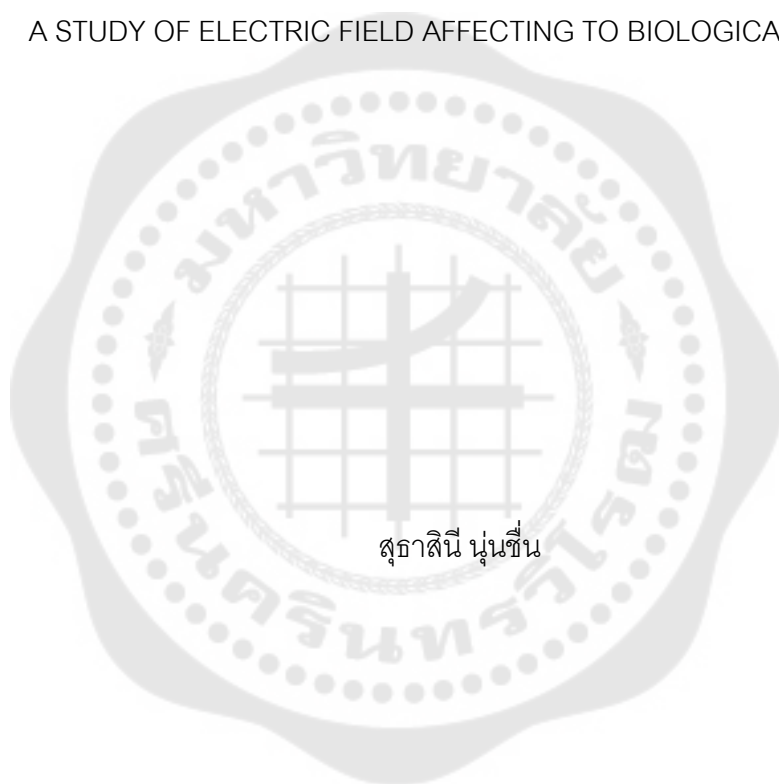




การศึกษาผลกระทบของสนามไฟฟ้าในเซลล์มนุษย์
A STUDY OF ELECTRIC FIELD AFFECTING TO BIOLOGICAL CELLS



สุธาสินี นุ่นชื่น

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

2562

การศึกษาผลกระทบของสนามไฟฟ้าในเซลล์มนุษย์



ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมไฟฟ้า
คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ปีการศึกษา 2562
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

A STUDY OF ELECTRIC FIELD AFFECTING TO BIOLOGICAL CELLS



SUTHASINEE NUNCHUEN

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of MASTER OF ENGINEERING

(Electrical Engineering)

Faculty of Engineering, Srinakharinwirot University

2019

Copyright of Srinakharinwirot University

ปริญญานิพนธ์
เรื่อง
การศึกษาผลกระทบของสนามไฟฟ้าในเซลล์มนุษย์
ของ
สุธาสินี นุ่นชื่น

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวិศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมไฟฟ้า
ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ฉัตรชัย เอกปัญญาสกุล)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์

..... ที่ปรึกษาหลัก	 ประธาน
(รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิพล ธาราธิรเศรษฐ์)	(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชัยยันต์ เจตนาเสน)
..... ที่ปรึกษาร่วม	 กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วัลยา ธเนศพงศ์ธรรม)	(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมภาพ รอดอัมพร)

ชื่อเรื่อง	การศึกษาผลกระทบของสนามไฟฟ้าในเซลล์มนุษย์
ผู้วิจัย	สุภาสินี นุ่นชื่น
ปริญญา	วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
ปีการศึกษา	2562
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. วุฒิพล ธาราธิระเศรษฐ์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วลัยยา ธเนศพงศ์ธรรม

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับสนามไฟฟ้าสถิตที่ส่งผลกระทบต่อเซลล์มนุษย์โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ส่วน ซึ่งในส่วนแรกจะนำเสนอการสร้างตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่มีสนามไฟฟ้าสถิตปรับค่าได้ ซึ่งควบคุมอุณหภูมิภายในตู้ให้คงที่อยู่ที่ 37 องศาเซลเซียส ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 5% และมีความชื้นสัมพัทธ์ภายในตู้ให้เป็นไปตามข้อกำหนดมาตรฐานรวมไปถึงการสร้างอุปกรณ์ผลิตสนามไฟฟ้าสถิตโดยแผ่นอิเล็กโทรดคู่ขนานไว้ภายในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ จากผลการทดลองส่วนที่หนึ่ง ตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่นำเสนอมีอัตราการเจริญเติบโตของเซลล์ใกล้เคียงกับตู้เพาะเลี้ยงเซลล์มาตรฐาน ซึ่งสามารถสรุปได้ว่าประสิทธิภาพของตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่นำเสนอ นั้นเชื่อถือได้เมื่อเทียบกับตู้เพาะเลี้ยงเซลล์มาตรฐานรวมไปถึงต้นทุนการผลิตที่ต่ำกว่ามาก สำหรับการทดลองส่วนที่สองได้ทำการทดลองสนามไฟฟ้าสถิตที่ความเข้ม 15 kV/m สัมผัสกับเซลล์มะเร็งปอด (A549 cells) ซึ่งใช้เป็นตัวแทนเซลล์มนุษย์ ถูกสัมผัสอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 4 และ 8 ชั่วโมงภายในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่นำเสนอ เพื่อวิเคราะห์ปริมาณเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่ และลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยใช้วิธี MTT assay และ Fluorescence microscope ตามลำดับ จากผลการทดลองในส่วนที่สองแสดงให้เห็นว่าอัตราการรอดชีวิตของเซลล์ที่สัมผัสสนามไฟฟ้าสถิตอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 4 และ 8 ชั่วโมงนั้นต่ำลงเมื่อเทียบกับเซลล์ที่ไม่ได้รับการสัมผัสสนามไฟฟ้าสถิต ดังนั้นสนามไฟฟ้าสถิตมีผลต่ออัตราการรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งปอด (A549 cells)

คำสำคัญ : สนามไฟฟ้าสถิต เซลล์มะเร็งปอด ตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ สายส่งไฟฟ้าแรงสูงกระแสตรง

Title	A STUDY OF ELECTRIC FIELD AFFECTING TO BIOLOGICAL CELLS
Author	SUTHASINEE NUNCHUEN
Degree	MASTER OF ENGINEERING
Academic Year	2019
Thesis Advisor	Associate Professor Dr. Vuttipon Tarateeraseth
Co Advisor	Assistant Professor Dr. Wanlaya Tanechpongthamb

This study presents the effects of human cells exposed to static electric field and divided into two parts. In the first part, the Do-it-Yourself (DIY) CO₂ incubator with an adjustable static electric field was designed and implemented. The temperature of the DIY CO₂ incubator was controlled at 37 °C where the CO₂ was controlled at 5%, according to standard requirements. The static electric field generated by aluminum parallel plates (electrodes) was installed in the DIY CO₂ incubator. From the results of the experiment, it can be concluded that the cell growth rate is similar to that of the standard CO₂ incubator. The performance of the DIY CO₂ incubator is reliable compared to the standard CO₂ incubator with much lower production cost. For the second part, lung cancer cells (A549 cells), a representative of human cells, were exposed to the static electric field at an intensity of 15 kV/m for four and eight hours, respectively. The cells were analyzed for cell viabilities and morphology cells by MTT assay and fluorescence microscopy, respectively. The experiments were compared with non-treated cells. In addition, the results of second part showed that the static electric field exposed to cells for four and eight hours caused fewer cell viabilities than non-treated cells. The survival rate of the cells significantly decreased when exposed to the static electric field.

Keyword : Static electric field Biological cells CO₂ incubator High-voltage direct current transmission lines

กิตติกรรมประกาศ

ปริญญานิพนธ์นี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาจาก รศ.ดร.วุฒิพล ธาราธิรเศรษฐ์ และ ผศ.ดร.วัลยา ธเนศพงศ์ธรรม อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญานิพนธ์ที่ได้กรุณาเสียสละเวลาอันมีค่าเพื่อให้คำปรึกษา คำแนะนำ ตรวจสอบแก้ไขความเรียบร้อย ตลอดจนการชี้แนะในการหาคำตอบในปัญหาต่างๆ ระหว่างจัดทำปริญญานิพนธ์นี้ด้วยความเอาใจใส่อย่างยิ่ง ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ

ขอขอบพระคุณนายศักดิ์พงศ์ พันธุ์ไผ่ ที่เป็นผู้ให้ความช่วยเหลือให้ข้อมูล ความรู้เรื่อง ทฤษฎีและหลักการชีววิทยา และข้อเสนอแนะต่างๆ ทำให้ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ และบุคลากรในภาควิชาวิศวกรรมไฟฟ้า คณะวิศวกรรมศาสตร์ และภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒทุกท่าน ที่ได้กรุณาประสิทธิ์ประสาทความรู้ต่างๆ ให้แก่ผู้วิจัย ตลอดจนให้ความช่วยเหลือในด้านสถานที่สำหรับการทำงานวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณนางสาวจินตภา จันทสี นางสาวณิดา เจริญปรีดี และนางสาววรัชยา คำร้อยรวมไปถึงเจ้าหน้าที่ เพื่อนร่วมงาน พี่ๆ และน้องๆ ภาควิชาวิศวกรรมไฟฟ้า และภาควิชาชีวเคมี รวมถึงบุคคลอีกหลายท่าน ที่ไม่ได้กล่าวนามไว้ ณ ที่นี้ที่ได้ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจให้กับผู้วิจัยมาโดยตลอด

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยขอขอบพระคุณทุกคนในครอบครัวที่ให้การสนับสนุน กำลังใจในการทำวิจัยครั้งนี้ตลอดมา และหวังเป็นอย่างยิ่งว่าปริญญานิพนธ์ฉบับนี้จะเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจนำไปศึกษา ไม่มากก็น้อยต่อไป ความดีและประโยชน์ใดๆ จากปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ขอมอบให้กับผู้มีพระคุณทุกท่านที่ได้กล่าวมาทั้งหมด

สุธาสินี นุ่นชิน

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญรูปภาพ	ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย.....	1
วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	3
ขอบเขตของงานวิจัย	4
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (Literature reviews)	5
1.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสร้างอุปกรณ์การทดลองสำหรับงานวิจัยนี้.....	5
1.2 งานวิจัยในด้านผลกระทบของสนามไฟฟ้าต่อสุขภาพมนุษย์.....	6
2 ระบบการส่งจ่ายกำลังไฟฟ้ากระแสตรง (HVDC Transmission lines)	11
2.1 ประวัติของการส่งจ่ายกำลังไฟฟ้าแบบ HVDC.....	12
2.2 ต้นทุนของระบบ HVDC.....	13
2.2 ต้นทุนของระบบ HVDC.....	13
2.3 ระบบ HVDC ในประเทศไทย	13
2.4 ความมั่นคงด้านพลังงานร่วมกันของประเทศไทยกับประเทศมาเลเซีย	17

2.5 การซื้อขายไฟฟ้าระหว่างประเทศไทยกับประเทศมาเลเซีย.....	17
3 สนามไฟฟ้า (Electric field).....	18
3.1 เส้นแรงไฟฟ้า (Electric line of force).....	18
3.2 สนามไฟฟ้าสม่ำเสมอ (Uniform field).....	18
3.3 คุณสมบัติทางไฟฟ้าของวัสดุ (Electrical Properties).....	20
4 ทฤษฎีเซลล์ (Cell Theory)	22
4.1 ประเภทของเซลล์แบ่งได้เป็น 2 ชนิด	23
4.2 การแบ่งเซลล์ (Cell division)	23
4.3 การตายของเซลล์ (Cell death)	27
4.4 โครงสร้างปอด	28
4.5 มะเร็งปอด	31
4.6 Tissue Culture	33
4.7 ชนิดของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	34
4.8 สภาพแวดล้อมของการเพาะเลี้ยงเซลล์	37
4.9 การตรวจคุณลักษณะของเซลล์ (characterization).....	39
4.10 การตรวจสอบเอกลักษณ์ (Identity).....	41
4.11 การตรวจวิเคราะห์ความบริสุทธิ์ และการปนเปื้อน (purity and impurity)	42
4.12 การตรวจวิเคราะห์ความปลอดภัย (safety)	43
4.13 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์.....	45
4.14 รายละเอียดคุณลักษณะเฉพาะ	50
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย.....	54
1 การออกแบบตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่าย CO ₂ Incubator ที่มีเครื่องกำเนิดไฟฟ้าสถิตแบบปรับ ค่าได้	54

1.1 การออกแบบตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ CO ₂ Incubator	54
1.1.1 วัสดุและอุปกรณ์.....	55
1.1.2 หลักการทำงานของตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่าย CO ₂ Incubator	57
1.2 การออกแบบสนามไฟฟ้าสถิตปรับค่าได้ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ CO ₂ Incubator	59
1.2.1 หลักการทำงานของเครื่องกำเนิดไฟฟ้าแรงสูงกระแสตรงรุ่น CX-120A	60
1.2.2 การตรวจสอบความถูกต้องของเครื่องกำเนิดไฟฟ้าสถิตแบบปรับค่าได้.....	62
2 การเตรียมเซลล์มะเร็งปอดสำหรับการทดลองเพื่อตรวจประสิทธิภาพของตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่ นำเสนอ	64
2.1 วัสดุและอุปกรณ์	64
2.2 การเพาะเลี้ยงเซลล์ (Cell culture).....	66
2.3 การ Subculture หรือ pass cell ด้วยเอนไซม์ Trypsin (Trypsinization).....	66
2.4 การนับจำนวนเซลล์ (hemocytometer cell counting)	67
3 การตรวจสอบคุณภาพของตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่าย (DIY CO ₂ Incubator) ที่นำเสนอ	68
วิธีการทดลอง.....	71
4 การออกแบบการทดลองระหว่างสนามไฟฟ้าสถิตกับเซลล์มะเร็งปอด (A549 cells).....	71
4.1 วิธีการทดลอง	74
4.2 ขั้นตอนการทำ MTT assay	74
4.3 ขั้นตอนการทำ Fluorescence microscopy	76
บทที่ 4 ผลการดำเนินงานวิจัย.....	78
1 ผลการประเมินความสามารถในการสร้างสนามไฟฟ้า	78
2 ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลองการประเมินประสิทธิภาพของตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่ นำเสนอ (DIY CO ₂ Incubator)	81
3 ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลองการศึกษาสนามไฟฟ้าสถิตกับ A549 cells.....	85
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	91

สรุปผลการประเมินประสิทธิภาพของตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่นำเสนอ DIY CO ₂ Incubator	91
สรุปผลการวิจัยการทดลองสแนมไฟฟ้าสถิตกับเซลล์มะเร็งปอด (A549 cells)	91
ข้อเสนอแนะ	92
บรรณานุกรม	94
ประวัติผู้เขียน.....	104



สารบัญตาราง

หน้า

ตาราง 1 รายละเอียดของระบบ HVDC ของประเทศไทย (S. Sakdhnagool; C. H. Wong; C. Bartsch)	15
ตาราง 2 สภาพความต้านทานไฟฟ้า และสภาพการนำไฟฟ้าของวัสดุต่าง ๆ	21
ตาราง 3 ข้อดีและข้อเสียของ primary cultures และ continuous cells line(รัตนเกียรติ์).....	36
ตาราง 4 การตรวจสอบการรอดชีวิตของเซลล์เพาะเลี้ยง(กระทรวงสาธารณสุข, 2013)	40
ตาราง 5 คุณลักษณะของเซลล์ที่ใช้ในการทดลอง (ATCC).....	64
ตาราง 6 แรงดันตกคร่อมระหว่างแผ่นตัวนำอิเล็กโทรดที่ได้จากการวัด	79
ตาราง 7 ค่าสนามไฟฟ้าที่ได้จากการคำนวณ.....	80
ตาราง 8 จำนวนเซลล์จากตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ตามมาตรฐาน (STD CO ₂ Incubator)และตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่าย (DIY CO ₂ Incubator).....	84
ตาราง 9 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของ A549 cells วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ OD 570 nm.....	89

สารบัญรูปภาพ

หน้า

ภาพประกอบ 1 ระบบเชื่อมโยงไฟฟ้า HVDC ระหว่างประเทศไทยและมาเลเซีย	16
ภาพประกอบ 2 แบบไฟฟ้า Single line diagram ระบบ HVDC เชื่อมต่อโครงข่ายไทย - มาเลเซีย	16
ภาพประกอบ 3 (ก) แผ่นตัวนำคู่ขนาน (ข) ทิศของสนามไฟฟ้า (ค) สนามไฟฟ้าสม่ำเสมอ	19
ภาพประกอบ 4 (ก) โครงสร้างเซลล์สัตว์ (ข) โครงสร้างเซลล์พืช	23
ภาพประกอบ 5 แบบจำลองการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส (mitosis)	24
ภาพประกอบ 6 ตัวอย่างการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส (mitosis)	24
ภาพประกอบ 7 ขั้นตอนของการแบ่งนิวเคลียส (nucleus)	25
ภาพประกอบ 8 การแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส (mitosis)	26
ภาพประกอบ 9 แบบจำลองการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส (meiosis)	27
ภาพประกอบ 10 การตายของเซลล์แบบ Necrosis และ Apoptosis	28
ภาพประกอบ 11 โครงสร้างปอด	29
ภาพประกอบ 12 เซลล์ปกติ และเซลล์มะเร็ง	30
ภาพประกอบ 13 ชนิดของมะเร็งปอด	32
ภาพประกอบ 14 ลักษณะรูปร่างของเซลล์เพาะเลี้ยง (ก) Fibroblast-like cells (ข) Epithelial-like cells (ค) Lymphoblast-like cells	34
ภาพประกอบ 15 การเตรียม primary culture และ continuous culture และการพัฒนาให้เกิด cell line	35
ภาพประกอบ 16 Laminar flow hood	45
ภาพประกอบ 17 Centrifuge	46
ภาพประกอบ 18 Pipette	46

ภาพประกอบ 19 Hemocytometer	47
ภาพประกอบ 20 (ก) Inverted Microscope (ข) Fluorescence Microscope	47
ภาพประกอบ 21 CO ₂ Incubator	48
ภาพประกอบ 22 Autoclave	48
ภาพประกอบ 23 Liquid Nitrogen Tank	49
ภาพประกอบ 24 Plate และ Flask	49
ภาพประกอบ 25 Flow cytometry	50
ภาพประกอบ 26 ต้นแบบตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่ายที่นำเสนอ	56
ภาพประกอบ 27 ลักษณะภายนอกของต้นแบบตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่ายที่นำเสนอ(ก) ด้านหน้า (ข) ด้านหลัง (ค)และ(ง) ด้านข้างของตู้.....	56
ภาพประกอบ 28 โครงสร้างของตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่ายพร้อมสนามไฟฟ้ากระแสตรงแบบปรับค่าได้ที่นำเสนอ	57
ภาพประกอบ 29 Diagram การทำงานของตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่ายที่นำเสนอ (ก) รูปแบบการควบคุมวงจร Arduino ที่นำเสนอ (ข) แบบวงจรไฟฟ้า	59
ภาพประกอบ 30 อุปกรณ์สร้างสนามไฟฟ้าสถิต	60
ภาพประกอบ 31 เครื่องกำเนิดไฟฟ้าแรงสูงกระแสตรงรุ่น CX-120A	60
ภาพประกอบ 32 ลักษณะการใช้งานของการป้องกันการเกิด discharge ระหว่างแผ่นอิเล็กโทรด ...	61
ภาพประกอบ 33 การเปิดใช้งานเครื่องกำเนิดไฟฟ้าแรงสูง	61
ภาพประกอบ 34 ฟังก์ชันของการป้องกันการเกิดประกายไฟ	62
ภาพประกอบ 35 การปรับใช้แรงดันค่าต่าง ๆ	62
ภาพประกอบ 36 Probe วัดแรงดันตกคร่อม VOLTAGE TESTER รุ่น HV-40.....	63
ภาพประกอบ 37 Multimeter	63
ภาพประกอบ 38 การนับจำนวนเซลล์ hemocytometer cell counting	68

ภาพประกอบ 39 การทดลองเลี้ยงเซลล์ระหว่างตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่าย (DIY CO ₂ Incubator) ที่นำเสนอและตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ตามมาตรฐาน (STD CO ₂ Incubator)	69
ภาพประกอบ 40 รูปแบบการเลี้ยงเซลล์.....	69
ภาพประกอบ 41 แผนผังแสดงขั้นตอนการทดลองการตรวจสอบคุณภาพของตู้ DIY CO ₂ Incubator	70
ภาพประกอบ 42 การทดลองสนามไฟฟ้าสถิตกับ A549 cells	72
ภาพประกอบ 43 รูปแบบการ plate cell ลงใน 24 well plate ใช้สำหรับทดลองสนามไฟฟ้าสถิต.....	72
ภาพประกอบ 44 แผนผังแสดงขั้นตอนการทดลองสนามไฟฟ้าสถิตกับ A549 cells	73
ภาพประกอบ 45 ขั้นตอน MTT assay	75
ภาพประกอบ 46 การวิเคราะห์ morphology cell โดย Fluorescence microscope.....	76
ภาพประกอบ 47 ขั้นตอน Fluorescence microscope	77
ภาพประกอบ 48 Lung cancer (A549 cells) เลี้ยงในอาหาร DMEM containing 10% fetal bovine serum ระยะเวลาการเลี้ยงเซลล์ 12 ชั่วโมง (ก) ตู้เพาะเลี้ยงเซลล์มาตรฐาน และ (ข) ตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่าย	81
ภาพประกอบ 49 Lung cancer (A549 cells) เลี้ยงในอาหาร DMEM containing 10% fetal bovine serum ระยะเวลาการเลี้ยงเซลล์ 24 ชั่วโมง (ก) ตู้เพาะเลี้ยงเซลล์มาตรฐาน และ (ข) ตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่าย	82
ภาพประกอบ 50 Lung cancer (A549 cells) เลี้ยงในอาหาร DMEM containing 10% fetal bovine serum ระยะเวลาการเลี้ยงเซลล์ 36 ชั่วโมง (ก) ตู้เพาะเลี้ยงเซลล์มาตรฐาน และ (ข) ตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่าย	82
ภาพประกอบ 51 Lung cancer (A549 cells) เลี้ยงในอาหาร DMEM containing 10% fetal bovine serum ระยะเวลาการเลี้ยงเซลล์ 48 ชั่วโมง (ก) ตู้เพาะเลี้ยงเซลล์มาตรฐาน และ (ข) ตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่าย	83
ภาพประกอบ 52 กราฟแสดงอัตราการเจริญเติบโตของ Lung cancer (A549 cells) ระหว่างตู้เพาะเลี้ยงเซลล์มาตรฐาน (STD CO ₂ Incubators) และตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่าย (DIY CO ₂ Incubators) (n=3).....	83

ภาพประกอบ 53 Lung cancer (A549 cells) เลี้ยงในอาหาร DMEM containing 10% FBS หลังจากที่ทำการทดสอบด้วย DC electric field ตลอด 4 ชั่วโมง (ก) Non-treat (ข) 17.4 kV/m (4 h).....	85
ภาพประกอบ 54 Lung cancer (A549 cells) เลี้ยงในอาหาร DMEM containing 10% FBS ที่ทำ การทดสอบด้วย DC electric field ตลอด 8 ชั่วโมง (ก) Non-treat (ข) 17.4 kV/m (8 h)	86
ภาพประกอบ 55 Lung cancer (A549 cells) เลี้ยงในอาหาร DMEM containing 10% FBS หลังจาก incubate overnight (ก) Non-treat (ข) 17.4 kV/m (4 h) (ค) 17.4 kV/m (8 h).....	87
ภาพประกอบ 56 โครงสร้าง MTT [3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide	88
ภาพประกอบ 57 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของ Lung cancer (A549 cells)	88
ภาพประกอบ 58 การย้อมสี Lung cancer (A549 cells) ผ่านกล้อง Fluorescence microscope หลังจาก incubate overnight (ก) Non-treat (ข) 17.4 kV/m (4 h) (ค) 17.4 kV/m (8 h).....	90

บทที่ 1

บทนำ

ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย

ในชีวิตประจำวันสนามไฟฟ้าสถิตกลายเป็นสิ่งที่เราต้องให้ความสำคัญ เนื่องจากสนามไฟฟ้าสถิตจะส่งผลกระทบต่อผู้คนเมื่ออยู่ใกล้กับความแรงของสนามไฟฟ้าที่สูงซึ่งสนามไฟฟ้านั้นเหนี่ยวนำให้เกิดประจุไฟฟ้าบริเวณผิวและมักตั้งฉากกับผิวของร่างกายมนุษย์ที่อาจรับรู้ผ่านทางขนตามร่างกาย(Petri และคนอื่น ๆ, 2017) โดยทั่วไปแล้วสนามไฟฟ้าสถิตแบ่งออกเป็นสองประเภท ซึ่งประเภทแรกคือ สนามไฟฟ้าสถิตที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ เช่น การเกิดฟ้าผ่าฟ้าแลบและพายุ มีสนามไฟฟ้าสถิตประมาณ 0.1-3 kV/m(Organization, 2006) และประเภทที่สองคือ สนามไฟฟ้าสถิตที่เกิดจากมนุษย์ เช่น บริเวณหน้าจอหน้าจอของอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์มีสนามไฟฟ้าสถิตมากถึง 20 kV/m(Radiation, 1994) บริเวณภายในรถไฟฟ้ามีสนามไฟฟ้าสถิตไม่เกิน 0.3 kV/m(Matthes, Vecchia, McKinlay, Veyret, และ Bernhardt, 2003)รวมไปถึงสนามไฟฟ้าสถิตที่เกิดจากระบบสายส่งไฟฟ้าแรงสูงกระแสตรงมีค่าสูงถึงประมาณ 35 kV/m(Maruvada, 2012) ถึงแม้ว่าส่วนใหญ่ระบบการส่งจ่ายกำลังไฟฟ้าแรงสูงนั้นจะอยู่ในพื้นที่ห่างไกลจากชุมชนแต่ก็ยังต้องมีคนที่ทำงานดูแลบำรุงรักษาระบบอยู่ ซึ่งระบบการส่งจ่ายกำลังไฟฟ้าแรงสูงแบ่งออกเป็น 2 ประเภทคือ การส่งจ่ายกำลังไฟฟ้ากระแสสลับ High Voltage Alternating Current (HVAC) และการส่งจ่ายกำลังไฟฟ้ากระแสตรง High Voltage Direct Current (HVDC)

ระบบการส่งจ่ายกำลังไฟฟ้าส่วนใหญ่ในหลายประเทศเป็นแบบการส่งจ่ายกำลังไฟฟ้ากระแสสลับ รวมไปถึงประเทศไทยก็ยังคงใช้ระบบนี้(Prado, 1999-2018; E. G. A. o. Thailand, 2013) เนื่องจากการแปลงแรงดันไฟฟ้ากระแสสลับเป็นเรื่องง่ายโดยการใช้หม้อแปลง เป็นระบบที่ไม่ซับซ้อน ไม่ต้องการการดูแลรักษามากมาย จึงเป็นที่น่าสนใจเกี่ยวหัวข้อสนามแม่เหล็กไฟฟ้าที่เกิดจากระบบการส่งจ่ายกำลังไฟฟ้าซึ่งเป็นเพียงส่วนหนึ่งของแถบคลื่นความถี่ของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (Electromagnetic Spectrum)(Yoonjae และ Mittra, 2002) ซึ่งแถบคลื่นความถี่นี้จะเป็นตัวบอกถึงระดับพลังงานของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (Electromagnetic Energy หรือ Photon Energy) โดยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความถี่สูงจะมีระดับของพลังงานสูง และคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความถี่ต่ำก็จะมีระดับของพลังงานที่ต่ำการสัมผัสคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้ามีความสัมพันธ์เพียงเล็กน้อยระหว่างคลื่นสมอง(Ahlbom และคนอื่น ๆ, 1998) เมื่อร่างกายมนุษย์ต้องสัมผัสกับสนามไฟฟ้าและสนามแม่เหล็ก (Electric and magnetic fields: EMF) และ คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า

(Electromagnetic radiation: EMR) ที่พบในสิ่งแวดล้อมสมัยใหม่ซึ่งเป็นคลื่นที่ถูกปล่อยออกมาจากอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์หรือเครื่องใช้ไฟฟ้าในชีวิตประจำวันของคนเราหลายอย่าง เช่น สายไฟฟ้า เสาส่งคลื่นโทรศัพท์มือถือ คอมพิวเตอร์ หลอดฟลูออเรสเซนต์ เต้าอบ ไมโครเวฟ ที่วิทยุ มือถือ รวมไปถึงไวไฟ เป็นต้น ทำให้เกิดความเครียด หรือมีอาการปวดหัว อ่อนเพลีย คลื่นไส้อาเจียน และหัวใจเต้นเร็วผิดปกติ บางคนอาจมีอาการปวดหู และปัญหาเกี่ยวกับเรื่องความจำ และการจดจ่อสิ่งใดสิ่งหนึ่งร่วมด้วยซึ่งอาการจะค่อยๆ หายไปเมื่ออยู่ห่างจากสิ่งเหล่านี้(Parsons) ทั้งนี้องค์การอนามัยโลก(World Health Organization: WHO)(FIELDS, 2012) ได้เรียกอาการเหล่านี้ว่า “Electromagnetic Hypersensitivity (EHS)” การหาความชุกของโรค EHS เป็นเรื่องยาก พบได้ตั้งแต่ไม่กี่คนต่อประชากรล้านคนการรายงานขึ้นกับพื้นที่ประเทศที่รายงานมีอุบัติการณ์มากได้แก่ Sweden Denmark German ประเทศที่มีรายงานน้อยได้แก่ อังกฤษ ออสเตรเลีย ฝรั่งเศส (Mild, Repacholi, Deventer, และ Organization, 2006) ซึ่งคนที่มีอาการเหล่านี้ไม่สามารถบอกได้อย่างแน่ชัดว่าเกิดการสัมผัสคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า จึงบอกไม่ได้ว่าอาการเหล่านั้นมีความสัมพันธ์กับคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าหรือไม่ รวมไปถึงอาการต่าง ๆ ของ EHS น่าจะมาจากสิ่งแวดล้อม เช่น แสง ปัญหาทางสายตา การจัดโต๊ะทำงาน การระบายอากาศ และความเครียด กลุ่มอาการดังกล่าวยังไม่สามารถสรุปได้ว่าเกิดจากคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า และยังไม่มีเกณฑ์การวินิจฉัยและการรักษา ยังคงเป็นข้อถกเถียงในประเด็นนี้กันอีกมากมาย จึงเป็นที่มาของงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาสนามแม่เหล็กและสนามไฟฟ้าที่เกิดจากการจัดเรียงเฟสของระบบสายส่งไฟฟ้าเหนือศีรษะ(Nunchuen, Halapee, และ Tarateeraseth, 2019) และระบบสายส่งเคเบิลใต้ดิน(S. Nunchuen, 2016) โดยการไฟฟ้านครหลวง (METROPOLITAN ELECTRICITY AUTHORITY: MEA) แต่อย่างไรก็ตามระบบไฟฟ้ากระแสสลับไม่สามารถต่อสองระบบที่มีความถี่ต่างกันเข้าด้วยกันได้ หรือแม้ว่าระบบจะมีความถี่เท่ากัน ก็อาจจะไม่สามารถเชื่อมต่อระบบเข้าด้วยกันโดยตรงได้ เพราะระบบ HVAC อาจจะทำให้เกิดผลกระทบ หรือเกิดกระแสลัดวงจรค่าสูง (Sillapawicharn, 2011) เพราะฉะนั้นเชื่อว่าหลายประเทศหันมาให้ความสนใจกับระบบ HVDC มากขึ้นซึ่งเป็นเทคโนโลยีทางเลือกสำหรับการส่งพลังงานในระยะทางไกลได้อย่างมีประสิทธิภาพ และน่าเชื่อถือได้ด้วยความปลอดภัยที่น้อย บวกพร้อมกับคุณสมบัติที่สามารถเชื่อมต่อกับระบบไฟฟ้าที่เป็นแบบ Unsynchronized ได้(A. Thailand) ดังนั้นจึงเหมาะสำหรับการต่อแหล่งพลังงานหมุนเวียนที่ตั้งอยู่ในสถานที่ห่างไกล(A. Thailand)

นอกจากนี้สายส่งไฟฟ้าแรงสูงกระแสตรง HVDC กำลังได้รับความนิยมมากขึ้นในปัจจุบัน เนื่องจากไฟฟ้าปริมาณมากขึ้นจะถูกผลิตจากแหล่งพลังงานหมุนเวียนเพื่อส่งพลังงาน

จำนวนมากขึ้นในระหว่างไกลด้วยความสามารถในการส่งกระแสไฟฟ้าในระหว่างไกลนั้นมีการสูญเสียในสายน้อยกว่าสายส่งไฟฟ้าแรงสูงแบบกระแสสลับ HVAC (Arrillaga และ Arrillaga, 1998) ซึ่งสนามไฟฟ้าสถิตสูงสุดที่มาจากสายส่ง HVDC ระบบ ± 450 kV อยู่ที่ประมาณ 23.3 kV/m (Blondin และคนอื่น ๆ, 1996; Organization, 2006) และประมาณ 20 kV/m ~ 35 kV/m สำหรับสายส่ง HVDC ระบบ ± 600 kV (Maruvada, 2012) และ ± 800 kV (Johnson, 1983; Leitgeb, 2014; L. Song, Wu, Li, และ Deng, 2012) และอาจมีสนามไฟฟ้าสถิตสูงกว่านี้ในกรณีทีเลวร้ายที่สุด (Leitgeb, 2014; Maruvada, 2012) ปัจจุบันสายส่ง HVDC ที่ติดตั้งขึ้นในประเทศจีนเพิ่งเสร็จไปในปี 2019 ใช้ระบบแรงดันไฟฟ้าระหว่าง 100 kV และ 800 kV โดยมีการเชื่อมโยงกับระบบ 1,100 kV (Zurich, 2016) รวมไปถึงประเทศไทยที่ได้นำเข้าระบบ HVDC มาใช้ในการเชื่อมโยงระหว่างระบบไฟฟ้าของประเทศไทยดำเนินการโดยการไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย (Electricity Generating Authority of Thailand: EGAT) และการไฟฟ้ามาเลเซีย (Tenaga Nasional Berhad: TNB) โดยมีสถานีไฟฟ้าในฝั่งประเทศไทยอยู่ที่ สถานีคลองแวง จังหวัดสงขลา กับสถานีฐาน รัฐเคห์ต้า ประเทศมาเลเซีย ซึ่งมีระยะทาง 24 กิโลเมตร จากชายแดนฝั่งประเทศไทย และ 86 กิโลเมตร จากชายแดนประเทศมาเลเซียรวมเป็นระยะทางทั้งหมด 110 กิโลเมตร ระบบ HVDC ในประเทศไทยนี้สามารถส่งกำลังได้เต็มที่ 300 MW (300 kV, 1,000 A) และสามารถจ่ายกำลังเกินได้ถึง 450 MW ในระยะเวลาไม่เกิน 10 นาที (Noosuk และคนอื่น ๆ, 2002)

นักวิจัยหลายท่าน (Hammerick, Longaker, และ Prinz, 2010; Levallois, 2002; Lin, Dong, Xu, และ Di, 2018) มีความกังวลเกี่ยวกับผลกระทบจากการสัมผัสกับสนามไฟฟ้าสถิตที่อาจเกิดขึ้นต่อสุขภาพของมนุษย์ แต่สิ่งเหล่านั้นไม่สามารถพูดได้อย่างชัดเจนว่าสนามไฟฟ้าสถิตเป็นอันตรายต่อมนุษย์เนื่องจากยังมีหลักฐานไม่เพียงพอต่อการสรุปข้อสงสัยเหล่านั้น (Humans, 2002; Petri และคนอื่น ๆ, 2017) ดังนั้นทางผู้วิจัยจึงเล็งเห็นว่าการศึกษาระดับที่ลึกซึ้งไปกว่าการสัมผัสระหว่างสนามไฟฟ้าสถิตกับมนุษย์นั้นยังคงจำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อแสดงให้เห็นถึงกลไกของเซลล์และโมเลกุลของมนุษย์ที่นำไปสู่ข้อมูลที่ละเอียดมากยิ่งขึ้นจึงเป็นที่มาของการวิจัยขึ้นนี้เพื่อทำการศึกษผลกระทบของสนามไฟฟ้าสถิตในเซลล์มนุษย์นั่นเอง

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

ในการวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยได้ตั้งวัตถุประสงค์ไว้ดังนี้

- 1 ศึกษาความเข้มข้นสนามไฟฟ้าที่ส่งผลกระทบต่อเซลล์มะเร็งปอด (A549 cells) ที่เลือกมาเป็นตัวแทนของเซลล์มนุษย์

2 สร้างตู้บ่มเพาะเลี้ยงเซลล์ CO₂ Incubator ที่มีสนามไฟฟ้าสถิตปรับค่าได้โดยมีประสิทธิภาพเทียบเท่าตู้เพาะเลี้ยงเซลล์มาตรฐาน

ขอบเขตของงานวิจัย

- 1 ศึกษาผลกระทบของสนามไฟฟ้าสถิตใน in vitro cells
- 2 เซลล์ที่ใช้ในการทดลองคือ เซลล์มะเร็งปอดของมนุษย์ Lung cancer (A549 cells)
- 3 วิเคราะห์ สร้าง และออกแบบสนามไฟฟ้าสถิตปรับค่าได้ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ CO₂ Incubator
- 4 ความเข้มของสนามไฟฟ้าสถิตที่ใช้ในงานวิจัยพิจารณาจาก HVDC transmission lines

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1 สามารถวิเคราะห์ และประเมินผลกระทบสนามไฟฟ้าสถิตที่ส่งผลต่อเซลล์มะเร็งปอด (A549 cells)
- 2 สามารถวิเคราะห์ และออกแบบกลไกการทำงานและข้อจำกัดการทำงานของ ตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ CO₂ Incubator ประยุกต์ใช้กับสนามไฟฟ้าสถิตปรับค่าได้

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง และได้นำเสนอตามหัวข้อต่อไปนี้

- 1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (Literature reviews)
- 2 ระบบการส่งจ่ายกำลังไฟฟ้ากระแสตรง (HVDC Transmission lines)
- 3 สนามไฟฟ้าสถิต (Static electric field)
- 4 ทฤษฎีเซลล์ (Cell Theory)

1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (Literature reviews)

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาผลกระทบสนามไฟฟ้าสถิตต่อเซลล์มนุษย์ซึ่งได้แบ่งการศึกษา งานวิจัยออกเป็น 2 ส่วน คือการศึกษาในด้านการสร้างอุปกรณ์สำหรับการทดลองในทางการไฟฟ้า และ การศึกษาสนามไฟฟ้าที่ส่งผลกระทบต่อมนุษย์อย่างไรบ้างในทางชีววิทยา โดยมีรายละเอียด ดังนี้

1 ศึกษาการสร้างตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่มีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับตู้เพาะเลี้ยงเซลล์มาตรฐาน เนื่องจากการศึกษาในส่วนนี้มีความสำคัญมากเพื่อที่จะนำไปออกแบบและทดลองสร้าง ตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่มีสนามไฟฟ้าสถิตปรับค่าได้ เพื่อนำไปใช้เป็นเครื่องมือในการทดลอง สนามไฟฟ้าสถิตกับเซลล์ในขั้นตอนต่อไป ซึ่งขั้นตอนนี้จึงเป็นจุดเริ่มต้นสำหรับการทดลองทั้งหมด

2 การศึกษาในด้านชีววิทยาสำหรับผลกระทบจากการสัมผัสสนามไฟฟ้า ทั้งในด้าน ของสุขภาพ รวมไปถึงการศึกษาที่ลึกลงไปถึงกลไกการทำงานของเซลล์

1.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสร้างอุปกรณ์การทดลองสำหรับงานวิจัยนี้

ในปี 2010 Andrew (Pelling, 2014) ได้ทำการวิจัยนำเสนอการสร้างตู้เพาะเลี้ยง เซลล์ (CO_2 incubator) สำหรับเพาะเลี้ยงเซลล์สัตว์และเซลล์มนุษย์ (mouse cell lines and primary human cells) โดยควบคุมอุณหภูมิภายในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ $37 \pm 0.1^\circ\text{C}$ ที่ปริมาณก๊าซ คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) $5 \pm 0.2\%$ พร้อมตัวกรองฝุ่นละออง 0.2 ไมครอน ของสายยางก่อนเข้าตู้ เพาะเลี้ยงเซลล์ และมีน้ำอยู่ภายในตู้ด้วยเพื่อรักษาสภาพแวดล้อมและความชื้นสัมพัทธ์ภายในตู้ ลดการระเหยจากจานเพาะเซลล์ ซึ่งตรวจสอบประสิทธิภาพโดยการเปรียบเทียบค่าอุณหภูมิ และ

ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ กับตู้เพาะเลี้ยงเซลล์มาตรฐานเท่านั้น อย่างไรก็ตามงานวิจัยดังกล่าวไม่ได้แสดงถึงผลการเปรียบเทียบการเพาะเลี้ยงเซลล์ให้เห็นจริง

1.2 งานวิจัยในด้านผลกระทบของสนามไฟฟ้าต่อสุขภาพมนุษย์

Patrick Levallois (Levallois, 2002) กล่าวว่า การศึกษาผลกระทบของสนามแม่เหล็กไฟฟ้าต่อสุขภาพสามารถศึกษาได้หลายวิธี

1 การศึกษาทางห้องปฏิบัติการ เป็นการศึกษาในเซลล์ และสัตว์ทดลองเพื่อดูผลของสนามแม่เหล็กไฟฟ้าต่อเซลล์ ซึ่งอาจจะมีผลต่อการทำงานของเซลล์ แต่อาจ不会有ผลต่อสุขภาพก็ได้ พบว่า ผลกระทบของสนามแม่เหล็กมีผลต่อการทำงานของเซลล์ ทำให้มีการผลิตฮอริโมนเพิ่มขึ้น แต่ยังไม่กระทบต่อสุขภาพ

2 ผลศึกษาทางคลินิก โดยการให้อาสาสมัครมาอยู่ในสิ่งแวดล้อมที่มีสนามแม่เหล็กหรือไฟฟ้าสูงกว่าปกติ แล้ววัดชีพจร ความดันโลหิต คลื่นไฟฟ้าหัวใจ ระดับฮอริโมน และอื่น ๆ ที่สนใจ ว่ามีการเปลี่ยนแปลงอะไรบ้าง

3 การศึกษาทางระบาด โดยการเปรียบเทียบอัตราการเกิดโรคในกลุ่มที่อยู่ในสิ่งแวดล้อมที่มีสนามแม่เหล็กหรือสนามไฟฟ้า เมื่อเทียบกับอีกกลุ่มหนึ่ง หากมีอัตราการเกิดโรคต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แสดงว่าสนามแม่เหล็กหรือสนามไฟฟ้าอาจจะมีผลเสียต่อสุขภาพ

ในการศึกษาผลกระทบของสนามไฟฟ้าสติดต่อร่างกายมนุษย์มีหลายงานวิจัย (Barron และ Dreher, 1964; Haupt และ Nolfi, 1984) ให้ความสนใจไปที่อัตราการเต้นของหัวใจ ความดันโลหิต และประสิทธิภาพการทำงานของมนุษย์เมื่อถูกสัมผัสกับสนามไฟฟ้า รวมไปถึงงานวิจัยที่ทดลองกับสัตว์เพื่อดูการตอบสนองหลังจากได้รับการสัมผัสสนามไฟฟ้าสติด (Lin และคนอื่น ๆ, 2018; S. Wu, Di, และ Li, 2017; Xu, Gu, และ Di, 2018) ตัวอย่างเช่นงานวิจัยของ Cassiano และคณะ (Cassiano, 1965) ได้ศึกษาผลกระทบของสนามไฟฟ้าสติดต่อมนุษย์ พบว่าความดันโลหิต และอัตราการเต้นของหัวใจลดลงเมื่อถูกสัมผัสกับสนามไฟฟ้าสติดที่ 10 kV/m ในขณะที่อีกงานวิจัยพบว่าที่ 30 kV/m ไม่ส่งผลกระทบใด ๆ (Krivova, 1973) เนื่องจากความแตกต่างของผลลัพธ์เหล่านี้ อาจเกิดขึ้นจากข้อเท็จจริงหลายปัจจัยรวมถึงรูปแบบการทำงานของหัวใจและหลอดเลือดนาที่ต่อนาที่ หากการสัมผัสกับสนามไฟฟ้าทำให้เกิดผลกระทบเล็กน้อยมันก็ยากที่จะสืบหาข้อเท็จจริงของผลกระทบของสนามไฟฟ้าสติดกับมนุษย์ (Bailey, Weil, และ Stewart, 1997)

ประสิทธิภาพการทำงานของร่างกายมนุษย์ก็ดูเหมือนว่าจะไม่ได้รับผลกระทบจากการสัมผัสสนามไฟฟ้าสติด เนื่องจากมีการศึกษาที่ให้อาสาสมัครได้รับสนามไฟฟ้าที่ 1.4 kV/m ใน

ระยะเวลา 6 ชั่วโมงต่อวันเป็นเวลานานถึง 30 วัน เป็นงานวิจัยที่ได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก (Jones, 1974) แต่อย่างไรก็ตามก็มีอีกงานวิจัยที่ได้ศึกษาถึงระยะเวลาการตอบสนองด้วยเมื่อได้สัมผัสสนามไฟฟ้าที่ 30-60 kV/m เป็นเวลา 2 ชั่วโมงต่อวัน นาน 60 วัน พบว่าอาสาสมัครไม่มีผลกระทบจากการสัมผัสสนามไฟฟ้าเลย (Krivova, 1973) การทดลองโดยรวมไม่ได้บ่งบอกถึงรูปแบบผลกระทบที่ชัดเจนและยังมีข้อมูลหลักฐานไม่เพียงพอที่จะสรุปว่าผู้ที่ต้องทำงานหรือสัมผัสกับสนามไฟฟ้าสถิต เช่นผู้ที่ทำงานกับสายส่ง HVDC นั้นมีความเสี่ยงต่อสุขภาพ

นักวิจัยหลายท่านจึงให้ความสนใจในการศึกษาสนามไฟฟ้าที่ส่งผลกระทบต่อการทำงานของเซลล์ โดยการนำสนามไฟฟ้าไปศึกษาทำงานวิจัยในด้านต่าง ๆ สนามไฟฟ้าที่นำมาศึกษาเพื่อใช้ในแต่ละงานวิจัยนั้นก็แตกต่างกันออกไป ไม่ว่าจะเป็นสนามไฟฟ้าแบบพัลส์ (Mi, Xu, Yao, Li, และ Liu, 2019) สนามไฟฟ้ากระแสสลับ (Sato, Yao, Sugawara, และ Takei, 2019) หรือสนามไฟฟ้าสถิต (Coronado และคนอื่น ๆ, 2016) ก็ตามแต่ละแบบนั้นก็แตกต่างกันที่ย่านความถี่ (Hz) (Hewes, 2006) ขึ้นอยู่กับว่าสนามไฟฟ้าที่นำมาศึกษานั้นนำไปใช้ในงานวิจัยด้านใด เช่นเพื่อใช้ในการเชิงทางการรักษา (Saikia และคนอื่น ๆ, 2019; Sano, Volotskova, และ Xing, 2018) ในกระบวนการให้เซลล์เคลื่อนที่ไปในทิศทางที่ต้องการ (migration) (Banks, Luckman, Frith, และ Cooper-White, 2015; F. Li และคนอื่น ๆ, 2013; Y. Li, Xu, Chen, และคนอื่น ๆ, 2017; Y. Li, Xu, Zou, และคนอื่น ๆ, 2017; Rohde และคนอื่น ๆ, 2019; Sarkar, Kobylkevich, Graham, และ Messerli, 2019; D. Wu, Ma, และ Lin, 2013; Zhang และคนอื่น ๆ, 2011) หรือเพื่อเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของเซลล์ (proliferation) (Fidan M., 2019) ทั้งยังมีการศึกษาจลนศาสตร์ของเซลล์ (cell kinetics) เพื่อดูความเป็นพิษของเซลล์ (cytotoxicity) เซลล์มีการตายแบบ apoptosis หรือ necrosis (Griffin, Iqbal, Sebastian, Colthurst, และ Bayat, 2011) ดูการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ (Naskar, Kumaran, Markandeya, Mehta, และ Basu, 2020) เซลล์อาจจะเปลี่ยนแปลงไปให้มีลักษณะเฉพาะเป็นการเปลี่ยนแปลงทางคุณภาพของเซลล์และเนื้อเยื่อ อาจจะเป็นการเปลี่ยนแปลงรูปร่างหรือลักษณะทางเคมีที่เรียกว่า cell differentiation ซึ่งเซลล์ที่นำมาทำการวิจัยนั้นก็ทั้งเซลล์สัตว์ และเซลล์ของมนุษย์ขึ้นอยู่กับว่าต้องการศึกษาเซลล์ส่วนใดของร่างกายไม่ว่าจะเป็นเซลล์ปกติ (normal cells) หรือ เซลล์มะเร็ง (cancer cells) ก็ตาม

ในปี 2010 Hammerick, K.E., Longaker, M.T. และ Prinz, F.B. K. (Hammerick และคนอื่น ๆ, 2010) ศึกษาสนามไฟฟ้าสถิตที่ส่งผลกระทบต่อเซลล์ adipose-derived stromal cells (mASCs) ในหลอดทดลองโดยตรวจสอบผลกระทบของสนามไฟฟ้าทางสรีรวิทยาและไม่ใช่สรีรวิทยาในเซลล์ mASCs เพื่อปรับปรุงการรักษาที่เกี่ยวข้องกับเซลล์ต้นกำเนิด สำหรับการ

ทดลองด้วยเซลล์ mASCs ที่มีความเข้มข้น 10^4 cells/cm² ให้สนามไฟฟ้าสถิตสม่ำเสมอที่ 1 V/m ในสรีรวิทยา 6 V/m และ 10 V/m ในเงื่อนไข supraphysiologic เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่าเซลล์ mASCs นั้นถูกย้ายไปยังขั้วแคโทดในสนามไฟฟ้าสถิต (static electric field) ยิ่งใช้สนามไฟฟ้าที่มีความเข้มสูงเซลล์เคลื่อนที่เร็วขึ้น สนามไฟฟ้ายังทำให้เซลล์ mASCs ปรับทิศทางในแนวตั้งฉากกับเวกเตอร์ของสนามและทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นชั่วคราวของแคลเซียมไซโตซอลิก (cytosolic calcium) กระบวนการ Galvanotaxis เป็นผลลัพธ์หลักอย่างหนึ่งของสนามไฟฟ้าบน mASCs จากการทดลอง และมันอาจถูกนำไปใช้ประโยชน์ในการสร้าง stem cell และการ migration ไปยังตำแหน่งภายในร่างกายสำหรับการปลูกถ่ายอวัยวะเทียมหรือไปยังบริเวณที่มีการซ่อมแซมแผล สำหรับสนามไฟฟ้าที่มีความเข้ม 1.4 V/cm ช่วยในการควบคุม re-epithelialization ของแผลผ่านการโยกย้ายเซลล์โดยตรง (Barker, Jaffe, และ Vanable Jr, 1982; Min และคนอื่นๆ, 2006; B. Song, Zhao, Forrester, และ McCaig, 2002)

ในปี 2015 Zhao, H. และคณะ (Zhao, Steiger, Nohner, และ Ye, 2015) ศึกษาความเข้มจำเพาะของสนามไฟฟ้าสถิต เพื่อปรับปรุงการย้ายเซลล์ต้นกำเนิดจากประสาท (Neural Stem Cell) และช่วยเพิ่มความแตกต่างของ β III-Tubulin+ Neurons โดยใช้ Neural precursor cells (NPCs) ที่ความเข้มข้น 10–100 cells / μ L อาบสนามไฟฟ้าที่มีความเข้ม 115 V/m เป็นเวลา 48-96 ชั่วโมง ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ (Incubator) โดยใช้แผ่นอิเล็กโทรด Ag/AgCl 2 แผ่น ที่ระยะห่าง 13 มิลลิเมตร จ่ายแรงดัน 1.5 V ผลการทดลองพบว่าสนามไฟฟ้าสถิตของความเข้มจำเพาะนี้มีความสามารถในการส่งเสริมการโยกย้ายของเซลล์ (migration) และการสร้างความแตกต่างการทำงานอย่างมีนัยสำคัญโดยการไหลของแคลเซียมระหว่างที่เซลล์ถูกอาบด้วยสนามไฟฟ้า

ในปี 2017 Mobini, S. และคณะ (Mobini, Leppik, Thottakkattumana Parameswaran, และ Barker, 2017) กล่าวว่าการศึกษากระตุ้นเซลล์ด้วยไฟฟ้า (ES) ถูกนำมาใช้อย่างประสบความสำเร็จในการรักษาข้อบกพร่องทางกระดูกเมื่อเร็ว ๆ นี้ ทั้งวิธีการทดลองระดับเซลล์และระดับโมเลกุลแสดงให้เห็นว่า ES สามารถเปลี่ยนพฤติกรรมของเซลล์เช่นการย้ายถิ่น (migration) การเพิ่มจำนวน (proliferation) และความแตกต่างของเซลล์ (differentiation) ได้ พวกเขาได้ทำการศึกษาผลกระทบของการกระตุ้นด้วยไฟฟ้าสถิต ต่อเซลล์ mesenchymal stem cells (MSCs) ของหนูในหลอดทดลอง โดยเฉพาะเลี้ยงเซลล์กระดูก (BM-MSCs) และ เซลล์เนื้อเยื่อ (AT-MSCs) ของหนูที่มีความหนาแน่น 2.5×10^4 cells/cm² ใช้ platinum electrodes มีลักษณะเป็นตัว L วางห่างกัน 22 มิลลิเมตร ใช้แรงดัน 2.2 V DC สำหรับการทดลองเบื้องต้นพวกเขาใช้ DC ES ที่

10, 50, 100 และ 200 mV/mm อาบเซลล์ BM-MSCs และ AT-MSCs เป็นเวลา 1 ชั่วโมง พบว่า DC EF ที่ 10 และ 50 mV/mm ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญในการแพร่กระจายและความแตกต่าง 200 mV/mm ทำให้เกิดการสลายของเซลล์เนื่องจากปฏิกิริยาทางเคมีไฟฟ้าบริเวณขั้วไฟฟ้า จากการศึกษาเบื้องต้นเหล่านี้พวกเขาเลือก DC ES 100 mV/mm เป็นเวลา 1 ชั่วโมงต่อวัน ในการทดลองโดยใช้เวลา 3, 7 และ 14 วัน สำหรับการทดลองกับ messenger RNA (mRNA) 3 ชนิด (Runx2, Osteopontin and Col1A2) ของทั้งกลุ่ม BM-MSCs และ AT-MSCs ผลการทดลองพบว่า DC EF มีผลต่อการโยกย้ายเซลล์ mRNA ในกลุ่ม BM-MSCs มากกว่า AT-MSCs ในการทดลองวันที่ 7 ยิ่งไปกว่านั้นรูปแบบการแสดงออกของยีนเหล่านี้แตกต่างกันระหว่าง BM-MSCs และ AT-MSCs การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ทั้ง 2 ที่เกิดจาก ES อาจนำไปสู่วิธีการควบคุมและปรับพฤติกรรมของเซลล์เหล่านี้ในการรักษาเนื้อเยื่อต่อไป

ในปี 2019 Fidan M. และ คณะ (Fidan M., 2019) ศึกษาผลกระทบและความแตกต่างที่อาจเกิดขึ้นของสนามไฟฟ้ากระแสสลับ 50 Hz (AC EF) และ สนามไฟฟ้าสถิตบน osteosarcoma cell lines (Saos-2 cell line) ในหลอดทดลอง พวกเขาตั้งสมมติฐานว่าการสัมผัสสนามไฟฟ้า AC และ DC เพิ่มจำนวนเซลล์ Saos-2 cell line สำหรับการทดลองพวกเขาได้สร้างสนามไฟฟ้าในเครื่องทดลองที่ทำขึ้นมาโดยมีการควบคุม อุณหภูมิ ความชื้น และความดัน ในเครื่องทดลองติดตั้งเครื่องทำความร้อนเพื่อปรับอุณหภูมิที่ 37 °C โดยแผ่นอิเล็กโทรดเป็นทรงกลมแบนเพื่อลดมุมที่ส่งผลกระทบต่อสนามไฟฟ้า แผ่นอิเล็กโทรดมีพื้นที่ผิว 314 cm² (รัศมี = 10 ซม.) จำนวน 2 แผ่นวางขนานกันด้วยระยะห่าง 3.5 ซม. ความเข้มสนามไฟฟ้าและทิศทางถูกคำนวณและตรวจสอบด้วยโปรแกรม FEMM 4.2 (David Meeker, USA) โดยการทดลองแบ่งเป็น 2 ประเภทดังนี้

1 สำหรับการทดลอง AC EF ใช้หม้อแปลงไฟฟ้ากระแสสลับที่มีพิกัด 220 Vrms / 50,000 Vrms เซลล์ Saos-2 cell line สัมผัสสนามไฟฟ้า AC EF ที่ความเข้ม 0, 2, 3, 4 and 5 kV/cm เป็นเวลา 10 นาที เซลล์ถูกแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม (n= 4 flasks) โดย 2 flasks ไม่ได้ถูกสัมผัสสนามไฟฟ้า อีก 2 flasks ถูกสัมผัส AC EF ในแต่ละระดับความเข้ม เซลล์ได้รับการวิเคราะห์ 24 และ 48 ชั่วโมง หลังจากได้รับการสัมผัส AC EF

2 สำหรับการทดลอง DC EF เซลล์ Saos-2 cell line สัมผัสสนามไฟฟ้า DC EF ที่ความเข้ม 0, 0.5, 1, 1.5 and 2.3 kV/cm เป็นเวลา 10 นาที ทำการทดลองเช่นเดียวกับ AC EF เซลล์ได้รับการวิเคราะห์เฉพาะ 24 ชั่วโมง หลังจากได้รับการสัมผัส DC EF

ผลการทดลองพบว่าจำนวนเซลล์ที่สัมผัสด้วย AC EF ความเข้ม 4 kV/cm และ 2 kV/cm เพิ่มขึ้นหลังจากการสัมผัส 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมงตามลำดับ เมื่อเทียบกับเซลล์ที่ไม่ได้รับการสัมผัสสนามไฟฟ้า ในทำนองเดียวกันสำหรับเซลล์ที่ได้รับการสัมผัสจาก DC EF ที่ความเข้ม 0.5 และ 2.3 kV/cm เพิ่มขึ้นสำหรับ 24 ชั่วโมงหลังจากได้รับสนามไฟฟ้าสถิต จากผลการทดลอง Fidan M. และ คณะ สรุปว่าผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นจากสนามไฟฟ้า AC และ DC มีการเพิ่มจำนวนของเซลล์ osteosarcoma cell lines

ผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นต่อสุขภาพของมนุษย์ที่เกิดจากการสัมผัสกับสนามไฟฟ้าสถิต ได้รับการตรวจสอบวิเคราะห์จากงานวิจัยที่ได้กล่าวมานั้น ถูกประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพจากการวิจัยที่ได้ข้อมูลทางระบาดวิทยา (epidemiological) และข้อมูลทางชีวภาพ (biological) พร้อมกับการสัมผัสสนามไฟฟ้าสถิตที่ระบุไว้ในการทบทวนงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ซึ่งการศึกษาผลกระทบของสนามไฟฟ้าสถิตไม่เพียงแต่ศึกษาเฉพาะกับมนุษย์แต่ยังมีการศึกษากับสัตว์ด้วยเช่นกัน โดยพบว่า การสัมผัสสนามไฟฟ้าสถิตนั้นมีความสัมพันธ์กับผลกระทบต่อสุขภาพที่ไม่พึงประสงค์ (Organization, 2006) ทาง IARC (2002) (Humans, 2002) จึงตั้งข้อสงสัยเกตว่ายังมีหลักฐานไม่เพียงพอที่จะตรวจสอบการก่อมะเร็งที่เกิดจากสนามไฟฟ้าสถิต อย่างไรก็ตามผลการทดลองเหล่านี้ไม่สามารถระบุได้ว่าสนามไฟฟ้าสถิตจะส่งผลกระทบต่อการทำงานของเซลล์ปกติเป็นเซลล์มะเร็งได้อย่างไร หรือสามารถไปยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ รวมไปถึงสามารถไปทำลายเซลล์ได้ด้วยก็ยังคงเป็นคำถามที่น่าสงสัย จึงยังคงจำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อแสดงให้เห็นถึงกลไกของเซลล์และโมเลกุลที่นำไปสู่ข้อมูลที่จะเฝ้าติดตามมากขึ้น

การกำหนดมาตรฐานการจำกัดความเสี่ยงของคนงานและประชาชนทั่วไปสำหรับในประเทศยุโรป โดย European Committee for Electrotechnical Standardization (CENELEC) กำหนดข้อจำกัดการสัมผัสสนามไฟฟ้ากระแสตรงสำหรับประชาชนทั่วไปและผู้ปฏิบัติงานอยู่ที่ 14 kV/m และ 42 kV/m ตามลำดับ โดยระยะเวลาการสัมผัสไม่ควรเกิน 112 ต่อสนามไฟฟ้ากระแสตรงที่ได้สัมผัส ($t \leq 112/E$; t คือเวลาหน่วยชั่วโมง และ E คือสนามไฟฟ้าในหน่วย kV/m) ตัวอย่างเช่น ผู้ปฏิบัติงานอาจจะได้รับการสัมผัสสนามไฟฟ้ากระแสตรงที่ 0 Hz สูงถึง 28 kV/m นั้นหมายความว่าผู้ปฏิบัติงานคนนั้นไม่ควรสัมผัสสนามไฟฟ้าเกิน $112/28 = 4$ ชั่วโมงนั่นเอง

นโยบายของ American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH) ได้มีแนวทางหรือค่าขีดจำกัดของการสัมผัสสนามไฟฟ้าสถิต ซึ่งกฎเกณฑ์เหล่านี้มีไว้สำหรับบุคคลที่ผ่านการฝึกอบรม และไม่ควรถือเป็นเส้นแบ่งระหว่างความปลอดภัยและอันตราย แนวทางหรือค่าขีดจำกัดของการสัมผัสสนามไฟฟ้าสถิตที่กำหนดโดย ACGIH ไม่ได้รองรับข้อสรุป

ที่ว่าการสัมผัสสนามไฟฟ้าสถิตจะเป็นอันตรายต่อสุขภาพ ซึ่งแนวทางของ ACGIH ที่กำหนดเหล่านี้ขึ้นอยู่กับ การจำกัดกระแสที่ผิวหนังและเหนียวทำให้เกิดกระแสภายในถึงระดับที่คาดว่า จะเกิดผลกระทบต่อสุขภาพ สำหรับขีดจำกัดของสถานประกอบการหรือผู้ปฏิบัติงานในการสัมผัสสนามไฟฟ้าสถิตไม่ควรเกิน 25 kV/m อย่างไรก็ตาม ACGIH ยังมีข้อมูลไม่เพียงพอที่จะสรุป ได้ว่าการสัมผัสสนามไฟฟ้าสถิตมีผลต่อการตอบสนองของมนุษย์และผลกระทบต่อสุขภาพอย่างไร แต่เพื่อกำหนดแนวทางหรือค่าขีดจำกัดของการสัมผัสสนามไฟฟ้าสถิตในช่วงเวลาที่เฉลี่ยแล้ว ดังนั้นความเข้มของสนามไฟฟ้าจึงเป็นค่า root mean square (rms)

แม้ว่ารัฐ Minnesota และ รัฐ North Dakota Public Service Commission จะไม่มี ส่วนร่วมในการสร้างกฎอย่างเป็นทางการ แต่ทั้งสองรัฐได้กำหนดขีดจำกัดของสนามไฟฟ้า กระแสตรงสูงสุดสำหรับสายส่ง Cooperative Power Association (CPA) and the United Power Association (UPA) 400KV หลังจากที่พวกเขาได้รับการรับรองสายในปี 1976 (Bank et al, 1977) (Bank, Rs; Kannianinen, CM; Clark, RD. Public health and safety effects of high-voltage overhead transmission lines: An analysis for the Minnesota environmental quality board. Minneapolis, MN: Minnesota Department of Health. 1977.) ซึ่งการกำหนด ขีดจำกัดของสนามไฟฟ้าไม่ได้ขึ้นอยู่กับ การประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพ โดย Minnesota จำกัด ค่าสนามไฟฟ้าอยู่ที่ 12 kV/m อย่างไรก็ตาม The North Dakota Public Service Commission จำกัดค่าสนามไฟฟ้าให้อยู่ในระดับสูงสุดโดยประมาณที่จะเกิดขึ้นสำหรับการทำงานแบบโมโนโพล (monopolar) คือ 32kV/m นี่คือการอ้างว่าสนามไฟฟ้าอยู่ต่ำกว่าระดับ 40 kV/m ซึ่งในสถาน ประกอบการคนที่สวมรองเท้าปฏิบัติงาน หรือรองเท้าป้องกัน (safety) จะไม่ค่อยสัมผัสถึง ความรู้สึกใด ๆ

2 ระบบการส่งจ่ายกำลังไฟฟ้ากระแสตรง (HVDC Transmission lines)

ระบบการส่งจ่ายกำลังไฟฟ้าส่วนใหญ่เป็นแบบการส่งจ่ายกำลังไฟฟ้ากระแสสลับ HVAC (High Voltage Alternating Current) เนื่องจากการแปลงแรงดันไฟฟ้ากระแสสลับเป็นเรื่องง่าย โดยการใช้หม้อแปลง ซึ่งเป็นระบบที่ไม่ซับซ้อน ไม่ต้องการการดูแลรักษามากมาย แต่อย่างไรก็ ตามระบบไฟฟ้ากระแสสลับไม่สามารถต่อสองระบบที่มีความถี่ต่างกันเข้าด้วยกันได้ หรือแม้ว่า ระบบจะมีความถี่เท่ากัน ก็อาจจะไม่สามารถเชื่อมต่อบนระบบเข้าด้วยกันโดยตรงได้ เพราะระบบ อาจจะขาดเสถียรภาพ หรือเกิดกระแสลัดวงจรได้ ดังนั้นการส่งจ่ายกำลังไฟฟ้ากระแสตรง HVDC ถูก นำมาแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นในกรณีที่ส่งจ่ายกำลังไฟฟ้าด้วย HVAC ซึ่งข้อดีของการส่งจ่ายกำลังไฟฟ้า กระแสตรง HVDC นั้นมีอยู่หลายข้อด้วยกัน ดังนี้

1 การส่งกำลังไฟฟ้าด้วยไฟฟ้ากระแสตรงทำให้สามารถเชื่อมระบบไฟฟ้ากระแสสลับต่างระบบที่มีความถี่ต่างกันได้อย่างสะดวก โดยไม่ต้องทำการซิงโครไนซ์

2 เนื่องจากไม่มีข้อจำกัดเรื่องกำลังไฟฟ้าสูงสุดที่ส่งจ่ายได้ หรือความยาวของสายเคเบิล ทำให้ไม่เกิดปัญหาค่าความเหนี่ยวนำ (Inductive) และค่าความจุ (Capacitive) ของสายไฟเหนือศีรษะ (Overhead lines) และสายเคเบิล (Cable) และนอกจากนั้นยังได้ใช้ประโยชน์จากขนาดพื้นที่หน้าตัดของสายเคเบิลได้อย่างเต็มที่เนื่องจากไม่เกิด Skin Effect เหมือนกับที่เกิดจากระบบไฟฟ้ากระแสสลับ

3 การควบคุมของการส่งจ่ายกำลังไฟฟ้าของระบบ HVDC ที่สามารถทำได้อย่างรวดเร็ว สามารถนำข้อดีนี้มาใช้เพื่อลดหรือหน่วงการแกว่ง (ออสซิลเลต) ของกำลังไฟฟ้าในกริดไฟฟ้ากระแสสลับ (AC Grid) ได้ เพื่อเพิ่มเสถียรภาพของระบบ

4 สามารถใช้ระบบการส่งจ่ายแบบ HVDC ได้อย่างมีประสิทธิภาพในสายเคเบิลใต้ทะเลที่ยาวมากที่เชื่อมต่อกับระบบ AC

5 ระบบ HVDC เหมาะกับการให้พลังงานสำหรับแท่นน้ำมันและก๊าซนอกชายฝั่งด้วยไฟฟ้าที่สะอาดจากบนฝั่ง

6 การฝัง HVDC ในระบบ AC เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการเสริมสร้างการถ่ายโอนพลังงานปริมาณมากและสร้างความเข้มแข็งในการทำงานของระบบ AC

2.1 ประวัติของการส่งจ่ายกำลังไฟฟ้าแบบ HVDC

เป็นที่ทราบกันดีว่าระบบ HVDC ยังไม่เป็นที่แพร่หลายตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน ซึ่งจุดเปลี่ยนของการพัฒนาการส่งจ่ายกำลังไฟฟ้าแบบ HVDC สามารถสรุปได้ดังนี้

- ค.ศ.1882: ประเทศเยอรมันมีการสร้างระบบส่งจ่ายไฟฟ้ากระแสตรง ขนาด 2,000 V ความยาว 50 กิโลเมตร ถูกติดตั้งขึ้นระหว่างเมือง Miesbach กับเมือง Munich แต่อย่างไรก็ตาม ยังเป็นการจ่ายกำลังโดยใช้เครื่องจักรกลไฟฟ้ากระแสตรง

- ค.ศ. 1941: ประเทศเยอรมันมีการสร้างระบบส่งจ่ายไฟฟ้าด้วย HVDC ในเชิงพาณิชย์ ขนาดกำลังไฟฟ้า 60 MW เพื่อใช้ส่งจ่ายกำลังไฟฟ้าไปยังเมือง Berlin

- ค.ศ.1945: ประเทศสวีเดนมีการสร้างระบบส่งจ่ายไฟฟ้า HVDC ในเชิงพาณิชย์ เพื่อใช้เชื่อมต่อระบบไฟฟ้ากำลังระหว่างประเทศสวีเดน ไปยังเกาะ Gotland

- ค.ศ.1970: มีการสร้างสถิติที่ทำจากสารกึ่งตัวนำ เพื่อนำมาแทนที่หลอดสุญญากาศ

- ค.ศ.1979: ในประเทศบราซิลมีการลงนามสัญญาสร้างระบบส่งจ่ายกำลังไฟฟ้าระบบ HVDC ที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในโลก ± 600 kV, 6,300 MW ที่เมือง Itaipu

- ค.ศ.1979: ประเทศบราซิลได้มีการลงนามสัญญาสร้างระบบส่งจ่ายกำลังไฟฟ้าระบบ HVDC ที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในโลก 600 kV, 6,300 MW ที่ Itaipu โดยบริษัท ABB

- ค.ศ.1985: ส่งมอบระบบส่งจ่ายกำลังไฟฟ้าระบบ HVDC ที่ Itaipu ประเทศบราซิล โดยระยะแรกส่งกำลังได้ 3,150 MW

- ค.ศ.1987: ส่งมอบระบบส่งจ่ายกำลังไฟฟ้าระบบ HVDC ที่ Itaipu ประเทศบราซิล ระยะที่สองที่ส่งกำลังได้อีก 3,150 MW

2.2 ต้นทุนของระบบ HVDC

สถานีกำลังของระบบ HVDC มีราคาที่สูงกว่าระบบ HVAC เพราะระบบ HVDC ต้องมีการแปลงจากไฟฟ้า AC ไปเป็นไฟฟ้า DC และ จากไฟฟ้า DC ไปเป็นไฟฟ้า AC อีกครั้งหนึ่ง นั้นหมายความว่าต้องมีการลงทุนไปกับระบบแปลงผันกำลังไฟฟ้าในส่วนนี้ด้วยนั่นเอง ในขณะที่ระบบส่งจ่ายกำลังด้วย HVAC ไม่ต้องมีต้นทุนตรงส่วนนี้ จึงทำให้ต้นทุนในส่วนนี้ของสถานีกำลังระบบ HVAC จะมีราคาต่ำกว่าระบบ HVDC แต่อย่างไรก็ตามเมื่อระยะทางที่ต้องส่งจ่ายกำลังไฟฟ้าเพิ่มขึ้น ต้นทุนของระบบ HVDC กลับมีค่าน้อยกว่าการส่งจ่ายกำลังในระบบ HVAC เนื่องจากการส่งกำลังไฟฟ้าแบบ HVDC มีต้นทุนของสายส่งที่ต่ำกว่าระบบ HVAC และรวมไปถึงการสูญเสียในระบบ HVAC ที่มีค่าสูงกว่าระบบของ HVDC ด้วย

2.2 ต้นทุนของระบบ HVDC

ระบบ HVDC จะมีต้นทุนที่สูงกว่าระบบ HVAC เนื่องมาจากสถานีกำลังของระบบ HVDC มีราคาที่สูงกว่าระบบ HVAC เพราะระบบ HVDC ต้องมีการแปลงจากไฟฟ้า AC ไปเป็นไฟฟ้า DC และ จากไฟฟ้า DC ไปเป็นไฟฟ้า AC อีกครั้งหนึ่ง นั้นหมายความว่าต้องมีการลงทุนไปกับระบบแปลงผันกำลังไฟฟ้าในส่วนนี้ด้วยนั่นเอง ในขณะที่ระบบส่งจ่ายกำลังด้วย HVAC ไม่ต้องมีต้นทุนตรงส่วนนี้ จึงทำให้ต้นทุนในส่วนนี้ของสถานีกำลังระบบ HVAC จะมีราคาต่ำกว่าระบบ HVDC แต่อย่างไรก็ตามจากผลของการศึกษาพบว่าเมื่อระยะทางที่ต้องส่งจ่ายกำลังไฟฟ้าเพิ่มขึ้น ต้นทุนของระบบ HVDC กลับมีค่าน้อยกว่าการส่งจ่ายกำลังในระบบ HVAC เนื่องจากการส่งกำลังไฟฟ้าแบบ HVDC มีต้นทุนของสายเคเบิลที่ต่ำกว่าระบบ HVAC และรวมไปถึงการสูญเสียในระบบ HVAC ที่มีค่าสูงกว่าระบบของ HVDC ด้วย

2.3 ระบบ HVDC ในประเทศไทย

ประเทศไทยได้มีการนำเอาระบบ HVDC มาใช้ในการเชื่อมโยงระหว่างระบบไฟฟ้าของประเทศไทยกับประเทศมาเลเซียโดยการไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย (EGAT) และ การ

ไฟฟ้ามาเลเซีย (Tenaga Nasional Berhad : TNB) เริ่มมีการเชื่อมโยงระบบไฟฟ้าเพื่อแลกเปลี่ยนไฟฟ้ากันตั้งแต่ พ.ศ. 2523 (1980)(Branch, 2014) เป็นต้นมา โดยมีสายส่งเชื่อมโยงระหว่างสถานีไฟฟ้าบูกิตเคตรีของ TNB และสถานีไฟฟ้าสะเดาของ กฟผ. มีระดับแรงดัน 132/115 kV เป็นระบบเชื่อมโยงไฟฟ้ากระแสสลับ (HVAC) แสดงดังภาพประกอบที่ 1 ซึ่งแลกเปลี่ยนพลังงานไฟฟ้าได้ประมาณ 80 เมกะวัตต์ แต่เกิดปัญหาความไม่มีเสถียรภาพของระบบ ทำให้ไม่สามารถเชื่อมโยงระบบทั้งสองได้ตลอดเวลา อย่างไรก็ตามการเชื่อมโยงระบบ HVAC มีประโยชน์ในการช่วยเหลือกันกรณีฉุกเฉิน ต่อมาการไฟฟ้าทั้งสองประเทศได้พิจารณาศึกษาเพื่อให้เกิดการเชื่อมโยงระบบไฟฟ้าให้สามารถเชื่อมโยงกันได้ตลอดเวลา ซึ่งในปีพ.ศ. 2531 EGAT และ TNB ได้ลงนามใน MOU เห็นชอบร่วมกันให้ TNB ขอรับความช่วยเหลือจากรัฐบาลสวีเดนในการศึกษาความเหมาะสมการเชื่อมโยง ซึ่งผลการศึกษาส่งเสริมให้เชื่อมโยงด้วยระบบ HVDC ขนาด 300 MW โดยปัจจุบัน EGAT และ TNB ได้ทำการซื้อขายไฟฟ้าภายใต้สัญญา (System Interconnection Agreement 2002 : SIA2002) ซึ่งลงนามเมื่อวันที่ 14 พฤษภาคม 2545 สัญญามีอายุ 25 ปี นับจากวันลงนามในสัญญาฯ ขณะนี้ได้ทำการซื้อขายไฟฟ้ามาแล้ว 18 ปี

โครงการเชื่อมต่อระบบส่งไทย-มาเลเซีย ด้วยระบบ HVDC นี้ดำเนินการโดยการไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย (EGAT) และการไฟฟ้ามาเลเซีย (Tenaga Nasional Berhad: TNB) โดยมีสถานีไฟฟ้าในฝั่งประเทศไทยอยู่ที่ สถานีคลองแงะ จังหวัดสงขลา กับสถานีกูรูน รัฐเคห์ด้า ประเทศมาเลเซีย โดยมีระยะทาง 24 กิโลเมตร จากชายแดนฝั่งประเทศไทย และ 86 กิโลเมตร จากชายแดนประเทศมาเลเซีย รวมเป็นระยะทางทั้งหมด 110 กิโลเมตร

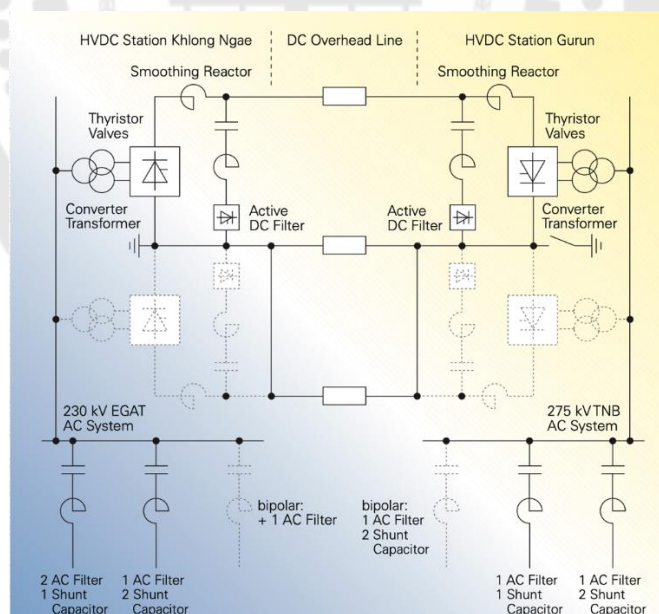
ตาราง 1 รายละเอียดของระบบ HVDC ของประเทศไทย (S. Sakdhnagool; C. H. Wong; C. Bartsch)

ประเภท	รายละเอียด
ตัวเหนี่ยวนำกรองกระแส	100 mH, แกนเดี่ยว (Single Core)
หม้อแปลงสำหรับ	Converter 3x116 MVA, 1 เฟส 3 ขด 230/122.24/122.24 kV
ระบบไฟฟ้ากระแสสลับ	ไทย: EGAT 230 kV; 50 Hz มาเลเซีย: TNB 275 kV, 50 Hz
แรงดันไฟฟ้ากระแสตรง	+/- 300 kV
ขนาดของไทรสเตอร์	8 kV, 1,550 A
จำนวนของไทรสเตอร์	1,152 ตัว
วงจรกรอง	วงจรกรองแบบ Passive (ฮาร์มอนิกอันดับที่ 12/24) วงจรกรองแบบ Active (ฮาร์มอนิกอันดับที่ 6/15/21/24/27/33/42/48) DC, 110 กม.
สายส่งกำลัง	ตัวนำโพล (Pole Conductor): 546 ตร.มม. ตัวนำนิวทรัล (Neutral Conductor): 298 ตร.มม.
เงินลงทุน	4,980 ล้านบาท
ผู้รับเหมาหลัก	Siemens AG, Germany
ผู้ให้คำปรึกษา	Teshmont Consultants Inc., Canada



ภาพประกอบ 1 ระบบเชื่อมโยงไฟฟ้า HVDC ระหว่างประเทศไทยและมาเลเซีย

ที่มา: (S. Sakdhnagool; C. H. Wong; C. Bartsch)



ภาพประกอบ 2 แบบไฟฟ้า SINGLE LINE DIAGRAM ระบบ HVDC เชื่อมต่อโครงข่าย
ไทย - มาเลเซีย

ที่มา: (S. Sakdhnagool; C. H. Wong; C. Bartsch)

ในระยะแรก ระบบ HVDC จะใช้เป็นแบบ Monopolar ซึ่งจะทำให้ส่งกำลังไฟฟ้าได้ 300 MW แต่ในอนาคตการไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทยก็ได้มีโครงการที่จะอัพเกรดเพิ่มกำลังไฟฟ้าให้เป็น 600 MW โดยการเปลี่ยนเป็นแบบ Bipolar ซึ่งในปัจจุบันระบบ HVDC นี้สามารถส่งกำลังได้เต็มที่ 300 MW (300 kV, 1,000 A) และสามารถจ่ายกำลังเกินได้ถึง 450 MW ในระยะเวลาไม่เกิน 10 นาที

2.4 ความมั่นคงด้านพลังงานร่วมกันของประเทศไทยกับประเทศมาเลเซีย

ระบบ HVDC เชื่อมต่อโครงข่ายไทย - มาเลเซีย ให้ประโยชน์หลายประการ (E. G. A. o. Thailand, 2003) ได้แก่

- การแลกเปลี่ยนทางเศรษฐกิจของอำนาจระหว่างสองเครือข่ายที่แตกต่างกัน
- เพิ่มความน่าเชื่อถือของระบบ
- การลดกำลังการผลิตสำรองของระบบกำลังทั้งสองประเทศด้วยการแบ่งปันปริมาณสำรองที่หมุนเวียน
- การแบ่งปันประสบการณ์การปฏิบัติงานและการบำรุงรักษาระบบ HVDC
- ความร่วมมือที่ใกล้ชิดระหว่างประเทศไทยกับประเทศมาเลเซีย

กรณีของความร่วมมือระหว่างประเทศไทย-มาเลเซียเริ่มคิดมาตั้งแต่ปี 2513 บนฐานความคิด 2 ประการคือ

1 เนื่องจากความต้องการใช้ไฟฟ้าสูงสุดของมาเลเซียกับภาคใต้ของประเทศไทยเกิดไม่พร้อมกัน ดังนั้น จึงควรจะมีการแลกไฟฟ้ากันในช่วงเวลา ซึ่งใช้คำว่า Power Exchange ซึ่งหมายถึงการแลกไฟฟ้า

2 เพื่อลดโรงไฟฟ้าสำรองของทั้ง 2 ประเทศ ซึ่งถือว่าเป็นหลักคิดที่ดีมากซึ่งในทวีปยุโรปเขาก็ทำอย่างนี้เช่นกัน

2.5 การซื้อขายไฟฟ้าระหว่างประเทศไทยกับประเทศมาเลเซีย

ประเทศไทยกับมาเลเซียมีการร่วมมือด้านพลังงานผ่านการซื้อขายแลกเปลี่ยนพลังงานไฟฟ้าระหว่างไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย กับการไฟฟ้ามาเลเซีย ปัจจุบันมีการซื้อขายแลกเปลี่ยนพลังงานไฟฟ้าผ่านจุดเชื่อมโยงระบบไฟฟ้า 2 จุดด้วยกัน ((NEPC), 2015)

2.5.1 ระบบส่งเชื่อมโยง HVAC (สฟ. บุญเกิดเททธิ) จำนวน 30 MW

เป็นการซื้อขายไฟฟ้าในลักษณะที่ทั้งสองฝ่ายตกลงทำข้อเสนอราคาขายไฟฟ้าล่วงหน้าเดือนต่อเดือนที่ 3 ระบุกับ Price A (ราคาต่ำ) Price B (ราคาปานกลาง) และ Price C (ราคาสูง)

2.5.2 ระบบเชื่อมโยง HVDC (สฟ. ภูธร) ปริมาณซื้อขายสูงสุด 300 MW

เป็นการซื้อขายไฟฟ้าแบบ Non-Firm ในลักษณะ Bulk Energy โดยอัตราซื้อไฟฟ้าคิดเป็น Tier ในปริมาณ Tier ละ 25 ล้านหน่วย โดยจะมีราคาลดหลั่นลงตามลำดับ ทำให้การรับซื้อไฟฟ้าปริมาณมากมีราคาเฉลี่ยถูกลง

3 สนามไฟฟ้า (Electric field)

สนามไฟฟ้า หมายถึง “บริเวณรอบประจุไฟฟ้า ซึ่งประจุไฟฟ้า สามารถแผ่สนามไฟฟ้าไปถึง” หรือ “บริเวณที่เมื่อนำประจุไฟฟ้าทดสอบเข้าไปวางแล้วจะเกิดแรงกระทำบนประจุไฟฟ้าทดสอบนั้น” ที่ใดมีไฟฟ้าที่นั่นจะมีสนามไฟฟ้า โดยรอบประจุไฟฟ้ามีอะไรสิ่งหนึ่งที่เมื่อนำเอาประจุอื่นเข้ามาในบริเวณนั้นแล้ว ทำให้เกิดแรงกระทำต่อประจุที่นำเข้ามา สิ่งที่เกิดจากประจุเรียกว่า สนามไฟฟ้าจะมีมากหรือน้อยอาจแสดงหรือวัดในรูปของแรงที่เกิดขึ้น กฎของคูลอมป์ (Coulomb's Law)

3.1 เส้นแรงไฟฟ้า (Electric line of force)

เส้นแรงไฟฟ้าคือเส้นต่าง ๆ ที่ใช้เพื่อแสดงทิศของสนามไฟฟ้าในบริเวณรอบจุดประจุ หรือเส้นแรงไฟฟ้าใช้แสดงทิศของแรงที่กระทำต่อประจุบวกที่วางอยู่ในบริเวณที่มีสนามไฟฟ้า

3.1.1 คุณสมบัติของเส้นแรงไฟฟ้า

- เส้นแรงไฟฟ้าพุ่งออกจากประจุบวก และพุ่งเข้าสู่ประจุลบ
- เส้นแรงไฟฟ้าแต่ละเส้นจะไม่ตัดกัน
- เส้นแรงไฟฟ้าจากประจุชนิดเดียวกัน ไม่เสริมเป็นแนวเดียวกัน แต่จะเบนแยกออกจากกันเป็นแต่ละแนว ส่วนเส้นแรงไฟฟ้าจากประจุต่างชนิดกันจะเสริมเป็นแนวเดียวกัน
- เส้นแรงไฟฟ้าจะตั้งฉากกับผิวของวัตถุเสมอ
- เส้นแรงไฟฟ้าจะไม่พุ่งผ่านผิวของวัตถุตัวนำ
- เส้นตรงที่สัมผัสกับเส้นแรงไฟฟ้าที่จุดใด ๆ จะแสดงแนวของสนามไฟฟ้า ณ จุดนั้น
- จำนวนเส้นแรงไฟฟ้าต่อพื้นที่หน้าตัด จะเป็นสัดส่วนกับขนาดของสนามไฟฟ้า
- สนามไฟฟ้าคงที่ เส้นแรงไฟฟ้าจะขนานกัน

3.2 สนามไฟฟ้าสม่ำเสมอ (Uniform field)

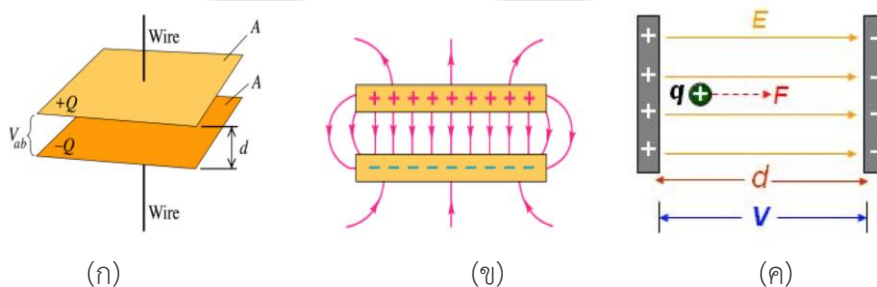
สนามไฟฟ้าสม่ำเสมอ คือ บริเวณที่สนามไฟฟ้ามีค่าคงที่ในทุกจุด เช่น เช่น สนามไฟฟ้าระหว่างแผ่นตัวนำคู่ขนานที่มีขนาดใหญ่มากและมีระยะห่างระหว่างแผ่นขนานน้อย ๆ

สนามไฟฟ้าระหว่างแผ่นตัวนำคู่ขนาน เมื่อทำให้แผ่นหนึ่งมีประจุไฟฟ้า $+Q$ และอีกแผ่นหนึ่งมีประจุไฟฟ้า $-Q$ จะมีสนามไฟฟ้าระหว่างแผ่นทั้งสอง สนามไฟฟ้าระหว่างแผ่นโลหะขนานจะมีค่าคงตัวทั้งขนาดและทิศทาง โดยขนาดของสนามไฟฟ้าหาได้จากขนาดของแรงที่กระทำต่อประจุ $+1\text{ C}$ ที่วางในสนามไฟฟ้านั้น หรือหาจากความต่างศักย์ระหว่างแผ่นขนาน/ระยะห่างระหว่างแผ่นขนาน ดังสมการที่ 2.2 และทิศของสนามไฟฟ้า หาจากทิศของแรง เมื่อนำประจุทดสอบวางลงในสนามไฟฟ้าสม่ำเสมอ โดยทิศของสนามไฟฟ้ามีทิศเดียวกับทิศแรงที่กระทำต่อประจุทดสอบ $+1\text{ C}$ ที่วางลงในสนามไฟฟ้านี้ และทิศสนามมีทิศตรงกันข้ามกับทิศของแรงที่กระทำต่อประจุลบ หรือสนามไฟฟ้ามีทิศจากแผ่นบวกไปยังแผ่นลบ

$$E = \frac{F}{q} \quad (2.1)$$

$$E = \frac{V}{d} \quad (2.2)$$

เมื่อ E คือ สนามไฟฟ้าสม่ำเสมอ $[\text{N/C}]$ หรือ $[\text{V/m}]$
 F คือ แรงกระทำต่อประจุทดสอบ q $[\text{N}]$
 q คือ ประจุทดสอบซึ่งอยู่ในสนามไฟฟ้า $[\text{C}]$
 V คือ ความต่างศักย์ไฟฟ้าระหว่างแผ่นตัวนำขนาน $[\text{V}]$
 d คือ ระยะห่างระหว่างความต่างศักย์ วัดขนานกับสนามไฟฟ้า $[\text{m}]$



ภาพประกอบ 3 (ก) แผ่นตัวนำคู่ขนาน (ข) ทิศของสนามไฟฟ้า (ค) สนามไฟฟ้าสม่ำเสมอ

ที่มา: (Physics, 2012)

3.3 คุณสมบัติทางไฟฟ้าของวัสดุ (Electrical Properties)

เป็นการศึกษาเกี่ยวกับคุณสมบัติทางไฟฟ้าของวัสดุ เช่น การนำไฟฟ้าของโลหะ และสารกึ่งตัวนำ นอกจากนี้ก็ยังอธิบายความสามารถในการนำไฟฟ้าโดยทฤษฎีโครงสร้างแถบพลังงาน (electron band structure)

3.3.1 ค่าการนำไฟฟ้าของวัสดุทั่วไป

ตัวนำเป็นวัสดุที่มีเวเลนซ์อิเล็กตรอนยึดแน่น อิเล็กตรอนสามารถลอยระหว่างอะตอมได้อย่างอิสระ อนุชนมีโครงสร้างที่อิเล็กตรอนถูกพันธะกับอะตอมโดยพันธะไอออนิกหรือโควาเลนต์ แทบไม่มีกระแสสามารถไหลได้ เซมิคอนดักเตอร์เป็นวัสดุอนุชนที่สามารถหักพันธะด้วยแรงดันไฟฟ้าที่นำไปใช้ อิเล็กตรอนสามารถถูกปล่อยและย้ายจากที่หนึ่งไปยังอีกที่หนึ่ง

สภาพนำไฟฟ้า (Conductivity) คือ ความสามารถในการนำไฟฟ้า สภาพนำไฟฟ้า คือ ส่วนกลับของสภาพต้านทานของสารนั้น ดังสมการที่ 2.3

สภาพต้านทานไฟฟ้า (Resistivity) คือ ปริมาณการวัดของการต่อต้านการไหลของกระแสไฟฟ้าในวัสดุ ค่าสภาพต้านทานไฟฟ้าต่ำบ่งชี้ว่าวัสดุยินยอมให้ประจุไฟฟ้าเคลื่อนที่ได้ง่าย ดังสมการที่ 2.4

$$\sigma = \frac{1}{\rho} \quad (2.3)$$

$$R = \rho \frac{l}{A} \quad (2.4)$$

เมื่อ σ คือ สภาพการนำไฟฟ้า [$(\Omega \cdot m)^{-1}$ หรือ S/m]

ρ คือ สภาพความต้านทานไฟฟ้า [$\Omega \cdot m$]

R คือ ความต้านทาน [Ω]

l คือ ความยาวตัวนำ [m]

A คือ พื้นที่หน้าตัดของตัวนำ [m^2]

ตาราง 2 สภาพความต้านทานไฟฟ้า และสภาพการนำไฟฟ้าของวัสดุต่าง ๆ

Material	ρ ($\Omega \cdot m$) at 20 °C Resistivity	σ (S/m) at 20 °C Conductivity
Silver	1.59×10^{-8}	6.30×10^7
Copper	1.68×10^{-8}	5.96×10^7
Annealed copper	1.72×10^{-8}	5.80×10^7
Gold	2.44×10^{-8}	4.10×10^7
Aluminum	2.82×10^{-8}	3.5×10^7
Calcium	3.36×10^{-8}	2.98×10^7
Tungsten	5.60×10^{-8}	1.79×10^7
Zinc	5.90×10^{-8}	1.69×10^7
Nickel	6.99×10^{-8}	1.43×10^7
Lithium	9.28×10^{-8}	1.08×10^7
Iron	1.0×10^{-7}	1.00×10^7
Platinum	1.06×10^{-7}	9.43×10^6
Tin	1.09×10^{-7}	9.17×10^6
Carbon steel	(10^{10})	1.43×10^{-7}
Lead	2.2×10^{-7}	4.55×10^6
Titanium	4.20×10^{-7}	2.38×10^6
Grain oriented electrical steel	4.60×10^{-7}	2.17×10^6
Manganin	4.82×10^{-7}	2.07×10^6
Constantan	4.9×10^{-7}	2.04×10^6
Stainless steel	6.9×10^{-7}	1.45×10^6
Mercury	9.8×10^{-7}	1.02×10^6
Nichrome	1.10×10^{-6}	9.09×10^5
GaAs	5×10^{-7} to 10×10^{-3}	5×10^{-8} to 10^3

ตาราง 2 (ต่อ)

Material	ρ ($\Omega \cdot m$) at 20 °C Resistivity	σ (S/m) at 20 °C Conductivity
Carbon (amorphous)	5×10^{-4} to 8×10^{-4}	1.25 to 2×10^3
Carbon (diamond)	1×10^{12}	$\sim 10^{-13}$
Germanium	4.6×10^{-1}	2.17
Sea water	2×10^{-1}	4.8
Drinking water	2×10^1 to 2×10^3	5×10^{-4} to 5×10^{-2}
Silicon	6.40×10^2	1.56×10^{-3}
Wood (damp)	1×10^3 to 4	10^{-4} to 10^{-3}
Deionized water	1.8×10^5	5.5×10^{-6}
Glass	10×10^{10} to 10×10^{14}	10^{-11} to 10^{-15}
Hard rubber	1×10^{13}	10^{-14}
Wood (oven dry)	1×10^{14} to 16	10^{-16} to 10^{-14}
Sulfur	1×10^{15}	10^{-16}
Air	1.3×10^{16} to 3.3×10^{16}	3×10^{-15} to 8×10^{-15}
Paraffin wax	1×10^{17}	10^{-18}
Fused quartz	7.5×10^{17}	1.3×10^{-18}
PET	10×10^{20}	10^{-21}
Teflon	10×10^{22} to 10×10^{24}	10^{-25} to 10^{-23}

4 ทฤษฎีเซลล์ (Cell Theory)

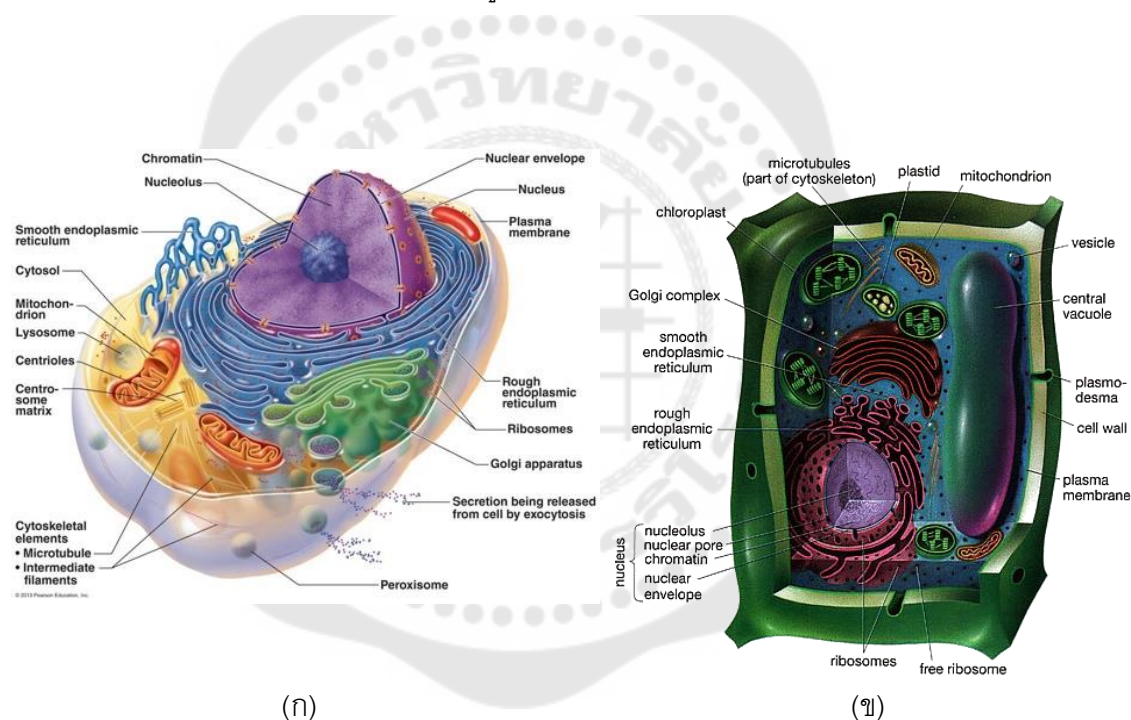
เซลล์เป็นหน่วยพื้นฐานของสิ่งมีชีวิตที่สามารถแสดงคุณสมบัติและความเป็นสิ่งมีชีวิตอย่างสมบูรณ์ Schleiden และ Schwann ได้ร่วมกันตั้งทฤษฎีเซลล์ (Cell Theory) มีสาระสำคัญ คือ “สิ่งมีชีวิตทั้งหลาย ประกอบด้วย เซลล์ และผลิตภัณฑ์ของเซลล์” (All animal and plant are composed of cell and products) Rudolf Virchow ได้ศึกษาการเจริญเติบโตของเซลล์และการเพิ่มจำนวนเซลล์จากเซลล์ที่เจริญเติบโต จึงเพิ่มเติมทฤษฎีเซลล์ว่า “เซลล์ทุกชนิดย่อมมีกำเนิดมา

จากเซลล์ที่มีอยู่ก่อน” ในปี ค.ศ.1655 ได้ประดิษฐ์กล้องจุลทรรศน์ชนิดเลนส์ประกอบที่ส่องดูชิ้นไม้คอร์กที่ผ่านบาง และพบโครงสร้างที่มีรูปร่างเป็นช่องเหลี่ยมเล็ก ๆ จึงเรียกว่า เซลล์ (Cell) หมายถึง ห้องเล็ก ๆ เป็นเพียงผนังเซลล์ของพืชที่ยังคงเหลืออยู่หลังจากที่เซลล์ตายแล้ว

4.1 ประเภทของเซลล์แบ่งได้เป็น 2 ชนิด

4.1.1 Prokaryotic cells เซลล์ของสิ่งมีชีวิตชั้นต่ำ พวกแบคทีเรีย สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ไคโรพลาสมา ลักษณะเด่นคือ เซลล์ไม่มีเยื่อหุ้ม แบ่งแยกต่างหาก

4.1.2 Eukaryotic cells ภายในเซลล์ยูคาริโอต จะประกอบด้วยเยื่อหุ้มเซลล์และของเหลวที่อยู่ภายในเรียก โปรโตพลาสซึม ส่วนของเหลวยูคาริโอตนี้แบ่งเป็น 2 ชนิด คือ นิวเคลียสกับไซโตพลาสซึม สิ่งมีชีวิตที่มีเซลล์ชนิดอยู่ยูคาริโอต ได้แก่พืช สัตว์ สาหร่าย และโปรโตซัว



ภาพประกอบ 4 (ก) โครงสร้างเซลล์สัตว์ (ข) โครงสร้างเซลล์พืช

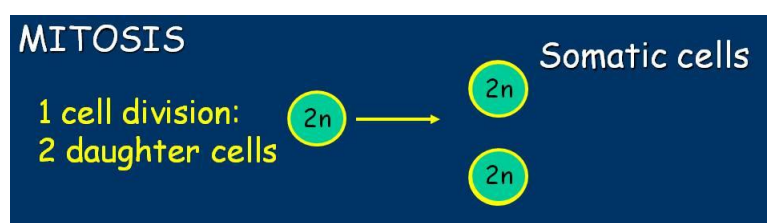
ที่มา: (Cummings, 2001a) ที่มา: (Cummings, 2001)

4.2 การแบ่งเซลล์ (Cell division)

ในสิ่งมีชีวิตพวกยูคาริโอตการแบ่งเซลล์จะประกอบด้วยกระบวนการแบ่งนิวเคลียสและการแบ่งไซโทพลาสซึม กระบวนการแบ่งนิวเคลียสมี 2 แบบ คือ

4.2.1 การแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส (Mitosis)

เซลล์ส่วนใหญ่ในสิ่งมีชีวิต (ยกเว้นเซลล์เริ่มต้นที่จะแบ่งไปเป็นเซลล์สืบพันธุ์ ซึ่งในเซลล์สัตว์เพศผู้เรียกว่า primary spermatocyte ส่วนในเซลล์สัตว์เพศเมียเรียกว่า primary oocyte) จะแบ่งตัวแบบไมโทซิส เมื่อเซลล์แบ่งตัวแบบไมโทซิสจะแยกออกเป็นเซลล์ใหม่ 2 เซลล์ ที่มีจำนวนชุดโครโมโซมหรือชุดสารพันธุกรรมตลอดจนข้อมูลทางพันธุกรรมเหมือนกับเซลล์เริ่มต้น และเหมือนกันเองทุกประการ



ภาพประกอบ 5 แบบจำลองการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส (MITOSIS)

ที่มา: (Uncategorized, 2011b)

การแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสเกิดขึ้นตั้งแต่ระยะไซโกตและเกิดอย่างต่อเนื่องตลอดชีวิต เมื่อสิ่งมีชีวิตเจริญเติบโตจะต้องสร้างเซลล์ใหม่เพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ เพื่อการรักษาบาดแผล การงอกของเมล็ด หรือเพื่อทดแทนเซลล์ที่ตายไป นอกจากนี้การแบ่งแบบไมโทซิสยังเกิดขึ้น ในการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศได้ด้วย โดยเซลล์พ่อแม่ของสัตว์หรือพืชจะแบ่งตัวให้เซลล์ใหม่ซึ่งจะกลายเป็นต้นพืชต้นใหม่หรือสัตว์ตัวใหม่

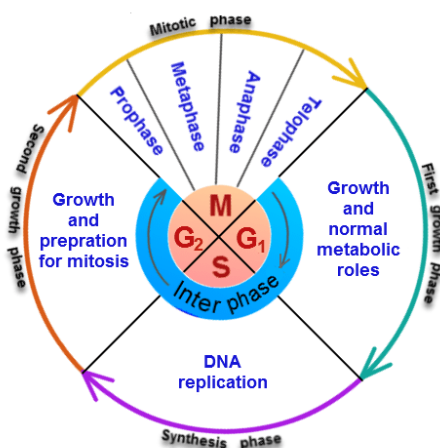


ภาพประกอบ 6 ตัวอย่างการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส (MITOSIS)

ที่มา: (Uncategorized, 2011c)

การแบ่งเซลล์ต้องเพิ่มปริมาณขององค์ประกอบที่สำคัญของเซลล์ เช่น ดีเอ็นเอ เยื่อหุ้มเซลล์ และเซนโทรโซม (centrosome) ซึ่งทำหน้าที่สร้างเส้นใยสปินเดิล (spindle fibers) ตลอดจนโปรตีนต่าง ๆ จำนวนมาก เป็นต้น

ในขั้นตอนของการแบ่งนิวเคลียสยังแบ่งออกเป็นระยะย่อยๆ ได้อีก 4 ระยะ คือ โพรเฟส(prophase) เมทาเฟส (metaphase) แอนาเฟส (anaphase) และเทโลเฟส (telophase)



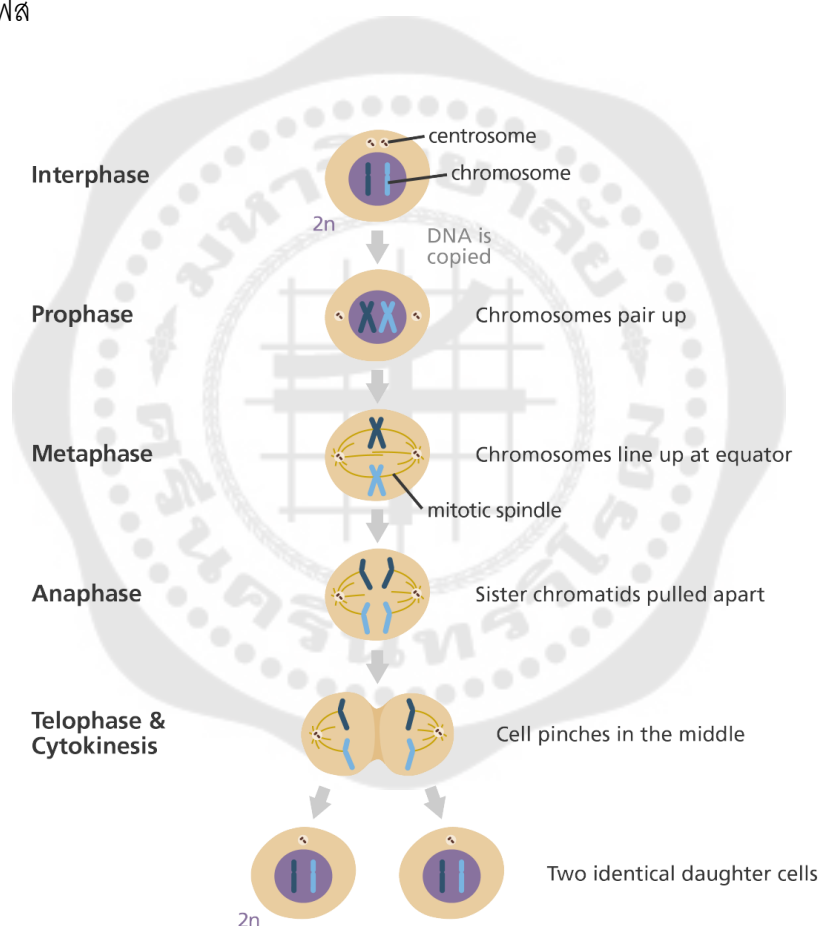
ภาพประกอบ 7 ขั้นตอนของการแบ่งนิวเคลียส (NUCLEUS)

ที่มา: (eMedicalPrep, 2010)

เป็นช่วงของการเตรียมสะสมวัตถุดิบที่จำเป็นสำหรับการสังเคราะห์สารต่างๆ รวมทั้งการสร้างออร์แกเนลล์เพื่อเตรียมพร้อมสำหรับการแบ่งเซลล์ ระยะนี้แบ่งออกเป็น 3 ระยะย่อยๆ ได้แก่ ระยะ G1 ระยะ S และระยะ G2 ในทั้ง 3 ระยะเซลล์จะมีการสังเคราะห์โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และอื่น ๆ เพื่อใช้สร้างองค์ประกอบที่จำเป็นสำหรับเซลล์ เช่น เยื่อหุ้มเซลล์ รวมทั้งออร์แกเนลล์อื่น ๆ แต่การลอกแบบดีเอ็นเอ (DNA replication) เพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอหรือสารพันธุกรรมนั้นจะเกิดขึ้นในระยะ S เท่านั้น (S ย่อมาจาก synthesis แปลว่าสังเคราะห์) ในระยะอินเตอร์เฟสนี้จะสามารถสังเกตเห็นขอบเขตของ นิวเคลียสได้ชัดเจน เนื่องจากเยื่อหุ้มนิวเคลียสยังไม่สลายในไซโทพลาซึม เซนโทรโซมที่เคยมีหนึ่งอันจะจำลองตัวเองจนมีสองอัน ในเซลล์สัตว์ตรงกลางของเซนโทรโซมจะมีเซนทริโอล (centriole) 2 อันวางตั้งฉากซึ่งกันและกัน ไมโครทิวบูล (microtubule) ซึ่งทำหน้าที่เกี่ยวกับการแยกโครโมโซมจะยืดยาวออกมาจากบริเวณเซนโทรโซม ส่วนในเซลล์พืชชั้นสูงจะไม่พบโครงสร้างที่มีลักษณะดังกล่าว ในช่วงท้ายของระยะนี้แม้ว่าการลอก

แบบดีเอ็นเอจะเสร็จเรียบร้อยแล้ว แต่จะไม่สามารถสังเกตเห็นโครโมโซมเป็นแท่งๆ เหมือนเครื่องหมายกากบาท เนื่องจากดีเอ็นเอยังอยู่ในสภาพโครมาทินที่ยังไม่ขดตัวกันแน่น

ในแต่ละรอบของการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสระยะอินเตอร์เฟสจะใช้เวลายาวนานกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ของเวลาทั้งหมด และแม้จะเป็นระยะที่ไม่สามารถสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงภายใต้กล้องจุลทรรศน์ได้อย่างชัดเจน แต่ก็ยังเป็นระยะที่มีความสำคัญมากเนื่องจากเป็นระยะที่มีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอหรือโครมาทินขึ้นเป็นสองเท่า (แต่จำนวนชุดของสารพันธุกรรมยังเท่ากับ $2n$ เช่นเดิม) เช่น ถ้ากำหนดให้ตัวอักษรภาษาอังกฤษ 1 ตัว แทนโครมาทิน 1 สายในระยะอินเตอร์เฟส



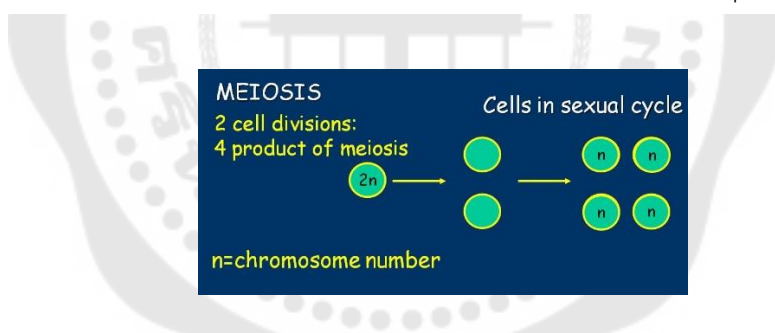
ภาพประกอบ 8 การแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส (MITOSIS)

ที่มา: (Shetty, 2016)

เนื่องจากการแบ่งเซลล์ในระยะอินเตอร์เฟส เหตุการณ์ที่เกิดขึ้นและมีความสำคัญมากที่สุดคือ การลอกแบบดีเอ็นเอ (DNA replication) ซึ่งการลอกแบบดีเอ็นเอ เป็นวิธีการที่เซลล์ใช้ในการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม หรือดีเอ็นเอให้มากขึ้น เพื่อถ่ายทอดไปสู่ลูกหลานต่อไปในกระบวนการแบ่งเซลล์ แม้ว่าวิธีการดังกล่าวนี้จะมีความแตกต่างกันบ้างในแต่ละสิ่งมีชีวิต แต่สิ่งหนึ่งที่เหมือนกันคือ มีการใช้ดีเอ็นเอสายเก่าเป็นแม่แบบในการสร้างสายใหม่ทุกครั้ง ดังนั้น DNA ใหม่ที่ได้ 2 สายจึงประกอบด้วยโพลีนิวคลีโอไทด์สายเก่า 1 สาย และสายใหม่ 1 สาย เรียกการลอกแบบลักษณะนี้ว่าการลอกแบบกึ่งอนุรักษ์ (semiconservative replication) การทดลองทางวิทยาศาสตร์ที่สำคัญ ที่เป็นเรื่องยืนยันความถูกต้องของการลอกแบบดีเอ็นเอแบบกึ่งอนุรักษ์ ได้แก่การทดลองของ Matthew Meselson และ Franklin Stahl

4.2.2 การแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส (meiosis)

เป็นการแบ่งเซลล์ที่ทำให้เกิดการลดจำนวนโครโมโซมภายในนิวเคลียสลงเหลือเพียงชุดเดียว (n) เป็นการแบ่งเซลล์เพื่อสร้างเซลล์สืบพันธุ์ โดยเซลล์ที่ทำหน้าที่แบ่งเซลล์แบบไมโอซิสนี้ เรียกว่า โกแนด (gonad) ในเพศหญิงจะพบเซลล์ชนิดนี้ในรังไข่ ซึ่งทำหน้าที่สร้างไข่ (ovum) ส่วนในเพศชายจะพบเซลล์ชนิดนี้ในอัณฑะ (testis) ซึ่งทำหน้าที่สร้างตัวอสุจิ (sperm)

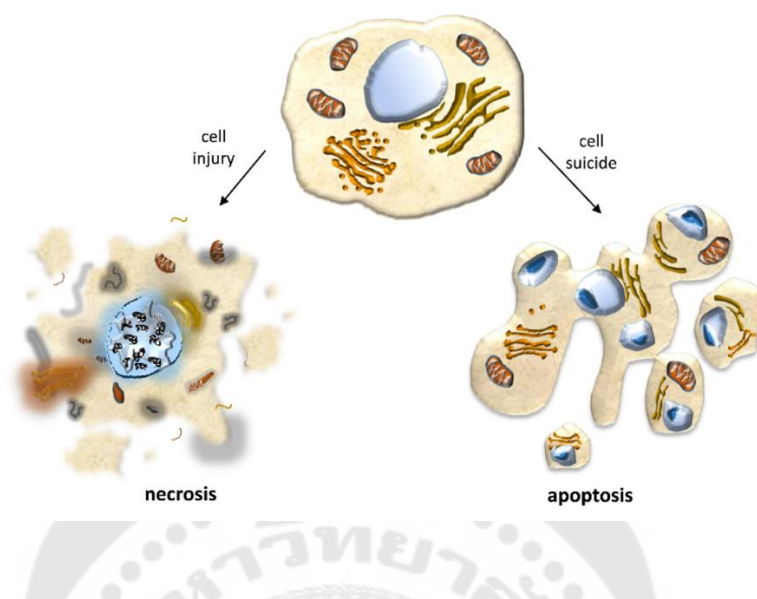


ภาพประกอบ 9 แบบจำลองการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส (MEIOSIS)

ที่มา: (Uncategorized, 2011a)

4.3 การตายของเซลล์ (Cell death)

เมื่อการบาดเจ็บของเซลล์รุนแรงมากขึ้นทำให้เซลล์เปลี่ยนแปลงมากทั้งด้าน Biochemistry โครงสร้าง และหน้าที่จนไม่สามารถซ่อมแซมได้ จนกระทั่งเซลล์ตายในที่สุด การตายของเซลล์แบ่งเป็น 2 ประเภทคือ Necrosis และ Apoptosis ตามลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้าง กลไกการเกิด และบทบาทที่พบการเปลี่ยนแปลงในภาวะ ปกติ (Physiologic change) และในภาวะที่เป็นโรค (Pathologic change)



ภาพประกอบ 10 การตายของเซลล์แบบ NECROSIS และ APOPTOSIS

ที่มา:(Priante, Giansello, Ceol, Del Prete, และ Anglani, 2019)

4.3.1 การตายแบบ Necrosis

เริ่มจากเปลี่ยนแปลงที่ membrane ของทั้งเซลล์และ organelles ภายในเซลล์ทำให้ lysosomal enzyme ไหลออกจาก lysosome เข้าสู่ cytoplasm และย่อยสลายโปรตีน และส่วนต่างๆ ภายในเซลล์ การตายแบบ necrosis ส่วนใหญ่เป็น pathologic process แต่การตายแบบ apoptosis ส่วนใหญ่เป็น physiologic process ไม่ค่อยมีการอักเสบเหมือนกับการตายแบบ necrosis

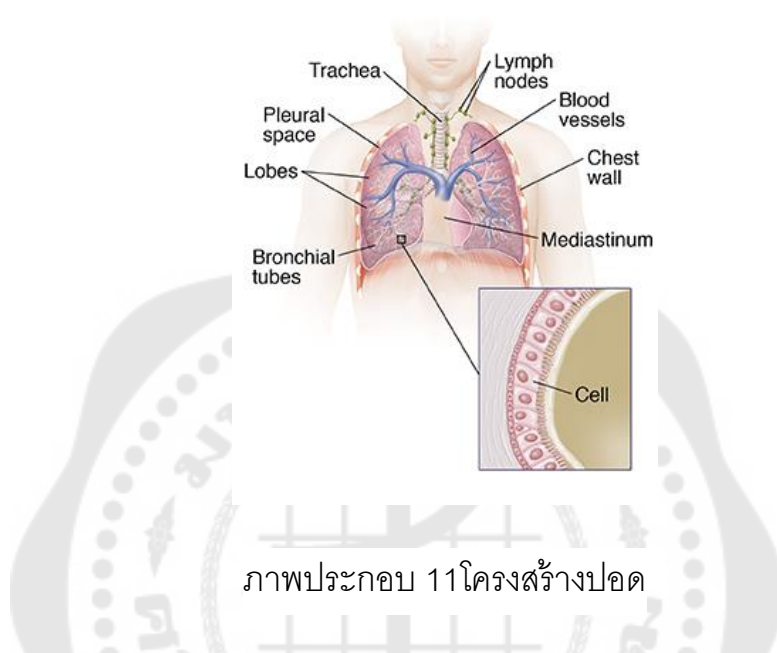
4.3.2 การตายแบบ Apoptosis

เริ่มจากที่ DNA ภายใน nucleus เสียสภาพไม่สามารถซ่อมแซมได้ เซลล์จะทำลายตนเองโดยเริ่มต้นจากการเปลี่ยนแปลงภายใน nucleus ก่อนจากนั้นเซลล์จะแตกออกเป็นส่วนๆ โดยที่ไม่มีความผิดปกติของ membrane หลังจากนั้น ส่วนของเซลล์ที่แตกเป็นส่วนๆ นั้นจะถูกเก็บกินโดยเซลล์ข้างเคียง หรือ macrophages

4.4 โครงสร้างปอด

ปอดเป็นโครงสร้างหลักของระบบหายใจ อยู่ในส่วนของช่องอก เมื่อช่องอกขยายปอดก็ขยายตาม เปิดโอกาสให้อากาศไหลเข้ามาสู่ปอด เมื่อช่องอกหดแฟบลงปอดก็ถูกบีบ ขับอากาศออกไปสู่ภายนอก ปอดสามารถเคลื่อนไหวได้โดยแทบจะไม่มีแรงเสียดทาน (friction-free)

movement) ภายในช่องอก ทั้งนี้เพระามีเนื้อเยื่อหุ้มปอด (pleura) ซึ่งเป็น smooth serous membrane ที่ห่อหุ้มปอด แบ่งออกเป็นส่วนที่เชื่อมติดกับปอดเรียกว่า visceral pleura และส่วนที่เชื่อมติดกับผนังช่องอกเรียกว่า parietal pleura



ที่มา: (Luke's)

Elasticity of the lung and lung recoil

ปอดจะมีการหดตัวกลับคืนเสมอ เมื่อมีการขยายของถุงลมปอด ทั้งนี้เนื่องจาก

1. Elastic fiber ของเนื้อเยื่อปอด
2. Surface tension ของถุงลมปอดเนื่องจากผนังด้านในของถุงลมปอดมีสาร

เรียกว่า surfactant เคลือบอยู่ ทำให้ภายในถุงลมมีแรงตึงผิว และแรงนี้จะคอยดึงให้ alveoli กลับคืนสู่สภาพที่แฟบที่สุด

ปอดของมนุษย์จะมีความจุหรือบรรจุก๊าซได้ประมาณ 4-5 ลิตร อยู่ในช่องอก โดยช่องอกจะถูกแบ่งออกจากช่องท้องด้วยส่วนของกระบังลม (diaphragm) อยู่ในตำแหน่งซ้ายขวาของหัวใจ อยู่ในช่องว่างของตัวเองที่เรียกว่า ช่องปอด (pleural cavity) ปอดอยู่ภายในพื้นที่ที่โค้งล้อมรอบไว้และจะติดอยู่กับโคนของขั้วปอด (bronchus) ซึ่งเป็นส่วนปลายสุดของหลอดลมที่แยกออกเป็น 2 หลอดด้านซ้ายและด้านขวา ขั้วปอดจะเหมือนกับหลอดลมทุกประการ แต่จากการแยกเป็นสองหลอดจึงทำให้มีขนาดเล็กลง มีความแข็งแรงน้อยกว่าหลอดลม ขั้วปอดของสัตว์บางอย่าง

เช่น วัว ควาย หมู วาฬ จะมีขั้วปอด 3 ขั้ว มนุษย์มีขั้วปอด เพียงอันเดียว จากขั้วปอดจะแตกออกไปเป็นหลอดเล็กกระจายไป เรียกว่า bronchiole ไปเชื่อมต่อกับถุงลม นำอากาศเข้าและออกจากถุงลม

หน้าที่ของปอด

1 หน้าที่เกี่ยวกับการหายใจ แลกเปลี่ยนก๊าซออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์

2 หน้าที่อื่น ๆ นอกจากการหายใจ

2.1 การควบคุมและขับสารต่าง ๆ เช่น ยา, แอลกอฮอล์ ออกจากระบบเลือด

2.2 การควบคุมสมดุลของความเป็นกรด-ด่างในเลือด ซึ่งมีความสำคัญต่อประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ และอวัยวะต่าง ๆ

2.3 กรองลิ่มเลือดเล็ก ๆ ที่ตกตะกอนออกจากเส้นเลือดดำ

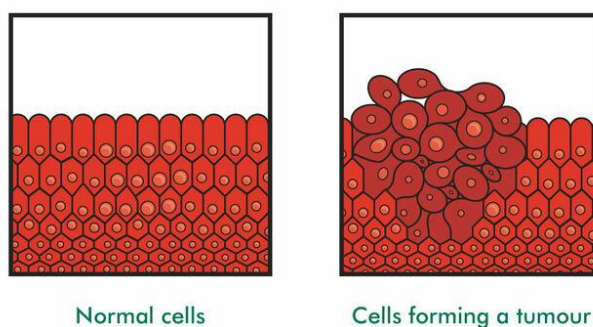
2.4 ปกป้องและรับแรงกระแทกที่จะทำอันตรายต่อหัวใจซึ่งอยู่ตรงกลางช่อง

ทรวงอก

2.5 ทำหน้าที่แลกเปลี่ยนแก๊ส

มะเร็งคืออะไร

มะเร็งคืออวัยวะเนื้อเยื่อของร่างกายสร้างมาจากหน่วยโครงสร้างเล็ก ๆ เรียกว่า เซลล์มะเร็ง มะเร็งเป็นโรคที่เกี่ยวกับเซลล์เหล่านี้ เซลล์ร่างกายแต่ละส่วนอาจมีลักษณะและหน้าที่การทำงานต่างกัน แต่ส่วนใหญ่ทำการซ่อมแซมหรือผลิตตัวเองขึ้นใหม่ในแบบเดียวกัน โดยปกติการแบ่งตัวของเซลล์เป็นไปตามวิธีที่มีลำดับขั้นตอนและการควบคุม แต่วิธีนี้ไม่สามารถควบคุมได้ เพราะเหตุผลบางอย่าง เซลล์จะแบ่งตัวไปจนพัฒนาขึ้นไปเป็นก้อนที่เรียกว่าเนื้องอก แสดงดังภาพประกอบ 12



ภาพประกอบ 12 เซลล์ปกติ และเซลล์มะเร็ง

ที่มา:(Support, 2020)

เนื้องอกไม่ได้หมายถึงมะเร็งเสมอไป แพทย์สามารถบอกได้ว่าเนื้องอกนี้คือมะเร็งหรือไม่ โดยการเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อหรือเซลล์ขนาดเล็กจากเนื้องอก วิธีนี้เรียกว่าการตัดเนื้องอกตรวจ แพทย์จะตรวจสอบตัวอย่างโดยใช้กล้องจุลทรรศน์เพื่อหาเซลล์มะเร็งในเนื้องอกหรือไม่ใช่เซลล์มะเร็ง) เซลล์อาจเติบโตแต่ไม่แพร่กระจายไปยังอวัยวะส่วนอื่นของร่างกาย เนื้องอกชนิดนี้จะเกิดปัญหาเฉพาะเมื่อกดทับอวัยวะอื่น ๆ ที่อยู่ใกล้เคียง ส่วนในเนื้องอกร้าย(มะเร็ง) เซลล์จะเติบโตเข้าไปในเนื้อเยื่อ ที่อยู่ใกล้เคียง บางครั้งเซลล์มะเร็งแพร่กระจายจากจุดกำเนิดมะเร็ง(ตำแหน่งหลัก) ไปยังอวัยวะส่วนอื่น ๆ ของร่างกายเนื้องอกร้ายนี้สามารถแพร่กระจายผ่านกระแสเลือดหรือระบบน้ำเหลือง โดยระบบน้ำเหลืองช่วยป้องกันเราจากการติดเชื้อและเชื้อโรค ระบบน้ำเหลืองประกอบด้วยท่อขนาดเล็กเรียกว่าท่อน้ำเหลือง ซึ่งเชื่อมต่อกับกลุ่มต่อมน้ำเหลืองรูปถั่ว (ต่อม) ทั่วร่างกาย เมื่อเซลล์เข้าถึงอวัยวะส่วนอื่น ๆ ของร่างกาย เซลล์เหล่านั้นจะเริ่มเติบโตและสร้างเนื้องอกอีกหนึ่งก้อน เรียกว่าโรคมะเร็งระยะที่สอง หรือระยะแพร่กระจาย

4.5 มะเร็งปอด

มะเร็งปอดเป็นมะเร็งที่พบมากที่สุดในโลกและเป็นโรคที่มีผู้เสียชีวิตมากที่สุดในกลุ่มโรคมะเร็ง (โดยเฉลี่ยประมาณ 1 ใน 5 ของผู้ป่วยที่เป็นมะเร็ง) และมีอัตราส่วนระหว่างการเสียชีวิตต่อจำนวนผู้ป่วยสูงถึง 0.87 สำหรับในประเทศไทยมะเร็งปอดเป็นมะเร็งที่พบสูงสุดเป็นอันดับ 1 ในเพศชาย และเป็นอันดับต้นๆรองจากมะเร็งปากมดลูกและมะเร็งเต้านมในเพศหญิง นอกจากนี้ มะเร็งปอดยังเป็นสาเหตุของการเสียชีวิตจากมะเร็งมากที่สุดทั้งในเพศชายและหญิง อัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วยแตกต่างกันออกไปขึ้นกับระยะของโรค สุขภาพโดยรวม และปัจจัยอื่น ๆ โดยผู้ป่วยส่วนมากที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นมะเร็งปอดจะเสียชีวิตภายในปีแรกเนื่องจากผู้ป่วยส่วนมากมักได้รับการวินิจฉัยเมื่ออยู่ในระยะท้ายเพราะอาการของโรคคล้ายโรคอื่น ทั้งนี้อัตราการรอดชีวิตที่หนึ่งปีของผู้ป่วยมะเร็งปอดในประเทศไทยโดยรวมน้อยกว่า 20% มะเร็งปอดเป็นโรคซึ่งมีการเจริญของเซลล์ในเนื้อเยื่อปอด อย่างควบคุมไม่ได้ การเจริญนี้นำไปสู่การแพร่กระจาย มีการรุกรานเข้าไปในเนื้อเยื่อข้างเคียงและแทรกซึมเข้าไปในอวัยวะนอกปอด มะเร็งปอดส่วนใหญ่เป็นมะเร็งชนิดเยื่อหุ้ม คือเจริญมาจากเซลล์เนื้อเยื่อหุ้ม มะเร็งปอดมักปรากฏอาการเมื่อเนื้อร้ายลุกลามเป็นวงกว้างในระยะที่ 3 – 4 อาการที่พบบ่อยที่สุดของโรคมะเร็งปอดคืออาการเหนื่อย ไอ รวมถึงไอเป็นเลือด น้ำหนักลดและหายใจลำบาก มะเร็งปอดมีอยู่ 2 ชนิดใหญ่คือ มะเร็งปอดชนิดเซลล์เล็ก (small cell lung cancer: SCLC) พบประมาณ 15% และมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก (non-small cell lung cancer; NSCLC) พบได้ 85% ของมะเร็งปอดทั้งหมด โดยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กมีโอกาสตรวจพบโรคในระยะต้นได้มากกว่ามะเร็งปอดชนิดเซลล์เล็ก

ประเภทของมะเร็งปอด

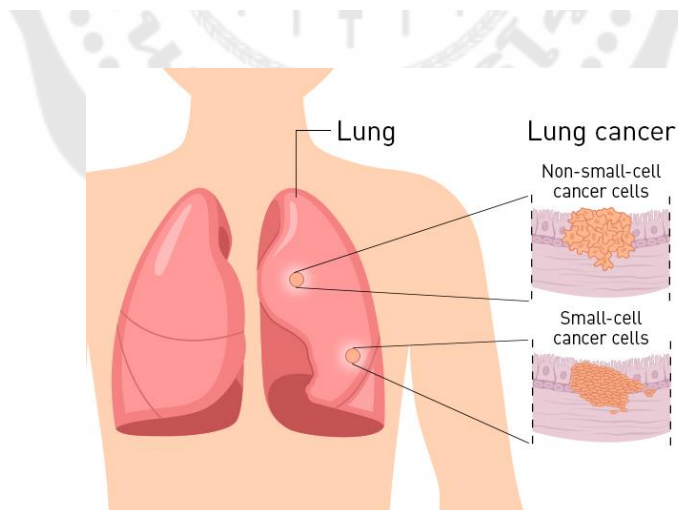
1 มะเร็งปอดชนิดที่ไม่ใช่เซลล์เล็ก (non-small cell lung cancer: NSCLC) มะเร็งปอดประเภทนี้เป็นมะเร็งปอดชนิดที่พบบ่อยที่สุด ซึ่งคิดเป็นประมาณ 85%ของผู้ป่วย เซลล์มะเร็งชนิดนี้จะแพร่กระจายได้ช้ากว่า เซลล์มะเร็งปอดประเภทที่ 2 มะเร็งปอดประเภทนี้ยังแบ่งได้อีกเป็นหลายชนิด ได้แก่

1.1 มะเร็งปอดของเซลล์ต่อมสร้างเมือกในเยื่อหุ้มหลอดลม ที่พบประมาณ 40% มะเร็งปอดชนิดนี้ได้รับการวินิจฉัยมากที่สุดในผู้สูบบุหรี่ในปัจจุบัน แต่ก็สามารถพบได้ในผู้ไม่สูบบุหรี่เช่นกัน

1.2 มะเร็งปอดชนิด squamous cell ซึ่งมักเกิดขึ้นในทางเดินหายใจส่วนต้นของปอด

1.3 มะเร็งปอดชนิดเซลล์ใหญ่ มักปรากฏในลักษณะของเซลล์ที่ไม่มีวิวัฒนาการ (undifferentiated) และสามารถเกิดขึ้นในส่วนใดส่วนหนึ่งของปอดก็ได้โดยไม่แสดงลักษณะตำแหน่งที่จำเพาะ

2 มะเร็งปอดชนิดเซลล์เล็ก (small cell lung cancer: SCLC) มะเร็งปอดชนิดเซลล์เล็กมักจะเกิดขึ้นในส่วนกลางของหลอดลมและแพร่กระจายได้เร็วกว่ามะเร็งปอดที่ไม่ใช่เซลล์เล็ก ทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิตได้อย่างรวดเร็ว พบได้ประมาณ 15% ของมะเร็งปอดทั้งหมด



ภาพประกอบ 13 ชนิดของมะเร็งปอด

ที่มา: (Team, 2018)

4.6 Tissue Culture

เป็นคำทั่วไปที่ใช้เรียกการเพาะเลี้ยงอวัยวะ, เนื้อเยื่อ หรือเซลล์ in vitro รวมถึงการเพาะเลี้ยงเซลล์พืช in vitro ด้วย

Tissue culture นี้สามารถแบ่งย่อยออกเป็น 3 ประเภทคือ

1 Organ culture

2 Explant culture

3 Cell culture

Cell culture หมายถึง กระบวนการนำอวัยวะ (organ) หรือเนื้อเยื่อ (tissue) หรือเซลล์ (cells) ที่ได้จากสัตว์ หรือพืชมาเพาะเลี้ยงในสภาวะที่ปรับให้เหมาะสมกับการเจริญ โดยหากเป็นการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหรืออวัยวะ (organ/ tissue culture) จะยังมีลักษณะดั้งเดิมของเนื้อเยื่อหรืออวัยวะอยู่ ดังนั้นจึงมีความเป็น in vivo อยู่บาง ซึ่งต่างกับการเพาะเลี้ยงเซลล์ (Cell culture) ที่แยกออกจากเนื้อเยื่อแล้วถูกทำให้กระจายเป็นเซลล์เดี่ยวซึ่งจะขาดคุณสมบัติทาง in vivo

การแยกเซลล์เพื่อนำไปเพาะเลี้ยงมี 2 วิธี

1 Explant culture เป็นการนำเนื้อเยื่อ (tissue) ที่ตัดเป็นชิ้นเล็กมาวางในภาชนะแก้วหรือ พลาสติกที่ปลอดเชื้อแล้วเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ให้เนื้อเยื่อแช่อยู่ และรอให้เซลล์ที่อยู่รอบนอกแยกตัวออกจาก เนื้อเยื่อที่มีชีวิตและสามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนได้

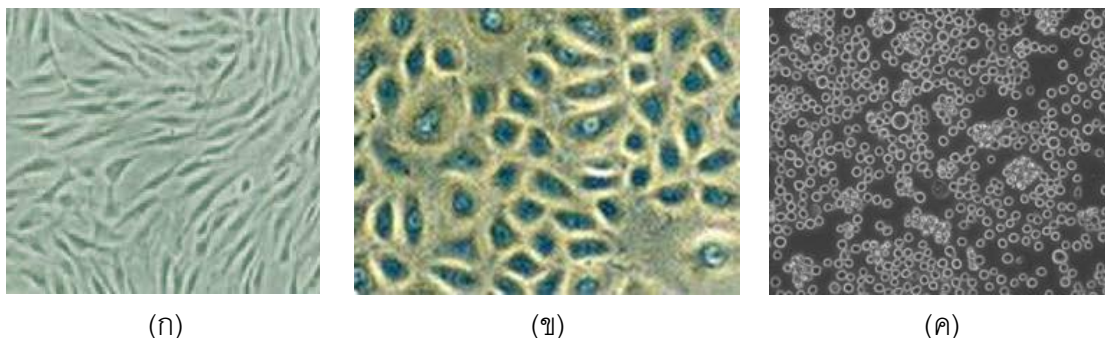
2 Enzymatic dissociation เป็นการใช้เอนไซม์กลุ่มที่ย่อยโปรตีนเช่น เอนไซม์ทริปซิน (trypsin) หรือ เอนไซม์คอลลาจีเนส (collagenase) เพื่อย่อยโปรตีนส่วนที่ยึดเซลล์ไว้ด้วยกันในเนื้อเยื่อ เกิดเป็นเซลล์เดี่ยวในรูปเซลล์แขวนลอยในของเหลว (cell suspension)

รูปร่างและลักษณะของเซลล์เพาะเลี้ยง สามารถแบ่งได้เป็น 3 รูปแบบ

1 เซลล์ชนิดรูปกระสวย (fibroblast-like cells) เป็นเซลล์ที่มีลักษณะยาวเรียวมีปลายแหลม 2 ข้าง (bipolar) หรือมากกว่า (multi-polar) แสดงดังภาพประกอบ 14 (ก)

2 เซลล์เยื่อบุผิว (epithelial-like cells): เป็นเซลล์ที่มีหลายมุม (polygonal) เรียงตัวเป็นชั้นเดียวเกาะกับพื้นผิว แสดงดังภาพประกอบ 14 (ข)

3 เซลล์ชนิดทรงกลม (lymphoblast-like cells) เป็นเซลล์ลักษณะทรงกลม มักเจริญในรูปแบบเซลล์แขวนลอยที่ไม่เกาะกับพื้นผิว แสดงดังภาพประกอบ 14 (ค)



ภาพประกอบ 14 ลักษณะรูปร่างของเซลล์เพาะเลี้ยง (ก) FIBROBLAST-LIKE CELLS
(ข) EPITHELIAL-LIKE CELLS (ค) LYMPHOBLAST-LIKE CELLS

ที่มา: (Invitrogen, 2014)

4.7 ชนิดของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

1 การเพาะเลี้ยงปฐมภูมิ (primary culture)

คือการเพาะเลี้ยงเซลล์ที่ได้มาจากต้นแหล่งที่เป็นสัตว์โดยตรง โดยเซลล์นั้นจะถูกแยกมาจากเนื้อเยื่อหรืออวัยวะแล้วถูกนำมาเพาะเลี้ยงในสภาวะที่เหมาะสม เรียกว่า primary cell culture ซึ่งเมื่อเซลล์นี้มีการแบ่งตัวและเจริญเต็มที่ สามารถแยกเซลล์บางส่วนไปใส่ในภาชนะใหม่ที่มีอาหารและสภาวะที่เหมาะสม(subculture) ได้จากนั้นเซลล์นี้จะเรียกว่า cell line ซึ่งเซลล์จาก primary culture นั้นจะสามารถมีชีวิตภายหลังการ subculture ได้จำกัด (limited life span) เนื่องจากถูกกำหนดตามพันธุกรรม (senescence)

2 การเพาะเลี้ยงเซลล์สายพันธุ์ (Cell line) คือเซลล์ที่ไม่ได้มาจากสัตว์โดยตรง ใช้มากในทางอุตสาหกรรม

2.1 Cell line derived from primary culture

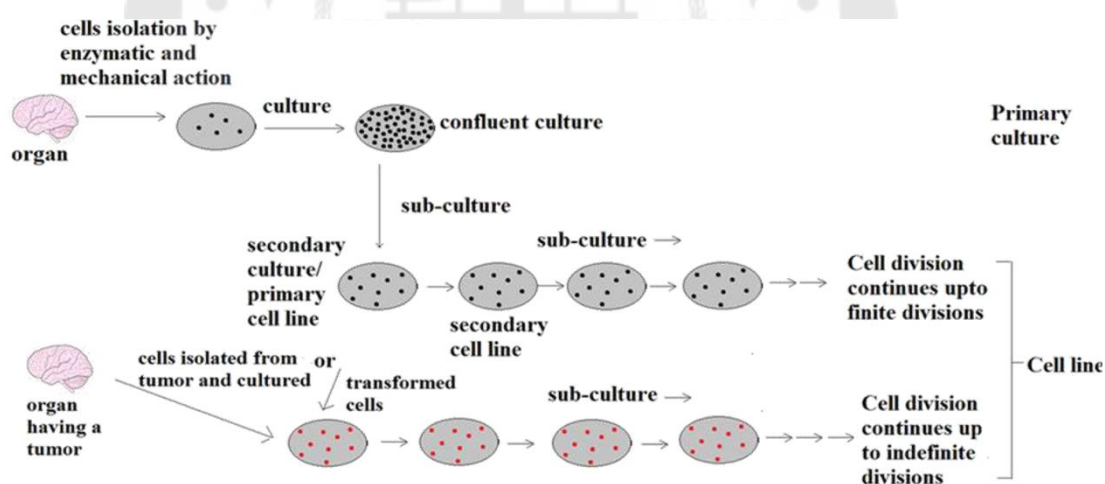
เมื่อ primary cell culture นี้มีการแบ่งตัวและเจริญเต็มที่ สามารถแยกเซลล์บางส่วนไปใส่ในภาชนะใหม่ที่มีอาหารและสภาวะที่เหมาะสม (subculture) โดยเมื่อทำการ subculture ไปอย่างต่อเนื่องเซลล์ที่แข็งแรงจะเจริญได้ดีกว่า เซลล์อื่นและกลายเป็นเซลล์ส่วนใหญ่ของเซลล์ทั้งหมด และหากทำการคัดแยกเฉพาะเซลล์เดี่ยวมาเพาะเลี้ยงต่อจะทำให้ได้เซลล์ที่มีคุณสมบัติเดียวกัน (cell strain หรือ cell line) ด้วยกระบวนการ cell cloning

2.2 Clonal cell line

การทำ cell cloning เพื่อแยก cell strain ที่มีคุณสมบัติเดียวกัน โดยการนำเซลล์จาก tissue culture flask มาทำเป็น suspension แล้วเจือจางเซลล์ด้วยสารละลายที่เหมาะสม เช่น PBS แล้วหยอดลง 96 well-plate ทำการ mark เฉพาะหลุมที่มี 1 เซลล์ ฝ้าสังเกตการณ์แบ่งตัวของเซลล์ เมื่อเซลล์แบ่งตัวจาก 1 เซลล์ เป็นกลุ่มเซลล์หรือโคลนี ทำการแยกโคลนีไปเลี้ยงต่อใน tissue culture flask เรียกเซลล์นี้ว่า cell strain หรือ clone

2.3 Continuous cell culture

เซลล์ที่มีต้นกำเนิดจากเนื้องอกหรือมะเร็งเป็นเซลล์ที่มีความผิดปกติทางพันธุกรรม (cell line derived from tumors) ทำให้สามารถ นำมาเพาะเลี้ยงและ subculture ได้อย่างต่อเนื่องเป็นแบบ indefinite life span หรือ continuous cells ปัจจุบันมีวิธีการกระตุ้นให้เซลล์กลายเป็น continuous cell ได้หลายวิธี เช่น การใช้ virus ที่เป็นสาเหตุก่อมะเร็ง การใช้สารเคมี หรือยาบางชนิดเป็นต้น เมื่อได้เซลล์ที่มีคุณสมบัติเปลี่ยนแปลงตามต้องการแล้ว (transformed cells) สามารถแยกเซลล์เดี่ยวโดยกระบวนการ cell cloning เพื่อให้ได้ continuous cell line เช่น Vero cells, MDCK cells, BHK cells, CHO cells เป็นต้น



ภาพประกอบ 15 การเตรียม PRIMARY CULTURE และ CONTINUOUS CULTURE และการพัฒนาให้เกิด CELL LINE

ตาราง 3 ข้อดีและข้อเสียของ primary cultures และ continuous cells line (รัตนเกียรติ)

ประเภท	Primary cultures	Continuous cell lines
ข้อดี	- ต้องแยกเซลล์มาจากสัตว์ทดลอง ทุกครั้ง - มีอายุการใช้จำกัด และมี การเปลี่ยนแปลง metabolism และ หน้าที่จำเพาะของเนื้อเยื่อเมื่อ เวลาผ่านไป	- เป็นระบบยังมีชีวิตชนิดง่ายมีทั้ง การเจริญและพัฒนา - ควบคุมปัจจัยแวดล้อมได้ง่าย - การจำแนกลักษณะตัวอย่าง สะดวกและตัวอย่างมี homogeneous - จัดการกับเซลล์ได้สะดวกด้วยเทคนิคต่าง ๆ - การประยุกต์ใช้กับการศึกษาในมนุษย์เป็นไปได้ ไม่มีข้อจำกัดทางศีลธรรม - ประหยัดชีวิตสัตว์
ข้อเสีย	- Capacity for biotransformation - Tissue-specific functions	- อายุสั้น - ตัวอย่างมีเซลล์หลากหลายชนิดและลักษณะไม่คงที่ - มีความแตกต่างหลายประการระหว่างเซลล์เพาะเลี้ยงและเซลล์ในร่างกายซึ่งบางอย่างไม่ทราบล่วงหน้า - การอ้างอิงผลจากการทดลอง in vitro ไปสู่สภาพ in vivo มีข้อจำกัดและข้อควรระวัง - อาศัยทักษะและความชำนาญ

4.8 สภาพแวดล้อมของการเพาะเลี้ยงเซลล์

สำหรับการเลี้ยงเซลล์ “Happy environment” มีความหมายมากกว่าแค่ให้เซลล์มีชีวิตรอดในอาหารเลี้ยงเชื้อ แต่หมายถึงสภาพแวดล้อมที่อย่างน้อยที่สุดเซลล์สามารถเพิ่มจำนวนโดยผ่านช่วง Mitosis ได้หรือ สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมเซลล์จะแสดงลักษณะทางสรีรวิทยาที่สำคัญ สภาพแวดล้อมที่ทำให้เซลล์มีชีวิตอยู่ได้ดีดังกล่าวจะหมายถึงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต Substrate ที่ดีเหมาะสมต่อการยึดเกาะของเซลล์และอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแร่ธาตุที่เซลล์จำเป็นต้องใช้ในการเจริญ โดยปัจจัยหลักที่ทำให้เซลล์มีชีวิตอยู่ได้ในรูปแบบเซลล์เพาะเลี้ยง ได้แก่ อุณหภูมิ pH สารอาหารและ ความเข้มข้นของสารที่อยู่ในสารละลาย (osmolality) ที่เหมาะสม(สถาบันวัคซีนแห่งชาติ, 2019) นอกจากนี้เซลล์บางชนิดที่ต้องการยึดเกาะ ยังต้องการพื้นผิว หรือสับสเตรทที่เหมาะสมในการยึดเกาะเป็นต้น จึงได้มีการเตรียมสูตรอาหารสำเร็จรูปและพัฒนาวัสดุที่เป็นพื้นผิวภาชนะที่เหมาะสมสะดวกกับการเพาะเลี้ยงเซลล์

1 อาหารเลี้ยงเซลล์ (cell culture medium)

องค์ประกอบหลักของอาหารเลี้ยงเซลล์ (Invitrogen, 2014) ได้แก่

1.1 สารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญของเซลล์ ได้แก่ กรดอะมิโน วิตามิน เกลือแร่ คาร์โบไฮเดรต และ องค์ประกอบอื่น ๆ ที่เซลล์ใช้สำหรับเป็นแหล่งพลังงาน สำหรับสารอาหารที่มีอายุสั้น เช่น กรดอะมิโนกลูตามีน ที่มีอายุสั้นเพียง 4-6 สัปดาห์ อาจต้องมีการเติมอาหารเลี้ยงเซลล์เพิ่มเติม กรณีที่ต้องเก็บอาหารไว้นาน หรืออาจเลือกใช้ชนิดที่มีรูปแบบที่มีอายุนานกว่า เช่น L-alanyl glutamine

1.2 Growth factor และฮอร์โมน ที่จำเป็นต่อการควบคุมอัตราการเจริญและการดำเนินกิจกรรมต่าง ๆ ของเซลล์ โดยทั่วไปจะได้รับการเติม 5-20% serum จากสัตว์ เช่น serum ของวัว ที่นอกจากจะเป็นแหล่งของฮอร์โมนที่ดีแล้วยังมีคุณสมบัติเช่น มีโปรตีนช่วยในการยึดเกาะ มีสารยับยั้ง proteolytic enzyme เป็นต้น อย่างไรก็ตาม การใช้ serum ของสัตว์มีข้อควรระวังในด้านคุณภาพที่อาจไม่คงที่อาจมีการปนเปื้อนของไวรัส หรือ มัยโคพลาสมา

Buffer สำหรับการควบคุม pH สารอาหารต่าง ๆ ที่ทำให้ค่า osmolality คงที่ เพื่อป้องกันไม่ให้เซลล์แตก

2 pH

เซลล์สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (mammalian cell lines) ทั่วไปส่วนใหญ่เจริญเติบโตได้ดีที่ pH 7.4 และมีความเปลี่ยนแปลงน้อยมากของเซลล์ที่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามเซลล์ปกติที่ถูกเปลี่ยนสภาพไป (transformed cell lines) สามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาพแวดล้อมที่เป็น

กรดมากกว่าเล็กน้อย (pH 7.0–7.4) รวมไปถึงเซลล์ปกติชนิด fibroblast cell ต้องการสภาพแวดล้อมที่ (pH 7.4–7.7) เช่น เซลล์ของแมลง Sf9 และ Sf21 เจริญเติบโตที่ค่า pH 6.2 ซึ่ง pH มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของเชื้อ (growth rate) จำนวนเชื้อสูงสุด และ ระยะเวลาของ lag phase , stationary phase, death phase

3 ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂)

อาหารเลี้ยงเชื้อจะควบคุมค่า pH ของการเพาะเลี้ยงเซลล์ (cell culture) และการปรุงอาหารเลี้ยงเชื้อ (buffers cells) ในการเพาะเชื้อต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า pH โดยปกติแล้วการ buffer นั้นสามารถทำได้โดยร่วมกับอวัยวะเลย เช่น HEPES หรือ buffer ตามคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) เนื่องจากค่า pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อจะขึ้นอยู่กับความสมดุลของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ไปละลายน้ำ และไบคาร์บอเนต (HCO₃⁻) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของ CO₂ ในชั้นบรรยากาศสามารถเปลี่ยนค่า pH ของตัวกลางได้ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในการเพาะเลี้ยงเซลล์โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าเซลล์มีการเพาะเลี้ยงในจานเปิด หรือ การ transformed cell lines จะได้รับการเพาะเลี้ยงเซลล์ที่มีความเข้มข้นสูง ในขณะที่นักวิจัยส่วนใหญ่มักใช้ CO₂ อยู่ที่ 5-7% ในอากาศ นอกเหนือจากนั้นถ้าปริมาณก๊าซ CO₂ อยู่ที่ 4-10% เป็นเรื่องปกติสำหรับการทดลองเพาะเลี้ยงเซลล์ส่วนใหญ่ อย่างไรก็ตามแต่ละอาหารเลี้ยงเชื้อควรมีปริมาณของก๊าซ CO₂ และความเข้มข้นของไบคาร์บอเนต (bicarbonate) เพื่อให้ได้ค่า pH และค่าความเป็นกรดที่เหมาะสม

4 อุณหภูมิ (temperature)

อุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการเพาะเลี้ยงเซลล์ส่วนใหญ่ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิร่างกายของคนหรือสัตว์ที่ถูกนำเซลล์มา ซึ่งปัญหาความร้อนสูงเกินไปเป็นปัญหาที่ร้ายแรงมากสำหรับการเพาะเลี้ยงเซลล์การให้ความร้อนแก่เซลล์เพาะเลี้ยง ดังนั้นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อภาวะเพาะเลี้ยงเซลล์จะถูกกำหนดไว้ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ (CO₂ incubator) โดยกำหนดต่ำกว่าอุณหภูมิร่างกายเล็กน้อย

- ส่วนใหญ่เซลล์มนุษย์และเซลล์เลี้ยงลูกด้วยนม (human and mammalian cell lines) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตอยู่ที่ 36°C to 37°C

- อุณหภูมิ 27 °C คืออุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเซลล์แมลง (insect cells) พวกมันจะโตที่อุณหภูมิระหว่าง 27 °C และ 30 °C ถ้าสภาพแวดล้อมที่อุณหภูมิสูงกว่า 30 °C อัตราการรอดชีวิตของเซลล์แมลงจะลดลง ถึงแม้ว่าจะปรับอุณหภูมิให้ลดลงเหลือ 27 °C ก็ตามเซลล์ก็จะไม่ฟื้นตัวกลับมาเหมือนเดิม

- จำพวกเซลล์สัตว์ปีก (avian cell lines) ต้องมีสภาวะของอุณหภูมิในการเจริญเติบโตสูงถึง 38.5°C แม้ว่าเซลล์เหล่านี้สามารถรักษาอุณหภูมิไว้ที่ 37°C ก็ตาม แต่เซลล์เหล่านี้จะโตช้า

- เซลล์ที่มาจากสัตว์เลือดเย็น (cold-blooded animals) เช่น สัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ หรือ ปลาน้ำเย็น เป็นต้น จะสามารถทนช่วงอุณหภูมิที่กว้างได้ระหว่าง 15°C ถึง 26°C

4.9 การตรวจคุณลักษณะของเซลล์ (characterization)

1 การตรวจสอบการมีชีวิตของเซลล์ (cell viability)

ทำได้หลายวิธีโดยแต่ละวิธีจะใช้การวัดจากลักษณะเฉพาะที่แตกต่างกันทางชีววิทยาของเซลล์ (cell biology) เช่น ความสมบูรณ์ของเซลล์เมมเบรน (membrane integrity) หน้าที่ของเซลล์เมมเบรน (membrane function) ผลิตภัณฑ์ที่ปล่อยออกมาหลังจาก โดนทำลายหรือตาย (product released by cell damage or death) เมตาบอลิซึมของเซลล์ (metabolic functions) ประสิทธิภาพของเอนไซม์ (enzyme activity) การศึกษาประสิทธิภาพสารที่มีลักษณะเฉพาะต่อการรอดชีวิต ของเซลล์ (clonogenic survival) เป็นต้น โดยตัวอย่างการตรวจสอบการรอดชีวิตของเซลล์ เพาะเลี้ยงมีหลายวิธี โดยแต่ละวิธีมีข้อดีและข้อจำกัดแตกต่างกัน แสดงดังตารางที่ 4

2 จำนวนเซลล์ที่มีในผลิตภัณฑ์ (cell number) เป็นการนับจำนวนเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วย hemacytometer หรือ ใช้ hematology analyzer (กระทรวงสาธารณสุข, 2013) ว่าเป็นไปตามที่กำหนดไว้

3 ความสามารถในการเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์ที่มีความเฉพาะเจาะจง (differentiation capacity) เพื่อตรวจสอบความสามารถของเซลล์ต้นกำเนิดในการเปลี่ยนเป็นเซลล์ที่เฉพาะเจาะจง ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของเซลล์ต้นกำเนิด อาจทำได้หลายวิธี (Barry และ Murphy, 2004)

3.1 การเติม growth factor

3.2 การติดตามเซลล์ต้นกำเนิดด้วย molecular marker และตรวจการเปลี่ยนแปลงโดยชนิดของ markers มีหลายชนิดขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์การนำมาใช้ (ศรจิตติ, 2011)

ตาราง 4 การตรวจสอบการรอดชีวิตของเซลล์เพาะเลี้ยง(กระทรวงสาธารณสุข, 2013)

วิธี	รายละเอียด
fluorescein diacetate assay	ใช้หลักการที่ fluorescein diacetate เข้าไปในเซลล์ และถูกย่อยด้วย เอนไซม์ esterase และทำให้ไม่สามารถปล่อย fluorescein ออกมานอกเซลล์ได้เนื่องจากถูกป้องกันด้วยเซลล์เมมเบรนของเซลล์ที่มีชีวิต ซึ่งสามารถตรวจสอบหาเซลล์ที่มี fluorescein ภายใตแสง UV ข้อดี: รวดเร็ว ข้อจำกัด: ต้องใช้ UV microscope หรือ flow cytometry
3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium (MTT) assay	เป็นปฏิกิริยา MTT reduction วัดการเกิดสารที่ให้สีจากการเกิดปฏิกิริยาชีวเคมีของเซลล์ ข้อดี: วิเคราะห์ใน 96-well array โดยใช้ automatic plate readers สามารถตรวจวิเคราะห์ได้หลายตัวอย่างและรวดเร็ว ข้อจำกัด: อาจมีบางเซลล์ยับยั้งการแสดงของ MTT reduction ทำให้ได้ค่าต่ำซึ่งจะไม่สัมพันธ์กับ cell viability
dye inclusion เช่น neutral red assay	เป็นการตรวจสอบการมีชีวิตโดยอาศัยหลักการวัดปริมาณสีย้อมใน lysosomes ของเซลล์ด้วย spectrophotometric analysis ข้อดี: เป็นการตรวจวิเคราะห์ toxicology assays อย่างแท้จริง ข้อจำกัด: จำเป็นต้องศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการบ่มและระยะเวลาที่ใช้ในเซลล์แต่ละชนิด เนื่องจากเซลล์แต่ละชนิดจะจับกับสีย้อมใน ปริมาณที่ไม่เท่ากัน
dye exclusion เช่น trypan blue, naphthalene black	เป็นการย้อมเซลล์จากหลักการที่เซลล์ที่ยังมีชีวิตจะไม่ติดสีย้อมเนื่องจากเซลล์ เมมเบรนยังทำหน้าที่ในการขับสีย้อมออกมา ในขณะที่เซลล์ที่ไม่มีชีวิตจะติดสีย้อมเนื่องจากการเสื่อมสภาพของเซลล์เมมเบรน ข้อดี: รวดเร็วและง่ายต่อการแปลผล ข้อจำกัด: อาจนับจำนวนของเซลล์ได้มากเกินไปเนื่องจากเซลล์ที่ตายแล้ว อาจยังมีเซลล์เมมเบรนที่ยังสามารถทำหน้าที่ได้อยู่

4 การตรวจสอบการเพิ่มจำนวนเซลล์โดยที่ยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์ชนิดอื่น (self renewal) เป็น การตรวจสอบคุณสมบัติเบื้องต้นของเซลล์ต้นกำเนิด โดยการเพาะเลี้ยงเซลล์หลายๆ passage เป็นระยะเวลานาน ๆ เพื่อตรวจสอบว่าเซลล์ยังมีการแบ่งตัวขึ้นมาใหม่ได้ตลอด และไม่มีการเปลี่ยนแปลงเป็น เซลล์ที่มีความเฉพาะเจาะจง โดยสามารถตรวจสอบผ่านกล้องจุลทรรศน์เพื่อตรวจลักษณะทางกายภาพและ ความสมบูรณ์ของเซลล์ นอกจากนี้การตรวจโปรตีนที่ผนังเซลล์เพื่อยืนยันว่าเป็นเซลล์ต้นกำเนิดที่ยัง ไม่มีการเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์ที่มีความเฉพาะเจาะจงก็สามารถทำได้

4.10 การตรวจสอบเอกลักษณ์ (Identity)

เป็นการตรวจยืนยันว่าเซลล์นั้นเป็นเซลล์ต้นกำเนิดและมีคุณลักษณะตามต้องการ

1 Genotype เป็น การตรวจสอบหาโปรตีนเฉพาะในเซลล์ที่เป็นตัวควบคุมการทำงานของยีนที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์อื่น

2 Phenotype เป็นการตรวจสอบลักษณะเฉพาะของเซลล์ ซึ่งมีหลายวิธี (Stacey และ Auerbach, 2007) เช่น

- Colony-formation cell (CFC) assay เป็นการตรวจสอบความสามารถของเซลล์ในการเพิ่มจำนวน (proliferative capacity)

- Immunophenotypic determination โดยใช้ flow cytometry ในการวิเคราะห์คุณสมบัติของเซลล์ เช่น

- การวิเคราะห์ hematopoietic progenitor cell (HPC) ด้วย CD34+ ซึ่งไม่เพียงแต่สามารถตรวจสอบ progenitor cell (CD34) เท่านั้นยังสามารถตรวจสอบ T cell (CD3) และ B cell (CD19) ได้อีกด้วย (Halpenny, 2011)

- การวิเคราะห์ bone marrow และ bone marrow-derived mononuclear cells ในการตรวจสอบ viability (Soncin และคนอื่น ๆ, 2009) ทั้งนี้โดยทั่วไปควรใช้ marker ที่เป็นทั้งบวกและลบเพื่อยืนยัน

- In vitro multipotency การเหนี่ยวนำให้เป็นเซลล์ที่มีลักษณะจำเพาะตามชนิดของเซลล์ชนิดนั้น ๆ

3 การตรวจหาการแสดงออกของโปรตีนจำเพาะ(specific markers) โดย marker จะจับผิวเซลล์ที่มีโปรตีนจำเพาะเรียกว่า receptors ซึ่งมีความสามารถในการเลือกจับ หรือเกาะกับโมเลกุลของเซลล์ที่ปล่อยสัญญาณที่จำเพาะออกมา ดังนั้นการเลือก marker ที่จำเพาะต่อเซลล์

ชนิดที่ต้องการจะทำให้สามารถแยกความแตกต่างของสัญญาณบนโมเลกุลของเซลล์ได้ส่งผลให้สามารถแยกชนิดของเซลล์ได้โดยทั่วไปจะต้องใช้ marker หลายชนิดเป็นตัวยืนยันทั้งที่เป็นบวกและลบ กล่าวคือทั้งที่เฉพาะเจาะจงกับเซลล์ต้นกำเนิดนั้น และที่ไม่จับกับเซลล์ต้นกำเนิด

4 การตรวจสอบรูปร่างของเซลล์ (morphology) สามารถตรวจสอบลักษณะของเซลล์ด้วย inverted microscope เช่นตรวจสอบลักษณะของ mesenchymal stem cells จะพบลักษณะเป็น fibroblast-like (Stacey และ Auerbach, 2007) หรือด้วยเครื่อง flow cytometry ที่สามารถตรวจสอบขนาดเซลล์ (cell size) และรูปร่างของเซลล์ (granularity) ได้

5 การตรวจสอบแหล่งที่มาของเซลล์ (confirmation of species of origin) ด้วยวิธี isoenzyme analysis โดยอาศัยหลักการของไอโซเอนไซม์ ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีโครงสร้างได้หลายแบบในเซลล์ หรือเนื้อเยื่อของสิ่งที่มีชีวิตชนิดเดียวกัน และเร่งปฏิกิริยาเดียวกัน เช่นเอนไซม์แลกเตตดีไฮโดรจีเนส (lactate dehydrogenase) เร่งปฏิกิริยาเปลี่ยนแลกเตตไปเป็นไพรูเวท โดยเอนไซม์ชนิดนี้มีโครงสร้างต่างกัน 5 แบบในอวัยวะของสัตว์ที่มีกระดูกสันหลังซึ่งประกอบด้วยสายพอลิเปปไทด์ 4 สาย 2 ชนิด คือ M และ H ได้แก่

- LDH-1 (4H) พบมากในหัวใจ
- LDH-2 (3H1M) พบมากในเซลล์ของระบบเรติคูลูโลเอนโดทีเลียม (reticuloendothelial system) เช่น ตับ ม้าม
- LDH-3 (2H2M) พบมากในปอด
- LDH-4 (1H3M) พบมากในไต รก และตับอ่อน
- LDH-5 (4M) พบมากในตับ และกล้ามเนื้อลาย

4.11 การตรวจวิเคราะห์ความบริสุทธิ์ และการปนเปื้อน (purity and impurity)

เป็นการตรวจวิเคราะห์ ความบริสุทธิ์ของผลิตภัณฑ์เซลล์ต้นกำเนิดสำเร็จรูป และหาสารปนเปื้อนที่อาจเกิดจากขั้นตอนการเตรียม เซลล์ต้นกำเนิด หรือระหว่างกระบวนการผลิต (Agency, Jan 11, 2007)

1 ตรวจหาชนิดของเซลล์ที่ไม่ต้องการ (undesired cell types detection) ที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ที่มีความเฉพาะเจาะจง โดยตรวจหาการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์อื่นที่ไม่อยู่ในสาย หรือตระกูลเดียวกัน (different lineage) ซึ่งจะต้องกำหนดเกณฑ์การยอมรับของ จำนวนเซลล์ที่ไม่ต้องการนี้ด้วย

2 ตรวจสอบอัตราส่วนของเซลล์ที่มีชีวิต และเซลล์ที่ตายแล้ว (live-dead cell ratio) ให้ตรวจสอบการปนเปื้อนของเซลล์ที่ตายแล้ว (non-viable cells) โดยไม่คำนึงถึงชนิดของเซลล์

เนื่องจากเซลล์ที่มีชีวิตเป็นปัจจัยสำคัญของความเป็นเนื้อเดียวกันของผลิตภัณฑ์ (product integrity) และมีผลต่อประสิทธิภาพทางชีวภาพ (biologic activity) ของผลิตภัณฑ์โดยตรง ดังนั้น อัตราส่วนระหว่างเซลล์ที่มีชีวิต และเซลล์ที่ตายแล้วจะต้องตรวจสอบและกำหนดเกณฑ์การยอมรับ (Agency, Jan 11, 2007)

4.12 การตรวจวิเคราะห์ความปลอดภัย (safety)

เป็นการตรวจวิเคราะห์เพื่อให้เกิดความมั่นใจว่าผลิตภัณฑ์มีความปลอดภัยต่อการนำไปใช้ปราศจากการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา ไมโคพลาสมา เอนโดท็อกซิน สารก่อให้เกิด ไข้ เป็นต้น รวมทั้งปราศจากความเป็นพิษใด ๆ

1 การตรวจวิเคราะห์ความปลอดภัยปราศจากเชื้อ (sterility) เป็นการทดสอบความปลอดภัยทั้ง แบคทีเรีย (ชนิด aerobe และ anaerobe) และเชื้อรา โดยสามารถตรวจด้วยวิธี direct inoculation หรือ membrane filtration ซึ่งทั้ง 2 วิธี มีหลักการดังนี้

1.1 Direct inoculation method เป็นการตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อรา โดยนำตัวอย่างที่จะตรวจใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อโดยตรง และนำไปเพาะเชื้อในอุณหภูมิที่เหมาะสม หากมีการปนเปื้อนอาหารเลี้ยงเชื้อจะขึ้น และหากไม่มีการปนเปื้อนอาหารเลี้ยงเชื้อจะไม่มีเปลี่ยนแปลง

1.2 Membrane filtration method เป็นการตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อราโดยกรองตัวอย่างผ่านเมมเบรน และนำเมมเบรนไปเพาะเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ และอุณหภูมิที่เหมาะสม หากมีการปนเปื้อนอาหารเลี้ยงเชื้อจะขึ้น และหากไม่มีการปนเปื้อนอาหารเลี้ยงเชื้อจะไม่มีเปลี่ยนแปลง

2 การตรวจสอบการปนเปื้อนไมโคพลาสมา ซึ่งเป็นเชื้อที่มีขนาดเล็กกว่าเชื้อแบคทีเรียทั่วไปมีความดีดื้อ แอนติไบโอติก และสามารถกรองผ่านแผ่นกรองแบคทีเรียได้ เชื้อไมโคพลาสมาจะส่งผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะของเซลล์ที่ เพาะเลี้ยงอย่างถาวรได้ (Stacey และ Auerbach, 2007)

3 การตรวจหาปริมาณเอนโดท็อกซิน (bacterial endotoxin test หรือ limulus amoebocyte lysate : LAL) เป็นการตรวจสอบปริมาณเอนโดท็อกซินที่ผลิตจากแบคทีเรียแกรมลบโดยใช้ amoebocyte lysate จากแมงดาทะเล (Limulus Polyphemus หรือ Tachypnea's tridentate) ซึ่งวิธีที่ได้รับการยอมรับในตำราและนิยมใช้ในปัจจุบันมี 3 วิธี ได้แก่ gel-clot technique, kinetic turbidity method และ kinetic chromogenic method โดยมีหลักการ ("Medical Devices and Limulus Amebocyte Lysate (LAL) Testing," 2012) ดังนี้

3.1 Gel-clot technique อาศัยหลักการ LAL ทำปฏิกิริยากับ endotoxin ในตัวอย่างทำให้เกิดวุ้น

3.2 Kinetic turbidity method อาศัยหลักการวัดความขุ่นหลังจากการแตกออกของ endogenous substrate

3.3 Kinetic chromogenic method อาศัยหลักการเกิดสีหลังจากการแตกออกของ synthetic peptide chromogen

4 การตรวจหาสารก่อไข้ (pyrogen test) เป็นการตรวจวิเคราะห์หาสารก่อไข้โดยใช้สัตว์ทดลองคือ กระต่ายด้วยการฉีดตัวอย่างเข้าหลอดเลือดดำที่หูกระต่ายแล้ววัดอุณหภูมิของกระต่ายในระยะ เวลาที่กำหนด และสังเกตการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิหลังได้รับการฉีดตัวอย่าง ถ้ากระต่ายมีอุณหภูมิสูงกว่าเกณฑ์ ที่กำหนดถือว่าตัวอย่างนั้นมีสารก่อไข้

5 การตรวจสอบความเป็นพิษ (abnormal toxicity test) เป็นการตรวจสอบความเป็นพิษโดยใช้สัตว์ทดลองคือหนูถีบจักรและหนูตะเภา และสังเกตอาการป่วยหรือตายของสัตว์ทดลองจากการชั่งน้ำหนักกระหว่างการทดสอบนาน 7 วันโดยน้ำหนักของสัตว์ทดลองหลังฉีดเพิ่มขึ้น หรือเท่ากับน้ำหนักก่อนฉีดตัวอย่าง หากสัตว์ทดลองตายหรือแสดงอาการป่วยหรือ มีน้ำหนักลดลง แสดงว่าตัวอย่างที่ฉีดมีความเป็นพิษ

6 การเกิดมะเร็ง (tumorigenicity) ถ้ามีความเสี่ยงที่เซลล์ที่ได้ (differentiated cell) เกิดการเปลี่ยนแปลง และมี ความเป็นไปได้ว่าจะเกิด tumorigenicity ในภายหลังจะต้องมีการประเมินส่วนประกอบของเซลล์ว่ามีการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวหรือไม่ เช่นความสามารถในการเพิ่มจำนวน (proliferative capacity) การถูกกระตุ้นจากสิ่งเร้าภายนอก (exogenous stimuli) การตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้นที่ทำให้เซลล์ตาย (response to apoptosis stimuli) การเปลี่ยนแปลงของ ยีน (genomic modification) ทั้งนี้การทดสอบความสมบูรณ์ของโครโมโซม (chromosomal integrity) และการเกิด tumorigenicity ของเซลล์เพาะเลี้ยง และ cell banking system จะต้องมี การตรวจสอบ โดยสามารถตรวจสอบ tumor antigen identification โดยใช้ flowcytometry หรือ วิธี immunohistochemistry method หรือ molecular biology method เพื่อศึกษา gene rearrangement และ tumor cell contaminate (Agency, Jan 11, 2007; Halpenny, 2011)

7 การตรวจสอบคาริโอไทป์ (karyotyping) เป็นการศึกษารายละเอียดของโครโมโซม แต่ละแท่งในนิวเคลียสของเซลล์ โดยศึกษาทั้งจำนวนและรูปร่างของโครโมโซมหลังเก็บเซลล์ ทำ เซลล์ให้บวมโดยใช้ hypotonic saline เช่น โบแตสเซียมคลอไรด์ หรือ saline citrate แล้ว fix เซลล์ด้วย methanol และย้อมด้วยสีที่มีความจำเพาะ เช่น giemsa การทำคาริโอไทป์นิยมใช้

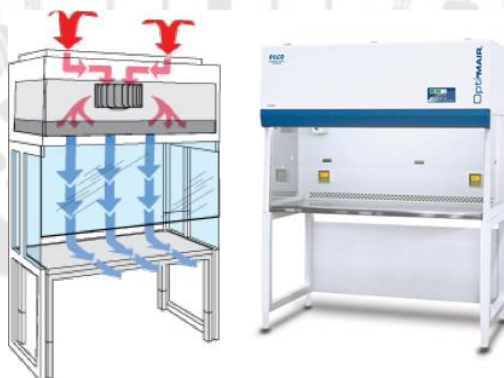
ตรวจสอบโครโมโซมในระยะเมตาเฟส เพราะเป็นระยะที่มองเห็นโครโมโซมแต่ละแท่งชัดเจน เนื่องจากโครโมโซมมีการหดตัว (contraction) มากที่สุด และมีขนาดใหญ่ที่สุด (Stacey และ Auerbach, 2007)

การหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนของการเลี้ยงเซลล์

การปนเปื้อน (Contaminations) ที่พบในงานเพาะเลี้ยงเซลล์แบ่งได้เป็น 2 ชนิด ได้แก่ การปนเปื้อนทางเคมีวิทยาและการปนเปื้อนทางชีววิทยา การปนเปื้อนทางเคมีวิทยาที่จะตรวจสอบ เนื่องจากสารที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนเช่น Endotoxins, Plasticizer, Metalions หรือ สารเคมีที่ใช้ในการป้องกันการติดเชื้อ (Chemical disinfectants) ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ซึ่งในการทำการทดลองนั้นเรามีวิธีที่สามารถหลีกเลี่ยงปัญหาการปนเปื้อน คือ ขั้นตอนการทำการทดลองและการดูแลรักษาเครื่องมือให้อยู่ในสภาพปลอดเชื้อและเลือกใช้ Antibiotics อย่างเหมาะสม

4.13 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์

1. ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar flow hood) เป็นตู้ที่ภายในจะปลอดเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้ลมเป่าไม่ให้เชื้อจุลินทรีย์ตกลงบริเวณปฏิบัติการ



ภาพประกอบ 16 LAMINAR FLOW HOOD

ที่มา: (LIMITED, 1981)

2 เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) นำมาใช้ปั่นแยกเซลล์ออกจาก อาหารเลี้ยงเซลล์



ภาพประกอบ 17 CENTRIFUGE

ที่มา: (Biocompare, 1999)

3 ปิเปต (pipette) เป็นอุปกรณ์ที่ใช้ดูดสารละลายปริมาตรน้อย ๆ ระดับไมโครลิตร และ serological pipette เป็นอุปกรณ์ที่ใช้ดูดสารในปริมาตรในระดับมิลลิลิตร โดยมีปุ่มควบคุมการดูดและปล่อยสาร



ภาพประกอบ 18 PIPETTE

ที่มา: (Scientific, 2016b)

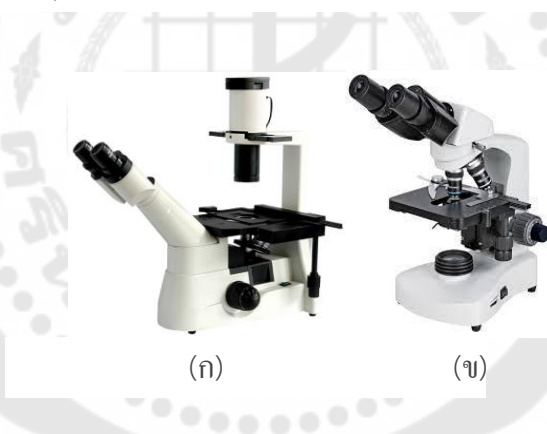
4 Hemocytometer เป็นอุปกรณ์ที่ใช้ในการนับจำนวนเซลล์



ภาพประกอบ 19 HEMOCYTOMETER

ที่มา: (Co, 2019)

5 กล้องจุลทรรศน์ กล้องจุลทรรศน์ชนิดหัวกลับ (Inverted Microscope) ใช้ในการดูเซลล์ใน flask และ กล้องจุลทรรศน์แบบแสง (Fluorescence Microscope) ใช้ในการนับเซลล์



ภาพประกอบ 20 (ก) INVERTED MICROSCOPE (ข) FLUORESCENCE MICROSCOPE

ที่มา: (LIMITED, 2015)

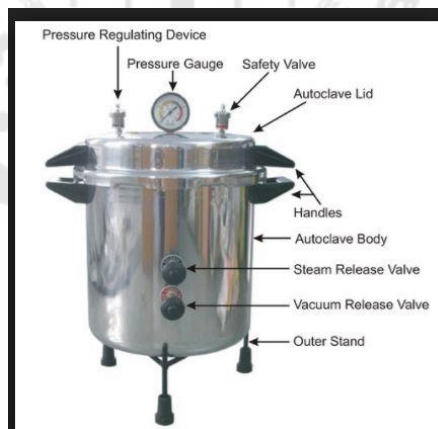
6 ตู้บ่ม (CO₂ Incubator) เป็นตู้ที่ควบคุมอุณหภูมิ และปริมาณ 5% CO₂: 95% air: 99% relative humidity



ภาพประกอบ 21 CO₂ INCUBATOR

ที่มา: (Scientific, 2016a)

7 เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อโดยใช้ความร้อน (autoclave) โดยตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เพื่อกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน



ภาพประกอบ 22 AUTOCLAVE

ที่มา: (Kodoori, 2018)

8 ตู้เย็นและตู้แช่แข็ง ใช้เก็บอาหารเลี้ยงเซลล์ 4°C , -20°C , -70°C



ภาพประกอบ 23 LIQUID NITROGEN TANK

ที่มา: (Xinxiang Pan Chao Instruments Co., 2018)

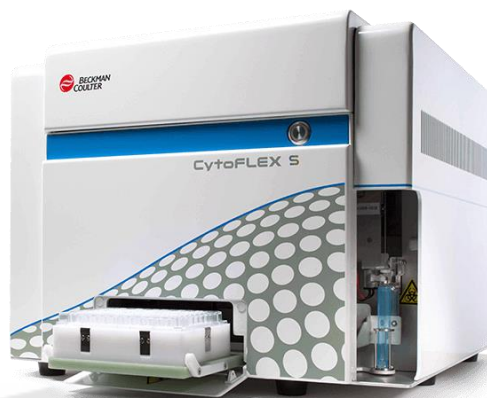
9 Culture vessels เป็นภาชนะที่ใช้เลี้ยงเซลล์ จะมี 2 ชนิด Plate และ flask



ภาพประกอบ 24 PLATE และ FLASK

ที่มา: (Ltd, 2019)

10 Flow cytometry ใช้ในการตรวจวิเคราะห์เซลล์



ภาพประกอบ 25 FLOW CYTOMETRY

ที่มา: (Coulter, 2000)

4.14 รายละเอียดคุณลักษณะเฉพาะ

Dulbecco's Modified Eagle Minimum (DMEM)

- เป็นอาหารสำหรับเลี้ยง cell line
- มีส่วนผสมของ Inorganic Salts, Vitamins, Amino Acids และองค์ประกอบอื่น ๆ ที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของเซลล์
- เป็นสารละลายที่ปราศจากเชื้อ (Sterile)
- มีองค์ประกอบของสารบ่งชี้ (Indicator) สำหรับสังเกตการณ์เปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

Fetal Bovine Serum (FEM)

- เป็นซีรัมที่เตรียมมาจากวัว สำหรับผสมในอาหารเลี้ยงเซลล์
- มีค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 6.0-8.5
- มีค่า Osmolality ที่ 250-350 mosmol/Kg
- เป็นสารละลายที่ปราศจากเชื้อ (Sterile)

Trypsin-EDTA 0.25%

- เป็นสารละลายที่ผลิตจากผง trypsin ซึ่งเตรียมจากเอนไซม์ Proteases ที่สกัดจากตับอ่อนหมู

- ใช้สำหรับการแยกเซลล์ให้หลุดออกจากกันเป็นเซลล์เดี่ยว ๆ เมื่อต้องการขยายเซลล์ให้ได้จำนวนมากขึ้น

- ในสารละลายเป็นส่วนประกอบของ EDTA และ Phenol red

- สารละลายปราศจากการปนเปื้อน endotoxin, mycoplasma, แบคทีเรีย, เชื้อราและไวรัส

MTT cell Growth Assay Kit

- เป็นชุดนับจำนวนเซลล์และความมีชีวิตของเซลล์ จำนวน 1,000 เทส

- ใช้หลักการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 570 nm ปริมาณของสีม่วงที่เพิ่มขึ้นจะหมายถึงปริมาณของเซลล์มีชีวิตเพิ่มขึ้นด้วย

- เป็นผลิตภัณฑ์จากทวีปยุโรปหรืออเมริกา

Sterile pipette tip

- เป็น serological pipette ที่ผลิตจากพลาสติกชนิด polystyrene สำหรับใช้งาน cell culture

- มีการห่อหุ้มด้วยกระดาษ/พลาสติก แยกแต่ละอัน เพื่อให้ง่ายต่อการเปิดใช้งาน

- เป็นวัสดุปลอดเชื้อ (sterile), nonpyrogenic และปราศจากการปนเปื้อนของ

DNase และ RNase

- มีขีดบอกปริมาตรที่อ่านได้ง่ายชัดเจน

- มีความคลาดเคลื่อนของปริมาตรไม่เกิน $\pm 2\%$ ของปริมาตรที่ทำการวัด

Multitask channel pipette

- เป็นอุปกรณ์สำหรับปล่อยสารละลายได้พร้อมกันอย่างน้อย 8 ช่อง

- สามารถปรับปริมาตรสารละลายได้ในช่วง 1-10 ไมโครลิตร

- สามารถใช้งานได้ด้วยมือเพียงข้างเดียว มีน้ำหนักเบา

- มีความเที่ยงตรงเท่ากับ ± 0.1 ไมโครลิตร

- ปุ่มกดปล่อยสารละลาย ออกแบบมาให้ใช้แรงกดน้อยและสามารถปล่อย

สารละลายออกได้ง่าย

Pipette aid

- เป็นเครื่องช่วยควบคุมในการดูดและจ่ายของเหลวเข้า pipette แทนการใช้ปากหรือลูกยาง

- เครื่องทำงานโดยใช้กำลังไฟฟ้าที่บรรจุอยู่ใน Rechargeable battery ซึ่งอยู่ภายในตัวเครื่องทางด้านซ้าย และมีสัญญาณเตือนหากแบตเตอรี่ต่ำ

- มี Silicone adapter ซึ่งสามารถใช้กับ pipette แก้วหรือพลาสติกที่มีปริมาตรตั้งแต่ 1-100 mL หรือสามารถนำทึบขนาด 5 หรือ 10 mL มาใช้ได้เช่นกัน

- ด้านถือจะมีปุ่ม 2 ปุ่ม ปุ่มบนใช้ในการดูดของเหลว ปุ่มล่างใช้ในการปล่อยควบคุมการทำงาน

- มี sterile filter ซึ่งมี pore size ขนาด 0.45 μm กันของเหลวเข้าไปในตัวเครื่อง และสามารถนำไป autoclave ได้

- มีขาตั้ง (attached support) ติดกับตัวเครื่อง ช่วยลดการ contaminate ของเชื้อซึ่งดีกว่าการวางกับพื้นโดยตรง

- ใช้ไฟฟ้า 220 V, 50 Hz

Culture flask

- เป็น culture flask สำหรับใช้เพาะเลี้ยงเซลล์
- ทำจากพลาสติกที่เคลือบพื้นผิวด้วย polystyrene
- มีลักษณะคอของ flask แบบ canted neck
- มีฝาปิดชนิด vented screw cap ให้อากาศผ่านเข้าไปใน flask ได้ โดยมีการดักจับเชื้อปนเปื้อนจากอากาศที่บริเวณฝา

- เป็นผลิตภัณฑ์ปลอดเชื้อ (sterile) โดยใช้รังสี Gamma

Culture plate

- เป็น plate สำหรับเลี้ยง cell line
- ทำจากพลาสติกชนิด polystyrene กันหลุมเป็นลักษณะใส
- เป็นผลิตภัณฑ์ปลอดเชื้อ (sterile) โดยใช้รังสี Gamma

Erlenmeyer flask

- เป็นขวดรูปชมพู่ทำด้วยแก้วอย่างหนามีลักษณะเป็นทรงกรวย
- ขนาดบรรจุ 1,000 mL
- มี scale บอกปริมาตร ใช้สำหรับเตรียมสารละลายในห้องปฏิบัติการ

Sterile filter

- เป็นชุดกรองอาหารเลี้ยงเซลล์แบบปลอดเชื้อ
- เนื้อเมมเบรน ทำจาก PVDF เมมเบรน ขนาดรูพรุน 0.22 micron
- ถ้วยกรองด้านบนจุได้ ปริมาตร 500 mL
- ถ้วยกรองด้านล่างจุได้ ปริมาตร 1000 mL

CO₂ gas

- เป็น CO₂ gas สำหรับใช้เลี้ยงเซลล์
- บรรจุในถังที่มีความปลอดภัยตามมาตรฐานสากล
- ตัวถังมี scale สำหรับบอกความดัน และปริมาตรแก๊สที่เหลือในถัง

ถุงมือยาง (ไม่มีแบ่ง)

- เป็นถุงมือที่ผลิตจากยางพาราหรือไนลิล หรือไนไตร
- มีความยืดหยุ่น กระชับมือ
- ทนต่อสารเคมีชนิดต่าง ๆ ได้ดี
- ไม่มีแบ่งเคลือบบนถุงมือ

Biosafety hood

ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar flow hood) สำหรับป้องกันไม่ให้เชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ ที่อยู่ในอากาศไปปนเปื้อนกับเซลล์ที่เลี้ยงไว้ เช่น ในระหว่างการ subculture หรือทำ transfection

ตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ (CO₂Incubator)

ใช้ในการปรับสภาพแวดล้อมให้เซลล์ไลน์มีชีวิตอยู่รอด และให้เซลล์เกิดการเจริญเติบโตแบ่งตัวเพิ่มจำนวน โดยตู้เพาะเลี้ยงเซลล์มีความชื้นเพื่อป้องกันการระเหยของน้ำ และมี CO₂ 5% เพื่อให้เกิดการ buffer ในอาหารเลี้ยงเซลล์ระหว่างการนำเซลล์ไลน์มาใส่ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ต้องคลายเกลียวฝาให้หลวม ๆ เพื่อให้ CO₂ เข้าไปสัมผัสกับอาหารเลี้ยงเซลล์ได้ โดยอุณหภูมิภายในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ต้องเป็น 37 องศาเซลเซียส สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของเซลล์

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

การศึกษาเรื่องสนามไฟฟ้าที่มีผลกระทบต่อเซลล์ โดยมีจุดมุ่งหมายเพื่อศึกษาความเข้มของสนามไฟฟ้าที่ส่งผลกระทบต่อเซลล์มนุษย์ ตลอดจนศึกษาถึงการสร้างเครื่อง CO₂ Incubator ที่มีสนามไฟฟ้าสถิตปรับค่าได้เพื่อนำไปใช้ในส่วนของการทดลองสนามไฟฟ้ากับเซลล์มนุษย์ งานวิจัยนี้สามารถแบ่งได้ออกเป็น 2 ส่วน ซึ่งในส่วนแรกจะเป็นการออกแบบตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่าย CO₂ Incubator ที่มีเครื่องกำเนิดไฟฟ้าสถิตแบบปรับค่าได้เพื่อนำไปใช้ทดลองในส่วนที่สองคือการทดลองสนามไฟฟ้าสถิตกับเซลล์ โดยมีวิธีการดำเนินงานดังต่อไปนี้

1 การออกแบบตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่าย CO₂ Incubator ที่มีเครื่องกำเนิดไฟฟ้าสถิตแบบปรับค่าได้

1.1 การออกแบบตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่าย CO₂ Incubator

1.2 การออกแบบสนามไฟฟ้าสถิตปรับค่าได้

2 การเตรียมเซลล์มะเร็งปอดที่เป็นตัวแทนของเซลล์มนุษย์สำหรับการทดลองเพื่อตรวจประสิทธิภาพของตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่นำเสนอ

3 การออกแบบการทดลองเพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพของตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่าย (DIY CO₂ Incubator) ที่นำเสนอ

4 การออกแบบการทดลองระหว่างสนามไฟฟ้าสถิตกับเซลล์มะเร็งปอด (A549 cells)

1 การออกแบบตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่าย CO₂ Incubator ที่มีเครื่องกำเนิดไฟฟ้าสถิตแบบปรับค่าได้

สำหรับงานวิจัยนี้ ตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ CO₂ Incubator จำเป็นต้องสร้างขึ้นมารวมไปถึงการออกแบบและสร้างอุปกรณ์ที่ผลิตสนามไฟฟ้าสถิตแบบปรับค่าได้เนื่องจากงานวิจัยนี้ศึกษาผลกระทบของสนามไฟฟ้าต่อเซลล์ ซึ่งทำการทดลองโดยนำอุปกรณ์ที่ผลิตสนามไฟฟ้าสถิตวางไว้ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่สร้างขึ้นมาเพื่อที่จะนำไปใช้ในส่วนของการทดลองสนามไฟฟ้าสถิตกับเซลล์

1.1 การออกแบบตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ CO₂ Incubator

การออกแบบสนามไฟฟ้ากระแสตรงปรับค่าได้ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ CO₂ Incubator ตู้เพาะเลี้ยงเซลล์เป็นอุปกรณ์ที่สำคัญสำหรับการเพาะเลี้ยงเซลล์ เหมาะสำหรับนักวิจัยที่ต้องการเพาะเลี้ยงเซลล์ และศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ โดยตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่ายที่นำเสนอมีแหล่งทำความร้อนอยู่ด้านข้างในตัวเครื่องซึ่งแผงวงจรควบคุมการ

ทำงานและหน้าจอแสดงผลอุณหภูมิ และปริมาณก๊าซ CO₂ อยู่ด้านบนของตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่ายแสดงดังภาพประกอบ 26 และ 27 รวมไปถึงการติดพลาสติกใส Polyvinylchloride (PVC) ด้านหน้าของตู้สามารถมองเห็นภายในตู้ได้อย่างชัดเจนโดยไม่ทำให้บรรยากาศภายในตู้เกิดการแปรผัน มีการควบคุมอุณหภูมิและบรรยากาศดังนี้

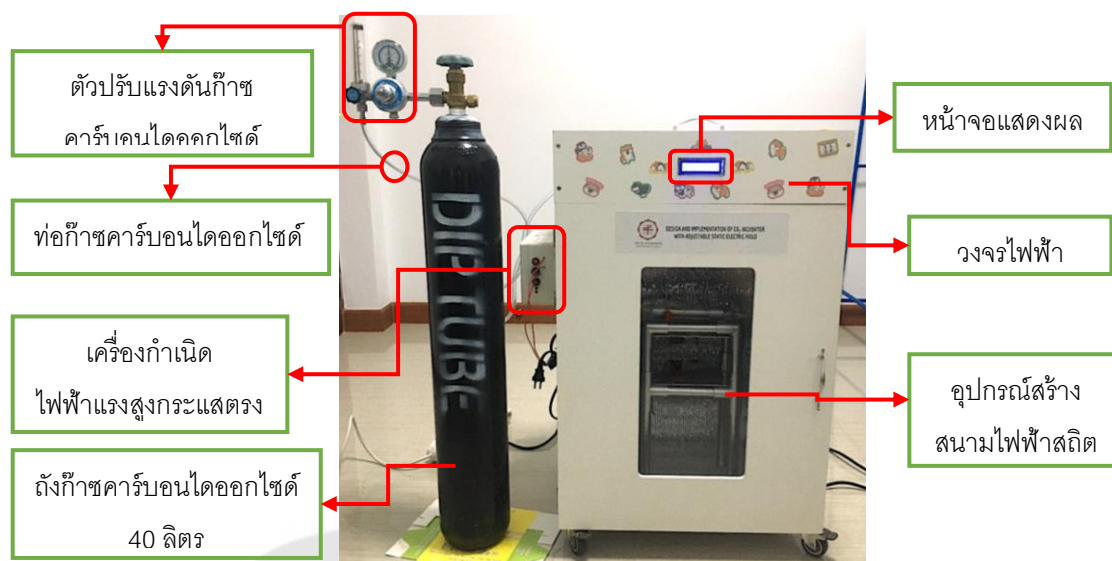
- อุณหภูมิ $37 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$
- ปริมาณก๊าซ CO₂ $5 \pm 0.2 \%$
- น้ำ H₂O วางไว้ในตู้เพื่อรักษาสภาพแวดล้อมให้ชื้น

1.1.1 วัสดุและอุปกรณ์

ตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ออกแบบให้มีความจุภายในตู้ 110 ลิตร รายละเอียดภายนอกตู้แสดงดังภาพประกอบ 26 และ 27 ซึ่งสามารถทนความร้อนได้ตามที่ต้องการและมีราคาถูก

โครงสร้างของตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่ายพร้อมสนามไฟฟ้ากระแสตรงแบบปรับค่าได้เพื่อออกแบบแสดงดังภาพประกอบ 28 ซึ่งตำแหน่งของอุปกรณ์ต่าง ๆ มีรายละเอียดดังนี้

- พัดลม DC 12 โวลต์ติดตั้งอยู่บนสุดของตู้
- แผ่นทำความร้อน 12 โวลต์ 40 วัตต์ ติดกับแผงระบายความร้อนทั้งหมด 2 แผ่นด้านข้างๆ ละ 1 แผ่น ภายในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์
- เซนเซอร์วัดอุณหภูมิคือ DS18B20 เป็นเซนเซอร์วัดอุณหภูมิจำนวน 2 เซนเซอร์อยู่ ณ ตำแหน่งระดับบนและตรงกลางของตู้เพาะเลี้ยงเซลล์
- เซนเซอร์วัดปริมาณก๊าซ CO₂ คือ GC-0017 จำนวน 1 เซนเซอร์ติดตั้งในระดับแนวเดียวกับชั้นวางถาดเลี้ยงเซลล์
- ถังแก๊ส CO₂ Tank 40 ลิตร พร้อม Regulator จำนวน 1 ชุด ท่อที่ปล่อยก๊าซ CO₂ เข้า ภายในตู้ขนาด 8 มิลลิเมตร พร้อมตัวกรองฝุ่นละออง 0.2 ไมครอน ของสายยางก่อนเข้าตู้เพาะเลี้ยงเซลล์
- ชั้นวางถาดเลี้ยงเซลล์ใช้พลาสติกใส PVC
- ภายในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่ายต้องมีถาดไว้ใส่น้ำเพื่อรักษาสภาพแวดล้อมให้มีความชื้นลดการระเหยจากจากจานเลี้ยงเซลล์
- หน้าจอ I2C/IIC 2004 LCD (Blue Screen) with backlight of the LCD screen



ภาพประกอบ 26 ต้นแบบตู้เพาเวอร์เล็งเซลล์อย่างง่ายที่นำเสนอ



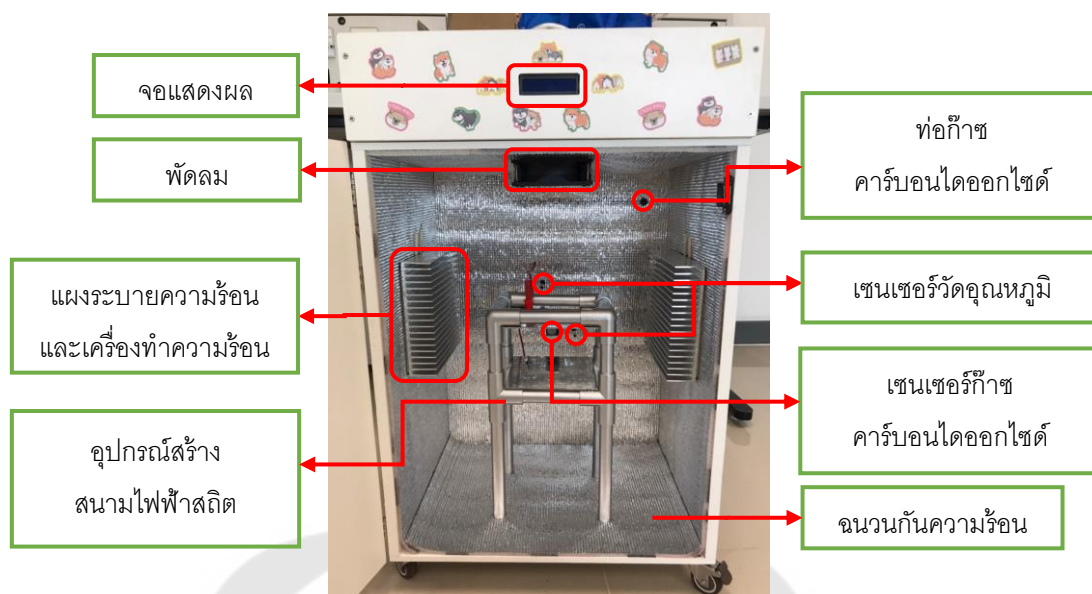
(ก)

(ข)

(ค)

(ง)

ภาพประกอบ 27 ลักษณะภายนอกของต้นแบบตู้เพาเวอร์เล็งเซลล์อย่างง่ายที่นำเสนอ(ก) ด้านหน้า (ข) ด้านหลัง (ค)และ(ง) ด้านข้างของตู้



ภาพประกอบ 28 โครงสร้างของตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่ายพร้อมสนามไฟฟ้ากระแสตรงแบบปรับค่าได้ที่นำเสนอ

วงจรทั้งหมดถูกควบคุมด้วย Arduino UNO Rev3 แรงดัน 12 โวลต์ แสดงค่าอุณหภูมิและปริมาณก๊าซ CO_2 ผ่านหน้าจอ I2C/IIC 2004 LCD (Blue Screen) with backlight of the LCD screen รูปแบบการควบคุมวงจรทั้งหมดแสดงดังภาพประกอบ 31

1.1.2 หลักการทำงานของตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่าย CO_2 Incubator

กลไกการทำงานของตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ CO_2 Incubator สั่งการผ่าน Arduino UNO Rev3 แสดงดังรูปที่ 31 มีขั้นตอนดังนี้

- พัดลม DC 12 โวลต์ทำงานตลอดการเปิดเครื่องเพื่อกระจายบรรยากาศภายในตู้

- อ่านบันทึกค่าเซนเซอร์วัดปริมาณก๊าซ CO_2 และ อุณหภูมิ จำนวน 1 และ 2 เซนเซอร์ตามลำดับ ระบบการทำงานจะรับค่าทั้งหมด 3 ครั้งแล้วคิดค่าเฉลี่ย นับเป็น 1 รอบการแสดงผล ซึ่งตำแหน่งของเซนเซอร์ต่าง ๆ แสดงในรูปที่ 28

- ปริมาณก๊าซ CO_2 กำหนดให้อยู่ในช่วง 4.18-4.70% ถ้าปริมาณก๊าซต่ำกว่าหรือมากกว่าช่วงที่กำหนด Solenoid ทำงานเพื่อเปิดและปิดวาล์วก๊าซจาก CO_2 Tank เข้าภายในตู้ตามลำดับ ด้วย delay time 0.1 วินาที

- อุณหภูมิกำหนดให้อยู่ในช่วง 36.16 - 36.90 องศาเซลเซียส ถ้าอุณหภูมิต่ำหรือสูงกว่าช่วงที่กำหนด เครื่องทำความร้อน DC 12 โวลต์ 40 วัตต์ จะทำงานและหยุดทำงาน

ตามลำดับด้วย delay time 5 วินาที ค่าที่รับได้จากเซนเซอร์อุณหภูมิเป็นสัญญาณแอนะล็อกแปลงเป็นดิจิทัลแสดงในสมการที่ (3.1) เพื่อแสดงผลผ่านหน้าจอ

- แสดงผลปริมาณก๊าซ CO₂ และ อุณหภูมิ หน่วยเป็น % และ องศาเซลเซียส

ตามลำดับ ผ่านหน้าจอ I2C/IIC 2004 LCD (Blue Screen) with backlight of the LCD screen

$$ADC = \frac{V_{IN} \times 2^N}{V_{REF}} \quad (3.1)$$

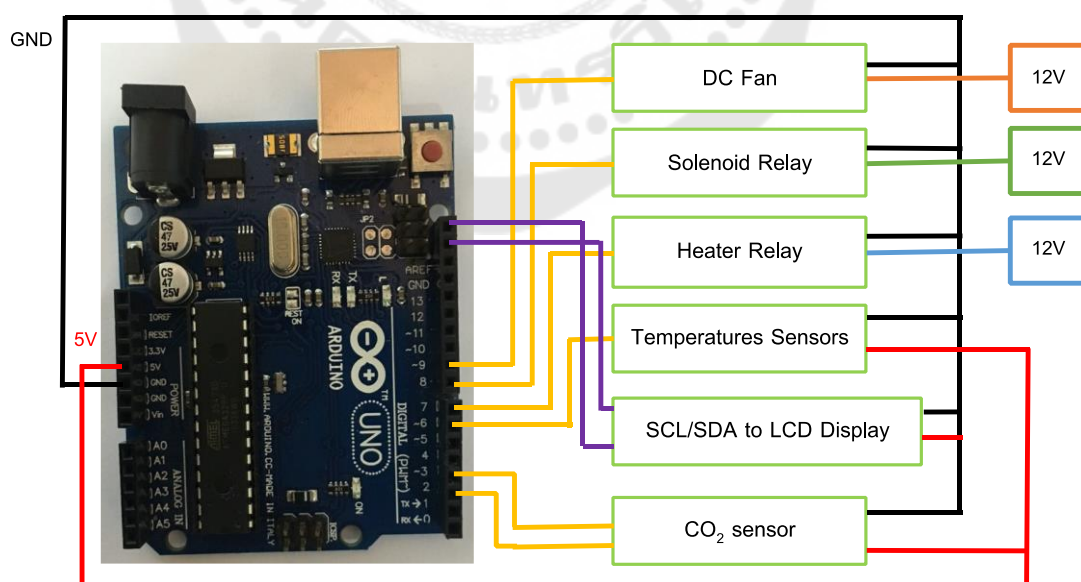
เมื่อ ADC คือ ค่าที่ได้จากการแปลงสัญญาณแอนะล็อกเป็นดิจิทัล

N คือ จำนวนบิต

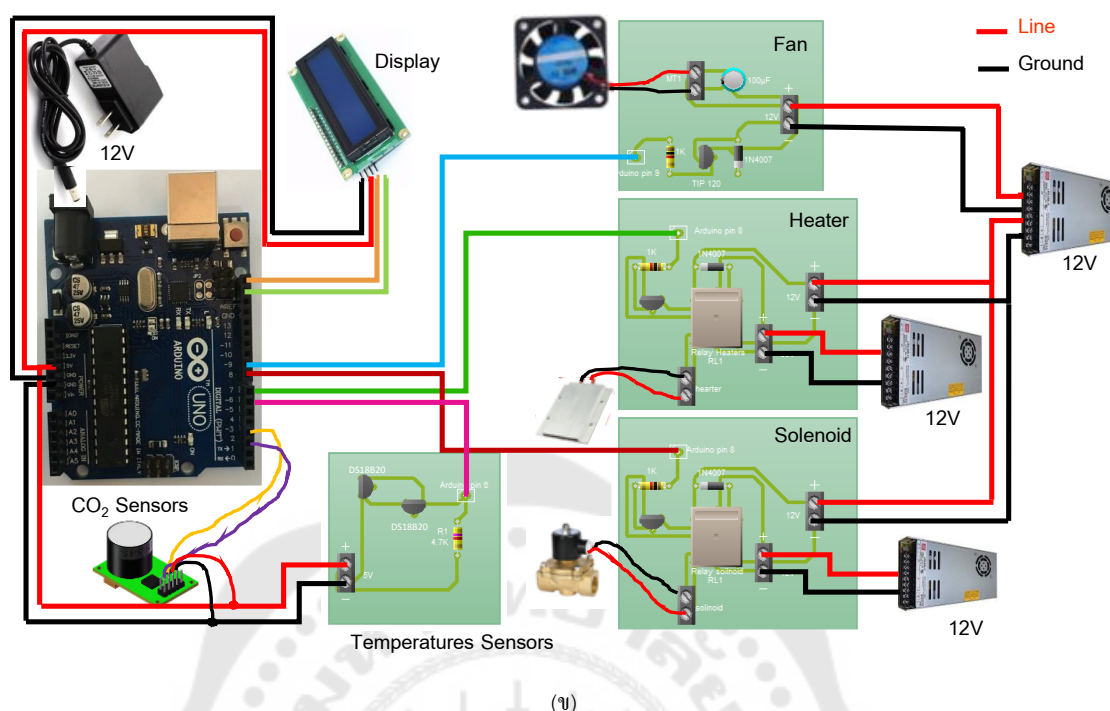
V_{IN} คือ แรงดันอินพุต

V_{REF} คือ แรงดันอ้างอิง

การควบคุมบรรยากาศภายในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่ายที่นำเสนอ จำเป็นต้องใส่น้ำไว้เพื่อรักษาสภาพแวดล้อมให้ขึ้นลดการระเหยจากจานเลี้ยงเซลล์ รวมไปถึงพัดลมมีไว้สำหรับกระจายบรรยากาศภายในตู้ โดยมีการควบคุมอุณหภูมิอยู่ที่ 36.16 - 36.90 องศาเซลเซียส และ ปริมาณก๊าซ CO₂ อยู่ในช่วง 4.18 - 4.70 % ใช้เวลาประมาณ 25-30 นาทีและ 5 นาทีตามลำดับ ถึงจะเข้าสู่เงื่อนไขตามค่าที่ตั้งไว้เมื่อเปิดสวิตช์และปิดฝาตู้สนิท



(ก)



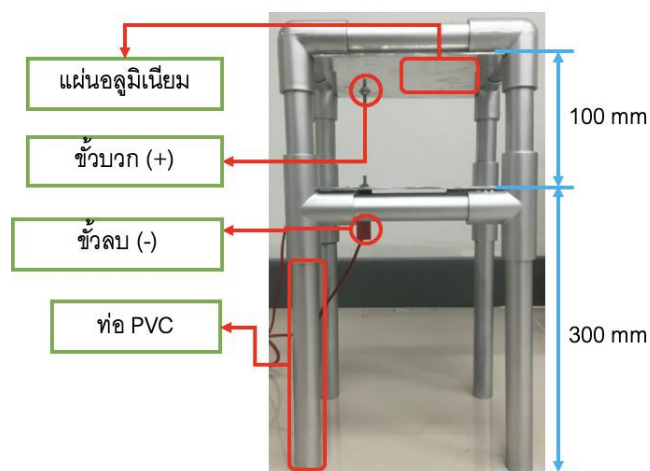
ภาพประกอบ 29 DIAGRAM การทำงานของตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่ายที่นำเสนอ (ก)

รูปแบบการควบคุมวงจร ARDUINO ที่นำเสนอ (ข) แบบวงจรไฟฟ้า

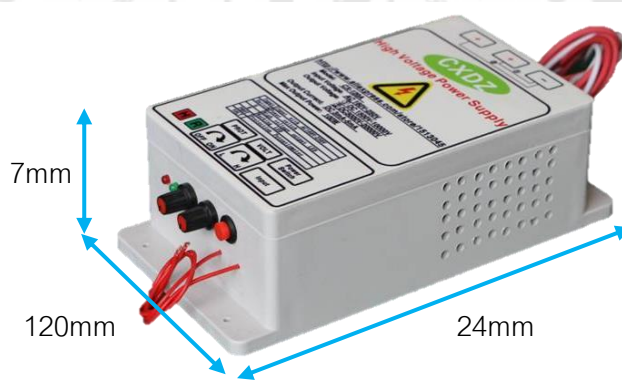
1.2 การออกแบบสนามไฟฟ้าสถิตปรับค่าได้ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ CO₂ Incubator

อุปกรณ์สร้างสนามไฟฟ้าสถิตใช้แผ่นอลูมิเนียม (Al) จำนวน 2 แผ่นขนาด 1.5 x 1.5 เมตร วางขนานกันห่าง 0.1 เมตร ของแผ่นอลูมิเนียม และใช้ท่อ Polyvinylchloride (PVC) เป็นขาตั้งยึดติดกับแผ่นอลูมิเนียมแสดงดังภาพประกอบ 30 โดยต่อกับแหล่งจ่ายเครื่องกำเนิดไฟฟ้าแรงสูงกระแสตรง

เครื่องกำเนิดไฟฟ้าแรงสูงกระแสตรงรุ่น CX-120A น้ำหนัก 0.85 กิโลกรัม มีแรงดันไฟฟ้าขาเข้าประมาณ 180 โวลต์ ถึง 260 โวลต์ (กระแสลับ) 50/60 เฮิร์ตซ์ แรงดันไฟฟ้าขาออกประมาณ ± 1.5 กิโลโวลต์ ถึง ± 10 กิโลโวลต์ (กระแสตรง) รวมไปถึงกระแสไฟฟ้าขาออกอยู่ที่ 3-5 มิลลิแอมแปร์ และ กำลังไฟฟ้าขาออกสูงสุด 100 วัตต์ ซึ่งเครื่องกำเนิดไฟฟ้าแรงสูงนี้ติดตั้งบริเวณข้างตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่ายแสดงดังภาพประกอบ 31



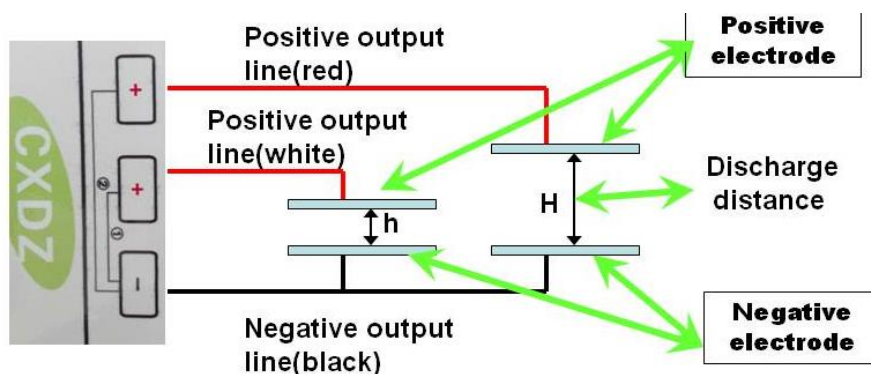
ภาพประกอบ 30 อุปกรณ์โครงสร้างสนามไฟฟ้าสถิต



ภาพประกอบ 31 เครื่องกำเนิดไฟฟ้าแรงสูงกระแสตรงรุ่น CX-120A

1.2.1 หลักการทำงานของเครื่องกำเนิดไฟฟ้าแรงสูงกระแสตรงรุ่น CX-120A

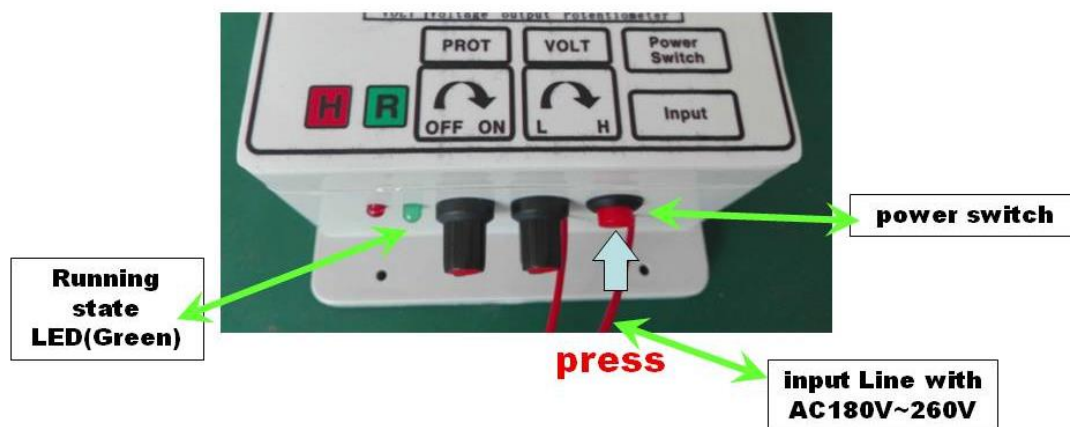
วิธีการใช้เครื่องกำเนิดไฟฟ้าแรงสูงกระแสตรงรุ่น CX-120A มีขั้นตอนดังนี้



ภาพประกอบ 32 ลักษณะการใช้งานของการป้องกันการเกิด DISCHARGE ระหว่างแผ่นอิเล็กโทรด

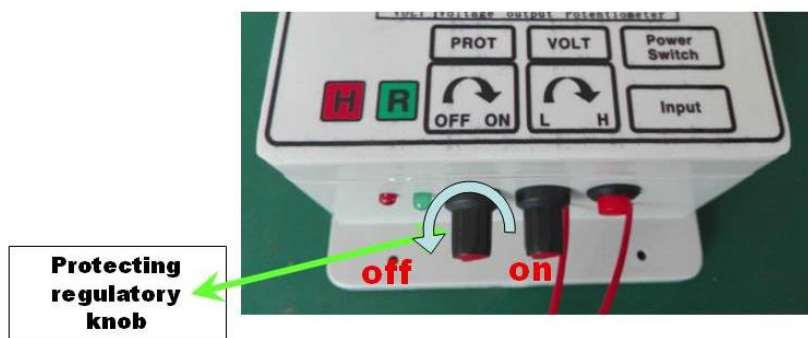
1 ระยะห่างระหว่างแผ่นอิเล็กโทรดควรมากกว่า 2 เซนติเมตร (ฝั่งแรงดันต่ำ) และมากกว่า 4 เซนติเมตร (ฝั่งแรงดันสูง) แสดงดังภาพประกอบ 32 ซึ่งถ้าระยะห่างระหว่างแผ่นอิเล็กโทรดน้อยกว่าที่กล่าวไว้จะทำให้เกิดการ discharge และทำให้อุปกรณ์เสียหายได้

2 แรงดันไฟฟ้าฝั่งแรงดันต่ำที่สามารถผลิตได้อยู่ที่ประมาณ ± 1 kV ถึง ± 10 kV และฝั่งแรงดันสูงผลิตได้อยู่ที่ประมาณ ± 3 kV ถึง ± 20 kV



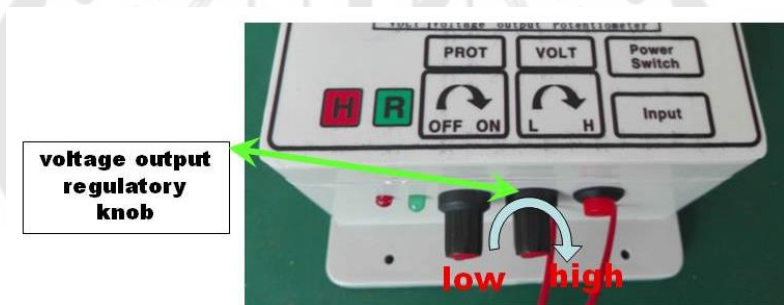
ภาพประกอบ 33 การเปิดใช้งานเครื่องเครื่องกำเนิดไฟฟ้าแรงสูง

3 เสียบปลั๊กโดยแรงดันไฟฟ้าขาเข้าเป็นแรงดันไฟฟ้ากระแสสลับ 180 – 260 V และกดปุ่มเปิดเครื่อง (Power switch) หลังจากนั้นไฟแจ้งสถานะสีเขียวติด แสดงว่าเปิดเครื่องแล้ว แสดงดังภาพประกอบ 33



ภาพประกอบ 34 ฟังก์ชันของการป้องกันการเกิดประกายไฟ

4 ถ้าต้องการใช้แรงดันไฟฟ้าแรงสูงอย่างต่อเนื่อง ฟังก์ชันการป้องกันการเกิดประกายไฟควรจะไม่เปิดใช้งาน โดยหมุน PROT ให้ไปอยู่ที่ OFF แสดงดังภาพประกอบ 34



ภาพประกอบ 35 การปรับใช้แรงดันค่าต่าง ๆ

5 ปรับแรงดันตามที่ใช้ต้องการ แสดงดังภาพประกอบ 35

1.2.2 การตรวจสอบความถูกต้องของเครื่องกำเนิดไฟฟ้าสถิตแบบปรับค่าได้ การทดสอบโดยวัดแรงดันตกคร่อมแผ่นตัวนำ

การทดสอบเครื่องกำเนิดสนามไฟฟ้าโดยการใช้อุปกรณ์วัดค่าแรงดันตกคร่อมแสดงดังภาพประกอบ 36 และ 37 ที่แผ่นตัวนำอิเล็กทรอนิกส์ จากนั้นนำค่าแรงดันที่ได้จากการวัดไปคำนวณในสมการที่ 3.2 เพื่อคำนวณหาสนามไฟฟ้าสถิต

$$E = \frac{V}{\eta^* d} \quad (3.2)$$

เมื่อ E คือ สนามไฟฟ้าสม่ำเสมอ [N/C] หรือ [V/m]
 V คือ ความต่างศักย์ไฟฟ้าระหว่างแผ่นตัวนำขนาน [V]
 d คือ ระยะห่างระหว่างความต่างศักย์ วัดขนานกับสนามไฟฟ้า [m]
 η^* มีค่าเท่ากับ 1 (อากาศ)



ภาพประกอบ 36 PROBE วัดแรงดันตกคร่อม VOLTAGE TESTER รุ่น HV-40



ภาพประกอบ 37 MULTIMETER

2 การเตรียมเซลล์มะเร็งปอดสำหรับการทดลองเพื่อตรวจประสิทธิภาพของตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่นำเสนอ

2.1 วัสดุและอุปกรณ์

2.1.1 เซลล์มะเร็งปอด (Lung cancer cells)

เซลล์มะเร็งปอด (A549 cells) จากเพศชายเชื้อสายคอเคเชียน อายุ 58 ปี เป็นเนื้อเยื่อชนิด Epithelial cell มีลักษณะเป็นเซลล์เยื่อบุผิว Epithelial-like cells คือเป็นเซลล์ที่มีหลายมุม (polygonal) ซึ่งเป็นเซลล์ที่ยึดเกาะกับพื้นผิวภาชนะและมีลักษณะการเจริญเป็นชั้นเดียว (Monolayer culture system) สามารถสังเคราะห์ Lecithin ด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่ใช้ประโยชน์จาก cytidine diphosphocholine pathway โดยรายละเอียดของเซลล์มะเร็งปอดที่ใช้ในการทดลองแสดงดังตาราง 5

ตาราง 5 คุณสมบัติของเซลล์ที่ใช้ในการทดลอง (ATCC)

ประเภท	รายละเอียด
Organism	Homo sapiens, human
Tissue	lung
Cell Type	epithelial
Product Format	frozen
Morphology	epithelial-like
Culture Properties	adherent
Biosafety Level	1
<i>Biosafety classification is based on U.S. Public Health Service Guidelines, it is the responsibility of the customer to ensure that their facilities comply with biosafety regulations for their own country.</i>	
Disease	Carcinoma
Age	58
Gender	male
Ethnicity	Caucasian
Storage Conditions	liquid nitrogen vapor phase

2.1.2 สารเคมีและน้ำยา

- Dulbecco's Modified Eagle Minimum: DMEM (GIBCO™, USA)
- 3.7 g/L Sodium hydrogen carbonate: NaHCO₃
- Fetal calf serum: FCS
- Phosphate buffer saline (PBS)
- 1X Trypsin EDTA
- 10% FCS DMEM
- Sterile water
- Trypan blue
- Methanol
- Bovine serum albumin
- alamarBlue™ Cell Viability Reagent
- Dimethyl sulfoxide (DMSO)
- Hoechst 33342, Trihydrochloride, Trihydrate - 10 mg/mL Solution in

Water

2.1.3 อุปกรณ์การเพาะเลี้ยงเซลล์ (cell culture equipment)

- Cell culture hood (laminar-flow hood)
- Humidified 5% CO₂ 37°C Incubator
- Water bath
- Centrifuge
- Refrigerator and freezer (−20°C)
- Cell counter (hemocytometer)
- Sterilizer (autoclave)
- Inverted microscope
- Fluorescence microscope
- Cell culture vessels (เช่น flasks, Petri dishes, multiwell plates)
- Beaker
- Sterile centrifuge
- Sterile microcentrifuge tube (Eppendorf tube)

- Sterile pipette tip
- Automatic pipette

2.2 การเพาะเลี้ยงเซลล์ (Cell culture)

นำเซลล์มะเร็งปอด A549 (ATCC® CCL-185™) ลงในจานเพาะเลี้ยง Cell tissue culture dish เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ (Complete Medium: CM) คือ Dulbecco's Modified Eagle Minimum (DMEM) ที่ประกอบไปด้วย 1% L-glutamine, 1 % sodium pyruvate, 10 mg/L Pyridoxine hydrochloride โดยจะมีการเติม supplement ได้แก่ 10% Fetal Bovine Serum (FBS)

เมื่อเลี้ยงเซลล์ไว้ระยะหนึ่ง ประมาณ 2-6 วันแล้วแต่นิดของเซลล์ไลน์ เซลล์จะเจริญเติบโตจนเต็มพื้นที่ จะทำให้ไม่เหลือพื้นที่ให้เซลล์เจริญเติบโตต่อไป เป็นผลให้เซลล์ได้รับอาหารไม่เพียงพอ และเซลล์จะหยุดการแบ่งตัว เพราะเซลล์ไลน์เหล่านี้จะมีคุณสมบัติ contract inhibition คือเมื่อผิวเซลล์ติดกันจะทำให้เซลล์ไลน์ไม่แบ่งตัวอีกต่อไปแต่ยังสามารถแก้ตัวได้ ทำให้เซลล์ไลน์ตายไปมีผลทำให้สภาพของ complete media เป็นกรดมากขึ้นทำให้เซลล์ไลน์ตัวอื่นตายตามกันไป ดังนั้นเมื่อเลี้ยงเซลล์จนโต เรียงตัวเป็นชั้นเดียวมีปริมาณความหนาแน่นของเซลล์ 70-80% บนจานเพาะเลี้ยง จากนั้นจึงเข้าสู่การ subculture หรือ pass cell/tissue เป็นการแยกเซลล์ออกจากจานเพาะเลี้ยง เพื่อนำไปใช้ในการศึกษาเป็นลำดับต่อไป

2.3 การ Subculture หรือ pass cell ด้วยเอนไซม์ Trypsin (Trypsinization)

3.1 ดูดอาหารเลี้ยงเซลล์เก่าทิ้งโดยใช้ pipette ดูดออก แล้วล้างด้วย PBS เพื่อล้าง FBS ที่มีในอาหารเลี้ยงเชื้อออกให้หมด ซึ่งจะทำให้เอนไซม์ Trypsin ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยใช้ pipette ค่อย ๆ ใส่น้ำเกลือให้ไหลลงข้างภาชนะอย่างช้า ๆ ป้องกันการหลุดของเซลล์

3.2 ดูด PBS ที่เติม 0.25% Trypsin-EDTA ลงไป เชียงภาชนะช้า ๆ ให้เอนไซม์กระจายทั่วพื้นผิวเดิม

3.3 นำไปใส่ในตู้ CO₂ Incubator ที่สภาวะภายในตู้คือ คาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) 5% อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 5 นาที เพื่อให้เซลล์หลุดพร้อมหลุดออกจากจานเพาะเลี้ยง

3.4 เติม PBS ลงไป โดยใช้ pipette ดูดขึ้น-ลง เพื่อหยุดปฏิกิริยาการทำงานของเอนไซม์ Trypsin และช่วยให้เซลล์ทั้งหมดหลุดจากจานเพาะเลี้ยง

3.5 ใช้ pipette ดูดออกมาใส่ Sample Eppendorf tube นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที แล้วดูดส่วนใสทิ้ง

3.6 เติมอาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM ใหม่ลงไป ใช้ pipette ดูดขึ้น-ลงหลาย ๆ ครั้ง ให้เซลล์กระจายทั่ว ๆ อาหาร ทำให้สารละลายที่มีเซลล์เดี่ยว ๆ

3.7 การนับเซลล์และนับจำนวนเซลล์ให้มีปริมาณเพียงพอต่อการทดลอง

3.8 ดูดเซลล์มา 10 μL ผสมกับสีย้อม trypan blue 10 μL ให้เข้ากันใน Microcentrifuge tube

3.9 นับเซลล์โดยใช้ hemocytometer cell counting

จากนั้นนำมาคำนวณ จากสมการที่ 3.3 (Ge และคนอื่น ๆ, 2014)

$$C1V1 = C2V2 \quad (3.3)$$

เมื่อ $C1$ คือ จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตที่นับได้ [cells/mL]
 $C2$ คือ จำนวนเซลล์ที่เราต้องการ [cells/mL]
 $V1$ คือ ปริมาตรที่จะต้องดูดออกมาจากจำนวนเซลล์ตั้งต้น [mL]
 $V2$ คือ ปริมาตรสุดท้ายที่เราจะต้องการทั้งหมด [mL]

3.10 เมื่อเตรียมเซลล์เรียบร้อยแล้ว เราจะทำการ plate cell หรือ seed cell ลงใน plate ที่จะใช้ทดลอง

3.11 ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง เพื่อให้เซลล์เกาะที่ก้นหลุมของ plate

3.12 จากนั้นนำไปนำไปใช้ในการศึกษาเป็นลำดับต่อไป

2.4 การนับจำนวนเซลล์ (hemocytometer cell counting)

เซลล์ที่นำไปใช้ในการทดลองจะเป็นเซลล์ที่ยังมีชีวิตเท่านั้นจึงนับเฉพาะเซลล์ที่ยังไม่ตาย โดยนำเซลล์ที่มาจากการทดลองเข้าสู่กระบวนการ Trypsinization เพื่อให้เซลล์ที่อยู่ก้นหลุมออกเป็น single cell แล้วจึงนำมาเจือจางในสี 0.4% Trypan blue ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปหยดลงบน hemocytometer นับจำนวนเซลล์ทั้งหมดด้วยกล้องจุลทรรศน์แสดงดังภาพประกอบ 38 โดยนับเซลล์ทั้งหมดใน 4 ช่องของ hemocytometer เฉพาะเซลล์ที่ยังไม่ตาย จากนั้นนำไปคำนวณหาปริมาณเซลล์ทั้งหมดจากสมการ 3.4 (Louis และ Siegel, 2011)

$$Viable\ cell\ count = \frac{Number\ live\ cell\ counted}{Number\ of\ large\ corner\ squares\ counted} \times DF \times 10^4 \quad (3.4)$$

เมื่อ Viable cell count คือ ปริมาณเซลล์ทั้งหมด [cells/mL]
 Number live cell counted คือ จำนวนเซลล์ที่นับได้ [cells]

Number of large corner squares counted คือ จำนวนช่องที่นับใน hemocytometer

Dilution factor (DF) คือ อัตราส่วนเจือจาง



ภาพประกอบ 38 การนับจำนวนเซลล์ HEMOCYTOMETER CELL COUNTING

3 การตรวจสอบคุณภาพของตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่าย (DIY CO₂ Incubator) ที่นำเสนอ

ตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่ายที่นำเสนอ (DIY CO₂ Incubator) จำเป็นต้องมีการควบคุมสภาวะภายในตู้คือ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) ที่ 5% อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และต้องมีความชื้นสัมพัทธ์ภายในตู้ ซึ่งการตรวจสอบประสิทธิภาพการทำงานของตู้โดยการเพาะเลี้ยงเซลล์ในตู้ที่นำเสนอ DIY CO₂ Incubator (ไม่เปิดสวิตช์ไฟฟ้า) เทียบกับการเลี้ยงเซลล์ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ตามมาตรฐาน (STD CO₂ Incubator) เพื่อดูอัตราการเจริญเติบโตของเซลล์ด้วยวิธี Hemocytometer Cell Counting ระหว่างทั้ง 2 ตู้ DIY และ STD CO₂ Incubator โดยขั้นตอนการทดลองแสดงดังภาพประกอบ 39 ถึง 41

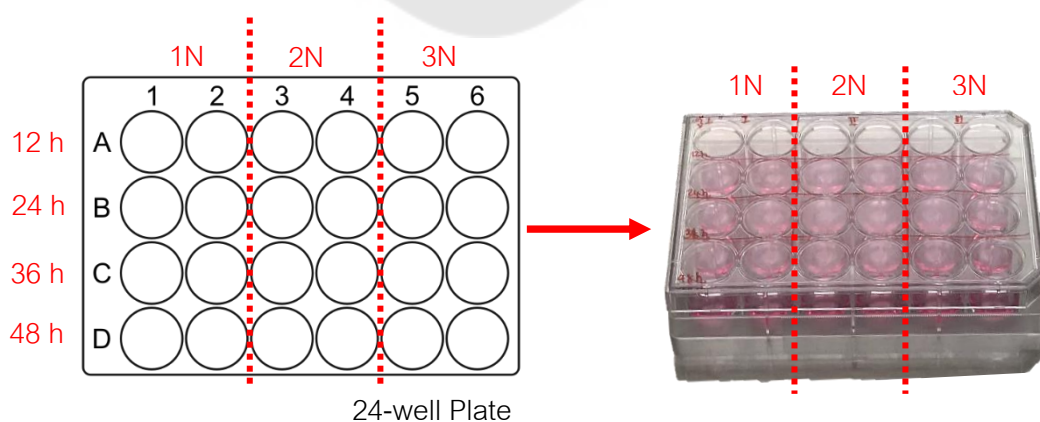
DIY CO₂ Incubator

24-well plate

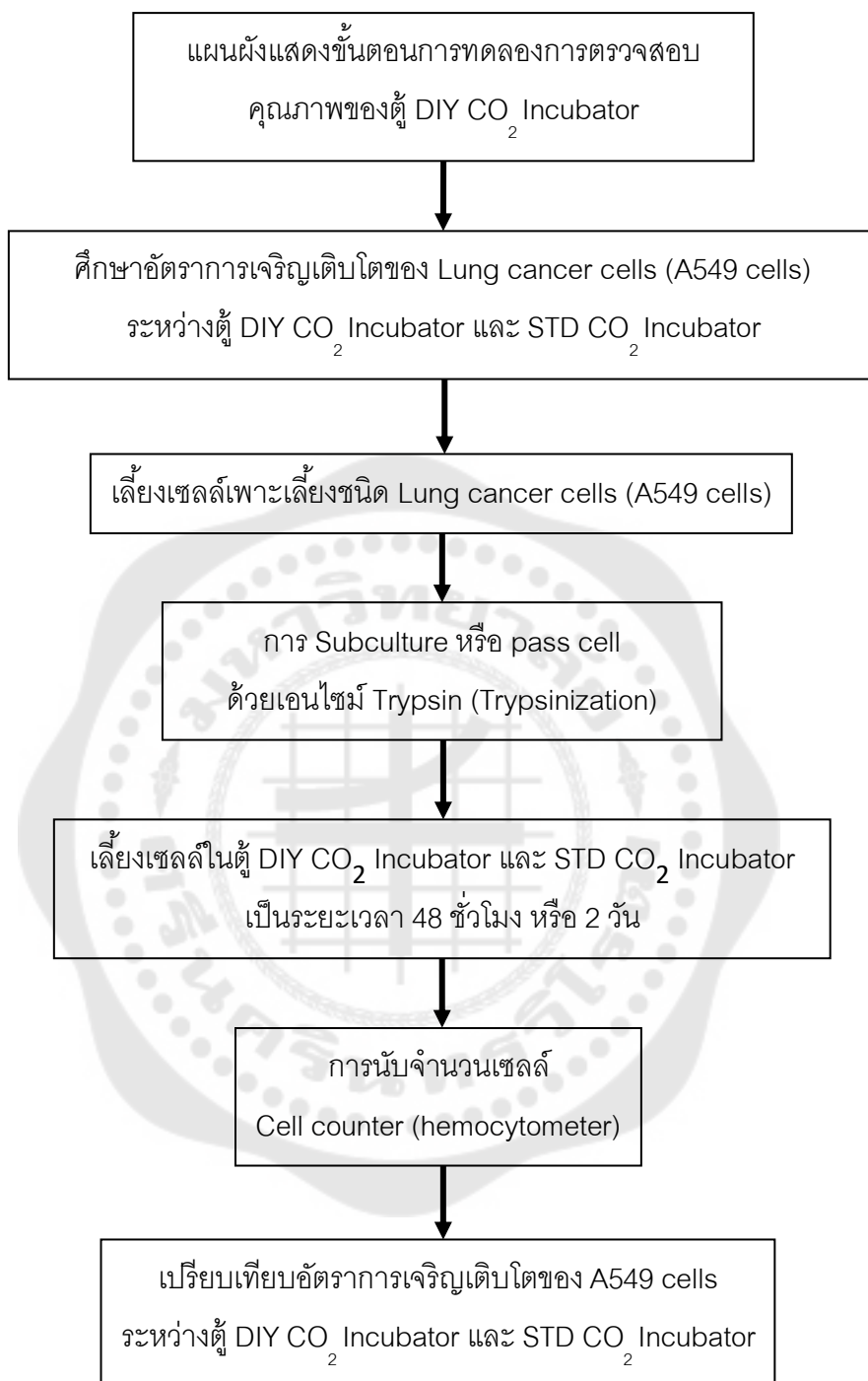
STD CO₂ Incubator
3311Forma™Steri-Cult™

24-well plate

ภาพประกอบ 39 การทดลองเลี้ยงเซลล์ระหว่างตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่าย (DIY CO₂ INCUBATOR) ที่นำเสนอและตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ตามมาตรฐาน (STD CO₂ INCUBATOR)



ภาพประกอบ 40 รูปแบบการเลี้ยงเซลล์



ภาพประกอบ 41 แผนผังแสดงขั้นตอนการทดลองการตรวจสอบคุณภาพของตู้ DIY
CO₂ INCUBATOR

วิธีการทดลอง

การออกแบบการทดลองสำหรับการเลี้ยงเซลล์มะเร็งปอด (A549 cells) เพื่อดูอัตราการเจริญเติบโตโดยการทดลองแบ่งออกเป็น 2 จานเพาะเลี้ยงเชื้อแสดงดังภาพประกอบที่ 39 นำแต่ละจานเพาะเลี้ยงเชื้อไปใส่ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่าย (DIY CO₂ Incubator) ที่นำเสนอและตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ตามมาตรฐาน (STD CO₂ Incubator) จำนวนเซลล์เริ่มต้นคือ 5×10^4 cells/well ใน 24-well plate ระยะเวลาในการเลี้ยงเซลล์ทั้งหมด 48 ชั่วโมงหรือ 2 วัน นับเซลล์ทุก ๆ 12 ชั่วโมง ด้วยวิธี hemocytometer cell counting การทดลองแต่ละจานเพาะเลี้ยงเชื้อจะทำทั้งหมด 3 ซ้ำ (1n, 2n และ 3n) ในแต่ละซ้ำ(n) ทำ 2 หลุมแสดงดังภาพประกอบ 40 เพื่อเพิ่มความละเอียดในการหาจำนวนการเจริญเติบโตของเซลล์แต่ละระยะเวลาในการนับเซลล์ตลอดจนการเลี้ยงเซลล์เสร็จสิ้นที่ 48 ชั่วโมง จากภาพประกอบ 41 มีรายละเอียดขั้นตอนการทำการทดลองดังนี้

1 เตรียมเซลล์ A549 cells ที่จะทำการทดลองในขั้นตอน การ subculture หรือ pass cell ด้วยเอนไซม์ Trypsin (Trypsinization)

2 เมื่อเตรียมเซลล์เรียบร้อยแล้ว เราจะทำการ plate cell หรือ seed cell เริ่มต้นที่จำนวนเซลล์ 5×10^4 cells/well ลงใน 24-well plate ที่ใช้ทดลอง ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง เพื่อให้เซลล์เกาะที่ก้นหลุมของ plate

3 หลังจากผ่านขั้นตอนการเตรียมเซลล์เสร็จแล้วนำแต่ละ plate ไปทดลองเลี้ยงเซลล์ในตู้ DIY CO₂ Incubator และ STD CO₂ Incubator เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง หรือ 2 วัน

4 นับจำนวนเซลล์ทุก 12 ชั่วโมง ด้วยวิธี hemocytometer cell counting

5 เปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของ A549 cells ระหว่างตู้ DIY CO₂ Incubator และ STD CO₂ Incubator

4 การออกแบบการทดลองระหว่างสนามไฟฟ้าสถิตกับเซลล์มะเร็งปอด (A549 cells)

การทดลองในส่วนนี้เพื่อวิเคราะห์ปริมาณเซลล์ที่ยังมีชีวิตและ วิเคราะห์รูปร่าง ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology cell) ทำการทดลองโดยให้เซลล์สัมผัสกับสนามไฟฟ้าสถิตอย่างต่อเนื่องเปรียบเทียบกับเซลล์ที่ไม่ได้รับสนามไฟฟ้าสถิต(non-treat) ซึ่งความเข้มสนามไฟฟ้าสถิตที่นำมาใช้ในการทดลองพิจารณาความเข้มสนามไฟฟ้าที่มาจาก HVDC transmission lines คือ 15 kV/m แต่เนื่องจากข้อจำกัดของอุปกรณ์ผลิตสนามไฟฟ้าสถิตสามารถผลิตสนามไฟฟ้าสถิตที่ความเข้มสนามไฟฟ้าใกล้เคียงอยู่ที่ 17.4 kV/m จึงนำค่านี้มาใช้ในการทดลองแทน ซึ่งในการทดลองนั้น สนามไฟฟ้าสถิตจะสัมผัสเซลล์อย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 4 และ 8 ชั่วโมง หลังจากนั้นหยุดให้สนามไฟฟ้าแล้วนำไปเลี้ยงต่อเป็นเวลาอีก 1 คืน (overnight) ถึงนำมาวิเคราะห์ปริมาณเซลล์ที่ยังมี

ชีวิตอยู่โดยใช้วิธี MTT assay และ วิเคราะห์ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology cell) โดยการย้อมสีเซลล์แล้วดูลักษณะของเซลล์ผ่านกล้อง Fluorescence microscope ขั้นตอนการทดลองแสดงดังภาพประกอบ 42-44

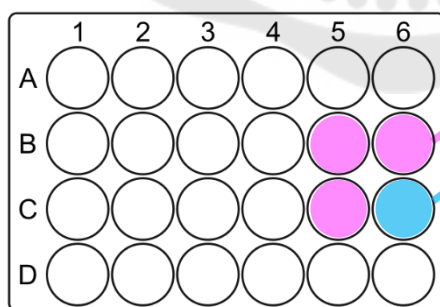
DIY CO₂ Incubator
with DC Electric field



STD CO₂ Incubator
3311Forma™Steri-
Cult™



ภาพประกอบ 42 การทดลองสนามไฟฟ้าสถิตกับ A549 CELLS

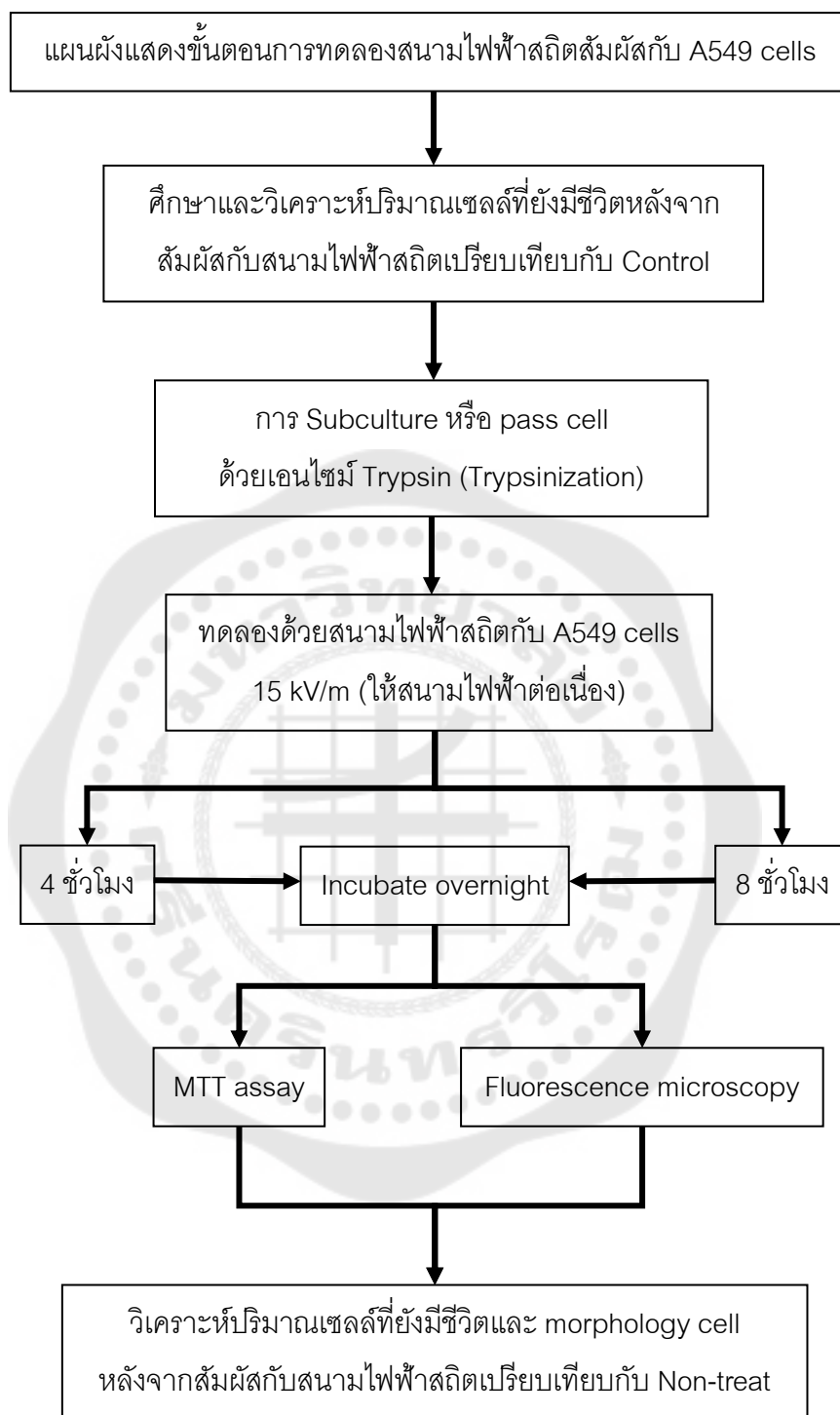


24-well Plate

MTT assay

Fluorescence microscopy

ภาพประกอบ 43 รูปแบบการ PLATE CELL ลงใน 24 WELL PLATE ใช้สำหรับทดลองสนามไฟฟ้าสถิต



ภาพประกอบ 44 แผนผังแสดงขั้นตอนการทดลองสนามไฟฟ้าสถิตกับ A549 CELLS

4.1 วิธีการทดลอง

การทดลองในส่วนนี้ใช้ A549 cells เริ่มต้นที่จำนวนเซลล์ 5×10^4 cells/well ใน 24-well plate เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM + 10% FBS ซึ่งการทดลองใช้ทั้งหมด 3 plates คือ เลี้ยงเซลล์ในตู้ STD CO₂ Incubator โดยไม่ให้สัมผัสสนามไฟฟ้า (Non-treat) และให้เซลล์สัมผัสกับสนามไฟฟ้าสถิตต่อเนื่องในตู้ DIY CO₂ Incubator เป็นเวลา 4 และ 8 ชั่วโมงที่ความเข้มสนามไฟฟ้า 17.4 kV/m ตามลำดับ แสดงดังภาพประกอบ 44 แต่ละ plate ทำการทดลองทั้งหมด 4 หลุมใน 24-well plate จากภาพประกอบ 43 แสดงให้เห็นว่าหลุมสี่หลุมทั้งหมด 3 หลุม ใช้วิธี MTT assay เพื่อวิเคราะห์ปริมาณเซลล์ที่ยังมีชีวิต และอีกหนึ่งหลุมสี่ไฟฟ้าใช้วิธีวิเคราะห์ผลโดยการทำ Fluorescence microscopy รายละเอียดขั้นตอนการทำการทดลองมีดังนี้ แสดงดังภาพประกอบ 44

1 เตรียม A549 cells ที่จะใช้ทำการทดลองในขั้นตอนนี้ ทำโดยขั้นตอนการ subculture หรือ pass cell ด้วยเอนไซม์ Trypsin (Trypsinization)

2 เมื่อเตรียมเซลล์เรียบร้อยแล้ว เราจะทำการ plate cell หรือ seed cell เริ่มต้นที่จำนวนเซลล์ 1.5×10^5 cells/well ลงใน 24-well plate ที่ใช้ทดลองทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง เพื่อให้เซลล์เกาะที่ก้นหลุมของ plate

3 หลังจากผ่านขั้นตอนการเตรียมเซลล์เสร็จแล้ว นำแต่ละ plate ไปให้ความเข้มสนามไฟฟ้าที่ 17.4 kV/m เป็นเวลา 4 และ 8 ชั่วโมง ตามลำดับ ในตู้ DIY CO₂ Incubator รวมถึง plate ที่ non-treat นำเซลล์ไปเลี้ยงตามปกติในตู้ STD CO₂ Incubator ซึ่งมีสภาวะภายในตู้ที่เหมือนกันคือ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) ที่ 5% อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์

4 หลังจากให้เซลล์สัมผัสกับสนามไฟฟ้าสถิตครบ 4 ชั่วโมงแล้วนำไป incubate overnight ต่อในตู้ STD CO₂ Incubator รวมถึงการทดลองที่เวลา 8 ชั่วโมงก็ทำเช่นเดียวกัน

5 นำการทดลองทั้งหมดมาวิเคราะห์ปริมาณเซลล์ที่ยังมีชีวิตโดยวิธี MTT assay และ วิเคราะห์ morphology cell โดย Fluorescence microscope เปรียบเทียบกับ Non-treat

4.2 ขั้นตอนการทำ MTT assay

1 เมื่อครบกำหนดเวลาของการทดลอง ให้นำ 24-well plate ออกจากตู้ 5% CO₂ อุณหภูมิ 37°C ดูด media เก่าทิ้ง

2 ใช้ pipette ใส่สารละลาย 5 mg/mL MTT (คือ MTT 5 mg ละลายใน PBS 1 mL) ปริมาตร 50 μ L/well ลงไป

3 นำไปบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ 5% CO₂ อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง

4 จากนั้นใช้ pipette เอา media ที่มีสารละลาย MTT หึ่งไป

5 เติมสารละลาย DMSO ลงไป 500 μL /well ผสมให้เข้ากัน อย่าให้มีผลึกของ formazan หลงเหลืออยู่ โดยใช้เครื่อง shaker ที่ความเร็วรอบ 300 rpm เป็นเวลา 10 นาที

** หากเซลล์เป็นเซลล์ที่ยังมีชีวิต enzyme mitochondrial reductase บน mitochondria จะจับกับ MTT (ที่มีสีเหลือง) กลายเป็นผลึก formazan ที่มีสีม่วง

6 ใช้ pipette ดูดจาก 24-well plate (450 μL /well) ไป 96-well plate (150 μL /well)

7 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ Optical density (OD) 570 nm

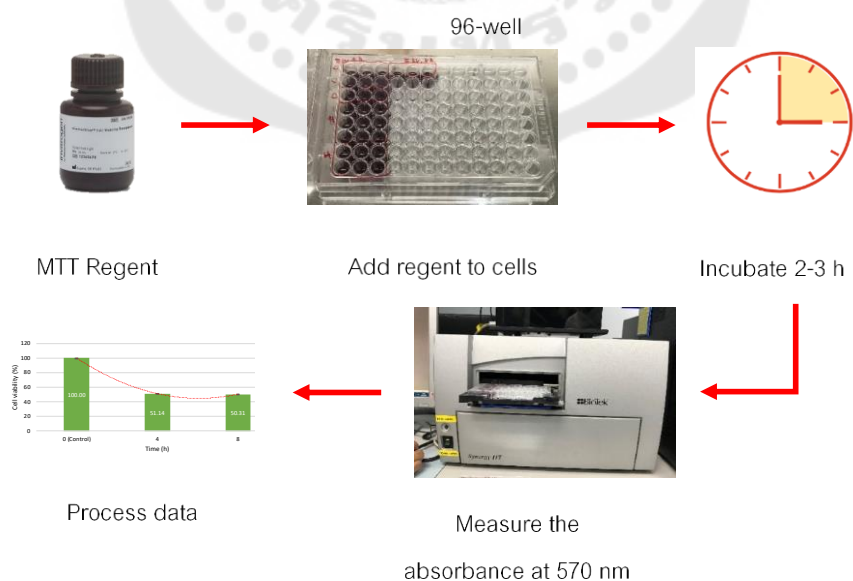
8 หา Cell Viability (%) จากสมการที่ 3.4 (Chong และคนอื่น ๆ, 2016)

$$\text{Cell viability (\%)} = \frac{\text{OD of treated}}{\text{OD of control}} \times 100 \quad (3.4)$$

เมื่อ Cell viability คือ ปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตทั้งหมด [%]

OD of treated คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ 570 nm ของกลุ่มเซลล์ที่ได้สัมผัสสนามไฟฟ้าสถิต

OD of control คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ 570 nm ของกลุ่มเซลล์ที่ควบคุม



ภาพประกอบ 45 ขั้นตอน MTT ASSAY

4.3 ขั้นตอนการทำ Fluorescence microscopy

1 ใช้ pipette ใส่สาร Hoechst 33342, Trihydrochloride, Trihydrate - 10 mg/mL Solution in Water ในปริมาตร 0.5 μ L/well

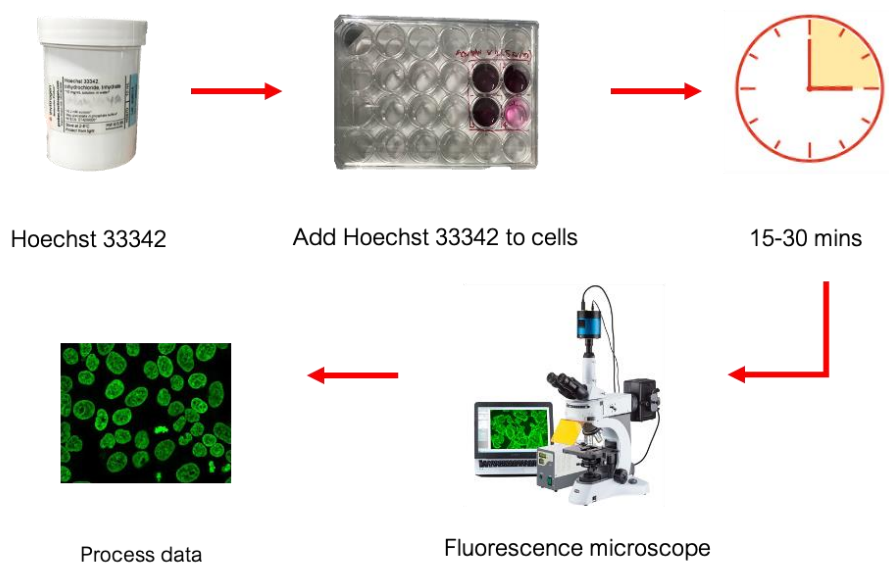
2 pipette ดูดเป่าให้เข้ากันในสไลด์หลุม แล้วห่อด้วยฟรอยด์วางไว้ในที่มืด ทิ้งไว้ประมาณ 10-15 นาที

3. ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ ดูการเรืองแสงภายใต้กล้องจุลทรรศน์ระบบฟลูออเรสเซนซ์ Fluorescence microscopy ที่ช่วงความยาวคลื่น 300-400 นาโนเมตร แสดงดังภาพประกอบ 46

4 วิเคราะห์ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์ morphology cell



ภาพประกอบ 46 การวิเคราะห์ MORPHOLOGY CELL โดย FLUORESCENCE MICROSCOPE



ภาพประกอบ 47 ขั้นตอน FLUORESCENCE MICROSCOPE

บทที่ 4

ผลการดำเนินงานวิจัย

ในบทที่ 4 จะเป็นการกล่าวถึงรายละเอียดผลการทดลองเพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพของตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่มีสนามไฟฟ้าสถิตแบบปรับค่าได้ที่ได้นำเสนอเพื่อนำไปใช้ในขั้นตอนต่อไปในการทดลองการศึกษาและวิเคราะห์การทดลองสนามไฟฟ้าสถิตกับเซลล์

ผู้วิจัยได้ดำเนินการวิจัยการศึกษาตามขอบข่ายและขั้นตอนการทดลองต่าง ๆ มีรายละเอียดดังนี้

1 ผลลัพธ์ของการประเมินเครื่องกำเนิดไฟฟ้าสถิตแบบปรับค่าได้

2 ผลลัพธ์ของการประเมินประสิทธิภาพของตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่นำเสนอ DIY CO₂

Incubator

3 ผลลัพธ์ของการศึกษาและวิเคราะห์การทดลองสนามไฟฟ้าสถิตกับเซลล์มะเร็ง

ปอด A549 cells

1 ผลการประเมินความสามารถในการสร้างสนามไฟฟ้า

ผลการการวัดแรงดันไฟฟ้าที่ตกคร่อมแผ่นตัวนำ

ในการทดลองได้ทำการวัดค่าแรงดันที่ตกคร่อมแผ่นตัวนำทั้งหมด 3 ครั้ง แล้วนำค่าแรงดันที่วัดได้ทั้งหมดมาหาค่าเฉลี่ยเพื่อให้ได้ค่าแรงดันตกคร่อมที่มีความแม่นยำ และมีความน่าเชื่อถือ ซึ่งได้ผลตามตาราง 6

หลังจากที่ได้ทำการวัดค่าแรงดันตกคร่อมที่แผ่นตัวนำและนำมาหาค่าเฉลี่ยแล้วจากนั้นก็สามารถนำค่าแรงดันที่ได้จากการวัดมาคำนวณเพื่อหาค่าสนามไฟฟ้าสถิต ในสมการที่ 3.2 ซึ่งผลจากการคำนวณเป็นไปตามตารางที่ 7

ตาราง 6 แรงดันตกคร่อมระหว่างแผ่นตัวนำอิเล็กโทรดที่ได้จากการวัด

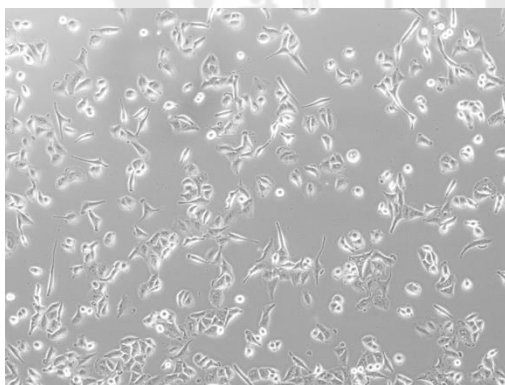
จำนวนการ หมุน	ค่าแรงดันตกคร่อมระหว่างแผ่นตัวนำอิเล็กโทรด (kV)			
	V_1	V_2	V_3	V(average)
5	0.087	0.091	0.089	0.09
6	0.126	0.132	0.128	0.13
7	0.182	0.195	0.191	0.19
8	0.195	0.203	0.199	0.2
9	0.219	0.234	0.225	0.23
10	0.285	0.302	0.289	0.29
11	0.359	0.410	0.391	0.39
12	0.438	0.489	0.472	0.47
13	0.485	0.511	0.501	0.5
14	0.558	0.614	0.594	0.59
15	0.633	0.683	0.652	0.66
16	0.725	0.776	0.748	0.75
17	0.831	0.882	0.841	0.85
18	1.038	1.125	1.072	1.08
19	1.178	1.216	1.183	1.19
20	1.726	1.761	1.738	1.74
21	1.782	1.835	1.798	1.81
22	1.997	2.102	2.031	2.04
23	2.199	2.415	2.307	2.31
24	2.383	2.811	2.475	2.56
25	2.764	3.013	2.887	2.89
26	3.157	3.312	3.229	3.23

ตาราง 7 ค่าสนามไฟฟ้าที่ได้จากการคำนวณ

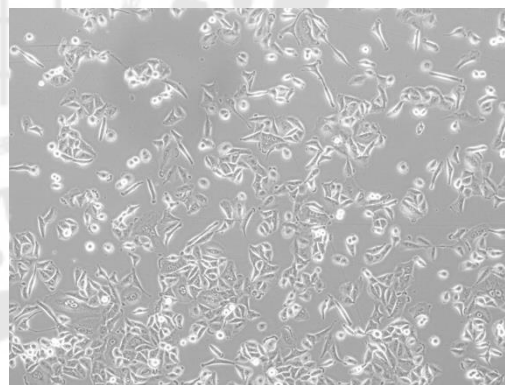
แรงดันไฟฟ้าที่ตกคร่อมแผ่นอิเล็กโทรด (kV)	สนามไฟฟ้า E (kV/m)
0.09	0.90
0.13	1.30
0.19	1.90
0.20	2.00
0.23	2.30
0.29	2.90
0.39	3.90
0.47	4.70
0.50	5.00
0.59	5.90
0.66	6.60
0.75	7.50
0.85	8.50
1.08	10.80
1.19	11.90
1.74	17.40
1.81	18.10
2.04	20.04
2.31	23.10
2.56	25.60
2.89	28.90
3.23	32.30

2 ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลองการประเมินประสิทธิภาพของตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่นำเสนอง (DIY CO₂ Incubator)

การตรวจสอบประสิทธิภาพของตู้เพาะเลี้ยงเซลล์โดยเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของ lung cancer (A549 cells) เลี้ยงในอาหาร DMEM โดยจะมีการเติม supplement ได้แก่ 10% Fetal Bovine Serum (FBS) โดยทำกาสรเลี้ยงในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่าย (DIY CO₂ Incubators) เทียบกับตู้เพาะเลี้ยงเซลล์มาตรฐาน (STD CO₂ Incubators) ขนาด 232.20 ลิตร รุ่น 3311 Forma™ Steri-Cult™ CO₂ Incubators[9] เริ่มต้นที่ 5×10^4 เซลล์/หลุม ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำใส่จำนวน 2 หลุม/ตู้ แสดงดังภาพประกอบ 39-40 โดยปรับสภาวะที่ปลอดภัยของตู้เพาะเลี้ยงเซลล์มีอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ปริมาณก๊าซ CO₂ 5% (50,000 ppm) จากนั้นทำการสังเกตการปนเปื้อนจากแบคทีเรีย การเจริญเติบโตและการเพิ่มจำนวนของเซลล์ทุกๆ 12 ชั่วโมง จนกว่าเซลล์จะเจริญเต็มที่ซึ่งใช้ระยะเวลาประมาณ 48 ชั่วโมงหรือ 2 วันในการทดลองและสังเกตการเจริญเติบโตของเซลล์ โดย ภาพประกอบ 48 ถึง 51 แสดงขนาดและรูปร่างของเซลล์ระหว่างตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่าย และตู้เพาะเลี้ยงเซลล์มาตรฐานในระยะเวลาการเลี้ยงเซลล์ที่ 12 24 36 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ

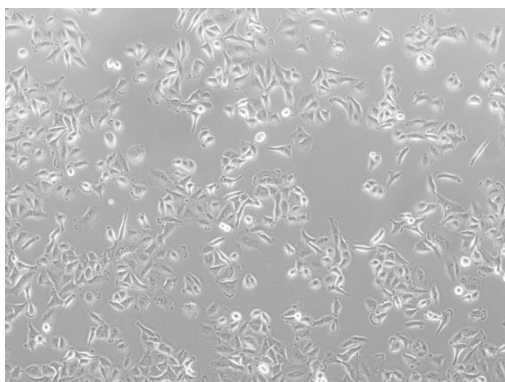


(ก)

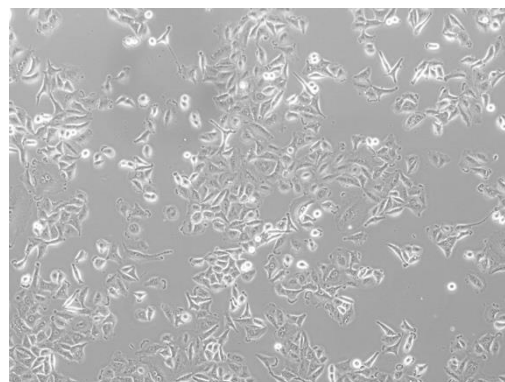


(ข)

ภาพประกอบ 48 LUNG CANCER (A549 CELLS) เลี้ยงในอาหาร DMEM CONTAINING 10% FETAL BOVINE SERUM ระยะเวลาการเลี้ยงเซลล์ 12 ชั่วโมง
(ก) ตู้เพาะเลี้ยงเซลล์มาตรฐาน และ (ข) ตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่าย

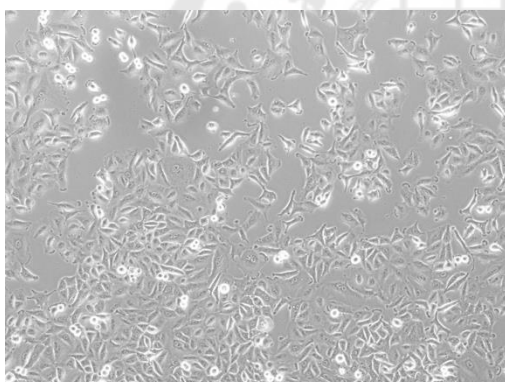


(ก)

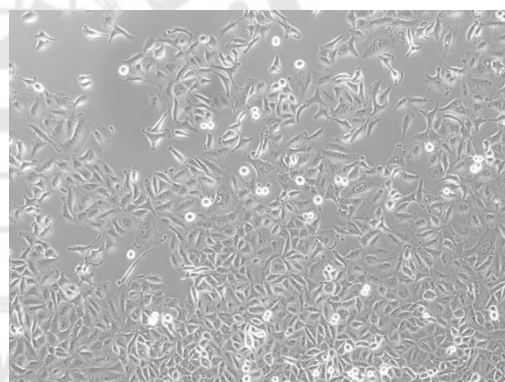


(ข)

ภาพประกอบ 49 LUNG CANCER (A549 CELLS) เลี้ยงในอาหาร DMEM
CONTAINING 10% FETAL BOVINE SERUM ระยะเวลาการเลี้ยงเซลล์ 24 ชั่วโมง
(ก) ตู้เพาะเลี้ยงเซลล์มาตรฐาน และ (ข) ตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่าย

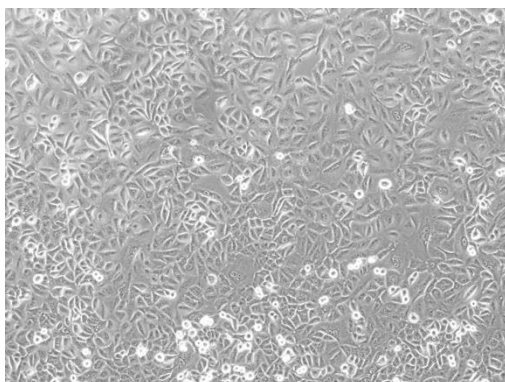


(ก)

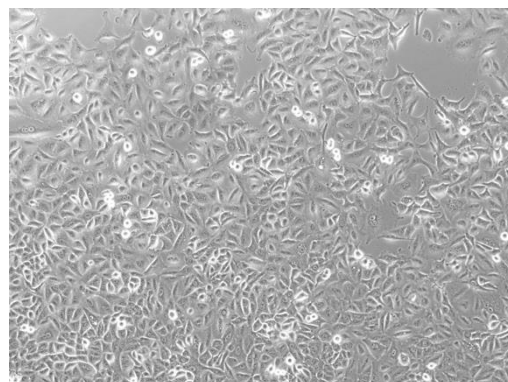


(ข)

ภาพประกอบ 50 LUNG CANCER (A549 CELLS) เลี้ยงในอาหาร DMEM
CONTAINING 10% FETAL BOVINE SERUM ระยะเวลาการเลี้ยงเซลล์ 36 ชั่วโมง
(ก) ตู้เพาะเลี้ยงเซลล์มาตรฐาน และ (ข) ตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่าย

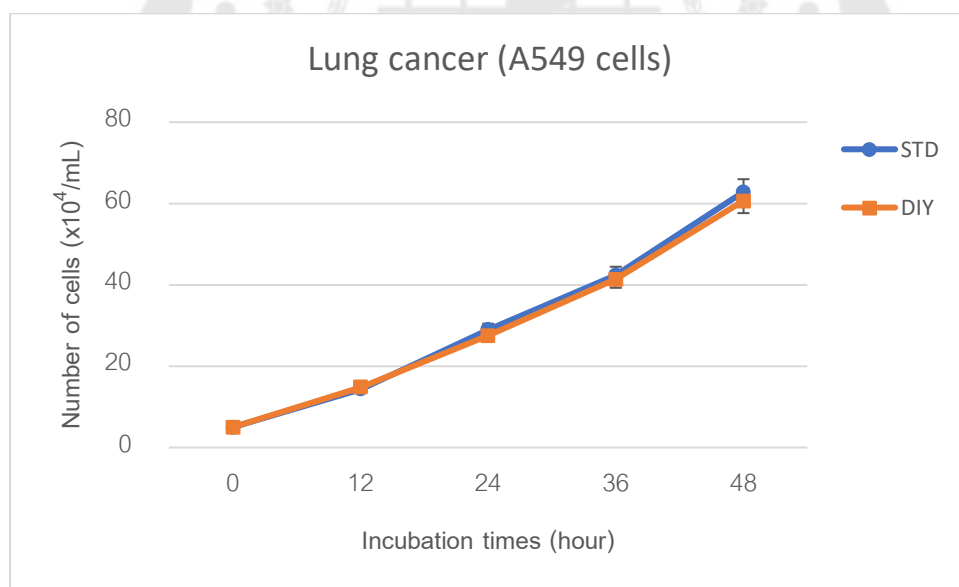


(ก)



(ข)

ภาพประกอบ 51 LUNG CANCER (A549 CELLS) เลี้ยงในอาหาร DMEM CONTAINING 10% FETAL BOVINE SERUM ระยะเวลาการเลี้ยงเซลล์ 48 ชั่วโมง
(ก) ตู้เพาะเลี้ยงเซลล์มาตรฐาน และ (ข) ตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่าย



ภาพประกอบ 52 กราฟแสดงอัตราการเจริญเติบโตของ LUNG CANCER (A549 CELLS) ระหว่างตู้เพาะเลี้ยงเซลล์มาตรฐาน (STD CO₂ INCUBATORS) และตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่าย (DIY CO₂ INCUBATORS) (N=3)

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเซลล์มีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวน หรือที่เรียกว่า cell proliferation จากนั้นเซลล์ก็จะเริ่มมีการพัฒนาเกิดการเปลี่ยนแปลงเข้าสู่คุณลักษณะที่สมบูรณ์ของเซลล์นั้น ๆ เช่น ขนาดใหญ่ขึ้น มีรูปร่างตามลักษณะเต็มวัย (mature cells) แสดงดังภาพประกอบ 48 ถึง 51

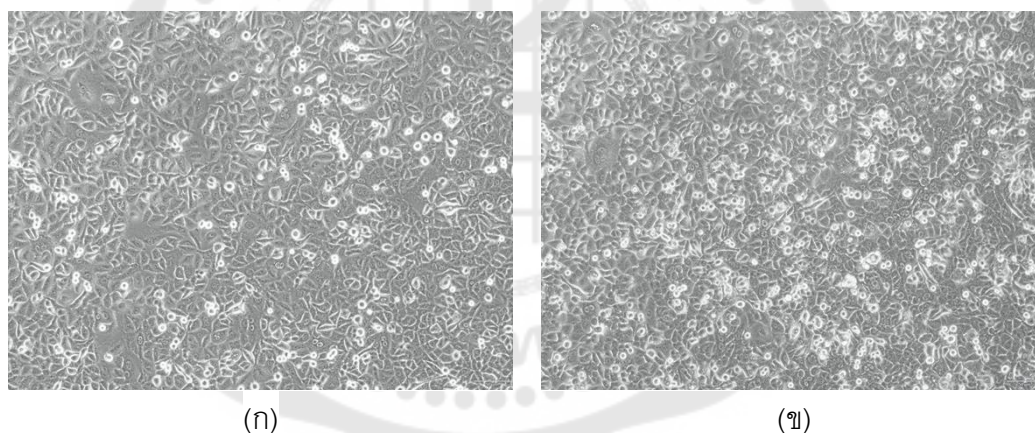
จากภาพประกอบ 52 แสดงอัตราการเจริญเติบโตของ Lung cancer (A549 cells) ระหว่างตู้เพาะเลี้ยงเซลล์มาตรฐาน (STD CO₂ Incubators) และ ตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่ายที่นำเสนอ (DIY CO₂ Incubators) ซึ่งจำนวนของเซลล์ที่เจริญเติบโตขึ้นใกล้เคียงกันมากเป็นไปในทิศทางเดียวกัน โดยจำนวนของเซลล์แต่ละระยะเวลาการทดลองของแต่ละตู้ขึ้น เป็นไปตามตารางที่ 8 แสดงให้เห็นว่าตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่ายที่นำเสนอ (DIY CO₂ Incubators) สามารถเพาะเลี้ยงเซลล์ให้มีการเจริญเติบโตและการเพิ่มจำนวนของเซลล์ในสภาวะที่ปลอดภัย อุณหภูมิ ปริมาณก๊าซ CO₂ รวมไปถึงความชื้นสัมพัทธ์ภายในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่ายที่นำเสนอ (DIY CO₂ Incubators) เป็นไปตามเงื่อนไขของตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ตามมาตรฐานทั่วไป (STD CO₂ Incubators)

ตาราง 8 จำนวนเซลล์จากตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ตามมาตรฐาน (STD CO₂ Incubator) และตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่าย (DIY CO₂ Incubator)

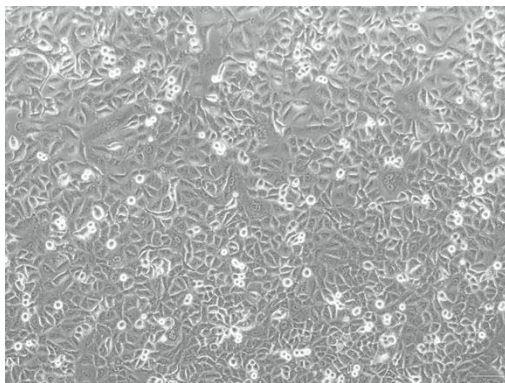
เวลา (ชั่วโมง)	CO ₂ Incubator	จำนวนเซลล์ (x10 ⁴ /mL)						Mean	SD
		ครั้งที่ 1		ครั้งที่ 2		ครั้งที่ 3			
		กลุ่ม1	กลุ่ม 2	กลุ่ม1	กลุ่ม 2	กลุ่ม1	กลุ่ม 2		
0	STD	5	5	5	5	5	5	5.00	0.00
	DIY	5	5	5	5	5	5	5.00	0.00
12	STD	11	17	21	13	11	13	14.33	3.93
	DIY	16	16	20	9	13	15	14.83	3.66
24	STD	31	31	36	26	24	26	29.00	4.47
	DIY	26	34	29	26	24	26	27.50	3.56
36	STD	46	35	54	36	39	44	42.33	7.17
	DIY	47	44	40	40	41	36	41.33	3.78
48	STD	60	57	73	49	66	72	62.83	9.28
	DIY	53	61	58	66	59	67	60.67	5.24

3 ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลองการศึกษาสนามไฟฟ้าสถิตกับ A549 cells

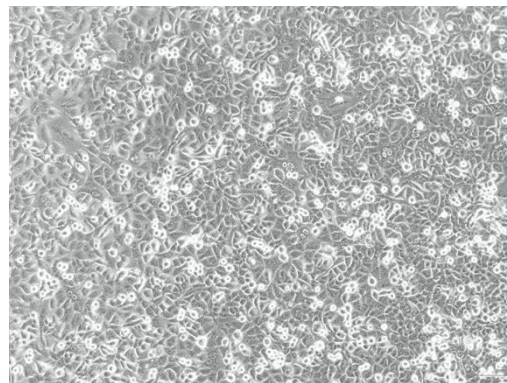
จากการทดลองให้สนามไฟฟ้าสถิตอย่างต่อเนื่องกับ A549 cells เลี้ยงในอาหาร DMEM + 10% FBS เริ่มต้นที่ 1.5×10^5 เซลล์/หลุม ใน 24-well plate การทดลองถูกวิเคราะห์โดยการให้สนามไฟฟ้าสถิตกับเซลล์อย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 4 และ 8 ชั่วโมง ทั้ง 2 เวลาการทดลองนี้นำไปเปรียบเทียบกับเซลล์ที่ไม่ได้สัมผัสกับสนามไฟฟ้าสถิต (Non-treated) ดูการเปลี่ยนแปลงการเจริญเติบโตของเซลล์โดยการถ่ายรูปด้วยกล้องจุลทรรศน์ แสดงดังภาพประกอบ 53-55 จะเห็นได้ว่าเซลล์มีการเรียงตัวเป็นชั้นเดียวมีปริมาณความหนาแน่นของเซลล์ค่อนข้างสูงถึง 90% บนจานเพาะเลี้ยงทุก plate การทดลอง เนื่องจากปริมาณเริ่มต้นของเซลล์ก่อนทดลองด้วยสนามไฟฟ้าค่อนข้างสูงเพื่อต้องการให้สนามไฟฟ้าสถิตสามารถสัมผัสการพื้นที่ของเซลล์ที่อยู่บน plate ให้ได้มากที่สุด จากการทดลองเราได้ใช้ A549 cells ในการ treat ซึ่งเป็นเซลล์เกาะแต่ จากรูป 53-55 จะเห็นได้ว่าเซลล์ที่หลุดจากกัน plate จะลอยขึ้นมาเหนือกว่าชั้นล่างมีลักษณะเป็นสีขาวขุ่นนั่นคือเซลล์ที่ตายแล้วนั่นเอง



ภาพประกอบ 53 LUNG CANCER (A549 CELLS) เลี้ยงในอาหาร DMEM CONTAINING 10% FBS หลังจากที่ทำกรทดสอบด้วย DC ELECTRIC FIELD ตลอด 4 ชั่วโมง (ก) NON-TREAT (ข) 17.4 KV/M (4 H)

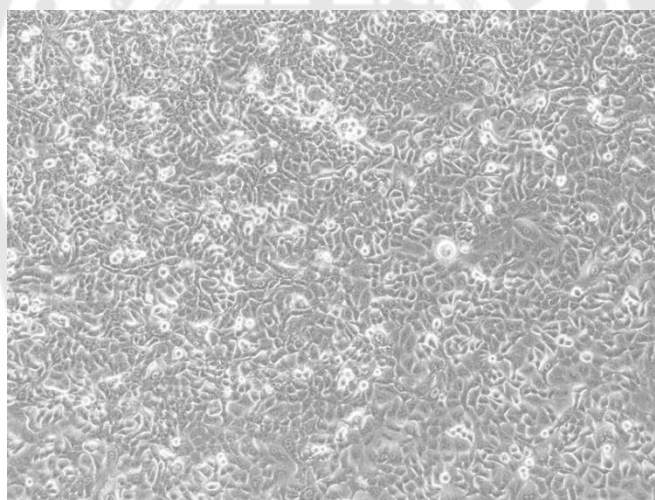


(ก)

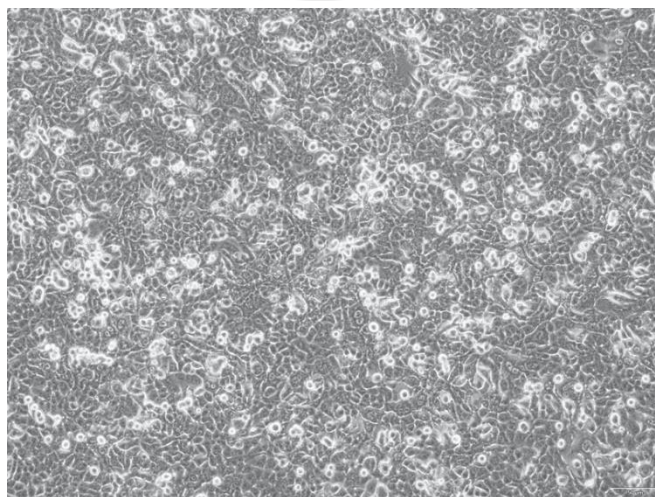


(ข)

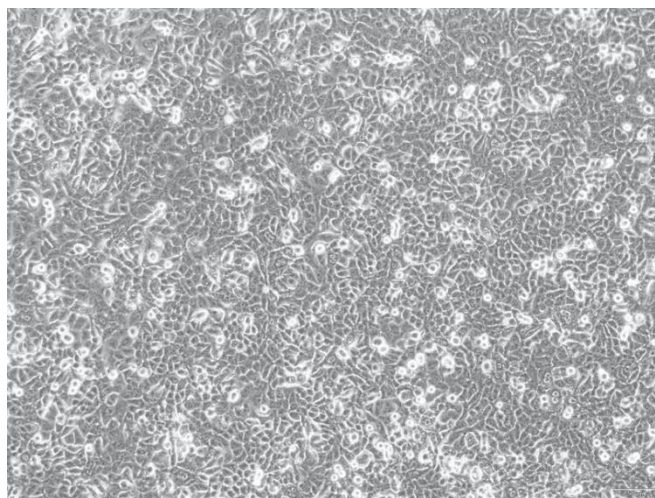
ภาพประกอบ 54 LUNG CANCER (A549 CELLS) เลี้ยงในอาหาร DMEM
CONTAINING 10% FBS ที่ทำการทดสอบด้วย DC ELECTRIC FIELD ตลอด 8
ชั่วโมง (ก) NON-TREAT (ข) 17.4 KV/M (8 H)



(ก)



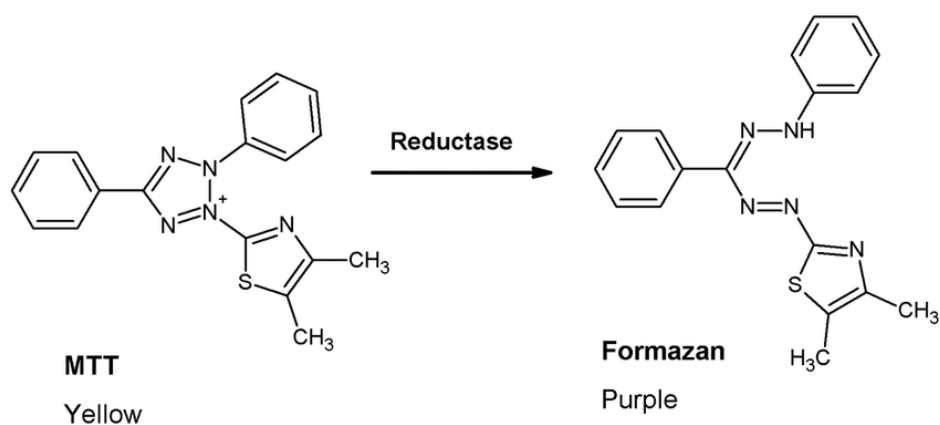
(ข)



(ค)

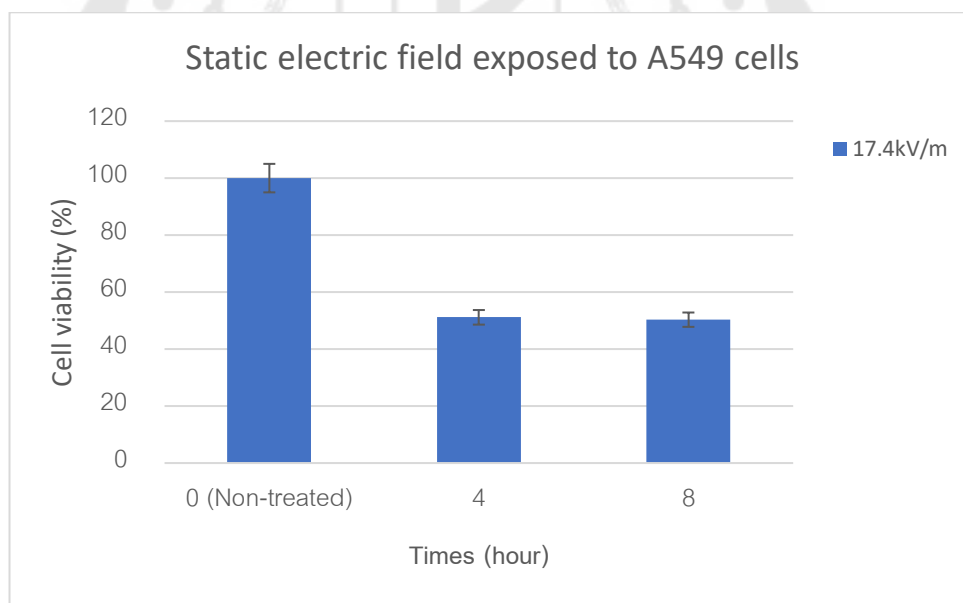
ภาพประกอบ 55 LUNG CANCER (A549 CELLS) เลี้ยงในอาหาร DMEM
CONTAINING 10% FBS หลังจาก INCUBATE OVERNIGHT (ก) NON-TREAT (ข)
17.4 KV/M (4 H) (ค) 17.4 KV/M (8 H)

การวิเคราะห์เซลล์หลังจากที่ treat ด้วยสนามไฟฟ้าสถิต 17.4 kV/m เป็นเวลา 4 และ 8 ชั่วโมง แล้วนำเซลล์ไป incubate overnight ต่อ จากนั้นจะทำการวิเคราะห์ปริมาณของเซลล์ด้วยวิธี MTT assay เป็นวิธีที่บอกถึงปริมาณเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่ โดยอาศัยหลักการเปลี่ยนแปลงสี (colorimetric assay) จากสีเหลืองของ MTT เป็นผลึก formazan ที่มีสีม่วง โดยอาศัยปฏิกิริยาของเอนไซม์ mitochondrial reductase ซึ่งจะพบได้ในเซลล์ที่มีชีวิตเท่านั้น (Mosmann T; et al. 1983) โครงสร้าง MTT แสดงดังภาพประกอบ 45 สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสง OD 570 nm ได้ด้วยเครื่อง spectrophotometer นำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์ ซึ่งผลการทดลองสนามไฟฟ้าสถิตสัมผัสกับ A549 cells ที่ความเข้ม 17.4 kV/m แสดงดังภาพประกอบ 56 จะเห็นได้อย่างชัดเจนว่าเซลล์ที่ถูก treat ด้วยสนามไฟฟ้ามีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของ A549 cells ต่ำลงมากเมื่อเทียบกับ A549 cells ที่ไม่ได้ treat ด้วยสนามไฟฟ้า อย่างไรก็ตามผลการทดลองบ่งบอกว่าระยะเวลาในการ treat เซลล์ที่ 4 หรือ 8 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์แทบจะไม่ได้ต่างกันเลย แต่เมื่อเทียบกับ Non-treated เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์ต่ำกว่าอย่างเห็นได้ชัด เป็นไปตามตารางที่ 9



ภาพประกอบ 56 โครงสร้าง MTT [3-(4,5-DIMETHYL-2-THIAZOLYL)-2,5-DIPHENYL-2H-TETRAZOLIUM BROMIDE

ที่มา: Badr, M. (2012)

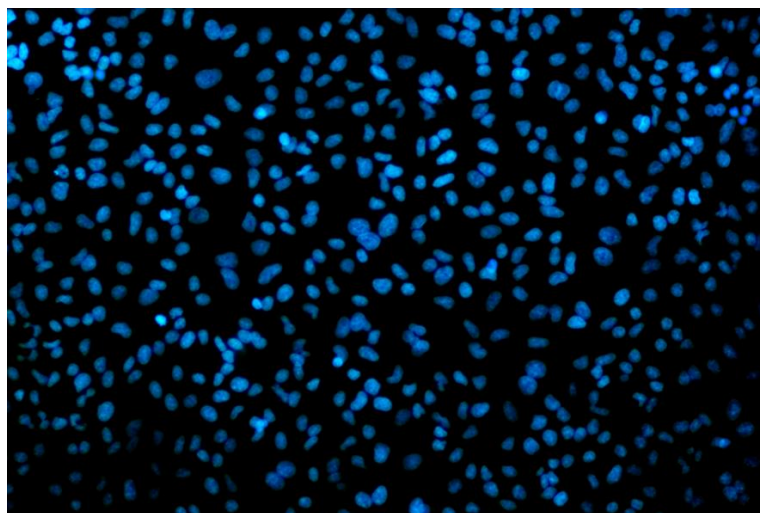


ภาพประกอบ 57 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของ LUNG CANCER (A549 CELLS)

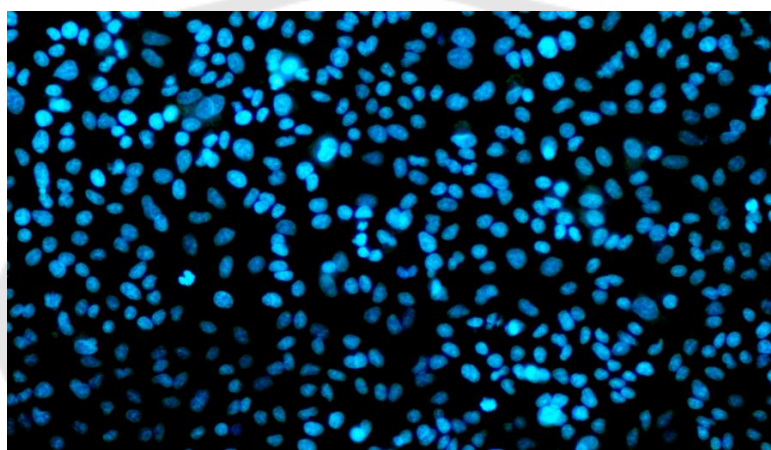
ตาราง 9 เปอร์เซนต์การรอดชีวิตของ A549 cells วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ OD 570 nm

เวลา (ชั่วโมง)	OD (570 nm) 17.4kV/m					Cell viability (%)
	กลุ่ม1	กลุ่ม2	กลุ่ม3	Mean	SD	
0	2.958	2.980	3.063	3.000	0.06	100
4	1.533	1.519	1.552	1.534	0.02	51.14
8	1.513	1.477	1.538	1.510	0.03	50.31

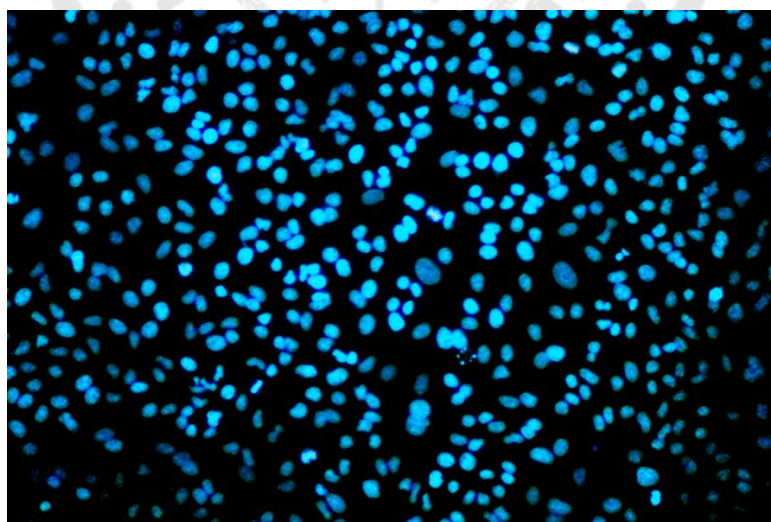
การวิเคราะห์ morphology cell โดยการย้อมสีแล้วนำไปส่องกล้อง Fluorescence microscope จากการทดลองที่เซลล์ถูก treat ด้วยสนามไฟฟ้าสถิตในระยะเวลา 4 และ 8 ชั่วโมง นำไปส่องกล้อง Fluorescence microscope หลักจาก incubate overnight เพื่อดูลักษณะของเซลล์ผลการทดลองที่ได้คือยังไม่สามารถระบุได้ชัดเจนว่าเซลล์มีการตายแบบ Necrosis หรือ Apoptosis เช่นเดียวกับการทดลองของเซลล์ที่ไม่ได้สัมผัสสนามไฟฟ้าสถิต (Non-treated) แสดงดังภาพประกอบที่ 58



(ก)



(ข)



(ค)

ภาพประกอบ 58 การย้อมสี LUNG CANCER (A549 CELLS) ผ่านกล้อง
FLUORESCENCE MICROSCOPE หลังจาก INCUBATE OVERNIGHT (ก) NON-
TREAT (ข) 17.4 KV/M (4 H) (ค) 17.4 KV/M (8 H)

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

ในการวิจัยเรื่องการศึกษาผลกระทบของสนามไฟฟ้าสถิตในเซลล์มนุษย์เพื่อศึกษาสนามไฟฟ้าสถิตที่ส่งผลกระทบต่อเซลล์มะเร็งปอดของมนุษย์รวมไปถึงการแสดงกลไกของเซลล์และโมเลกุลของเซลล์มะเร็งปอดที่ทำการทดลองเมื่อได้สัมผัสกับสนามไฟฟ้าสถิต หลังจากได้ผลการดำเนินงานแล้ว สามารถสรุปผลการทดลอง โดยแบ่งหัวข้อในการสรุปผลได้ดังต่อไปนี้

1 สรุปผลการประเมินประสิทธิภาพของตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่นำเสนอ DIY CO₂ Incubator

2 สรุปผลการวิจัยการทดลองสนามไฟฟ้าสถิตกับเซลล์มะเร็งปอด (A549 cells)

สรุปผลการประเมินประสิทธิภาพของตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่นำเสนอ DIY CO₂ Incubator

การออกแบบและทดสอบประสิทธิภาพการทำงานของตู้เพาะเลี้ยงเซลล์อย่างง่ายที่นำเสนอ DIY CO₂ Incubator จะทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพต้องอยู่ภายใต้เงื่อนไขนี้คือบรรยากาศภายในตู้ต้องมีอุณหภูมิและปริมาณก๊าซ CO₂ ที่ 37 องศาเซลเซียสและ 5% (50,000 ppm) ตามลำดับ รวมไปถึงความชื้นสัมพัทธ์ต้องมีภายในตู้ด้วย เป็นสภาวะที่เซลล์สามารถเจริญเติบโตได้ ผลการทดลองเลี้ยงเซลล์ A549 cells ของตู้ DIY CO₂ Incubator ถูกเทียบกับการเลี้ยงเซลล์ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ตามมาตรฐาน (STD CO₂ Incubator) อัตราการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งปอดที่ได้จากผลการทดลองมีค่าใกล้เคียงกันมาก แสดงให้เห็นว่าสภาวะบรรยากาศภายในตู้ DIY CO₂ Incubator มีความชื้นสัมพัทธ์ อุณหภูมิและปริมาณก๊าซ CO₂ เป็นไปตามเงื่อนไขตู้ STD CO₂ Incubator และยังมีประสิทธิภาพในการทำงานได้ดีเทียบเท่ากับตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ตามมาตรฐานยิ่งไปกว่านั้นต้นทุนการผลิตตู้ DIY CO₂ Incubator ยังต่ำกว่าราคาตู้ STD CO₂ Incubator ตามท้องตลาดอีกด้วย

สรุปผลการวิจัยการทดลองสนามไฟฟ้าสถิตกับเซลล์มะเร็งปอด (A549 cells)

การทดลองสนามไฟฟ้าสถิตกับ A549 cells ใช้ความเข้มสนามไฟฟ้าค่อนข้างสูงที่ 15 kV/m เนื่องจากพิจารณาความเข้มสนามไฟฟ้าที่มาจาก HVDC transmission lines แต่เนื่องจากข้อจำกัดของอุปกรณ์ผลิตสนามไฟฟ้าสถิตสามารถผลิตสนามไฟฟ้าสถิตที่ความเข้มสนามไฟฟ้าใกล้เคียงอยู่ที่ 17.4 kV/m จึงนำค่านี้มาใช้ในการทดลองแทน ซึ่งในการทดลองนี้ใช้สนามไฟฟ้าที่ 17.4 kV/m เป็นเวลา 4 และ 8 ชั่วโมงในการ treat สนามไฟฟ้าสถิตกับเซลล์อย่างต่อเนื่อง การ

ทดลองใช้ A549 cells เลี้ยงในอาหาร DMEM + 10% FBS เริ่มต้นที่ 1.5×10^5 เซลล์/หลุม ใน 24-well plate ถูกสัมผัสกับสนามไฟฟ้าสถิตเทียบกับ เซลล์ที่เลี้ยงตามปกติภายในเงื่อนไขจำนวนเซลล์และระยะเวลา incubate ที่เท่ากัน สามารถวิเคราะห์ปริมาณเซลล์ที่ยังมีชีวิตโดยวิธี MTT assay โดยวัดค่าการดูดกลืนแสง OD 570 nm ด้วยเครื่อง spectrophotometer นำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์ผลการทดลองสรุปได้ว่า เซลล์ที่ถูก treat ด้วยสนามไฟฟ้ามีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของ A549 cells ต่ำลงมากเมื่อเทียบกับ A549 cells ที่ไม่ได้ treat ด้วยสนามไฟฟ้า ผลการทดลองยังสามารถสรุปได้อีกว่า ไม่ว่าระยะเวลาในการ treat เซลล์ที่ 4 หรือ 8 ชั่วโมงก็ตาม เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์แทบจะไม่ต่างกันเลย แต่เมื่อเทียบกับ Non-treated เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์ต่ำกว่าอย่างเห็นได้ชัด รวมไปถึงการวิเคราะห์รูปร่าง ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology cell) จากการย้อมสีเซลล์แล้วส่องด้วยกล้อง Fluorescence microscope ผลการทดลองที่ออกมายังไม่สามารถสรุปได้ว่าเซลล์ที่ถูก treat ด้วยสนามไฟฟ้าสถิตมีการตายแบบ necrosis หรือ apoptosis โดยทั่วไปหากเซลล์มีการตายด้วยกระบวนการ necrosis เซลล์จะบวมใหญ่ขึ้นและแตกออก ในขณะที่เซลล์ที่ตายด้วยกระบวนการ apoptosis ขนาดเซลล์อาจจะหดลงและมีการแตกของดีเอ็นเอ รวมถึงการแตกของเซลล์ออกเป็น apoptotic bodies หรือชิ้นส่วนเล็กๆ ที่หุ้มดีเอ็นเอที่แตกหักและออร์แกเนลอื่นๆ ไว้ด้านใน อย่างไรก็ตาม ผลการทดลองที่ได้ ไม่พบลักษณะดังกล่าว ลักษณะของนิวเคลียสที่ติดสียังเป็นลักษณะวงรี ไม่มีการแตกเป็นชิ้นเล็กๆ ซึ่งมีความเป็นไปได้ว่าเซลล์อาจจะมีการหยุดการเจริญและการแบ่งตัว หรือที่เรียกว่า cell cycle arrest ซึ่งยังคงต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไปเพื่อแสดงให้เห็นถึงกลไกของเซลล์และโมเลกุลที่นำไปสู่ข้อมูลที่จะละเอียดมากยิ่งขึ้น

ข้อเสนอแนะ

จากการที่ผู้วิจัยได้ทำการทดลอง ทำให้มีข้อเสนอแนะที่ได้ซึ่งผลการทดลองที่มีประสิทธิภาพและน่าเชื่อถือมากยิ่งขึ้น ได้แก่

1 เซลล์ที่นำมาทดลองกับสนามไฟฟ้าสถิตควรเป็นเซลล์ปกติ (normal cell) และเซลล์มะเร็ง (cancer cells) เพื่อดูถึงความแตกต่างของทั้ง 2 ชนิดเพราะแต่ละเซลล์ก็มีความแข็งแรงและคุณสมบัติที่ต่างกันออกไป

2 ระยะเวลาและความเข้มข้นของสนามไฟฟ้าสถิตในการทดลอง treat สนามไฟฟ้าสถิตกับเซลล์ควรเลือกช่วงเวลาและความเข้มข้นสนามไฟฟ้าให้มีความหลากหลายและ ถี่มากกว่านี้ เพราะจะทำให้การทดลองละเอียดและเกิดประสิทธิภาพมากขึ้น

3 ควรศึกษาทฤษฎีและวิธีการทดสอบเซลล์ให้เหมาะสมกับจุดประสงค์ของการทดลองเพื่อให้ได้ข้อมูลการทดลองที่มีประสิทธิภาพ

4 การทดลองควรมีการทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้งเพื่อเพิ่มความน่าเชื่อถือของข้อมูลมากยิ่งขึ้น

5 เมื่อผลที่ได้จากการทดลอง เกิดขัดแย้งกับทฤษฎี ควรทำความเข้าใจกับเนื้อหาทฤษฎีนั้น ๆ รวมไปถึงศึกษาเพิ่มเติม เพื่อใช้เป็นข้อมูลและรองรับผลที่ได้จากการทดลองต่อไป

6 ค่าสนามไฟฟ้าที่ได้จากการคำนวณควรมีการทดลองวัดเพิ่มเติมเพื่อยืนยันว่าสนามไฟฟ้าที่นำมาใช้ในการทดลองมีความแม่นยำเที่ยงตรง และมีความน่าเชื่อถือ



บรรณานุกรม

- (NEPC), t. N. E. P. C. (2015). *Thailand Power Development Plan 2015-2036*.
<http://www.eppo.go.th/images/Power/pdf/Malaysia.pdf>.
- Agency, E. M. (Jan 11, 2007). Guideline on Human Cell-Based Medicinal. In (pp. 1-24). London.
- Ahlbom, A., Bergqvist, U., Bernhardt, J. H., Cesarini, J. P., Court, L. A., Grandolfo, M., . . . Matthes, R. (1998). Guidelines for limiting exposure to time-varying electric, magnetic, and electromagnetic fields (up to 300 GHz). *Health Physics*, 74(4), 494-521.
- Arrillaga, J., และ Arrillaga, J. (1998). *High voltage direct current transmission* (29): let. ATCC, A. T. C. C. A549 (ATCC® CCL-185™). <https://www.atcc.org/products/all/CCL-185.aspx>
- Bailey, W. H., Weil, D. E., และ Stewart, J. R. (1997). *HVDC power transmission environmental issues review*.
- Banks, T., Luckman, P., Frith, J., และ Cooper-White, J. (2015). Effects of electric fields on human mesenchymal stem cell behaviour and morphology using a novel multichannel device. *Integrative Biology*, 7(6), 693-712.
- Barker, A., Jaffe, L., และ Vanable Jr, J. (1982). The glabrous epidermis of cavies contains a powerful battery. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 242(3), R358-R366.
- Barron, C., และ Dreher, J. (1964). EFFECTS OF ELECTRIC FIELDS AND NEGATIVE ION CONCENTRATIONS ON TEST PILOTS. *Aerospace medicine*, 35, 20-23.
- Barry, F. P., และ Murphy, J. M. (2004). Mesenchymal stem cells: clinical applications and biological characterization. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 36(4), 568-584.
- Biocompare. (1999). Centrifuge Retrieved from <https://www.biocompare.com/Lab-Equipment/Laboratory-Centrifuges/#targetText=A%20centrifuge%20is%20a%20laboratory,the%20outside%20of%20the%20vessel>.
- Blondin, J. P., Nguyen, D. H., Sbeghen, J., Goulet, D., Cardinal, C., Maruvada, P. S., . . .

- Bailey, W. H. (1996). Human perception of electric fields and ion currents associated with high-voltage DC transmission lines. *Bioelectromagnetics*, 17(3), 230-241.
- Branch, N. F. P. P. (2014). <http://www.ppa.egat.co.th/fppdx/index.php/g2g/malaysia>
- Cassiano, O. T., S; Carto, Q. (1965). *Electric field: some neurovegetative respond in man*
Paper presented at the Clinical Research.
- Chong, J., Zhang, J., Xie, H., Song, X., Liu, G., Battaglia, V., . . . Wang, R. (2016). High performance LiNi_{0.5}Mn_{1.5}O₄ cathode material with a bi-functional coating for lithium ion batteries. *RSC Adv.*, 6.
- Co, G. S. (2019). Hemocytometer. Retrieved from <https://www.amazon.com/Gizmo-Supply-Professional-Neubauer-Hemocytometer/dp/B0161S0IRY#feature-bullets-btf>
- Coronado, L. M., Montealegre, S., Chaverra, Z., Mojica, L., Espinosa, C., Almanza, A., . . . Spadafora, C. (2016). Blood Stage Plasmodium falciparum Exhibits Biological Responses to Direct Current Electric Fields. *PLoS ONE*, 11(8), e0161207.
- Coulter, B. (2000). Flow Cytometers.
- Cummings, B. (2001). Plant Cell. Retrieved from <https://sites.google.com/a/asu.edu/the-almighty-cell/the-source/plant-cell>
- eMedicalPrep. (2010). Cell Cycle. Retrieved from <https://www.emedicalprep.com/study-material/biology/cell-structure-functions/cell-cycle-cell-division/>
- Fidan M., C. C., Coban M., Cetinkaya A., Kilinc E. (2019). In vitro effects of direct and alternate electric fields on Saos-2 cell line. *WCRJ*, 6, e1287.
- FIELDS, A. T. E. (2012). Electromagnetic hypersensitivity.
- Ge, J., Gong, Z., Chen, J., Liu, J., Nguyen, J., Yang, Z., . . . Sun, Y. (2014). A System for Counting Fetal and Maternal Red Blood Cells. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 61(12), 2823-2829.
- Griffin, M., Iqbal, S. A., Sebastian, A., Colthurst, J., และ Bayat, A. (2011). Degenerate wave and capacitive coupling increase human MSC invasion and proliferation while reducing cytotoxicity in an in vitro wound healing model. *PLoS ONE*, 6(8).
- Halpenny, M. (2011). Determining the Quality and Sterility of Stem Cell Products:

Pretrans- plant Testing of Stem Cell Products for Human Transplantation.

www.cbmtg.org/~ASSETS/DOCUMENT/Guide/CBMTG%20Review_Laboratory%20QC_1.pdf

Hammerick, K. E., Longaker, M. T., และ Prinz, F. B. (2010). In vitro effects of direct current electric fields on adipose-derived stromal cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 397(1), 12-17.

Haupt, R. C., และ Nolfi, J. R. (1984). The effects of high voltage transmission lines on the health of adjacent resident populations. *American journal of public health*, 74(1), 76-78.

Hewes, J. (2006). The Electronics Club. www.kpsec.freeuk.com/acdc.html

Humans, I. W. G. o. t. E. o. C. R. t. (2002). Non-ionizing radiation, Part 1: static and extremely low-frequency (ELF) electric and magnetic fields. *IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans*, 80, 1.

Invitrogen, G. (2014). Cell culture basics. *Life technologies*.

Johnson, G. B. (1983). Electric Fields and Ion Currents of a ± 400 kV HVDC Test Line. *IEEE Transactions on Power Apparatus and Systems*, PAS-102(8), 2559-2568.

Jones, F. (1974). *The effect of a positive electric field on the behavior of emotionally disturbed children*. University of Kansas

University of Kansas

(75-6137)

Kodoori, A. (2018). Autoclave.

Krivova, T. L., VV; Uakubenko, AV. (1973) Effect of DC electrical field on the human organism. In: Protection from action of electromagnetic fields and electric current in industry. In. *All-Union Central Scientific Research Institute of work safety*. Moscoow.

Leitgeb, N. (2014). Limiting electric fields of HVDC overhead power lines. *Radiation and environmental biophysics*, 53(2), 461-468.

Levallois, P. (2002). Hypersensitivity of human subjects to environmental electric and magnetic field exposure: a review of the literature. *Environmental Health Perspectives*, 110(Suppl 4), 613-618.

Li, F., Chen, T., Hu, S., Lin, J., Hu, R., และ Feng, H. (2013). Superoxide mediates direct

- current electric field-induced directional migration of glioma cells through the activation of AKT and ERK. *PLoS ONE*, 8(4).
- Li, Y., Xu, T., Chen, X., Lin, S., Cho, M., Sun, D., และ Yang, M. (2017). Effects of direct current electric fields on lung cancer cell electrotaxis in a PMMA-based microfluidic device. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 409(8), 2163-2178.
- Li, Y., Xu, T., Zou, H., Chen, X., Sun, D., และ Yang, M. (2017). Cell migration microfluidics for electrotaxis-based heterogeneity study of lung cancer cells. *Biosensors and Bioelectronics*, 89, 837-845.
- LIMITED, F. N. (1981). LAMINAR FLOW HOOD. Retrieved from
- LIMITED, F. N. (2015). MICROSCOPE. Retrieved from <https://finlabnigeria.com/product/microscope-inverted/>
- Lin, Q., Dong, L., Xu, Y., และ Di, G. (2018). Studies on effects of static electric field exposure on liver in mice. *Scientific reports*, 8(1), 1-9.
- Louis, K. S., และ Siegel, A. C. (2011). Cell viability analysis using trypan blue: manual and automated methods *Mammalian cell viability* (7-12): Springer.
- Ltd, M. S. C. (2019). Cell Culture Flask Retrieved from <https://www.medical-supply.ie/product/collagen-type-i-coated-cell-culture-flask-with-plug-capps-75cm2-sterile-to-sal10-6-5-10-case/>
- Luke's, S. Lung Anatomy. <https://www.saintlukeskc.org/health-library/lung-anatomy>
- Maruvada, P. S. (2012). Electric Field and Ion Current Environment of HVdc Transmission Lines: Comparison of Calculations and Measurements. *IEEE Transactions on Power Delivery*, 27(1), 401-410.
- Matthes, R., Vecchia, P., McKinlay, A. F., Veyret, B., และ Bernhardt, J. H. (2003). *Exposure to Static and Low Frequency Electromagnetic Fields, Biological Effects and Health Consequences (0-100 kHz), Review of the Scientific Evidence on Dosimetry, Biological Effects, Epidemiological Observations and Health Consequences Concerning Exposure to Static and Low Frequency Electromagnetic Fields (0-100 kHz)*, ICNIRP 13/2003.
- Medical Devices and Limulus Amebocyte Lysate (LAL) Testing. (2012). <http://qualityalchemist.blogspot.com/2008/03/medical-devices-and-limulus-amebocyte.html>

- Mi, Y., Xu, J., Yao, C., Li, C., and Liu, H. (2019). Electroporation modeling of a single cell exposed to high-frequency nanosecond pulse bursts. *IEEE Transactions on Dielectrics and Electrical Insulation*, 26(2), 461-468.
- Mild, K. H., Repacholi, M. H., Deventer, E. v., and Organization, W. H. (2006). Electromagnetic hypersensitivity: proceedings, International Workshop on Electromagnetic Field Hypersensitivity, Prague, Czech Republic, October 25-27, 2004.
- Min, Z., Bing, S., Jin, P., Teiji, W., Brian, R., Guangping, T., . . . Josef, M. P. (2006). Electrical signals control wound healing through phosphatidylinositol-3-OH kinase- γ and PTEN. *Nature*, 442(7101), 457.
- Mobini, S., Leppik, L., Thottakkattumana Parameswaran, V., and Barker, J. H. (2017). effect of direct current electrical stimulation on rat mesenchymal stem cells. *PeerJ*, 5(1), e2821.
- Naskar, S., Kumaran, V., Markandeya, Y. S., Mehta, B., and Basu, B. (2020). Neurogenesis-on-Chip: Electric field modulated transdifferentiation of human mesenchymal stem cell and mouse muscle precursor cell coculture. *Biomaterials*, 226, 119522.
- Noosuk, A., Mermork, T., Semjan, A., Rahman, M. S., Dawood, A. R., Ismail, S. B., . . . Atmuri, S. R. (2002, 6-10 Oct. 2002). *Commissioning experience of the 300 MW Thailand-Malaysia Interconnection project*. Paper presented at the IEEE/PES Transmission and Distribution Conference and Exhibition.
- Nunchuen, S., Halapee, J., and Tarateeraseth, V. (2019, 10-13 July 2019). *Electric Field Minimization using Optimal Phase Arrangement Techniques for MEA Overhead Power Transmission Lines*. Paper presented at the 2019 16th International Conference on Electrical Engineering/Electronics, Computer, Telecommunications and Information Technology (ECTI-CON).
- Organization, W. H. (2006). Environmental health criteria 232. Static fields. *World Health Organization: Geneva, Switzerland*.
- Parsons, S.). LIVING WITH ELECTROHYPERSENSITIVITY.
- Pelling, A. (2014). DIY CO2 Incubator Bioreactor for Mammalian Cell Culture. <https://www.pellinglab.net/post/diy-co2-incubator-bioreactor-for->

[mammalian-cell-culture](#)

- Petri, A. K., Schmiedchen, K., Stunder, D., Dechent, D., Kraus, T., Bailey, W. H., และ Driessen, S. (2017). Biological effects of exposure to static electric fields in humans and vertebrates: a systematic review. *Environ Health*, 16(1), 41.
- Physics, k., add. (2012). Electro statics. Retrieved from <https://physicskruadd.wordpress.com/2012/03/12/%E0%B8%AA%E0%B8%99%E0%B8%B2%E0%B8%A1%E0%B9%84%E0%B8%9F%E0%B8%9F%E0%B9%89%E0%B8%B2-electric-field/>
- Prado, M. E. (1999-2018). Electricity in Thailand. <https://www.thailandguru.com/electricity-220volts-thailand.html>
- Priante, G., Giancesello, L., Ceol, M., Del Prete, D., และ Anglani, F. (2019). Cell Death in the Kidney. *International journal of molecular sciences*, 20(14), 3598.
- Radiation, A. G. o. N.-i. (1994). *Health effects related to the use of visual display units*: NRPB.
- Rohde, M., Ziebart, J., Kirschstein, T., Sellmann, T., Porath, K., Kühl, F., . . . Bader, R. (2019). Human Osteoblast Migration in DC Electrical Fields Depends on Store Operated Ca²⁺-Release and Is Correlated to Upregulation of Stretch-Activated TRPM7 Channels. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7.
- S. Nunchuen, N. T., K. Pratieepkiri. (2016). *A study of magnetic and electric fields generated by MEA transmission underground cable*. Srinakharinwirot university, Bangkok. (bachelor degree(Electrical Engineering)).
- S. Sakdhnagool; C. H. Wong; C. Bartzsch, E. L., K. Sadek.). 300 MW HVDC Interconnection between Thailand and Malaysia. *Power Transmission and Distribution High Voltage Division*
- Saikia, J., Pandey, G., Sasidharan, S., Antony, F., Nemade, H., Chaudhary, N., และ Ramakrishnan, V. (2019). Electric Field Disrupts Amyloid Aggregation; Potential Non-invasive Therapy for Alzheimer's Disease. *ACS Chemical Neuroscience*, 10.
- Sano, M. B., Volotskova, O., และ Xing, L. (2018). Treatment of Cancer In Vitro Using Radiation and High-Frequency Bursts of Submicrosecond Electrical Pulses. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 65(4), 928-935.
- Sarkar, A., Kobylkevich, B., Graham, D., และ Messerli, M. (2019). Electromigration of cell

- surface macromolecules in DC electric fields during cell polarization and galvanotaxis. *Journal of Theoretical Biology*, 478.
- Sato, N., Yao, J., Sugawara, M., และ Takei, M. (2019). Numerical Study of Particle-Fluid Flow Under AC Electrokinetics in Electrode-Multilayered Microfluidic Device. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 66(2), 453-463.
- Scientific, T. F. (2016a). CO2 Incubator. Retrieved from <https://www.thermofisher.com/search/results?query=CO2%20Incubator&focusarea=Search%20All>
- Scientific, T. F. (2016b). Pipettes.
- Shetty, V. (2016). Stage of Meiosis Retrieved from <https://www.scienceabc.com/nature/mitosis-vs-meiosis-how-does-cell-division-work.html>
- Sillapawicharn, Y. (2011). High Voltage Direct Current Power Transmissions. http://www.thailandindustry.com/indust_newweb/articles_preview.php?cid=12923
- Soncin, S., Cicero, V. L., Astori, G., Soldati, G., Gola, M., Sürder, D., และ Moccetti, T. (2009). A practical approach for the validation of sterility, endotoxin and potency testing of bone marrow mononucleated cells used in cardiac regeneration in compliance with good manufacturing practice. *Journal of Translational Medicine*, 7(1), 78.
- Song, B., Zhao, M., Forrester, J. V., และ McCaig, C. D. (2002). Electrical cues regulate the orientation and frequency of cell division and the rate of wound healing in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(21), 13577-13582.
- Song, L., Wu, X., Li, N., และ Deng, C. (2012). Analysis on control index of total electric field for DC transmission line. *Gaodiyana Jishu/ High Voltage Engineering*, 38(11), 2843-2847.
- Stacey, G. N., และ Auerbach, J. M. (2007). *Quality control procedures for stem cell lines*: John Wiley & Sons, NJ, USA.
- Support, M. C. (2020). What is cancer? <https://www.macmillan.org.uk/cancer-information-and-support/worried-about-cancer/what-is-cancer>
- Team, P. M. (2018). Lung Cancer: The Facts.

Thailand, A.). คุณภาพไฟฟ้า. 60 ปีของ HVDC.

Thailand, E. G. A. o. (2003). 300 MW THAILAND – MALAYSIA HVDC INTERCONNECTION SYSTEM.

<https://web.archive.org/web/20050404050500/http://www.egat.co.th/hvdc/INTRODUCTION.HTML>

Thailand, E. G. A. o. (2013). EGAT's high-voltage transmission system

https://www.egat.co.th/en/index.php?option=com_content&view=article&id=426:transmission-system-artery-of-electric-power-transmitting-happiness-throughout-the-country&catid=23&Itemid=203

Uncategorized. (2011a). Cell division-Meiosis. Retrieved from

<https://b40p47a33j38.wordpress.com/%E0%B8%81%E0%B8%B2%E0%B8%A3%E0%B9%81%E0%B8%9A%E0%B9%88%E0%B8%87%E0%B9%80%E0%B8%8B%E0%B8%A5%E0%B8%A5%E0%B9%8C/>

Uncategorized. (2011b). Cell division-Mitosis.

Uncategorized. (2011c). การแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส (mitosis). Retrieved from

<https://b40p47a33j38.wordpress.com/%e0%b8%81%e0%b8%b2%e0%b8%a3%e0%b9%81%e0%b8%9a%e0%b9%88%e0%b8%87%e0%b9%80%e0%b8%8b%e0%b8%a5%e0%b8%a5%e0%b9%8c/%e0%b9%81%e0%b8%9a%e0%b8%9a%e0%b9%84%e0%b8%a1%e0%b9%82%e0%b8%97%e0%b8%8b%e0%b8%b5%e0%b8%aa-mitosis/>

Wu, D., Ma, X., และ Lin, F. (2013). DC electric fields direct breast cancer cell migration, induce EGFR polarization, and increase the intracellular level of calcium ions. *Cell biochemistry and biophysics*, 67(3), 1115-1125.

Wu, S., Di, G., และ Li, Z. (2017). Does static electric field from ultra-high voltage direct-current transmission lines affect male reproductive capacity? Evidence from a laboratory study on male mice. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(22), 18025-18034.

Xinxiang Pan Chao Instruments Co., L. (2018). Liquid Nitrogen Tank.

Xu, Y., Gu, X., และ Di, G. (2018). Duration-dependent effect of exposure to static electric field on learning and memory ability in mice. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(24), 23864-23874.

- Yoonjae, L., และ Mittra, R. (2002). Electromagnetic interference mitigation by using a spread-spectrum approach. *IEEE Transactions on Electromagnetic Compatibility*, 44(2), 380-385.
- Zhang, J., Calafiore, M., Zeng, Q., Zhang, X., Huang, Y., Li, R. A., . . . Zhao, M. (2011). Electrically guiding migration of human induced pluripotent stem cells. *Stem Cell Reviews and Reports*, 7(4), 987-996.
- Zhao, H., Steiger, A., Nohner, M., และ Ye, H. (2015). Specific Intensity Direct Current (DC) Electric Field Improves Neural Stem Cell Migration and Enhances Differentiation towards [beta]III-Tubulin+ Neurons. *PLoS ONE*, 10(6).
- Zurich. (2016). ABB wins orders of over \$300 million for world's first 1,100 kV UHVDC power link in China. <https://new.abb.com/news/detail/13922/abb-wins-orders-of-over-300-million-for-worlds-first-1100-kv-uhvdc-power-link-in-china>
- กระทรวงสาธารณสุข, ส. ก. (2013). แนวทางการควบคุมคุณภาพ ผลิตภัณฑ์ต้นกำเนิดสำเร็จรูปทางห้องปฏิบัติการ. บริษัท FULL FORES จำกัด: สถาบันชีววัตถุ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข
<http://dmisc2.dmisc.moph.go.th/webroot/Biology/biop/qcstemcell02.pdf>.
- รัตนาเกียรติ, ผ. ด. ส.). *Animal cell culture and plant tissue culture*.
[http://kpi.msu.ac.th/upload/ag_tor_ref_byval/ag_16_in_1.2.7_43\(2559\).pdf](http://kpi.msu.ac.th/upload/ag_tor_ref_byval/ag_16_in_1.2.7_43(2559).pdf)
- ศรจิตติ, น. ส. ศ. ๒. (2011). พื้นฐานเซลล์ต้นกำเนิด <http://www.vcharkarn.com/varticle/18516>
- สถาบันวัคซีนแห่งชาติ. (2019). *Culture Technique and Upstream Technology for Vaccine*. สถาบันวัคซีนแห่งชาติ: สถาบันวัคซีนแห่งชาติ กระทรวงสาธารณสุข.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	สุธาสินี นุ่นขึ้น
วัน เดือน ปี เกิด	01 มกราคม 2537
สถานที่เกิด	นราธิวาส
วุฒิการศึกษา	พ.ศ. 2560 วศ.บ.(วิศวกรรมไฟฟ้า) มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ฯ
ที่อยู่ปัจจุบัน	37/415 อาคารB คอนโดบ้านสวนแจ้งวัฒนะ ซอยวัดเวฬุวนาราม 38 แขวงสีกัน เขตดอนเมือง กรุงเทพมหานคร 10210
ผลงานตีพิมพ์	2019: Electric Field Minimization using Optimal Phase Arrangement Techniques for MEA Overhead Power Transmission Lines 2019: Creating a simple CO2 incubator for studying the human cells 2020: Optimal phase arrangements of underground transmission lines installed by Metropolitan Electricity Authority of Thailand