การประเมินประสิทธิภาพของอนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาด็อกซูรูบิซินในการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านม

EFFICIENCY EVALUATION OF NANODIAMOND-DOXURUBICIN CONJUGATED IN THE TREATMENT OF BREAST CANCER CELL

ภัทรกร ครรชิตชัย
มัณฑนา ฉางทรัพย์

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2560

การประเมินประสิทธิภาพของอนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาด็อกซูรูบิซินในการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านม

EFFICIENCY EVALUATION OF NANODIAMOND-DOXURUBICIN CONJUGATED IN THE TREATMENT OF BREAST CANCER CELL

ภัทรกร ครรชิตชัย
มัณฑนา ฉางทรัพย์

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2560

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

EFFICIENCY EVALUATION OF NANODIAMOND-DOXURUBICIN CONJUGATED IN THE TREATMENT OF BREAST CANCER CELL

PATTHARAKORN KANCHITCHAI

MUNTHANA CHANGSUPH

SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE

IN BIOTECHNOLOGY

DEPARTMENT OF BIOLOGY

FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2017

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การประเมินประสิทธิภาพของอนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาด็อกซูรูบิซินในการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านม Efficiency evaluation of nanodiamond-doxurubicin conjugated in the treatment of breast cancer cell
ชื่อนักศึกษา	นางสาวภัทรกร ครรชิตชัย รหัสนักศึกษา 57050744 นางสาวมัณฑนา ฉางทรัพย์ รหัสนักศึกษา 57050749
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2560
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร. สุทธิจิต ศรีวัชรกุล
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผศ.ดร. กฤษกร โล้เจริญรัตน์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) ประจำปีการศึกษา 2560

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
รศ.อารี ฤทธิบูรณ์ ประธานกรรมการ	
ผศ.ดร. กฤษกร โล้เจริญรัตน์ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	
ดร. สุทธิจิต ศรีวัชรกุล กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	สุทธิจิต ศรีวัชรกุล

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การประเมินประสิทธิภาพของอนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาด็อกซูรูบิซินในการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านม
ชื่อนักศึกษา	นางสาวภัทรกร ครรชิตชัย รหัสนักศึกษา 57050744
	นางสาวมัณฑนา ฉางทรัพย์ รหัสนักศึกษา 57050749
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2560
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร. สุทธิจิต ศรีวัชรกุล
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผศ.ดร. กฤษกร โล้เจริญรัตน์

บทคัดย่อ

ในงานวิจัยครั้งนี้ได้ทำการประเมินประสิทธิภาพอนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาด็อกซูรูบิซิน (ND-X) ในการเข้าทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมของมนุษย์ พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 7 และ 8 มีความเหมาะสมของปริมาณอนุภาคเพชรนาโนและยาด็อกซูรูบิซินที่สามารถเข้าทำปฏิกิริยาและจับกันเกิดเป็นอนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาด็อกซูรูบิซินที่มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมได้ดี เมื่อนำไปตรวจหาความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธี MTT นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร พบว่าอนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาด็อกซูรูบิซิน (ND-X) สามารถเข้าทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมได้มากกว่าร้อยละ 90 ของปริมาณเซลล์เริ่มต้นที่ปลูกลงในจานเพาะเลี้ยงเซลล์ชนิด 24 หลุม เมื่อเทียบกับการรักษาด้วยวิธีการใช้ยาด็อกซูรูบิซินเพียงอย่างเดียว ที่ไม่มีความจำเพาะต่อเซลล์มะเร็งและยังทำลายเซลล์ที่มีการแบ่งตัวอย่างรวดเร็ว การรักษามะเร็งเต้านมด้วยการใช้ยาด็อกซูรูบิซินเพียงอย่างเดียวนั้น ทำให้เกิดผลข้างเคียงต่อผู้ป่วยเมื่อใช้ยาด็อกซูรูบิซินในปริมาณที่สูง ด้วยเหตุผลนี้จึงมีเทคโนโลยีการแพทย์นาโนเข้ามาช่วยพัฒนา โดยการนำเอาอนุภาคเพชรนาโนที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ปกติของมนุษย์มาเป็นตัวช่วยในการขนส่งยา เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดในการรักษามะเร็งด้วยการใช้ยาเคมีบำบัด

คำสำคัญ: เซลล์ไลน์มะเร็งเต้านมของมนุษย์ ด็อกซูรูบิซิน ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ อนุภาคเพชรนาโน อนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาด็อกซูรูบิซิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Efficiency evaluation of nanodiamond-doxurubicin conjugated in the treatment of breast cancer cell
Students	Pattharakorn Kanchitchai Student ID 57050744 Munthana Changsuph Student ID 57050749
Degree	Bachelor of Science Biotechnology
Department	Biology
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2017
Advisor	Dr. Suttijit Sriwatcharakul
Co-advisor	Asst.Prof.Dr. Kitsakorn Locharoenrat

Abstract

In this study, to evaluate the efficiency of nanodiamond-doxurubicin conjugated treated with breast cancer cell. The concentration level 7 and 8 found to be suitable for nanodiamond-Doxurubicin conjugated (ND-X) well in treatment of breast cancer cell. The detection of cytotoxic with MTT assay to measure the cell viability absorbance at 570 nm read. ND-X conjugated in the treatment attacked and killed breast cancer cell, higher than 90% of initial cell culture in 24 well plate. When used only doxurubicin to the treatment, it was not specific to cell and destroy the growing cells. However, breast cancer treatment using only doxurubicin cause side effects to the patient when using doxurubicin in high dose. Therefore, the medical nanotechnology help to develop the cancer treatment, these nanodiamond are not toxic to human cells to use as an aid in drug delivery to achieve maximum efficiency in chemotherapy of the cancer treatment.

Keyword: MCF-7, Doxurubicin, Cytotoxicity, Nanodiamond, Nanodiamond-doxurubicin conjugated

เอกสารนี้สงวนลิขสิทธิ์ที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ซึ่งสำเร็จลุล่วงด้วยดี เนื่องจากการให้ความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษา ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล และ ผศ.ดร. กฤษกร โล้เจริญรัตน์ ที่คอยให้ความช่วยเหลือดูแล แนะแนวทางการแก้ปัญหาข้อบกพร่องต่างๆ และปรับปรุงโครงงานพิเศษฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ตลอดการทำโครงงานพิเศษ รวมทั้งยังให้ความรู้แก่คณะผู้จัดทำ

กราบขอบพระคุณอาจารย์สาขาชีววิทยาทุกท่านที่มอบความรู้และทักษะการปฏิบัติงานต่างๆ ซึ่งสามารถนำมาใช้ในการทำโครงงานพิเศษฉบับนี้ได้เป็นอย่างดี

กราบขอบพระคุณเจ้าหน้าที่และนักวิทยาศาสตร์ทุกท่านที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเบิกอุปกรณ์ เครื่องมือและสารเคมี รวมทั้งให้คำแนะนำในการใช้เครื่องมือและการปฏิบัติงาน

ภัทรกร ครรชิตชัย

มัณฑนา ฉางทรัพย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ซ
คำย่อ/สัญลักษณ์	ญ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	1
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	1
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 มะเร็งเต้านม	3
2.1.1 โครงสร้างเต้านม	3
2.1.2 สาเหตุของมะเร็งเต้านม	4
2.1.3 อาการของมะเร็งเต้านม	5
2.1.4 ระยะของมะเร็งเต้านม	5
2.1.5 การวินิจฉัยมะเร็งเต้านม	7
2.1.6 การรักษามะเร็งเต้านม	8
2.1.7 ภาวะแทรกซ้อนของมะเร็งเต้านม	12
2.1.8 การป้องกันมะเร็งเต้านม	12
2.2 อนุภาคเพชรนาโน	13
2.2.1 นาโนเทคโนโลยี	13
2.2.2 ประโยชน์ของนาโนเทคโนโลยี	14
2.2.3 สาขาย่อยของนาโนเทคโนโลยี	14
2.2.4 งานด้านวัสดุนาโนเฉพาะทางและนาโนเทคโนโลยีขั้นสูง	14
2.2.5 งานด้านการเกษตรนาโนและสิ่งแวดล้อม	15
2.2.6 งานด้านนาโนเพื่อชีวิตและสุขภาพ	15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.7 งานด้านมาตรวิทยานาโนวิเคราะห์และวิศวกรรม 15
2.2.8 งานด้านการพัฒนาวัสดุนาโนและวิศวกรรมระบบนาโน 15
2.2.9 อนุภาคเพชรนาโน (Nanodiamonds) 15
2.3 ยาด็อกซูรูบิซิน 17
2.3.1 ข้อจำกัดในการใช้ยาด็อกซูรูบิซิน 19
2.3.2 ยาด็อกซูรูบิซินใช้รักษาโรคมะเร็ง 19
2.3.3 กลไกการออกฤทธิ์ของยาด็อกซูรูบิซิน 20
2.3.4 ผลข้างเคียงจากยาด็อกซูรูบิซิน 20
2.4 เซลล์ไลน์มะเร็งเต้านมของมนุษย์ (Human breast adenocarcinoma : MCF-7) 20
2.5 การตรวจสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยเทคนิค Methyl tetrazolium (MTT) 21
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย
3.1 เซลล์ไลน์มะเร็งเต้านมมนุษย์ 22
3.2 วัสดุอุปกรณ์ 22
3.3 สารเคมีที่ใช้ 23
3.4 ขั้นตอนในการดำเนินงาน 23
3.4.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) 23
3.4.2 การเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) 24
3.4.3 การนับจำนวนเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) 24
3.4.4 การเตรียมยาด็อกซูรูบิซินกับอนุภาคเพชรนาโนในแต่ละความเข้มข้น 26
3.4.5 การหาความเป็นพิษต่อเซลล์ ด้วยวิธี MTT 28
3.4.6 การคำนวณหาค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ (% Cytotoxicity) ของแต่ละความเข้มข้น 29
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล
4.1 การนับจำนวนเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) 30
4.2 การวัดค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาด็อกซูรูบิซิน ในแต่ละความเข้มข้น 31
4.3 การหาความเป็นพิษต่อเซลล์ ด้วยวิธี MTT 34
4.4 การคำนวณหาค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ (% Cytotoxicity) ของแต่ละความเข้มข้น 35
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ
5.1 สรุปผลการวิจัย 39
5.2 ข้อเสนอแนะ 40
เอกสารอ้างอิง 41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก 43
1. การเตรียมอาหารสำเร็จรูป Dulbecco's Modified Eagle Medium ; DMEM 43
2. การเตรียม Phosphate Buffer Solution (PBS) 43
3. การเตรียมสารละลาย MTT (ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 มิลลิลิตร) 43
4. การนับจำนวนเซลล์มีชีวิต 43
5. การเตรียมเซลล์เพื่อใช้ในการทดสอบ MTT 44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
3.1 แสดงการบันทึกการนับจำนวนเซลล์ไลน์ MCF-7 ที่มีชีวิต	25
3.2 แสดงอัตราส่วนระหว่างยาด็อกซูรูบิซินกับอนุภาคเพชรนาโนแบบน้ำหนักต่อน้ำหนัก	28
4.1 แสดงการนับจำนวนของเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ที่มีชีวิต	30
4.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาด็อกซูรูบิซินในแต่ละความเข้มข้น	32
4.3 แสดงค่าการดูดกลืนแสงจากเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์	35
4.4 แสดงร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ (% Cytotoxicity) ของแต่ละความเข้มข้น	36

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 โครงสร้างเต้านม	3
2.2 มะเร็งเต้านมระยะที่ 1	5
2.3 มะเร็งเต้านมระยะที่ 2	6
2.4 มะเร็งเต้านมระยะที่ 3	6
2.5 มะเร็งเต้านมระยะที่ 4	7
2.6 อนุภาคเพชรนาโน	13
2.7 โครงสร้างคลาสสิก, มุมมองของศูนย์ตำแหน่งว่าง	16
2.8 โครงสร้างยาด็อกซูรูบิซิน	17
2.9 ลักษณะเซลล์ไลน์มะเร็งเต้านมของมนุษย์ (MCF-7)	21
3.1 อาหารสำเร็จรูป Dulbecco's Modified Eagle Medium; DMEM	23
3.2 เซลล์ไลน์มะเร็งเต้านมของมนุษย์	24
3.3 ตารางการนับจำนวนเซลล์มีชีวิต	24
3.4 อนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาด็อกซูรูบิซินแต่ละความเข้มข้น	26
3.5 เครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์	27
4.1 แสดงแผนการปลูกเพาะเลี้ยงเซลล์ลงในจานเพาะเลี้ยงชนิด 24 หลุม	31
4.2 แสดงการจับกันของอนุภาคเพชรนาโนกับยาด็อกซูรูบิซิน ทำให้เกิดสีม่วง	33
4.3 แสดงน้ำส่วนใสของ ND-X หลังจากปั่นเหวี่ยง 5000 รอบต่อนาที เวลา 15 นาที	33
4.4 แสดงน้ำส่วนใสหลังจากปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5000 รอบต่อนาที เวลา 5 นาที ด้วยน้ำกลั่น 3 รอบ	34
4.5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์	37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อ/สัญลักษณ์

MCF-7	หมายถึง	เซลล์ไลน์มะเร็งเต้านมของมนุษย์
ND	หมายถึง	อนุภาคเพชรนาโน
DOX	หมายถึง	ยาด็อกซูรูบิซิน
ND-X	หมายถึง	อนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาด็อกซูรูบิซิน
MTT	หมายถึง	การตรวจสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ ด้วยวิธีการตรวจวัดค่าสีโดยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์
IC 90	หมายถึง	การคำนวณหาความเข้มข้นที่เป็นพิษต่อเซลล์ ร้อยละ 90

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

มะเร็งเต้านมเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญทั่วโลก อัตราการเกิดโรคได้เพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดในช่วงหลายทศวรรษที่ผ่านมา ปัจจุบันยาเคมีบำบัดยังคงเป็นตัวช่วยหลักในการรักษามะเร็งเต้านม เคมีบำบัดมีบทบาทสำคัญในการรักษาโรคมะเร็งเต้านม ยาในกลุ่มแอนทราไซคลิน เช่น ด็อกซูรูบิซิน (DOX) มักถูกจัดเป็นยาสายแรกในการรักษามะเร็งเต้านม อย่างไรก็ตาม ผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นจากการใช้ด็อกซูรูบิซินในปริมาณที่มากจะเกิดมีความเป็นพิษต่อตัวผู้ป่วย เมื่อยืดระยะเวลาการใช้เคมีบำบัด เซลล์มะเร็งเต้านมไม่เพียงแต่มีแนวโน้มที่จะต่อต้านยาด็อกซูรูบิซิน แต่ยังสามารถพัฒนาจนเกิดความต้านทานแบบข้ามกลุ่มได้ นอกจากนั้นยาเคมีบำบัดจะมีโครงสร้างและการทำงานที่แตกต่างกันไป

การนำเทคโนโลยีนาโนเป็นรูปแบบใหม่ของการบำบัดที่มุ่งเน้นเป็นทางเลือกการส่งมอบยาและการปรับปรุงประสิทธิภาพการรักษามะเร็งเต้านม ในขณะที่สามารถลดผลข้างเคียงที่เป็นอันตรายต่อเซลล์ปกติและลดการเกิดความต้านทานต่อยาต้านมะเร็ง ดังนั้น ผู้วิจัยคาดว่าเทคโนโลยีนาโนจะสามารถใช้เป็นทางเลือกในการออกแบบและผลิตยาที่มีความเหมาะสมกับพันธุกรรมของก้อนมะเร็ง เช่น การเลือกใช้เข้มข้นของยาเคมีบำบัดร่วมกับอนุภาคเพชรนาโนที่เหมาะสมจะทำให้ได้ประสิทธิภาพในการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมมากขึ้นและสามารถลดผลข้างเคียงที่จะเกิดขึ้นกับผู้ป่วยมะเร็งเต้านมได้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาอัตราส่วนความเข้มข้นที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาการจับกันระหว่างอนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาด็อกซูรูบิซิน

2. เพื่อศึกษาผลของความเข้มข้นของอนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาด็อกซูรูบิซินที่มีผลต่อการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ที่ทำการเพาะเลี้ยง

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1. ศึกษาความเข้มข้นของอนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาด็อกซูรูบิซินที่เหมาะสมที่สุดมีผลต่อการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) มากที่สุด โดยใช้วิธี MTT colorimetric assay เพื่อตรวจสอบความมีชีวิตของเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ศึกษากลไกการปลดปล่อยยาด็อกซูรูบิซินออกจากอนุภาคเพชรนาโน โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เพื่อใช้เปรียบเทียบปริมาณยาด็อกซูรูบิซินที่สามารถเข้าทำลายเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ได้

3. เปรียบเทียบความสามารถในการอยู่รอดของเซลล์กับความเป็นพิษของเซลล์จากการใช้อนุภาคเพชรนาโนกับยาด็อกซูรูบิซิน

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถนำอนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาด็อกซูรูบิซินไปใช้ในการรักษาผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านมที่รักษาด้วยวิธีเคมีบำบัด โดยสามารถลดปริมาณการใช้ยาด็อกซูรูบิซินและสามารถลดโอกาสการเกิดสภาวะการดื้อยาลงได้ เนื่องจากใช้ยาด็อกซูรูบิซินในปริมาณที่มาก สำหรับวิธีเคมีบำบัดที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบัน

2. เพื่อเพิ่มโอกาสในการเข้าทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมได้อย่างจำเพาะเจาะจงมากกว่าการใช้ยาด็อกซูรูบิซินเพียงอย่างเดียว

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

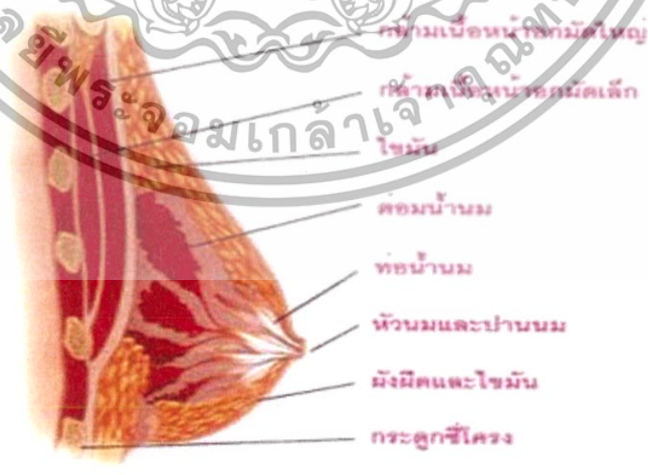
บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 มะเร็งเต้านม

มะเร็งเต้านม (Breast cancer ; MCF-7) เป็นโรคมะเร็งที่พัฒนาจากเนื้อเยื่อเต้านม โดยเซลล์บนผิวของต่อมเต้านมได้รับผลกระทบจากสารก่อมะเร็ง มักจะเกิดขึ้นบริเวณต่อมผลิตน้ำนม (Lobules) และท่อน้ำนม (Ducts) มากกว่าส่วนอื่น การก่อตัวของมะเร็งเต้านมสามารถเกิดขึ้นได้กับเซลล์ทุกส่วนภายในเต้านมในลักษณะค่อยเป็นค่อยไป โดยเริ่มจากเซลล์ผิดปกติและเซลล์มีการเพิ่มจำนวนขึ้นโดยไม่สามารถควบคุมได้ เกินขีดจำกัดของร่างกาย ขยายใหญ่ขึ้นเป็นก้อนเนื้อร้าย ก่อนจะแพร่กระจายไปยังเนื้อเยื่อข้างเคียง ระบบน้ำเหลือง สุดท้ายกระจายไปยังกระแสเลือด และไปยังอวัยวะต่างๆ ของร่างกาย จนเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์มะเร็งในที่สุด

โรคมะเร็งเต้านมมีอัตราการเกิด 7% – 10% ของการเกิดมะเร็งต่างๆ ในร่างกาย ในช่วงชีวิตของผู้หญิงจะมีความเป็นไปได้ในการเกิดโรคมะเร็งเต้านมประมาณ 10% ทุกปีทั่วโลกจะมีผู้หญิงเป็นโรคมะเร็งเต้านมประมาณ 1,200,000 คน และมี 400,000 คน ที่เสียชีวิตเพราะโรคมะเร็งเต้านม นอกจากนี้ อัตราการเสียชีวิตได้เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว 2% – 3% ต่อปี และอัตราการเกิดโรคเพิ่มขึ้น 0.2% – 0.8% ต่อปี

2.1.1 โครงสร้างเต้านม



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างเต้านม

ที่มา : http://nomnanom.blogspot.com/2010/05/blog-post_03.html

(สืบค้นวันที่ 2/06/2561)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงสร้างเต้านม จากภาพที่ 2.1 ประกอบขึ้นจาก ต่อมน้ำนมประมาณ 15–20 ต่อม รูปร่างคล้ายติ่งหูรวมตัวเป็นกระจุกอยู่ที่กลางเต้านมแต่ละข้าง โดยมีไขมันล้อมรอบกลายเป็นเต้านมแต่ละข้าง ในต่อมน้ำนมแต่ละต่อม มีถุงน้ำนมเรียงตัวกันเป็นพูอยู่ภายในเพื่อสะสมน้ำนมที่ผลิตได้ ซึ่งต่อมน้ำนมทุกต่อมมีท่อน้ำนมต่อเชื่อมไปออกที่ปลายหัวนม เป็นทางระบายออกนอกร่างกายให้ทารกดื่มกิน ทั้งหมดถูกหล่อเลี้ยงด้วยเลือดแดงจากผนังอก และท่อน้ำเหลืองที่เชื่อมไปถึงต่อมน้ำเหลืองใต้รักแร้

เซลล์มะเร็งสามารถเกิดขึ้นได้ทั้งต่อมน้ำนมและท่อน้ำนม ซึ่งจะลุกลามต่อไปยังต่อมน้ำเหลืองใต้รักแร้เป็นตำแหน่งแรก แล้วมะเร็งจึงแพร่ไปทั่วร่างกายได้อย่างรวดเร็วตามระบบท่อน้ำเหลือง แล้วถัดไปที่ปอด ตับ กระดูก โดยแพร่ตามหลอดเลือดแดง ซึ่งยากแก่การควบคุมและรักษาได้

2.1.2 สาเหตุของมะเร็งเต้านม

ในปัจจุบันยังไม่ทราบสาเหตุที่แน่ชัดของการเกิดโรคมะเร็งเต้านม (โดยเฉพาะมะเร็งเต้านมในผู้ชาย) โดยพบว่าร้อยละ 5-10 ของผู้ป่วยมีความผิดปกติทางกรรมพันธุ์ ส่วนปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคนี้ในผู้หญิงมีอยู่หลายปัจจัย ได้แก่ อายุที่มากขึ้น ถือเป็นปัจจัยเสี่ยงสำคัญที่สุดต่อการเป็นมะเร็งเต้านม โดยจะพบผู้ป่วยเป็นโรคนี้ได้สูงขึ้นตามอายุที่มากขึ้น โดยเฉพาะในผู้หญิงที่มีอายุ 60 ปีขึ้นไป จะยิ่งมีความเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งเต้านมสูงถึง 50-60% เคยผ่าตัดก้อนเนื้อที่เต้านม พบว่าเป็นซีสต์เต้านมชนิดที่เริ่มผิดปกติ (Atypia) มีประวัติทางพันธุกรรมว่าคนในครอบครัวสายตรงเป็นมะเร็งเต้านมหรือมะเร็งรังไข่ (มารดาหรือพี่น้องท้องเดียวกัน) จะมีโอกาสเกิดโรคมะเร็งเต้านมได้สูงกว่า (ถ้ามีญาติเป็นมะเร็งเต้านมก่อนวัยหมดประจำเดือน ยิ่งมากคนก็ยิ่งมีความเสี่ยงต่อการเป็นโรคมะเร็งเต้านมได้มากขึ้น) หรือมีประวัติเคยเป็นมะเร็งเต้านมและมะเร็งรังไข่มาก่อน โดยผู้ป่วยที่เกิดมะเร็งเต้านมขึ้นที่ข้างใดข้างหนึ่งจะมีความเสี่ยงที่จะเกิดมะเร็งเต้านมขึ้นที่อีกข้างหนึ่งเพิ่มขึ้นเป็น 3-4 เท่า ด้านเชื้อชาติ โดยพบโรคนี้ในคนเชื้อชาติตะวันตกมากกว่าเชื้อชาติเอเชีย เกิดการกลายพันธุ์ของยีน BRCA1 หรือ BRCA2 มีความสัมพันธ์กับการเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งเต้านม การเริ่มมีประจำเดือนครั้งแรกตั้งแต่อายุยังน้อย เนื่องจากพบโรคนี้ได้สูงขึ้นในหญิงที่มีประจำเดือนครั้งแรกก่อนอายุ 12 ปี การมีภาวะหมดประจำเดือนช้า หรือหมดประจำเดือนหลังอายุ 55 ปี การใช้ยาเม็ดคุมกำเนิดตั้งแต่อายุยังน้อยและใช้ติดต่อกันเป็นเวลานาน (เสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งเต้านม ก่อนวัยหมดประจำเดือน) การมีลูกคนแรกหลังอายุ 30 ปี การมีลูกยาก การใช้ยากลุ่มฮอร์โมนทดแทนหลังวัยหมดประจำเดือนนานเกิน 4 ปี หรือมีภาวะน้ำหนักตัวเกินหรือภาวะอ้วนที่เกิดภายหลังวัยหมดประจำเดือนไปแล้ว เพราะถึงแม้ว่ารังไข่จะหยุดการสร้างฮอร์โมนเอสโตรเจนแล้ว แต่ก็พบว่ายังมีปริมาณฮอร์โมนอยู่ในระดับต่ำที่ถูกสร้างจากเนื้อเยื่อไขมันในร่างกาย ดังนั้นถ้าหากมีภาวะอ้วนก็จะทำให้ร่างกายมีระดับฮอร์โมนเอสโตรเจนสูงขึ้น จึงเป็นการเพิ่มความเสี่ยง ส่วนภาวะอ้วนในผู้หญิงที่ยังมีประจำเดือนนั้นจะไม่ถือเป็นปัจจัยเสี่ยง แต่กลับกันความอ้วนอาจช่วยลดความเสี่ยงจากการเป็นมะเร็งเต้านมในผู้หญิงที่ยังมีประจำเดือนได้อีกด้วย ขาดการออกกำลังกายอย่างสม่ำเสมอ การรับประทานอาหารที่มีไขมันสูงอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อเนื่อง การสูบบุหรี่ การดื่มแอลกอฮอล์จัด และการได้รับรังสีในปริมาณสูงตั้งแต่วัยเด็กหรือวัยสาว เป็นต้น

2.1.3 อาการของมะเร็งเต้านม

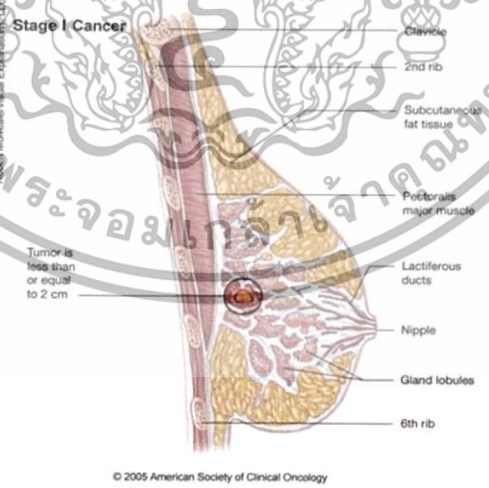
บางครั้งผู้หญิงที่เป็นมะเร็งเต้านม อาจไม่มีอาการของมะเร็งเต้านม หรือบางครั้งอาการผิดปกติที่เป็นอาจไม่ใช่โรคมะเร็งก็ได้ ดังนั้นจึงควรไปพบแพทย์เมื่อมีอาการดังต่อไปนี้

1. มีก้อนหนาๆ ในเต้านมหรือใต้แขน
2. บริเวณหัวนมบุ๋ม มีน้ำเหลือง หรือมีแผล
3. เต้านมมีผื่น แดง ร้อน ผื่นคล้ายผิวส้ม
4. มีอาการปวดบริเวณเต้านม

2.1.4 ระยะของมะเร็งเต้านม

ระดับความรุนแรงของโรคมะเร็งเต้านมนั้นทั้งในผู้หญิงและผู้ชายจะแบ่งออกเป็น 4 ระยะ ขึ้นอยู่กับขนาดของก้อนเนื้อ การแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งไปสู่ต่อมน้ำเหลือง หรืออวัยวะต่างๆ ของร่างกาย เช่นเดียวกับโรคมะเร็งชนิดอื่น

1. ระยะ 0-1 จากภาพที่ 2.2 พบเซลล์ผิดปกติภายในเนื้อเยื่อเต้านม และก้อนเนื้อมีขนาดไม่เกิน 2 เซนติเมตร แต่ยังจำกัดการเกิดเฉพาะภายในเต้านม ซึ่งเป็นระยะที่ยังไม่พบการลุกลามของโรคไปยังส่วนอื่น

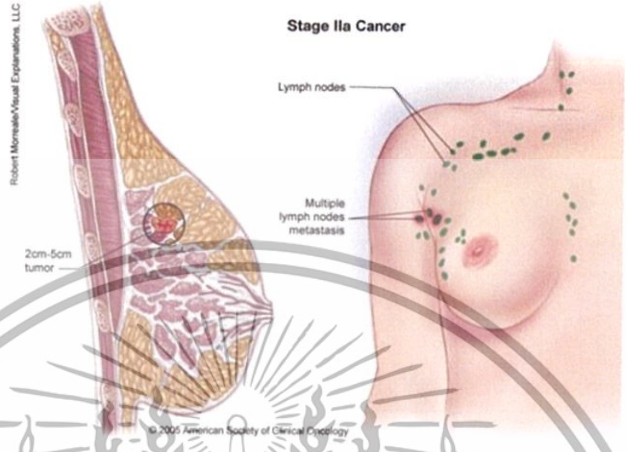


ภาพที่ 2.2 มะเร็งเต้านมระยะที่ 1

ที่มา : http://www.thaibreastcancer.com (สืบค้นวันที่ 2/06/2561)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

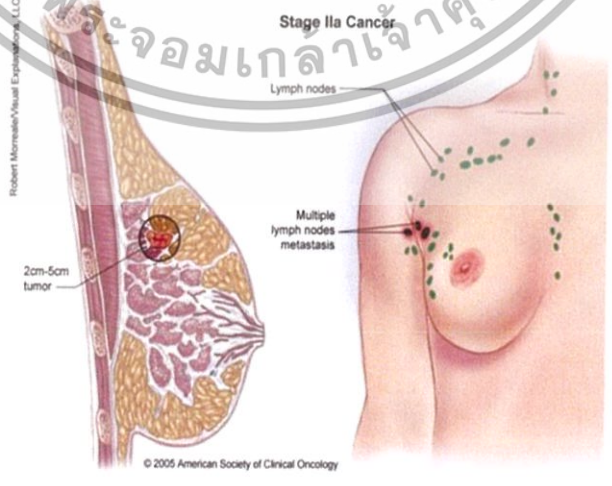
2. ระยะ 2 จากภาพที่ 2.3 ก้อนมะเร็งมีขนาดโตขึ้น และอาจแพร่กระจายไปยังต่อมน้ำเหลืองเฉพาะบริเวณรักแร้ แต่จำนวนไม่กี่ต่อม หรืออาจไม่พบก้อนเนื้อ แต่พบเซลล์มะเร็งบริเวณต่อมน้ำเหลืองใต้รักแร้ โดยก้อนมะเร็งมีขนาดเกิน 2 เซนติเมตร แต่ไม่เกิน 5 เซนติเมตร



ภาพที่ 2.3 มะเร็งเต้านมระยะที่ 2

ที่มา : http://www.thaibreastcancer.com (สืบค้นวันที่ 2/06/2561)

3. ระยะ 3 จากภาพที่ 2.4 เนื้อเยื่อเต้านมถูกทำลายเป็นบริเวณกว้างถึงชั้นผิวหนังจนเกิดเป็นแผล ก้อนมะเร็งมีขนาดโตขึ้นมากกว่า 5 เซนติเมตร ลุกลามไปติดกับกล้ามเนื้อหน้าอก มีการแพร่กระจายไปยังต่อมน้ำเหลืองใต้รักแร้และต่อมน้ำเหลืองอื่นในบริเวณใกล้เคียงเต้านม หรือก้อนเนื้อขยายใหญ่ขึ้นไม่เกิน 5 เซนติเมตร และมีการแพร่กระจายไปยังต่อมน้ำเหลืองจำนวนมากขึ้น

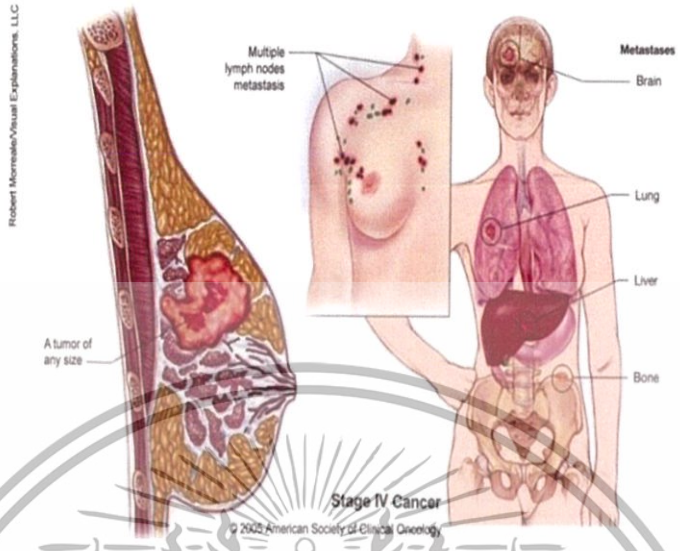


ภาพที่ 2.4 มะเร็งเต้านมระยะที่ 3

ที่มา : http://www.thaibreastcancer.com (สืบค้นวันที่ 2/06/2561)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ระยะ 4 จากภาพที่ 2.5 แพร่กระจายเข้าหลอดเลือดไปยังอวัยวะอื่น ๆ ของร่างกาย เช่น ตับ สมอง ปอด กระดูก ซึ่งเป็นระยะที่รักษาไม่หายขา



ภาพที่ 2.5 มะเร็งเต้านมระยะที่ 4

ที่มา : http://www.thaibreastcancer.com (สืบค้นวันที่ 2/06/2561)

2.1.5 การวินิจฉัยมะเร็งเต้านม

การวินิจฉัยมะเร็งเต้านมจะทำเมื่อมีการตรวจพบก้อนผิดปกติ (ทั้งจากการตรวจเต้านมด้วยตนเองหรือการเอกซเรย์) หรือพบการมีแคลเซียมเป็นจุดที่ผิดปกติจากการตรวจเอกซเรย์ ซึ่งแพทย์จะต้องทำการตรวจว่าเป็นมะเร็งหรือไม่ และมีการแพร่กระจายไปที่ใดแล้วหรือไม่ ซึ่งวิธีที่วินิจฉัยได้แม่นยำคือวิธีการนำชิ้นเนื้อออกมาตรวจ แต่หากไม่สามารถตรวจด้วยวิธีนี้ได้ แพทย์จะพิจารณาการตรวจด้วยวิธีอื่น ทั้งนี้ การวินิจฉัยโรคแพทย์จะพิจารณาจากปัจจัยต่างๆ ประกอบ เช่น อายุ การใช้ยาในปัจจุบัน ประเภทของมะเร็ง ระดับความรุนแรงของอาการ และผลการตรวจสอบก่อนหน้านี้ เป็นต้น โดยวิธีการวินิจฉัยมะเร็งเต้านมสามารถทำได้ดังนี้

2.1.5.1 การตรวจทางรังสีวิทยา

- การใช้เครื่องถ่ายภาพรังสีเต้านมเพื่อการวินิจฉัย (diagnostic mammography)
- การใช้คลื่นเสียงความถี่สูงถ่ายภาพเต้านม (ultrasound)
- การใช้คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าถ่ายภาพเต้านม (MRI)

2.1.5.2 การเก็บชิ้นเนื้อเพื่อส่งตรวจทางพยาธิวิทยา (biopsy)

2.1.5.3 การตรวจชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยา

2.1.5.4 การตรวจเลือด

2.1.5.5 การตรวจเพิ่มเติม

- การถ่ายภาพเอกซเรย์ทรวงอก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- การตรวจการลุกลามของมะเร็งไปยังกระดูก (bone scan)
- การตรวจเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ (CT scan) เพื่อสร้างภาพ 3 มิติของอวัยวะต่างๆ เพื่อเพิ่มความละเอียดในการตรวจหาการลุกลามของมะเร็ง

2.1.6 การรักษามะเร็งเต้านม

การรักษามะเร็งเต้านมมีหลายวิธี ได้แก่ การฉายรังสี การผ่าตัด การใช้เคมีบำบัด การรักษาโดยใช้ฮอร์โมน การใช้ยาที่ออกฤทธิ์เฉพาะเจาะจงต่อเซลล์มะเร็ง ซึ่งแต่ละวิธีมีข้อดี ข้อเสีย และผลข้างเคียงที่แตกต่างกันออกไป ทั้งนี้แพทย์อาจใช้วิธีการเดียวหรือหลายวิธีรวมกันในการรักษา โดยอยู่ภายใต้ดุลยพินิจของทีมแพทย์และความต้องการของผู้ป่วย เพื่อการวางแผนการรักษาผู้ป่วยที่ได้รับประโยชน์สูงสุด

2.1.6.1 การฉายรังสี

การฉายรังสี หรือที่มักจะเรียกกันว่าการฉายแสง เป็นประเภทหนึ่งของรังสีรักษา (radiotherapy) ที่ใช้สำหรับบำบัดรักษาโรคมะเร็ง โดยใช้รังสีพลังงานสูงฉายไปตำแหน่งของเซลล์มะเร็งเพื่อทำลายกลุ่มก้อนเซลล์มะเร็งนั้น ทั้งนี้การรักษาโรคมะเร็งด้วยวิธีการฉายรังสีจะขึ้นกับระยะของโรคมะเร็ง ชนิดของโรคมะเร็ง และสุขภาพของผู้ป่วยเอง

การรักษาโรคมะเร็งด้วยวิธีการฉายรังสีตามตำแหน่งของเซลล์มะเร็งมีดังนี้

2.1.6.1.1 การฉายรังสีบริเวณศีรษะและลำคอ

การฉายรังสีบริเวณศีรษะและลำคอใช้ในการรักษามะเร็งต่อไปนี้ มะเร็งในสมอง มะเร็งในโพรงจมูกและไซนัส มะเร็งหลังโพรงจมูก มะเร็งในช่องปาก มะเร็งในลำคอ มะเร็งกล่องเสียง มะเร็งต่อมน้ำลายและไทรอยด์

วิธีการรักษาด้วยการฉายรังสี

ผู้ป่วยจะถูกจัดตำแหน่งของศีรษะและลำคอ อาจใช้หน้ากากพลาสติกยึดบริเวณศีรษะและลำคอให้อยู่นิ่งกับที่ จากนั้นนักรังสีรักษาจะทำการฉายรังสีตามแผนการรักษาที่วางไว้ รังสีที่ให้แต่ละครั้งใช้เวลาที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับเทคนิคที่ฉาย ซึ่งจะใช้เวลาประมาณ 2-10 นาที แต่ใช้เวลาทั้งสิ้นตั้งแต่การจัดตำแหน่งจนเสร็จวันละประมาณ 15-25 นาที ทำการฉายสัปดาห์ละ 5 วัน ใช้เวลาทั้งสิ้นประมาณ 5-8 สัปดาห์ตามแต่ชนิดของโรคและแผนการรักษาของแพทย์

ผลข้างเคียงที่พบบ่อยและข้อควรปฏิบัติ

1. ผิวหนังแดงคล้ำหรือแห้งคัน ข้อควรปฏิบัติคือ ปล่อยให้ผิวหนังส่วนนั้นถูกอากาศมากที่สุด แต่ไม่ให้ถูกแดด บริเวณที่ฉายรังสีสามารถให้น้ำไหลผ่านได้ แล้วซับให้แห้งด้วยผ้านุ่มๆ ไม่ใช้สบู่ น้ำหอม แป้ง เครื่องสำอาง ทาบริเวณที่ฉายรังสี ยกเว้นเป็นยาที่แพทย์สั่ง

2. เจ็บคอ ปากแห้ง การรับรสผิดปกติ ข้อควรปฏิบัติคือ ควรจิบน้ำบ่อยๆ หมั่นดูแลสุขภาพในช่องปากและลำคอให้สะอาด โดยใช้แปรงสีฟันอ่อนๆ และไหมขัดฟันทำความสะอาดฟันปลอมหลัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหาร ไม่ใช้น้ำยาบ้วนปากที่ขายในท้องตลาด งดบุหรี่ แอลกอฮอล์ อาหารรสจัด ร้อน-เย็นจัด ควรรับประทานอาหารอ่อน จืด เปื่อย เหลวและกลืนง่าย หากมีอาการมากควรปรึกษาแพทย์

3. อ่อนเพลีย ข้อควรปฏิบัติคือ พักผ่อนให้มากๆ รับประทานอาหารที่มีประโยชน์ ลดความวิตกกังวล โดยปกติอาการจะค่อยๆ หายไปหลังฉายรังสีเสร็จ หากรู้สึกมีอาการมากควรปรึกษาแพทย์

2.1.6.1.2 การฉายรังสีบริเวณทรวงอก

การฉายรังสีบริเวณทรวงอกใช้ในการรักษามะเร็งต่อไปนี้ มะเร็งปอด มะเร็งหลอดอาหาร มะเร็งระบบน้ำเหลือง มะเร็งเต้านม

วิธีการรักษาด้วยการฉายรังสี

ขณะฉายรังสีให้ผู้ป่วยนอนอยู่นิ่งๆ อาจยกมือทั้งสองข้างไว้เหนือศีรษะหรือวางข้างลำตัว หายใจตามจังหวะปกติ รังสีที่ให้แต่ละครั้งใช้เวลาเพียง 2-10 นาที ขึ้นอยู่กับเทคนิคที่ใช้ แต่ใช้เวลาทั้งสิ้นตั้งแต่จัดตำแหน่งจนเสร็จวันละประมาณ 20-25 นาที ทำการฉายสัปดาห์ละ 5 วัน ใช้เวลาทั้งสิ้นประมาณ 5-6 สัปดาห์ตามแต่ชนิดของโรคและแผนการรักษาของแพทย์

ผลข้างเคียงที่พบบ่อยและข้อควรปฏิบัติ

1. มีอาการเจ็บเวลากลืน ข้อควรปฏิบัติคือ ควรรับประทานอาหารเหลวอ่อนๆ จิบน้ำบ่อยๆ ถ้าไม่สามารถรับประทานอาหารได้ ควรปรึกษาแพทย์ทันที

2. ไอแห้งๆ เล็กน้อย ข้อควรปฏิบัติคือ จิบน้ำบ่อยๆ ถ้าเป็นมากควรปรึกษาแพทย์

2.1.6.1.3 การฉายรังสีบริเวณช่องท้อง

การฉายรังสีบริเวณช่องท้องใช้ในการรักษามะเร็งต่อไปนี้ มะเร็งที่กระเพาะอาหาร มะเร็งตับ มะเร็งตับอ่อน มะเร็งไต และมะเร็งระบบน้ำเหลืองในช่องท้อง

วิธีการรักษาด้วยการฉายรังสี

ขณะฉายรังสีให้ผู้ป่วยนอนอยู่นิ่งๆ หายใจตามจังหวะปกติ นักรังสีรักษาจะจัดท่าและตำแหน่งของการฉายรังสีให้ตรงกับที่วางแผนไว้ และทำการฉายรังสีตามเทคนิคของแผนการรักษา รังสีที่ให้แต่ละครั้งใช้เวลาเพียง 2-10 นาที ขึ้นอยู่กับเทคนิคที่ใช้ แต่ใช้เวลาทั้งสิ้นตั้งแต่การจัดท่าและตำแหน่งจนเสร็จวันละประมาณ 20- 25 นาที ทำการฉายสัปดาห์ละ 5 วัน ใช้เวลาทั้งสิ้นประมาณ 4-6 สัปดาห์ตามแต่ชนิดของโรคและแผนการรักษาของแพทย์

ผลข้างเคียงที่พบบ่อยและข้อควรปฏิบัติ

1. รู้สึกผะอืดผะอมหลังฉายรังสี 2-3 ชั่วโมง ข้อควรปฏิบัติคือ งดรับประทานอาหารภายใน 2-3 ชั่วโมงก่อนการฉายรังสีหรือรับประทานอาหารเบาๆ จะรู้สึกดีขึ้น

2. คลื่นไส้ อาเจียน ข้อปฏิบัติคือ ปรึกษาแพทย์ อาจต้องรับประทานยาแก้คลื่นไส้ อาเจียน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ท้องเดิน หลังจากฉายรังสี 2-4 สัปดาห์ ข้อควรปฏิบัติคือ รับประทานอาหารที่มีกากน้อย งดผัก ผลไม้สด สามารถรับประทานผักที่ปรุงสุกเปื่อย ผลไม้สุก กล้วย งดของมันของทอด นม อาหารรสจัด แอลกอฮอล์ ดื่มน้ำมากๆ และถ้าหากถ่ายบ่อยมากให้ปรึกษาแพทย์

2.1.6.1.4 การฉายรังสีบริเวณท้องน้อย

การฉายรังสีบริเวณท้องน้อยใช้ในการรักษามะเร็งต่อไปนี้ มะเร็งลำไส้ใหญ่ มะเร็งกระเพาะปัสสาวะ มะเร็งมดลูก มะเร็งปากมดลูก และมะเร็งต่อมลูกหมาก

วิธีการรักษาด้วยการฉายรังสี

ขณะฉายรังสีให้ผู้ป่วยนอนอยู่นิ่งๆ หายใจตามจังหวะปกติ นักรังสีรักษาจะจัดท่าและตำแหน่งของการฉายรังสีให้ตรงกับที่วางแผนไว้ และทำการฉายรังสีตามเทคนิคของแผนการรักษา รังสีที่ให้แต่ละครั้งใช้เวลาเพียง 2-10 นาที ขึ้นอยู่กับเทคนิคที่ใช้ แต่ใช้เวลาทั้งสิ้นตั้งแต่จัดท่าและตำแหน่งจนเสร็จวันละประมาณ 20-25 นาที ทำการฉายสัปดาห์ละ 5 วัน ใช้เวลาทั้งสิ้นประมาณ 5-8 สัปดาห์ ตามแต่ชนิดของโรคและแผนการรักษาของแพทย์ ในบางรายผู้ป่วยจำเป็นต้องดื่มน้ำมากๆ และกลั้นปัสสาวะไว้ก่อนการฉายรังสีเพื่อลดผลข้างเคียงที่จะเกิดกับลำไส้เล็ก ยกเว้นผู้ป่วยมะเร็งกระเพาะปัสสาวะจะต้องปัสสาวะก่อนการฉายรังสี

ผลข้างเคียงที่พบบ่อยและข้อควรปฏิบัติ

1. ปัสสาวะบ่อยหรือปวดเล็กน้อย ข้อควรปฏิบัติคือ ควรดื่มน้ำมากๆ โดยเฉพาะน้ำผลไม้ที่เป็นกรดอ่อนๆ และอย่ากลั้นปัสสาวะ

2. ท้องเดินหรือมีอาการปวดเบ่ง ข้อควรปฏิบัติคือ รับประทานอาหารที่มีกากน้อย งดผัก ผลไม้สด สามารถรับประทานผักที่ปรุงสุกเปื่อย ผลไม้สุก กล้วย งดของมันของทอด นม อาหารรสจัด แอลกอฮอล์ ดื่มน้ำมากๆ และถ้าหากถ่ายบ่อยมากให้ปรึกษาแพทย์

3. ถ่ายอุจจาระได้น้อยหลังจากฉายรังสี 2-4 สัปดาห์ ข้อควรปฏิบัติคือ การถ่ายอุจจาระลำบากหรือไม่สามารถถ่ายอุจจาระได้ควรปรึกษาแพทย์

2.1.6.1.5 การติดตามผลการรักษา

ระหว่างการฉายรังสี รังสีแพทย์จะตรวจประเมินผลการรักษา และดูแลบรรเทาอาการผลข้างเคียงจากการฉายรังสีประมาณสัปดาห์ละครั้ง แต่หากมีอาการผิดปกติก็สามารถเข้าปรึกษาแพทย์ได้ทันที นอกจากนี้ผู้ป่วยอาจต้องได้รับการตรวจความสมบูรณ์ของเลือด สำหรับผู้ป่วยที่มีอาการข้างเคียงจากการฉายรังสีมาก บางรายอาจต้องหยุดพัก หรือเข้ารับการดูแลรักษาในโรงพยาบาล หรือได้รับยาเพื่อลดอาการตามแต่แพทย์เห็นสมควร

หลังครบการฉายรังสี ผู้ป่วยยังคงต้องปฏิบัติตัวเช่นเดียวกับช่วงฉายรังสีต่อ 2-3 สัปดาห์ แพทย์จะนัดให้มาตรวจประเมินผลการรักษาประมาณ 2-4 สัปดาห์หลังฉายรังสีเสร็จ จากนั้นนัดตรวจ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทุก 1-3 เดือนแล้วแต่ชนิดและขั้นตอนการรักษาของโรค การติดตามผลการรักษาจะห่างขึ้นเป็น 4-6 เดือนจนกระทั่ง 5 ปี ถ้าผู้ป่วยปกติไม่มีอาการของโรค ควรติดตามห่างขึ้นเป็นปีละครั้งตลอดไป

2.1.6.2 เคมีบำบัด

การรักษาด้วยเคมีบำบัด (chemotherapy) หมายถึง การให้ยาเพื่อทำลายหรือหยุดยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง มีวัตถุประสงค์เพื่อรักษาผู้ป่วยให้หายจากโรคมะเร็งและไม่กลับมาเป็นซ้ำ ควบคุมโรคให้ก้อนมะเร็งมีขนาดเล็กลงหรือไม่โตขึ้น และไม่แพร่กระจายไปยังอวัยวะส่วนอื่น บรรเทาอาการสำหรับผู้ป่วยมะเร็งระยะแพร่กระจาย เพื่อให้ผู้ป่วยมีคุณภาพชีวิตดีขึ้น อย่างไรก็ดี เนื่องจากยาเคมีบำบัดไม่ได้ออกฤทธิ์จำเพาะเจาะจงที่เซลล์มะเร็งเท่านั้น จึงอาจส่งผลกระทบต่อเซลล์ปกติทั่วไป และการทำงานของอวัยวะอื่นๆ ทำให้เกิดอาการข้างเคียง เช่น คลื่นไส้ อาเจียน ปากอักเสบ เบื่ออาหาร ภูมิต้านทานต่ำ ท้องเสีย ผมร่วง ซึ่งอาการเหล่านี้จะมากหรือน้อยขึ้นกับชนิดของยา ความแข็งแรงของร่างกาย และความพร้อมด้านจิตใจของผู้ป่วย

วิธีการให้เคมีบำบัด

ยาเคมีบำบัดสามารถบริหารเข้าสู่ร่างกายของผู้ป่วยได้หลายวิธี ได้แก่ เคมีบำบัดชนิดรับประทาน ยาเคมีบำบัดบางชนิดอาจไม่สามารถรับประทานได้ เนื่องจากระบบทางเดินอาหารดูดซึมไม่ดี หรือยามีการระคายเคืองระบบทางเดินอาหารมาก ทำให้ผู้ป่วยมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน หรือท้องเสียได้ เคมีบำบัดชนิดฉีดเข้าหลอดเลือดดำ เป็นวิธีที่นิยมมากที่สุด เนื่องจากช่วยให้ยาสามารถกระจายไปทั่วร่างกายได้รวดเร็ว เคมีบำบัดชนิดฉีดเข้ากล้ามเนื้อ วิธีนี้ไม่เป็นที่นิยม เพราะยาทำให้เกิดการระคายเคืองและทำลายผิวหนังและกล้ามเนื้อได้ ผู้ป่วยอาจได้รับยาเคมีบำบัดหลายชนิดร่วมกัน และอาจได้รับเพียงวันเดียวหรือหลายวันติดต่อกัน หรือสัปดาห์ละครั้งก็ได้ ซึ่งแพทย์จะเป็นผู้เลือกสูตรยาและตารางการให้ยาเคมีบำบัดที่เหมาะสมกับชนิดของโรคและสภาพร่างกายของผู้ป่วย

การเลือกใช้ยาเคมีบำบัด

การเลือกใช้ยาเคมีบำบัดที่ถูกต้องทั้งชนิด ปริมาณ และระยะเวลาการให้ยา มีความสำคัญต่อประสิทธิผลของการรักษาโรคมะเร็งเป็นอย่างมาก เนื่องจากยาเคมีบำบัดจัดเป็นยาอันตราย การได้รับยาในปริมาณที่มากเกินไปอาจส่งผลให้เกิดอาการข้างเคียงที่รุนแรง แต่หากได้รับยาในปริมาณที่น้อยเกินไปก็อาจไม่สามารถทำลายเซลล์มะเร็งได้

ในการเลือกสูตรยาเคมีบำบัด แพทย์จะพิจารณาจากปัจจัยต่างๆ เช่น ชนิดของมะเร็ง ระยะของมะเร็ง อายุ ภาวะสุขภาพของผู้ป่วย โรคประจำตัว ประวัติการรักษามะเร็งในอดีต ผลข้างเคียง การออกฤทธิ์เสริมหรือต้านฤทธิ์ระหว่างยาเคมีบำบัดเมื่อใช้หลายชนิดร่วมกัน โดยผู้ป่วยอาจได้รับยาเคมีบำบัดเพียงชนิดเดียวหรือหลายชนิด ซึ่งการใช้ยาหลายชนิดร่วมกันจะมีประสิทธิภาพมากกว่าการใช้ยาเพียงชนิดเดียว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระยะเวลาในการรักษาด้วยเคมีบำบัด

ระยะเวลาในการรักษาด้วยเคมีบำบัดขึ้นอยู่กับชนิดของโรค ระยะของโรค และการตอบสนองต่อยา โดยปกติยาเคมีบำบัดจะให้เป็นชุด ใช้เวลา 1-5 วันต่อชุด แต่ละชุดห่างกัน 3-4 สัปดาห์ ซึ่งผู้ป่วยอาจได้รับเคมีบำบัดเฉลี่ย 6-8 ชุด (ขึ้นกับแผนการรักษาของแพทย์) โดยผู้ป่วยควรมารับยาตามนัดทุกครั้งเพื่อผลการรักษาที่ดี

2.1.6.3 การรักษาแบบจำเพาะเจาะจงต่อเซลล์มะเร็ง

การรักษาแบบจำเพาะเจาะจงต่อเซลล์มะเร็ง หรือ targeted therapy เป็นการรักษาโรคมะเร็งแบบออกฤทธิ์จำเพาะเจาะจงต่อเซลล์มะเร็ง โดยให้ยาหรือสารไปยับยั้งกระบวนการส่งสัญญาณระดับเซลล์ ซึ่งเป็นต้นเหตุของการเจริญเติบโตและแบ่งตัวของเซลล์มะเร็ง

แนวทางการรักษามะเร็งแบบ targeted therapy เนื่องจากการใช้ targeted therapy ในการรักษาโรคมะเร็งบางชนิด ผู้ป่วยจำเป็นต้องมีตัวรับหรือเป้าหมาย (target) ที่ตอบสนองต่อยา ก่อนเข้ารับการรักษา แพทย์จะต้องทำการตรวจผู้ป่วยก่อนว่ามียีนหรือตัวรับที่สามารถใช้รักษาด้วย targeted therapy ได้หรือไม่

ผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้น แม้ว่าการรักษามะเร็งแบบ targeted therapy จะมีผลข้างเคียงน้อยกว่าการให้เคมีบำบัด แต่ก็ยังมีผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นได้ ซึ่งผลข้างเคียงอาจแตกต่างกันไปตามชนิดและขนาดของ targeted therapy ที่ได้รับ โดยส่วนใหญ่ผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นได้ เช่น อาการทางผิวหนัง เช่น ผิวหนังอักเสบ มีผื่นที่ผิวหนัง ท้องเสีย ผลต่อหัวใจ ผลต่อตับ ผลต่อไต ความดันโลหิตสูง ดังนั้น เมื่อได้รับการรักษาแบบ targeted therapy ผู้ป่วยจึงควรสอบถามถึงผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นอย่างละเอียด และควรพบแพทย์ทันทีหากมีอาการผิดปกติเกิดขึ้น

2.1.7 ภาวะแทรกซ้อนของมะเร็งเต้านม

มะเร็งเต้านมสามารถก่อให้เกิดภาวะแทรกซ้อนได้หลายกรณี เนื่องมาจากผลของการรักษาที่ทำให้ร่างกายอ่อนแอลง ผู้ป่วยอาจรับประทานอาหารได้น้อย รู้สึกเหนื่อยง่าย อ่อนเพลีย ไม่สดชื่น นอนไม่หลับ หรือมีปัญหาด้านทางอารมณ์ มีภาวะบวมน้ำเหลืองในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะลุกลาม เนื่องจากท่อน้ำเหลืองเกิดการอุดตันจนทำให้มีการคั่งของน้ำเหลืองบริเวณนั้นมาก นอกจากนี้อาจพัฒนาให้เกิดมะเร็งบริเวณส่วนอื่นของร่างกายได้หากมะเร็งเกิดการลุกลามเข้าสู่กระแสเลือดไปยังอวัยวะนั้นๆ

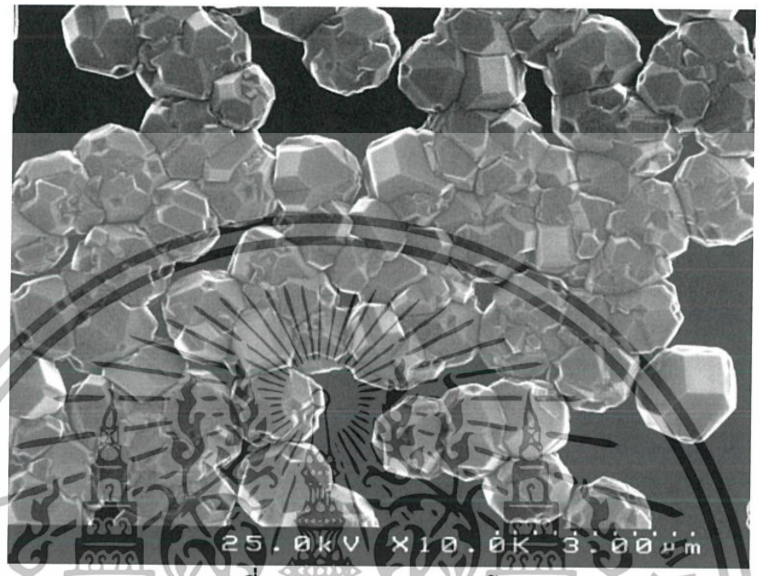
2.1.8 การป้องกันมะเร็งเต้านม

ควรตรวจเต้านมด้วยตนเองเป็นประจำทุกเดือน โดยเริ่มตรวจตั้งแต่อายุยังน้อย และเข้ารับการตรวจจากแพทย์หรือพยาบาลเป็นครั้งคราว ผู้ที่อยู่ในกลุ่มเสี่ยง ควรเข้ารับการตรวจเอกซเรย์เต้านม (Mammogram) ประมาณปีละ 1 ครั้ง เนื่องจากมะเร็งเต้านมยังไม่พบสาเหตุการเกิดที่แน่ชัด การ

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ป้องกันได้เต็มประสิทธิภาพจึงทำได้ยาก นอกจากนี้การปรับเปลี่ยนพฤติกรรมที่เสี่ยงต่อการเกิดมะเร็ง หรือส่งผลเสียต่อสุขภาพอาจช่วยลดโอกาสการเกิดและรับมือกับมะเร็งเต้านมได้ทันท่วงที

2.2 อนุภาคเพชรนาโน



ภาพที่ 2.6 อนุภาคเพชรนาโน

ที่มา : https://www.dentalimplantsclinic.ca/ (สืบค้นวันที่ 2/06/2561)

2.2.1 นาโนเทคโนโลยี

นาโนเทคโนโลยี (อังกฤษ: Nanotechnology) คือ เทคโนโลยีที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการจัดการ การสร้างหรือการวิเคราะห์ วัสดุ อุปกรณ์ เครื่องจักรหรือผลิตภัณฑ์ที่มีขนาดเล็กมาก ๆ ในระดับนาโนเมตร(ประมาณ 1-100 นาโนเมตร) รวมถึงการออกแบบหรือการประดิษฐ์เครื่องมือเพื่อใช้สร้างหรือวิเคราะห์วัสดุในระดับที่เล็กมากๆ เช่น การจัดอะตอมและโมเลกุลในตำแหน่งที่ต้องการได้อย่างถูกต้องแม่นยำ ส่งผลให้โครงสร้างของวัสดุหรืออุปกรณ์มีคุณสมบัติพิเศษขึ้นไม่ว่าทางด้านฟิสิกส์ เคมี หรือชีวภาพ และสามารถนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์ได้

นาโนศาสตร์ (Nanoscience) คือ วิทยาศาสตร์แขนงหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา วัสดุอินทรีย์ อนินทรีย์ และรวมไปถึงสารชีวโมเลกุล ที่มีโครงสร้างสามมิติ ยาว กว้าง สูง ด้านใดด้านหนึ่งอยู่ระหว่าง 1-100 นาโนเมตร โดยวัสดุชนิดใดก็ตาม ถ้ามีมิติทั้งสามเล็กกว่า 100 นาโนเมตร วัสดุชนิดนั้นก็จะถูกเรียกว่า สาม-ดี วัสดุนาโน (3-D nanomaterial) ถ้ามีแค่ สอง หรือ หนึ่งมิติ ที่เล็กกว่า 100 นาโนเมตร ก็จะถูกเรียกว่าวัสดุ สอง-ดี (2-D) และ หนึ่ง-ดี (1-D) ตามลำดับ คุณสมบัติของวัสดุนาโนจะแตกต่างจากวัสดุขนาดใหญ่ (bulk materials) ไม่ว่าจะเป็นคุณสมบัติ ทางฟิสิกส์ เคมี และชีวภาพล้วนแล้วแต่มีคุณสมบัติเฉพาะตัว ดังนั้นถ้าพูดถึง นาโนศาสตร์ ก็จะเป็นการสร้างหรือศึกษาวัสดุที่มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงสร้างในระดับนาโนเมตร โดยผลลัพธ์ที่ได้ก็คือ จะได้วัสดุชนิดใหม่หรือรู้คุณสมบัติที่แตกต่าง และน่าสนใจ โดยคุณสมบัติเหล่านั้นจะถูกอธิบายด้วยทฤษฎีทางควอนตัม (quantum theory)

2.2.2 ประโยชน์ของนาโนเทคโนโลยี

1. พบทางออกที่จะได้ใช้พลังงานราคาถูกและสะอาดเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมมีน้ำที่สะอาดเพียงพอสำหรับทุกคนในโลก

2. ทำให้มนุษย์สุขภาพแข็งแรงและอายุยืนกว่าเดิม (มนุษย์อาจมีอายุเฉลี่ยถึง 200 ปี)

3. สามารถเพิ่มผลผลิตทางการเกษตรได้อย่างพอเพียงกับประชากรโลก

4. เพิ่มศักยภาพในการติดต่อสื่อสารของผู้คนทั้งโลกอย่างทั่วถึง ทัดเทียม และพอเพียง

5. สร้างหุ่นยนต์นาโนที่สามารถซ่อมแซมความบกพร่องของเซลล์เม็ดเลือดแดง คอยทำลายเซลล์แปลกปลอมต่างๆ

6. มีความสามารถในการประกอบตัวเอง และทำสำเนาตัวเอง

7. การใช้เทคโนโลยีในเทคโนโลยีเพื่อสุขภาพ

8. การใช้นาโนเทคโนโลยีในการผลิตภัณฑ์อาหารเสริมเพื่อสุขภาพและทางการแพทย์

9. ในอนาคตเราอาจใช้นาโนเทคโนโลยีสร้างอวัยวะเทียม

2.2.3 สาขาย่อยของนาโนเทคโนโลยี

1. นาโนอิเล็กทรอนิกส์ (Nanoelectronics)
2. นาโนเทคโนโลยีชีวภาพ (Bionanotechnology)
3. นาโนเซนเซอร์ (Nanosensor)
4. การแพทย์นาโน (Nanomedicine)
5. ท่อนาโน (Nanotube)
6. นาโนมอเตอร์ (Nanomotor)
7. โรงงานนาโน (Nanofactory)

2.2.4 งานด้านวัสดุนาโนเฉพาะทางและนาโนเทคโนโลยีขั้นสูง

การพัฒนาวัสดุนาโนเฉพาะทางเพื่อให้มีคุณสมบัติพิเศษเฉพาะด้าน ที่มุ่งเน้นการประยุกต์ใช้งานด้านผลิตภัณฑ์สิ่งทอ ผลิตภัณฑ์ในครัวเรือน รวมถึงการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรธรรมชาติ เพื่อเพิ่มคุณภาพชีวิตที่ดี

2.2.5 งานด้านการเกษตรนาโนและสิ่งแวดล้อม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิจัยและพัฒนานาโนเทคโนโลยีด้านนวัตกรรมอาหาร เกษตรและสิ่งแวดล้อม โดยการประยุกต์ใช้นาโนเทคโนโลยีการดัดแปลงโครงสร้างและพื้นผิว รวมทั้งการเตรียมนาโนคอมพอสิตี เพื่อเสริมสร้างความเข้มแข็งด้านเศรษฐกิจและสังคมของประเทศไทย ร่วมกับการจัดการสิ่งแวดล้อมอย่างยั่งยืน

2.2.6 งานด้านนาโนเพื่อชีวิตและสุขภาพ

การวิจัยและพัฒนานาโนเทคโนโลยีด้านการตรวจวินิจฉัยโดยการใช้โมเลกุลเป้าหมาย การพัฒนาเทคโนโลยีระบบนำส่งยาชนิดใหม่และเวชสำอางจากการใช้ประโยชน์ ด้วยสารจากธรรมชาติและสมุนไพรไทย เพื่อการประยุกต์ทางด้านการแพทย์ สาธารณสุขและเวชสำอางค์

2.2.7 งานด้านมาตรวิทยานาโนวิเคราะห์และวิศวกรรม

การวิจัยและพัฒนาทางด้านมาตรวิทยาและความปลอดภัยทางด้านนาโนเทคโนโลยีการให้บริการวิเคราะห์ทดสอบระดับนาโน การพัฒนาต้นแบบงานวิจัยเชิงวิศวกรรม เพื่อเป็นรากฐานในการสร้างความเชื่อมั่นให้กับภาคการผลิตสินค้าและบริการในด้าน คุณภาพและมาตรฐานต่างๆในระดับสากล

2.2.8 งานด้านการพัฒนาวัสดุนาโนและวิศวกรรมระบบนาโน

การพัฒนาและออกแบบ วัสดุ โครงสร้าง และระบบในระดับนาโนด้วยวิธีการคำนวณทางเคมีคอมพิวเตอร์ผ่านการสร้างแบบจำลองและการประเมินเชิงวิศวกรรมผ่านการ สร้างต้นแบบและระบบนำร่องสำหรับการประยุกต์ใช้งานในด้านพลังงาน ตัวเร่งปฏิกิริยา ประสิทธิภาพสูงและระบบตรวจวัดแบบจำเพาะ เพื่อความยั่งยืน และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

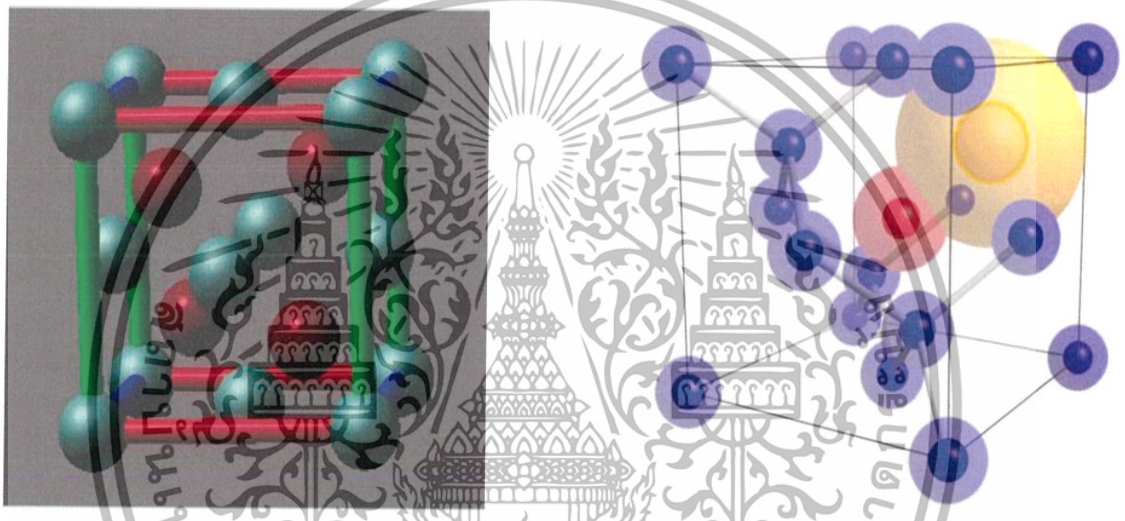
2.2.9 อนุภาคเพชรนาโน (Nanodiamonds)

อนุภาคเพชรนาโน (Nanodiamonds) จากภาพที่ 2.6 คือ อนุภาคคาร์บอนที่มีขนาดเล็กมากและมีลักษณะคล้ายเหลี่ยมมุมสีขาวดำของลูกฟุตบอล โดยศาสตราจารย์ Dean Ho แห่งภาควิชาวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัย Northwestern ในสหรัฐ ผู้นำการวิจัยเรื่อง nanodiamond กล่าวว่าสิ่งที่น่าสนใจคือพื้นผิวของ nanodiamond มีคุณสมบัติดึงดูดน้ำและโมเลกุลต่างๆรวมทั้งยา ซึ่งศาสตราจารย์ Ho และคณะใช้คุณสมบัติที่ว่านี้เพื่อยึดรวม nanodiamond เข้ากับยาต้านมะเร็งเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของยานั้น ซึ่งปกติแล้วเนื้องอกหรือก้อนมะเร็งจะไม่ยอมรับยาต้าน แต่เมื่อผสมรวมยาต้านเข้ากับ nanodiamond พบว่าเนื้องอกจะสามารถเก็บหรือสะสมตัวยานั้นไว้ได้นานขึ้น ซึ่งจากการทดสอบกับหนูทดลองที่เป็นโรคมะเร็งตับและมะเร็งทรวงอก พบว่ายาต้านที่ผสมรวมกับ nanodiamond ให้ประสิทธิผลดีกว่าและมีผลข้างเคียงน้อยลง นักวิจัยยังพบด้วยว่าสามารถให้ยาต้านมะเร็งผสม nanodiamond กับผู้ป่วยได้ในปริมาณที่มากกว่ายาต้านแบบปกติที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน โดย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลังจากปรับส่วนผสมและปริมาณของยาต้านมะเร็งผสม nanodiamond แล้วทดสอบกับสัตว์ พบว่า นอกจากสัตว์เหล่านั้นจะไม่ตายแล้ว ขนาดของเนื้องอกยังลดลงด้วย อย่างไรก็ตามนักวิจัยชี้ว่ายังต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมก่อนที่จะนำมาใช้กับมนุษย์

อนุภาคเพชรนาโน (Nanodiamonds) ได้มีการศึกษาอย่างกว้างขวาง เนื่องจากมีการใช้งานที่เป็นไปได้และมีแนวโน้มที่จะพัฒนาสำหรับใช้ในทางการแพทย์ เช่น การติดฉลากของเซลล์มะเร็งและการตรวจสอบ ซึ่งอนุภาคเพชรนาโนมีความสามารถในการดูดซับความหลากหลายของสารชีวโมเลกุลและยาที่เข้าจับกันบนพื้นผิว และการรักษาจะกำหนดเป้าหมายซึ่งถือเป็นกลยุทธ์ที่มีแนวโน้มในการรักษามะเร็ง โดยจะแสดงให้เห็นศักยภาพของการรับ-ส่งยาที่เข้ามาจับกันกับอนุภาคเพชรนาโน รวมถึงกลไกต่างๆที่อนุภาคเพชรนาโนสามารถทำได้อีก



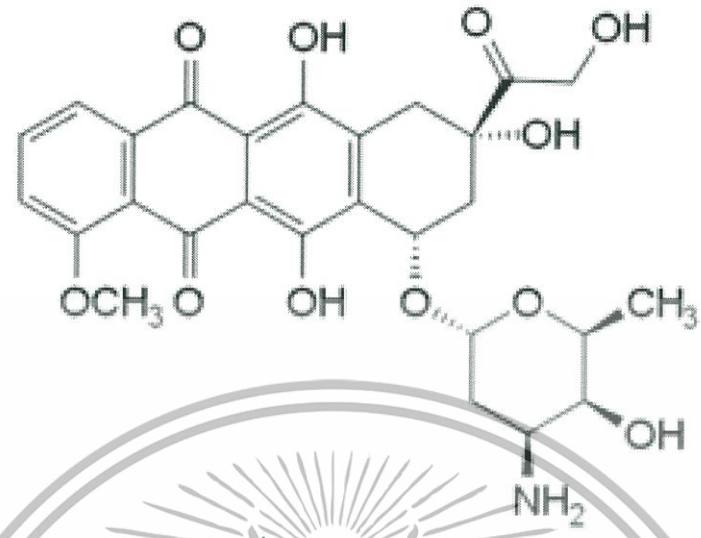
ภาพที่ 2.7 โครงสร้างคลาสสิก, มุมมองของศูนย์ตำแหน่งว่าง

ที่มา : https://en.wikipedia.org/wiki/Nanodiamond (สืบค้นวันที่ 2/06/2561)

โครงสร้างโดยรวมแล้วจะมี 3 ประเด็น คือ จากภาพที่ 2.7 รูปร่างและพื้นผิว ซึ่งผ่านการทดลองได้รับการพิจารณาว่ารูปร่างโดยรวมอนุภาคเพชรนาโนเป็นทั้งทรงกลมหรือรูปไข่อยู่ที่หลักของอนุภาคเพชร เพชรจะอยู่ในกรงซึ่งประกอบด้วย คาร์บอนเป็นส่วนใหญ่ พื้นผิวของอนุภาคนาโนเพชรจริงคล้ายกับโครงสร้างของแกรไฟต์ ผลการศึกษาล่าสุดพบว่า พื้นผิวประกอบด้วยสารละลายที่มีปริมาณสูงของฟีนอลและกรด pyrones และกรดเช่นเดียวกับกลุ่มกรดคาร์บอกซิกลุ่มไฮดรอกและกลุ่มอิพอกไซด์ แต่ในปริมาณที่น้อยกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 ยาด็อกซูรูบิซิน



ภาพที่ 2.8 โครงสร้างยาด็อกซูรูบิซิน

ที่มา : https://en.wikipedia.org/wiki/Doxorubicin (สืบค้นวันที่ 2/06/2561)

ยาด็อกซูรูบิซิน (Doxorubicin หรือ Doxorubicin hydrochloride หรือ Doxorubicin HCl หรือ Hydroxydaunorubicin หรือ Hydroxydaunomycin) จากภาพที่ 2.8 น้ำหนักโมเลกุล 543.52 กรัม/โมล ซึ่งยามีชื่อการค้าที่ใช้แพร่หลายทั่วโลก คือ "Adriamycin" เป็นยาเคมีบำบัด (Cytotoxic chemotherapy) ถูกจัดอยู่ในกลุ่มยาปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์ต้านโรคมะเร็ง และต้านเนื้องอก (Antitumor antibiotics) ยานี้สกัดได้จากเชื้อแบคทีเรียที่อาศัยในดินชนิดที่มีชื่อเรียกว่า Streptomyces ทางการแพทย์นำยาด็อกซูรูบิซินมาใช้รักษาโรคมะเร็งหลายประเภทอย่างเช่น มะเร็งเต้านม มะเร็งรังไข่ มะเร็งกระดูก มะเร็งกระเพาะอาหาร มะเร็งกระเพาะปัสสาวะ มะเร็งต่อมไทรอยด์ มะเร็งปอด มะเร็งเม็ดเลือดขาว มะเร็งต่อมน้ำเหลือง เป็นต้น เภสัชภัณฑ์ของยาชนิดนี้เป็นแบบยาฉีดเข้าหลอดเลือดดำ ตัวยาในกระแสเลือดสามารถกระจายเข้าสู่อวัยวะต่างๆของร่างกายได้เกือบทุกอวัยวะ เช่น ปอด ตับ หัวใจ ม้ามและไต ยาด็อกซูรูบิซินยังผ่านเข้ารกและน้ำนมของมารดาได้อีกด้วย และตัวยาด็อกซูรูบิซินจะถูกทำลายโครงสร้างทางเคมีที่ตับ สำหรับระยะเวลาที่ร่างกายใช้กำจัดยาชนิดนี้ถูกแบ่งออกเป็น 3 ช่วง (Triphasic half life) คือ ในช่วงแรกร่างกายจะกำจัดยานี้ได้อย่างรวดเร็ว คือในช่วง 12 นาทีแรก ช่วงที่สองประมาณ 3.8 ชั่วโมงหลังได้รับยาและในช่วงที่สามจะใช้เวลานานถึง 30 ชั่วโมง ตัวยาจะถูกกำจัดผ่านทิ้งไปกับอุจจาระและปัสสาวะ

ยาด็อกซูรูบิซินเป็นยาที่สามารถทำอันตรายต่อเนื้อเยื่อต่างๆของร่างกายที่สัมผัสตัวยาได้ ดังนั้นการฉีดยาเข้าหลอดเลือดดำจะต้องใช้ความระมัดระวังเป็นอย่างมากเพื่อมิให้การแทงเข็มฉีดยาทะลุผ่านเส้นเลือด/หลอดเลือด จนทำให้ตัวยาด็อกซูรูบิซินรั่วและสัมผัสกับเนื้อเยื่อรอบๆ หลอดเลือด ยาด็อกซูรู บิซินจะออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์สารพันธุกรรมของเซลล์มะเร็ง ทำให้เซลล์มะเร็ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชะลอการเจริญเติบโตและหยุดการแพร่กระจาย ซึ่งการใช้ยาชนิดนี้กับผู้ป่วยมะเร็ง แพทย์จะคำนวณขนาดการใช้ยาต่อพื้นที่ผิวของร่างกายมาเป็นเกณฑ์ตัดสิน ผู้ป่วยต้องรับการให้ยานี้ตามช่วงเวลาที่แพทย์นัดหมาย ผู้ได้รับยาด็อกซูรูบิซินในครั้งแรกจะพบอาการข้างเคียงที่เกิดขึ้นได้บ่อยๆ เช่น เจ็บ/ปวดบริเวณที่ได้รับการฉีดยา ซึ่งสามารถบรรเทาอาการปวดด้วยการประคบเย็น ภายใน 2 สัปดาห์หลังการฉีดยาด็อกซูรูบิซิน ผู้ป่วยจะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน แพทย์สามารถใช้ยาแก้คลื่นไส้ต่างๆ เข้ามาช่วยเหลือเพื่อป้องกันและลดอาการเหล่านี้ จำนวนเม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว และเกล็ดเลือด จะลดลงชั่วคราว ผู้ป่วยจะเกิดความเสี่ยงต่อการติดเชื้อโรคประเภทต่างๆ มีภาวะโลหิตจาง หรือไม่ก็มีภาวะเลือดออกง่าย ระยะเวลาที่ร่างกายเริ่มมีสภาพโลหิตจางอยู่ในช่วง 10–14 วันนับจากวันที่ได้รับยานี้ และภายในวันที่ 21–28 สภาพเลือดจางของร่างกายจึงจะกลับมาเป็นปกติ ผู้ป่วยหลายรายจะประสบอาการผมร่วง อาจร่วงเป็นหย่อมๆ หรือร่วงทั้งศีรษะก็ได้ อย่างไรก็ตาม เส้นผมของผู้ป่วยสามารถงอกขึ้นมาใหม่และยาวได้เหมือนปกติเมื่อหมดฤทธิ์ของยาด็อกซูรูบิซินและยาเคมีบำบัดอื่นๆ ผู้ป่วยบางกลุ่มมีอาการข้างเคียงที่อาจพบเห็นไม่บ่อยทีเดียวนัก เช่น ตาแฉะ มีแผลในช่องปาก และในกรณีที่เพิ่งได้รับยาด็อกซูรูบิซิน 1–2 วัน อาจพบเห็นปัสสาวะมีสีแดง-น้ำตาล สีส้มหรือมีสีออกชมพู นอกจากนี้ ยังอาจพบเห็นโคนเล็บมีสีคล้ำ ผิวหนังย่นร่วมด้วยตัวยา ด็อกซูรูบิซินจะไปลดความสามารถของหัวใจในการสูบฉีดโลหิตไปเลี้ยงอวัยวะต่างๆ ของร่างกาย ซึ่งอาการข้างเคียงด้านพยาธิสภาพของหัวใจนี้ ถ้าเกิดขึ้นแล้วจะส่งผลกระทบต่อผู้ป่วยอย่างมาก ดังนั้น แพทย์จะคอยตรวจสอบสภาพการทำงานของหัวใจผู้ป่วย ควบคู่ไปกับการใช้ยาด็อกซูรูบิซิน แม้ว่ายาด็อกซูรูบิซินจะเป็นยารักษามะเร็งก็จริง แต่ยานี้ก็สร้างความเสี่ยงให้เกิดการพัฒนาของมะเร็งเม็ดเลือดขาวตลอดจนถึงเกิดภาวะ Tumor lysis syndrome (ภาวะเกิดการตายปริมาณมาก อย่างรวดเร็วของเซลล์มะเร็ง) ซึ่งจะเป็นผลให้ระดับเกลือแร่และการเผาผลาญพลังงานของร่างกายมีความผิดปกติ รวมถึงอาจเกิดไตวายเฉียบพลัน จนเป็นเหตุให้ผู้ป่วยเสียชีวิตได้ ก่อนการใช้ยาด็อกซูรูบิซิน ผู้ป่วยต้องได้รับการตรวจประเมินสภาพการทำงานของหัวใจ และแพทย์จะซักถามประวัติว่าเคยเป็นโรคหัวใจมาก่อนหรือไม่ ทั้งนี้เพื่อเป็นการป้องกันผลกระทบต่อการทำงานของหัวใจหลังได้รับยาด็อกซูรูบิซิน ผู้ที่มีจำนวนเม็ดเลือดขาวต่ำ จะไม่สามารถใช้ยาชนิดนี้ได้ เนื่องจากยาด็อกซูรูบิซินสามารถกดไขกระดูกจนส่งผลลดการผลิตเม็ดเลือดของร่างกาย ห้ามใช้ยานี้กับสตรีมีครรภ์หรือตั้งครรภ์ด้วยตัวยาด็อกซูรูบิซินสามารถทำให้ทารกในครรภ์พิการ ดังนั้นผู้ป่วยที่เป็นสตรี จะต้องป้องกันไม่ให้เกิดการตั้งครรภ์ระหว่างที่ได้รับยาชนิดนี้ หรือสตรีในภาวะให้นมบุตรที่ต้องรับการรักษาด้วยยาด็อกซูรูบิซินต้องหยุดให้นมบุตรแล้วใช้นมดัดแปลงเลี้ยงบุตรแทน ขณะได้รับยาด็อกซูรูบิซินอาจเกิดภาวะเลือดออกง่าย ผู้ป่วยต้องหลีกเลี่ยงกิจกรรมที่จะก่อให้เกิดบาดแผลตามร่างกาย หรือการแปรงฟันแพทย์จะแนะนำให้ใช้ แปรงสีฟันที่มีขนอ่อนนุ่มเพื่อป้องกันการขัดถูที่อาจก่อให้เกิดการกระแทกเหงือกหรือเนื้อเยื่อช่องปากจนเลือดออก ขณะที่ใช้ยานี้ห้ามฉีดวัคซีนป้องกันโรคใดๆ เพราะนอกจากจะไม่สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันต้านทานโรคให้ร่างกายได้แล้ว ยังอาจทำให้เกิดการติดเชื้อจากวัคซีนดังกล่าว ตัวยาด็อกซูรูบิซินมีผลข้างเคียงทำให้ภูมิคุ้มกันของร่างกายต่ำลงจนเกิดความเสี่ยงต่อการติดเชื้อได้ง่ายขึ้น ผู้ป่วยจึงควรหลีกเลี่ยงการเข้าไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อยู่ในพื้นที่ที่มีประชาชนแออัด เช่น ห้างสรรพสินค้า หลังได้รับยานี้ แล้วอาการป่วยมะเร็งไม่ดีขึ้นตามความคาดหมาย ให้ผู้ป่วยกลับมาพบแพทย์หรือมาโรงพยาบาลโดยไม่ต้องรอถึงวันแพทย์นัด ห้ามหยุดการรักษาไปเฉยๆ การจะรับประทานยาอื่นใดร่วมด้วยขณะที่ได้รับยาด็อกซูรูบิซินจะต้องได้รับการยินยอมจากแพทย์ก่อนทุกครั้ง ทั้งนี้เพื่อเป็นการหลีกเลี่ยงภาวะยาตีกัน (ปฏิกิริยาระหว่างยา) มาโรงพยาบาลเพื่อ การตรวจร่างกาย การรับการให้ยานี้ การตรวจสอบการทำงานของหัวใจ การตรวจเลือด และการตรวจทำงานของตับ ตามที่แพทย์นัดหมายทุกครั้ง ยาด็อกซูรูบิซินที่จำหน่ายอยู่ในประเทศไทย มีอยู่ประมาณ 4-7 ชื่อการค้า และจัดเป็นหนึ่งในรายการยาที่อยู่

2.3.1 ข้อจำกัดในการใช้ยาด็อกซูรูบิซิน

โดยจะไม่ใช้กับผู้ป่วยโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดเฉียบพลัน และผู้ป่วยที่มี cardiomyopathy (โรคหัวใจ) ที่มีการทำงานของหัวใจ (Left ventricular ejection fraction น้อยกว่า 50%) ตามกฎหมายยาของไทย ได้กำหนดให้ยาด็อกซูรูบิซินเป็นยาควบคุมพิเศษและยาอันตราย การใช้ยานี้ต้องมีใบสั่งจากแพทย์เสมอ และเราสามารถพบเห็นการใช้ยาชนิดนี้ได้ทั้งในสถานพยาบาลของรัฐและของเอกชนโดยทั่วไป

2.3.2 ยาด็อกซูรูบิซินใช้รักษาโรคมะเร็ง

- มะเร็งเต้านม (Breast cancer)
- มะเร็งนิวโรบลาสโตมา (Neuroblastoma)
- มะเร็งต่อมน้ำเหลืองฮอดจ์กิน (Hodgkin's lymphoma)
- มะเร็งรังไข่ (Ovarian cancer)
- มะเร็งกระเพาะอาหาร (Gastric cancer)
- มะเร็งกระดูก (Osteosarcoma)
- มะเร็งกระเพาะปัสสาวะ (Bladder Cancer)
- มะเร็งต่อมน้ำเหลือง (Lymphoma)
- มะเร็งต่อมไทรอยด์ (Thyroid Cancer)
- มะเร็งปอด (Bronchogenic carcinoma)
- มะเร็งเม็ดเลือดขาวเอเอ็มแอล (Acute Myeloblastic Leukemia)
- มะเร็งเม็ดเลือดขาวเอแอลแอล (Acute Lymphoblastic Leukemia)
- มะเร็งเนื้อเยื่ออ่อน (Soft tissue sarcoma)
- เนื้องอกวิมส์ (Wilms' tumor)
- มะเร็งมัลติเพิลมัยอีโลมา (Multiple myeloma)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.3 กลไกการออกฤทธิ์ของยาด็อกซูรูบิซิน

ยาด็อกซูรูบิซิน มีกลไกการออกฤทธิ์โดยตัวยาจะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ชื่อว่า Type II topoisomerase เอนไซม์นี้เป็นกลไกสำคัญที่ช่วยการสังเคราะห์และซ่อมแซมสารพันธุกรรม ทั้งในเซลล์ปกติของร่างกายรวมถึงเซลล์มะเร็งด้วย จากกลไกการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าว ทำให้เซลล์มะเร็งหยุดการเจริญเติบโต ไม่สามารถแพร่กระจาย จึงก่อให้เกิดฤทธิ์รักษาโรคมะเร็งได้ตามสรรพคุณ

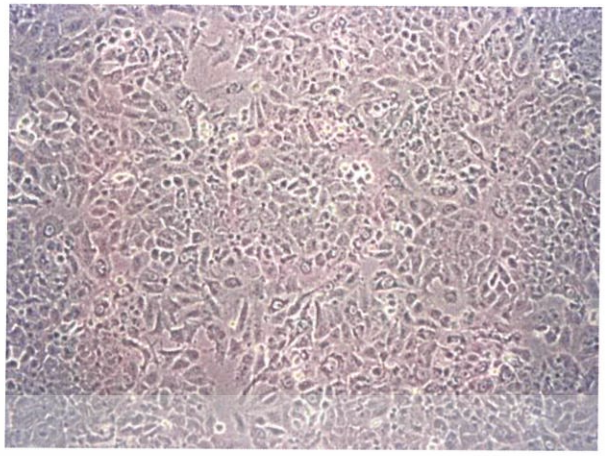
2.3.4 ผลข้างเคียงจากยาด็อกซูรูบิซิน

- ผลต่อตา: เช่น เยื่อตาอักเสบ บวมรอบตา น้ำตาไหล หนังตาตก กระจกตาอักเสบ ตาพร่า
- ผลต่อการเกิดมะเร็ง: เช่น เสี่ยงต่อการเป็น มะเร็งเม็ดเลือดขาว มะเร็งผิวหนัง เมื่อใช้ยานี้ ปริมาณสูงต่อเนื่องเป็นเวลานาน แต่พบโอกาสเกิดมะเร็งจากยานี้ได้น้อยมาก
- ผลต่อระบบกล้ามเนื้อ: เช่น ข้อสันหลังอักเสบยึดติด ปวดข้อ
- ผลต่อสภาพจิตใจ : เช่น รู้สึกสับสน
- ผลต่อระบบทางเดินอาหาร : เช่น คลื่นไส้ อาเจียน กระเพาะอาหารอักเสบ
- ผลต่อระบบประสาท: เช่น มีไข้
- ผลต่อผิวหนัง: เช่น เกิดภาวะผมร่วง แต่เส้นผมสามารถคืนสภาพและงอกใหม่ได้ เล็บมีสีคล้ำหรือเกิดการถอดเล็บ/เล็บหลุด ผิวหนังย่น ปวดบริเวณที่ได้รับการฉีดยา
- ผลต่อหัวใจ: เช่น กรณีที่ได้รับยาด็อกซูรูบิซินสะสมสูงรวม 450-550 มิลลิกรัม/พื้นที่ผิวของร่างกาย 1 ตารางเมตร อาจทำให้เกิดภาวะหัวใจล้มเหลว
- ผลต่อระบบทางเดินปัสสาวะ: เช่น กระเพาะปัสสาวะมีการหดค้าง/บีบตัวหดเกร็งจนส่งผลให้ปวดปัสสาวะตลอดเวลาผลต่อระบบเลือด: เช่น กดไขกระดูก เกล็ดเลือดต่ำ เม็ดเลือดขาวต่ำ โลหิตจาง
- ผลต่อไต: เช่น อาจเกิดภาวะกรวยไตอักเสบ
- ผลต่อระบบทางเดินหายใจ: เช่น อาจมีอาการไอ หายใจขัด/หายใจลำบาก
- ผลต่อระบบภูมิคุ้มกันต้านทานโรค: เช่น ภูมิต้านทานโรคต่ำลงจนติดเชื้อต่างๆได้ง่าย

2.4 เซลล์ไลน์มะเร็งเต้านมของมนุษย์ (Human breast adenocarcinoma: MCF-7)

MCF-7 เป็นตัวย่อมากจาก Michigan Cancer Foundation 7 โดยเซลล์ไลน์ MCF-7 จากภาพที่ 2.9 มีประโยชน์อย่างมากในด้านการศึกษามะเร็งเต้านมในสภาวะการทดลอง เพราะเซลล์ไลน์นี้ได้แสดงลักษณะเฉพาะที่ดีสำหรับเซลล์เยื่อบุของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและมีความสามารถในการเปลี่ยนแปลงฮอร์โมนเอสโตรเจน เมื่อเซลล์ไลน์เจริญเติบโตบนภาชนะเพาะเลี้ยงเซลล์จะสามารถสร้างเซลล์ในลักษณะทรงกลมและมีลักษณะคล้ายเยื่อบุ มีการเจริญแบบ monolayer

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.9 ลักษณะเซลล์ไลน์มะเร็งเต้านมของมนุษย์ MCF-7

ที่มา : https://www.mybiosource.com/prods/Cell-Line/MCF-7-Luc (สืบค้นวันที่ 2/06/2561)

2.5 การตรวจสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยเทคนิค Methyl tetrazolium (MTT)

การวิเคราะห์ MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) ถูกนำมาใช้ในการประเมินประสิทธิภาพความเป็นพิษต่อเซลล์ ด้วยวิธีการตรวจวัดค่าสีด้วยเครื่องไมโครไตเตอร์ เพลท รีดเดอร์ เพื่อประเมินความเป็นพิษต่อเซลล์ โดยส่วนของไมโตรคอนเดรียจะปลดปล่อยเอมไซม์ succinate dehydrogenase ออกมาเปลี่ยนสีเหลืองที่เกิดจาก tetrazolium ในสารละลาย MTT โดยจะเป็นตัวบ่งบอกความเปลี่ยนแปลงสภาพโดยรวมของเซลล์ การลดลงของ tetrazolium นั้น จะทำให้เกิดผลึกฟอร์มาซานสีม่วงที่ไม่ละลายในน้ำ เนื่องจากจะสะสมอยู่ในไซโทพลาสซึมของเซลล์ การดูดกลืนแสงของผลึกฟอร์มาซานมีความสัมพันธ์กับปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตรอดอยู่ภายในตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์ หลังจากนั้นเติม DMSO ลงไปเพื่อละลายผลึกฟอร์มาซาน ส่วนเซลล์ที่ตายแล้วนั้นจะมีลักษณะใส ไม่มีสี แต่เนื่องจากผลึกฟอร์มาซานมีความเป็นพิษต่อเซลล์ จึงทำให้เซลล์ตายในที่สุด และจะเปลี่ยนเป็นสารละลายสีม่วง จากนั้นนำไปวัดค่าความการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร ด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ และนำค่าที่ได้จากการดูดกลืนแสงนี้ไปคำนวณหาร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ เพื่อแสดงให้เห็นถึงปริมาณเซลล์ที่ตายจากการทดสอบโดยสารสกัดต่างๆ และสามารถบอกค่าความเข้มข้นที่ทำให้เซลล์ตายได้รูปแบบร้อยละ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 เซลล์ไลน์มะเร็งเต้านมของมนุษย์

1. MCF-7 cell (HTB-22 จาก ATCC)

3.2 วัสดุอุปกรณ์

1. ตู้ปลอดเชื้อชนิดลมเป่า
2. ขวดเพาะเลี้ยงเซลล์ (TC-flask) มีพื้นที่ผิวเท่ากับ 25 ตารางเซนติเมตร
3. ขวดดูแลนสำหรับใส่อาหารขนาดต่างๆ เช่น 50, 100, 500 มิลลิลิตร และ 1 ลิตร
4. หลอดสำหรับปั่นเหวี่ยงแยกสาร ขนาด 1.5 และ 15 มิลลิลิตร
5. ปิเปตแก้วที่ปลอดเชื้อ ขนาด 1, 5 และ 10 มิลลิลิตร
6. เครื่องดูด-ปล่อยสารแบบอัตโนมัติ (Automatic pipettor)
7. Pipetteboy
8. บีกเกอร์ขนาด 50, 250 และ 1,000 มิลลิลิตร
9. เครื่องวัดค่าความเป็นกรด – เบส
10. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง
11. คิวเวต
12. ฮีมาไซโตมิเตอร์ (Hemacytometer) และแผ่นปิดสไลด์ (cover slip)
13. กล้องจุลทรรศน์ inverted
14. กล้องจุลทรรศน์ compound
15. ตู้บ่มที่มี CO_2 5% อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส
16. เครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร
17. จานเพาะเลี้ยงชนิด 24 หลุม (24-well plate)
18. เครื่องปั่นเหวี่ยงสำหรับแยกสาร
19. เครื่องอบลมร้อน
20. Magnetic Stirrer และ Magnetic bar
21. ชุดกรองสาร และ membrane filter ขนาด 0.22 ไมครอน

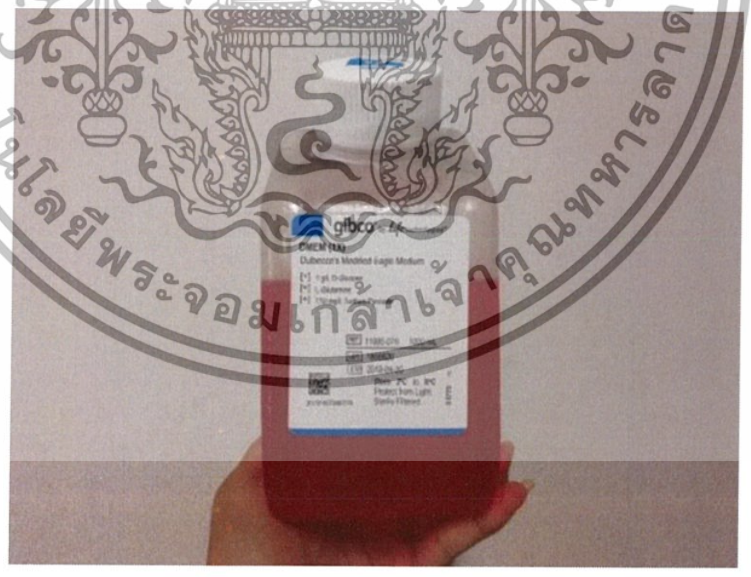
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 สารเคมีที่ใช้

1. อาหาร DMEM สำเร็จรูป (Dulbecco's Modified Eagle)
2. ซีรัม (fetal bovine serum, FBS)
3. Penicillin-Streptomycin solution (10,000 unit penicillin-Gand 10,000 micrograms streptomycin per ml)
4. เอทานอล 70%
5. ทริปซิน (Trypsin) 0.25%
6. สีทริปแพน-บลู 0.4%
7. MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide)
8. DMSO (Dimethylsulfoxide)
9. Nanodiamonds
10. Doxurubicin
11. เบส NaOH
12. Phosphate buffered saline

3.4 ขั้นตอนในการดำเนินงาน

3.4.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7)

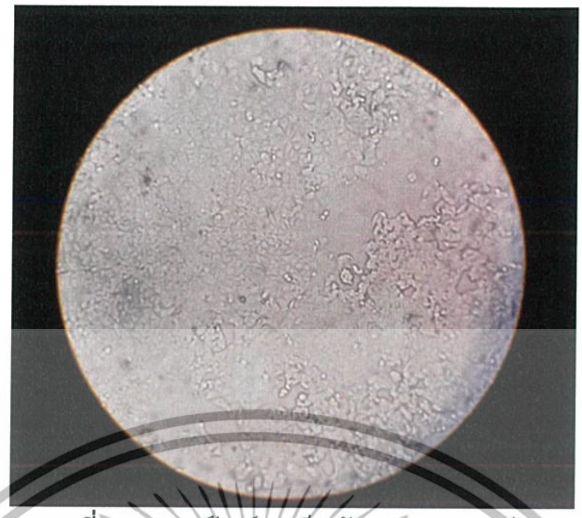


ภาพที่ 3.1 อาหารสำเร็จรูป Dulbecco's Modified Eagle Medium ; DMEM

ใช้อาหารสำเร็จรูป DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) จากภาพที่ 3.1 เติมซีรัม Fetal Bovine 10 เปอร์เซ็นต์ และ Penicillin-Streptomycin ปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงในอาหาร จะได้อาหารพร้อมเลี้ยงเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

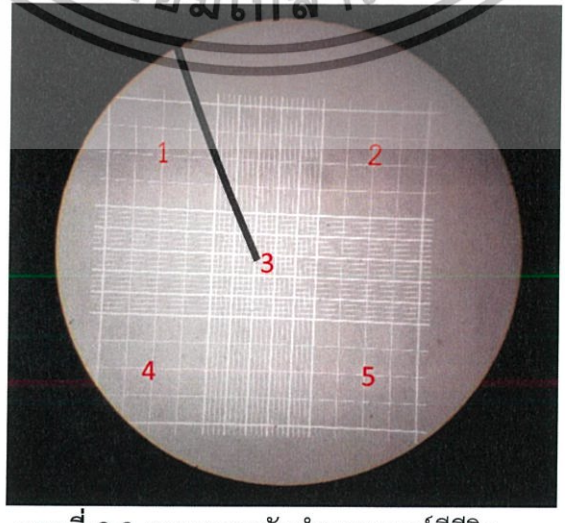
3.4.2 การเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7)



ภาพที่ 3.2 เซลล์ไลน์มะเร็งเต้านมของมนุษย์

ทำการถ่ายเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) จากภาพที่ 3.2 ที่ต้องการเพาะเลี้ยงลงในอาหารพร้อมเลี้ยงที่เตรียมไว้ จากนั้นนำไปบ่มในตู้ที่มี CO_2 5 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส บ่มไว้ให้เซลล์เจริญเติบโตและเกาะที่ผิวของภาชนะที่ใช้เพาะเลี้ยง เป็นระยะเวลา 3-5 วัน จากนั้นนำเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์หัวกลับ (inverted microscope) เพื่อดูการเจริญเติบโตของเซลล์ที่เพาะเลี้ยง โดยจะแผ่ขยายออกมามีลักษณะเป็นกลุ่มๆ เกาะที่ผิวภาชนะ (ถ้าเริ่มเห็นว่าเซลล์ที่เพาะเลี้ยงมีลักษณะเกาะเต็มที่ผิวของภาชนะจนแน่น ให้ทำการถ่ายเซลล์ไปยังฟาส์กใหม่ แต่ถ้าหากเซลล์ที่เพาะเลี้ยงยังไม่เกาะที่ผิวภาชนะแต่สีของอาหารเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ให้ทำการเปลี่ยนอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์ใหม่)

3.4.3 การนับจำนวนเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7)



ภาพที่ 3.3 ตารางการนับจำนวนเซลล์มีชีวิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำฟลาส์กที่เพาะเลี้ยงเซลล์ออกจากตู้บ่มและนำเข้าตู้ปลอดเชื้อ จากนั้นทำการดูดอาหารเก่าออกให้หมด และทำการเติม PBS ปริมาตร 3 มิลลิลิตร เพื่อล้างชีรัมในอาหารที่ยังติดเซลล์อยู่จนสะอาดและทำการดูด PBS ออก จากนั้นเติมทริปซิน ความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อทำให้เซลล์เพาะเลี้ยงที่เกาะบนผิวภาชนะนั้นหลุดออกมาจากผิวภาชนะทั้งหมดและนำไปบ่มที่ตู้บ่ม 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 นาที จากนั้นนำมาส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบหัวกลับ (inverted microscope) เพื่อดูว่าเซลล์นั้นหลุดออกจากผิวภาชนะมากหรือน้อยเพียงใดตามตารางที่ 3.1 หากหลุดออกมาแล้วให้ดูดทริปซินออกและเติมอาหารใหม่ที่มีชีรัม Fetal Bovine 10 เปอร์เซ็นต์ ลงไปเพื่อหยุดการทำงานของทริปซิน จากนั้นดูดเซลล์ที่แขวนลอยออกมาจากขวดเพาะเลี้ยงปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดสำหรับปั่นแยกสาร เติมสีทริปแพนบลู ความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 1-5 นาที แล้วจึงดูดสารละลายปริมาตร 10 ไมโครลิตร ใส่ลงในแอ่งของฮีมาไซโตมิเตอร์และนำไปนับภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound ด้วยเลนส์ใกล้วัตถุกำลังขยาย 4X เพื่อส่องหาตาราง (grid) ตามภาพที่ 3.3 จากนั้นเพิ่มกำลังขยายของเลนส์ใกล้วัตถุเป็น 10X สังเกตเซลล์มีชีวิตจะไม่ติดสีทริปแพนบลู ส่วนเซลล์ตายจะติดสีฟ้าของสีทริปแพนบลู ดังสูตรต่อไปนี้

$$\text{ปริมาตรเซลล์มีชีวิต/มิลลิลิตร} = \text{ปริมาตรเซลล์มีชีวิตเฉลี่ย} \times 10^4 \times \text{ค่าความเจือจาง}$$

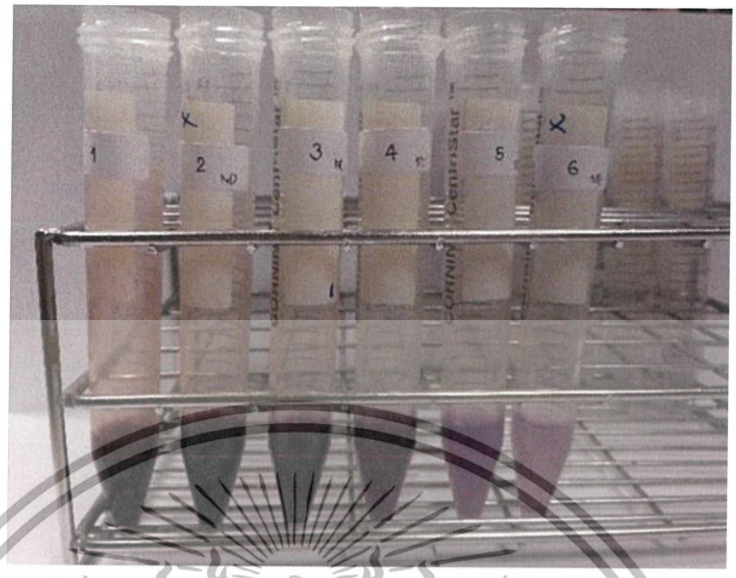
$$\text{ค่าความเจือจาง} = \frac{\text{ปริมาตรเซลล์แขวนลอยที่ดูดออกมานับ + ปริมาตรสีย้อม}}{\text{ปริมาตรเซลล์แขวนลอยที่ดูดออกมานับ}}$$

ตารางที่ 3.1 แสดงการบันทึกการนับจำนวนเซลล์ไลน์ MCF-7 ที่มีชีวิต

ช่องที่	ปริมาตรเซลล์มีชีวิต
1	
2	
3	
4	
5	
รวม	
เฉลี่ย	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.4 การเตรียมยาด็อกซูรูบิซินกับอนุภาคเพชรนาโนในแต่ละความเข้มข้น



ภาพที่ 3.4 อนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาด็อกซูรูบิซินแต่ละความเข้มข้น

นำอนุภาคเพชรนาโน 10 มิลลิกรัม ละลายในน้ำกลั่นปราศจากอิออนปริมาตร 1 มิลลิลิตร และปรับสภาวะค่าความเป็นกรด-เบส ประมาณ 11 (pH 11) จากภาพที่ 3.4 เพื่อให้ส่งเสริมการจับกับยาด็อกซูรูบิซิน แล้วนำไปฆ่าเชื้อโรคด้วยรังสียูวีที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร เป็นเวลา 60 นาที จากนั้นเตรียมสารละลายยาด็อกซูรูบิซิน 2 มิลลิกรัม ละลายในน้ำกลั่นปราศจากอิออนปริมาตร 1 มิลลิลิตร และนำสารละลายยาด็อกซูรูบิซินที่เตรียมไว้เติมลงในสารละลายอนุภาคเพชรนาโน ทำการเจือจางความเข้มข้น (ตามตารางที่ 3.2) แล้วจึงนำสารละลายมาฆ่าเชื้อด้วยรังสียูวีที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร เป็นเวลา 15 นาที ซึ่งจะได้อนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาด็อกซูรูบิซิน (ND-X) จากนั้นนำสารละลายอนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาด็อกซูรูบิซิน (ND-X) มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 500 นาโนเมตร และนำอนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาด็อกซูรูบิซิน (ND-X) ส่วนที่เหลือมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที จากนั้น จะได้ตะกอนของอนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาด็อกซูรูบิซิน (ND-X) และนำน้ำส่วนใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร ส่วนตะกอนของอนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาด็อกซูรูบิซิน (ND-X) เติมน้ำกลั่นปราศจากอิออนปริมาตร 1 มิลลิลิตร ทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที อีก 3 ครั้ง เพื่อทำการล้างตะกอนส่วนของอนุภาคเพชรนาโนและยาด็อกซูรูบิซินที่ไม่ได้จับจะอยู่ในสารละลายส่วนใสและนำน้ำส่วนใสนี้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 500 นาโนเมตร เพื่อคำนวณหาปริมาณยาด็อกซูรูบิซินที่จับกับอนุภาคเพชรนาโน จากนั้นเติมน้ำกลั่นปราศจากอิออนปริมาตร 1 มิลลิลิตร และนำตะกอนของอนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาด็อกซูรูบิซิน (ND-X) ทำให้กลับมาเป็นสารแขวนลอยในน้ำอีกครั้ง โดยใช้เครื่องผสมสารละลาย (vortex mix)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยมีวิธีการเตรียมยาด็อกซูรูบิซินกับอนุภาคเพชรนาโนในแต่ละความเข้มข้น ดังนี้

3.4.1 ชั่งอนุภาคเพชรนาโนปริมาณ 20 มิลลิกรัม เติมน้ำกลั่นปราศจากอิออนปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมด้วยเครื่อง mixer (ระดับความเข้มข้นที่ 1) จากนั้นดูดสารละลายอนุภาคเพชรนาโนปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดปั่นแยกสารขนาด 15 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปราศจากอิออนปริมาตร 1 มิลลิลิตร (ระดับความเข้มข้นที่ 2) ทำซ้ำตามการเตรียมระดับความเข้มข้นที่ 2 จนครบทั้ง 12 ระดับความเข้มข้น ตามตารางที่ 3.2

3.4.2 ชั่งยาด็อกซูรูบิซินปริมาณ 4 มิลลิกรัม เติมน้ำกลั่นปราศจากอิออนปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมด้วยเครื่อง mixer (ระดับความเข้มข้นที่ 1) ทำซ้ำเช่นเดียวกับการเตรียมอนุภาคเพชรนาโนจนครบทั้ง 12 ระดับความเข้มข้น จะได้อนุภาคเพชรนาโนต่อยาด็อกซูรูบิซินในอัตราส่วน 1:1 ตามตารางที่ 3.2

ภาพที่ 3.5 เครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.2 แสดงอัตราส่วนระหว่างยาด็อกซูรูบิซินกับอนุภาคเพชรนาโนแบบน้ำหนักต่อน้ำหนัก

ระดับความเข้มข้น	ยาด็อกซูรูบิซิน (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	อนุภาคเพชรนาโน (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
1	1	5
2	0.5	2.5
3	0.25	1.25
4	0.125	0.625
5	0.0625	0.3125
6	0.03125	0.15625
7	0.015625	0.078125
8	0.0078125	0.0390625
9	0.00390625	0.01953125
10	0.001953125	0.009765625
11	0.000976563	0.004882813
12	0	0

3.4.5 การหาความเป็นพิษต่อเซลล์ ด้วยวิธี MTT

วางแผนการทดสอบในจานเพาะเลี้ยงเซลล์ชนิด 24 หลุม (24-well plate) ปลูกเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ลงในจานเพาะเลี้ยงเซลล์ปริมาตร 1 มิลลิลิตรต่อหลุม โดยให้มีจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตเท่ากับ $1x10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร และเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ลงในหลุมที่เหลืออยู่ทั้งหมด จากนั้นนำจานเพาะเลี้ยงเซลล์ไปบ่มในตู้บ่มที่มี CO_2 5 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบ 24 ชั่วโมง นำจานเพาะเลี้ยงเซลล์ออกจากตู้บ่ม ดูดอาหารเก่าในหลุมที่มีเซลล์ออกทั้งหมด แล้วเติมอนุภาคเพชรนาโนกับยาด็อกซูรูบิซิน (ND-X) ในแต่ละความเข้มข้น 1 มิลลิลิตรต่อหลุม จากนั้นนำไปบ่มในตู้บ่มที่มี CO_2 5 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบ 20 ชั่วโมง นำจานเพาะเลี้ยงเซลล์ออกมาเติมสารละลาย MTT ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ลงในหลุมที่ทดสอบปริมาตร 1 มิลลิลิตรต่อหลุม นำไปบ่มในตู้บ่มที่มี CO_2 5 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ซึ่ง pH ที่เหมาะสมในการปลดปล่อยยาด็อกซูรูบิซินเข้าทำลายเซลล์มะเร็งเท่ากับ 7 จากนั้นดูดสารละลาย MTT ทั้งหมดมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร และเติมสารละลาย DMSO ปริมาตร 1 มิลลิลิตรต่อหลุม เพื่อละลายผลึกฟอร์มาซานจะได้สารละลายที่ม่วง แล้วนำจานเพาะเลี้ยงเซลล์ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องไมโครไตเตอร์เพลทรีดเดอร์ จากรูปที่ 3.5 ที่ความยาวคลื่นของแผ่นกรองแสงเท่ากับ 570 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก่อนวัดค่าการดูดกลืนแสงต้องตั้งโปรแกรมการเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 วินาที และบันทึกค่าการดูดกลืนแสง

3.4.6 การคำนวณหาค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ (% Cytotoxicity) ของแต่ละความเข้มข้น

นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากการวัดด้วยเครื่องไมโครไตเตอร์ เพลท รีดเดอร์และคำนวณหาค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของแต่ละความเข้มข้น โดยใช้สูตร

$$\% \text{ Cytotoxicity} = \left[\frac{A-B}{A}\right] \times 100$$

A = ค่าการดูดกลืนแสงของหลุมควบคุม (หลุมที่มีเซลล์ในอาหารเพาะเลี้ยง)

B = ค่าการดูดกลืนแสงของหลุมที่มีเซลล์กับอนุภาคเพชรนาโนกับยาด็อกซูรูบิซินในแต่ละความเข้มข้น

โดยค่า A และ B จะต้องนำค่าการดูดกลืนแสงของ Blank มาลบออกก่อนจึงจะนำไปคำนวณโดยสูตรข้างต้น

นำค่าที่ได้จากการคำนวณข้างต้น มาคำนวณหาความเข้มข้นอนุภาคเพชรนาโนกับยาด็อกซูรูบิซินที่เป็นพิษต่อเซลล์ ร้อยละ 90 โดยใช้โปรแกรม GraphPad Prism 6.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 การนับจำนวนเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7)

ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) จนได้ปริมาณเซลล์ที่เพียงพอต่อการทดลอง จากนั้นนำเซลล์ที่เพาะเลี้ยงมาทำการนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต ซึ่งเซลล์มะเร็งเต้านมนั้นเป็นเซลล์ไลน์ชนิดเกาะพื้นผิวภาชนะ จึงต้องใช้ทริปซินที่มีความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์ ในการย่อยเซลล์ให้หลุดออกจากผิวภาชนะทั้งหมด แล้วแบ่งตัวอย่างเซลล์ปริมาตร 400 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดปั่นแยกสารขนาด 1.5 มิลลิลิตร และเติมสีทริปแพนบูล ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมเซลล์และสีให้เข้ากัน ทิ้งไว้ประมาณ 1-5 นาที จากนั้นดูดตัวอย่างเซลล์ใส่ลงในแอ่งของฮีมาไซโตมิเตอร์ นำไปนับจำนวนเซลล์ใต้กล้องจุลทรรศน์ บันทึกผลลงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงการนับจำนวนของเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ที่มีชีวิต

ช่องที่	จำนวนเซลล์ที่มีชีวิต			
1	17	5	23	17
2	15	25	16	17
3	21	13	20	11
4	19	6	12	13
5	21	32	5	21
รวม	93	81	76	79
ค่าเฉลี่ย	16.45			

คำนวณปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตต่อ 1 มิลลิลิตร โดยใช้สูตร

ปริมาณเซลล์มีชีวิตต่อมิลลิลิตร = ปริมาณเซลล์มีชีวิตเฉลี่ย $\times 10^4 \times$ ค่าความเจือจาง

คำนวณค่าความเจือจาง จากสูตร

$$\text{ค่าความเจือจาง} = \frac{\text{ปริมาตรเซลล์แขวนลอยที่ดูดออกมานับ + ปริมาตรสีย้อม}}{\text{ปริมาตรเซลล์แขวนลอยที่ดูดออกมานับ}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าความเจือจาง = $\frac{400 \text{ ไมโครลิตร} + 100 \text{ ไมโครลิตร}}{400 \text{ ไมโครลิตร}}$

ดังนั้น ค่าความเจือจาง = 1.25

แทนค่าความเจือจางลงในสูตรการหาปริมาณเซลล์มีชีวิตต่อมิลลิลิตร

ปริมาณเซลล์มีชีวิตต่อมิลลิลิตร = $16.45 \times 10^4 \times 1.25$

ดังนั้น ปริมาณเซลล์มีชีวิตต่อมิลลิลิตร = 2.05×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร

จากนั้นนำเซลล์ไปปลูกลงในจานเพาะเลี้ยงเซลล์ชนิด 24 หลุม ปริมาตรหลุมละ 1 มิลลิลิตร ที่หมายเลข 1-12 และเติมอาหารปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในหลุมที่เหลือ ในภาพที่ 4.1

ภาพที่ 4.1 แสดงแผนการปลูกเพาะเลี้ยงเซลล์ลงในจานเพาะเลี้ยงชนิด 24 หลุม

จากนั้นนำจานเพาะเลี้ยงเซลล์ชนิด 24 หลุมที่ปลูกเพาะเลี้ยงเซลล์แล้วเข้าตู้บ่มที่มี CO_2 5 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

4.2 การวัดค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาด็อกซูรูบิซินในแต่ละความเข้มข้น

นำอนุภาคเพชรนาโนมาผสมกับยาด็อกซูรูบิซิน เกิดเป็นอนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาด็อกซูรูบิซิน (ND-X) ตามช่วงความเข้มข้นดังตารางที่ 3.2 จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงของ ND-X ที่ 500 นาโนเมตร ได้ค่าดังตารางที่ 4.2

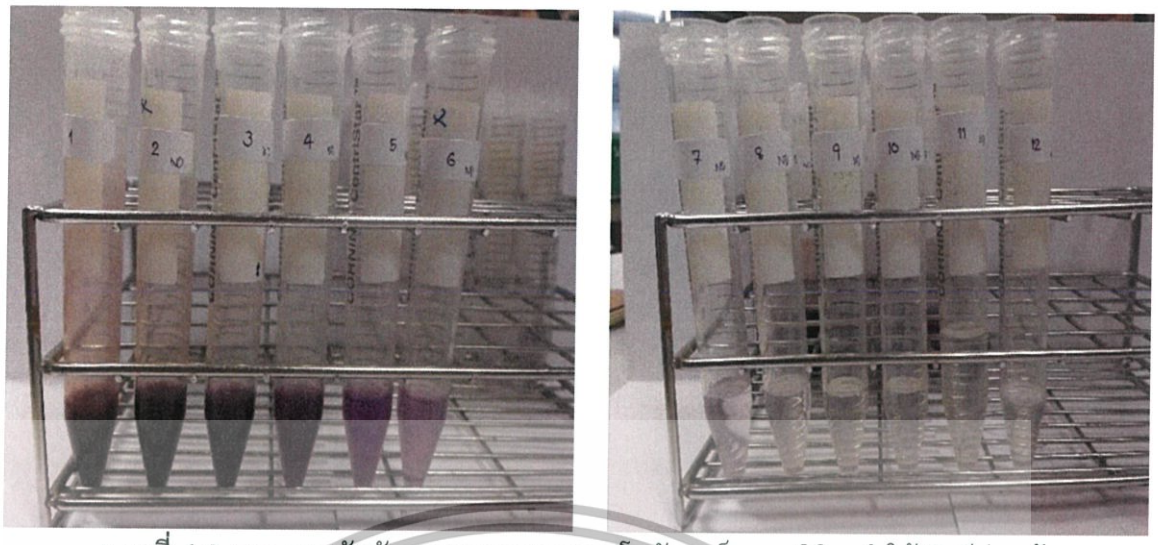
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาด็อกซูรูบิซินในแต่ละความเข้มข้น

ระดับความเข้มข้น	สารละลาย ND-X	ส่วนใส ND-X	ส่วนใส ND-X หลังล้างด้วยน้ำกลั่น 3 รอบ
1	2.405	0.778	2.422
2	2.404	0.721	2.418
3	2.402	0.695	1.819
4	2.365	0.47	0.862
5	1.825	0.298	0.092
6	0.915	0.222	0.077
7	0.318	0.05	0.049
8	0.2	0.047	0.039
9	0.125	0.041	0.041
10	0.087	0.043	0.038
11	0.074	0.044	0.042
12	0	0	0

จากค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย ND-X สังเกตเห็นได้ว่า ค่าการดูดกลืนแสงลดลงตามระดับความเข้มข้นของ ND-X ที่ลดลง (ระดับความเข้มข้นที่ 1 มีความเข้มข้นของ ND-X สูงที่สุดและลดลงมาตามลำดับ) สารละลาย ND-X มีสีม่วงเข้ม แสดงถึงอนุภาคเพชรนาโนกับยาด็อกซูรูบิซินเกิดการจับกันได้ดี จากภาพที่ 4.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.2 แสดงการจับกันของอนุภาคเพชรนาโนกับยาด็อกซูรูบิซิน ทำให้เกิดสีม่วงเข้ม ตามอัตราส่วนความเข้มข้นของ ND-X

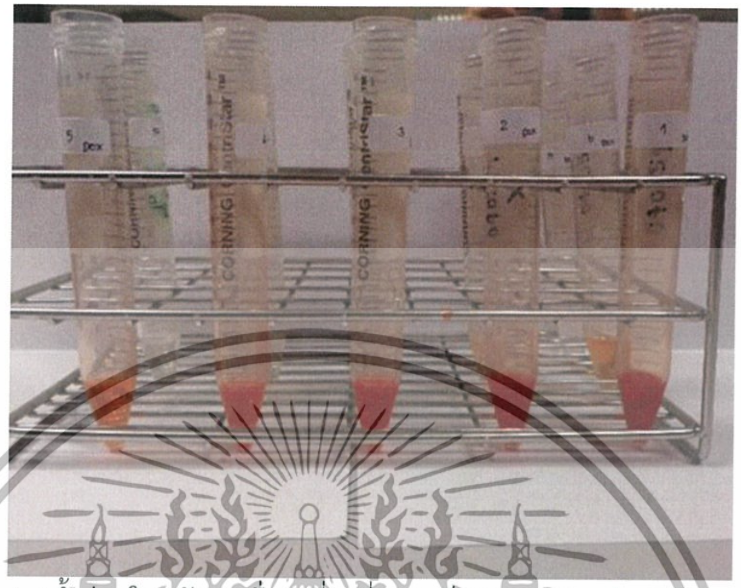
นำ ND-X ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เมื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงของน้ำส่วนใสที่มีสีม่วง พบว่าค่าการดูดกลืนแสงลดลงตามระดับของความเข้มข้น ภาพที่ 4.3

ภาพที่ 4.3 แสดงส่วนใสของ ND-X หลังจากปั่นเหวี่ยง 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที

จากค่าการดูดกลืนแสงของส่วนใสหลังจากปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที เพื่อเป็นการล้างตะกอนส่วนของอนุภาคเพชรนาโนที่ไม่ได้จับกับยาด็อกซูรูบิซิน พบว่าน้ำส่วนนี้มีสีส้มของยาด็อกซูรูบิซินที่ไม่ได้เข้าจับกับอนุภาคเพชรนาโน ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงแตกต่างจากสองค่าแรกอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งยาด็อกซูรูบิซินที่หลุดออกมานั้นอาจเกิดจากความเข้มข้นของอนุภาคเพชรนาโนกับยาด็อกซูรูบิซินที่ไม่เหมาะสมกัน ทำให้ไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาเข้าจับกันได้ที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระดับความเข้มข้นสูงๆ จึงเกิดการหลุดของยาด็อกซูรูบิซินออกมาในปริมาณที่มาก ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงมีค่าสูง ดังภาพที่ 4.4



ภาพที่ 4.4 แสดงน้ำส่วนใสหลังจากปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5000 รอบต่อนาที เวลา 5 นาที ด้วยน้ำกลั่น 3 รอบ เป็นส่วนของยาด็อกซูรูบิซินที่ไม่ได้เข้าจับอนุภาคเพชรนาโน

4.3 การหาความเป็นพิษต่อเซลล์ ด้วยวิธี MTT

นำเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ปริมาณ 2.05×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ที่ปลูกไว้ในจานเพาะเลี้ยงเซลล์ชนิด 24 หลุม มาทดสอบกับ ND-X ที่ช่วงความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงนำมาทดสอบกับสารละลาย MTT เมื่อครบ 20 ชั่วโมง ให้นำจานเพาะเลี้ยงเซลล์ออกมาจากตู้บ่ม และเติมสารละลาย DMSO ลงในหลุม เพื่อละลายผลึกฟอร์มาซาน และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 570 นาโนเมตร ด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ ได้ผลดังตารางที่ 4.3

จากค่าการดูดกลืนแสงในตารางที่ 4.3 สังเกตได้ว่า ที่ความเข้มข้นสูงมีค่าการดูดกลืนแสงสูง ปริมาณยาด็อกซูรูบิซินที่จับกับอนุภาคเพชรนาโนได้น้อย ทำให้มีปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตมาก เกิดผลึกฟอร์มาซานมาก เมื่อละลายผลึกด้วยสารละลาย DMSO แล้วจึงมีสีม่วงเข้ม ความเข้มของสีม่วงจะลดลงตามลำดับความเข้มข้นของ ND-X ที่ ND-X ความเข้มข้นต่ำๆ มีค่าการดูดกลืนแสงน้อย เนื่องจากเซลล์มีชีวิตน้อย ทำให้เกิดผลึกฟอร์มาซานน้อย เมื่อละลายด้วยสารละลาย DMSO จึงมีสีม่วงอ่อน ดังนั้น ND-X ที่ความเข้มข้นต่ำมีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมได้ดีกว่า ND-X ที่ความเข้มข้นสูงๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 แสดงค่าการดูดกลืนแสงจากเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์

ระดับความเข้มข้น	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 570 นาโนเมตร
1	3.079
2	3.079
3	2.81
4	1.474
5	0.652
6	0.26
7	0.208
8	0.233
9	-0.012
10	-0.081
11	0.211
12	3.085

4.4 การคำนวณหาค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ (% Cytotoxicity) ของแต่ละความเข้มข้น

นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากการวัดด้วยเครื่องไมโครไตเตอร์เพลทรีดเดอร์และนำค่าการดูดกลืนแสงจากตารางที่ 4.3 มาคำนวณหาค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของแต่ละช่วงความเข้มข้น โดยใช้สูตร

$$\% \text{ Cytotoxicity} = \left[\frac{A-B}{A}\right] \times 100$$

A = ค่าการดูดกลืนแสงของหลุมควบคุม (หลุมที่มีเซลล์ในอาหารเพาะเลี้ยง)

B = ค่าการดูดกลืนแสงของหลุมที่มีเซลล์กับอนุภาคเพชรนาโนกับยาด็อกซูรูบิซินในแต่ละความเข้มข้น

โดยค่า A และ B จะต้องนำค่าการดูดกลืนแสงของ Blank มาลบออกก่อนจึงจะนำไปคำนวณโดยสูตรข้างต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 แสดงร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง MCF-7 (% Cytotoxicity) ของอนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาด็อกซูรูบิซินแต่ละระดับความเข้มข้น

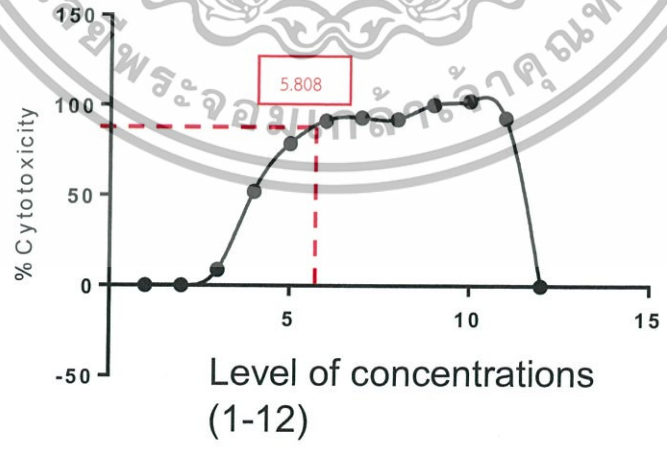
ระดับความเข้มข้นที่	ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ (% Cytotoxicity)
1	0.194
2	0.194
3	8.914
4	52.220
5	78.865
6	91.572
7	93.258
8	92.447
9	100.389
10	102.626
11	93.161
12	0

จากตารางที่ 4.4 สังเกตได้ว่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ของยาด็อกซูรูบิซินที่จับกับอนุภาคเพชรนาโนที่ระดับความเข้มข้น 1-3 มีค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ต่ำมาก คือไม่ถึงร้อยละ 10 แสดงว่ามีปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตอยู่มาก เนื่องจากตัวยาด็อกซูรูบิซินที่จับกับอนุภาคเพชรนาโนมีปริมาณต่ำ ทำให้เข้าทำลายเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ได้น้อย ซึ่งอาจเกิดจากความไม่เหมาะสมของอัตราส่วนระหว่างยาด็อกซูรูบิซินกับอนุภาคเพชรนาโนแบบน้ำหนักต่อน้ำหนัก ส่วนที่ระดับความเข้มข้นที่ 4 มีค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ 52.22 มีความเข้มข้นของยาด็อกซูรูบิซินที่สามารถจับกับอนุภาคเพชรนาโนและเคลือบอยู่บริเวณผิวของอนุภาคเพชรนาโน จึงสามารถปลดปล่อยออกมาและเข้าทำลายเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ได้แต่ยังไม่มากนัก เพียงร้อยละ 52.220 ของปริมาณเซลล์เริ่มต้นที่ได้ปลูกไว้ในจานเพาะเลี้ยงชนิด 24 หลุม ขณะที่ความเข้มข้นระดับที่ 5 มีค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์สูงขึ้นจากความเข้มข้นระดับที่ 4 คือ 78.865 ตัวยาด็อกซูรูบิซินที่เคลือบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อยู่บริเวณผิวของอนุภาคเพชรนาโนสามารถปลดปล่อยออกมาและเข้าทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมได้ดีกว่าความเข้มข้นระดับที่ 4 เนื่องจากมีความเหมาะสมกันระหว่างอัตราส่วนของยาด็อกซูรูบิซินกับอนุภาคเพชรนาโนแบบน้ำหนักต่อน้ำหนักที่ดีกว่า ทำให้ใช้ปริมาณยาด็อกซูรูบิซินที่ลดลงแต่มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมได้มากขึ้นดีกว่าการใช้ยาในปริมาณที่สูง ในขณะที่ระดับความเข้มข้น 6-8 มีค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์สูงกว่าร้อยละ 90 แสดงว่าประสิทธิภาพในการเข้าทำลายเซลล์มะเร็งได้ดีกว่าความเข้มข้นระดับที่ 5 มาก แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการจับกันของยาด็อกซูรูบิซินกับอนุภาคเพชรนาโนที่เพิ่มมากขึ้น ทำให้ยาด็อกซูรูบิซินที่เคลือบอยู่บริเวณผิวของอนุภาคเพชรนาโน ปลดปล่อยออกมาและเข้าทำลายเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ได้มากขึ้น ทำให้ช่วยเพิ่มความสามารถของยาด็อกซูรูบิซินให้สูงขึ้นได้ แม้ใช้ตัวยาด็อกซูรูบิซินในปริมาณที่น้อย แต่สามารถเข้าทำลายเซลล์มะเร็งได้มากกว่าร้อยละ 90 และที่ระดับความเข้มข้น 9-10 มีค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ 100 แสดงให้เห็นว่าที่ความเข้มข้นนี้ด้วยาด็อกซูรูบิซินสามารถเข้าทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมให้ตายได้ทั้งหมด แต่ควรจะเพิ่มจำนวนซ้ำในการทดลอง เนื่องจากค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มีค่าที่ต่ำมาก ที่ระดับความเข้มข้น 11 มีค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ประมาณ 90 แต่มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายเซลล์มะเร็งได้น้อยกว่าความเข้มข้นระดับที่ 9-10 ส่วนความเข้มข้นที่ระดับ 12 คือหลุมที่ไม่ได้ใส่อนุภาคเพชรนาโนและยาด็อกซูรูบิซินลงไป ซึ่งมีค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์เท่ากับ 0

นำค่าจากตารางที่ 4.4 มาคำนวณหาระดับความเข้มข้นอนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาด็อกซูรูบิซินที่เป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง MCF-7 ร้อยละ 90 (IC_{90}) โดยใช้โปรแกรม GraphPad Prism 6.0 พบว่าเท่ากับระดับความเข้มข้นที่ 5.808 หรือประมาณความเข้มข้นระดับที่ 6



รูปที่ 4.5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นกับร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง MCF-7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.5 แสดงถึงระดับความเข้มข้นของอนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาด็อกซูรูบิซินที่ความเข้มข้นระดับที่ 6 พบว่าอนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาด็อกซูรูบิซิน สามารถเข้าทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมได้มากถึงร้อยละ 90 ซึ่งเป็นค่าที่สูง ถึงแม้ว่าจะมีความเข้มข้นที่ระดับอื่นสามารถเข้าทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมได้ร้อยละ 100 ก็ตาม แต่ไม่สามารถนำค่าความเข้มข้นนั้นมาใช้งานได้ เนื่องจากค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร มีค่าที่ต่ำมากและไม่อยู่ในช่วงที่สามารถนำมาคำนวณได้ ดังนั้นจึงเลือกใช้ความเข้มข้นระดับที่ 6 เป็นระดับความเข้มข้นที่อนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาด็อกซูรูบิซินมีประสิทธิภาพสูงสุดในการเข้าทำลายเซลล์มะเร็งเต้านม

ซึ่งให้ผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองของ Man *et al.* (2014) ที่ได้ทำการสังเคราะห์อนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาดอโนรูบิซิน เพื่อเป็นการใช้ในการขนส่งยาคีโมในการรักษามะเร็งเม็ดเลือดขาวที่ดื้อยา โดยหาค่าที่เหมาะสมในการจับกันของยาดอโนรูบิซินบนอนุภาคเพชรนาโน โดยการปรับความเป็นกรด-เบส และความเข้มข้น พบว่าอนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาดอโนรูบิซิน สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษามะเร็งเม็ดเลือดขาวโดยเฉพาะอย่างยิ่งสายพันธุ์ที่ดื้อยา และให้ผลเช่นเดียวกับการทดลองของ Salaam *et al.* (2014) ได้ทำการสังเคราะห์อนุภาคเพชรนาโนที่จับกับเปปไทด์ DGEA เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการขนส่งยาด็อกซูรูบิซิน เพื่อใช้เป็นยาคีโมในการรักษามะเร็งต่อมลูกหมากระยะแพร่กระจาย แต่มีความเป็นพิษกับเซลล์ทั่วไปเนื่องจากยาไม่จำเพาะกับเซลล์เป้าหมาย พบว่า อนุภาคเพชรนาโนที่จับกับเปปไทด์ DGEA และยาด็อกซูรูบิซิน สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการฆ่าเซลล์มะเร็งได้ดีกว่าการใช้ยาด็อกซูรูบิซินเพียงอย่างเดียว โดยการเพิ่มความเข้มข้นของยาด็อกซูรูบิซินที่ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำให้ร้อยละของเซลล์ที่ถูกฆ่าสูงขึ้นจาก 2.5 เป็นร้อยละ 12 และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำให้ร้อยละของเซลล์ที่ถูกฆ่าสูงขึ้นจาก 11 เป็นร้อยละ 34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการทดลองเพื่อศึกษาอัตราส่วนความเข้มข้นที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาการจับกันระหว่างอนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาด็อกซูรูบิซิน โดยการหาปริมาณของยาด็อกซูรูบิซินอิสระที่ไม่ได้จับกับอนุภาคเพชรนาโนหลังจากการปรับ pH ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และปั่นเหวี่ยงเพื่อล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง พบว่าระดับความเข้มข้นที่ 1-4 มีสีส้มที่เข้มแสดงว่ามีปริมาณยาด็อกซูรูบิซินอิสระในส่วนใสมาก ทำให้มองเห็นเป็นสีส้มเข้มและเมื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 500 นาโนเมตร พบว่ามีค่าที่สูง ส่วนระดับความเข้มข้นที่ 5-8 มีอัตราส่วนระหว่างอนุภาคเพชรนาโนกับยาด็อกซูรูบิซินที่เหมาะสมกัน สังเกตได้จากสีของยาด็อกซูรูบิซินอิสระในส่วนใสที่อ่อนกว่าอย่างชัดเจน ดังนั้นระดับความเข้มข้นที่ 5-8 มีความเหมาะสมในการเข้าทำปฏิกิริยากันระหว่างอนุภาคเพชรนาโนกับยาด็อกซูรูบิซิน

จากนั้นนำสารละลายอนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาด็อซูรูบิซินแล้วมาเลี้ยงร่วมกับเซลล์มะเร็งเต้านมในจานเพาะเลี้ยงชนิด 24 หลุม โดยกำหนดให้หลุมที่ 12 เป็นหลุมควบคุม จากการทดลองการประเมินประสิทธิภาพของอนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาด็อกซูรูบิซินในการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านม พบว่าอนุภาคเพชรนาโนส่งเสริมให้ยาดอกซูรูบิซินทำงานอย่างมีประสิทธิภาพเพิ่มมากขึ้น ซึ่งแสดงในส่วนของผลการทดลองเรื่องการวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อเซลล์ ด้วยวิธี MTT assay เมื่อนำจานเพาะเลี้ยงเซลล์ชนิด 24 หลุมไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร โดยค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้นั้นมีค่าลดลงตามระดับความเข้มข้นที่ลดลง แสดงให้เห็นว่าอนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาด็อกซูรูบิซินสามารถเข้าทำลายเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ได้ดีที่สุดที่อัตราส่วนระหว่างยาด็อกซูรูบิซินกับอนุภาคเพชรนาโนแบบน้ำหนักต่อน้ำหนักในช่วงระดับความเข้มข้นที่ 5-8

ทำการศึกษาผลของความเข้มข้นของอนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาด็อกซูรูบิซินที่มีผลต่อการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ที่ทำการเพาะเลี้ยง เมื่อนำสารละลายอนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาด็อกซูรูบิซินแล้วมาเพาะเลี้ยงร่วมกับเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร จากนั้นนำค่าการดูดแสงที่วัดได้มาคำนวณหาร้อยละความเป็นพิษที่ 90 (IC_{90}) พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 6-8 เซลล์มะเร็งเต้านมถูกสารละลายอนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาด็อกซูรูบิซินแล้วเข้าทำลายได้ดี ทำให้มีปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตอยู่น้อย ซึ่งแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของอนุภาคเพชรนาโนที่สามารถเพิ่มการเข้าทำลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลล์มะเร็งเต้านมของยาด็อกซูรูบิซินได้ และเป็นระดับความเข้มข้นที่อนุภาคเพชรนาโนและยาด็อกซูรูบิซินเหมาะสมต่อการเข้าทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมได้ดีที่สุด เมื่อคำนวณหาร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์แล้ว พบว่ามีค่ามากกว่าร้อยละ 90 และเป็นระดับความเข้มข้นที่มีความเหมาะสมต่อการนำไปใช้หรือนำไปศึกษาต่อ ระดับความเข้มข้นที่ 9 และ 10 เป็นระดับความเข้นข้นที่คำนวณหาร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ได้ยาก ส่วนระดับความเข้มข้นที่ 11 มีค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์สูงกว่าร้อยละ 90 แต่ไม่เลือกใช้ระดับความเข้มข้นนี้ได้ เนื่องจากมีข้อมูลไม่เพียงพอ โดยไม่ทราบว่าความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ระดับความเข้มข้นต่อจากนี้มีค่าน้อยกว่าหรือสูงกว่าระดับความเข้มข้นที่ 11

จากค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ระดับความเข้มข้นที่ 7 และ 8 สังเกตได้ว่ามีร้อยละความเป็นพิษที่ 90 (IC_{90}) เช่นเดียวกันกับระดับความเข้มข้นที่ 6 แต่มีปริมาณยาด็อกซูรูบิซินอิสระอยู่น้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงที่ 500 นาโนเมตร ดังนั้นระดับความเข้มข้นที่ 7 และ 8 จึงเป็นระดับความเข้มข้นที่ดีที่สุดในการเข้าทำลายเซลล์มะเร็งเต้านม เนื่องจากใช้ปริมาณยาด็อกซูรูบิซินน้อยและมีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมได้ดี

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรทำการทดสอบระดับความเข้มข้นของอนุภาคเพชรนาโนกับยาด็อกซูรูบิซินในระดับความเข้มข้นที่ 6-8 ให้มีความละเอียดมากขึ้น

2. ควรศึกษาอนุภาคเพชรนาโนและยาด็อกซูรูบิซินกับเซลล์ไลน์มะเร็งชนิดอื่นๆ ที่ใช้ยาด็อก-ซูรูบิซินในการรักษา เพื่อลดปริมาณการใช้ยาด็อกซูรูบิซินและผลข้างเคียงที่จะเกิดขึ้นผู้ป่วย

3. หากสามารถศึกษาหาความจำเพาะของโปรตีนตัวรับที่บริเวณผนังเซลล์ของมะเร็งเต้านม (MCF-7) ได้ จะสามารถเพิ่มความจำเพาะให้กับอนุภาคเพชรนาโนที่เป็นตัวขนส่งยาด็อกซูรูบิซินให้ผ่านเข้าสู่เซลล์ได้มากขึ้น ทำให้มีความจำเพาะต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) และช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของอนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาด็อกซูรูบิซินได้ดียิ่งขึ้น ช่วยลดปริมาณการใช้ยาด็อกซูรูบิซินในการรักษา ช่วยลดผลข้างเคียงที่จะเกิดขึ้นกับผู้ป่วยที่ได้รับยาเคมีบำบัดชนิดนี้และมะเร็งชนิดอื่นๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ผศ.ดร.อุ่นเรือน เพชรวัลย์และผศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม.2555. **การเพาะเลี้ยงเซลล์สัตว์ (animal cell culture).** พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร:โครงการตำรา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

Chung, P-H., E. Perevedentseva, and C-L. Cheng. 2007. **"The Particle Size-dependent Photoluminescence of Nanodiamonds."** Surface Science 601 18 (2007):3866-3870.

Han B. Man, Hansung Kim, Ho-Joong Kim, Erik Robinson, Wing Kam Liu, Edward Kai-Hua Chow, Dean Ho. 2013. **"Synthesis of Nanodiamond– daunorubicin Conjugates to Overcome Multidrug Chemoresistance in Leukemia."** Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine (10) (2014):359–369.

Janet L. Markman, Arthur Rekechenetskiy, Eggehard Holler, Julia Y. Ljubimova. 2013. **"Nanomedicine Therapeutic Approaches to Overcome Cancer Drug Resistance."**, Advanced Drug Delivery Reviews 65 (2013): 1866–1879.

Kun Li, Hong Lai.2017. **"TanshinoneIIA Enhances the Chemosensitivity of Breast Cancer Cells Todoxorubicin through Down-regulating the Expression of MDR-related ABC Transporters."** Biomedicine & Pharmacotherapy 96 (2017): 371-377.

Mohammad Mehdi Soltan-Dallal, Majid Validi, Masoumeh Douraghi, Jalil Fallah-Mehrabadi, Leila Lormohammadi.2017. **"Evaluation the Cytotoxic Effect of Cytotoxin-Producing Klebsiella Oxytoca."** Microbial Pathogenesis 113 (2017): 416–420.

Q. Zou, Y.G. Li, L.H. Zou, M.Z. Wang.2009. **"Characterization of structures and surface states of the nanodiamond synthesized by detonation."** Materials Characterization 60.11 (2009): 1257-262.

Salaam AD, Hwang P, McIntosh R, Green HN, Jun HW, Dean D. **"Nanodiamond-DGEA peptide conjugates for enhanced delivery of doxorubicin to prostate cancer."** Beilstein J Nanotechnol. 2014; 5: 937–945.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[Online].Available:https://www.pobpad.com/มะเร็งเต้านม /โรค-a-z /มะเร็ง /มะเร็งเต้านม (3 มิถุนายน 2561).

[Online].Available:https://www.bumrungrad.com/th/horizon-cancer-treatment-center-chemotherapy-bangkok-thailand/conditions/breast-cancer (3 มิถุนายน 2561).

[Online].Available:https://haamor.com/th /บทความ/ด็อกโซรูบิซิน (3 มิถุนายน 2561).

[Online].Available:https://www.voathai.com/a/nanodiamonds-make-cancer-drugs-work-better-ss-10mar11-117773568/924511.html (3 มิถุนายน 2561).

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

1. การเตรียมอาหารสำเร็จรูป Dulbecco's Modified Eagle Medium ; DMEM

1. แบ่งอาหาร DMEM ปริมาตร 90 มิลลิลิตร ลงในขวดดูแรน ขนาด 100 มิลลิลิตร
2. เติมซีรัม Fetal Bovine ปริมาตร 10 มิลลิลิตร
3. เติม Penicillin-Streptomycin ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

2. การเตรียม Phosphate Buffer Solution (PBS)

ปริมาตรที่เตรียม 1,000 มิลลิลิตร

NaCl	8.0	กรัม
KCl	2.0	กรัม
KH_2HPO_4	0.2	กรัม
Na_2HPO_4	2.9	กรัม
Distilled Water	1,000	มิลลิลิตร

นำสารเคมีที่เตรียมไว้ใส่บีกเกอร์และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 800 มิลลิลิตร ใช้เครื่อง Magnetic Stirrer ในการกวนสารละลายให้เป็นเนื้อเดียวกัน ปรับปริมาตรสารละลายด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร ปรับค่าพีเอชให้ได้เท่ากับ 7.2-7.4 จากนั้นนำสารละลายที่เตรียมไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3. การเตรียมสารละลาย MTT (ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 มิลลิลิตร)

1. ชั่งสารละลาย MTT
2. ละลายสารละลาย MTT ด้วยสารละลาย 1% PBS 20 มิลลิลิตร
3. กรองสารละลาย MTT ด้วย membrane filter ขนาด 0.22 ไมครอน ในขวดห่อฟอยด์ให้มิดชิด
4. เก็บในตู้เย็น -4 องศาเซลเซียส

4. การนับจำนวนเซลล์มีชีวิต

ใช้สารละลายทริปแพน-บลู 0.4% และ Hemacytometer ในการนับจำนวนเซลล์ของแต่ละจานเพาะเลี้ยง จากนั้นดูดสารละลายทริปแพน-บลู 0.2 มิลลิลิตร และดูดตัวอย่างเซลล์ 0.2 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดปั่นแยกสาร ขนาด 1.5 มิลลิลิตร แล้วผสมกันโดยการใช้ปิเปตดูดขึ้นลง วางกระจกปิดสไลด์ลงบน Hemacytometer นับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (จะไม่ติดสี) ในช่องขนาด 1 ตาราง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มิลลิเมตร บริเวณตรงกลางและช่องที่มุมของตารางทั้ง 4 ช่อง จากนั้นนำไปคำนวณหาจำนวนเซลล์มีชีวิตเฉลี่ยต่อช่อง

ปริมาตรของช่อง Hemacytometer = 1 mm × 1mm × 0.1 mm

= 0.1 mm^3 = 10^4

จำนวนเซลล์เฉลี่ย = จำนวนเซลล์ที่นับได้ต่อ 5 ช่อง

= ..... เซลล์ต่อช่อง

ปริมาตรเซลล์มีชีวิตต่อมิลลิลิตร = จำนวนเซลล์เฉลี่ยต่อช่อง × ค่าความเจือจาง × 10^4

= ..... เซลล์ต่อมิลลิลิตร

5. การเตรียมเซลล์เพื่อใช้ในการทดสอบ MTT

1. นำเซลล์เพาะเลี้ยงมานับจำนวนเซลล์ด้วย Hemacytometer สังเกตเซลล์มีชีวิตจะไม่ติดสีของทริปแพน-บลู โดยนับทั้ง 5 ช่องใหญ่

2. นำค่าที่นับได้มาคำนวณหาปริมาตรเซลล์มีชีวิตต่อมิลลิลิตร ได้จากสมการ

ปริมาตรเซลล์มีชีวิตต่อมิลลิลิตร = จำนวนเซลล์เฉลี่ยต่อช่อง × ค่าความเจือจาง × 10^4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

งานทะเบียนคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
คำรับรองเล่มโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษา

วันที่ 9 เดือน กรกฎาคม พ.ศ 2561

ข้าพเจ้า นางสาวภัทรกร ครรชิตชัย รหัสประจำตัว 57050744
นางสาวมัณฑนา ฉางทรัพย์ รหัสประจำตัว 57050749

นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาชีววิทยา ขอรับรองว่าโครงงานพิเศษ เรื่อง

ชื่อภาษาไทย การประเมินประสิทธิภาพของอนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาดอกซูรูบิซินในการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านม

ชื่อภาษาอังกฤษ Efficiency evaluation of nanodiamond-doxurubicin conjugate in the treatment of breast cancer cell

ปีการศึกษา 2560

เป็นผลงานวิจัยที่มิได้คัดลอกหรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่นและได้ผ่านการตรวจสอบความซ้ำซ้อนเรียบร้อยแล้ว และได้แนบเอกสารการตรวจสอบการลอกเลียนงานวรรณกรรมที่ตรวจสอบจากเล่มโครงงานพิเศษฉบับสมบูรณ์แล้ว

โปรแกรมอักขราวิสุทธิ 0.97%

ลงชื่อ..... ลงชื่อ.....
(นางสาวภัทรกร ครรชิตชัย) (นางสาวมัณฑนา ฉางทรัพย์)
นักศึกษา นักศึกษา

ข้าพเจ้า ดร. สุทธิจิต ศรีวัชรกุล อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ได้ตรวจสอบโครงงานพิเศษของนักศึกษาข้างต้นแล้ว ขอรับรองว่าเป็นผลงานวิจัยของนักศึกษาจริงและมีเนื้อหาสมบูรณ์ จึงลงชื่อไว้เป็นหลักฐาน

ลงชื่อ.....	ลงชื่อ.....	ลงชื่อ.....
(รศ. อารี ฤทธิบูรณ์)	(ดร. สุทธิจิต ศรีวัชรกุล)	(ผศ.ดร. กฤษกร โล้เจริญรัตน์)
ประธานกรรมการ	อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้