บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมา

การพัฒนาด้านวิทยาศาสตร์สุขภาพเริ่มเป็นประเด็นที่ได้รับความสนใจมากยิ่งขึ้นเรื่อยๆ ตั้งแต่ช่วงปลายศตวรรษที่ 20 และช่วงเริ่มต้นศตวรรษที่ 21 ทั้งนี้ก็เป็นไปตามแนวทางการพัฒนาคุณภาพชีวิตของประชากรโลกให้ดียิ่งขึ้น และหนึ่งในหัวข้อการวิจัยด้านวิทยาศาสตร์สุขภาพที่ได้รับความสนใจมากคือการวิจัย และการพัฒนาที่เกี่ยวข้องกับยา

เนื่องจากยานั้นสามารถใช้ได้ทั้งด้านการป้องกัน และการบำบัดรักษาโรคต่างๆ ในกระบวนการการวิจัย และการผลิตยานั้น เริ่มตั้งแต่การสังเคราะห์หรือการสกัดสารออกฤทธิ์ต่อโรคหรือเซลล์เป้าหมาย จากนั้นจำเป็นจะต้องทดสอบประสิทธิภาพหรือผลข้างเคียงที่เกิดจากการใช้ยานั้นๆ

การทดสอบประสิทธิภาพของยานั้นโดยทั่วไปมักจะทำกับเซลล์ในหลอดทดลองก่อนที่จะนำไปทดสอบกับสัตว์หรือคนต่อไป วิธีหนึ่งที่สามารถใช้ในการบ่งชี้สมรรถนะของฤทธิ์ยาคือ การติดตามการเจริญเติบโตของเซลล์หรือเชื้อหลังจากที่ได้รับยานั้นๆ แล้ว ซึ่งสามารถทำได้โดยการเก็บตัวอย่างเซลล์หรือเชื้อในหลอดทดลองแล้วนำมาวัดจำนวนว่ามีการเปลี่ยนแปลงเท่าใด

การวัดจำนวนเซลล์นั้นมีหลายวิธี เช่น การวัดโดยใช้เฮมาไซโตมิเตอร์ (hemacytometer) ซึ่งเป็นแผ่นที่มีหลุมสำหรับการนับจำนวนเซลล์ หรือการใช้สเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ฟลูออโรมิเตอร์ (fluorometer), เครื่องวัดการกระเจิง (scattering), คูลเตอร์เคาเตอร์ (coulter counter) หรือ โฟลไซโตมิเตอร์ (flow cytometer) [1] ,[2] เป็นต้น การวัดโดยใช้เฮมาไซโตมิเตอร์นั้นสามารถทำได้ง่ายไม่จำเป็นต้องใช้เครื่องมือที่มีราคาสูง หากแต่ขั้นตอนนี้จะต้องทำโดยผู้ที่มีประสบการณ์ และใช้เวลาพอสมควรเนื่องจากเป็นการทำงานภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ซึ่งทำให้ผู้วัดล้าได้เมื่อทำการวัดเซลล์จำนวนมาก ส่วนการใช้เครื่องมือนั้นแม้ว่าจะทำได้โดยไม่เหนื่อยล้า แต่ต้องใช้เครื่องมือที่มีราคาสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้เครื่องโฟลไซโตมิเตอร์นั้นมีราคาที่ค่อนข้างสูงมาก อย่างไรก็ตามการวัดโดยวิธีที่กล่าวมาข้างต้นทั้งหมดนั้นสามารถทำได้ในลักษณะการวัดทีละตัวอย่าง (batch) เท่านั้น กล่าวคือต้องทำการสุ่มตัวอย่างออกมาวัดเป็นช่วงๆ ไม่สามารถทำการวัดแบบต่อเนื่องได้ การวัดแบบต่อเนื่องได้นั้นจะมีประโยชน์มากเนื่องจากจะสามารถเห็นการเปลี่ยนแปลงในช่วงเวลาต่างๆ ได้อย่างต่อเนื่อง ทำให้สามารถหาวิธีการจัดการและป้องกันได้ทันท่วงที

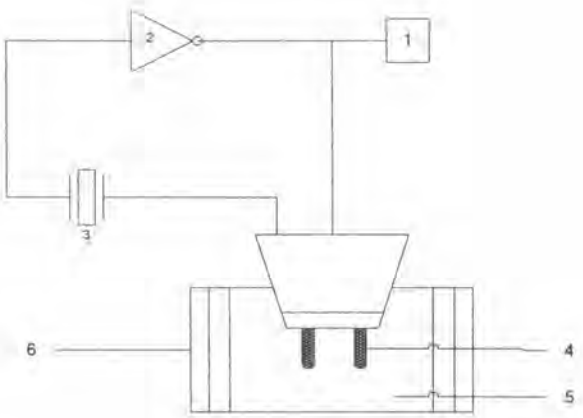
ในด้านเทคโนโลยีการวัดนั้นได้มีการนำเสนอการวัดการเปลี่ยนแปลงของมวลโดยใช้ ควอต์ซ คริสตัลไมโครบาลานซ์ (Quartz Crystal Microbalance: QCM) [3] ซึ่งสามารถใช้ในการวัดการเปลี่ยนแปลงของมวลระดับนาโนกรัมได้ หลักการในการตรวจวัดนี้ค้นพบ ในปี ค.ศ.1959 โดย Sauerbrey [7] โดยพบว่าการเปลี่ยนแปลงของมวลที่ยึดเกาะบริเวณผิวหน้าของคริสตัลมีความสัมพันธ์กับความถี่เรโซแนนซ์ และสามารถใช้การเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ในการหาความหนาของฟิล์มได้ในระดับอังสตรอม ต่อมาในปี ค.ศ. 1985 Kanazawa และ Gordon [8] ค้นพบว่าตัวตรวจวัดชนิด QCM สามารถนำมาใช้วัดการเปลี่ยนแปลงความหนืดและความหนาแน่นของของเหลวได้ QCM จึงจัดเป็นตัวตรวจวัดที่มีความหลากหลายในการประยุกต์ใช้งานในด้านไบโอเซนเซอร์ ก๊าซเซนเซอร์ ด้านเคมี ดังแสดงตัวอย่างในตารางที่ 1.1

ชื่อผู้วิจัย	เรื่องที่ทำ	ปี ค.ศ.ที่ตีพิมพ์
Nanto [9]	เซนเซอร์วัดก๊าซพิษเช่น toluene, acetaldehyde และ ammonia โดยเคลือบโพลิเมอร์ฟิล์มไว้ที่ผิว ให้ผลตอบเป็นผลการเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์สัมพันธ์กับความเข้มข้นของก๊าซ	1992
Bassam [10]	การตรวจวัดโคเคอีนโดยใช้การเคลือบผิวทองของ QCM ด้วยโปรตีน G และ แอนติบอดี้ Benzoylecgonine ซึ่งเป็นตัวจับกับโคเคอีนโดยสามารถตรวจโคเคอีนได้ในช่วงความเข้มข้น10–300 mg/l	1996
Wang [11]	การตรวจวัดชนิดของ DNA ด้วยการเปลี่ยนแปลงความถี่ของ QCM เมื่อเกิดการ Hybridization ของสาย DNA ที่ติดบน QCM กับ DNA เป้าหมาย พบว่าจะเกิดการเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ 20 Hz เมื่อใช้ความเข้มข้นของ DNA เป้าหมาย 10 ug/ml แต่ถ้าใช้ DNA ที่มีลักษณะไม่สามารถจับกับโพรบได้จะไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงความถี่	1997

ตารางที่ 1.1 แสดงตัวอย่างการประยุกต์ใช้งาน QCM

นอกจากการตรวจวัดในด้านต่างๆที่แสดงในตาราง 1.1 แล้วได้มีการนำเสนอแนวคิดการใช้ QCM นี้มาใช้ประยุกต์ในการวัดเซลล์ [4],[5],[6] โดยการตรวจวัดปริมาณเซลล์สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 รูปแบบคือ

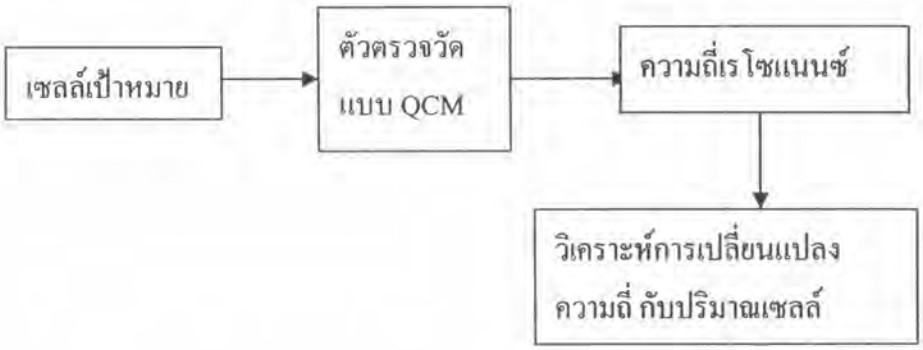
1.วิธีวัดจำนวนเซลล์โดยอ้อม [4] ใช้หลักการเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์เมื่อค่าความจุไฟฟ้า และค่าความนำไฟฟ้าของสารละลายเปลี่ยนไปเนื่องจากมีจำนวนเซลล์มากขึ้น วิธีนี้สามารถใช้อยู่ได้ในขอบเขตที่จำกัดกล่าวคือ ค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายจะต้องมีค่าที่ไม่ต่ำมากเพราะทำให้เกิดการลัดวงจรจะส่งผลต่อความถูกต้องในการวัด



รูปที่ 1.1 วิธีการตรวจปริมาณเซลล์ด้วยวงจรออสสิเลต 1) เครื่องนับความถี่ 2) ไอซีทีทีแอล 3) คริสตัล 4) อิเล็กโทรด 5) สารละลายที่มีเซลล์อยู่ 6) ระบบควบคุมอุณหภูมิ

2.วิธีวัดจำนวนเซลล์โดยตรง [5],[6] ใช้หลักการเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ ตามปริมาณเซลล์ที่มาเกาะบริเวณผิวหน้าของคริสตัล

ในวิทยานิพนธ์นี้ใช้วิธีตรวจวัดจำนวนเซลล์ด้วยตัวตรวจวัดแบบ QCM โดยการวัดการเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์อันเนื่องจากการเกาะของเซลล์บนผิวของคริสตัล เนื่องจากวิธีนี้สามารถทำได้อย่างต่อเนื่อง สะดวก และสามารถประยุกต์ใช้กับงานวิจัยด้านการทดสอบยา เนื่องจากในการผลิตยาในแต่ละครั้งต้องมีการทดสอบยากับเซลล์เป้าหมายจำนวนมาก การวัดจำนวนเซลล์ที่เกิดปฏิกิริยากับยาด้วย QCM สามารถประเมินได้จากการเกาะของเซลล์บนผิวของคริสตัล อีกทั้งสามารถตรวจจำนวนเซลล์ได้อย่างต่อเนื่องตลอดเวลา นอกจากนี้ยังสามารถใช้กับสารทดสอบที่มีปริมาณเพียงเล็กน้อยได้อีกด้วย จากประโยชน์ที่กล่าวมานี้ QCM จึงเป็นหนทางเลือกใหม่ ที่น่าสนใจสำหรับการตรวจวัดจำนวนเซลล์ในงานด้านการวิจัยยา



รูปที่ 1.2 บล็อกไดอะแกรมแสดงลักษณะการตรวจวัดจำนวนเซลล์โดยใช้ QCM

1.2วัตถุประสงค์ของวิทยานิพนธ์

1) ออกแบบและประดิษฐ์ระบบวัดจำนวนเซลล์โดยใช้ตัวตรวจวัดแบบ QCM
2) ประเมินความสามารถของระบบในการวัดจำนวนเซลล์

1.3ขอบเขตของวิทยานิพนธ์

1) ออกแบบและประดิษฐ์ระบบวัดปริมาณเซลล์โดยใช้ QCM
2) ออกแบบและประดิษฐ์ห้อง (chamber) สำหรับใส่เซลล์
3) ทดลองวัดหาความสัมพันธ์ของปริมาณเซลล์กับความถี่ที่เปลี่ยนแปลง

1.4 ขั้นตอนการดำเนินงาน

1) ศึกษาหลักการทำงานของระบบวัดโดยใช้ตัวตรวจวัด QCM
2) ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความถี่ของ QCM
3) วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของ QCM เมื่อเทียบกับทฤษฎี
4) ออกแบบและประดิษฐ์ห้อง (chamber) สำหรับใส่เซลล์
5) ประดิษฐ์เครื่องตรวจวัดจำนวนเซลล์
6) ทดสอบการทำงานของระบบที่ประดิษฐ์ขึ้น
7) สรุปผลและวิเคราะห์ข้อดีและข้อเสียของ QCM เมื่อใช้วัดปริมาณเซลล์

1.5ประโยชน์ที่คาดว่าได้รับ

1) เป็นแนวทางใหม่สำหรับการตรวจวัดเซลล์ ด้วยวิธีที่ง่าย และสามารถตรวจการเจริญเติบโตได้อย่างต่อเนื่องในเวลาจริง (real time)
2) สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในด้านการแพทย์ เช่น การตรวจความต้านทานของเซลล์ กับยาต่างๆ