

รายงานผลงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการวิจัย

การศึกษาภาวะเซลล์เครียดในเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนนิวเคลียสหลังจากฉายรังสีโดยกระบวนการถ่ายเอกซเรย์ซ้ำ

Study of Oxidative Stress Cells in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells after Irradiation by Repeated X-ray

โดย
อาจารย์ ณัฐพงศ์ ด่านธนวัฒน์

สนับสนุนโดย
สถาบันวิจัย มหาวิทยาลัยรังสิต
2562

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University



รายงานผลงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการวิจัย

การศึกษาภาวะเซลล์เครียดในเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนนิวเคลียสหลังจากฉายรังสีโดยกระบวนการถ่ายเอกซเรย์ซ้ำ

Study of Oxidative Stress Cells in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells after Irradiation by Repeated X-ray

โดย

อาจารย์ ณัฐพงศ์ ด่านธนวัฒน์

สนับสนุนโดย

สถาบันวิจัย มหาวิทยาลัยรังสิต

2562

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ชื่อเรื่อง: การศึกษาภาวะเซลล์เครียดในเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนนิวเคลียสหลังจากฉายรังสีโดยกระบวนการถ่ายเอกซเรย์ซ้ำ
ผู้วิจัย: อาจารย์ ณัฐพงศ์ ด่านธนวัฒน์
สถาบัน: คณะรังสีเทคนิค มหาวิทยาลัยรังสิต

ปีที่พิมพ์: 2562

สถานที่พิมพ์: มหาวิทยาลัยรังสิต

แหล่งที่เก็บรายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์: มหาวิทยาลัยรังสิต

จำนวนหน้างานวิจัย: 55 หน้า

คำสำคัญ: ภาวะเซลล์เครียด, เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนนิวเคลียส, รังสีเอกซ์, การถ่ายเอกซเรย์ซ้ำ, การฉายรังสีเลือดขาวชนิดโมโนนิวเคลียส

ลิขสิทธิ์: มหาวิทยาลัยรังสิต

บทคัดย่อ

การใช้เอกซเรย์ในทางการแพทย์นั้นเป็นประโยชน์สำหรับการวินิจฉัยโรค แต่การถ่ายเอกซเรย์ซ้ำส่งผลให้ผู้ป่วยเสียเวลาและได้รับรังสีเพิ่มขึ้น ในงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาภาวะเซลล์เครียดในระดับเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดียวหลังจากการถ่ายเอกซเรย์ซ้ำ โดยในงานวิจัยนี้ได้เจาะเลือดจากอาสาสมัครสุขภาพดี และทำการแยกเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนนิวเคลียสโดยเทคนิคการปั่นเหวี่ยงและเปรียบเทียบภาวะเซลล์เครียดที่เกิดจากการถ่ายเอกซเรย์ซ้ำ ที่ระยะเวลา 1, 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมงหลังจากการฉายรังสี

ผลการทดลองแสดงได้เห็นถึงระดับของภาวะเซลล์เครียดโดยดูจากระดับของดีซีเอฟที่เกิดขึ้น พบว่าระดับของดีซีเอฟจะลดลงหลังจากที่ฉายเอกซเรย์ที่ 1 ไปจนถึง 96 ชั่วโมง แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มไม่ฉายรังสีเทียบกับกลุ่มฉายรังสีทั้งฉายรังสีครั้งเดียวและฉายรังสีซ้ำ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รวมถึงกระบวนการตายแบบอะพอพโทซิสโดยใช้ชุดคิทแอนเน็กซ์ซินไฟว์ฟิฟซี จะพบระดับของการตายเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาเปลี่ยนไปและพบว่ากลุ่มฉายรังสีมีการตายแบบอะพอพโทซิส ที่แตกต่างจากกลุ่มไม่ฉายรังสี สรุปผลจากทดลอง พบว่าการฉายรังสีโดยเฉพาะการฉายรังสีซ้ำอาจจะเพิ่มความเสี่ยงต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเซลล์ ในด้านของภาวะเซลล์เครียดและส่วนหนึ่งอาจเป็นการกระตุ้นการตายแบบอะพอพโทซิสภายในเซลล์

Title: Study of Oxidative Stress Cells in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells after Irradiation by Repeated X-ray
Researcher: Nuttapong Danthanavat
Institution: Faculty of Radiologic Technology, Rangsit University
Year of Publication: 2020
Publisher: Rangsit University
Sources: Rangsit University
No. of pages: 55 pages
Keywords: Oxidative stress, Peripheral blood mononuclear cells, X-ray, Repeated x-ray, Irradiation
Copyrights: Rangsit University

Abstract

The use of X-rays in medicine are useful for diagnosis. But the repeated x-ray can result in increased time and radiation exposure. This research aims to study oxidative stress cells in peripheral blood mononuclear after the repeated x-ray. In this research, the whole blood were drawn from healthy volunteers. The freshly PBMCs were collected by density gradient technique and were compared oxidative stress cells caused by the repeated x-ray at intervals time of 1, 24, 48, 72 and 96 hours after radiation.

The results of the experiment were showed that the stress cells were revealed by the stress of the DCF were decreased after the 1 hours for 96 hours, but the comparison between the non-irradiated group compared to the radiation including the single x-ray and repeated x-ray. There was a statistically significant difference. Including apoptosis, the level of annexin V FITC were increased over time and showed that the radiation group had more apoptosis. In the conclusions from the experiment were found that the irradiation, especially repeated x-ray may increase the risk of the cellular changes in terms of oxidative stress cell and it may be induced cells apoptosis.

กิตติกรรมประกาศ

ทางคณะวิจัยขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ มานัส มงคลสุข ที่ปรึกษาเป็นอย่างสูง ที่ได้ให้คำแนะนำในการเริ่มต้นงานวิจัย ให้คำปรึกษา ข้อเสนอแนะ และให้ความรู้เกี่ยวกับงานวิจัย และ

ขอขอบพระคุณคณาจารย์และภาควิชารังสีเทคนิค มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ที่อำนวยความสะดวกทั้งสถานที่และอุปกรณ์ เครื่องมือ ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณคณาจารย์คณะรังสีเทคนิคทุกท่านที่ได้ให้คำแนะนำ ติชม และให้กำลังใจตลอดระยะเวลาในการทำวิจัย

ณัฐพงศ์ ด่านธนวัฒน์

หัวหน้าโครงการวิจัย

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	**ก**
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	**ข**
กิตติกรรมประกาศ	**ค**
สารบัญ	**ง**
สารบัญตาราง	**จ**
สารบัญรูปภาพ	**ฉ**
สารบัญแผนภูมิ	**ช**
บทที่ 1 บทนำ	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	1
สมมุติฐานของการวิจัย	1
ขอบเขตของการวิจัย	2
กรอบแนวคิดในการวิจัย	2
นิยามศัพท์เฉพาะ	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
บทที่ 2 เอกสารและผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
บทที่ 3 ระเบียบวิธีวิจัย	15
ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง	15
เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย	15
การเก็บรวบรวมข้อมูล	19
การวิเคราะห์ข้อมูล	19
บทที่ 4 ผลการทดลอง และอภิปรายผล	20
บทที่ 5 สรุป วิจารณ์ และข้อเสนอแนะ	38
สรุป	38
วิจารณ์	39
ข้อเสนอแนะ	40
เอกสารอ้างอิง	41
ภาคผนวก	43
ประวัติผู้วิจัย	

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1. เทคนิคในการตั้งค่าเอกซเรย์และปริมาณรังสี 18
2. เปอร์เซ็นต์ในการติด 2'-7'dichlorofluorescin diacetate (DCFH-DA) 25
3. เปอร์เซ็นต์ในการติด annexin V-FITC (early apoptotic) 30
4. เปอร์เซ็นต์ในการติด annexin V-FITC (necrotic) 34

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

สารบัญรูป

ภาพที่		หน้า
	1. ลักษณะการถ่ายภาพเอกซเรย์ทั่วไป (general x-ray)	1
	2. ภาพถ่ายเอกซเรย์ทวงอก (chest x-ray)	2
	3. การถ่ายภาพเอกซเรย์ทรวงอก (Chest x-ray positioning)	3
	4. Show human diseases where oxidative stress plays direct or indirect role in pathophysiology of disease	4
	5. ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เมื่อถูกสารอนุมูลอิสระเข้าทำลาย	5
	6. อธิบายการเปลี่ยนของ DCFH-DA จนได้ผลิตภัณฑ์เป็น DCF	6
	7. Mechanism of action of DCHF-DA	11
	8. ระเบียบวิธีวิจัยในการทดลอง	16
	9. เทคนิคสำหรับการถ่ายเอกซเรย์	18
	10. (a) ลักษณ์เซลล์โดยกล้อง inverted microscope (20x) (b) Dotpot แสดงลักษณะของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดียว	20
	11. (a) Cell dead (b) ลักษณะของ Cell dead โดย inverted microscope	21
	12. Cell morphology ที่ 1 ชั่วโมง	21
	13 Cell morphology ที่ 24 ชั่วโมง	22
	14. Cell morphology ที่ 48 ชั่วโมง	22
	15. Cell morphology ที่ 72 ชั่วโมง	22
	16. Cell morphology ที่ 96 ชั่วโมง	23
	17. Cell morphology	23
	18. (a) Dotpot แสดงกลุ่มเซลล์ small cells, lymphocytes และ monocytes (b) Histogram การติด DCHF ในกลุ่มไม่ฉายรังสี (c) Histogram การติด DCHF ในกลุ่ม single x-ray (d) Histogram การติด DCHF ในกลุ่ม repeated x-ray	24
	19. (a) Dotpot แสดง cell population ในกลุ่มเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดียว (b) Biparametric dotpot แสดง Quadrant (Q1-4) ของเซลล์ โดยใน Q3: early apoptotic cells และ Q2: necrotic cells	29
	20. (a) Dotpot แสดง cell population ในกลุ่มเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดียว (b) Biparametric dotpot แสดง Quadrant (Q1-4) ของเซลล์ โดยใน Q2: necrotic cells	33

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญแผนภูมิ

แผนภูมิที่ หน้า

1. แสดงเปอร์เซ็นต์ DCFH ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในกลุ่มควบคุมไม่ฉายรังสี 26
2. แสดงเปอร์เซ็นต์ DCFH ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในกลุ่มฉายรังสี 1 ครั้ง (single x-ray) 26
3. แสดงเปอร์เซ็นต์ DCFH ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในกลุ่มฉายรังสีซ้ำ 1 ครั้ง (repeated x-ray) 27
4. แสดงเปอร์เซ็นต์ DCFH ที่ระยะเวลาต่าง ๆ 28
5. แสดงเปอร์เซ็นต์ early apoptotic ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในกลุ่มควบคุม (ไม่ฉายรังสี) 31
6. แสดงเปอร์เซ็นต์ early apoptotic ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในการฉายรังสี 1 ครั้ง (single x-ray) 31
7. แสดงเปอร์เซ็นต์ early apoptotic ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในการฉายรังสีซ้ำ 1 ครั้ง (repeated x-ray) 32
8. แสดงเปอร์เซ็นต์ early apoptotic ที่ระยะเวลาต่าง ๆ 32
9. แสดงเปอร์เซ็นต์ necrotic ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในกลุ่มควบคุม (ไม่ฉายรังสี) 35
10. แสดงเปอร์เซ็นต์ necrotic ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในการฉายรังสี 1 ครั้ง (single x-ray) 35
11. แสดงเปอร์เซ็นต์ necrotic ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในการฉายรังสีซ้ำ 1 ครั้ง (repeated x-ray) 36
12. แสดงเปอร์เซ็นต์ necrotic ที่ระยะเวลาต่าง ๆ 36

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การใช้รังสีเอกซเรย์ในทางการแพทย์ นอกจากจะมีข้อดีในด้านการช่วยวินิจฉัยโรคต่าง ๆ ก่อยังมีผลเสียที่เกิดจากการใช้เอกซเรย์ โดยส่วนมากพบว่ารังสีมีผลโดยตรงต่อระบบร่างกายของสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะในระดับโมเลกุลซึ่งอาจความเสียหายภายใน DNA และกระตุ้นให้เกิดมะเร็งได้เมื่อได้รับรังสีในปริมาณที่มากพอและในระยะเวลานาน (Little, 2000) ซึ่งปัจจัยเกี่ยวกับการใช้เอกซเรย์ในระยะเดิม ๆ ซ้ำ ๆ กัน ยิ่งมีผลต่อระบบร่างกายของสิ่งมีชีวิตโดยตรง

งานวิจัยในครั้งนี้จึงมีจุดมุ่งหมายที่จะศึกษาผลกระทบจากการใช้เอกซเรย์ ซึ่งปัญหาสำหรับการถ่ายเอกซเรย์แบบธรรมดาหรือ plan film พบว่าถ้าภาพเอกซเรย์มีรายละเอียดและคุณภาพไม่เพียงพอต่อการวินิจฉัย อาจจะต้องมีการถ่ายเอกซเรย์ซ้ำในท่านั้น ซึ่งผลจากการฉายเอกซเรย์แบบนี้ทำให้ร่างกายได้รับปริมาณรังสีโดยไม่จำเป็น และอาจมีผลระดับเซลล์ที่อาจทำให้เซลล์เกิดภาวะเครียดและกระตุ้นเกิดภาวะโรคต่างๆ เช่น ความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็ง ปัญหาดังกล่าวผู้วิจัยจึงต้องการศึกษาภาวะเซลล์เครียดในเซลล์โมโนนิวเคลียสของอาสาสมัครสุขภาพดีหลังจากฉายรังสีโดยกระบวนการถ่ายเอกซเรย์ซ้ำ

วัตถุประสงค์การวิจัย

ศึกษาวิจัยการถ่ายเอกซเรย์ซ้ำในทางรังสีวินิจฉัยทางการแพทย์ โดยเฉพาะการถ่ายเอกซเรย์ทรวงอก (chest x-ray) ซึ่งพบอุบัติการณ์ในระดับสูงกว่าการถ่ายเอกซเรย์ส่วนอื่น เนื่องจากภาพเอกซเรย์ทรวงอกไม่ได้คุณภาพเนื่องจากทรวงอกมีการเคลื่อนไหวจากการหายใจ งานวิจัยนี้จึงต้องการศึกษาผลของรังสีต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนนิวเคลียส ในแง่การเปลี่ยนแปลงภาวะเครียดระดับเซลล์ (oxidative) ในระดับห้องทดลอง (in vitro) โดยทำเฉพาะในอาสาสมัครสุขภาพแข็งแรงเพื่อควบคุมปัจจัยทางด้านสุขภาพ และอาจมีการต่อยอดเพื่อศึกษาในเซลล์ของผู้ที่มีสภาวะโรคที่เข้ารับบริการทางรังสีวินิจฉัย โดยข้อสรุปจากการวิจัยนี้จะเกิดประโยชน์ในทางแพทย์ สำหรับการวางแผนการรักษาและการติดตามรอยโรคในงานทางด้านรังสี

สมมุติฐานของการวิจัย

รังสีเอกซเรย์ในทางแผนกรังสีวินิจฉัยที่ใช้ในการแพทย์ เมื่อมีการถ่ายเอกซเรย์ซ้ำ ปริมาณรังสีที่ได้รับมากกว่าเดิมจะมีผลต่อระดับการเปลี่ยนแปลงภาวะเครียดระดับเซลล์ (oxidative) ของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนนิวเคลียส ที่เก็บจากเลือดหรือไม่ และถ้ามีจะส่งต่อความเสี่ยงต่อผู้ป่วยที่ได้รับการถ่ายเอกซเรย์ซ้ำมากน้อยเพียงใด

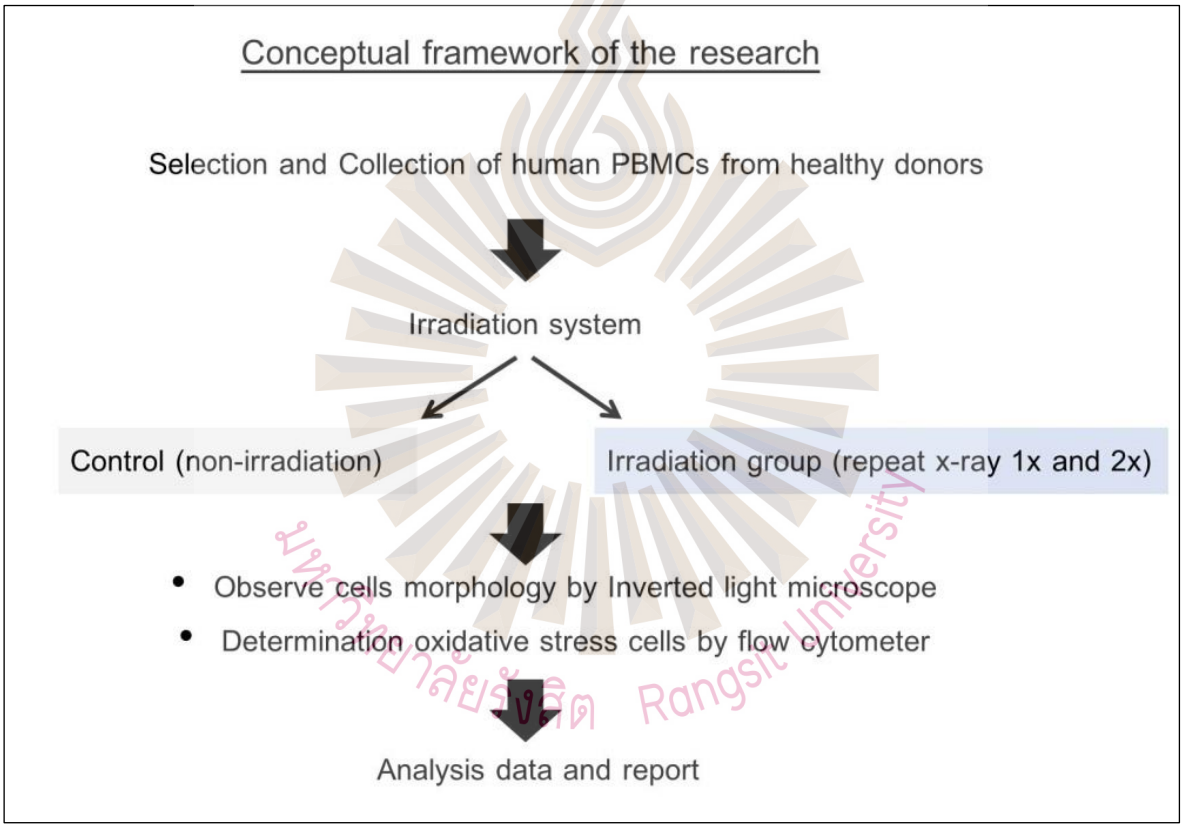
ขอบเขตของการวิจัย

ด้านเนื้อหา: เนื้อหางานวิจัยมีความเกี่ยวข้องกับรังสีชีววิทยาที่ดูผลของปริมาณรังสีจากการถ่ายซ้ำในการถ่ายภาพรังสีวินิจฉัยต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนนิวเคลียส (PBMCs) ว่าเปลี่ยนแปลงหรือแตกต่างจากกลุ่ม Control อย่างไร

ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง: เป็นผู้ใหญ่สุขภาพแข็งแรงอายุระหว่าง 20-40 ปี (healthy adult volunteers) จำนวน 12 คน (ชาย 6 คน หญิง 6 คน)

ระยะเวลาที่ดำเนินการวิจัย: 12 เดือน

กรอบแนวคิดในการวิจัย



รังสีที่ใช้ในทางการแพทย์โดยเฉพาะการถ่ายภาพเอกซเรย์ทั่วไป เป็นปริมาณรังสีระดับต่ำที่ไม่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนทางกายภาพขนาดใหญ่ได้ แต่อาจมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงในระดับเซลล์ โดยงานวิจัยนี้ได้ศึกษาผลจากปริมาณรังสีที่ใช้สำหรับการถ่ายเอกซเรย์ทรวงอกและปัญหาจากการถ่ายเอกซเรย์ทรวงอกซ้ำเนื่องจากภาพที่ได้ไม่สามารถนำมาใช้วินิจฉัยได้ ส่งผลให้ผู้ป่วยอาจจะต้องได้รับปริมาณรังสีเพิ่มโดยไม่จำเป็น ซึ่งผลของรังสีดังกล่าว ถึงแม้จะเป็นระดับปริมาณรังสีที่ต่ำ แต่เมื่อดูผลกระทบระดับเซลล์จะสามารถเห็นการตอบสนองและการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ได้อย่างรวดเร็ว และสามารถทำนายสิ่งที่จะเกิดกับระบบร่างกายได้ใน

อนาคต โดยศึกษาภาวะเครียดระดับเซลล์ที่เกิดขึ้นการจากถ่ายเอกซเรย์แบบ single x-ray และ repeated x-ray โดยศึกษาจากเซลล์ของอาสาสมัครสุขภาพ และทดลองในระดับห้องทดลอง (*in vitro)* ซึ่งในงานวิจัยนี้จะทำให้ทราบถึงการตอบสนองของเซลล์ที่มีต่อการฉายรังสีรวมถึงการฉายรังสีซ้ำตลอดจนถึงได้เผยแพร่ในวารสารต่างประเทศ

นิยามศัพท์เฉพาะ

เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนนิวเคลียส	เป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวที่มีนิวเคลียสเดียว ไม่มีฮีโมโกลบิน สามารถเคลื่อนที่ได้อย่างอิสระ และไหลเวียนอยู่ในกระแสเลือด
การถ่ายเอกซเรย์ทรวงอก	หรือการตรวจเอกซเรย์ทรวงอก (chest x-ray, CXR) หรืออาจเป็นที่รู้จักในชื่อการเอกซเรย์ปอด เป็นการตรวจทางรังสีวิทยาอย่างหนึ่ง โดยถ่ายภาพทรวงอกด้วยรังสีเอกซ์ ใช้ในการตรวจวินิจฉัยภาวะต่าง ๆ เกี่ยวกับทรวงอก อวัยวะภายใน และโครงสร้างข้างเคียง การถ่ายภาพรังสีทรวงอกเป็นการถ่ายภาพรังสีที่ทำบ่อยที่สุดอย่างหนึ่ง และช่วยในการวินิจฉัยโรคและภาวะต่าง ๆ ได้หลายอย่าง
รังสีวินิจฉัย	สาขาหนึ่งที่ส่วนใหญ่จะเกี่ยวข้องกับการสร้างภาพในส่วนต่าง ๆของร่างกายเพื่อใช้ในการวินิจฉัยโรคโดยอาศัยเครื่องมือพิเศษต่าง ๆในทางการแพทย์โดยเฉพาะการใช้ รังสีเอกซ์ (x-ray)
ภาวะเซลล์เครียด	ภาวะที่มีอนุมูลอิสระมากเกิน แต่ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระไม่เพียงพอ และส่งผลให้เกิดการทำลายดีเอ็นเอ โปรตีน ไขมัน และโมเลกุลอื่น ๆ
รังสี	พลังงานที่แผ่มาจากแหล่งหนึ่งไปยังอีกแหล่งหนึ่งซึ่งอาจสามารถทะลุผ่านวัตถุชนิดต่าง ๆได้

มหาวิทยาลัยพายัพ Payap University

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

การศึกษาวิจัยนี้จะทำให้ทราบถึงการเปลี่ยนแปลงภาวะเครียดระดับเซลล์ (oxidative) เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนนิวเคลียสจากอาสาสมัครสุขภาพดีหลังจากทดลองการถ่ายเอกซเรย์ซ้ำ ซึ่งจะทำให้เราทราบถึงความเสี่ยงของการใช้เอกซเรย์ซ้ำในทางการแพทย์ และข้อสรุปจากงานวิจัยนี้จะช่วยเพิ่มเติมในส่วนงานวิจัยที่ผ่านมาเกี่ยวข้องกับการถ่ายเอกซเรย์ซ้ำ ที่มีการศึกษาเฉพาะการเก็บข้อมูลต่าง ๆ เพื่อนำมาลดอัตราภาพเอกซเรย์ที่ไม่เหมาะต่อการวินิจฉัย รวมถึงการควบคุมคุณภาพภาพถ่ายทางรังสีเพื่อนำมาพัฒนางานรังสี โดยข้อแตกต่างและประโยชน์จากงานวิจัยนี้จะทำให้ทราบถึงผลที่อาจจะมีต่อระดับเซลล์ ซึ่งเป็นระดับที่สามารถบอกการเปลี่ยนแปลงได้ชัดเจนถึงผลกระทบต่อร่างกาย ข้อสรุปจากงานวิจัยนี้จึงเป็นประโยชน์ต่องานทางรังสีและผู้ที่เข้ารับบริการทางรังสี รวมถึงเป็นประโยชน์ต่อทางคณะเองที่จะสามารถนำงานวิจัย เผยแพร่ในวารสารต่างประเทศ และความรู้ในการวิจัยในครั้งนี้ สามารถนำไปต่อยอดในการศึกษาผลจากใช้ปริมาณรังสีที่ระดับสูงกว่าการถ่ายเอกซเรย์ทั่วไปเช่น การตรวจทางเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ (computer tomography) หรือแม้แต่ในทางรังสีรวมรักษา (interventional radiology) ที่อาจจะมีการใช้รังสีเพื่อถ่ายซ้ำ เพื่อให้ได้ภาพเอกซเรย์ที่เหมาะสมสำหรับการวินิจฉัยทางการแพทย์ ซึ่งล้วนแต่มีผลต่อร่างกายในระดับเซลล์

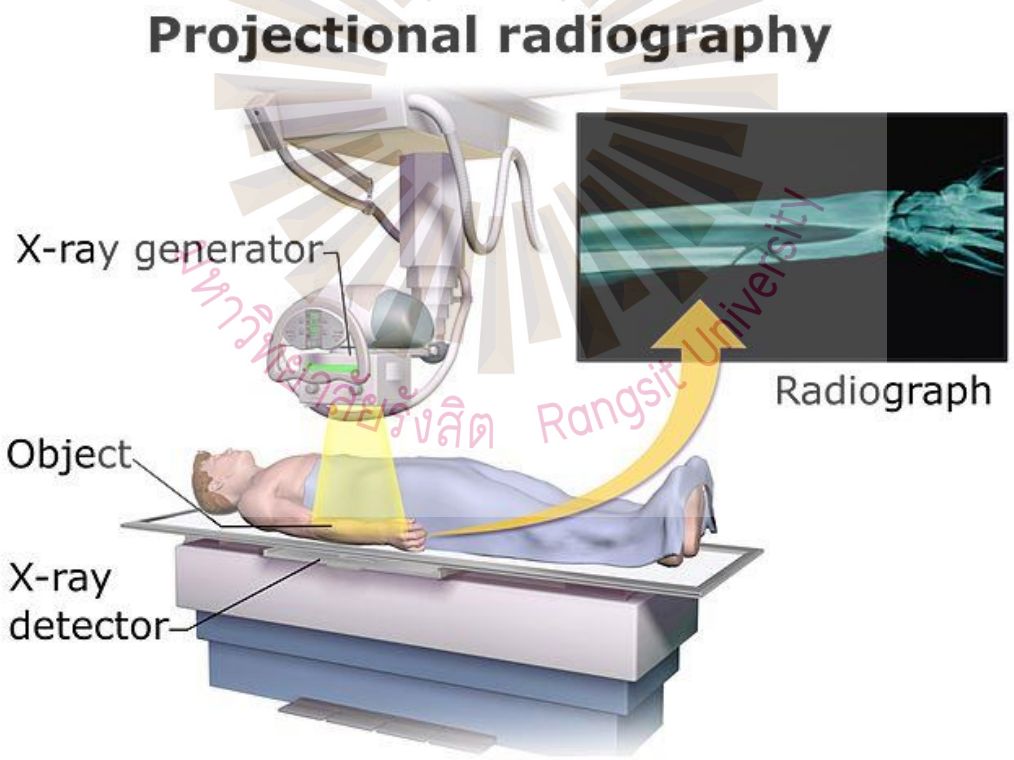
มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. แนวคิดและทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับรังสี

การใช้รังสีทางการแพทย์ดำเนินมาไม่ต่ำกว่า 100 ปี ทั้งในด้านการวินิจฉัยโรคและรักษาโรค โดยเริ่มจากการใช้เครื่องมือและวิธีการง่ายๆ จนปัจจุบันมีการใช้เทคนิคที่ซับซ้อนมากขึ้น เป็นที่ยอมรับว่ารังสีมีประโยชน์มหาศาล แต่ก็มีโทษต่อมนุษย์อย่างมากด้วย ในการใช้รังสีทางการแพทย์ ได้ถือหลักว่ารังสีให้ประโยชน์แก่มนุษย์คุ้มค่ากว่าความเสี่ยงจากอันตรายของรังสี

การใช้รังสีทางการแพทย์แบ่งได้เป็น 3 สาขา ได้แก่ รังสีวินิจฉัย เวชศาสตร์นิวเคลียร์ และรังสีรักษา โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ในทางรังสีวินิจฉัยเป็นการใช้รังสีเพื่อวิเคราะห์โรคต่าง ๆ ได้รวดเร็วและถูกต้อง แต่ก่อพบว่าการใช้รังสีอาจจะก่อให้เกิดความเสี่ยงในการเกิดโรคเช่น โรคมะเร็ง (Little, 2000) รวมถึงไปถึงอาจกระตุ้นให้เกิดภาวะเซลล์เครียด ซึ่งขึ้นอยู่กับปริมาณรังสีและระยะเวลาในกระบวนการตรวจที่มีการใช้รังสี โดยเฉพาะการถ่ายเอกซเรย์ทั่วไปหรือ general x-ray ดังภาพที่ 1



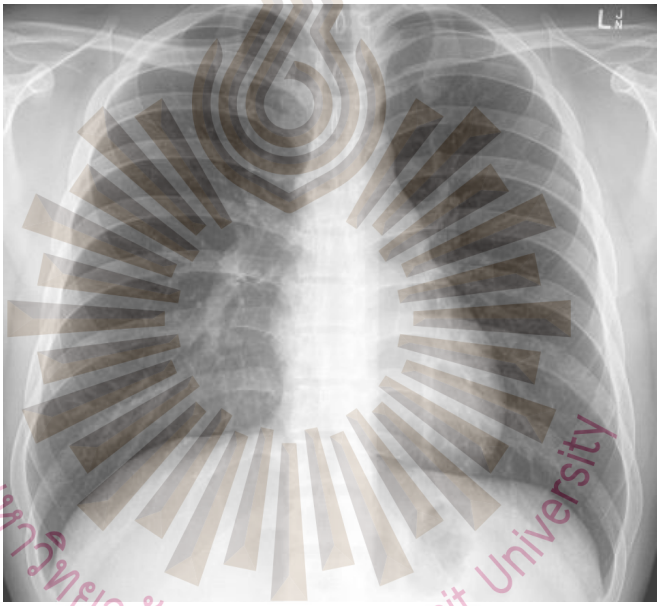
ภาพที่ 1 ลักษณะการถ่ายภาพเอกซเรย์ทั่วไป (general x-ray)

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

2. การถ่ายเอกซเรย์ทรวงอก

การถ่ายภาพรังสีทรวงอก (chest radiograph) หรือการตรวจเอกซเรย์ทรวงอก (chest x-ray, CXR) โดยในทางการแพทย์จะเรียกกันว่า การเอกซเรย์ปอด โดยเป็นการตรวจขั้นพื้นฐานของทางรังสีวิทยา (radiology) ซึ่งการถ่ายเอกซเรย์ปอดนั้น เป็นการใช้รังสีพลังงานต่ำเพื่อสร้างรูปถ่ายภายในทรวงอก รวมถึงอวัยวะภายในเช่น ปอด (lung) หัวใจ (heart) หลอดเลือด (vessel) รวมถึง กระดูกซี่โครง (rib) และในทางการแพทย์ยังใช้การถ่ายเอกซเรย์ปอดเพื่อช่วยสำหรับการวินิจฉัยโรคและภาวะรอยโรคต่าง ๆ ได้

โดยลักษณะภาพที่ได้จะมีลักษณะเป็นสีขาว และดำ ดังภาพที่ 2 โดยเป็นลักษณะเงาของอวัยวะนั้นที่รังสีวิ่งผ่าน โดยภาพสีขาวจะเป็นส่วนทึบแสงที่รังสีไม่สามารถได้ผ่าน ส่วนสีดำเป็นส่วนที่รังสีสามารถผ่านได้ดี ดังนั้นการตั้งเทคนิคในการถ่ายเอกซเรย์ทรวงอก ยังต้องคำนึงขนาดความหนาของตัวผู้ป่วย และเลือกใช้เทคนิคเพื่อให้ได้ปริมาณรังสีที่สามารถผ่านตัวผู้ป่วยได้

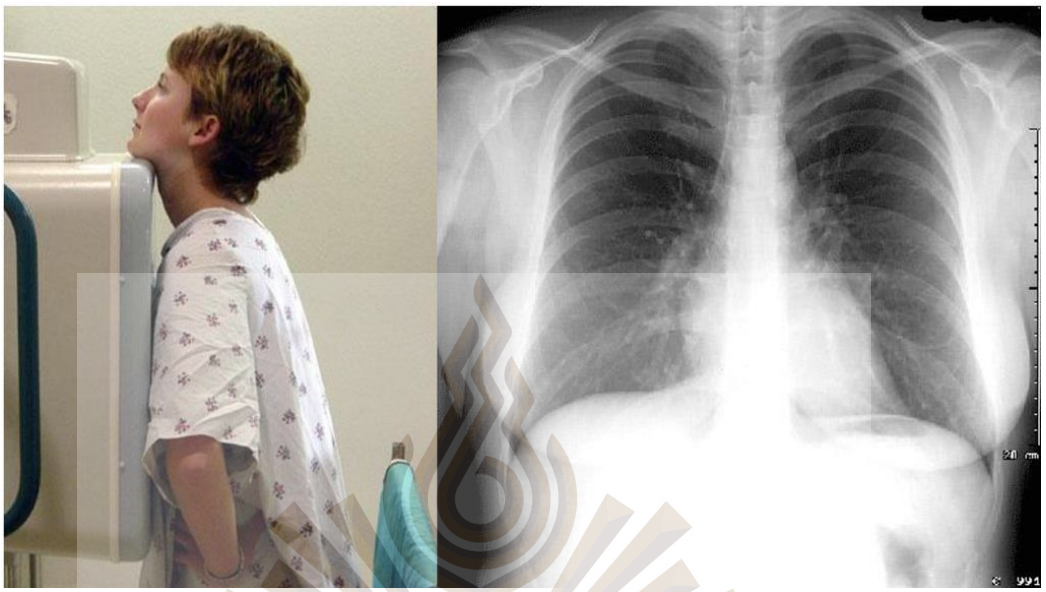


มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ภาพที่ 2 ภาพถ่ายเอกซเรย์ทวงอก (chest x-ray)

ในทางรังสีวินิจฉัย การถ่ายภาพเอกซเรย์ปอดนั้น ทำได้ด้วยการให้ผู้ป่วยยืนหันหน้าเข้าหาตัวรับภาพในท่าที่เรียกว่า posterior anterior view (PA view) ดังภาพที่ 3 จากนั้นนักรังสีการแพทย์จะหันหลอดเอกซเรย์เข้าตรงด้านหลังของผู้ป่วย และเปิดลำแสงให้คลุมส่วนของปอด โดยหลีกเลี่ยงการเปิดลำแสงให้โดนอวัยวะสำคัญส่วนอื่น โดยระยะจากหลอดเอกซเรย์ถึงตัวผู้ป่วยจะอยู่ที่ระยะ 100-180 เซนติเมตร จากนั้นผู้ป่วยต้องหายใจเข้าให้เต็มที่แล้วกลั่นใจนิ่งประมาณ 1-3 วินาที เพื่อให้ภาพเอกซเรย์ที่ออกมา ชัดเจน ไม่เบลอ ซึ่งปัญหาที่พบส่วนมากจากการถ่ายเอกซเรย์ปอด นอกจากคุณภาพของภาพไม่สามารถนำไปสามารถวินิจฉัยได้แล้ว ยังขึ้นอยู่กับการจัดท่า รวมถึงสภาพของผู้ป่วย เนื่องจากปอดเป็นและหัวใจเป็นอวัยวะที่มีการเคลื่อนไหว

ตลอดเวลา การที่ผู้ป่วยไม่สามารถกลั่นใจนิ่งได้ อาจส่งให้ภาพเอกซเรย์ปอดที่ออกมามีความเบลอไม่ชัดเจน ปัญหาดังกล่าวอาจทำให้แพทย์ผู้วินิจฉัยโรค อาจจะต้องทำการสั่งถ่ายเอกซเรย์ใหม่ ทำให้ผู้ป่วยได้รับรังสีโดยไม่จำเป็น รวมถึงเสียเวลาในการเข้ารับบริการในการตรวจได้



ภาพที่ 3 การถ่ายภาพเอกซเรย์ทรวงอก (Chest x-ray positioning)

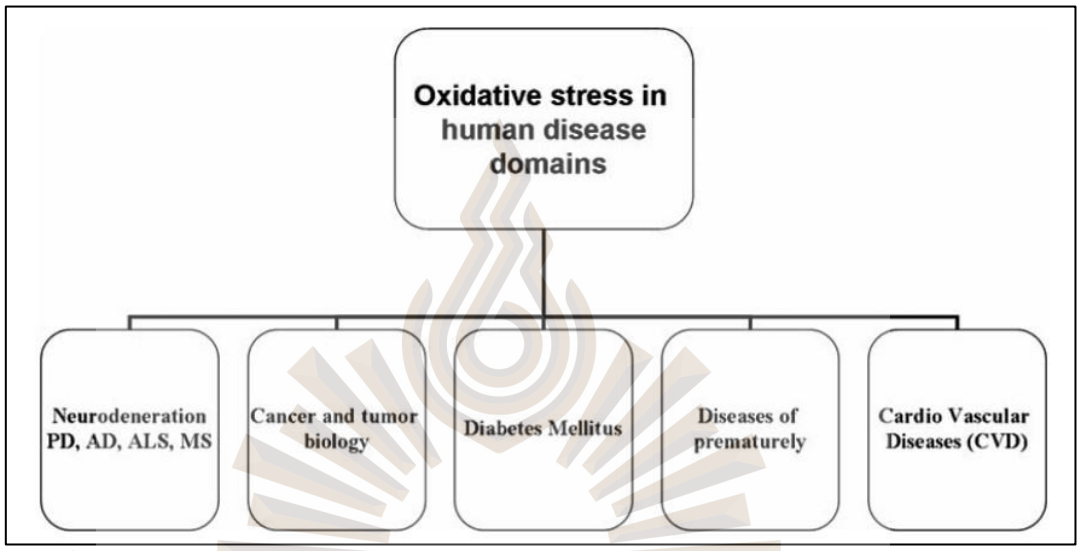
โดยทั่วไปแล้วปริมาณรังสีที่เกิดจากการตั้งเทคนิคถ่ายเอกซเรย์ปอด จะอยู่ที่ระดับ 0.4 mGy (xx) โดยสามารถวัดได้จากปริมาณรังสีที่ผิวหนัง และปริมาณรังสีที่ออกมาในแต่ละครั้งถึงตัวผู้ป่วยจะมากน้อยขึ้นอยู่กับการตั้งเทคนิคให้สูงขึ้นถ้าผู้ป่วยมีขนาดความหนาของลำตัวมาก ๆ โดยปริมาณรังสีที่มากนั้น อาจจะมีผลกระทบโดยตรงต่อตัวผู้ป่วยเอง โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ในระดับเซลล์ของตัวผู้ป่วยเอง ซึ่งการเปลี่ยนแปลงระดับเซลล์อาจจะทำให้เกิดผลกระทบตามมาในอนาคตได้ ซึ่งสิ่งต่าง ๆ เหล่านี้ล้วนเป็นความเสี่ยงของรังสีที่มีต่อผู้เข้ารับบริการทางรังสีวินิจฉัย

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

3. ปัญหาจากการถ่ายเอกซเรย์ซ้ำ

ปัญหาจากถ่ายเอกซเรย์ทั่วหรือ plan film หนึ่งสาเหตุหลักก่อคือ มีการถ่ายภาพเอกซเรย์ซ้ำ ซึ่งเกิดจากการส่งเอกซเรย์ซ้ำ (repeat film) หมายถึง การที่เจ้าหน้าที่เอกซเรย์ได้บันทึกและส่งภาพเอกซเรย์ไปยังแพทย์เจ้าของไข้แล้ว แต่ภาพเอกซเรย์ไม่มีคุณภาพพอที่แพทย์จะทำการวินิจฉัยได้ แพทย์จึงทำการสั่งเอกซเรย์ซ้ำในอวัยวะเดิมอีกครั้ง หรือ นักรังสีเทคนิคได้ทำการประเมินภาพเอกซเรย์แล้วภาพไม่ได้คุณภาพก่อนการบันทึกและส่งไปยังแพทย์เจ้าของไข้ จากปัญหาต่าง ๆเหล่านี้ได้มีการทำศึกษาและค้นคว้าที่จะหาลดสาเหตุหรือลดอัตราการถ่ายภาพเอกซเรย์ซ้ำ แต่ไม่ได้คำนึงผลที่ตามมา ซึ่งมีผลต่อระบบร่างกายที่ทำการถ่ายเอกซเรย์

โดยตรง และในงานวิจัยนี้จึงเทคนิคที่ใช้ถ่ายเอกซเรย์ทรวงอกซึ่งเป็นเทคนิคที่เกิดการถ่ายซ้ำค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับการถ่ายเอกซเรย์ส่วนอื่น ๆ (ลี้, 2018) และเป็นที่ทราบดีอยู่แล้วว่า รังสีสามารถกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงหลายๆด้าน รวมไปถึงระดับเซลล์ ซึ่งเป็นระดับที่สามารถเห็นการเปลี่ยนแปลงได้แบบ early detection และในงานวิจัยที่ผ่านมายังพบว่า ภาวะเซลล์เครียดจากการถูกกระตุ้นจากสิ่งต่าง ๆ รวมถึงปริมาณรังสีที่ใช้ในทางการแพทย์เพื่อวินิจฉัยโรคอาจมีการกระตุ้นให้เกิดภาวะเซลล์เครียด (Azzam, Jay-Gerin, & Pain, 2012) ดังภาพที่ 4

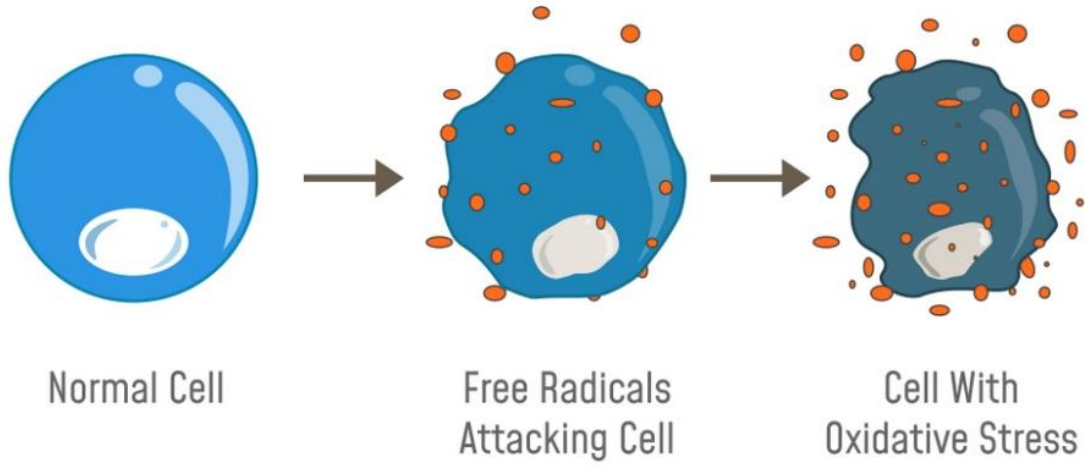


ภาพที่ 4 show human diseases where oxidative stress plays direct or indirect role in pathophysiology of disease (Uttara, Singh, Zamboni, & Mahajan, 2009)

4. การศึกษาระดับความเครียดภายในเซลล์

ภาวะเซลล์เครียด หมายถึง ภาวะที่เกิดจากการ oxidation หรือการที่มีสารอนุมูลอิสระเข้าไปทำลายระบบต่าง ๆ ภายในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต เช่น ในเซลล์ต่าง ๆ และที่เกิดปัญหามากที่สุดคือ สารอนุมูลอิสระเข้าไปทำงานระบบ ดีเอ็นเอ ซึ่งมีผลทำให้ดีเอ็นเอเปลี่ยนแปลงไปจากปกติ โดยเป็นที่ทราบดีอยู่แล้วว่า ดีเอ็นเอที่เป็นที่รวมของสารพันธุกรรมนานาชนิด อาจจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงได้นะระยะยาว และส่งผลต่อรุ่นลูก รุ่นหลานได้ และที่สาเหตุที่เกิดอีกแบบได้แก่ การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของลิพิดหรือ (lipid peroxidation) ที่เป็นองค์ประกอบหลักผนังหุ้มเซลล์ (cell membrane) ทำให้ผนังหุ้มเซลล์เกิดการเสียสภาพ ไม่สามารถควบคุมสารเข้าออกได้ตามต้องการ ส่งผลทำให้เซลล์เกิดการตายได้ ดังภาพที่ 5

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

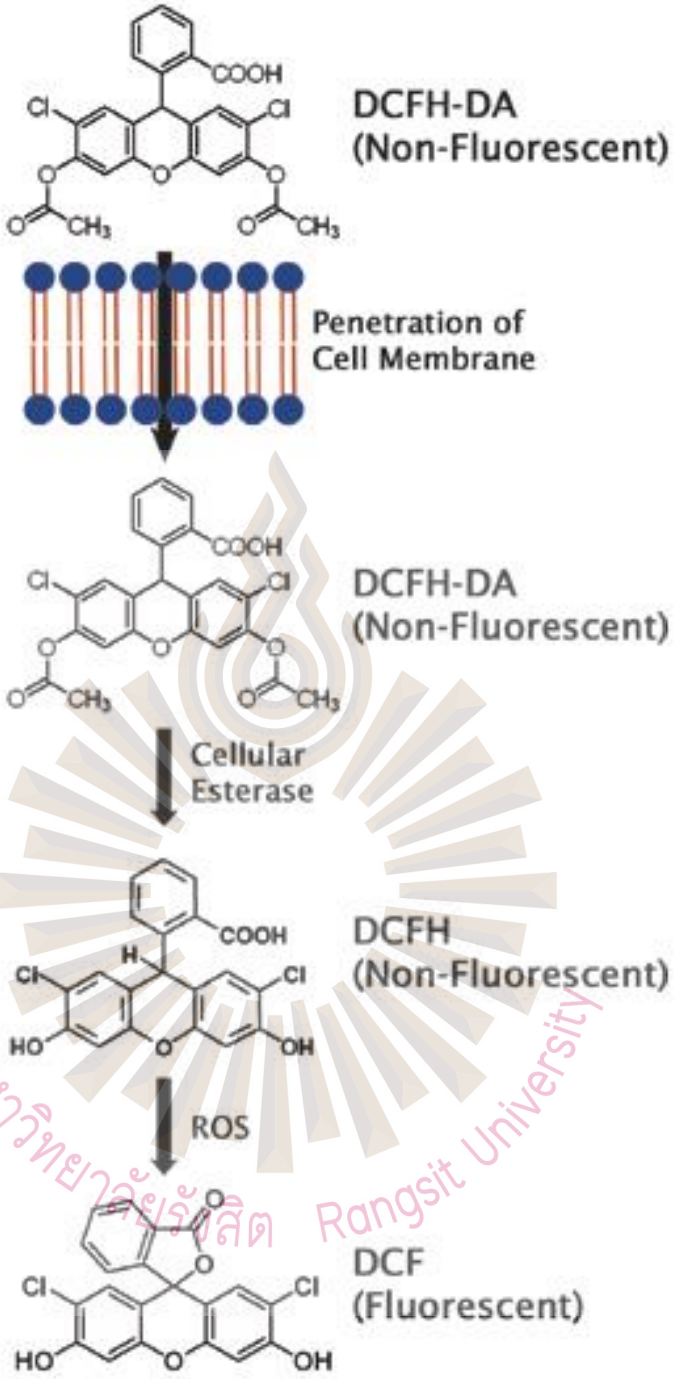


ภาพที่ 5 ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เมื่อถูกสารอนุมูลอิสระเข้าทำลาย

นอกจากนี้ภาวะเครียดจากการออกซิเดชัน หากมีเกิดขึ้นอย่างเป็นต่อเนื่อง อาจจะทำให้เกิดความเสี่ยงและเป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่าง ๆ โดยเฉพาะโรคความเสื่อมที่มีมากมายหลายโรค เช่น โรคมะเร็ง (cancer) โรคหัวใจขาดเลือด (ischemia) โรคเบาหวาน (diabetes) โรคทางระบบประสาท ภาวะเสื่อมสภาพ (neurodegenerative) โรคหลอดเลือดหัวใจ (cardiovascular disease) ข้อต่ออักเสบ (arthritis) และ อัลไซเมอร์ (Alzheimer) เป็นต้น และกระบวนการของภาระเครียดอาจทำให้เกิดการแก่ก่อนวันอันควร

ซึ่งโดยทั่วไปแล้ว ได้มีงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับผลกระทบของ สารอนุมูลอิสระในระดับห้องทดลอง (in vitro) จะใช้ตัวบ่งชี้ปริมาณของความเครียดที่เกิดขึ้นในเซลล์ โดยตัวบ่งชี้ที่นิยมกันใช้วัดปริมาณความเครียดที่เกิดขึ้นหรือผลิตภัณฑ์ของ ROS ในเซลล์จะอาศัยปฏิกิริยาออกซิเดชันของ2,7-dichloro-dihydrofluorescin diacetate (DCFH-DA) โดย ROS ซึ่งจะทำให้เกิดสารฟลูออเรสเซนต์ คือ 2,7-dichlorofluorescein (DCF) การวัดแสงฟลูออเรสเซนต์ที่เกิดขึ้นจากสาร DCF จึงใช้เป็นตัวบ่งชี้ปริมาณ ROS หรือความเครียดภายในเซลล์ ดังภาพที่ 6 โดยสามารถวัดจากเครื่องมือต่างเช่น spectrofluorometer หรือ flow cytometer

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

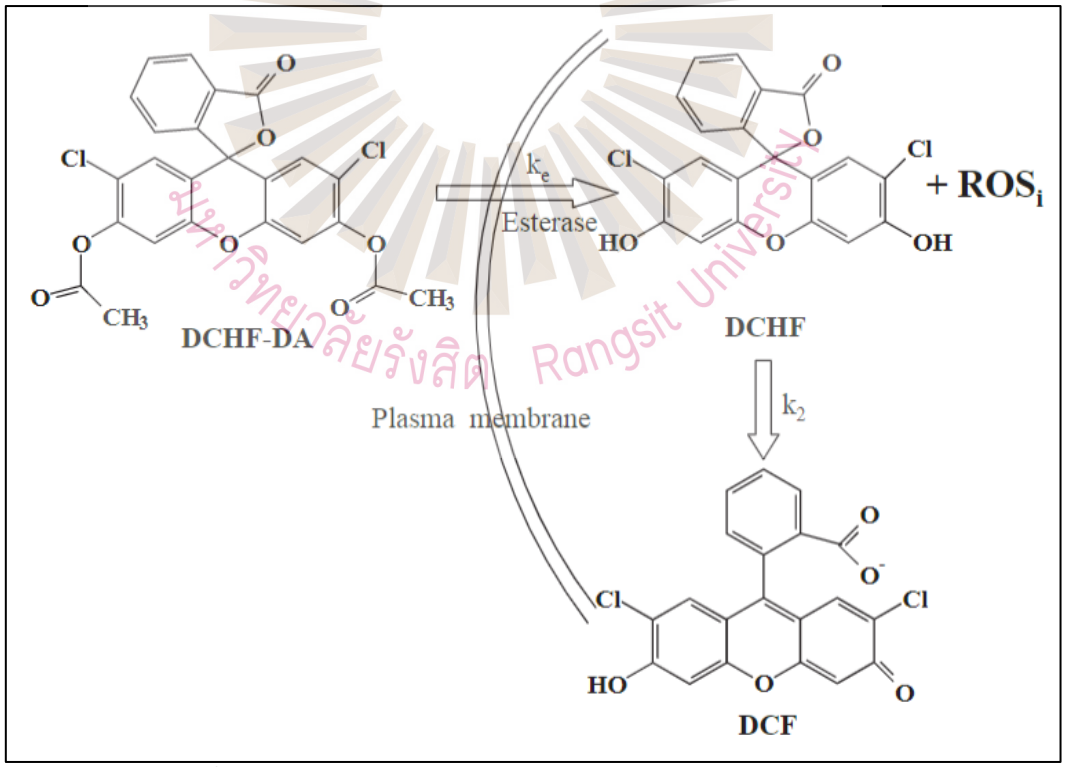


ภาพที่ 6 อธิบายการเปลี่ยนของ DCFH-DA จนได้ผลิตภัณฑ์เป็น DCF

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

5. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ซึ่งที่ผ่านงานวิจัยได้รายงานว่า ภาวะเซลล์เครียดสามารถเกิดขึ้นได้สิ่งมีชีวิต สามารถเกิดได้ที่ทุกเซลล์ของร่างกาย โดยเฉพาะ เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนนิวเคลียส (peripheral blood mononuclear cells) (Gubert et al., 2013) ผลดังกล่าวพบว่า ภาวะเซลล์เครียด (oxidative) เป็นต้นกำเนิดของการเกิดโรคต่าง ๆ มากมาย (Dalle-Donne, Rossi, Colombo, Giustarini, & Milzani, 2006) โดยเฉพาะเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนนิวเคลียส (peripheral blood mononuclear cells) เป็นส่วนประกอบที่แยกได้จากเลือดของคนทั่วไป โดยเทคนิค Density gradient technique และเป็นที่ยอมรับในระดับห้องทดลองเพื่อใช้ทดลองในงานวิจัยต่าง ๆ เพราะเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนนิวเคลียส สามารถแยกได้ง่าย จากอาสาสมัคร สามารถเก็บเซลล์ได้ในปริมาณเพียงพอต่อการทดลอง รวมถึงอาจพบส่วนประกอบของเซลล์ต้นกำเนิดชนิด peripheral blood stem cells ที่สามารถการเปลี่ยนแปลงระดับเซลล์ได้ และในการวิจัยเพื่อจะดูลักษณะการเปลี่ยนแปลงของภาวะเซลล์เครียด (oxidative) สามารถทำได้หลายกระบวนการ เช่น การใช้ DCHF-DA (2′,7′-Dichlorofluorescin diacetate) เพื่อดูลักษณะการเปลี่ยนของภาวะเซลล์เครียด (Tungjai et al., 2008) ดังกลไกการเปลี่ยนแปลงดังภาพที่ 7 อธิบายได้ว่า ระดับเซลล์ที่มีภาวะเซลล์เครียดสะสมมาก DCHF-DA จะถูกภาวะ stress เปลี่ยนแปลงไปเป็น DCF มากเช่นกัน การศึกษาวิจัยจึงสามารถอธิบายกลไก และภาวะเครียดระดับเซลล์ได้เช่นกัน



รูปภาพที่ 7 Mechanism of action of DCHF-DA (Tungjai et al., 2008)

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้จึงมีความสนใจในปัญหาของการถ่ายเอกซเรย์ซ้ำ ที่อาจส่งผลกระทบต่อระดับเซลล์ภายในร่างกายมนุษย์ โดยงานวิจัยที่ผ่านมาได้มีการศึกษาเกี่ยวกับอัตราภาพคอมพิวเตอร์ทางรังสีที่ถูกคัดออก (reject image) โดยพบว่าเป็นการศึกษาเกี่ยวกับการวิเคราะห์ภาพดิจิตอลทางรังสีที่ไม่สามารถนำไปวินิจฉัยโรคได้ โดยผู้ศึกษามีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์สาเหตุ อัตรา ภาพคอมพิวเตอร์ทางรังสีที่ถูกคัดออก และเพื่อหาแนวทางลดอัตราภาพคอมพิวเตอร์ทางรังสีที่ถูกคัดออก ให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น ในการศึกษาเป็นการเก็บข้อมูลภาพจากระบบคอมพิวเตอร์ (CR) 103,936 ภาพ ซึ่งมีจำนวนภาพที่ไม่สามารถนำไปวินิจฉัยโรคได้ จำนวน 2,603 ภาพ คิดเป็นร้อยละ 2.50 ของจำนวนภาพที่เก็บข้อมูลทั้งหมด ข้อมูลภาพที่ได้มาจากห้องถ่ายภาพรังสีทั่วไป 3 จุด คือห้องเอกซเรย์ผู้ป่วยนอก (OPD) ห้องเอกซเรย์อุบัติเหตุ (ER) และห้องเอกซเรย์กลุ่มงานรังสีวิทยา (X1) จากผลการศึกษา อัตราการคัดภาพออกน้อยที่สุดมาจากห้องเอกซเรย์กลุ่มงานรังสีวิทยา ร้อยละ 0.28 ห้องเอกซเรย์อุบัติเหตุ (ER) ร้อยละ 1.02 และจากห้องเอกซเรย์ผู้ป่วยนอก ร้อยละ 1.19 สาเหตุในการคัดภาพออกมากที่สุดเกิดมาจากการจัดท่าผู้ป่วย (position) ร้อยละ 2.02 รองลงมาเกิดจากผู้ป่วยไหวตัวขณะถ่ายภาพเอกซเรย์ (motion) ร้อยละ 0.26 และการให้ปริมาณรังสีน้อยเกินไป (under exposure) ร้อยละ 0.10 โดยการแก้ไขปัญหาดังกล่าว ผู้ทำการวิจัยได้ทำการเพิ่มคุณภาพภาพถ่ายทางรังสีทำให้มีคุณภาพดีขึ้น ทำให้ภาพเสียลดลงน้อยกว่าร้อยละ 3 จากอัตราการคัดออกของภาพในห้องเอกซเรย์ผู้ป่วยนอกโดยเฉพาะคัดกรองด้วยการถ่ายเอกซเรย์ปอดที่มีอัตราการคัดออกมากที่สุด เพราะว่าจุดนี้มีผู้ป่วยมาถ่ายภาพทางรังสีเป็นจำนวนมากกว่าจุดอื่น สาเหตุคัดภาพออกที่มีมากเนื่องจาก ผู้ป่วยไม่ได้ยินเสียงหายใจเข้า หายใจเข้าไม่เต็มที่ หรือมีสร้อย พระ ตะกรุดในผู้ป่วยต่างด้าว เป็นต้น ในจุดของห้องถ่ายภาพเอกซเรย์อุบัติเหตุ ผู้ป่วยต้องใช้รถเข็น รถนั่ง รถนอน บางครั้งเกิดจากการที่ผู้ป่วยไม่ให้ความร่วมมือ ช่วยเหลือตัวเองไม่ได้ หรือมีอุปกรณ์ช่วยชีวิต ส่วนจุดของห้องเอกซเรย์กลุ่มงานทางรังสีวิทยา อัตราการคัดภาพออกส่วนใหญ่เกิดจากผู้ป่วยที่นอนภายในโรงพยาบาล ที่มีการให้ออกซิเจน เดินไม่ได้ ลุกไม่ได้ บางครั้งผู้ป่วยไม่ให้ความร่วมมือ เป็นต้น (ลี้, 2018) และเนื่องจากปัญหาดังกล่าวยังพบว่าไม่มีงานวิจัยที่อธิบายการเอกซเรย์ซ้ำในงานทางรังสีวินิจฉัย ที่เกี่ยวกับผลกระทบระดับเซลล์ภายในร่างกาย

งานวิจัยนี้จึงได้ทบทวนงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการทดลองเกี่ยวกับผลของเอกซเรย์ทางรังสีวินิจฉัย โดยเฉพาะระดับพลังงานที่ใช้สำหรับการถ่ายเอกซเรย์ทั่วไป (plain film) ที่มีผลกระทบต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดียวที่มีความเชื่อมโยงกับงานวิจัย ซึ่งพบว่าในงานวิจัยที่ผ่านมาได้ทำการศึกษาผลของรังสีเอกซ์ปริมาณต่ำต่อการเจริญเติบโตและวัฏจักรชีวิตของเซลล์ลิมโฟไซต์ งานวิจัยฉบับนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาผล

ของรังสีปริมาณต่ำต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ลิมโฟไซต์ และเพื่อศึกษาผลของรังสีปริมาณต่ำต่อวัฏจักรชีวิตของเซลล์ลิมโฟไซต์ โดยได้ทำการศึกษาผลของรังสีเอกซ์ปริมาณต่ำต่อการเจริญเติบโตและวัฏจักรของเซลล์ลิมโฟไซต์ โดยทำการแยกเซลล์จากเลือดของอาสาสมัครสุขภาพดี และเลี้ยงเซลล์ลิมโฟไซต์ในตู้เลี้ยงเซลล์ 24 ชั่วโมงก่อนนำมาทำการทดลอง นำเซลล์ลิมโฟไซต์ไปรับรังสีเอกซ์ปริมาณ 0.03 mGy จากนั้นทำการศึกษาผลของรังสีเอกซ์ต่อการเจริญเติบโตของลิมโฟไซต์และวัฏจักรเซลล์ที่เวลา 1, 4, 8, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมงหลังจากเซลล์รับรังสี จากการทดสอบโดยเครื่องโฟลไซโตมิเตอร์ พบว่าเซลล์ลิมโฟไซต์ที่ไม่ได้รับรังสีมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นจนคงที่ที่เวลา 12 ชั่วโมง ในขณะที่เซลล์ลิมโฟไซต์ที่ได้รับรังสีมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นสูงสุดที่เวลา 24 ชั่วโมง แล้วลดลงจนคงที่ที่เวลา 48 ชั่วโมงหลังจากได้รับรังสี ในขณะที่รังสีเอกซ์ปริมาณต่ำไม่มีผลต่อวัฏจักรเซลล์จากการศึกษาครั้งนี้ทำให้สามารถสรุปได้ว่ารังสีเอกซ์ปริมาณต่ำมีผลต่อการเจริญเติบโตแต่ไม่มีผลต่อวัฏจักรเซลล์ลิมโฟไซต์ (Benjamaporn Supawat & Tungjai, 2015) และการศึกษาในปี พ.ศ. 2562 เกี่ยวกับผลกระทบจากเอกซเรย์ปริมาณต่ำต่อภาวะออกซิเดทีฟ (oxidative state), ภาวะการเสื่อมสภาพของไลพิด (lipid peroxidation) และของไหลในเยื่อหุ้มเซลล์ (membrane fluidity) ของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดียวของมนุษย์ (Pochano, Noitana, Tungjai, & Udomtanakunchai, 2019) งานวิจัยดังกล่าวผู้วิจัยได้ตั้งสมมุติฐานเกี่ยวกับความกังวลของผลกระทบจากรังสีปริมาณต่ำที่ใช้ในทางการแพทย์ ในด้านความเสี่ยงของผลกระทบทางชีวภาพ เนื่องจากปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาทดลองผลกระทบนี้โดยละเอียด วัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้เพื่อประเมินผลของรังสีเอกซ์ในปริมาณต่ำต่อภาวะออกซิเดทีฟภายในเซลล์, ภาวะการเสื่อมสภาพของไลพิด, ของไหลในเยื่อหุ้มเซลล์ และการรอดชีวิต (cell viability) ของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดียวในเลือดมนุษย์ โดยในการศึกษานี้เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดียวจะถูกฉายรังสีโดยใช้เครื่องกำเนิดรังสีเอกซ์ที่พลังงาน 120 kVp เพื่อให้ได้ปริมาณรังสีดูดกลืนที่ 0.05, 0.1 และ 0.2 Gy สรุปผลจากการทดลอง รังสีเอกซเรย์ปริมาณต่ำมีผลกระทบต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดียว โดยมีผลทำให้ระดับภาวะออกซิเดทีฟของเซลล์ลดลงที่ปริมาณรังสี 0.1 และ 0.2 Gy และทำให้เกิดการตายของเซลล์ที่ปริมาณรังสีเท่ากับ 0.2 Gy (Pochano et al., 2019) แต่ในการศึกษายังเป็นการถ่ายเอกซเรย์แบบ single dose หรือการรับรังสีเอกซเรย์เพียงครั้งเดียว ซึ่งปัญหาเกิดกับการถ่ายเอกซเรย์ซ้ำยังไม่มีการศึกษาเท่าที่ควร

งานวิจัยในครั้งนี้จึงได้เห็นปัญหาในการถ่ายเอกซเรย์ซ้ำในทางรังสีวินิจฉัย ซึ่งทำให้ผู้ป่วยต้องได้รับรังสีเพิ่มมากขึ้นโดยไม่จำเป็น ในการศึกษาครั้งนี้ได้เห็นถึงความสำคัญในการได้รับรังสีเพิ่มในการวินิจฉัย อาจจะ

ส่งผลกระทบต่อร่างกายผู้ป่วยได้ (Rothkamm & Löbrich, 2003) และมีจุดมุ่งหมายที่จะศึกษาผลกระทบจากการใช้รังสีเอกซ์ในทางรังสีวินิจฉัย โดยศึกษาการเปลี่ยนแปลงหลังจากการให้รังสีเอกซ์แก่เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดียวในเลือด ที่สามารถคัดแยกเซลล์ (cell isolation) ได้จากเทคนิคการปั่นเหวี่ยงไล่ระดับความหนาแน่น (density gradient centrifugation technique) และทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ (cell culture) ในระดับห้องทดลอง (*in vitro*) เพื่อจะดูผลกระทบของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดียวจากการฉายรังสีเอกซ์ แบบครั้งเดียว (single expose) และการฉายรังสีเอกซ์แบบฉายซ้ำ (repeat expose) เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้ฉายรังสีเอกซเรย์ โดยใช้ปริมาณรังสีที่ใกล้เคียงกับการถ่ายเอกซเรย์ปอดในผู้ใหญ่ เปรียบเทียบรูปร่างของเซลล์ (morphology) และจำนวนของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดียว (number of cells) รวมถึงสภาวะความเซลล์เครียดและการตายของเซลล์จากการถ่ายรังสีเอกซ์แบบฉายซ้ำ จากนั้นนำข้อมูลที่เก็บได้จากการทดลองมาวิเคราะห์แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงและการดำรงชีวิตอยู่ของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดียวที่อยู่ในหลอดทดลอง

โดยในงานวิจัยนี้ต้องทำการทดลองภายในระดับห้องทดลอง (in vitro) เนื่องจากการใช้เซลล์จากอาสาสมัครหรือผู้ป่วยจริงอาจจะเกิดความยุ่งยาก และจะมีปัจจัยเกี่ยวสภาวะร่างกายของผู้ป่วยแต่ละคน ซึ่งอาจจะมีสภาวะรอยโรคชนิดต่าง ๆ แตกต่างกัน อาจจะส่งผลต่อเซลล์ที่เก็บมาจากตัวผู้ป่วยโดยตรงซึ่งจะทำให้ผลการทดลองแปรปรวนรวมถึงอาจจะใช้เวลาในการศึกษาเป็นเวลานาน งานวิจัยนี้จึงต้องการศึกษาผลของรังสีแบบฉายซ้ำ (repeat expose) ที่มีต่อเซลล์ในระดับห้องทดลองก่อนในเบื้องต้น เพื่อให้เห็นแนวโน้มของผลจากการฉายเอกซเรย์ซ้ำ โดยงานวิจัยนี้จึงน่าจะเป็นประโยชน์สำหรับใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานหรือตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (biomarker) ก่อนที่จะนำไปประยุกต์ ในระดับคลินิกต่อไปในอนาคต

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

1. ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

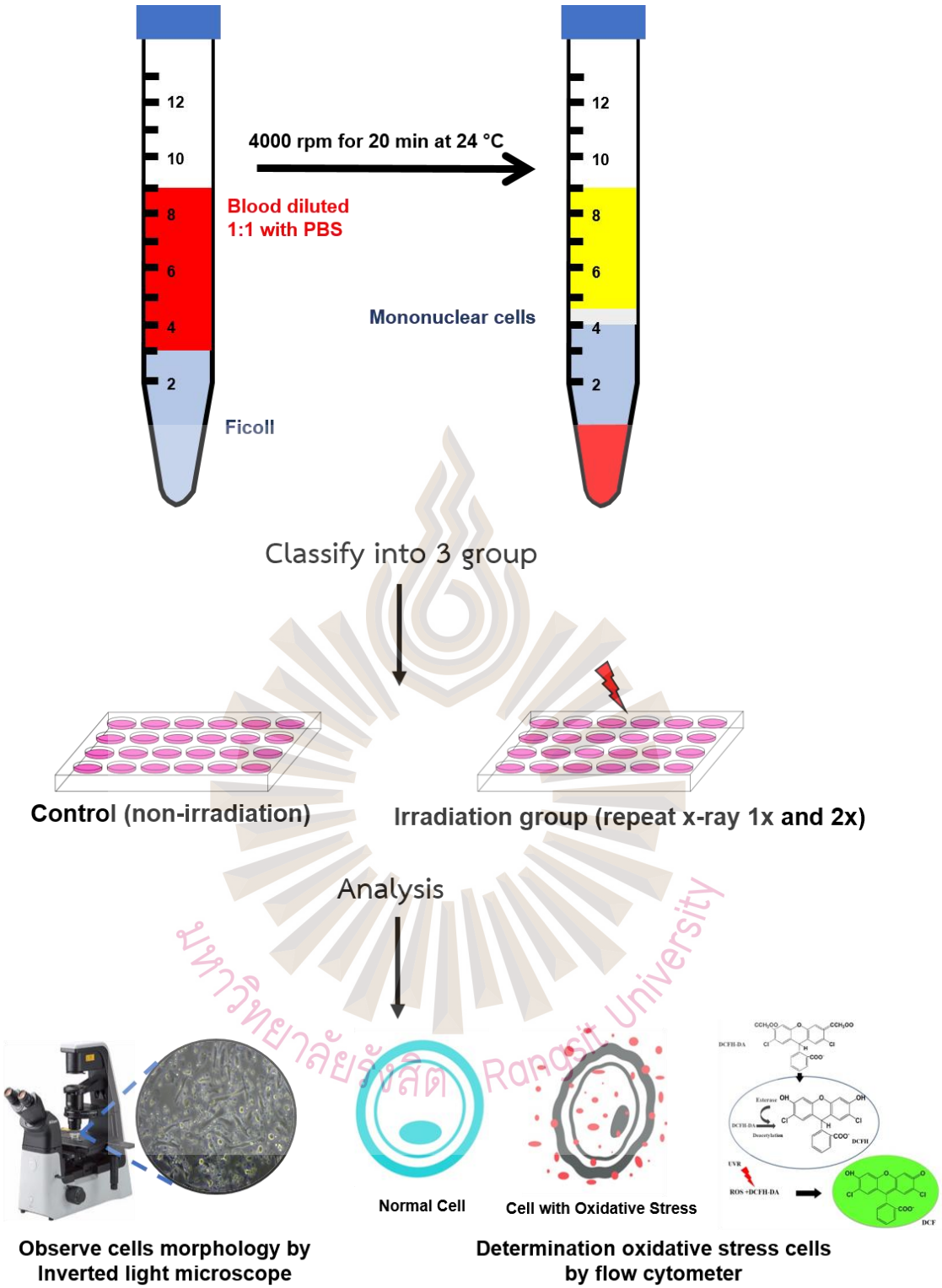
การคัดเลือกอาสาสมัคร โครงการวิจัยนี้ได้ผ่านการขอจริยธรรมในมนุษย์ มหาวิทยาลัยรังสิต รหัสโครงร่างการวิจัย RSU-ERB2020-033 โดยใช้อาสาสมัครซึ่งหลักเกณฑ์ในการคัดเลือกอาสาสมัครสุขภาพดี พิจารณาจาการคัดเลือกกลุ่มอาสาสมัครผู้ใหญ่ที่มีสุขภาพแข็งแรง (healthy donor) อายุ 20-40 ปี จำนวน 12 คน (เพศชาย 6 และหญิง 6 คน) ทำการเก็บเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนนิวเคลียสหรือส่วนของ buffy coat จากน้ำเลือด จำนวน 10 มิลลิลิตร (ml) ด้วยเทคนิคการปั่นเหวียง (density gradient centrifugation technique)

2. เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

ระเบียบวิธีวิจัย

1. ในงานวิจัยครั้งทำในระดับหลอดทดลอง (In vitro) และผู้ทำวิจัยได้ปฏิบัติตามจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์
2. คัดเลือกกลุ่มอาสาสมัครผู้ใหญ่ที่มีสุขภาพแข็งแรง (healthy volunteers) อายุ 20-40 ปี จำนวน 12 คน (ชาย 6 คน หญิง 6 คน) ซึ่งเพศไม่มีผลการทดลองเมื่อทำการศึกษาในระดับห้องทดลอง (Kantapan et al., 2016) โดยอาสาสมัครต้องไม่มีภาวะโรค เบาหวาน ความดันสูง โรคหัวใจ โรคมะเร็งหรือติดเชื้อ HIV^+ และต้องไม่มีภาวะน้ำหนักเกินตามเกณฑ์มาตรฐาน รวมถึงต้องไม่สูบบุหรี่หรืออยู่ในกลุ่ม alcoholism และอาสาสมัครจะถูกเจาะเลือดคนละ 1 ครั้ง
3. จากนั้นเจาะเซลล์ตัวอย่างจากอาสาสมัคร เพื่อนำไปทดสอบผลของรังสีที่มีต่อเซลล์ และการเก็บผลการทดลองด้วยเครื่อง ดังภาพที่ 8

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University



ภาพที่ 8 ระเบียบวิธีวิจัยในการทดลอง

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

3. การสร้างเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

3.1. การแยกเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดียว

การแยกเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดียว (peripheral blood mononucleated cells) จากเลือดจำนวน 10 มิลลิลิตร โดยที่เป็นเลือดที่ได้ที่ได้มาจากการตรวจโรค โดยบรรจุในlithium heparin tubes เพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือด จากนั้นนำเลือดผสมกับ PBS แล้วค่อยเติมส่วนผสมให้อยู่เหนือชั้น lymphoprep ที่ได้เติมไว้ก่อนในหลอดทดลองขนาด 15 ml โดยใช้อัตราส่วน 1:1:1 (Blood:PBS:Lymphoprep) จากนั้นนำเลือดไปปั่นเหวี่ยงที่ 4000 rpm เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นเก็บส่วนที่อยู่ระหว่าง plasma:lymphoprepTM ซึ่งเป็นส่วนที่มี Peripheral blood mononuclear cells ดังภาพที่ 4 แล้วนำมาล้างด้วย สารละลาย Phosphate buffer saline (PBS) pH 7.4 จากนั้นจึง RBC lysing เพื่อกำจัดเม็ดเลือดแดง แล้วนำไป ปั่นเหวี่ยงที่ 2000 rpm เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นดูดส่วนตะกอนของเซลล์ แล้วนำไปเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.2. การเลี้ยงเซลล์ในระบบห้องทดลอง

เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดียว จะถูกเลี้ยงที่ความเข้มข้น 10^6 cell/mL) ในจานเลี้ยงเซลล์ชนิด 24-well plates ที่ประกอบด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด RPMI-1640, 10 % Fetal bovine serum, 1 % penicillin /streptomycin (BioMedia) ที่อุณหภูมิ 37 °C, 5 % CO_2 และ 95% humidity โดยเซลล์จะถูกบันทึกลักษณะของ cell morphology ภายใต้กล้อง inverted light microscope ทุก 24 ชั่วโมง และทำการวัดเซลล์โดยเครื่อง flow cytometer

3.3. เทคนิคการฉายรังสี

เทคนิคในการฉายรังสีเอกซเรย์ให้กับเซลล์ที่เก็บจากผู้ใหญ่สุขภาพแข็งแรง ดังตารางที่ 1: โดยอ้างอิงเทคนิคจากการถ่ายเอกซเรย์ทรวงอก (chest x-ray) 110 kVp 5 mAs, SOD: 100 cm และ repeated x-ray ที่ 1 และ 2 ครั้ง

กลุ่มที่ 1 กลุ่มเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนนิวเคลียสชุดควบคุมไม่โดนฉายด้วยรังสีเอกซ์

กลุ่มที่ 2 กลุ่มเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนนิวเคลียสที่ได้รับการฉายด้วยรังสีเอกซ์ 1 ครั้ง

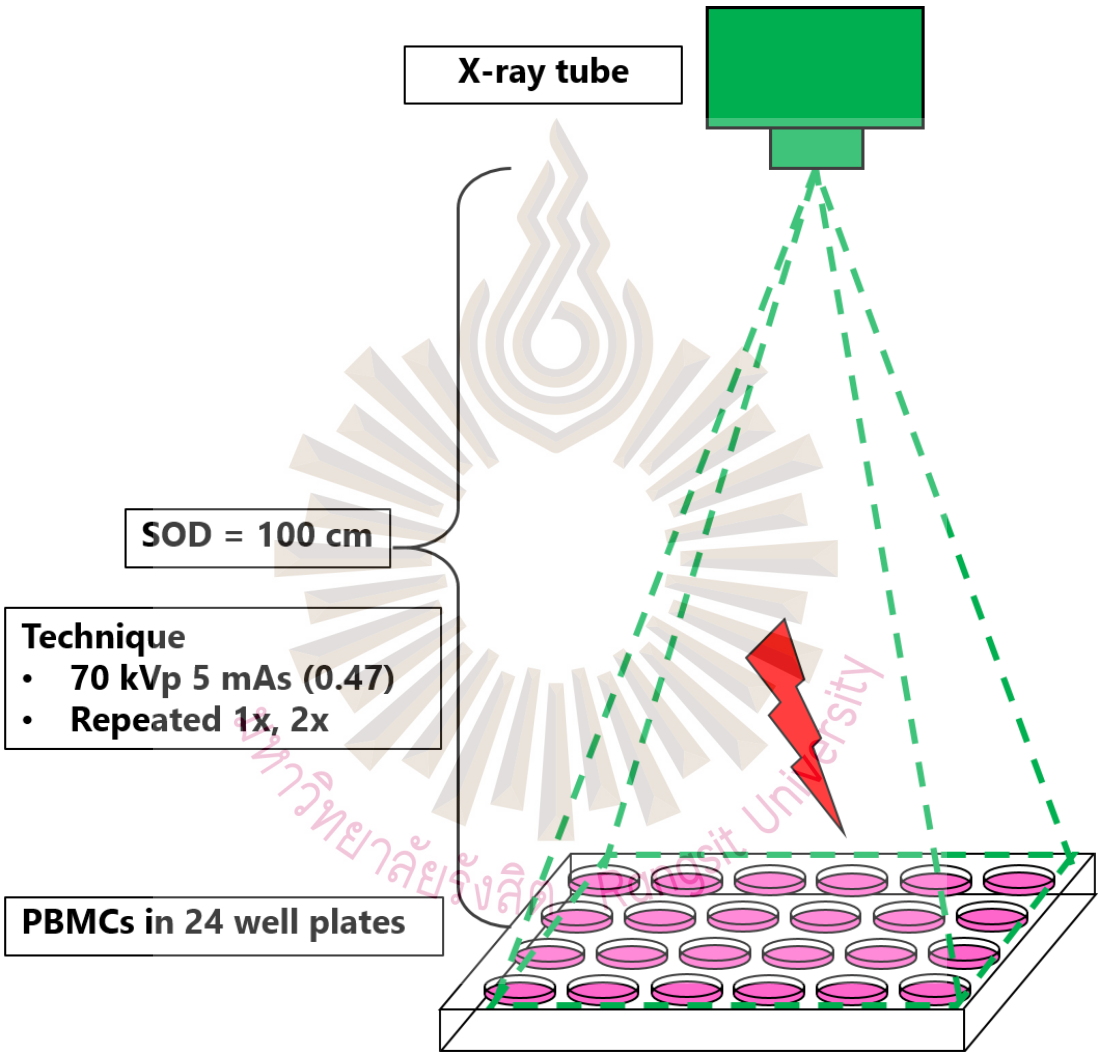
กลุ่มที่ 3 กลุ่มเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนนิวเคลียสที่ได้รับการฉายด้วยรังสีเอกซ์ 2 ครั้ง

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ตารางที่ 1 เทคนิคในการตั้งค่าเอกซเรย์และปริมาณรังสี

Organ	kV	mAs	mA	sec	mGy
Chest	110	5	100	0.05	0.47

โดยใช้ระยะระหว่างหลอดเอกซเรย์ถึงเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดียวที่เลี้ยงอยู่ใน จานเพาะเลี้ยงชนิด 24 well plate ที่ระยะ 100 เซนติเมตร ดังภาพที่ 9



ภาพที่ 9 เทคนิคสำหรับการถ่ายเอกซเรย์

3.4. เทคนิคการย้อมเซลล์ด้วย DCFH-DA

ดูดเซลล์ที่อยู่ในจานเพาะเลี้ยงชนิด 24-well plate ที่ความเข้มข้น 10^6 cell/mL จากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 7000 รอบต่อนาที (rpm) เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นเก็บส่วนเฉพาะส่วนของตะกอนแล้วไปล้างด้วย PBS 1 รอบแล้วปั่นเหวี่ยงต่อที่ความเร็ว 7000 รอบต่อนาที (rpm) เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นเติม DCF ความเข้มข้น 10 uM และนำไปบ่มในที่มืด ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดสัญญาณด้วย Flow cytometer (FL-1 channel)

3.5. เทคนิคการย้อมเซลล์ด้วย Annexin V FIT-C

ดูดเซลล์ที่อยู่ในจานเพาะเลี้ยงชนิด 24-well plate ที่ความเข้มข้น 10^6 cell/mL จากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 7000 รอบต่อนาที (rpm) เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นเก็บส่วนเฉพาะส่วนของตะกอนแล้วไปล้างด้วย PBS 1 รอบแล้วปั่นเหวี่ยงต่อที่ความเร็ว 7000 รอบต่อนาที (rpm) เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นเติม Annexin V binding buffer 500 uL จากนั้นเติม Annexin V-FITC และ Propidium (PI) 5 ul และนำไปบ่มในที่มืด ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15-20 นาที แล้วนำไปวัดสัญญาณด้วย Flow cytometer

4. การเก็บรวบรวมข้อมูล

ศึกษาลักษณะ morphology โดยกล้อง Inverted light microscope และศึกษาการเปลี่ยนแปลงของระดับเซลล์เครียดที่เกิดขึ้นรวมถึงการตายแบบ apoptosis ที่ 1, 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง โดยเครื่อง flow cytometer

5. การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลจะมีทั้งเชิงคุณภาพ โดยดูปัจจัยจากลักษณะของเซลล์ (morphology, cell membrane, nucleus) และเชิงปริมาณโดยศึกษาการการเปลี่ยนแปลงของระดับเซลล์เครียดที่เกิดขึ้นรวมถึงการตายแบบ apoptosis ของเซลล์หลังจากฉายรังสี โดยใช้ค่า mean, SD, หรือ ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) วิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุมปกติ กับกลุ่มที่ได้รับการฉายรังสีเอกซ์

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

บทที่ 4
ผลการทดลอง และอภิปรายผล

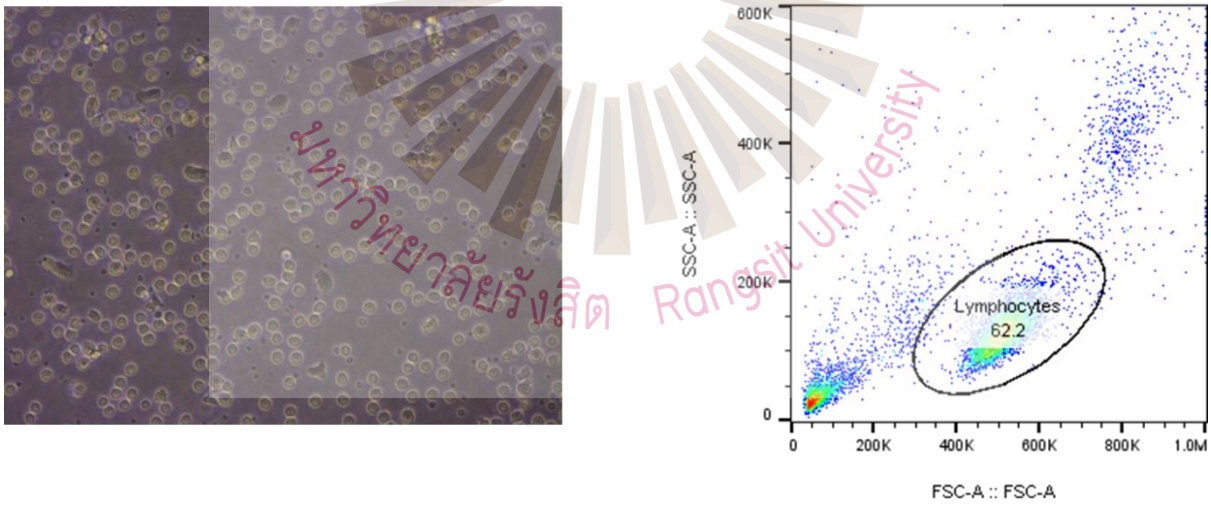
ผลการทดลอง

เทคนิคการแยกเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดียวและเทคนิคการฉายรังสี

เทคนิคการแยกเซลล์ได้จากกระบวนการปั่นเหวี่ยง (density gradient centrifugation technique) จากเลือดอาสาสมัครสุขภาพดี โดยเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดียว (peripheral blood mononuclear cells) จากนั้นทำการเลี้ยงเซลล์ในจานเพาะเลี้ยงเซลล์ชนิด 24 well plate และแบ่งเป็นกลุ่มควบคุมและกลุ่มฉายด้วยรังสีเอกซเรย์ที่เทคนิคต่าง ๆ ซึ่งพบว่าเทคนิคการถ่าย chest ปริมาณรังสีจะอยู่ที่ระดับ (absorbed dose) 0.42 mGy โดยถ่ายเอกซเรย์ 1 และ 2 ครั้ง

ลักษณะของเม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดียว

ลักษณะของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดียวหลังจากการแยกโดยเทคนิคการปั่นเหวี่ยง ดังภาพที่ 10a จะมีลักษณะเป็นเซลล์กลมกระจายทั่ว 24 well plate และเมื่อวัดโดยเครื่อง flow cytometer จะพบเซลล์กระจายกันเป็น 3 กลุ่ม โดยเซลล์ในกลุ่ม lymphocytes จะมีปริมาณที่เยอะที่สุด ดังรูปภาพ 10b

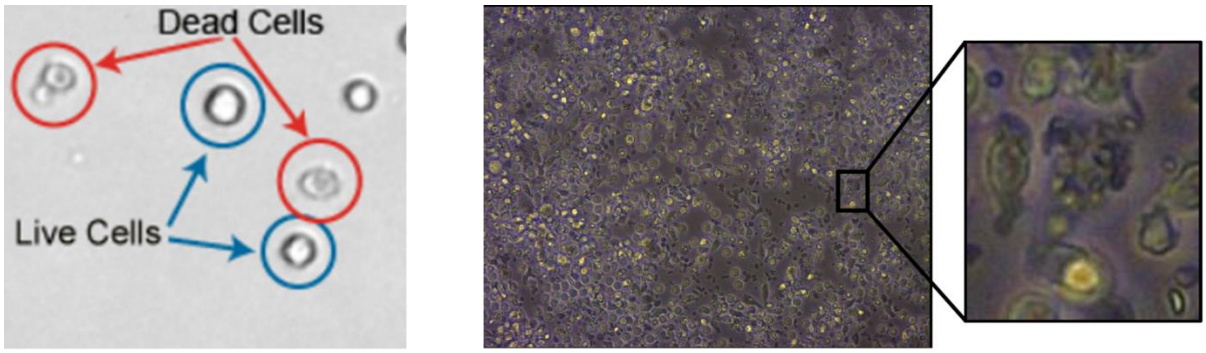


ภาพที่ 10 (a) ลักษณ์เซลล์โดยกล้อง inverted microscope (20x) (b) Dotpot แสดงลักษณะของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดียว

และพบว่าเมื่อทำการฉายรังสีและเพาะเลี้ยงเซลล์ไประยะเวลาหนึ่ง จะพบลักษณะของเซลล์เริ่มมีการ

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

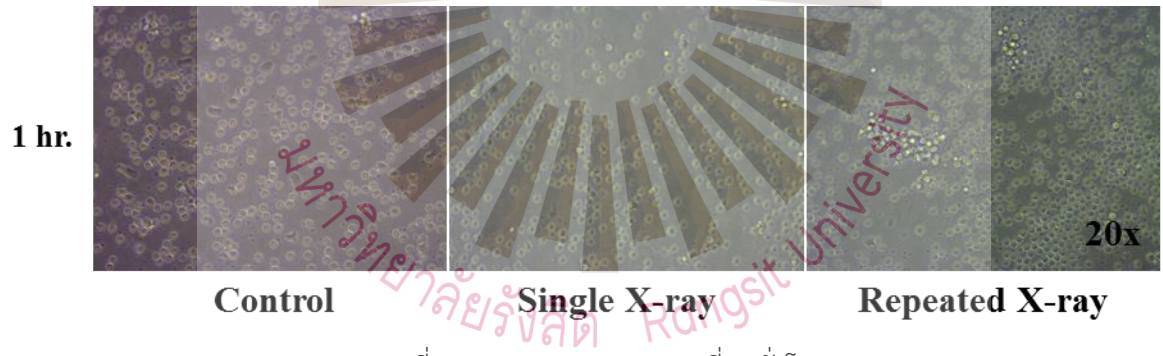
เปลี่ยนแปลงรูปและอาจพบว่าเซลล์ตายขึ้นในระบบ ดังภาพที่ 11



ภาพที่ 11 (a) Cell dead (b) ลักษณะของ Cell dead โดย inverted microscope

ลักษณะของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดียวหลังจากฉายรังสี

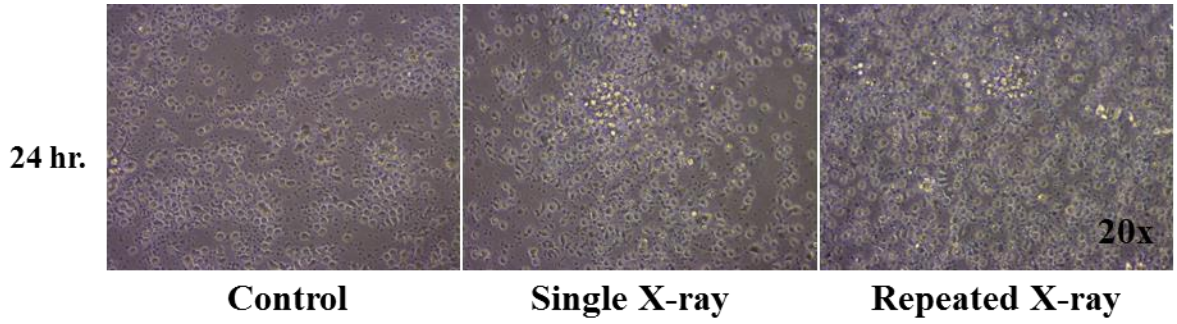
หลังจากการฉายรังสีแบบ single x-ray และ repeated x-ray ที่เวลา 1 ชั่วโมงพบว่า ลักษณะของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดียว มีทรงกลมเหมือนกับกลุ่มไม่ฉายรังสี และอาจพบกลุ่มเซลล์ (colony of cells) ดังภาพที่ 12



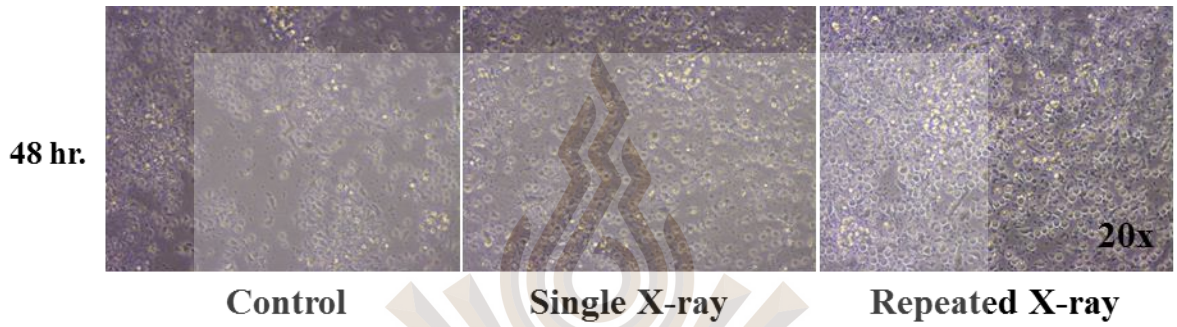
ภาพที่ 12 Cell morphology ที่ 1 ชั่วโมง

และที่ 24-72 ชั่วโมงหลังจากฉายรังสีพบว่า ในกลุ่มฉายรังสีพบว่ามีจำนวนกลุ่มเซลล์ (colony of cells) เพิ่มขึ้น ดังภาพที่ 13-15 โดยจะมีกลุ่มเซลล์ค่อนข้างแตกต่างจากกลุ่มไม่ฉายรังสี

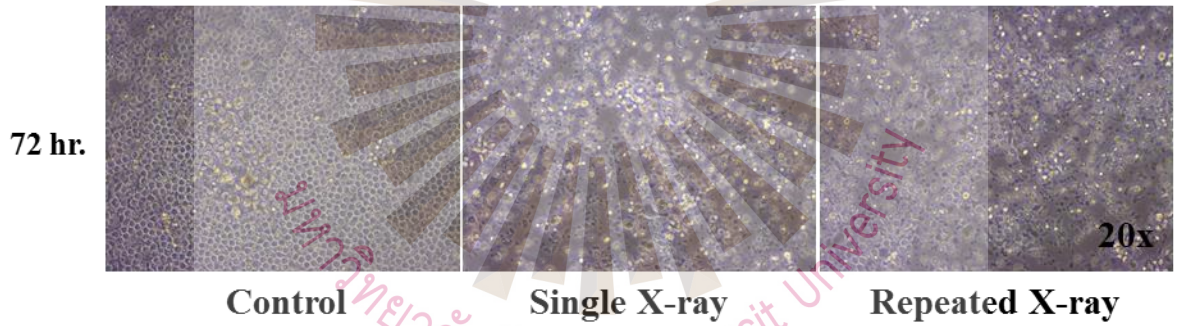
มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University



ภาพที่ 13 Cell morphology ที่ 24 ชั่วโมง



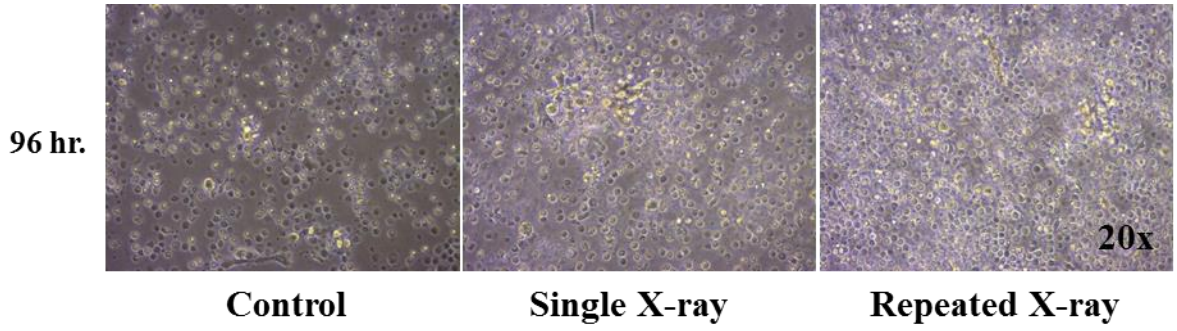
ภาพที่ 14 Cell morphology ที่ 48 ชั่วโมง



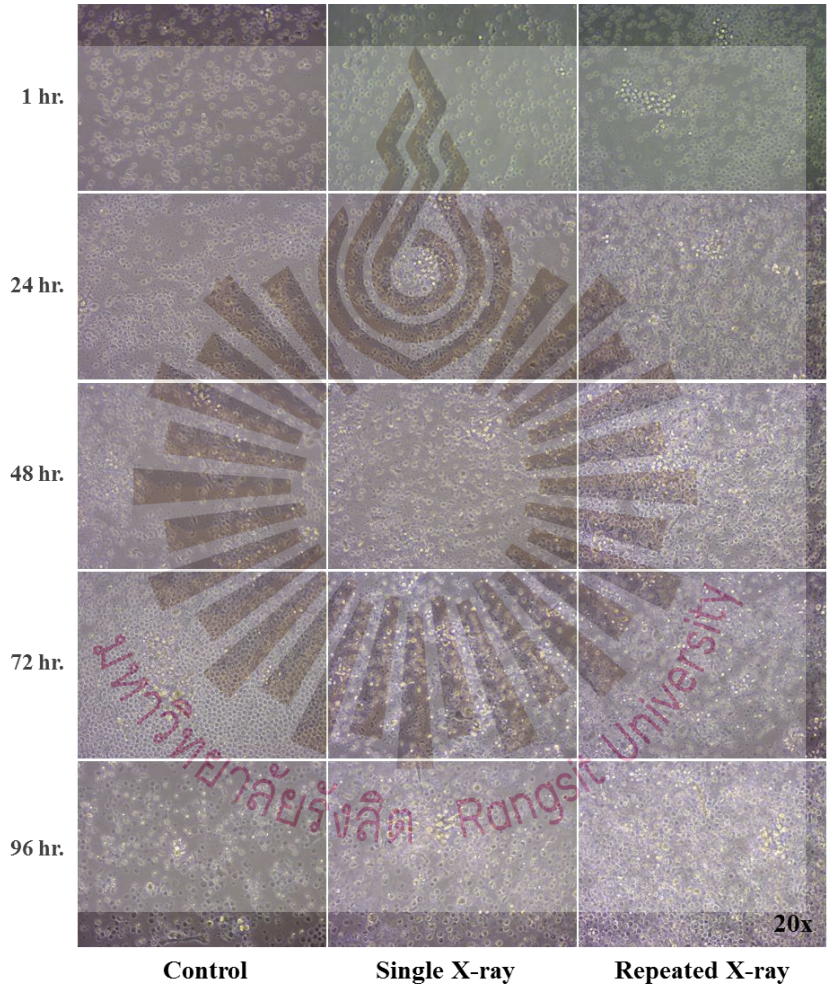
ภาพที่ 15 Cell morphology ที่ 72 ชั่วโมง

แต่ที่ 96 ชั่วโมง จะพบว่ามีเซลล์ตายเกิดขึ้นทั้งในกลุ่มไม่ฉายรังสีและกลุ่มฉายรังสี และจะมีบางส่วนเริ่มเจริญเติบโตไปเป็นเซลล์เฉพาะ (differentiation) ดังภาพที่ 16 และเปรียบเทียบความแตกต่างในแต่ละช่วงเวลารวมถึงกลุ่มที่ไม่ฉายและฉายรังสี ดังภาพที่ 17

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University



ภาพที่ 16 Cell morphology ที่ 96 ชั่วโมง

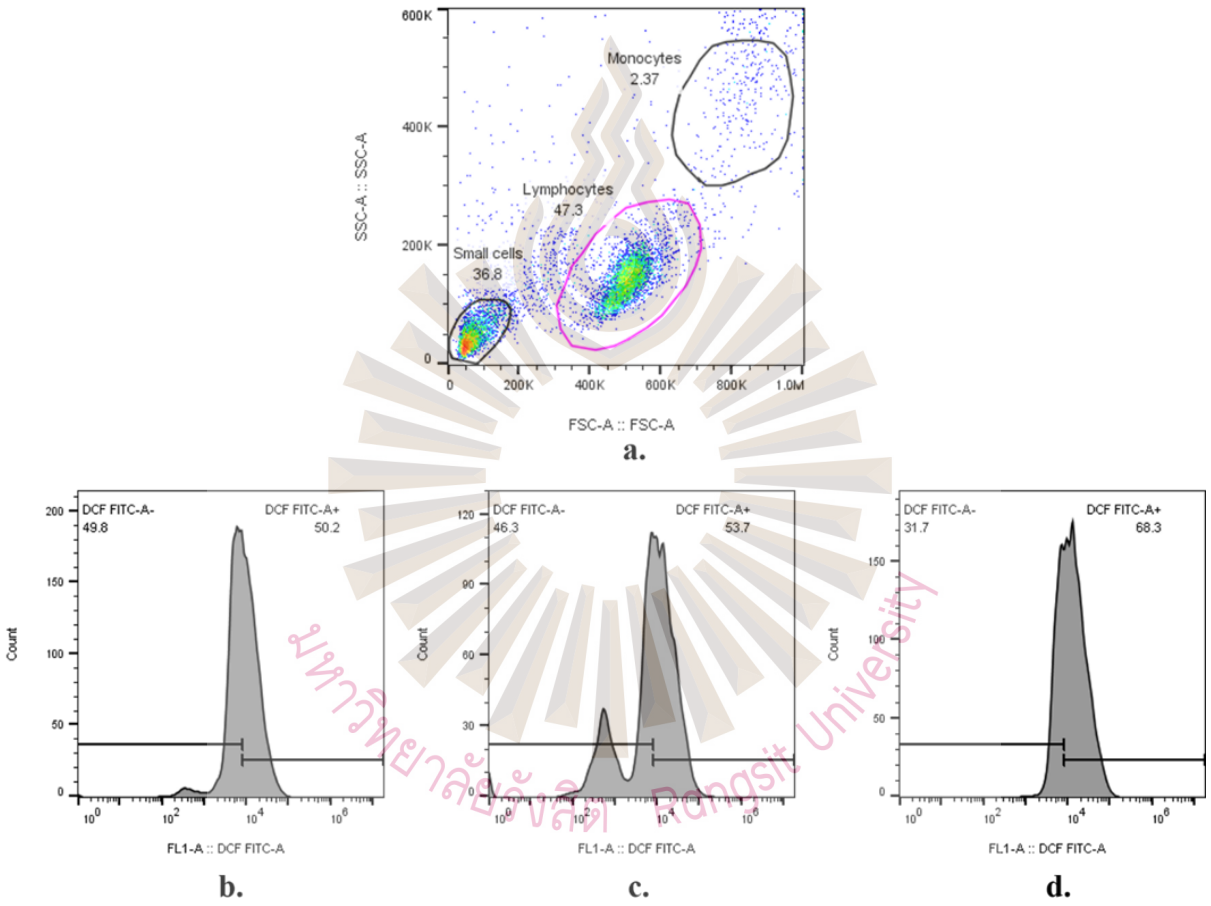


มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ภาพที่ 17 Cell morphology

การย้อมเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดียวด้วย 2'-7'dichlorofluorescin diacetate (DCFH-DA) เพื่อดูระดับของภาวะเซลล์เครียด

ทำการย้อมเซลล์จำนวน 10^6 เซลล์กับ 2'-7'dichlorofluorescin diacetate (DCFH-DA) ความเข้มข้น 10 uM แล้วนำไปวัดสัญญาณด้วย Flow cytometer (FL-1 channel) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มฉายรังสีที่เทคนิคต่าง ๆ ดังภาพที่ 18 โดยข้อมูลจากฮิสโตแกรมจะแสดงเปอร์เซ็นการติด 2'-7'dichlorofluorescin diacetate (DCFH-DA) ที่เป็นตัวชี้วัดของระดับความเครียดที่เกิดขึ้นในเซลล์ โดยค่าของเปอร์เซ็นของระดับความเครียดที่เกิดขึ้น ดังแสดงในตารางที่ 2



ภาพที่ 18 (a) Dotpot แสดงกลุ่มเซลล์ small cells, lymphocytes และ monocytes (b) Histogram การติด DCHF ในกลุ่มไม่ฉายรังสี (c) Histogram การติด DCHF ในกลุ่ม single x-ray (d) Histogram การติด DCHF ในกลุ่ม repeated x-ray

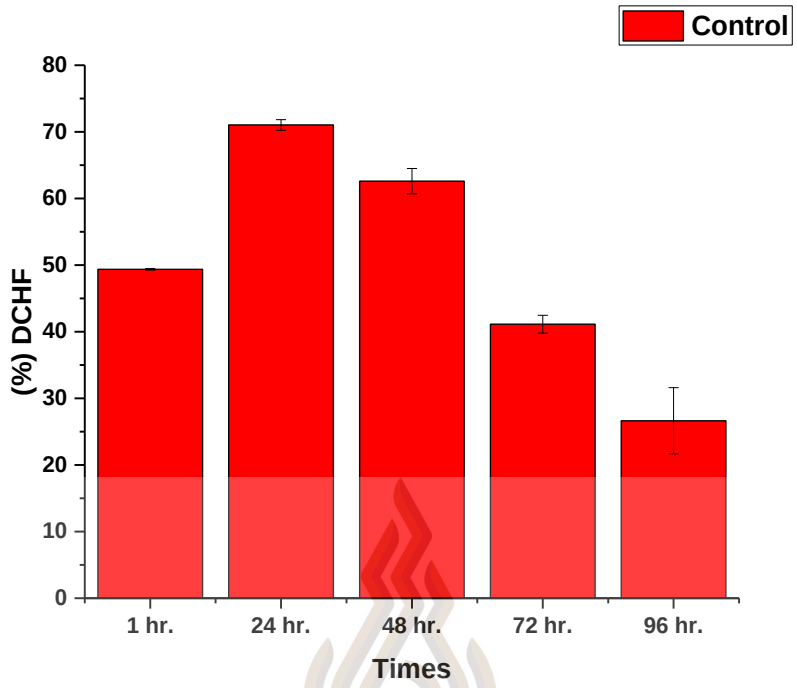
มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ตาราง 2 เปอร์เซ็นต์ในการติด 2'-7'dichlorofluorescin diacetate (DCFH-DA)

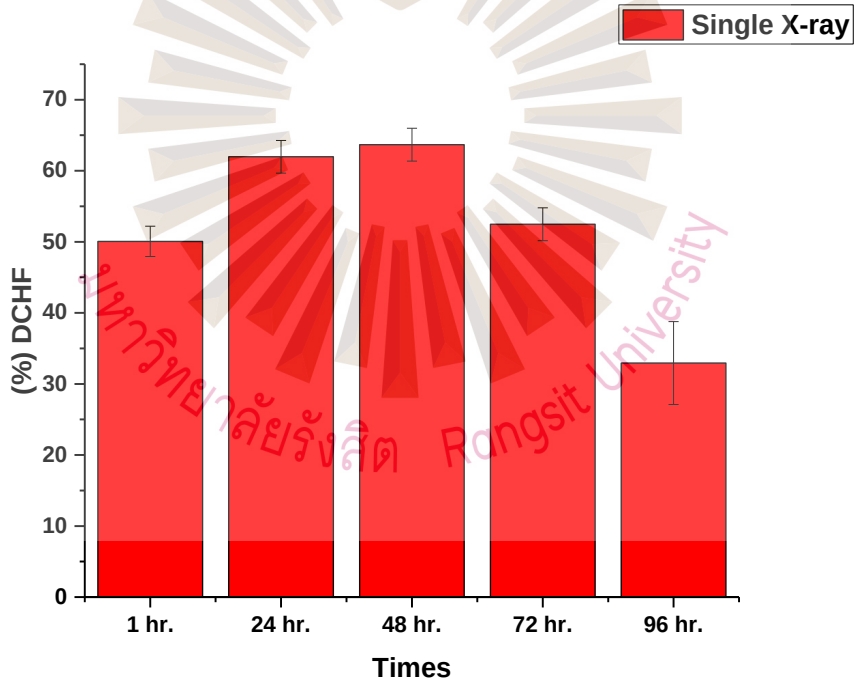
Time	Technique	% positive cells staining (DCFH-DA)
1 ชั่วโมง	Control	49.37
	Single x-ray	50.07
	Repeated x-ray	67.47
24 ชั่วโมง	Control	71.03
	Single x-ray	61.97
	Repeated x-ray	58.07
48 ชั่วโมง	Control	62.60
	Single x-ray	63.67
	Repeated x-ray	57.23
72 ชั่วโมง	Control	41.13
	Single x-ray	52.47
	Repeated x-ray	49.57
96 ชั่วโมง	Control	26.63
	Single x-ray	32.93
	Repeated x-ray	26.93

และเมื่อทำการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ระดับ DCFH ที่ระยะเวลาต่างพบว่าที่กลุ่มควบคุมและฉายรังสี 1 ครั้ง (single x-ray) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นที่เวลา 24 ชั่วโมงและลดลงที่เวลาตั้งแต่ 48-96 ชั่วโมง ดังแผนภูมที่ 1 และ 2 แต่ในการฉายรังสีซ้ำ (repeated x-ray) กลับพบว่า ระดับเปอร์เซ็นต์ของ DCFH มีแนวโน้มลดลงตั้งแต่ฉายรังสีที่ระยะเวลาหลังจาก 1 ชั่วโมง ดังแผนภูมิที่ 3

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

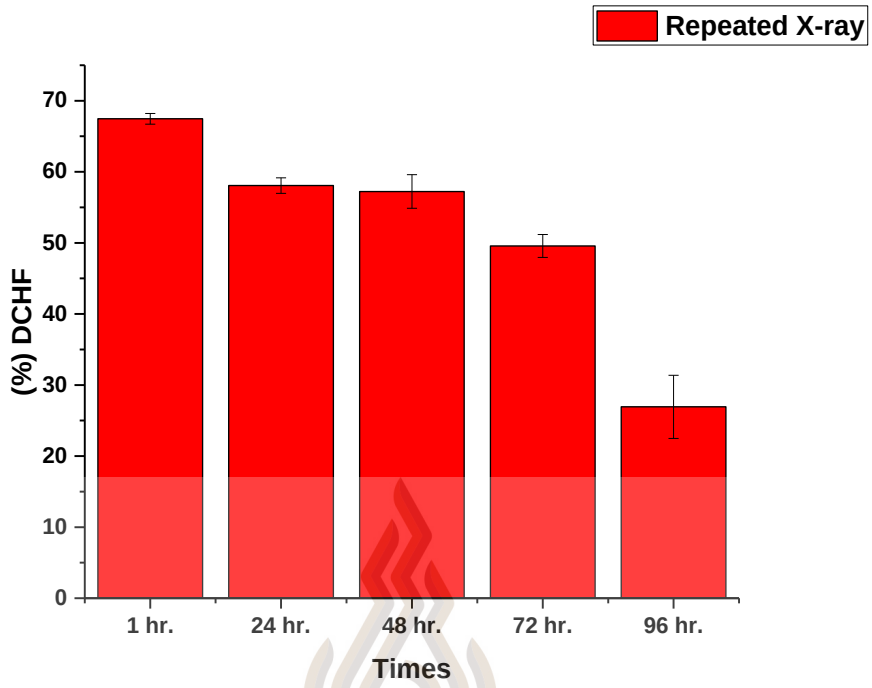


แผนภูมิที่ 1 แสดงเปอร์เซ็นต์ DCFH ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในกลุ่มควบคุมไม่ฉายรังสี



แผนภูมิที่ 2 แสดงเปอร์เซ็นต์ DCFH ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในกลุ่มฉายรังสี 1 ครั้ง (single x-ray)

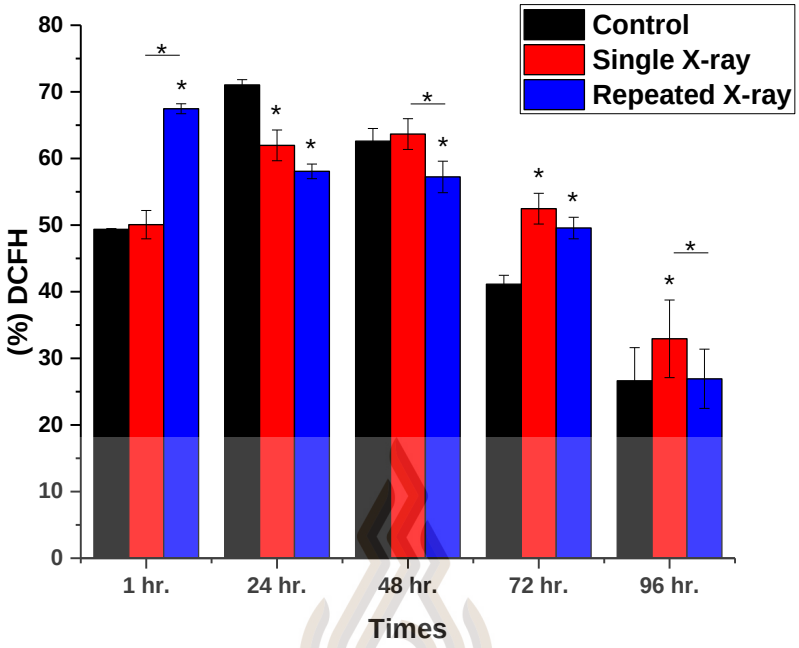
มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University



แผนภูมิที่ 3 แสดงเปอร์เซ็นต์ DCFH ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในกลุ่มฉายรังสีซ้ำ 1 ครั้ง (repeated x-ray)

ผลสรุปดังกล่าวพบว่า ระดับของ DCFH ที่แสดงถึงระดับความเครียดภายในเซลล์ เมื่อทำการเปรียบเทียบที่ระยะเวลาต่าง ๆ พบว่ากลุ่มฉายรังสีซ้ำมีแนวโน้มการเปรียบเทียบจาก กลุ่มฉายรังสีครั้งเดียวและกลุ่มควบคุมอย่างชัดเจน ซึ่งอาจจะสรุปได้ว่า การถ่ายเอกซเรย์ซ้ำนอกจากจะทำให้เกิดเสียเวลาและผู้ป่วยได้รับปริมาณรังสีโดยไม่จำเป็นแล้ว อาจเกิดผลกระทบต่อระดับเซลล์ โดยจะเห็นว่าระดับของ DCFH แตกต่างจากกลุ่มอื่นอย่างชัดเจน

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University



แผนภูมิที่ 4 แสดงเปอร์เซ็นต์ DCFH ที่ระยะเวลาต่าง ๆ

จากแผนภูมิที่ 4 เมื่อทำการเปรียบเทียบทั้งสามกลุ่ม (control, single x-ray และ repeated x-ray) ที่ช่วงเวลา 1, 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง จะเห็นว่าที่ 1 ชั่วโมงระดับของ DCFH จะมากที่สุดในกลุ่ม repeated x-ray และมีแนวโน้มลดลงตามลำดับที่ 24 และ 48 ชั่วโมง และกลับมาเพิ่มที่ 72 ชั่วโมง

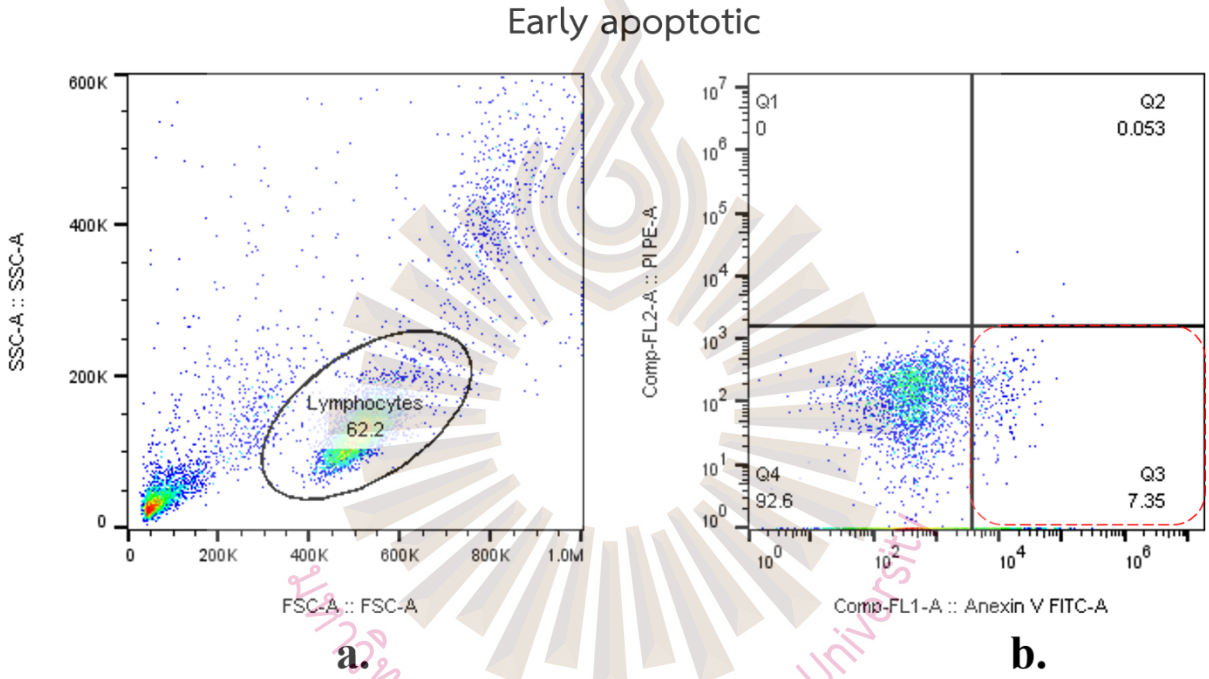
จะเห็นได้ว่าที่กลุ่มควบคุมและกลุ่มฉายรังสี มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ที่เกือบทุกช่วงเวลา แต่อย่างไรก่อตามจะเห็นว่า ระดับของ DCFH มีการเพิ่มขึ้นและลดลงตามเวลาที่เปลี่ยนเป็น ซึ่งอาจจะเป็นเพราะเซลล์มีการปรับตัวต่อสิ่งกระตุ้นภายนอก ซึ่งรวมไปถึงรังสีที่ทำให้ระดับของภาวะเซลล์เครียดในเซลล์เพิ่มสูงขึ้นในช่วงแรกของการทดลอง (1 ชั่วโมง) และเมื่อเวลาผ่านไปเซลล์อาจจะมีระบบปกป้องตัวเองจนทำให้ระดับของ DCFH ทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มฉายรังสีแตกต่างกัน

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

การย้อมเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดียวด้วย annexin V-FITC เพื่อดูการตายแบบ early apoptotic และ necrotic

กระบวนการตายแบบ early apoptotic

ทำการย้อมเซลล์จำนวน 10^6 เซลล์กับ annexin V-FITC จากนั้นนำไปวัดสัญญาณด้วย Flow cytometer เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มฉายรังสีที่เทคนิคต่าง ๆ ดังภาพที่ 19 โดยวิเคราะห์ในกลุ่มเซลล์ lymphocytes เนื่องจากเป็นเซลล์ที่พบมากที่สุดในกลุ่มเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดียว โดยดูระดับ apoptotic cells และ necrotic cells ที่เกิดขึ้นภายในเซลล์



ภาพที่ 19 (a) Dotpot แสดง cell population ในกลุ่มเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดียว (b) Biparametric dotpot แสดง Quadrant (Q1-4) ของเซลล์ โดยใน Q3: early apoptotic cells และ Q2: necrotic cells

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

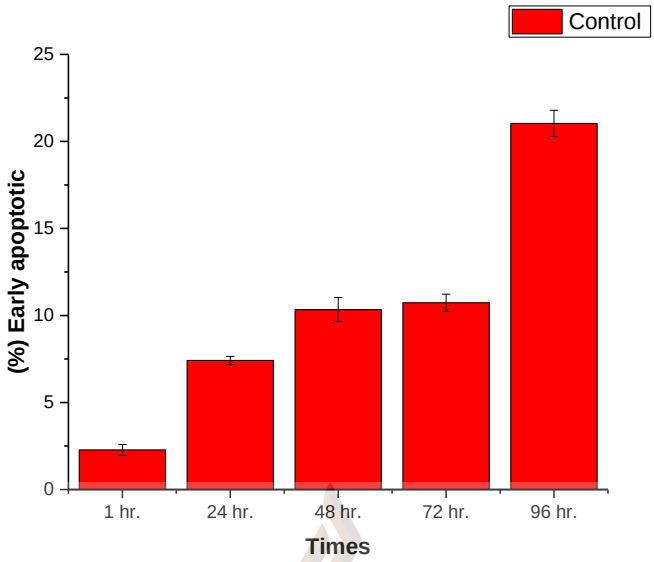
ข้อมูลเซลล์ที่มีระดับของ early apoptotic ดังแสดงในตารางที่ 3 แสดงระดับ early apoptotic ที่เวลาและปริมาณรังสีจากการถ่ายแบบต่าง ๆ (single และ repeated x-ray)

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์ในการติด annexin V-FITC (early apoptotic)

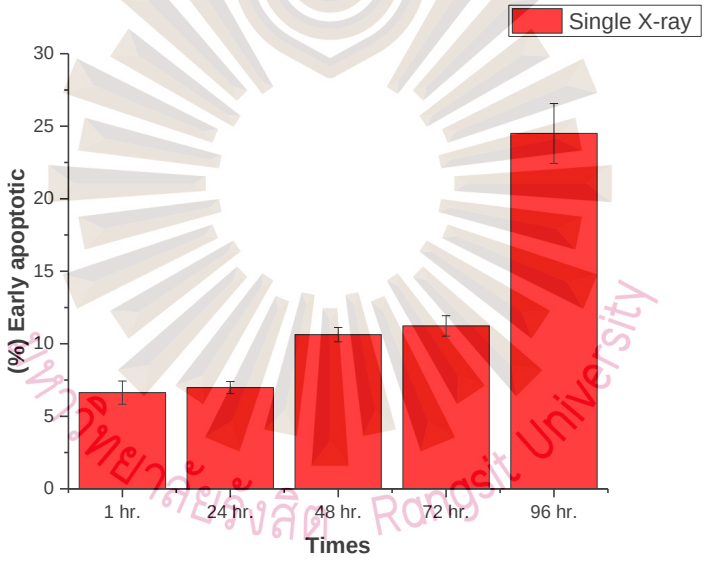
Time	Technique	% early apoptotic (Q3)
1 ชั่วโมง	Control	2.28
	Single x-ray	6.63
	Repeated x-ray	8.51
24 ชั่วโมง	Control	7.41
	Single x-ray	6.98
	Repeated x-ray	6.38
48 ชั่วโมง	Control	10.34
	Single x-ray	10.63
	Repeated x-ray	11.07
72 ชั่วโมง	Control	10.73
	Single x-ray	11.23
	Repeated x-ray	11.37
96 ชั่วโมง	Control	21.03
	Single x-ray	24.50
	Repeated x-ray	22.17

และเมื่อนำข้อมูลมากทำเป็นแผนภูมิตพบว่า จากแผนภูมิที่ 5-7 ระดับของ early apoptotic มีค่าเพิ่มขึ้นทั้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มฉายรังสีเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นหลังจากฉายรังสี ซึ่งแสดงให้เห็น เวลาที่เพิ่มขึ้นและผลจากการใช้รังสีล้วนมีต่อการตายแบบ early apoptotic

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

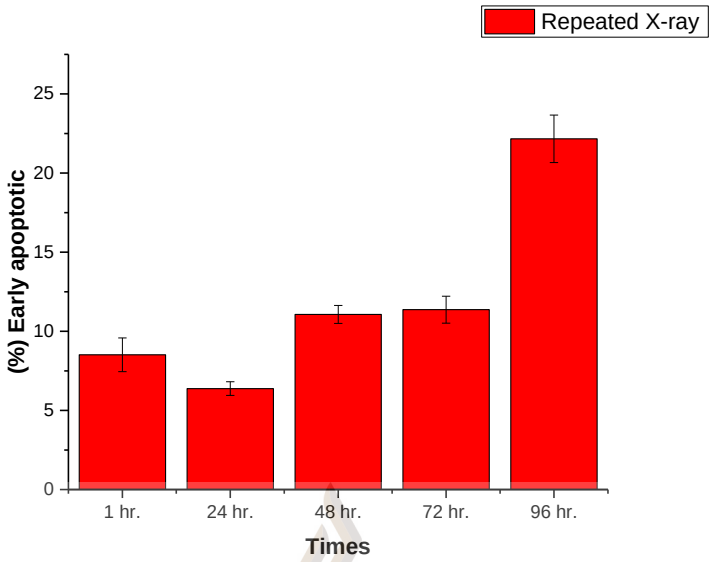


แผนภูมิที่ 5 แสดงเปอร์เซ็นต์ early apoptotic ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในกลุ่มควบคุม (ไม่ฉายรังสี)



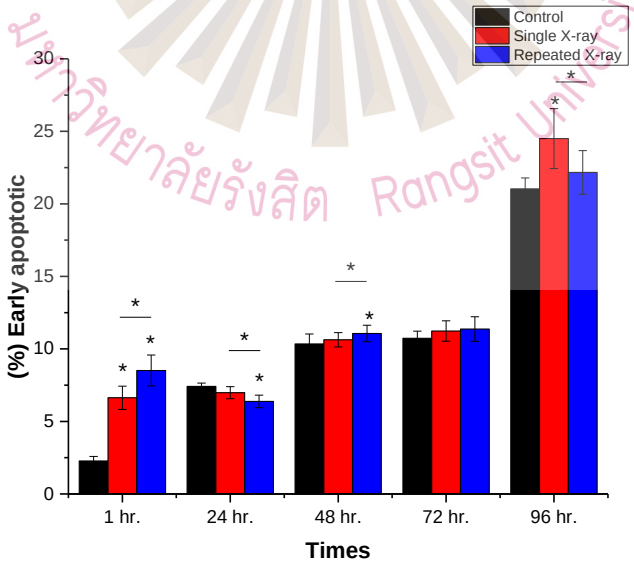
แผนภูมิที่ 6 แสดงเปอร์เซ็นต์ early apoptotic ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในการฉายรังสี 1 ครั้ง (single x-ray)

มหาวิทยาลัยราชภัฏ Rajabhat University



แผนภูมิที่ 7 แสดงเปอร์เซ็นต์ early apoptotic ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในการฉายรังสีซ้ำ 1 ครั้ง (repeated x-ray)

และทำการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ early apoptotic ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ที่เวลา 1 ชั่วโมง ระดับของ early apoptotic เพิ่มขึ้นเมื่อมีการฉายรังสีแบบ single x-ray และเพิ่มมากขึ้นสูงสุดเมื่อมีการฉายแบบ repeated x-ray และเมื่อที่เวลา 24 -96 ชั่วโมง ระดับของ early apoptotic จะมีค่าใกล้ๆเคียงกัน และที่ 24, 48 และ 96 ชั่วโมง พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากกลุ่มควบคุม ดังแผนภูมิที่ 8

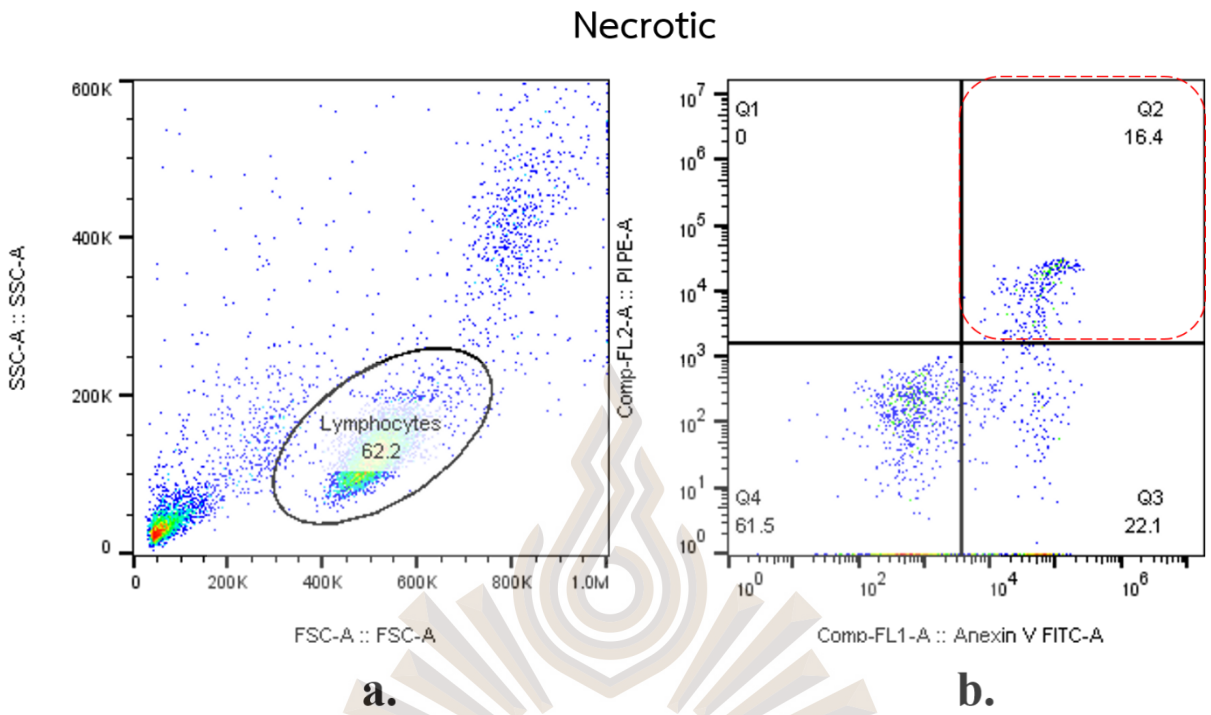


แผนภูมิที่ 8 แสดงเปอร์เซ็นต์ early apoptotic ที่ระยะเวลาต่าง ๆ

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

กระบวนการตายแบบ necrotic

โดยดูการย้อมติดทั้ง Annexin V FITC และ PI โดยเซลล์จะอยู่ใน quadrant ที่ 2 ดังภาพที่ 20b



ภาพที่ 20 (a) Dotpot แสดง cell population ในกลุ่มเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดียว (b) Biparametric dotpot แสดง Quadrant (Q1-4) ของเซลล์ โดยใน Q2: necrotic cells

ข้อมูลเซลล์ที่มีระดับของ early apoptotic ดังแสดงในตารางที่ 4 แสดงระดับ necrotic ที่เวลาและปริมาณรังสีจากการถ่ายแบบต่าง ๆ (single และ repeated x-ray)

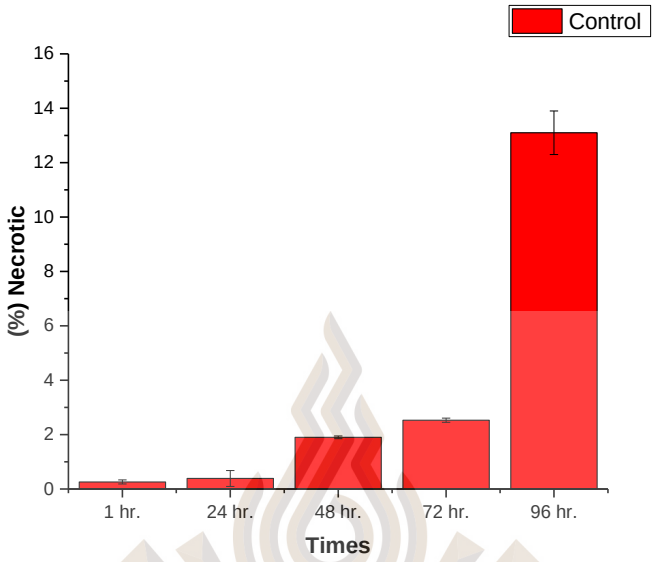
มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ตาราง 4 เปอร์เซ็นต์ในการติด annexin V-FITC (necrotic)

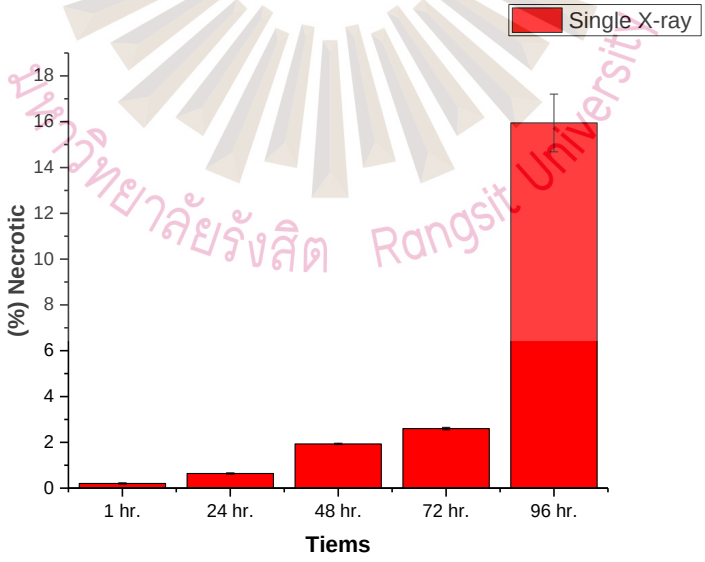
Time	Technique	% necrotic (Q2)
1 ชั่วโมง	Control	0.26
	Single x-ray	0.20
	Repeated x-ray	0.06
24 ชั่วโมง	Control	0.39
	Single x-ray	0.64
	Repeated x-ray	0.85
48 ชั่วโมง	Control	1.90
	Single x-ray	1.93
	Repeated x-ray	1.71
72 ชั่วโมง	Control	2.53
	Single x-ray	2.60
	Repeated x-ray	2.31
96 ชั่วโมง	Control	13.10
	Single x-ray	15.95
	Repeated x-ray	15.83

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

จากข้อมูลการทดลอง เพื่อดูระดับ necrotic จากแผนภูมิที่ 9-11 ทั้งเวลาและปริมาณรังสีมีผลทำให้ตายแบบ necrotic เพิ่มขึ้น โดยพบว่าระดับ necrotic จะเพิ่มมากขึ้นสูงสุดที่ 96 ชั่วโมง

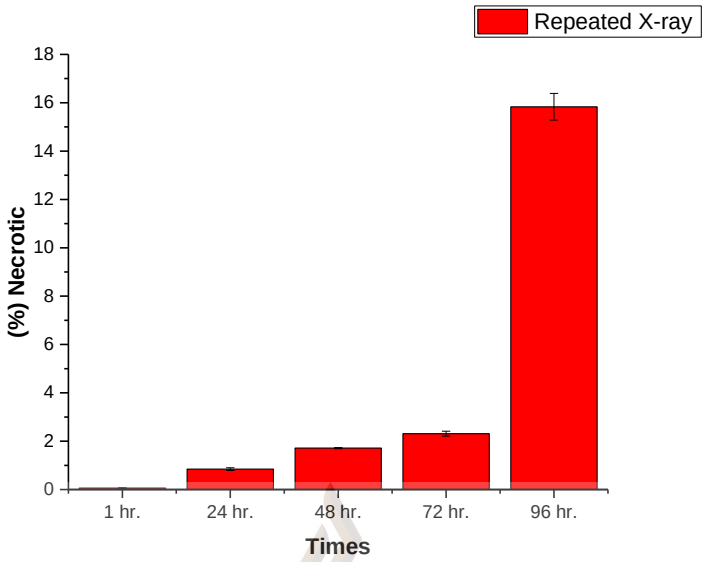


แผนภูมิที่ 9 แสดงเปอร์เซ็นต์ necrotic ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในกลุ่มควบคุม (ไม่ฉายรังสี)



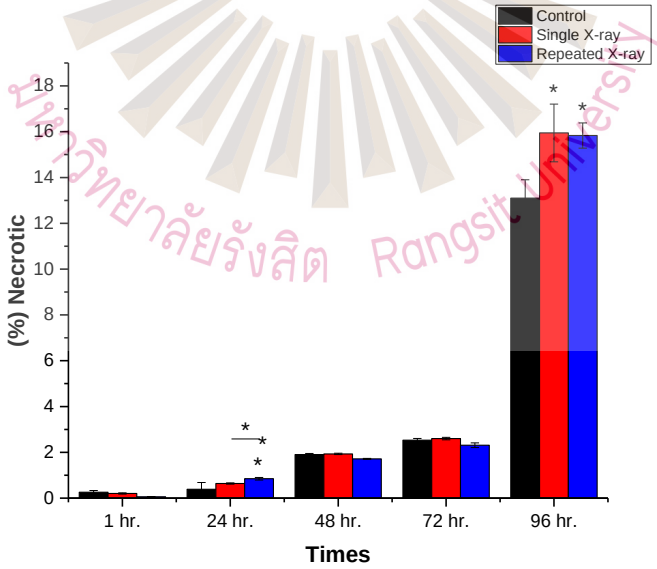
แผนภูมิที่ 10 แสดงเปอร์เซ็นต์ necrotic ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในการฉายรังสี 1 ครั้ง (single x-ray)

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University



แผนภูมิที่ 11 แสดงเปอร์เซ็นต์ necrotic ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในการฉายรังสีซ้ำ 1 ครั้ง (repeated x-ray)

และเมื่อดูระดับของ necrotic ภายในเซลล์ ที่ระยะเวลาต่าง ๆ เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มฉายรังสี จะเห็นว่าที่ 24 และ 96 ชั่วโมง การฉายรังสีแบบ single x-ray และ repeated x-ray แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มไม่ฉายรังสี ซึ่งผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การให้รังสีปริมาณต่ำสำหรับการถ่ายภาพเอกซ์เรย์ทั่วไป (plain film) รวมถึงการถ่ายรังสีซ้ำ (repeated x-ray) อาจส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเซลล์ในระดับห้องทดลอง (*in vitro*)



แผนภูมิที่ 12 แสดงเปอร์เซ็นต์ necrotic ที่ระยะเวลาต่าง ๆ

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

จากผลการทดลองจะเห็นว่า ปริมาณรังสีที่ใช้สำหรับการถ่ายภาพเอกซเรย์ทั่วไป (plain film) เป็นปริมาณรังสีที่อยู่ในระดับต่ำ ซึ่งถือว่าเป็นระดับรังสีที่สามารถใช้ได้อย่างปลอดภัย แต่ถ้ามีการใช้เกิดความจำเป็นก่ออย่างเกิดผลกระทบต่อร่างกายได้ โดยเฉพาะ ผลการทดลองดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าการทดลองระดับเซลล์ เป็นการทดลองและสามารถเห็นผลกระทบที่มีต่อเซลล์ในได้ระดับ early phase ซึ่งถือว่าเป็นระยะที่เห็นการเปลี่ยนแปลงได้อย่างชัดเจน และหลังจากนั้น ระบบเซลล์จะมีการระบบการป้องกันตัวอย่าง ขึ้นอยู่กับสภาวะแวดล้อมที่อยู่ในขณะนั้น

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

บทที่ 5
สรุป วิจารณ์ และข้อเสนอแนะ

สรุป

จากผลการทดลองผลของรังสีปริมาณต่ำที่ใช้สำหรับการถ่ายภาพเอกซเรย์ทรวงอกซึ่งเป็นการวิเคราะห์รอยโรคขั้นพื้นฐานสำหรับในทางรังสีวิทยา และปัจจุบันการติดตามรอยโรคจากการถ่ายภาพเอกซเรย์ทรวงอกยังเป็นปัจจัยสำคัญและจะกระทำก่อนกระบวนการเข้าสู่กับการตรวจอย่างละเอียดในขั้นตอนต่อไป

ในปัจจุบันถึงมีการใช้การถ่ายเอกซเรย์ทรวงจึงถือว่าการใช้ปริมาณรังสีระดับต่ำในการวินิจฉัยรอยโรคขั้นแรก ง่ายและสะดวกรวดเร็วที่สุด แต่ผลที่มีต่อระดับเซลล์ก่อยังคงมีการศึกษากันอย่างต่อเนื่อง โดยในงานวิจัยนี้ ได้ทดลองเกี่ยวกับการถ่ายเอกซเรย์ทรวงอก โดยเฉพาะเมื่อมีการถ่ายซ้ำ อาจจะทำให้ผู้ป่วยหรือผู้เข้ารับบริการได้รับปริมาณรังสีเพิ่มจากที่เดิมที่ต้องถ่ายเอกซเรย์แค่ครั้งเดียว และยิ่งในผู้ป่วยเด็กและผู้ป่วยชราที่สามารถควบคุมตนเองได้ตามต้องการ อาจจะทำให้ภาพเอกซเรย์ที่ออกมามีความสั่นไหวและสาเหตุหนึ่งที่ต้องถ่ายเอกซเรย์ ณ ตำแหน่งนั้น

โดยผลจากการทดลองในระดับเซลล์ (*in vitro*) พบว่ามีเมื่อมีการฉายเอกซเรย์ทั้ง single x-ray และ repeated x-ray ล้วนมีผลทำให้เซลล์มีระดับความเครียดภายในเซลล์เพิ่มขึ้นรวมถึงเมื่อพิจารณาถึงการตายแบบ early apoptotic และ necrotic ผลจากการใช้ปริมาณรังสีจากการถ่ายเอกซเรย์ทรวงอก ยังส่งผลทำให้มีการเกิดการตาย โดยมีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

แต่แนวโน้มระยะเวลาจะมีผลต่อระดับความเครียดภายในเซลล์ด้วย โดยจะเห็นได้ว่า ระดับของความเครียดภายในเซลล์จะลดลงทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มฉายรังสีเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น ซึ่งตรงกันข้ามกับระดับการตายแบบ early apoptotic และ necrotic ที่เพิ่มมากขึ้นเรื่อยตามเวลาที่เพิ่มขึ้น ทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มฉายรังสี อย่างไรก่อตามเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มฉายรังสีก่อพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทุกช่วงเวลา

สรุปการทดลองในครั้งนี้จึงได้ข้อสรุปเกี่ยวกับผลของรังสีที่ใช้สำหรับการถ่ายเอกซเรย์ทรวงอกโดยเฉพาะปัญหาจากการถ่ายซ้ำ โดยมีผลทำให้ปริมาณรังสีสะสมภายในเซลล์เพิ่มขึ้นมากขึ้น โดยพบว่าการถ่ายเอกซเรย์ซ้ำมีผลต่อระดับความเครียดภายในเซลล์รวมถึงภาวะการตายแบบ apoptotic cells ในเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดียว (peripheral blood mononuclear cells) การศึกษานี้จะทำให้ทราบการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์ระดับห้องทดลอง (*in vitro*) ความรู้จากผลของรังสีที่มีต่อเซลล์สามารถนำไปพัฒนาในรูปแบบ ของงานวิจัยที่ต้องศึกษาเกี่ยวกับการปกป้องเซลล์จากอันตรายของรังสี และยังเป็นความรู้ต่อนักรังสีที่มีการใช้รังสีในวิชาชีพ เพื่อความปลอดภัยต่อตัวเองรวมถึงผู้ที่เข้ารับบริการในแผนกรังสีวิทยา

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

วิจารณ์

ผลจากการทดลองจะเห็นได้ว่าถึงแม้ระดับปริมาณรังสีจากการถ่ายภาพเอกซเรย์ทั่วไป จะอยู่ในระดับต่ำ และไม่สามารถเห็นการเปลี่ยนแปลงในระดับกายวิภาคระดับใหญ่ได้ แต่เมื่อดูในระดับเซลล์จะเห็นการเปลี่ยนที่เกิดขึ้นมากมาย

โดยการเปลี่ยนภาวะเซลล์เครียดในระดับเซลล์โดยทั่วไปแล้วจะมีการศึกษาอย่างกว้างขวางในการใช้ปริมาณรังสีค่อนข้างสูง เช่น ในรังสีรักษาในงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าผลจากปริมาณรังสีที่ใช้มีผลทำให้เพิ่มระดับความเครียดภายในเซลล์มะเร็งและอาจส่งผลให้เกิดการดื้อต่อรังสีของเซลล์ (radioresistance) (Kim et al., 2019) และในการศึกษารังสีปริมาณต่ำต่อเซลล์ปกติยังพบว่ามีผลต่อระดับความเครียดภายในเซลล์และยังลดการแบ่งตัวของเซลล์โดยการศึกษาในเซลล์ hematopoietic stem cells (HSCs) (Rodrigues-Moreira et al., 2017) และจากการศึกษาการตายของเซลล์จากการใช้ปริมาณรังสีมีผลสอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมา ที่แสดงให้เห็นว่า รังสีนั้นมีผลกระทบต่อการตายของเซลล์แบบ apoptotic และ necrotic cells โดยมีการศึกษาเกี่ยวรังสีแกมม่าพลังงานต่ำ มีผลทำให้เซลล์ต้นกำเนิดมีฟังก์ชั่นการทำงานที่ลดลง (Nagle et al., 2018) รวมถึงการใช้ปริมาณรังสีต่ำบ่อย ๆนั้น อาจเป็นสาเหตุของการนำมาสู่ความเสียหายในดีเอ็นเอ (DNA damage) ใน hippocampal neurons (Schmal et al., 2019) และการศึกษาในระดับสัตว์ทดลอง ยังพบว่าผลระยะยาวจากการใช้ รังสีพลังงานต่ำมีผลต่อระบบ ภูมิคุ้มกัน (immune system) ความผิดปกติของสมอง (abnormal brain development) การเกิดต้อกระจก (cataractogenesi) ระบบหมุนเวียนเลือดผิดปกติ (circulatory diseases) น้ำหนักลด (weight gain) รวมถึงอายุขัยลดลง (shortened lifespan) (Tang, Loke, & Khoo, 2017)

ซึ่งจะเห็นว่าผลกระทบจากการใช้รังสีพลังงานต่ำมีความน่าสนใจ เนื่องจากมีผลกระทบในระดับเซลล์ค่อนข้างเยอะ และอยากมีส่งผลร้ายแรงเมื่อเวลาผ่านไป การที่จะสามารถวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงได้ในระดับ early phase จึงเป็นที่จะสามารถทำนายผลที่จะเกิดขึ้นตามได้นะ รวมถึงใช้หลักการปกป้องให้เกิดความปลอดภัยกับผู้รับบริการทางรังสีวิทยาให้มากที่สุด

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ข้อเสนอแนะ

ผลจากการศึกษาในครั้งนี้ได้เก็บเซลล์ตัวอย่างมาจากอาสาสมัครสุขภาพดี เพื่อให้ผลการทดลองสำหรับกลุ่มคนปกติ และเป็นการศึกษาในระดับห้องทดลอง เนื่องจากการศึกษาผลของรังสีในผู้ป่วยโดยตรงอาจจะทำให้ผู้ป่วยได้รับความเสี่ยงจากรังสี ซึ่งการใช้เซลล์ดังกล่าวมีข้อดี ที่สามารถติดตามการเปลี่ยนแปลงได้โดยเร็ว รวมถึงสามารถต่อยอดงานวิจัยทางด้านรังสีชีววิทยา (radiobiology) และงานวิจัยนี้จะเป็นองค์ความรู้เกี่ยวกับการตะหนักถึงการใช้รังสีรวมถึงในปกป้องรังสีที่มีปริมาณต่ำ

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

เอกสารอ้างอิง

Azzam, E. I., Jay-Gerin, J.-P., & Pain, D. (2012). Ionizing radiation-induced metabolic oxidative stress and prolonged cell injury. *Cancer letters,* 327(1-2), 48-60.

Benjamaporn Supawat, & Tungjai, M. (2015). The effect of low dose X-ray on cell proliferation and cell cycle of lymphocyte. *Research article,* 21(21), 1-21.

Dalle-Donne, I., Rossi, R., Colombo, R., Giustarini, D., & Milzani, A. (2006). Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clinical chemistry,* 52(4), 601-623.

Gubert, C., Stertz, L., Pfaffenseller, B., Panizzutti, B. S., Rezin, G. T., Massuda, R., . . . Kunz, M. (2013). Mitochondrial activity and oxidative stress markers in peripheral blood mononuclear cells of patients with bipolar disorder, schizophrenia, and healthy subjects. *Journal of psychiatric research,* 47(10), 1396-1402.

Kim, W., Lee, S., Seo, D., Kim, D., Kim, K., Kim, E., . . . Youn, B. J. C. (2019). Cellular stress responses in radiotherapy. 8(9), 1105.

Little, J. B. (2000). Radiation carcinogenesis. *Carcinogenesis,* 21(3), 397-404.

Nagle, P. W., Hosper, N. A., Barazzuol, L., Jellema, A. L., Baanstra, M., van Goethem, M.-J., . . . van Luijk, P. J. C. C. R. (2018). Lack of DNA damage response at low radiation doses in adult stem cells contributes to organ dysfunction. 24(24), 6583-6593.

Pochano, S., Noitana, K., Tungjai, M., & Udomtanakunchai, C. (2019). Effects of Low-Dose X-ray on Oxidative State, Lipid Peroxidation, and Membrane Fluidity of Human Peripheral Blood Mononucleated Cells. *Journal of Associated Medical Sciences,* 52(3), 193-198.

Rodrigues-Moreira, S., Moreno, S. G., Ghinatti, G., Lewandowski, D., Hoffschir, F., Ferri, F., . . . Yamamoto, M. J. C. r. (2017). Low-dose irradiation promotes persistent oxidative stress and decreases self-renewal in hematopoietic stem cells. 20(13), 3199-3211.

Rothkamm, K., & Löbrich, M. (2003). Evidence for a lack of DNA double-strand break repair in human cells exposed to very low x-ray doses. *Proceedings of the National Academy of Sciences,* 100(9), 5057-5062.

Schmal, Z., Isermann, A., Hladik, D., von Toerne, C., Tapio, S., Rübe, C. E. J. R., & Oncology. (2019). DNA damage accumulation during fractionated low-dose radiation compromises

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

hippocampal neurogenesis. 137, 45-54.

Tang, F. R., Loke, W. K., & Khoo, B. C. J. J. o. r. r. (2017). Low-dose or low-dose-rate ionizing radiation–induced bioeffects in animal models. 58(2), 165-182.

Tungjai, M., Poompimon, W., Loetchutinat, C., Kothan, S., Dechsupa, N., & Mankhetkorn, S. (2008). Spectrophotometric characterization of behavior and the predominant species of flavonoids in physiological buffer: determination of solubility, lipophilicity and anticancer efficacy. *The open drug delivery journal,* 2, 10-19.

Uttara, B., Singh, A. V., Zamboni, P., & Mahajan, R. (2009). Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. *Current neuropharmacology,* 7(1), 65-74.

ลี้, ส. ห. ก. เ. (2018). การ วิเคราะห์ ภาพ ดิจิตอล ทาง รังสี ที่ ไม่ สามารถ นำ ไป วินิจฉัย โรค ได้ (reject image) โรง พยาบาล นครปฐม. *PRIMARY HEALTH CARE DIVISION JOURNAL*-วารสาร สุขภาพ ภาค ประชาชน, 12(4).

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ภาคผนวก

ประวัติผู้วิจัย



คำนำหน้า ☑ ☐ นาย ❒ นาง ❒ นางสาว

ตำแหน่งทางวิชาการ ❒ ศ. ❒ รศ. ❒ ผศ. อื่นๆ อาจารย์

ชื่อผู้วิจัย ณัฐพงศ์

นามสกุลผู้วิจัย ด่านธนวัฒน์

ชื่อภาษาอังกฤษ NUTTAPONG

นามสกุลภาษาอังกฤษ DANTHANAVAT

วัน/เดือน/ปี เกิด 03/09/2527

ที่อยู่(บ้าน) 29/192 ซ.35 หมู่บ้านพฤกษาวิลล์สายไหม 64 ถ.สายไหม เขต สายไหม กรุงเทพ

รหัสไปรษณีย์ 10220

โทรศัพท์(บ้าน) –

แฟ็กซ์(บ้าน) –

ที่อยู่(ที่ทำงาน) คณะรังสีเทคนิค มหาวิทยาลัยรังสิต 52/347 พหลโยธิน 87 ถ.พหลโยธิน อ.เมือง

จังหวัด(ที่ทำงาน) ปทุมธานี

รหัสไปรษณีย์(ที่ทำงาน) 12000

โทรศัพท์(ที่ทำงาน) 02-791-6000 ต่อ 1704

แฟ็กซ์(ที่ทำงาน) 02-791-6000 ต่อ 1723

E-Mail Address: Nuttapong.d@rsu.ac.th

ปริญญาตรี

สาขา วิทยาศาสตร์บัณฑิต (รังสีเทคนิค)

ปีที่จบ 2549

สถาบัน คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล

ประเทศ ไทย

ปริญญาโท

สาขา ฉายาเวชศาสตร์

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ปีที่จบ 2556

สถาบัน คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประเทศ ไทย

ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์วารสารภายในประเทศ

-

ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์วารสารต่างประเทศ

ผลงานที่ได้นำสนอในการประชุมวิชาการภายในประเทศ

-

ผลงานวิจัยที่นำเสนอในการประชุมวิชาการในต่างประเทศ

-

ผลงานวิจัยที่ได้รับรางวัล

-

บทความทางวิชาการที่ตีพิมพ์ในวารสาร

-

สาขาวิชาที่นักวิจัยเชี่ยวชาญ

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University