

นิพนธ์ต้นฉบับ

เอนไซม์ฟอสฟาเทสในซีรัมของหญิงวัยหมดประจำเดือน*

สุปราณี คงภิญโญพานิชย์** , บุญพะเยาว์ เลาะห์จินดา**

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: เพื่อหาความแตกต่างของระดับเอนไซม์แอสิดฟอสฟาเทส (ACP) อัลคาไลน์ฟอสฟาเทส (ALP) และระดับของแคลเซียม ในซีรัมของหญิงวัยหมดประจำเดือน เปรียบเทียบกับหญิงวัยเจริญพันธุ์ เพื่อใช้เป็นตัวบ่งชี้ถึงการสลายของกระดูก

ตัวอย่างทดสอบ: ทำการศึกษาใน 3 กลุ่มตัวอย่างคือ หญิงวัยเจริญพันธุ์จำนวน 14 คน อายุระหว่าง 20-40 ปี หญิงวัยก่อนหมดประจำเดือนจำนวน 22 คน อายุระหว่าง 41-50 ปี และหญิงวัยหมดประจำเดือนจำนวน 42 คน อายุตั้งแต่ 51 ปีขึ้นไป

วิธีการ: วิเคราะห์ระดับเอนไซม์แอสิดฟอสฟาเทส โดยวิธี Bessey, Lowry and Brock ส่วนระดับเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเทสใช้วิธี Bowers and McComb และระดับของแคลเซียมใช้เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ (Abbott Spectrum CCx)

ผลการทดสอบ: ระดับเอนไซม์แอสิดฟอสฟาเทส และอัลคาไลน์ฟอสฟาเทส ในซีรัมของหญิงวัยเจริญพันธุ์ วัยก่อนหมดประจำเดือน และวัยหมดประจำเดือนมีค่า ($\bar{X} \pm S.D$) เท่ากับ 0.38 ± 0.057 BLB units / 50 \pm 12.13 U/L, 0.48 ± 0.10 BLB units / 58 ± 17.79 U/L, และ 0.61 ± 0.16 BLB units / 76 ± 25.65 U/L, ตามลำดับ ซึ่งระดับเอนไซม์แอสิดฟอสฟาเทส และอัลคาไลน์ฟอสฟาเทส ในหญิงวัยหมดประจำเดือนมีค่าเฉลี่ยสูงกว่าหญิงวัยเจริญพันธุ์อย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.005$ ส่วนค่าเฉลี่ยของแคลเซียมไม่มีความแตกต่างกันในทั้ง 3 กลุ่ม (8.5 ± 0.58 , 8.8 ± 0.81 , และ 8.5 ± 0.76 mg/dL ตามลำดับ)

สรุป: การตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงของสารที่หลังจากเซลล์กระดูกโดยเฉพาะเอนไซม์ฟอสฟาเทส สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ถึงการเปลี่ยนแปลงเมตาบอลิซึมของกระดูกได้

คำรหัส : ฟอสฟาเทส แคลเซียม วัยหมดประจำเดือน

* เป็นส่วนหนึ่งของภาคนิพนธ์วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เทคนิคการแพทย์) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2539-2540.

** ภาควิชาเคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Abstract : Phosphatases in Serum of Post-menopausal Women*

Kongpinyopanich S**, Lauhachinda B.**

Objective : To compare the activities of acid and alkaline phosphatases and also the calcium level in serum of post-menopausal women with the puberty and pre-menopausal women in order to indicate the osteoporosis.

Subjects : Three groups of women including; 14 of puberty women aged 20-40 years, 22 of pre-menopausal women aged 41-50 years and 42 of post-menopausal women aged over 50 years were studied.

Methods : Acid phosphatase activity was analyzed by the Bessey, Lowry and Brock method. Whereas, alkaline phosphatase activity was analyzed by the Bowers and McComb method. The serum calcium level was analyzed by an automatic analyzer (Abbott Spectrum CCx).

Results: The mean \pm S.D of acid and alkaline phosphatase activities in serum of puberty , premenopausal and post-menopausal women were found to be 0.38 ± 0.057 BLB units / 50 ± 12.13 U/L, 0.48 ± 0.10 BLB units / 58 ± 17.79 U/L, and 0.61 ± 0.16 BLB units / 76 ± 25.65 U/L, respectively. The mean values of both enzymes were significant higher in post-menopausal group compared to the puberty group ($p<0.005$). However, there was no significant difference of serum calcium (8.5 ± 0.58 , 8.8 ± 0.81 , and 8.5 ± 0.76 mg/dL) among those 3 groups.

Conclusion: The analysis of acid and alkaline phosphatase activities in serum, could be indicators for the metabolic changes of bone.

Key words: Phosphatase, calcium, post-menopause

* Term paper in partial fulfillment of the requirements for the degree of Bachelor of Science in Medical Technology (1996-1997), Chiang Mai University.

** Department of Clinical Chemistry, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University.

บทนำ

เมตาโบลิซึมของกระดูกสองกระบวนการ คือ การสร้างกระดูก ซึ่งอาศัยการทำงานของเซลล์กระดูกชนิด Osteoblast เพื่อสังเคราะห์และหลั่งสารอินทรีย์ต่างๆ เช่น คอลลาเจน ออสทีโอแคลซิน

อัลคาไลน์ฟอสฟาเทส (Alkaline phosphatase; ALP) เป็นต้น ส่วนการสลายกระดูก อาศัยการทำงานของเซลล์กระดูกชนิด Osteoclast ซึ่งจะหลั่งแอซิดฟอสฟาเทส (Acid phosphatase; ACP) โดยมีฮอว์โมนเอสโตรเจนควบคุมการสลายตัวของ

กระดูก ถ้าปริมาณของเอสโตรเจนลดลงจะพบการสลายตัวของกระดูกเพิ่มขึ้น

ผู้หญิงหลังหมดประจำเดือนหรือผู้หญิงที่ตัดรังไข่ทั้งสองข้าง ฮอร์โมนเพศก็คือเอสโตรเจนจะลดลงจึงเป็นสาเหตุของการมีการสลายตัวของกระดูกเพิ่มขึ้น ทำให้เกิดโรคกระดูกพรุนที่เรียกว่า "Postmenopausal osteoporosis" นอกจากนี้สาเหตุนี้แล้วในผู้สูงอายุยังอาจเกิดกระดูกพรุนจากการผิดปกติของฮอร์โมน พาราไธรอยด์ ร่วมกับการขาดวิตามิน ดี หรือเมตาโบลิซึมของวิตามินดี ผิดปกติไป เรียกโรคกระดูกพรุนชนิดนี้ว่า "Senile osteoporosis" ซึ่งจะพบได้ทั้งเพศหญิงและเพศชาย

การตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงของสารอินทรีย์ที่หลังโดยเซลล์กระดูกโดยเฉพาะเอนไซม์ฟอสฟาเทส ควบคุมกับการตรวจปริมาณแคลเซียมในซีรัม จึงอาจเป็นดัชนีบ่งชี้ถึงการเปลี่ยนแปลงเมตาโบลิซึมของกระดูก ดังนั้นในการศึกษาคั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะหาความแตกต่างของระดับของเอนไซม์ทั้งสอง และระดับของแคลเซียมในซีรัมของผู้หญิงในวัยเจริญพันธุ์ และผู้หญิงในวัยหมดประจำเดือน เพื่อใช้เป็นตัวบ่งชี้ถึงการสลายของกระดูก

วิธีการ

ตัวอย่างตรวจ

ในการศึกษาคั้งนี้ใช้ซีรัมจากผู้หญิง ที่มีสุขภาพดี 3 กลุ่ม ดังนี้

1. ผู้หญิงที่มีอายุระหว่าง 20-40 ปี จำนวน 14 คน เป็นกลุ่มวัยเจริญพันธุ์
 2. ช่วงอายุระหว่าง 41-50 ปี จำนวน 22 คน เป็นกลุ่มวัยก่อนหมดประจำเดือน
 3. ช่วงอายุ 51 ปีขึ้นไป จำนวน 42 คน เป็นกลุ่มที่หมดประจำเดือนแล้ว
- ซีรัมที่แยกได้แล้ว เก็บที่ 4 °ซ จนกว่าจะทำ

การศึกษา โดยการตรวจหาเอนไซม์จะทำภายในวันที่เก็บซีรัมนั้นๆ

วิธีการตรวจ

Acid phosphatase ใช้วิธีของ Bessey, Lowry and Brock ซึ่งมีหลักการโดยย่อ คือ เมื่ออุณซีรัม ซึ่งมี เอนไซม์ฟอสฟาเทส กับ โครโมเจนิคัลสเตรท คือ p-Nitrophenyl phosphate ที่ละลายอยู่ใน Citrate buffer pH 4.8 จะได้ p-Nitrophenol เมื่ออยู่ในสารละลายต่างเจือจางจะให้สีเหลืองของ p-Nitrophenoxide ion นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 420 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปเทียบเป็น BLB unit ของ Total acid phosphatase จาก Calibration curve

Alkaline phosphatase ใช้วิธีของ Bowers and McComb ซึ่งมีหลักการโดยย่อ คือ อุณซีรัม ซึ่งมีเอนไซม์ฟอสฟาเทส กับ p-Nitrophenyl phosphate ซึ่งละลายใน 2-Amino-2-methyl-1-propanol (AMP) buffer ที่ pH 10.2 จะได้ p-Nitrophenol เมื่ออยู่ในสารละลายต่างเจือจางจะให้สีเหลืองของ p-Nitrophenoxide ion นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 420 นาโนเมตร เพื่อเทียบค่าเป็น Unit/L จาก Calibration curve

สำหรับระดับ Calcium ทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่องอัตโนมัติ (Abbott Spectrum CCx)

ผลการทดลอง

ระดับแอสิดฟอสฟาเทสในผู้หญิงทั้ง 3 กลุ่ม ผลปรากฏดังนี้

ช่วงอายุ 20-40 ปี จำนวน 14 คน มีระดับเอนไซม์อยู่ในช่วง 0.26-0.45 BLB units เฉลี่ย ($\bar{x} \pm S.D.$) 0.38 ± 0.057 BLB units

ช่วงอายุ 41-50 ปี จำนวน 22 คน มีระดับเอนไซม์อยู่ในช่วง 0.39-0.69 BLB units เฉลี่ย ($\bar{x} \pm S.D.$) 0.48 ± 0.10 BLB units

ช่วงอายุ 51 ปีขึ้นไป จำนวน 42 คน มีระดับเอนไซม์อยู่ในช่วง 0.37-0.97 BLB units เฉลี่ย ($\bar{x} \pm S.D.$) 0.61 ± 0.16 BLB units

ซึ่งพบว่าระดับเอนไซม์แอสิดฟอสฟาเทสในผู้หญิงช่วงอายุ 41-50 ปี และตั้งแต่ 51 ปีขึ้นไป มีค่าสูงกว่าในหญิงวัยเจริญพันธุ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.005$) ดังแสดงในรูปที่ 1 ในส่วนของเอนไซม์อัลคาไลน์ ฟอสฟาเทส พบว่ามีระดับสูงขึ้นตามอายุด้วยเช่นกัน ดังนี้

ช่วงอายุ 20-40 ปี มีค่าอยู่ในช่วง 34-80 U/L เฉลี่ย ($\bar{x} \pm S.D.$) 50 ± 12.13 U/L

ช่วงอายุ 41-50 ปี มีค่าอยู่ในช่วง 38-96 U/L เฉลี่ย ($\bar{x} \pm S.D.$) 58 ± 17.79 U/L และ

ช่วงอายุ 51 ปีขึ้นไป มีค่าอยู่ในช่วง 30-125 U/L เฉลี่ย ($\bar{x} \pm S.D.$) 76 ± 25.65 U/L

ระดับเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเทส ในหญิงวัยหมดประจำเดือนเท่านั้นที่มีค่าสูงขึ้นกว่าวัยเจริญพันธุ์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.005$) ดังแสดงในรูปที่ 2 สำหรับระดับแคลเซียมในซีรัมของหญิงทั้ง 3 กลุ่ม พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน โดยตรวจพบค่าดังนี้

ช่วงอายุ 20-40 ปี มีค่าอยู่ในช่วง 7.5-9.8 mg/dL เฉลี่ย ($\bar{x} \pm S.D.$) 8.5 ± 0.58 mg/dL

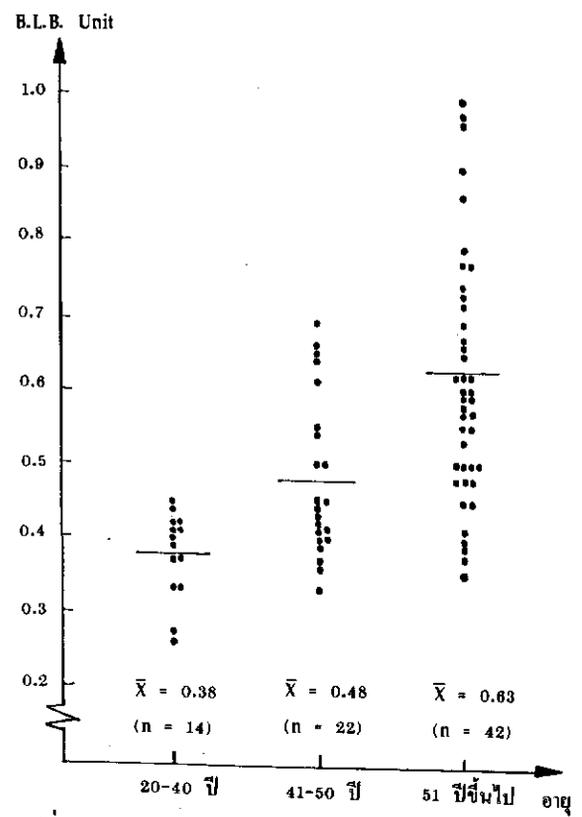
ช่วงอายุ 41-50 ปี มีค่าอยู่ในช่วง 7.5-10.0 mg/dL เฉลี่ย ($\bar{x} \pm S.D.$) 8.8 ± 0.81 mg/dL

ช่วงอายุ 51 ปีขึ้นไป มีค่าอยู่ในช่วง 7.1-10.5 mg/dL เฉลี่ย ($\bar{x} \pm S.D.$) 8.5 ± 0.76 mg/dL ดังแสดงในรูปที่ 3

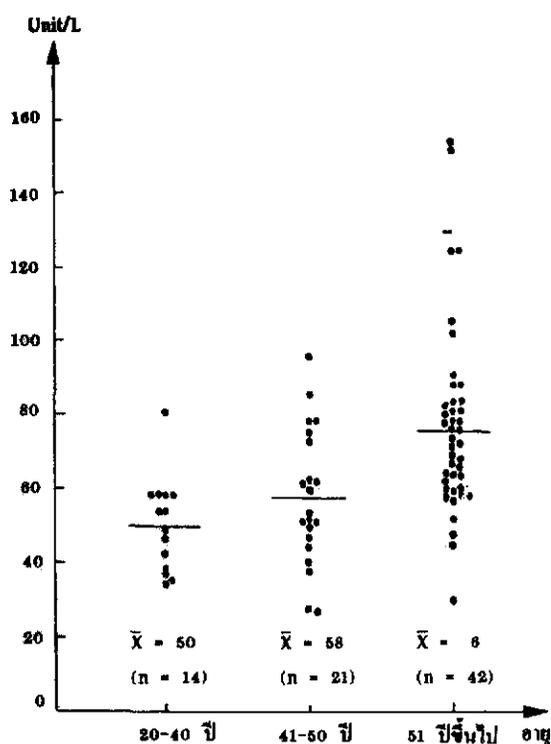
วิจารณ์

เป็นที่ทราบกันแล้วว่า ในวัยเด็กร่างกายมีการเจริญเติบโตอย่างต่อเนื่อง อัตราการสร้างกระดูกจะมากกว่าอัตราการสลายกระดูกซึ่งเป็นผลให้กระดูกมีปริมาณมวลเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนถึงระดับ

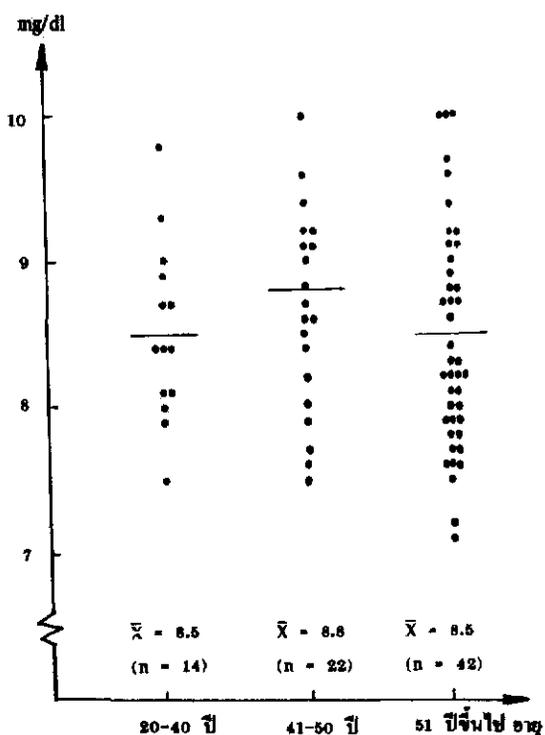
สูงสุด (Peak bone mass) เมื่ออายุประมาณ 20 ปี ในเพศหญิง และ 25 ปี ในเพศชาย หลังจากนั้นปริมาณมวลกระดูกของร่างกายเพิ่มขึ้นสูงสุดแล้ว อัตราการสร้างและการสลายกระดูกจะใกล้เคียงกัน ซึ่งเป็นผลให้ปริมาณมวลกระดูกคงที่อยู่ระยะหนึ่ง จนถึงอายุประมาณ 30-40 ปี อัตราการสร้างกระดูกจะน้อยกว่าการสลายกระดูกเป็นผลให้มวลกระดูกเริ่มลดลงทั้งในเพศหญิงและเพศชายอย่างช้าๆ และต่อเนื่องในอัตราคงที่ประมาณร้อยละ 0.3-0.5 ต่อปี ตั้งแต่อายุประมาณ 40 ปี หรือก่อนหน้านี้อาจจะมีช่วงเวลาประมาณ 10-20 ปี หลังหมดประจำเดือนที่มวลกระดูกลดลงอย่างรวดเร็ว แสดงถึงการมีภาวะการสลายกระดูก (Bone resorption) มากกว่าการสร้างกระดูก (Bone formation) มากขึ้น ดังนั้นในการศึกษานี้ จึงเลือก



รูปที่ 1 แสดงการกระจายของระดับ Acid Phosphatase ในผู้หญิงช่วงอายุต่างๆ



รูปที่ 2 แสดงการกระจายของระดับ Alkaline Phosphatase ในผู้หญิงช่วงอายุต่างๆ



รูปที่ 3 แสดงการกระจายของระดับ Calcium ในผู้หญิงช่วงอายุต่างๆ

ศึกษาในหญิงวัยหลังหมดประจำเดือนเพื่อดูว่าเมื่อเซลล์ Osteoclast ทำงานเพิ่มขึ้นแล้ว จะหลัง เอนไซม์ แอซิดฟอสฟาเทส เพิ่มขึ้นหรือไม่ พร้อมทั้งได้วัดปริมาณ เอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเทส และระดับแคลเซียมควบคู่ไปด้วย เพื่อดูว่าที่ช่วงอายุดังกล่าว มีการเปลี่ยนแปลงของมวลกระดูกอย่างไร

จากผลการทดลองจะเห็นว่า ระดับเอนไซม์ แอซิดฟอสฟาเทสในผู้หญิงวัยหลังหมดประจำเดือนแล้ว ที่มีอายุในช่วง 51 ปีขึ้นไป จะสูงกว่าในผู้หญิงวัยก่อนหมดประจำเดือนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.005$) และเมื่ออัตราการสลายกระดูกเพิ่มขึ้นมากขึ้นร่างกายก็จะพยายามสร้างกระดูกเพิ่มขึ้นด้วย เพื่อจะทดแทนกระดูกในส่วนที่ถูกสลายไปอย่างรวดเร็ว นั้นจึงทำให้เซลล์ Osteoblast มีการทำงานเพิ่มขึ้นด้วย ดังนั้นระดับเอนไซม์ อัลคาไลน์ฟอสฟาเทส ในผู้หญิงวัยหลังหมดประจำเดือนจึงเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญด้วย ($p < 0.005$) แต่อัตราการสร้างกระดูกที่เพิ่มขึ้นนั้นก็ยัง ไม่สูงมากพอที่จะทดแทนกระดูกในส่วนที่ถูกสลายไปนั้นได้ อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างระหว่างค่าเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเทสของหญิงวัยเจริญพันธุ์กับวัยก่อนหมดประจำเดือน ดังนั้นอาจเป็นไปได้ที่การสลายของกระดูกยังไม่ถึงระดับที่จะกระตุ้นการทำงานของเซลล์ Osteoclast ได้ ส่วนระดับของแคลเซียมพบค่าเฉลี่ยที่ไม่มี ความแตกต่างกันในทั้งสามกลุ่ม เนื่องจากกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ ได้จากกลุ่มคนในเมืองที่มีความรู้ในการเสริมแคลเซียมในอาหาร จึงอาจเป็นผลให้ระดับของแคลเซียมในซีรัมไม่มีความแตกต่างในกลุ่มตัวอย่างทุกกลุ่มและอยู่ในช่วงปกติ หากได้กลุ่มตัวอย่างที่อยู่อาศัยในชนบทและไม่ได้เสริมแคลเซียมในอาหาร อาจจะได้ค่าเฉลี่ยของซีรัมแคลเซียมที่แตกต่างกันในวัยที่ต่างกันตามที่คาดไว้

เอกสารอ้างอิง

1. Scarnecchia L, Minisola S, Pacitti MT, *et al.* Clinical usefulness of tartate - resistant acid phosphatase activity determination to evaluate bone turnover. *Scand J Clin Lab Invest* 1991; 50: 517-24.
2. Schmidt GH, Roth HJ, Becker H, Boneth HG, Knuth UA. Non-invasive parameters of bone metabolism. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1995; 4: 334-8
3. Seibel MJ, Cosman F, Shen V, *et al.* Urinary hydroxypyridinium cross-links of collagen as markers of bone resorption and estrogen efficacy in postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res.* 1993; 8: 881-9.
4. คณาจารย์ภาควิชาเคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ คู่มือการปฏิบัติการเคมีคลินิก พิมพ์ครั้งที่ 1 เชียงใหม่: โรงพิมพ์ดาวคอมพิวกราฟิค, พ.ศ. 2533. หน้า 207-17.
5. วิบูล วีรานุกต์ดี, กนกนาด ชูปัญญา. เคมีคลินิก. พิมพ์ครั้งที่ 2, กรุงเทพฯ: โครงการ ตำราศิริราช, พ.ศ. 2525. หน้า 385-92.