสั่งให้เกร็งค้างไว้ 3 วินาที ทำซ้ำ 3 ครั้ง โดยมีช่วงพัก 2 นาทีระหว่างการทดสอบ¹³ ผู้วิจัยบันทึกค่าแรงเหยียดเข้าค่าที่มากที่สุด (MVC)

ก่อนเก็บข้อมูลการศึกษาจริง ผู้วิจัยได้หาค่าความน่าเชื่อถือของตัวแปรการศึกษา ในอาสาสมัครจำนวน 10 คน ได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ภายในกลุ่ม (ICC3,1) ของการทดสอบหา MVC เท่ากับ 0.980 เวลาที่ใช้ในการทดสอบการลุกขึ้นยืนจากนั่ง เท่ากับ 0.837 และค่าระยะจัดของ 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 ± 1.6 ปี ส่วนสูงเฉลี่ย 165.4 ± 7.7 เซนติเมตร และ

น้ำหนักตัวเฉลี่ย 57.6 ± 11.2 กิโลกรัม

จากการวิเคราะห์แนวการเคลื่อนที่ของร่างกายขณะลุกจากท่านั่งขึ้นยืน พบว่าระยะจัดของร่างกายในแนวดิ่ง (vertical displacement) มีค่ามากที่สุดเมื่อเทียบกับการเคลื่อนไหวในแนวอื่น รองลงมาคือระยะจัดของร่างกายในแนวนอนด้านหลัง (anteroposterior displacement) และระยะจัดที่น้อยที่สุดเกิดขึ้นในแนวด้านข้าง (mediolateral displacement) ดังข้อมูลแสดงในตารางที่ 1 เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง 2 รูปแบบการทดสอบ STS พบว่า ระยะจัดในแนวนอนด้านหลังและแนวด้านข้างของ one-leg STS มีค่ามากกว่า two-leg STS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) แต่ไม่มีความแตกต่างของระยะจัดในแนวดิ่ง

แรงหดตัวสูงสุดของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข้ามีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 212.0 ± 81.9 นิวตัน เวลาที่ใช้ในการทดสอบ one-leg STS มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.75 ± 0.80 วินาที เวลาที่ใช้ในการทดสอบ two-leg STS มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 5.49 ± 0.82 วินาที จากการทดสอบทางสถิติพบว่า one-leg STS ใช้เวลามากกว่า two-leg STS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) จากการเปรียบเทียบค่ากำลังของการลุกจากนั่งขึ้นยืน พบว่า one-leg STS ($160.9638.97$ วัตต์) มีค่ากำลังน้อยกว่า two-leg STS (199.33 ± 49.73 วัตต์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) ซึ่งเป็นผลมาจากเวลาการทดสอบ one-leg STS มีค่ามากกว่า

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

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

Direction of displacement (centimeters)	Type of STS test		p-value
	Two-leg STS	One-leg STS	
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 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ R Power-MVC = 0.759, $p < 0.001$

ความสัมพันธ์ระหว่างแรงหดตัวสูงสุดของกลุ่มกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่า (MVC) กับค่ากำลังของการลุกจากท่านั่งขึ้นยืนด้วยขาข้างเดียว (Power one-leg STS) แสดง

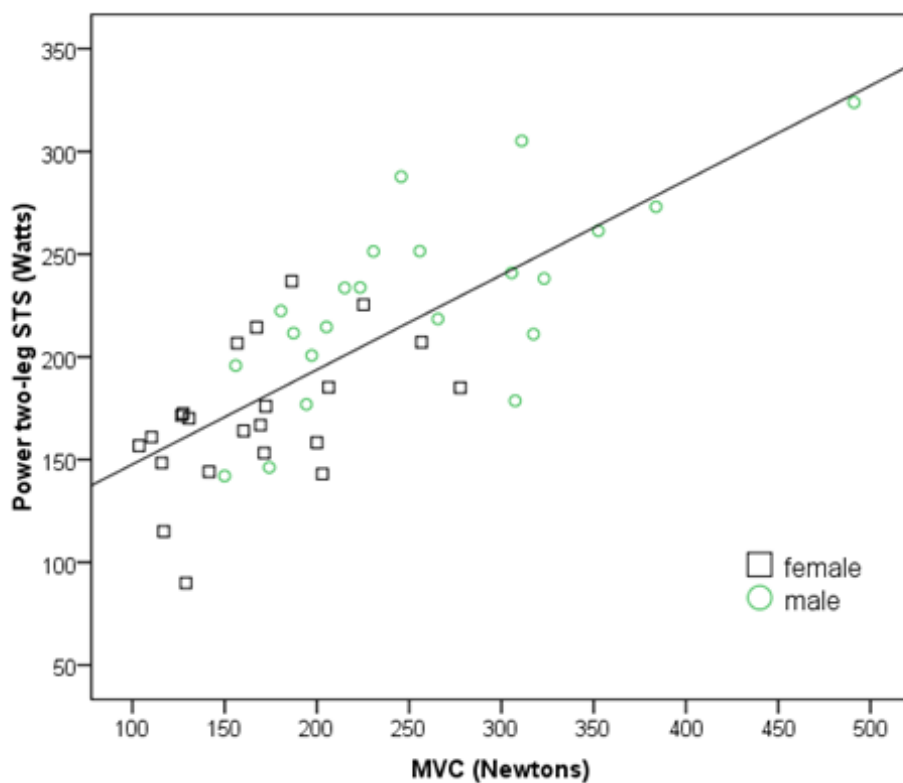


Figure 3 A graph representing the relationship between knee extensor MVC and Power obtained from a two-leg STS test

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

relation พบว่า ตัวแปรทั้งสองมีความสัมพันธ์กันในเชิงบวก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $R \text{ Power-MVC} = 0.832$, $p < 0.001$.

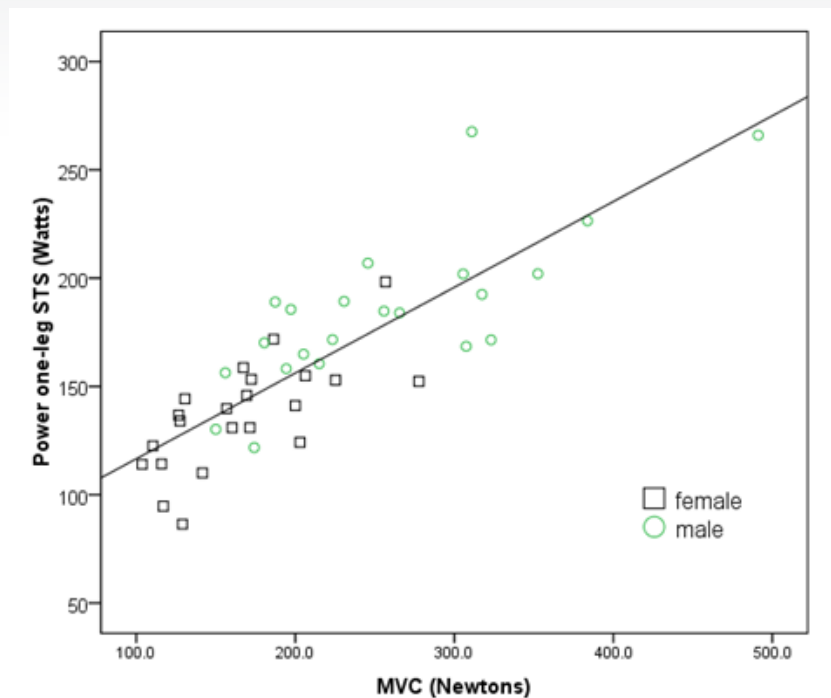


Figure 4 A graph representing the relationship between knee extensor MVC and power obtained from a one-leg STS test

วิจารณ์ผล

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อเปรียบเทียบระยะการเคลื่อนที่ของร่างกายระหว่างการทดสอบ two-leg STS และ one-leg STS ในผู้ใหญ่ตอนต้นอายุ 18 - 25 ปี และทดสอบความตรงตามสภาพ (concurrent validity) ของการทดสอบ STS ทั้ง 2 รูปแบบ โดยพิจารณาจากความสัมพันธ์ระหว่างค่ากำลังของการลุกจากท่านั่งขึ้นยืนกับค่าแรงหดตัวสูงสุดของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่า ($R \text{ Power} - \text{MVC}$)

จากการศึกษาที่ผ่านมาเกี่ยวกับการทดสอบ STS ล้วนแต่ให้ผู้ถูกทดสอบลุกขึ้นยืนตามรูปแบบปกติ คือใช้แรงจากขาทั้งสองข้างในการลุกขึ้นยืน ซึ่งในกรณีที่ความแข็งแรงของขาแต่ละข้างแตกต่างกันก็จะมีส่วนออกแรงเพื่อเคลื่อนส่วนของร่างกายขึ้นยืนได้ไม่เท่ากัน โดยเฉพาะในผู้สูงอายุหรือผู้ที่มีพยาธิสภาพของส่วนร่างกายที่มีผลต่อความสามารถในการลุกขึ้นยืน ดังนั้นผลจากการศึกษานี้จึงเป็นแนวทางการทดสอบในกรณีที่ต้องการวัดค่าความแข็งแรงของกล้ามเนื้อแยกข้างที่สามารถนำมาปรับใช้ในการทดสอบทางกายภาพบำบัดได้ แต่อย่างไรก็ตาม ยังไม่พบมีงานตีพิมพ์เกี่ยวกับการทดสอบการลุกจากท่านั่งขึ้นยืนด้วยขาข้างเดียวมาก่อน

จากการวิเคราะห์การเคลื่อนที่ของร่างกายผู้ถูกทดสอบขณะลุกจากท่านั่งขึ้นยืน พบว่าการเคลื่อนไหวของลำตัวเกิดขึ้นใน 3 ทิศทางหลักของการเคลื่อนไหว โดยที่ระยะจัดของร่างกายในแนวตั้งมีค่ามากที่สุดเมื่อเทียบกับการเคลื่อนไหวในแนวอื่น แต่จากการทดสอบทางสถิติไม่มีความแตกต่างระยะการจัดในแนวตั้ง ระหว่าง 2 รูปแบบของการทดสอบ STS เนื่องจากอาสาสมัครลุกขึ้นยืนโดยเหยียดข้อสะโพกและข้อเข่าขึ้นสุดช่วงการเคลื่อนไหวเช่นเดียวกันทั้ง 2 รูปแบบการทดสอบ STS

ในการศึกษานี้ พบว่าการลุกขึ้นยืนด้วยขาข้างเดียวมีระยะการเคลื่อนไปข้างหน้าของส่วนลำตัวมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (ประมาณ 7-8 เซนติเมตร) เมื่อเทียบกับลุกขึ้นยืนด้วยขา 2 ข้าง ทั้งนี้สามารถอธิบายได้ว่า การลุกขึ้นยืนด้วยขาข้างเดียวนั้นใช้กล้ามเนื้อขาเพียงข้างเดียวในการส่งแรงให้เกิดการเคลื่อนของร่างกายไปข้างหน้าและขึ้นบน เพื่อให้เกิดการเคลื่อนของจุดศูนย์กลางมวลของร่างกายไปสู่ทำนองได้สำเร็จได้นั้น ต้องส่งเสริมการเกิดโมเมนต์ด้วยการโน้มตัวไปข้างหน้ามากขึ้น¹⁴ จากการศึกษาของ Kerr และคณะ¹⁵ พบว่าในการทดสอบการลุกจากท่านั่งขึ้นยืนด้วยขา 2 ข้างในผู้สูงอายุก็พบ

การโน้มตัวไปข้างหน้ามากกว่าผู้ถูกทดสอบวัยหนุ่มสาว ทั้งนี้เนื่องจากผู้สูงอายุมีความแข็งแรงของกล้ามเนื้อขาที่น้อยกว่าวัยหนุ่มสาวจึงต้องชดเชยการสร้างโมเมนต์ของร่างกายด้วยการโน้มตัวไปข้างหน้ามากขึ้น

สำหรับการเคลื่อนของลำตัวในแนวด้านข้าง เมื่อลุกจากท่านั่งขึ้นยืนด้วยขาสองข้าง มีการเคลื่อนของลำตัวเพียงเล็กน้อย โดยเฉลี่ยประมาณ 2 เซนติเมตร เนื่องจากการเคลื่อนไหวที่สมมาตร โดยที่ข้อต่อของรยางค์ขาทั้ง 2 ข้างนั้นงอและเหยียดไปพร้อม ๆ กัน โดยขณะลุกขึ้นยืนในช่วง extension phase ข้อสะโพก ข้อเข่า และข้อเท้า เหยียดออกเพื่อให้ส่วนรยางค์ขาอยู่ในท่าเหยียดเมื่อยืนตรง¹⁴ แต่ในขณะที่อาสาสมัครลุกขึ้นยืนด้วยขาข้างเดียว กล้ามเนื้อขาอีกข้างไม่มีส่วนในการออกแรงเหยียดสะโพกและข้อเข่าขึ้นยืนและไม่ได้ควบคุมการย่อตัวลงนั่ง ประกอบกับพื้นที่รองรับส่วนของร่างกาย (base of support) ที่ลดลงเมื่อลุกขึ้นยืนและลงนั่งอยู่บนเท้าข้างเดียว¹⁶ โดยพบว่าเมื่อเริ่มต้นการลุกขึ้นยืนด้วยขาข้างเดียว ผู้ถูกทดสอบมีการเคลื่อนของลำตัวไปในแนวด้านข้างเพิ่มขึ้นประมาณ 4 เซนติเมตร เมื่อเทียบกับการลุกขึ้นยืนและลงนั่งด้วยขา 2 ข้าง การเอียงตัวเข้าไปด้านเดียวกับขาที่ยืนพื้นมากขึ้นเป็นการชดเชยการเคลื่อนไหวเพื่อเพิ่มความมั่นคงให้กับร่างกาย และในจังหวะที่ผู้ถูกทดสอบยืดเหยียดลำตัวขึ้นยืนตรง ส่วนของลำตัวเข้าจึงเคลื่อนออกด้านนอกอีกครั้ง เพื่อควบคุมให้จุดศูนย์กลางมวลของร่างกายอยู่ใน base of support และควบคุมการทรงตัวให้อยู่นิ่งได้ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงรูปแบบการเคลื่อนที่ของลำตัวระหว่างการลุกขึ้นยืนและลงนั่งด้วยขาข้างเดียวที่พบในการศึกษานี้ เป็นการปรับกลยุทธ์การเคลื่อนไหวตามปกติของร่างกาย เพื่อชดเชยการเสียเปรียบเชิงกลของกล้ามเนื้อที่ทำหน้าที่หลักในการเคลื่อนไหว

จากผลการศึกษาในส่วนของความสัมพันธ์ระหว่างค่ากำลังของการลุกขึ้นยืนด้วยขาข้างเดียวกับความแข็งแรงของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่า พบว่าทั้งเพศชายและเพศหญิงมีความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรดังกล่าวในรูปแบบเดียวกัน และพบว่าความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรดังกล่าวเป็นเชิงบวกและจัดอยู่ในระดับสูงมาก ($r=0.832$) ซึ่งสอดคล้องและมีค่าความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับการศึกษาของ Takai และคณะ⁹ ที่พบความสัมพันธ์เชิงบวกในระดับสูงเช่นเดียวกันระหว่างพื้นที่ภาคตัดขวางของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่า ความแข็งแรงของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่า กับค่ากำลังของการลุกขึ้นยืนด้วยขาสองข้าง ดังนั้นค่ากำลังของการลุกขึ้นยืนด้วยขาข้างเดียวที่พบในการศึกษานี้ จึงสามารถใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงความแข็งแรงของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่าได้ทั้งในกลุ่มอาสาสมัคร

ทั้งสองเพศ ค่า power STS คำนวณมาจาก 3 ตัวแปรหลัก ประกอบด้วยตัวแปรที่วัดความสามารถในการลุกขึ้นยืนจากนั่งบนเก้าอี้ คือ เวลาที่ใช้ในการทดสอบ และอีก 2 ตัวแปรที่เกี่ยวข้องกับรูปร่างของผู้ถูกทดสอบ คือ น้ำหนักตัวและความยาวขาตอนบน ความยาวของขาตอนบนถูกนำมาใช้คำนวณค่า Power STS เนื่องจากมีค่าใกล้เคียงกับระยะการเคลื่อนที่ของจุดศูนย์กลางมวลของร่างกายจากท่านั่งไปเป็นทำยืน⁹

ข้อจำกัดของการศึกษานี้ คือไม่ได้วัดค่าตัวแปรอื่นที่อาจมีผลต่อการทดสอบการลุกขึ้นยืนและลงนั่งด้วยขาข้างเดียว เช่น ค่าแรงหดตัวสูงสุดของกล้ามเนื้อขาข้ออื่น และความสามารถในการทรงตัวของผู้ทดสอบที่อาจส่งผลต่อความราบรื่นและเวลาที่ใช้ในการเคลื่อนไหวร่างกาย อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาของ Schenkman และคณะ¹⁴ ที่ได้วิเคราะห์การทำงานของกล้ามเนื้อระหว่างการเคลื่อนไหว STS พบว่ากล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่าเป็นกล้ามเนื้อหลักของ 2 ใน 4 phase ของการเคลื่อนไหว STS โดยคิดเป็นสัดส่วนมากกว่าร้อยละ 60 ของระยะเวลาการเคลื่อนไหวทั้งหมด ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่ากล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่าเป็นส่วนสำคัญของการควบคุมการเคลื่อนไหวของร่างกายขณะลุกจากนั่งไปยืน สำหรับปัจจัยด้านความสามารถในการทรงตัวนั้นในการศึกษานี้เป็นการทดสอบในกลุ่มผู้ใหญ่ตอนต้นอายุเฉลี่ยประมาณ 21 ปี ที่มีสุขภาพดีและไม่มีภาวะบาดเจ็บของร่างกาย มีความพร้อมและเข้าใจขั้นตอนการทดสอบเป็นอย่างดี ดังนั้นจึงไม่มีปัญหาด้านการควบคุมการทรงตัวของร่างกายที่ส่งผลการทดสอบ

สรุป

ค่ากำลังกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่า (power STS) ที่ได้จากการทดสอบลุกจากท่านั่งขึ้นยืนด้วยขาข้างเดียว (one-leg STS) เป็นตัวแปรที่มีความสัมพันธ์ระดับสูงมากกับค่า MVC ของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่า และมีระดับความสัมพันธ์กับค่า MVC ที่สูงกว่าเมื่อเทียบกับการทดสอบลุกจากท่านั่งขึ้นยืนด้วยขา 2 ข้าง การทดสอบ one-leg STS ที่พัฒนาขึ้น มีความยากในเชิงชีวกลศาสตร์การเคลื่อนไหวของร่างกาย จึงใช้แรงจากกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่าในสัดส่วนที่มากขึ้น แต่ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงรูปแบบการเคลื่อนไหวของร่างกายมากจนเกิดการการเคลื่อนไหวที่ผิดปกติเมื่อเทียบกับการทดสอบลุกจากท่านั่งขึ้นยืนด้วยขา 2 ข้างแบบเดิม จากผลการศึกษานี้จึงอาจกล่าวได้ว่าการทดสอบ one-leg STS มีความเหมาะสมในการนำไปใช้เพื่อทดสอบและประเมินความแข็งแรงของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่าในกลุ่มวัยผู้ใหญ่ตอนต้นได้

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 (α -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 Sripakdee
Phennapha Klangsinsirikul

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 1×10^5 cells were cultured on 2 cm^2 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 β -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 ± 0.20

and 3.90 ± 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 ± 0.24 μg of Gallic acid equivalent, flavonoids 75.31 ± 0.01 μg of Quercet in equivalent and total tannin 895.95 ± 1.68 μg 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 Chiampnichayakul

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 Kajonkairatun
Phennapha Klangsinrikul*

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 fluoresceine 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 Puangjakt
Wilaiwan Petsophonrakul*

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: Sobotia, 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 Sobotia, 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 considerable 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, uricaria, 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^a, 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^a (64.2%), anti-E (21.4%), anti-P1 (7.2%) and anti-Le^a (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
Khanittha 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- α levels were determined by Griess's reagent and enzyme-linked immunosorbant 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- α 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- α 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 Klangsinsirikul

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 3.12×10^4 cells which can present 0.83 μg of hemoglobin and can detect for occult blood in stool which has 1×10^5 RBC or 108 μg 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 β -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 β -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 β -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 ± 0.37 mg/dL, of phosphorus was 3.78 ± 0.44 mg/dL and of β -CrossLaps was 0.74 ± 0.45 mg/dL. Calcium, phosphorus and

β -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 β -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). β -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 β -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 Thoa 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 Thoa 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
Khanittha 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-Ciocalteu'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 IC₅₀ 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 β -thalassemia (SEA type) and 15-20 for β -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- α 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 Klangsinrikul

Gamma/delta (γ/δ) 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 δ 1 and V δ 2. V δ 1 subset is found mainly in mucosa of the lymphoid organ whereas V δ 2 subset is found mainly in blood circulation. Function of γ/δ T lymphocytes is to response to the lipid antigen without major histocompatibility complex (MHC). Previous study by Jaturaporn Fupruk found that V δ 2 cells were decreased in HIV-1 infected patients with CD4 T lymphocytes less than 200 cells/ μ 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 γ/δ T lymphocytes and V δ 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/ μ L, CD4 between 200-350 cells/ μ L and CD4 more than 350 cells/ μ L. The results showed that the amounts of γ/δ 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 δ 2 group. When compared the results between HIV-1 infected groups, the number of V δ 2 cell was decreased in patients with CD4 less than 200 cells/ μ L as compared to those of patients with CD4 between 200-350 cells/ μ L. The results from this study were consistent to the previous study by Jaturaporn Fupruk. This may partly due to the function of γ/δ 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, Doi Saket 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

Daraneek Nak-opat Supawatchara Singhatong
Churdsak Jaikang Soodjai Pawichai

Antioxidant and antimicrobial activities of water and ethanol extract of *Aspidistra elatior* (AE) were investigated. 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical, hydrogen peroxide (H_2O_2), nitric oxide (NO), hydroxyl (OH^\bullet) 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 ± 0.01 μ g Gallic acid equivalent, total flavonoid

7.41 ± 0.01 μ g Quercetin equivalent and total tannin 68.54 ± 0.01 μ g Tannic acid equivalent. Antioxidant activities expressed in IC_{50} values as 1.26 ± 0.17 , 15.98 ± 0.13 , 54.81 ± 0.35 , 1.17 ± 0.01 , 2.97 ± 0.06 of NO, DPPH, ABTS, H_2O_2 and OH^\bullet radical scavenging method, respectively and 15.11 ± 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

Tanawatthai 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 μ 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 μ 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, wildbetal 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 Jaikham
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 µg/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 µg/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 µg/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 µg/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 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-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 successive 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- α) 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- α 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 α -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 μ 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 methods *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 goniiothalamine

Ploingarm Petsophonsakul
Ratana Banjerdpongchai

Goniiothalamine is an active compound extracted from *Goniiothalamus griffithii*, a local plant found in Northern Thailand. Goniiothalamine inhibits cancer cell growth but is not toxic to normal cells. The aims of this study were to identify the cytotoxic effect of goniiothalamine 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 dihexyloxycarbocyanine iodide and flow cytometry. The expression of Smac, caspase-8

and -9 was demonstrated by Western blot. Goniiothalamine inhibited growth of HL60 and U937 cell lines. An increase of SubG1 phase were found in cell cycle profiles of goniiothalamine-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 goniiothalamine 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- μ 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, drugs 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-beta-lactamase 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_{NDM-1} was found in 3 *K. pneumoniae* isolates (0.80%) and 1 *E. coli* isolate (0.27%) but bla_{KPC} 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 (β^0 or β^+) with β^E 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 4th 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 μ l 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 1×10^5 cells were seeded onto hydrogel

(seeding density= 10^4 cells/cm³). 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
Sorrarak 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 µg/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 ± 2.1 $\mu\text{g/mL}$, follow by fraction 10 and fraction 11 (42.8 ± 4.8 and 53.1 ± 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

Rutchaneekorn 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 IC₅₀ of 3,543.53 ± 1,612.15, 7,702.31 ± 3,235.25, more than 16,000, 1,571.8 ± 694.71, 4,631.90 ± 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 IC₅₀ value of 27.94 ± 2.55 µg/ml. The WT1 protein levels were decreased by 12.5, 14.4, and 49.5% after treatment with 10 µg/ml crude Srilangka root extract for 24, 48, and 72 hours, respectively. Crude Srilangka extract at the concentrations of 10.4 and 16.1 µg/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 Chaikhampam
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^a antigen of MNS blood group in Northern Thais

Laongdao Thongnak

Preeyanat Vongchan

Thipsukon Rinjoy

Individuals with Mi^a antigen negative can be stimulated to produce Mi^a antibodies by transfused Mi^a positive blood as well as Mi^a negative mother who carry a Mi^a 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^a 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. Bloods samples (n=1,000) were screened for Mi^a antigen expression by standard tube agglutination and indirect antiglobulin techniques using anti-Mi^a 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^a 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^a 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^a 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 ≥ 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 ± 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 ± 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 ± 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 ± 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 ± 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 ± 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 (ØCD147Ex M13 and ØCD147Ex KO7). Wild-type phage (ØVCSM13) and phage-displayed irrelevant protein (ØSVV M13) were used as phage control and cisplatin was used as positive control. After induction, U937 cells stimulated by ØCD147Ex M13 and ØCD147 KO7

underwent apoptosis. However, U937 activation by ØCD147Ex 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 ØCD147Ex M13-activated U937. In addition, expression of uPA in protein from membrane fraction could not be interpreted because a band of β -actin, (loading control) did not shown. This may be resulted from the problems in protein extraction or protein quantification processes. Therefore, ØCD147Ex 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 Wongkumool
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 Jaila
Khanittha 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 heteroclita* 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 heteroclita* 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 (*vvhA*). 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/ μ 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 HbA₂/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 HbA₂/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 ± 1.1 g/dl in adult and 10.9 ± 0.9 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, it 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 1.3×10^{-6} g/ml and red blood cells 2.91×10^4 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⁺ 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⁺ 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⁺ T cells were selected with Human CD4 Positive Selection Kit. After that, CD4⁺ T cells were stained with anti-CD4, anti-CD25 and anti-CD127. The percentage of CD4⁺CD25^{high}CD127^{low}Tregs was further analyzed by flow cytometer. The percentage of CD4⁺ 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⁺ T cells was then calculated from percentage of CD4⁺ 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 months 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® Analysers, 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 *flavicarpa* (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 ± 0.01 µg GE/g extract and found the highest total flavonoid with 2.20 ± 0.01 µg QE/g extract, respectively. Ethanol extract of PF were the highest potency to scavenge hydroxyl radical with

IC50 value was 81.91 ± 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 Wongsu
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 ± 711.05, >16,000, 9,334.97 ± 1,763.82, 2,139.35 ± 323.40, 2,917.13 ± 614.82 and > 16,000 µg/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 γ gene deletions in β^0 -thalassemia/HbE disease with a low level of HbF

*Pinyaphat Khamphikham
Sakorn Pornprasert*

β^0 -thalassemia/Hemoglobin E (β^0 -thal/HbE) disease is a severe thalassemic type and common in Thailand. However, β^0 -thal/HbE disease patients also show variations of clinical manifestations depended on a level of HbF. β^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 γ gene. The LCR and G γ gene deletions were analyzed in 11 β^0 -thal/HbE disease patients with a low level of HbF ($\leq 15\%$) and 10 β^0 -thal/HbE disease patients with a high level of HbF

($> 15\%$) by using the quantitative real-time PCR. LCR and G γ gene dosages were compared with LPL9 (lipoprotein lipase9) gene which used as an internal control gene. The mean ratios of LCR:LPL9 of β^0 -thal/HbE patients with a low of HbF were significantly lower than those of β^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 γ :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 β^0 -thal/HbE patients were not due to the deletions of LCR and G γ 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 suitably 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

คำแนะนำผู้เขียน

วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ เป็นวารสารทางวิชาการของคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ยินดีพิจารณาบทความที่มีคุณภาพด้านเทคนิคการแพทย์ รังสีเทคนิค กิจกรรมบำบัด กายภาพบำบัด และด้านอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับวิทยาศาสตร์สุขภาพ โดยผ่านระบบการตรวจประเมิน และได้รับการยอมรับจากผู้ทรงคุณวุฒิผู้เชี่ยวชาญในสาขาวิชานั้นๆ อย่างน้อย 2 ท่านบทความที่เสนอขอรับการพิจารณาต้องไม่เคยตีพิมพ์ หรืออยู่ในระหว่างการเสนอต่อวารสารอื่นใด บทความที่ดีพิมพ์ในวารสารนี้แล้ว ถือเป็นลิขสิทธิ์ของวารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ประเภทของบทความที่ลงตีพิมพ์ แบ่งเป็น 8 ประเภท คือ

1. บทบรรณาธิการ (EDITORIAL) เป็นบทความซึ่งวิเคราะห์ผลงานทางวิทยาศาสตร์ใหม่ๆ ที่มีความสำคัญในวิชาชีพเทคนิคการแพทย์ รังสีเทคนิค กิจกรรมบำบัด กายภาพบำบัด หรือวิทยาศาสตร์ที่เกี่ยวข้อง หรืออาจเป็นบทความซึ่งมีใช้เรื่องทางวิชาการโดยตรงแต่เป็นความคิดเห็นเพื่อประโยชน์ของการยกระดับวิชาชีพให้สูงขึ้น
2. นิพนธ์ต้นฉบับ (RESEARCH ARTICLE) เป็นรายงานผลงานวิจัยในด้านที่เกี่ยวข้องโดยที่บทความนั้นยังไม่เคยตีพิมพ์ หรืออยู่ในระหว่างการตีพิมพ์ในวารสารอื่นใด
3. รายงานเทคนิคทางห้องปฏิบัติการ กายภาพบำบัด กิจกรรมบำบัด และรังสีเทคนิค (SHORT TECHNICAL REPORT) เป็นรายงานการประยุกต์ใช้เทคนิคการตรวจในห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ กายภาพบำบัด กิจกรรมบำบัด และรังสีเทคนิค โดยแสดงรายละเอียดทั้งวิธีการและผลการใช้เทคนิคนั้น เปรียบเทียบกับวิธีเดิม รวมถึงการวิจารณ์และสรุปผล
4. นิพนธ์ปริทรรศน์ (REVIEW ARTICLE) เป็นบทความที่รวบรวมเอาผลงานในเรื่องใดเรื่องหนึ่งโดยเฉพาะ ซึ่งเคยลงตีพิมพ์แล้วนำมาวิเคราะห์ วิจารณ์เปรียบเทียบเพื่อให้เกิดความกระจ่างในเรื่องนั้นยิ่งขึ้น
5. บทความทั่วไป (GENERAL ARTICLE) เป็นบทความที่มีวิชาการเฉพาะด้านรวมอยู่ด้วยค่อนข้างน้อย เขียนเพื่อให้บุคคลทั่วไปสามารถอ่านเข้าใจตลอด
6. บันทึก (NOTE) เป็นบทความหรือรายงานผลการวิจัยคล้ายข้อ 1 และข้อ 2 แต่มีความกะทัดรัดกว่าทั้งในเนื้อหาและรายละเอียด
7. ปกิณกะ (MISCELLANY) เป็นบทความทั่วไปที่เกี่ยวข้องกับกิจกรรมทางด้านวิทยาศาสตร์สุขภาพ เช่น การวิจารณ์ผลเวชศาสตร์ชั้นสูง การตอบปัญหาทางด้านเวชศาสตร์ชั้นสูง 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 ควรใช้ถ้อยคำและศัพท์ภาษาไทยให้มากที่สุดเท่าที่จะทำได้ โดยใช้พจนานุกรมศัพท์แพทย์อังกฤษ-ไทยฉบับราชบัณฑิตยสถานเป็นบรรทัดฐาน คำศัพท์ภาษาอังกฤษที่บัญญัติเป็นภาษาไทยแล้วแต่ยังไม่เป็นที่ทราบกันอย่างแพร่หลายหรือแปลแล้วเข้าใจยาก ให้ใส่ภาษาเดิมกำกับไว้ในวงเล็บหรืออนุโลมให้ใช้ภาษาอังกฤษได้
2. ต้นฉบับ ใช้กระดาษสีขาวขนาด 8.5x11 นิ้ว พิมพ์หน้าเดียว เว้นระยะระหว่างบรรทัด 2 ช่วง (2 spaces) ใช้โปรแกรม และตัวพิมพ์มาตรฐาน มีเลขที่หน้ากำกับทุกหน้า
3. ชื่อเรื่อง ให้มีทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษเป็นข้อความสั้นๆ และสื่อความหมาย บ่งชี้ให้เห็นสาระสำคัญของเนื้อหาในบทความ ไม่ควรใช้คำย่อนอกจากคำย่อที่เป็นที่ทราบกันโดยทั่วไป
4. ชื่อผู้แต่ง ให้ใส่ชื่อตัวและชื่อสกุลเต็มทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ กรณีที่ผู้แต่งหลายคนให้เรียงตามลำดับความสำคัญในงานนั้นๆ และให้ชื่อและสถานที่ติดต่อพร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร หรือ E-mail address ของผู้รับผิดชอบบทความเพื่อการติดต่อได้สะดวก กรณีที่มีผู้วิจัยมากกว่าหนึ่งคน ให้ลำดับด้วยตัวเลขยกไว้ท้ายนามสกุล
5. นิพนธ์ต้นฉบับให้มีบทคัดย่อทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ (abstract) ความยาวไม่เกิน 400 คำ โดยแบ่งเป็น 5 หัวข้อดังนี้ วัตถุประสงค์ ตัวอย่างทดสอบ วิธีการ ทดสอบและสรุป ทั้งนี้ให้มีคำรหัส (keyword) ไม่เกิน 3-5 คำ โดยลำดับเนื้อหา ดังนี้ 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. กรณีที่งานวิจัยนั้นได้รับทุนวิจัยให้ระบุแหล่งที่มาของทุนวิจัยนั้นด้วย
8. การอ้างอิงเอกสารในเนื้อเรื่องให้อ้างอิงเรียงตามลำดับเลขที่ของเอกสารอ้างอิงซึ่งอยู่ท้ายเรื่อง โดยใช้ตัวเลขแบบยกต่อท้ายข้อความนั้น 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. การส่งบทความต้นฉบับ ให้ส่งต้นฉบับจำนวน 2 ชุด พร้อมแผ่นบันทึกข้อมูล (CD) ที่ระบุโปรแกรมที่ใช้พิมพ์มายัง
**บรรณาธิการวารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ คณะเทคนิคการแพทย์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
เลขที่ 110 ถนนอินทวิโรต ตำบลสุเทพ 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/newsearch.asp>
- Cancer-Pain.org [Internet]. New York: Association of Cancer Online Resources, Inc.; c2000-01 [updated 2002 May 16; cited 2002 Jul 9]. Available from: <http://www.cancer-pain.org/>.
- Borkowski MM. Infant sleep and feeding: a telephone survey of Hispanic Americans [dissertation]. Mount Pleasant (MI): Central Michigan University; 2002
- 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 5th Germ Cell Tumour Conference; 2001 Sep 13-15; Leeds, UK. New York: Springer, 2002.
- Portney JG, Watkins MP. Foundation of clinical research applications to practice. 2nd United States of America. Julie Alexandar; 2000.

ข้อคิดเห็นใด ๆ ในบทความหรือเรื่องที่ตีพิมพ์ในวารสารนี้
เป็นข้อคิดเห็นส่วนตัวของผู้เขียนไม่ได้เกิดจากบรรณาธิการ หรือผู้จัดทำ แต่อย่างใด



ใบสมัครสมาชิก วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่

ที่.....

วันที่.....

ถึง **บรรณาธิการวารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่**
ข้าพเจ้ายินดีขอรับเป็นสมาชิกวารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่

โปรดจัดส่งวารสารถึงข้าพเจ้าดังนี้

นาม.....

สำนักงาน.....

บ้านเลขที่..... ถนน

ตำบล..... อำเภอ

จังหวัด.....

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

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

ลงชื่อ
(.....)

หมายเหตุ	ค่าบำรุงสมาชิกรายปี	800	บาท
	ค่าบำรุงสมาชิกตลอดชีพ	1,000	บาท



Gibthai Products

LABORATORY PRODUCTS DIVISION



GOnDO
Benchtop pH Meter
combines with Stirrer



Metertech
AccuReader - Absorbance
Microplate Reader



KUDOS®
High Frequency
Ultrasonic Cleaner



DATHAN Scientific
YOUR PARTNER IN LABORATORY
Autoclave



MECASYS
OPTIZEN 3220UV bio
NanoBiometer



3N HOLDING
Diaphragm Vacuum pump



Amerex Instruments, Inc.
Benchtop & Upright
Incubator Shaker



Dometic
Created by Electrolux
Blood Bank Refrigerators



Winpact
Cell Cultivation, Fermentation
System and Software



Julabo
Shaking Water Bath



METTLER TOLEDO
Electronic Balance Classic
Light AL and PL line



TORREY PINES SCIENTIFIC
Hot Plate Stirrer,
9 Positions



ESCO
Biohazard Class II
Safety Cabinet



SL SHEL LAB
Incubator & Oven



LabTech
Personal Microcentrifuge



Tuttnauer
Laboratory Bench Top
and Vertical Sterilizers



GPERGN
Bulk Tray Type
Freeze Dryer



vivo
iTherm Refrigerated &
Heating Circulators



GRAM
BioCOMPACT II
Fridges & Freezers



SIGMA
Laboratory Table
top Centrifuge



sartorius stedim
AriumPro-Ultrapure
Water System



sartorius stedim
Combisart® Multi-Branch
Manifold, with funnels and lids



sartorius stedim
BIOSTAT® B plus
Laboratory Bioreactor



Haier
Inspired living
Blood Bank/Pharmacy Refrigerators,
Deep Freezer



Centurion Scientific Ltd.
Multi Purpose &
Versatile Centrifuge

LIFE SCIENCE PRODUCTS DIVISION



ADVANCE
MUPID EXU
Gel Electrophoresis



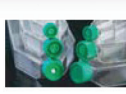
UVP
GelDoc-It TS Stand
Alone Bioimaging System



bioLan
Medical-Biological
Research & Technologies
Boxes of Biosafety -
UV cabinet



PEPROTECH
Not Just Cytokines!
Cytokines, ELISA Kits,
Recombinant Proteins
And Antibodies



SPL SPL LIFE SCIENCES
Culture Flasks &
Plasticwares



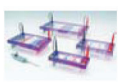
ESCO
Swift MaxPro
Thermal Cycler



Biotix
Neptune Filter Tip
& Tube



BIOHIT
Proline Plus Pipettors,
Fully Autoclavable



Cleaver Scientific Ltd.
Multi Sub
Electrophoresis System



ambion RNA by life technologies
Ambion® products represent
years of RNA expertise



invitrogen
Countess® Automated
Cell Counter



gibco cell culture by life technologies
GIBCO® - The Most Trusted
Brand for Cell Culture Products



molecular probes labeling & detection
Qubit® Quantitation
System



NanoEnTek
JuLi™ Smart Fluorescent
Cell Analyzer



AMRESCO
Ultra Pure Reagents
for Life Science Research



BRADY
BMP™21 Portable
Label Printer



INTEGRA
Vacuase Comfort -
The aspiration system for
safe disposal of liquids



MALCOM
Micro UV-VIS Fluorescence
Spectrophotometer



major science
Elite Dry Bath Incubator



RBC Bioscience
MagCore HF16 Nucleic
Acid Purification System



NANOHELIX
DNA/RNA Amplification
Enzymes & Kits

HEALTH & HYGIENE PRODUCTS DIVISION



ORECK
Air purifier



fusion Chef by Julabo
Premium Sous Vide
Culinary Equipment



BIOZONE Scientific
PowerZone Air Purifier -
for odor, virus and bacterial control



GIBTHAI CO., LTD.

Head Office

3N Holding House, 44/6 Suthsarnvinitthai Road,
Samsenok, Huay Kwang, Bangkok 10320, Thailand
Tel : (66) 0 2274 8331
Fax : (66) 0 2274 8336,
(66) 0 2274 8580
Customer Hotline : (66) 0 2274 7480
E-mail : info@gibthai.com
Website : www.gibthai.com

Northern Branch

Hill Side 3, 1 soi 8
Nimmanhamin Rd., Suthep,
Muang, Chiangmai 50200
Tel : (66) 0 5321 9818-9,
(66) 0 5321 9896
Fax : (66) 0 5321 9866
E-Mail : gtchiangmai@gibthai.com

Southern Branch

43/54 Punnakan Road, KohHong,
Hatyai, Songkla 90110
Tel : (66) 0 7420 1934-6
Fax : (66) 0 7420 1364
E-Mail : gthatyai@gibthai.com

บริษัท กิบทัย จำกัด

สำนักงานใหญ่

อาคาร กรีนไฮล์ โซน 3 เลขที่ 44/6 ถนนสุธาสนธิ์
ถนนสุขุมวิท แขวงคลองเตย เขตคลองเตย กรุงเทพฯ 10320
โทร : (66) 0 2274 8331
โทร : (66) 0 2274 8336,
(66) 0 2274 8580
Customer Hotline : (66) 0 2274 7480
E-mail : info@gibthai.com
Website : www.gibthai.com

สาขากาญจนาภิเษก

อาคารศูนย์การค้า 3 เลขที่ 1 ซอย 8
ถนนพหลโยธิน แขวงจตุจักร เขตจตุจักร
อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ 50200
โทร : (66) 0 5321 9818-9,
(66) 0 5321 9896
โทร : (66) 0 5321 9866
E-Mail : gtchiangmai@gibthai.com

สาขากาญจนาภิเษก

43/54 ถนนพหลโยธิน แขวงคลองเตย
อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90110
โทร : (66) 0 7420 1934-6
โทร : (66) 0 7420 1364
E-Mail : gthatyai@gibthai.com

SIEMENS

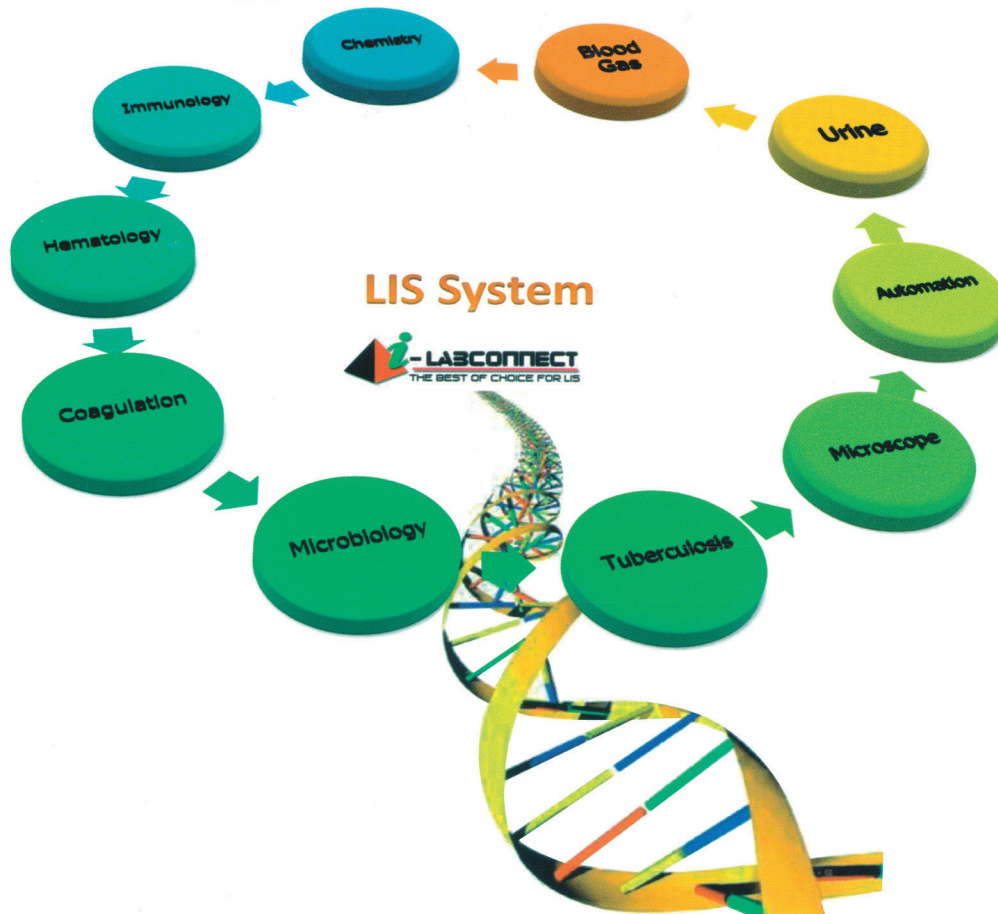
BioSystems

NIHON KOHDEN

DIRUI

OLYMPUS

cellestis



HAMILTON MEDICAL

NIHON KOHDEN



ASV : Toward Automatic Ventilation



ALARIS[®] MEDICAL SYSTEMS



Alaris[®] GW volumetric pump



PCAM[®] INFUSION SYSTEM

Site - Oriented
Emergency or ICU/CCU NICU Post ICU Ward



cardiolife



Central Monitor CNS 9701



ECG 1550



Life Scope^{TR}



Telemetry System



PVM-2701

AND

Automatic Blood Pressure Monitor



TM-2655

DETECTO

Mechanical Physician Scales



6129