

วารสาร
เทคนิคการแพทย์
เชียงใหม่



BULLETIN OF
CHIANG MAI
ASSOCIATED MEDICAL SCIENCES

VOLUME 14

JANUARY 1981

NUMBER I



คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เจ้าของ

สำนักงาน : สำนักงานคณบดี คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

โทรศัพท์ 221829

บรรณาธิการ

นายแพทย์ชัยโรจน์ แสงอุดม

ผู้ช่วยบรรณาธิการ

ปกรณ์ ไทยานันท์

กองบรรณาธิการ

อุดมศักดิ์ เทวซึ่งเจริญ

ดำรงกั พัฒนานนท์

ศุภร สุตะพาทะ

สุรภา เกษะ

สุมาลัย วิวรรณรัตน์

พรทิพย์ วีระสวัสดิ์

ยุพา จิวิริยะวัฒน์

ขวัญชัย รัตนเสถียร

สุรพร มาตระกูล

มารศรี ไกรโรจนานันท์

ติชด สงค์ศิริ

กนกวรรณ อุโฆษกิจ

สร้อยสุภา วิทยาการ

เนตร สุวรรณภฤตาสัน

เพ ร ญ ญ ก

เพ็ญศรี วรรณฤมณ

ผู้ จั ด ก า ร

ปราโมทย์ เตียวศิริ

ผู้ ช่วย ผู้ จั ด ก า ร

รัตนา ศาคร

ที่ ป ร ิ ก ษ า วิ ช า ก า ร

นายแพทย์ตะวัน กั้ววนพงษ์

นายแพทย์บริบูรณ์ พรพิบูลย์

นายแพทย์सनัน สิมารักษ์

นายแพทย์วิชาญ วิทยาชัย

นายแพทย์ดำhari ดำรงศักดิ์

นายแพทย์ ประยุทธ์ ฐิตะสุต

นายแพทย์กัมพล พันคำอาพล

นายแพทย์มุนี แก้วปลั่ง

นายแพทย์ปัญจะ กุลพงศ์

นายแพทย์เทอดชัย ชีวะเกตุ

นายแพทย์กอดิน อมาตยกุล

กำหนดออก : ราย ๔ เดือน (มกราคม, พฤษภาคม, กันยายน)

สำนักพิมพ์ : พระสังหารพิมพ์ ถนนสามล้าน ซอย ๑ เชียงใหม่

นายประทวน ศักดิ์ทวนชัย ผู้พิมพ์ผู้โฆษณา



BULLETIN OF
THE FACULTY OF ASSOCIATED MEDICAL SCIENCES
CHIANG MAI UNIVERSITY, CHIANGMAI, THAILAND

EDITOR

Dr. Chairaj Saeng-Udom

ASSISTANT EDITOR

Pakorn Thaiyanan

BOARD OF EDITORS

Audomsark	Haesungcharern	Kwanchai	Ratanasthien
Damrong	Pinthanond	Suraporn	Matragoon
Suporn	Sutapaha	Marasri	Krairojananan
Surapa	Decha	Sichon	Songsiri
Sumalai	Wangvanarat	Kanokwan	Ukoskit
Porntip	Dheerasawat	Sroysuda	Wittayakorn
Yupa	Jiviriyawat	Netr	Suwankruhasn

TREASURER

Pensri Vannareumol

BUSINESS MANAGER

Pramoat Teowsiri

ASSISTANT BUSINESS MANAGER

Ratana Sakorn

BOARD OF ADVISORS

Dr. Tawan Kungvanpong	Dr. Prayuth Thitasut
Dr. Boriboon Pornphibool	Dr. Kampol Panas-ampol
Dr. Sanan Simarak	Dr. Muni Kaeplung
Dr. Vicharn Vithayasai	Dr. Panja Kulapongs
Dr. Damri Dumrongsak	Dr. Theodchai Jivacate

Dr. Kosin Amatayakul

Published : TERTIALLY (January, May, September)

ข้อแนะนำสำหรับเรื่องส่งตีพิมพ์ ในวารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่

1. เป็นผลงานวิจัย, เรื่องวิชาการ หรือสารคดีทางการแพทย์ ที่ไม่เคยตีพิมพ์ในวารสารอื่นมาก่อน
2. ลิขสิทธิ์ของเรื่องที่ส่งตีพิมพ์เป็นของวารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่เท่านั้น
3. ส่งเรื่องที่จะตีพิมพ์ถึงบรรณาธิการวารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่โดยตรง
4. ภาษาที่ใช้ควรเป็นภาษาไทย พร้อมทั้งย่อเรื่องเป็นภาษาอังกฤษ หรือใช้ภาษาอังกฤษพร้อมกับย่อเรื่องเป็นภาษาไทย
5. ชื่อเรื่องไม่ควรยาวจนเกินไป ถ้าเนื้อเรื่องเป็นภาษาไทยให้ใช้ชื่อเรื่องเป็นภาษาไทย
6. ชื่อผู้เขียนและคณะ ให้ใช้ภาษาเดียวกันกับที่เขียนเรื่อง พร้อมตำแหน่งที่อยู่ หรือสถาบันที่ทำงาน
7. ต้นฉบับต้องเป็นตัวพิมพ์ดีด พิมพ์หน้าเดียว และต้องส่งให้บรรณาธิการ 2 ชุด
8. แผ่นภาพประกอบเรื่อง ควรเป็นลายเส้นขาวดำ พร้อมคำอธิบาย
9. เจ้าของเรื่องจะได้รับสำเนาพิมพ์ตอบแทน 30 ชุด
10. การจัดลำดับภายในเรื่องควรประกอบด้วยโครงร่างดังนี้
บทคัดย่อ ไม่ควรเกินกว่า 100 คำ
บทนำ
วัตถุประสงค์และวิธีการ
ผลการทดลอง
วิจารณ์
ย่อเรื่อง (ถ้าเรื่องเป็นภาษาไทยให้ย่อเรื่องเป็นภาษาอังกฤษ ถ้าเรื่องเป็นภาษาอังกฤษให้ย่อเรื่องเป็นภาษาไทย)
เอกสารอ้างอิง
11. เอกสารอ้างอิงให้เรียงตามลำดับตัวเลขในเนื้อเรื่อง การอ้างวารสารจัดลำดับดังนี้
ชื่อผู้แต่ง (ชื่อสกุล ชื่อต้น) ชื่อเรื่อง ชื่อย่อของวารสาร ปีที่ หน้า ปี เช่น
Cho. CH., Fenje P, and Sparkes, J.D. : Antibody and immunoglobulin response to antirabies vaccination in man, Infect. Immuntiy 6 : 483-486, 1992
การอ้างหนังสือจัดลำดับดังนี้
Johnston, D.F. : Essentials of communicable disease. Ed. 2, Mosby, Saint Louis, p. 55, 1968.

NOTES ON MANUSCRIPTS

Original research articles, review-type papers and case reports will be considered for publication in the Bulletin of Chiang Mai Associated Medical Sciences. All manuscripts must be original and should have preferably not been previously submitted to any other publication. Preference is given to material which is of general to medical practitioners and research workers in clinical medicine.

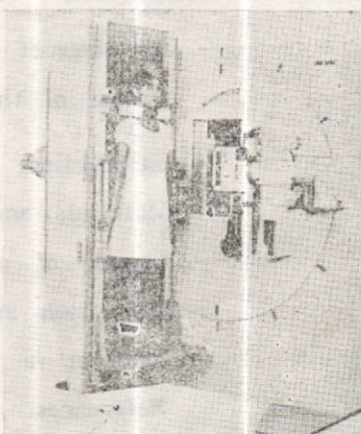
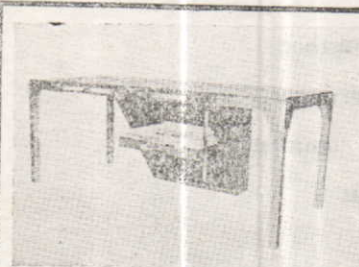
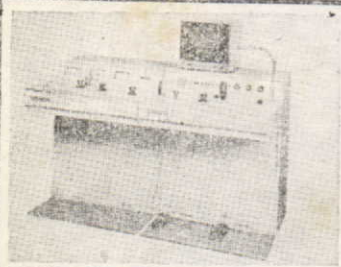
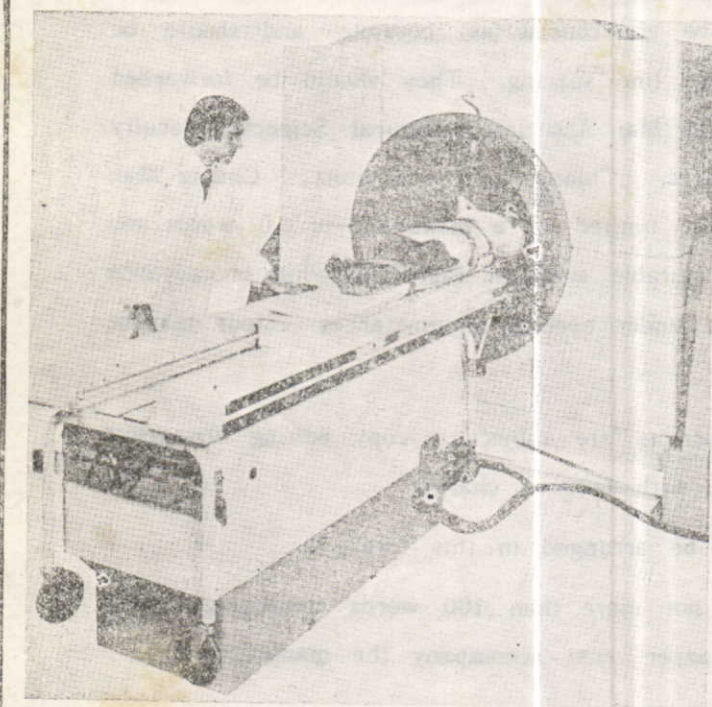
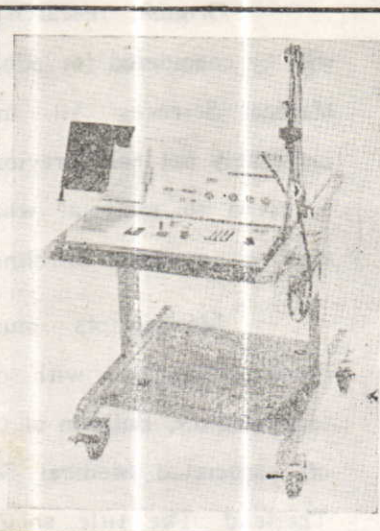
Manuscripts must be as concise as possible and should be typed in English with double line spacing. They should be forwarded to the editor, Bulletin of Chiang Mai Associated Medical Sciences, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand. The title should be limited to a maximum of 10 words and the article broken up with suitable subtitles. Black and white photographs may also be submitted and under special circumstances, colour may be accepted.

All accepted manuscripts are subject to copy editing 30 reprints are returned to the author with free of charge.

Manuscripts should be arranged in this form

- An abstract of not more than 100 words containing a brief outline of the paper must accompany the manuscript.
- Introduction.
- Materials and methods.
- Results of experiment.
- Discussion and comment.
- Abstract in Thai.
- References.

HITACHI X-RAY APPARATUS & MEDICAL ENGINEERING



บริษัท วิทยาत्म จำกัด

150 ถนนพญาไท กรุงเทพฯ โทรศัพท์ 281-5211, 281-5526, 281-5737.

ใบบอกรับเป็นสมาชิก

วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่

ที่ _____

วันที่ _____

ถึง บรรณาธิการ วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่

ข้าพเจ้ายินดีบอกรับเป็นสมาชิก วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่
โปรดจัดส่งวารสารถึงข้าพเจ้า ดังนี้

นาม _____ สำนักงาน _____

_____ บ้านเลขที่ _____ ถนน _____

ตำบล _____ อำเภอ _____ จังหวัด _____

ข้าพเจ้าได้ส่งเงินจำนวน _____ บาท สำหรับเป็นค่าบำรุง

สมาชิก ☐ รายปี ☐ ตลอดชีพ ส่งจ่ายในนามเหรียญกฐนวารสารเทคนิค
การแพทย์ เชียงใหม่ ปณ. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ มาพร้อมกับแบบฟอร์มนี้แล้ว

ลงชื่อ _____

หมายเหตุ ค่าบำรุงสมาชิกรายปี 30 บาท

 ค่าบำรุงสมาชิกตลอดชีพ 300 บาท

ใบโฆษณา

วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่

ที่ _____

วันที่ _____

ถึง บรรณาธิการ วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่

ข้าพเจ้า _____

ผู้จัดการ _____

ยื่นขอลงโฆษณากิจการของข้าพเจ้าในวารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่

จำนวน _____ หน้า มีกำหนด 1 ปี (3 ฉบับ)

ในอัตราโฆษณาเป็นเงิน _____ บาท

(_____) พร้อมนี้ได้มอบปลอก _____ ชิ้น

ขอความ _____ ขน มาด้วยแล้ว

ลงชื่อ _____

(_____)

อัตราค่าโฆษณาในระยะเวลา 1 ปี

เต็มหน้า	800.00 บาท
ปกหน้าด้านในเต็มหน้า	1,400.00 บาท
ปกหลังด้านในเต็มหน้า	1,200.00 บาท
ปกหลังด้านนอกเต็มหน้า	1,800.00 บาท
ใบแทรก	1,000.00 บาท



บทบรรณาธิการ

การบริจาคโลหิตของอังกฤษ

วารุณี คุณาธิระ วท.บ *

ในบรรดากลุ่มประเทศทางยุโรป อังกฤษนับเป็นอีกประเทศหนึ่งที่ประสบความสำเร็จในการบริการโลหิต นั่นคือสามารถบริการจัดหาโลหิตให้แก่ผู้ป่วยฟรีโดยไม่คิดมูลค่าใดๆ ตอบแทน ศูนย์กลางที่ประสานงานด้านนี้ก็คือ Department of Health and Security (DNHH) โดยจัดอยู่ในรูปของ National Blood transfusion Service (NBTS) ซึ่งศูนย์นี้เริ่มก่อตั้งมาตั้งแต่ปี ค.ศ. ๑๙๔๖ มีสาขากระจายออกไปทั่วสหราชอาณาจักร (Wales, Scotland, Northern Ireland) ตัวอย่างเช่น สาขาศูนย์บริการโลหิตทางภาคเหนือ (Northern Region) ตั้งอยู่ที่เมือง Newcastle Upon Tyne, ที่ Yorkshire Region ตั้งอยู่ที่เมือง Leeds สาขาศูนย์บริการโลหิตของสหราชอาณาจักรมีทั้งหมด ๑๓ สาขา และ ๑ สาขาย่อย แต่ละสาขาศูนย์ฯ จะมีหน้าที่จัดหาผู้บริจาคโลหิตเพื่อจัดเตรียมโลหิตและส่วนประกอบของโลหิตให้แก่ผู้ป่วยตามโรงพยาบาลต่างๆ ในเขตรับผิดชอบ สาขาศูนย์ฯ บางแห่งยังมีบริการเก็บเลือดแบบแช่แข็งไว้สำหรับ

ผู้ป่วยที่มีปัญหาในการให้เลือดหรือสามารถติดต่อกับ Rare Type Donor ที่ขึ้นทะเบียนไว้กับแต่ละสาขาศูนย์ฯ ได้อย่างรวดเร็วทันการณ์

นอกจากสาขาศูนย์ฯ ต่างๆ เหล่านี้แล้ว ยังมี Central Laboratory ใหญ่ๆ อีก ๓ แห่งคือ Blood Group Reference Laboratory ใน London, Blood Products Laboratory ใน Hertford Shire และ Plasma Fractionation Laboratory ใน Oxford โดยทั้ง ๓ แห่งนี้ขึ้นอยู่กับ DHSS และทำงานด้านการเตรียมโลหิตและส่วนประกอบสำหรับบริการโรงพยาบาลต่างๆ เช่นกัน ส่วนประกอบของเลือดที่เตรียมโดย DHSS ประกอบด้วย

๑. Whole Blood
๒. Concentrated Red Cells
๓. Platelet Transfusion
๔. White cells
๕. Dried Pooled Plasma
๖. Plasma Protein Fraction

* ภาควิชาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

๗. Human Albumin
๘. Frozen Fresh Plasma
๙. Cryoprecipitated and Dried Anti-nemophytic globulin Concentrated
๑๐. Dried Fraction Tx concentrated
๑๑. Febrinogen
๑๒. Plasma Substituted
๑๓. Leukocyte Poor Blood

ถึงแม้ว่าแต่ละสาขาสุนัข จะขึ้นอยู่กับ

DHSS ก็ตาม แต่การทำงานด้านบริหารและบริการ ทำเป็นเอกเทศ ตามนโยบายของผู้บริหารและผู้ร่วมงานของแต่ละสาขาสุนัข นั้นๆ เช่น บางศูนย์ อาจมีนโยบายการทำงานโดยอาศัยเครื่องจักร อีกแห่งอาจจะต่างกันไป ตัวอย่างที่เห็นได้ชัดคือ บางแห่งมีการเก็บ Donor Card ด้วยระบบ Computer, มีการทำ Coombs test โดย Coombs Washing Machine มีการบันทึกเลขที่ ของเลือด แต่ละยูนิตเป็นแบบ Bar-code ในขณะที่อีกแห่งหนึ่งมีการบันทึก Donor Card แบบธรรมดา ซึ่งนับว่าแต่ละแห่งมีอิสระในการทำงานเป็นอย่างดี

สิ่งที่ เป็นปัจจัยสำคัญในการดำเนินงาน บริการโลหิต และได้รับความสำเร็จสมบูรณ์โดย ประชาชน ให้ความร่วมมือเป็นอย่างดี จน สามารถเจาะเก็บโลหิตได้อย่างเหลือเฟือ ก็ด้วยการใช้วิธีการสร้างความประทับใจต่อผู้บริจาคโลหิตนั่นเอง เป็นเครื่องมือในการชักจูงผู้บริจาคโลหิตใหม่ (World of Mouth) ซึ่งนับว่าเป็นวิธีการ ที่ได้ผลสำเร็จมาเป็นอันดับหนึ่ง ของลงไปก็คือเอกสารต่างๆ (printed materials), ภาพยนต์, ทีวี วิทยุ (audio visual aids) ซึ่งจัดบริการโดย DNH ทั้งหมด เจ้าหน้าที่เจาะเลือด

ส่วนใหญ่เป็นผู้ช่วยพยาบาล ที่ได้รับการอบรมให้เป็นนักเจาะเลือดและทำงานภายใต้ความควบคุมของพยาบาลและแพทย์ประจำห้องเจาะเลือด จะทำงานกันอย่างเต็มที่ และจะพยายามมอบความประทับใจให้แก่ผู้บริจาคโลหิตทุกคน เพราะหวังผลระยะยาวโดยเต็มใจที่จะมาบริจาคครั้งต่อไป และยังจะไปชักจูงให้ผู้อื่นมาบริจาคอีกด้วยการสมัครเป็นสมาชิกผู้บริจาคโลหิตก็มีบริการความสะดวกสบายให้ทุกอย่าง เพียงแต่กรอกใบสมัครที่หาได้ทั่วไปตามโรงพยาบาลและที่ทำการไปรษณีย์ทุกแห่งโดยเขามีเจ้าหน้าที่เสร็จเรียบร้อย ที่สำคัญคือไม่จำเป็นต้องติดแสตมป์ให้ยุ่งยาก และเปลี่ยนเงินนับว่าเป็นบริการอีกอันหนึ่งที่ได้รับความสำเร็จคุ้มเกินค่าของแสตมป์ที่จะต้องเสียผู้ที่ส่งใบสมัครเป็นสมาชิกไปแล้ว ก็จะได้รับการติดต่อนัดหมายทางจดหมายหรือโทรศัพท์วันที่จะไปบริจาคโลหิตจากหน่วยเคลื่อนที่ ที่จะมารับบริจาคในสถานที่ใกล้กับบ้านหรือที่ทำงานของผู้สมัครนั้นๆ ทางด้านการติดต่อกับผู้บริจาคโลหิตนั้น เพื่อเป็นการกระตุ้นและเตือนให้มาบริจาคโลหิตเมื่อครบกำหนดเวลาจึงมีการติดต่อกันล่วงหน้าโดยทางจดหมายหรือโทรศัพท์ให้มาบริจาคโลหิตครั้งต่อไป เป็นที่น่าสังเกตว่า การบริจาคโลหิตในประเทศอังกฤษนั้น บุคคลหนึ่งๆ จะบริจาคโลหิตเพียง ๒ ครั้งต่อปี นับว่าเป็นระยะเวลาที่ห่างมาก แต่จำนวนผู้บริจาคโลหิตมีอย่างเกินพอ ความเพียงพอของเลือดที่ได้รับจากการรับบริจาคนั้นไม่เพียงแต่มีไว้สำหรับผู้ป่วยที่ต้องการเลือดและส่วนประกอบของเลือดเท่านั้น แต่ยังรวมไปถึงการใช้เป็น Standard Reagent Red Blood Cell และ Standard Antisera สำหรับห้องปฏิบัติการประจำวันและการทำวิจัยบางส่วนอีกด้วย นับว่าเป็นอีกเหตุผลหนึ่ง

ซึ่งทำความเจริญให้กับสาขาวิชา immunohematology เป็นอย่างยิ่ง

ผู้เขียนได้มีโอกาสเข้าไปทำงานใน NBTS ของประเทศอังกฤษนี้รวม ๓ แห่ง คือ ที่ North West Thames Region ในเมือง Middlesex, ที่ West Midland Region ในเมือง Birmingham และที่ South Western Region ที่ Bristol โดยใช้เวลาทั้งหมด ๑ ปี ก็ใคร่จะขอเล่าเกร็ดเล็กเกร็ดน้อยจากสิ่งที่น่าสนใจเรื่องแรกคือ บรรยากาศของการทำงานในห้อง Lab ซึ่งเป็นเรื่องที่น่าสนใจเป็นอย่างมาก ที่ประเทศอังกฤษนี้ จะเริ่มทำงานในเวลา ๘.๐๐ น. และจะพักสำหรับอาหารกลางวันในช่วงเวลา ๑๒.๓๐-๑๓.๓๐ น. ในช่วงเช้าจะมีเวลาให้พัก ๑๕-๒๐ นาที สำหรับทำกิจธุระส่วนตัว เช่น หาเครื่องดื่ม ร้องท้อง พูดคุยกัน เล่นเกมเล็กๆ น้อยๆ ตีปิงปอง ปาเป้า พวกผู้หญิงก็จะมีภารกิจนิตติ้ง, อ่านนิตยสารหรือพูดคุยกันถึงครอบครัวและเพื่อนๆ ในช่วงบ่ายทำงานต่อไปจนถึง ๑๗.๐๐ น. มีเวลาพัก ๑๕-๒๐ นาที เช่นกัน ในระหว่างเวลาประมาณ ๑๔.๐๐ น. ช่วงเวลาทำงานของเขานั้น น่าอิจฉามากคือทุกคน จะตั้งหน้าตั้งตาทำงานในหน้าที่ของตนไม่มีการโคตรมูงาน หรืออยู่เฉยๆ เลย มีการปรึกษาหารือกันในเรื่องที่เกี่ยวข้องกับงานที่ทำอยู่ ที่น่าชมเชยก็คือเขาสามารถหาผู้รู้ให้ซักถามปัญหาของเขาได้อย่างทันต่อเหตุการณ์ และหากติดขัดหรือขัดข้องในคำตอบก็สามารถติดต่อผู้รู้นอกสถาบัน โดยทางโทรศัพท์ ไม่ว่าผู้รูนั้นอยู่ตำบลไหนทั่วราชอาณาจักร ซึ่งคำตอบที่ได้มักไม่ทำให้ผู้ถามผิดหวัง เขามีความกระตือรือร้นในการทำงานและไม่หาความรู้ตลอดเวลา เนื่องจากเขาสามารถจะยกวิทยฐานะโดยการสอบเทียบชั้นสูงขึ้นไปได้ เวลา

พักระหว่างงานช่วงเช้า หรือบ่าย (Tea break) จะมีความสำคัญอยู่ไม่น้อย โดยเราจะไม่พบบุคคลใดๆ เลยในห้องทำงาน ทุกคนจะตั้งงานที่ทำอยู่ ไปรวมกันใน Common Room เพื่อผ่อนคลายอิริยาบถ เตรียมตัวที่จะขึ้นมาทำงานในช่วงต่อไป อย่างมีประสิทธิภาพ การประสานงานของแต่ละหน่วยงานในสาขาศูนย์ฯ แต่ละแห่งก็เป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ หากมีสิ่งใดที่ไม่เข้าใจกัน แม้เพียงสาเหตุเล็กน้อย เขาก็จะเดินเข้าหากัน พูดคุยให้เข้าใจกันเดี๋ยวนั้นเลย หัวหน้าของแต่ละ lab จะมีบทบาทมากในเรื่องนี้ ผู้เขียนเคยเห็นหนังสือเรียนจากหัวหน้า Lab ขอร้องให้คนทำ Lab ทั้งหมด เขียนรายงานด้วยตัวหนังสือให้อ่านได้ชัดเจน โดยให้ท้าวความว่าเคยขอร้องมาแล้ว และรู้สึกว่าการปฏิบัติได้หละหลวมลงไป เรื่องนี้ชี้ให้เห็นว่า เขาป้องกันเหตุมากกว่าที่จะแก้เหตุ

สุดท้ายนี้ผู้เขียนขอเสนอคำย่อที่ใช้กันมากในหน่วยงานของการบริการโลหิต ซึ่งจุดประสงค์ของการเขียนตัวย่อนี้ ก็คงจะเพื่อให้การประสานงานเป็นไปได้อย่างรวดเร็ว และถูกต้องแน่นอนด้วยย่อเหล่านี้ ส่วนใหญ่จะบันทึกไว้ใน Donor Card เพื่อที่จะได้ทราบประวัติความเป็นไป ของผู้บริจาคโลหิตเอง ดังนี้.-

D.N.C.A.	= Do not call again
T.T.O	= This time only
C.A.	= Change of address
R.D.N.A.	= Replied, did not attend
U/N	= Under age
D.N.A.	= Phoned for emergency and did not attend

N.R.	=	No reply	S/Cert	=	Send Cerfiticate
O/A	=	Over age			book
Em	=	Emergency	M	=	Malaria
R.	=	Replied	N.B.	=	Not bled
S.D.C.	=	Special Donor Correspondence file	F.V.P.	=	Failed venepuncture
N.D.	=	New Donor	F.F.	=	Felt faint
			U/W	=	Under weight



การตรวจหาเอนไซม์ Gamma glutamyl-transpeptidase ในซีรัม
ด้วยวิธีการทาง Colorimetry; I. เทคนิคและวิธีการที่เหมาะสม *

รจนาภา นิมสังข์ วท.ม. (ชีวเคมี) **
อุดมศักดิ์ เทวซึ่งเจริญ ประ.ด. (ชีวเคมี) **
กำพล กลั่นกลิ่น ภ.บ., พ.บ., M.S. ***

บทคัดย่อ

ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาถึงสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจหาอัตราเร็วของเอนไซม์ Gamma glutamyl transpeptidase (GGTP) ในซีรัมโดย manual colorimetric method วิธีการทำได้โดย incubate ซีรัมปริมาณ 0.1 มล. เป็นเวลา 15 นาที ใน Tris หรือ Ammediol buffer ที่มีความเข้มข้น 115 mM. ซึ่งเตรียมรวมไปกับ glycylglycine acceptor ความเข้มข้น 138 mM. buffer ทั้งสองชนิดมี pH 8.5 และการทดลองทำที่อุณหภูมิ 30°C. จากนั้นเติม Gamma glutamyl - p - nitroanilide substrate ซึ่งละลายใน 0.5 M HCl จำนวน 0.2 มล. ลงใน incubating tube และติดตามอัตราเร็วของปฏิกิริยาของเอนไซม์ที่เกิดขึ้นเป็นเวลา 20 นาที โดยใช้ Spectronic 70 Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 405 nm. พบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมของ substrate ในหลอดทดลองใน buffer ทั้ง 2 ชนิดเป็น 6.0 mM. ซึ่งเมื่อทำ Line-weaver - Burk plot แล้ว พบว่า Km สำหรับ Gamma glutamyl - p - nitroanilide substrate ใน Tris-buffer และใน Ammediol buffer เป็น 0.69 mM. และ 0.81 mM. ตามลำดับ วิธีที่ใช้ตรวจหาเอนไซม์ GGTP นี้ ให้ accuracy และ precision ดี และไม่ต่างไปจาก automated method ที่มีผู้ศึกษา นอกจากนี้ พบว่าความเข้มข้นของเอนไซม์ หรือ Calculated activity สัมพันธ์เป็นเส้นตรงกับ activity ที่ตรวจพบจริง ๆ เมื่อเอนไซม์มี activity ตั้งแต่ศูนย์ถึง 84 u/l.

* ได้รับทุนอุดหนุนงานวิจัยจากมหาวิทยาลัยเชียงใหม่

** ภาควิชาเคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

*** ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

รับไว้ตีพิมพ์ วันที่ 15 ตุลาคม 2523

บทนำ

เอนไซม์ gamma glutamyl trans-peptidase (GGTP) เป็นตัวช่วยในการเปลี่ยนที่ของ gamma glutamyl groups จาก gamma glutamyl peptides ไปให้ peptides ตัวอื่น หรือ L-amino acid หรือน้ำ และทำให้เกิด gamma-glutamyl peptide ตัวใหม่ขึ้น ผู้พบครั้งแรกคือ Hanes และผู้ร่วมงาน (1, 2) โดยใช้ glutathione (r-L-glutamyl-L-cystinylglycine) เป็น substrate พบว่าเอนไซม์ตัวนี้มีความจำเพาะต่อ gamma glutamyl peptides โดยอาจทำให้เกิด substrate hydrolysis, หรือเกิดการเปลี่ยนที่ของ gamma glutamyl group ก็ได้ เอนไซม์นี้มีความเข้มข้นสูงใน microsome ของเซลล์ของตับมนุษย์ (3) และจะมีระดับสูงขึ้นในพลาสมาหรือซีรัมในโรค chronic hepatocellular disease แบบต่างๆ และ obstructive liver disease ในโรคดังกล่าวระดับของเอนไซม์นี้ในซีรัมจะสูงขึ้นเร็ว และสูงกว่าเอนไซม์ตัวอื่น ๆ ที่ใช้ทดสอบความผิดปกติของสมรรถภาพของตับกันอยู่ในปัจจุบัน เช่น transaminases เป็นต้น และระดับจะคงอยู่ในพลาสมาได้นานกว่าเอนไซม์อื่น ๆ ด้วย (3)

ได้มีผู้ทำการศึกษาหา activity ของเอนไซม์นี้ต่อมา โดยเปลี่ยนทั้ง substrate (4, 5, 6, 7) และ acceptors (5, 6, 8), เปลี่ยนอุณหภูมิที่ทำการทดลอง (9, 10, 11), หาชนิด, ความเข้มข้น และ pH ที่เหมาะสมของ buffer ที่ใช้ (9, 10, 11)

โดยเฉพาะใน reaction rate analysis โดย automated method (9, 11) อย่างไรก็ตาม สภาวะที่เหมาะสมที่ตรวจพบก็ยังคงแตกต่างกันไปในห้องปฏิบัติการแต่ละแห่ง

จุดมุ่งหมายของการหา activity ของเอนไซม์ GGTP ในห้องปฏิบัติการแห่งนี้ ก็เพื่อจะทดสอบหาภาวะที่เหมาะสมที่สุดที่จะใช้ในการตรวจหาระดับของเอนไซม์ตัวนี้ ในซีรัมของคนปกติและผู้ป่วย โดยหาชนิดความเข้มข้นของ substrate, acceptors และ buffers ที่ใช้ รวมทั้งหาอุณหภูมิ และ pH ที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาของเอนไซม์อีกด้วย ทั้งนี้เพื่อนำวิธีที่เหมาะสมมาตรวจหาระดับเอนไซม์ดังกล่าว โดย manual method ต่อไป

วัสดุและวิธีการ

เครื่องมือ :- ประกอบด้วย

Spectronic 70 Spectrophotometer, pH meter, เครื่องชั่งอย่างละเอียด 5 ตำแหน่ง, เครื่องควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) รวมทั้ง Lancer micropipets และ cuvet ขนาด 10 x 75 มม. สำหรับอ่าน activity ของเอนไซม์โดยการวัดสีที่เกิดขึ้น

Specimens :-

ใช้ pooled serum ของผู้ป่วยโรคตับจากห้องปฏิบัติการเคมีคลินิก, โรงพยาบาลนครเชียงใหม่

น้ำยาที่ใช้และวิธีเตรียม :-

(1) Buffer-acceptor reagents; buffers ที่นำมาทดลองมี 2 ชนิด คือ Trizma-base หรือ Tris- [2-amino-2-(hydroxy-

methyl) aminomethane] และ Ammediol หรือ Tris- [2-amino-2-(hydroxymethyl) propane 1,3 diol] สำหรับ acceptor ที่ใช้ในการทดลองคือ glycylglycine, glycylalanine, α -aminobutyric acid, methionine และ arginine

การเตรียม buffer (115 mM)-acceptor (138 mM.) reagent ทำได้โดยละลาย Trizma-base 6.96 กรัม (หรือ Ammediol 6.04 กรัม) และ glycylglycine 9.11 กรัม ลงในน้ำกลั่นประมาณ 400 มล. ปรับ pH ให้ได้ 8.5 ที่อุณหภูมิห้องด้วย 0.5 M NaOH เติมน้ำกลั่นให้ครบ 500 มล. เก็บในตู้เย็น (10-12°C.) ได้นาน 3 เดือน โดยไม่เสื่อมคุณภาพ (11) ความเข้มข้นของ buffer และ acceptor อื่น ๆ นอกเหนือจากนี้จะกล่าวต่อไปในผลการทดลอง

(2) r-glutamyl-p-nitroanilide substrate; ความเข้มข้น 69 mM. เตรียมโดยชั่ง r-glutamyl-p-nitroanilide (anhydrous) 19.6788 มก. ละลายใน 1 มล. ของ 0.5 M HCl ความเข้มข้นอื่น ๆ แล้วแต่การทดลอง substrate นี้ จะต้องเตรียมก่อนใช้ทุกครั้ง และต้องใช้ให้หมดภายใน 2 ชั่วโมง

Buffers และ acceptors ที่กล่าวมาทั้งหมดได้มาจาก Sigma Chemical Company, ST. Louis, U.S.A. ส่วนสารเคมีอื่น ๆ ที่ใช้เป็นชนิด Analytical grade

วิธีการ :-

(1) ชุด Buffer (115 mM.)-Acceptor (138 mM.) pH 8.5 จำนวน 2 มล. ใส่

ใน cuvet ขนาด 10 x 75 มม. เติมซีรัม 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน หลอดที่เป็น blank ใช้น้ำกลั่น 100 ไมโครลิตร ใส่แทนซีรัม ทั้งนี้เพื่อแก้ nonenzymatic hydrolysis จาก substrate จากนั้นอุ่น cuvet ทั้งสองที่อุณหภูมิ 30°C. หรือตามที่กำหนดไว้ในแต่ละการทดลอง

(2) ภายหลังที่อุณหภูมิของปฏิกิริยาจะมีอุณหภูมิเท่าที่กำหนดแล้ว (ประมาณ 15 นาที) เริ่มปฏิกิริยาโดยการเติม substrate เข้มข้น 69 mM. ลงไป 200 ไมโครลิตร ในแต่ละ cuvet ผสมให้เข้ากัน วัดการเปลี่ยนแปลงของ Absorbance ที่ความยาวคลื่น 405 nm. ทุกๆ ช่วงเวลา 1 นาที เป็นเวลานานหลาย ๆ นาที หรือแล้วแต่ที่กำหนดต่อไปในการทดลอง

คำนวณหาอัตราเร็วในการเปลี่ยนแปลงของ Absorbance ต่อ 1 นาที ($\Delta A/\text{min.}$) จากนั้นนำไปคำนวณหา enzyme activity ใน specimen เป็น u/l

ความเข้มข้นสุดท้าย (Final concentration) ในหลอดทดลองจะมีค่าดังนี้ : -
Tris buffer 100 mM., glycylglycine acceptor 120 mM., r-glutamyl-p-nitroanilide substrate 6.0 mM. เว้นไว้แต่จะกำหนดไปเป็นอย่างอื่น

การคำนวณ :- (12)

1 หน่วย (Unit) ของเอนไซม์ หมายถึง จำนวนเอนไซม์ที่ใช้ไปในการเปลี่ยน substrate 1 μmol ต่อ 1 นาที

หรือ
$$U = \frac{1 \mu\text{mol substrate transformed}}{1 \text{ min.}}$$

และ molar absorptivity (E) สำหรับ p-nitroanilide = 9,870 litre:mol⁻¹:cm.⁻¹ ดังนั้น enzyme activity คือ

$$\begin{aligned} u/l &= \frac{\Delta A/\text{min} \times 10^6 \times \text{total volume}}{E \times \text{specimen volume}} \\ &= \frac{\Delta A/\text{min} \times 10^6 \times 2.3}{9,870 \times 0.1} \\ &= \Delta A/\text{min} \times 2,330 \end{aligned}$$

เมื่อ $\Delta A/\text{min}$ = อัตราเร็วของปฏิกิริยาที่ตรวจพบ

2.3 = ปริมาตรทั้งหมดเป็นมิลลิลิตรใน cuvet (total volume)

0.1 = ปริมาตรของ specimens (sample volume)

9,870 = molar absorptivity

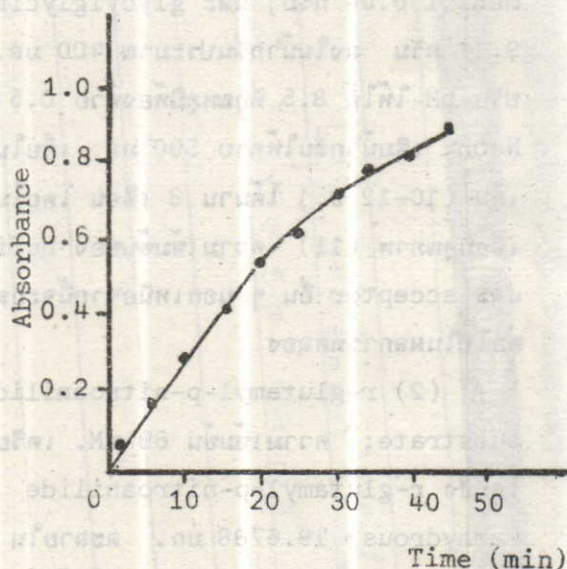
10⁶ = μmol ใน 1 mol

ผลการทดลอง

ความสัมพันธ์ของ enzyme activity กับเวลาที่เปลี่ยนไป

การตรวจหา enzyme activity ในซีรัม และใน standard ในเวลาที่ต่าง ๆ กัน เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงของ slope ($\Delta A/\text{min}$) ความเวลาเพิ่มขึ้น การทดลองใช้ Tris (base)-glycylglycine buffer ความเข้มข้น 115 mM และ 138 mM ตามลำดับ ปรับ pH ให้ได้ 8.5 incubate กับซีรัม ที่ 30°C. เติม substrate เข้มข้น 69 mM ผสมให้

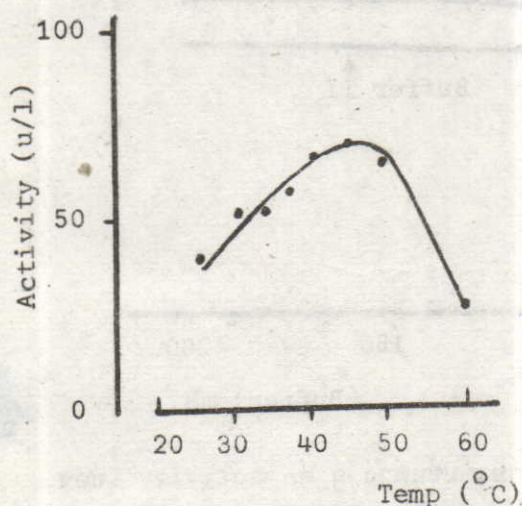
เข้ากัน และอ่านดูการเปลี่ยนแปลงจาก absorbance ที่ 405 nm พบว่า slope จะคงที่ตลอดเวลาระหว่าง 1-20 นาที หลังจากนั้น slope จะค่อย ๆ ลดลง (รูปที่ 1) แสดงว่า activity ของเอนไซม์เริ่มช้าลง ณ เวลานั้น



รูปที่ 1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการ incubate ที่ 30°C. กับ Absorbance ที่เปลี่ยนไป เนื่องจาก activity ของ GGTP ในซีรัม โดยมีความเข้มข้นของสารต่าง ๆ ในหลอดทดลองดังกล่าวใน "วิธีการ"

ผลจากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่มีต่อการตรวจหา activity ของ GGTP

พบว่า activity ของเอนไซม์ GGTP จะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ เมื่ออุณหภูมิที่ใช้ในการ incubate เพิ่มขึ้นจาก 20°C. จนถึง 45°C. และเมื่ออุณหภูมิที่ใช้ในการ incubate สูงกว่านี้ activity ของเอนไซม์จะลดลงอย่างรวดเร็ว (รูปที่ 2)



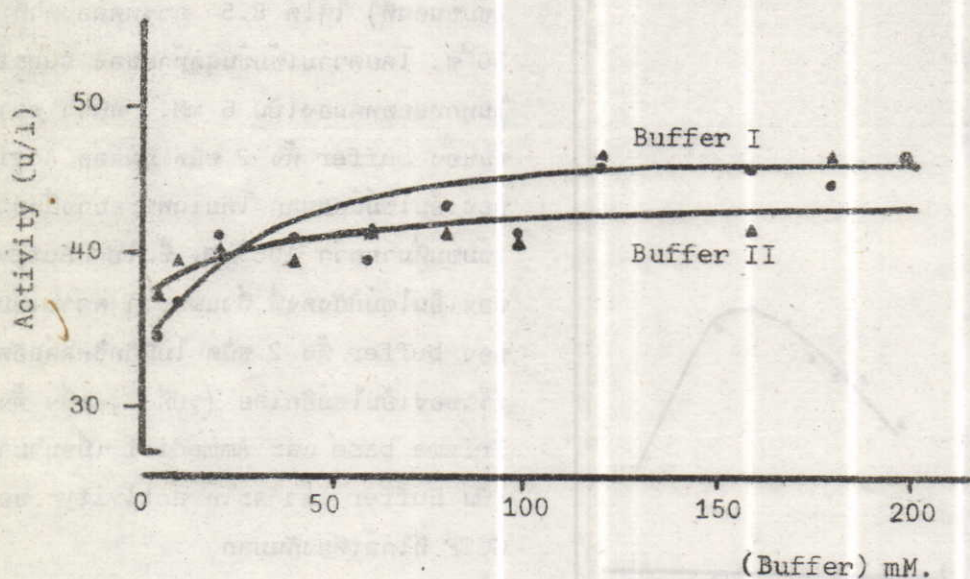
รูปที่ 2 แสดงผลการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่ใช้ในการ incubate ที่มีต่อปฏิกิริยาของ GGTP ในซีรัม โดยมีความเข้มข้นของสารต่าง ๆ ในหลอดทดลองดังที่กำหนดไว้ใน "วิธีการ"

ชนิดและความเข้มข้นของ buffer ที่มีผลต่อ GGTP activity

Tris และ Ammediol buffer ได้ถูกนำมาเตรียม buffer-acceptor ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน โดยมีความเข้มข้นตั้งแต่ 100 mM จนถึง 200 mM. ให้ความเข้มข้นของ acceptor คงที่ที่ 138 mM. ปรับ pH ของ buffer (ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน)-acceptor (ความเข้มข้นคงที่) ให้ได้ 8.5 การทดลองทำที่ 30°C. โดยความเข้มข้นสุดท้ายของ substrate ในทุกหลอดทดลองเป็น 6 mM. พบว่า ความเข้มข้นของ buffer ทั้ง 2 ชนิด มีผลต่อ Activity ของเอนไซม์น้อยมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งความเข้มข้นที่มากกว่า 100 mM. ขึ้นไป Activity ของเอนไซม์ก็ยังคงที่ ซึ่งแสดงว่า ความเข้มข้นของ buffer ทั้ง 2 ชนิด ไม่มีอิทธิพลต่ออัตราเร็วของเอนไซม์อีกเลย (รูปที่ 3) อนึ่ง ทั้ง Trizma base และ Ammediol เมื่อนำมาใช้เป็น Buffer แล้ว จะให้ activity ของ GGTP ที่ใกล้เคียงกันมาก

pH ของ buffer-acceptor ที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาของ GGTP จากซีรัมของคน

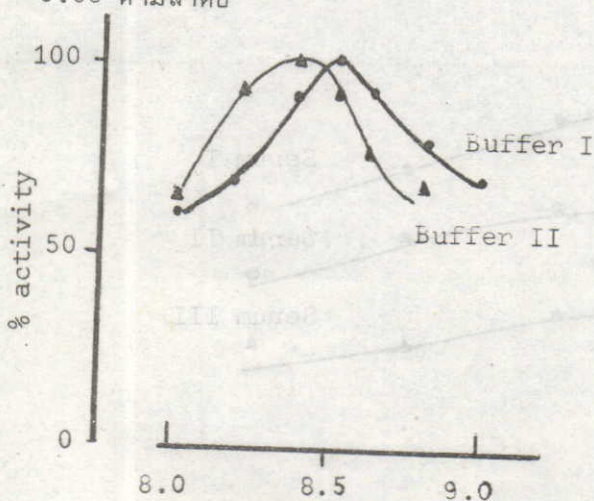
การตรวจหา pH ที่เหมาะสมของ buffer-acceptor 2 ชนิด คือ Tris (115 mM)-glycylglycine (138 mM) buffer และ Ammediol (115 mM)-glycylglycine (138 mM) buffer โดยปรับ pH ใน buffer ทั้งสองให้ได้ 3-9 ความเข้มข้นสุดท้ายของ substrate ในแต่ละหลอดทดลองเป็น 6.0 mM การทดลองทำที่อุณหภูมิ 30°C. พบว่าเอนไซม์จะ



รูปที่ 3 แสดงผลการใช้ buffers 2 ชนิด ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อ activity ของ GGT จากซีรัมของผู้ป่วย การทดลองทำเมื่อ buffer ทุกชนิด และทุกความเข้มข้นมี pH 8.5 โดยที่ r-glutamyl-p-nitroanilide substrate มีความเข้มข้นสุดท้าย เป็น 6 mM. และ glycylglycine acceptor มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 120 mM. ในทุกหลอดทดลอง

Buffer I : Trizma-base (●—●), Buffer II : Ammediol (▲—▲)

เริ่มทำงานเมื่อ buffer ทั้งสองมี pH มากกว่า 7.5 และ pH ที่ให้ activity ของ GGTP สูงสุด ใน glycylglycine buffer คือ 8.5 และใน Ammediol-glycylglycine buffer คือ 8.4 ดังแสดงในรูปที่ 4 pH สุดท้ายของส่วนผสมของปฏิกิริยาในแต่ละหลอดทดลอง หลังจากเติม r-glutamyl-p-nitroanilide substrate ซึ่งละลายใน 0.5 M HCl ลงไปใน Tris-glycylglycine buffer pH 8.5 หรือ Ammediol-glycylglycine buffer pH 8.4 จะมีค่าประมาณ 8.0 และ 8.0 ± 0.05 ตามลำดับ



pH ของ buffer ก่อนเติม substrate

รูปที่ 4 การตรวจหา pH ที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาของ GGTP จากซีรัมของผู้ป่วยใน buffer ชนิดต่าง ๆ ที่มีความเข้มข้น 115 mM การทดลองทำโดยใช้ glycylglycine ความเข้มข้น 138 mM เป็น acceptor, r-glutamyl-p-nitroanilide substrate ในทุกหลอดทดลองมีความเข้มข้น 6 mM และการทดลองทำที่ 30°C. Buffer I; Trizma base (●—●), Buffer II; Ammediol (▲—▲)

ความเข้มข้นที่เหมาะสมของ substrate

ในการทดลองหาความเข้มข้นของ substrate ใน buffer 2 ชนิด โดยมี glycylglycine เป็น acceptor พบว่า เมื่อใช้ buffer ความเข้มข้น 115 mM และ acceptor เข้มข้น 138 mM (หรือความเข้มข้นสุดท้ายในหลอดทดลองเป็น 100 mM. และ 120 mM. ตามลำดับ) และ buffer-acceptor มี pH 8.5 การทดลองทำที่ 30°C. substrate ความเข้มข้นสุดท้ายในหลอดทดลองตั้งแต่ 0.5 mM. จนถึง 10 mM. พบว่า ใน Tris-glycylglycine buffer activity ของเอนไซม์จะคงที่เมื่อ substrate มีความเข้มข้น 4 mM. ในหลอดทดลอง และคงที่ไปจนถึง 6 mM. หลังจากนั้น activity ของเอนไซม์จะลดลง พร้อมทั้งพบว่า substrate ตกตะกอนในหลอดทดลอง ค่า K_m ของ GGTP ในซีรัมต่อ r-glutamyl-p-nitroanilide substrate ใน buffer ชนิดนี้มีค่า 0.69 mM. (รูปที่ 5,6)

สำหรับ activity ของเอนไซม์ GGTP ใน Ammediol-glycylglycine buffer จะเริ่มคงที่เมื่อ substrate มีความเข้มข้นประมาณ 4 mM. ในหลอดทดลองและคงที่ไปจนถึง 8 mM. เมื่อความเข้มข้นของ substrate ลดต่ำกว่า 4 mM. activity ของเอนไซม์จะลดลงอย่างรวดเร็ว ค่า K_m ของ GGTP ในซีรัมต่อ r-glutamyl-p-nitroanilide substrate มีค่าประมาณ 0.81 mM. (รูปที่ 7,8)

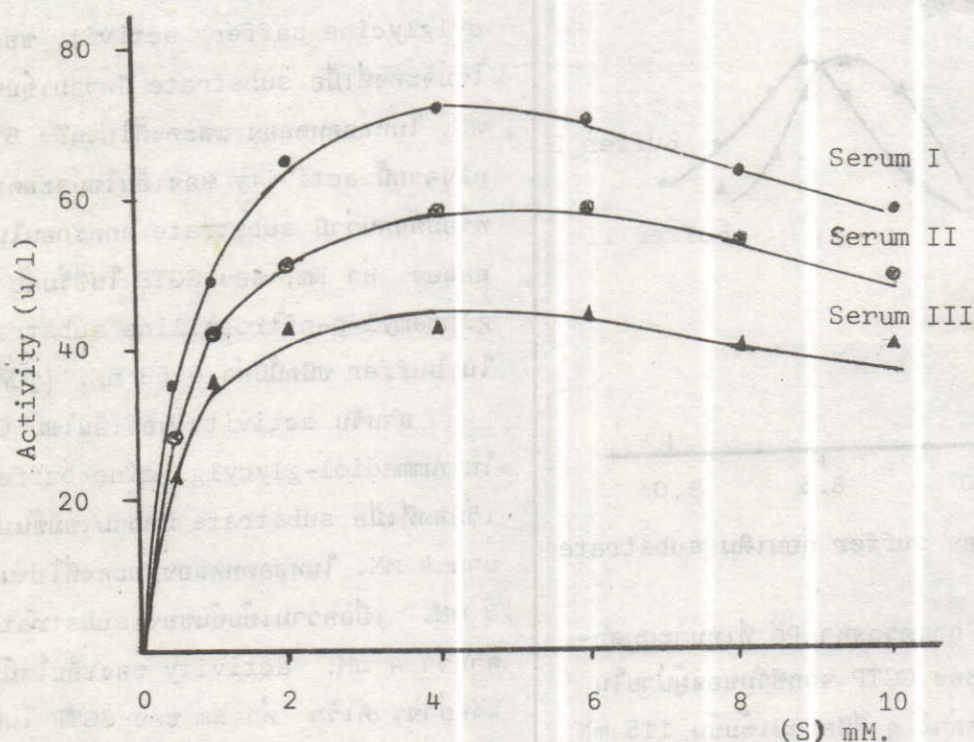
ความเข้มข้นและชนิดของ acceptors

Acceptors ที่นำมาเปรียบเทียบกับมี 5 ชนิด คือ glycylglycine, glycylalanine, methionine, arginine และ α -aminobu-

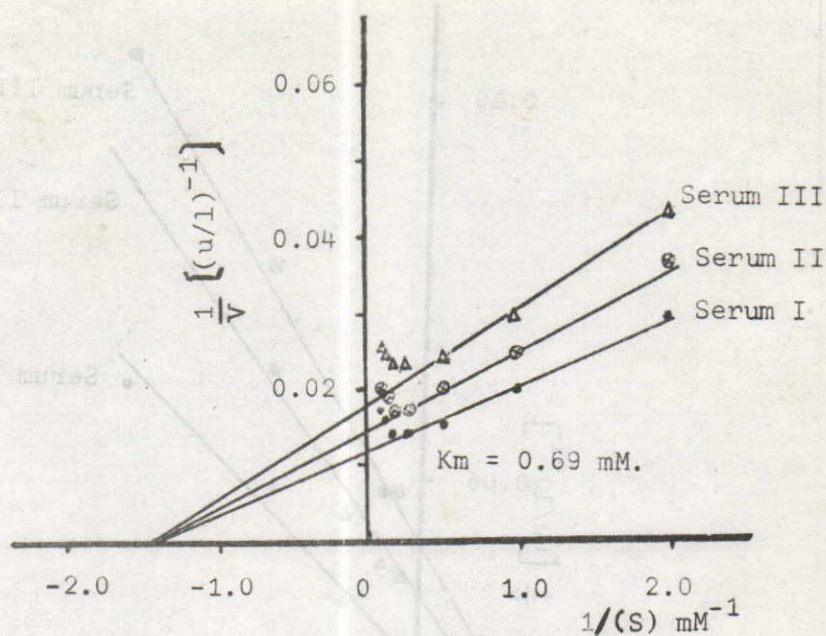
tyric acid จากการทดลอง เมื่อใช้ buffer และ acceptor ดังนี้คือ

Trizma base (115 mM) รวมกับ glycylglycine (138 mM), หรือ glycylalanine (23 mM) หรือ methionine (138 mM) หรือ arginine (138 mM) หรือ α -aminobutyric acid (138 mM) และเมื่อใช้ Ammediol (115 mM) รวมกับ ac-

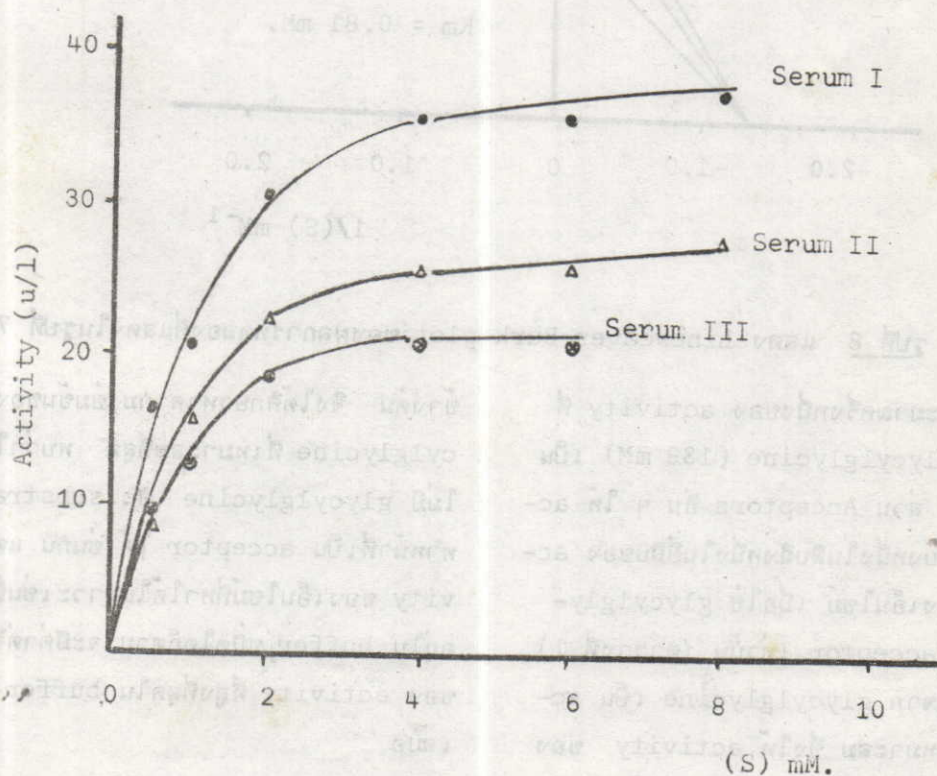
ceptors เช่นเดียวกับ Trizma base ดังนั้น จะมี buffer-acceptor รวม 10 ชนิด ปรับ pH ให้ได้ 8.5 ใช้ substrate ความเข้มข้น 6 mM ในทุกหลอดทดลอง การทดลองทำที่อุณหภูมิ 30°C. พบว่าไม่ว่าจะใช้ buffer ใดก็ตาม เมื่อมี glycylglycine เป็น acceptor จะทำให้ GGTP มี activity สูงที่สุด ในขณะที่ glycylalanine (23 mM) จะให้ ac-



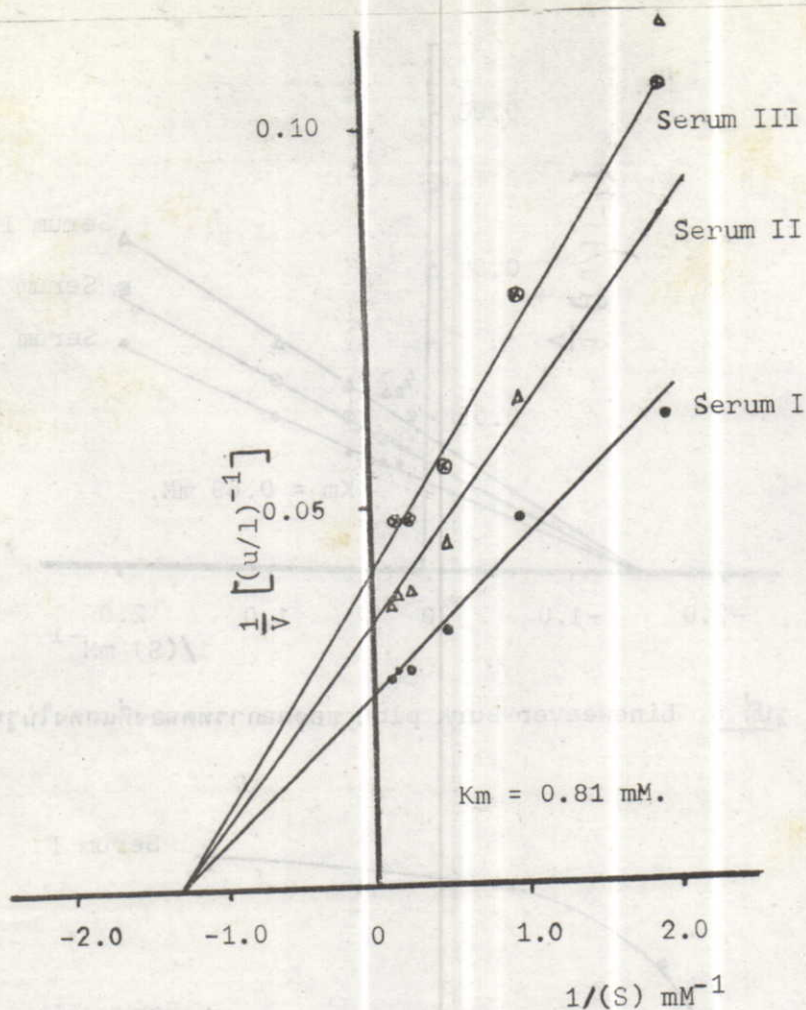
รูปที่ 5 แสดงความเข้มข้นที่เหมาะสมของ r-glutamyl-p-nitroanilide substrate ใน 115 mM. Trizma (base) buffer, pH 8.5 การทดลองทำที่อุณหภูมิ 30°C. โดยใช้ glycylglycine ความเข้มข้น 138 mM. เป็น acceptor



รูปที่ 6 Lineweaver Burk plot ของผลการทดลองที่แสดงในรูปที่ 5



รูปที่ 7 แสดงความเข้มข้นที่เหมาะสมของ r-glutamyl-p-nitroanilide substrate ใน 115 mM. Ammediol buffer, pH 8.5 การทดลองทำที่อุณหภูมิ 30°C. โดยใช้ glycylglycine ความเข้มข้น 138 mM. เป็น Acceptor



รูปที่ 8 แสดง Lineweaver-Burk plot ของผลการทดลองที่แสดงในรูปที่ 7

tivity ประมาณครึ่งหนึ่งของ activity ที่พบเมื่อใช้ glycylglycine (138 mM) เป็น Acceptor ส่วน Acceptors อื่น ๆ ให้ activity เพียงหนึ่งในสิบถึงหนึ่งในยี่สิบของ activity ของเอ็นไซม์ เมื่อใช้ glycylglycine เป็น acceptor เท่านั้น (ตารางที่ 1)

เนื่องจาก glycylglycine เป็น acceptor ที่เหมาะสม ซึ่งให้ activity ของเอ็นไซม์สูงสุดใน buffer ทุกชนิดที่ได้ทดลองมา

ข้างต้น จึงได้ศึกษาหาความเข้มข้นของ glycylglycine ที่เหมาะสมที่สุด พบว่าในขณะที่ไม่มี glycylglycine ตัว substrate จะทำหน้าที่เป็น acceptor ได้เช่นกัน แต่ activity ของเอ็นไซม์ที่หาได้ในภาวะเช่นนี้ไม่ว่าจะอยู่ใน buffer ชนิดใดก็ตาม จะมีค่าต่ำกว่า 10% ของ activity ที่สูงที่สุดใน buffer ชนิดนั้น ๆ เสมอ

ความเข้มข้นของ glycylglycine ที่ให้ maximum velocity ใน buffer ที่มีความเข้มข้น 115 mM pH 8.5 ชนิดต่าง ๆ กัน เมื่อความเข้มข้นของ r-glutamyl-p-nitroanilide substrate มีค่า 6 mM ในทุกหลอดทดลอง และการทดลองทำที่ 30°C. มีดังนี้ คือ

ใน Tris-buffer (Trizma-base) ความเข้มข้นของ glycylglycine ที่ทำให้ GGTP ในซีรัมมี maximum velocity คือที่ประมาณ 120 mM ขึ้นไป โดยให้ค่า Km เท่ากับ 44.4 mM ส่วนใน Ammediol-buffer เอ็นไซม์ให้ maximum velocity ที่ glycylglycine เข้มข้นประมาณ 100 mM ขึ้นไป โดยมีค่า Km ประมาณ 23.3 mM. (รูปที่ 9, 10)

ตารางที่ 1 แสดง % Activity ของเอ็นไซม์ r-glutamyl transpeptidase ใน Tris และ Ammediol buffer เข้มข้น 115 mM. pH 8.5, substrate มีความเข้มข้นคงที่ 69 mM. การทดลองทำที่อุณหภูมิ 30°C เมื่อใช้ acceptors ชนิดต่าง ๆ กัน

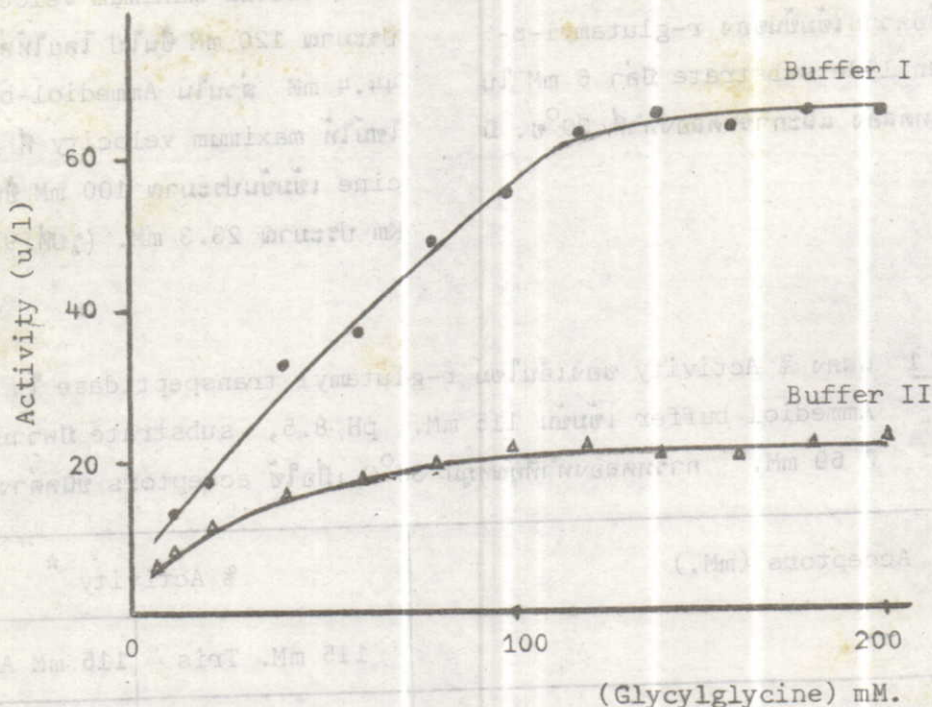
Acceptors (mM.)	% Activity *	
	115 mM. Tris	115 mM Ammediol
glycylglycine (138 mM.)	100	100
glycylalanine (23 mM.)	56-58	33-38
α -aminobutyric acid (138 mM.)	6-7	4-7
methionine (138 mM.)	2-4	4-5
arginine (138 mM.)	5-9	4-10

* % enzyme activity จากซีรัมที่มีความเข้มข้นต่างกัน 3 ตัวอย่าง

ความถูกต้อง (Accuracy)

ซีรัมที่มี GGTP ในความเข้มข้น 17 u/l และ 84 u/l เมื่อนำมาผสมกันในอัตราส่วนที่แตกต่างกันทั้งหมด 5 อัตราส่วน และได้คำนวณหา enzyme activity โดยใช้ Tris (115 mM)-glycylglycine (138 mM.) buffer

pH 8.5, r-glutamyl-p-nitroanilide substrate เข้มข้น 6 mM ในหลอดทดลอง พบว่า correlation ระหว่าง activity ที่ได้จากการคำนวณและที่ตรวจพบจริง ๆ ได้เป็นเส้นตรง โดยมี Coefficient of correlation (r) เท่ากับ 0.9992 (รูปที่ 11)



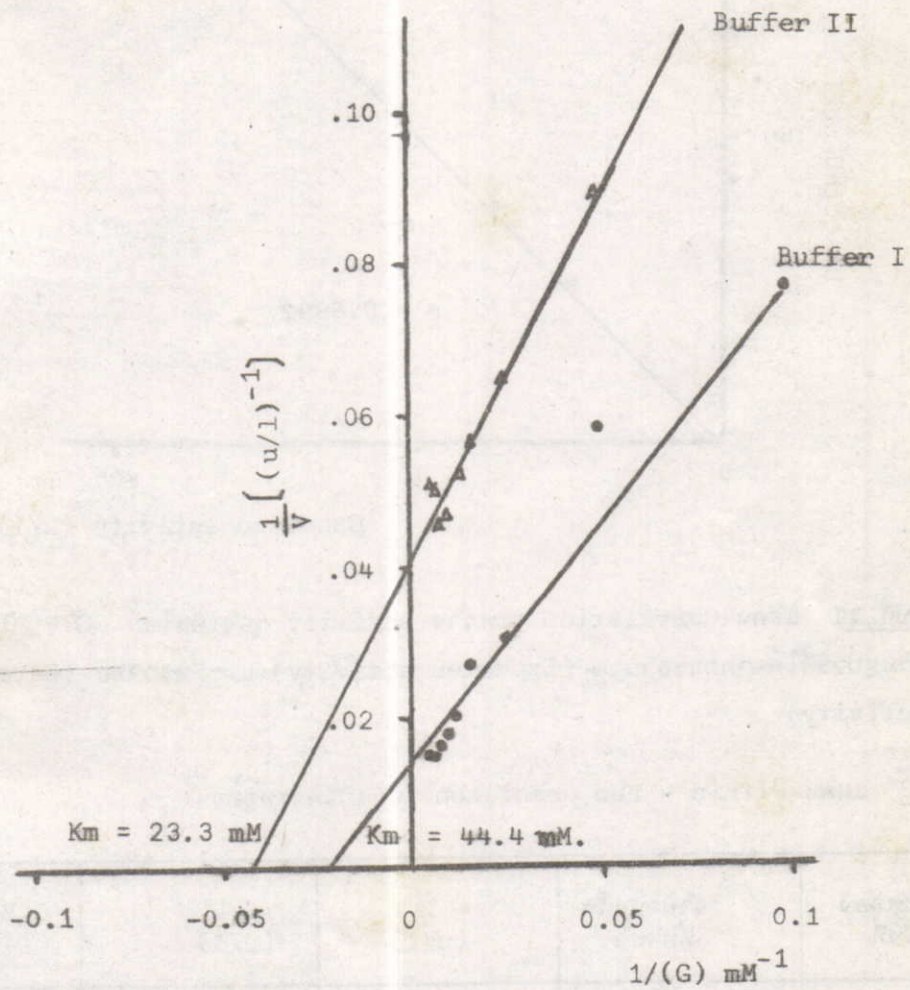
รูปที่ 9 แสดงผลของ glycylglycine acceptor ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อ GGTP activity ในซีรัม เมื่อใช้ Buffer ความเข้มข้น 110 mM. pH 8.5 การทดลองทำที่ 30°C. โดยใช้ r-glutamyl-p-nitroanilide substrate เข้มข้น 6 mM ในทุกหลอด

Buffer I; Trizma-base (●—●), Buffer II; Ammediol (▲—▲) และการทดลองใช้ซีรัมคนละอัน

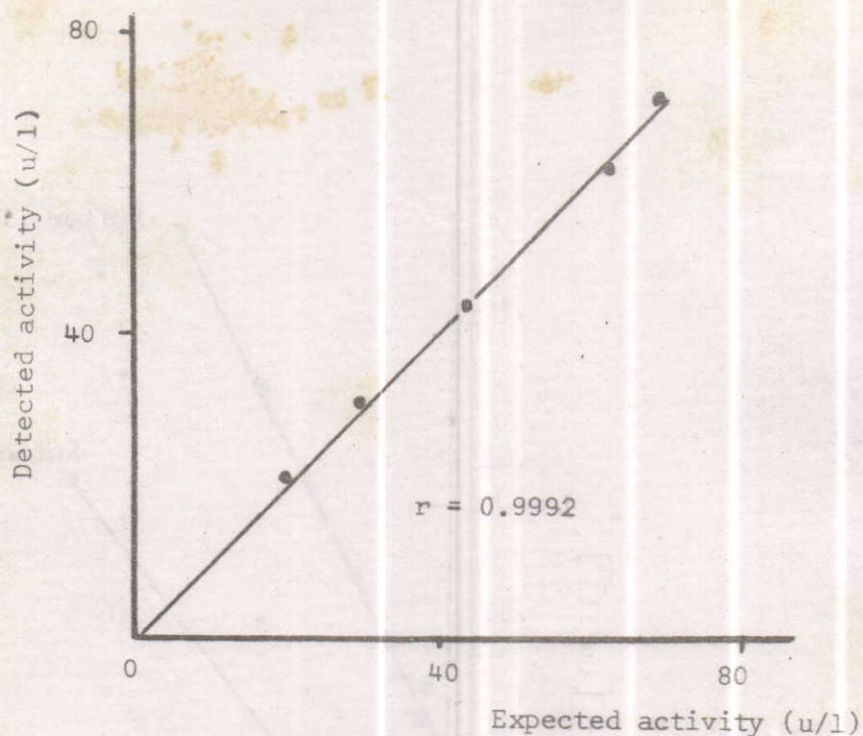
ความแม่นยำ (Precision)

ใช้ pooled serum ความเข้มข้น 2 ระดับ นำมาหา activity เช่นเดียวกับการหาความถูกต้องข้างบน โดยในแต่ละ pooled serum ได้นำมาหา activity ซ้ำ ๆ กัน 12 ครั้ง พบว่า within-run precision ได้ค่า

coefficient of variation เท่ากับ 9.2% และ 5.6% เมื่อซีรัมมี enzyme activity 11.16 u/l และ 50.83 u/l ตามลำดับ (ตารางที่ 2)



รูปที่ 10 Lineweaver-Burk Plot ของผลการทดลองที่แสดงในรูปที่ 9



รูปที่ 11 แสดง Correlation ระหว่าง activity ของเอ็นไซม์ GGTP ใน
 สิริร่วมผู้ป่วยที่ได้จากการคำนวณ (Expected activity) และที่ตรวจพบ (Detected
 activity)

ตารางที่ 2 แสดง Within - run precision ของวิธีการทดลอง

การทดลอง ครั้งที่	จำนวนครั้งที่ ทำซ้ำ	$\bar{X}$ (u/l)	S.D. (u/l)	C.V.* (%)
1	12	11.16	1.03	9.2
2	12	50.83	2.86	5.6

* % Coefficient of variation (% C.V.) = $\frac{\text{Standard deviation (S.D.)}}{\bar{X}} \times 100$

$\bar{X}$

บทวิจารณ์

การวัดอัตราเร็วของเอ็นไซม์โดยวิธี manual กระทำได้ยากกว่าการใช้ automatic machine โดยเฉพาะในกรณีที่ต้องการการควบคุมอุณหภูมิของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น การทดลองนี้ได้เลือกใช้อุณหภูมิ 30°C. ซึ่งใกล้เคียงกับอุณหภูมิห้องปกติ (28°C.) และ activity ของเอ็นไซม์ที่ตรวจพบที่ 30°C. กับที่อุณหภูมิห้อง แตกต่างกันน้อยมาก การเลือกใช้ อุณหภูมินี้ในห้องปฏิบัติการที่ไม่สามารถควบคุมให้อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิห้องได้เช่นที่ 25°C. (9) จะทำให้การติดตามอัตราเร็วของเอ็นไซม์ได้สะดวกยิ่งขึ้น และถ้าใช้อุณหภูมิสูงกว่า 30°C. แม้ว่าจะตรวจพบ enzyme activity ได้สูงกว่าก็ตาม แต่จะพบว่าปฏิกิริยาต้องการปริมาณของ substrate มากขึ้น เช่นที่ 37°C. (11) ซึ่งพบว่าความเข้มข้นสุดท้ายที่เหมาะสมของ substrate ในหลอดทดลองคือ 9 mM.

pH ที่เหมาะสมของ buffer-acceptor ใน Tris (115 mM.)-glycylglycine (138 mM.) buffer คือ 8.5 Rosalki และ Tarlow (11) ซึ่งใช้ automated method พบว่า หลังจากเติม substrate เข้มข้น 9 mM. ลงไปในปฏิกิริยาของเอ็นไซม์ที่ใช้ Tris (115 mM.)-glycylglycine (138 mM.) เป็น buffer ที่ pH 8.5 pH สุดท้ายของส่วนผสมของปฏิกิริยาจะเป็น 8.0 ซึ่งเป็น pH ที่เอ็นไซม์ให้ activity สูงสุด ในการทดลองในห้องปฏิบัติการแห่งนี้ เมื่อใช้ Ammediol (115 mM.)-glycylglycine (138 mM.) เป็น buffer-acceptor pH

ที่เหมาะสมที่สุดคือ 8.4 ซึ่งโดย automated method, Szasz (9) พบว่าเมื่อใช้ substrate (4.4 mM. L-r-glutamyl-p-nitro-nilide) ละลายใน Ammediol (50 mM.)-glycylglycine (22 mM.) buffer จะได้ pH ที่เหมาะสมอยู่ในช่วงกว้างระหว่าง 8.0 ถึง 8.2 ที่ 25°C. การทดลองในห้องปฏิบัติการแห่งนี้ให้ผลลัพท์อันเนื่องกับการทดลองของผู้วิจัยทั้งสอง (9, 11) อย่างไรก็ตาม การเตรียม substrate โดยเติมลงไป buffer-acceptor เลย ตามวิธีของ Szasz นี้ (9) ไม่เหมาะสม โดยเฉพาะที่อุณหภูมิ 30°C. เพราะว่า ปฏิกิริยาอาจจะเริ่มต้นจาก substrate hydrolysis ในระหว่าง pre-incubation period ก่อนที่จะเติมซีรัม (เอ็นไซม์) ลงไป ทำให้เกิด transpeptidation ไปยังตัว substrate เอง (internal transpeptidation) หรือไปยัง glycylglycine acceptor ที่มีอยู่ใน buffer นั้น และอีกประการหนึ่ง คือ จะทำให้ไม่สามารถเก็บ buffer ชนิดนี้ไว้ได้นาน แม้ที่อุณหภูมิห้อง เพราะ substrate จะอิ่มตัวและตกตะกอนลงใน buffer เสียก่อน ดังนั้นการแยก substrate ออกมาและใช้เป็นตัวเริ่มปฏิกิริยา ดังที่ผู้วิจัยได้ทำนี้ จึงนับว่าเหมาะสมกว่าด้วยประการทั้งปวง

การใช้ Tris (base) หรือ Ammediol ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน มาเตรียมเป็น buffer รวมไปกับ glycylglycine acceptor ที่ความเข้มข้นคงที่ จะมีผลต่อ activity ของเอ็นไซมน้อยมากที่อุณหภูมิ 30°C. ดังนั้นจะใช้ buffer ชนิดใดชนิดหนึ่งก็ให้ผลดีเท่ากัน โดย

เฉพาะที่ความเข้มข้นของ buffer ที่มากกว่า 100 mM. ในหลอดทดลอง Szasz (9) พบว่า สามารถจะใช้ Triethanolamine หรือ Diethanolamine ได้เช่นเดียวกับ Tris หรือ Ammediol แต่ลำดับของการละลายของ substrate (6.6 mM.) ใน buffer ทั้ง 4 ชนิดแตกต่างกัน และการละลายของ substrate ใน Ammediol จะดีกว่าใน Tris (base)

เมื่อใช้ Tris หรือ Ammediol เข้มข้น 115 mM. เป็น buffer และ glycylglycine (138 mM.) เป็น acceptor ที่ pH 8.5 พบว่า substrate ที่มีความเข้มข้นสุดท้ายในหลอดทดลองเกินกว่า 6.0 mM. จะก่อให้เกิดการตกตะกอนทันที หลังจากที่ได้เติมเอ็นไซม์ลงไปที่อุณหภูมิ 30°C. และเมื่อความเข้มข้นของ substrate ต่าง ๆ กันนี้ ค่า Michaelis constant ของปฏิกิริยา สำหรับ α -glutamyl-p-nitroanilide substrate ใน Tris (115 mM.)-glycylglycine (138 mM.) buffer มีค่าเท่ากับ 0.69 mM. เมื่อใช้ Ammediol (115 mM.)-glycylglycine (138 mM.) เป็น buffer Km สำหรับ substrate ในปฏิกิริยานี้ จะมีค่า 0.81 mM. ซึ่งต่างจากที่ Szasz (9) ได้รายงานไว้คือ 0.96 mM. เมื่อใช้ buffer ชนิดเดียวกัน แต่อุณหภูมิในการทดลองต่างกัน (25°C.)

Acceptor ที่ดีที่สุดจากการทดลองนี้ คือ glycylglycine สำหรับ glycylalanine เป็น peptide ซึ่งสามารถนำมาใช้ได้เช่นกัน เนื่องจากพบ activity ของเอ็นไซม์สูงถึง

40-60% เปรียบเทียบกับเมื่อใช้ glycylglycine เป็น acceptor ทั้ง ๆ ที่ความเข้มข้นของ glycylalanine เป็นเพียงหนึ่งในหกของความเข้มข้นของ glycylglycine ที่ใช้เท่านั้น อย่างไรก็ตาม สิ่งที่จะต้องพิจารณาคือ glycylalanine ราคาแพงกว่า glycylglycine อย่างมาก

วิธี manual ที่ใช้นี้ให้ความถูกต้องและแม่นยำใกล้เคียงกับ automated method ที่มีผู้ศึกษา (9, 11) และจากการทดลองในเรื่องความถูกต้องนี้ สรุปได้ว่า ความเข้มข้นของเอ็นไซม์ GGTP (หรือ Calculated enzyme activity) ในซีรัมของผู้ป่วยที่มี activity ตั้งแต่ศูนย์ จนถึง 84 u/l เป็นปฏิกิริยาโดยตรงกับ activity ที่ตรวจพบจริง (detected enzyme activity).

คำขอบคุณ

ผู้วิจัยขอขอบคุณรองศาสตราจารย์ ดร. ขวัญชัย รัตนเสถียร ที่ให้คำแนะนำ ที่เป็นประโยชน์เกี่ยวกับการทดลองเรื่อง buffer.

เอกสารอ้างอิง

1. Hanes, C.S., Hird, F.J.R., and Isherwood, F.A. : Synthesis of peptide in enzymatic reactions involving glutathione. Nature (London). 166, 288-292 (1950).
2. Hanes, C.S., Hird, F.J.R., and Isherwood, F.A. : Enzymatic transpeptidation reaction involving α -glutamyl peptide and α -amino-

- acyl peptides. *Biochem. J.* 51, 25-35 (1952).
3. Rosalki, S.B., Gamma-glutamyl transpeptidase. In "Advances in Clinical Chemistry" (O. Bodansky, and A.L. Latner, eds), vol. 17, pp. 53-107. Academic Press, New York, San Francisco and London, 1975.
 4. Szewczuk, A., and Orlowski, M., The use of α -(N-r-DL-glutamyl)-amino-nitrile for the colorimetric determination of a specific peptidase in blood serum. *Clin. Chim. Acta.* (5), 680-688 (1960).
 5. Goldbarg, J.A., Friedman, O.M., Pineda, E.P., Smith, E.E., Chatterji, R., Stein, E.H., and Rutenburg, A.M., The Colorimetric determination of r-glutamyl transpeptidase with a synthetic substrate. *Arch. Biochem. Biophys.* 91, 61-70, (1960).
 6. Orlowski, M., and Szewczuk, A., Determination of r-glutamyl transpeptidase activity in human serum and urine. *Clin. Chim. Acta.* 7, 755-760 (1962).
 7. Orlowski, M., and Meister, A., r-glutamyl-p-nitroanilide : A new convenient substrate for determination and study of L- and D-r-glutamyl transpeptidase activities. *Biochim. Biophys. Acta.* 73, 679-681 (1963).
 8. Kinoshita, J.H., and Ball, E.G., A transpeptidation reaction between glutathione and arginine. *J. Biol. Chem.* 200, 609-617 (1973).
 9. Szasz, G., A kinetic photometric method for serum r-glutamyl transpeptidase. *Clin. Chem.* 15, 124-136 (1969).
 10. Rosalki, S.B., Rau, D., Lehmann, D., and Prentice, M., Determination of serum r-glutamyl transpeptidase activity and its clinical applications. *Ann. Clin. Biochem.* 7, 143-147 (1970).
 11. Rosalki, S.B., and Tarlow, D., Optimized determination of r-glutamyltransferase by reaction-rate analysis. *Clin. Chem.* 20, 1121-1124 (1974).
 12. Kachmar, J.F., and Moss, D.W., Gamma glutamyltransferase. In "Fundamentals of Clinical Chemistry" (N. Tietz, ed.) pp. 621-625. W.B. Saunders Company, Philadelphia, London and Toronto, 1976.

A COLORIMETRIC DETERMINATION OF HUMAN SERUM GAMMA GLUTAMYL TRANSPEPTIDASE
(GGTP) ACTIVITY : I. A SUITABLE TECHNIQUE*

Rujapa Nimsung, M.S. (Biochemistry)**

Audomsark Haesungcharern, Ph.D. (Biochemistry)**

Kumpol Klunklin, B.Sc. (pharm), M.D., M.S.***

ABSTRACT

The optimal conditions for determination of the rate of serum gamma glutamyl transpeptidase reaction by using manual colorimetric method were studied. The procedure employed 0.1 ml. serum enzyme which was incubated in Tris (115 mM.) or Ammediol (115 mM.)-Glycylglycine (138 mM.) buffer pH 8.5 at 30°C for 15 minutes, then adding 0.2 ml. of gamma glutamyl-p-nitroanilide substrate which was dissolved in 0.5 M HCl into the incubating tube. The rate of enzyme reaction was followed for 20 minutes in Spectronic

70 Spectrophotometer at 405 nm. It was found that the optimal substrate concentration in the reaction tube was 6.0 mM. in both buffers, giving the Km by Lineweaver-Burk plot at 0.69 mM. in Tris buffer and 0.81 mM. in Ammediol buffer. The accuracy and precision of the method being used were also studied and showed very good agreement with those studies by automated method. The relationship between enzyme concentration (or calculated activity) and the detected enzyme activity remains linear within the range 0-84 u/l

* Support by Grant from Chiang Mai University (1979-1980)

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

*** Department of Medicine, Faculty of Medicine, Chiang Mai University.



รายงานตรวจเซลล์วินิจฉัยมะเร็งปากมดลูกของผู้ป่วยสตรีไทยในภาคเหนือ

รานิษฐ์ การวัฒนาศิริกุล วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)*

บทคัดย่อ

ในระยะเวลา 18 ปี ตั้งแต่ปี พ.ศ.2505 ถึง พ.ศ.2522 ที่ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทย-
ศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ได้รับการตรวจภายใน หรือ pap smear จำนวนทั้งสิ้นประมาณ
25,004 ราย มีอัตราเฉลี่ยการเป็นโรคมะเร็งปากมดลูกดังนี้ กลุ่มผู้ป่วยที่น่าจะเป็น invasive car-
cinoma ค่อนข้างแน่นอน มีอัตราเฉลี่ย 4.6/1,000 ราย ผู้ที่น่าจะเป็น carcinoma in situ ค่อน
ข้างแน่นอน มีอัตราเฉลี่ย 7.7/1,000 ราย และกลุ่มผู้ป่วยที่เป็น dysplasia มีอัตราเฉลี่ย 24.2/
1,000 ราย อายุเฉลี่ยของผู้ป่วยทั้งหมดที่มารับการตรวจคือ 41.4 ปี กลุ่มอายุผู้ป่วยที่เป็นโรคมะเร็ง
ปากมดลูกที่พบมากที่สุด มีอายุระหว่าง 40 ปี ถึง 50 ปี และกลุ่มอายุที่พบน้อยอยู่ในช่วงอายุที่ต่ำกว่า
35 ปี และสูงกว่า 65 ปี กลุ่มผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งปากมดลูกส่วนมากแต่งงานแล้ว โดยเฉพาะอย่างยิ่ง
พวกแม่เฒ่าที่สามีตายหรือหย่าร้าง และพวกสตรีที่แต่งงานหลายครั้ง และที่พบน้อย คือระยะตั้งครรภ์ กับ
ระยะเริ่มแรกที่ถูกหึงสามารถผสมพันธุ์หรือปฏิสนธิได้

บทนำ (Introduction)

ในการศึกษาวิธีการตรวจมะเร็งปาก
มดลูกโดยวิธีเซลล์วินิจฉัย (Cytological
diagnosis) ของกลุ่มผู้ป่วยสตรีไทย ที่มารับ
การตรวจภายในที่ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะ-
แพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ตั้งแต่
ปี พ.ศ. 2505-2522 รวมเป็นระยะเวลา 18 ปี
ผู้ป่วยที่ได้รับการตรวจภายในรวมทั้งสิ้น 25,004
ราย จากจำนวนประชากรจังหวัดเชียงใหม่ที่
เป็นเพศหญิงประมาณ 561,087 คน สตรีภาค
เหนือรวมประมาณ 4,639,688 คน (จากกอง
ทะเบียนกรรมการปกครอง 31 ธันวาคม 2521)
จากประวัติผู้ป่วย ส่วนมากมีภูมิลำเนาอยู่ต่าง
จังหวัดประมาณ 70% ประชากรในแถบภาคเหนือ
ส่วนมากนับถือศาสนาพุทธ 95.3% อิสลาม 3.8%
คริสต์ 0.6% และอื่นๆ อีก 0.3% (จากสมุด
สถิติรายปี ประเทศไทย 2515 - 2516) ถ้า

เปรียบเทียบจำนวนประชากรที่ได้รับการตรวจกับที่
ยังไม่ได้รับการตรวจ จะเห็นว่ายังมีประชากรเพศ
หญิงอีกจำนวนมากที่ยังไม่เคยตรวจภายในโดยใช้
เซลล์วิทยาวิธีวินิจฉัย

การตรวจเซลล์จากอวัยวะระบบสืบ-
พันธุ์สตรี โดยวิธีนี้มีประโยชน์มากในปัจจุบันเพราะ
สามารถตรวจเซลล์มะเร็งในระยะเริ่มแรกได้ดีมาก
รวมทั้งการตรวจหาสาเหตุอื่นๆ อีกหลายประการ
อาทิเช่น วินิจฉัยหาลาเหตุการติดเชื้อในช่องคลอด
ว่ามีสาเหตุจากเชื้อพยาธิ เชื้อรา แบคทีเรีย ไวรัส
อหิวา และยังสามารถบอกสัดส่วนฮอร์โมนของเพศ
หญิงว่าปกติหรือไม่ โดยอาศัยจำนวนและชนิดของ
เซลล์ และยังใช้ในการบอกโครโมโซมเพศ ประการ
ที่สำคัญคือการตรวจติดตามหรือการตรวจภายในหลังผู้ป่วย
มะเร็งที่ได้รับการรักษาโดยการฉายรังสี ผังแร่ หรือ
ผ่าตัดมดลูกหรือยังคงอยู่ดีขึ้นหรือเลวลง การวินิจฉัย

*

ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

เซลล์ของระบบสืบพันธุ์ตั้งขึ้นอยู่กับลักษณะ
เซลล์ที่หลุดออกมา ซึ่งจะเป็นเหมือนกระจก
เงาที่สะท้อนให้เห็นลักษณะเนื้อเยื่อที่อยู่ใน
ผู้ป่วยว่าเป็นโรคชนิดไหน สาเหตุจากอะไร
เป็นต้น

วัตถุประสงค์ที่ทำรายงานวิจัย
เรื่องนี้ขึ้นมา เพื่อที่จะแสดงให้เห็นว่าการ
ตรวจมะเร็งปากมดลูกโดยวิธีเซลล์วินิจฉัย
นั้น มีประโยชน์และความสำคัญมากน้อย
แค่ไหนในด้านการรักษาและป้องกัน ให้
ทราบถึงจำนวนสถิติผู้ป่วยที่มารับการตรวจ
มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นหรือลดลง แสดงตัวเลข
อายุเฉลี่ยของสตรีกลุ่มที่มาใช้บริการตรวจ
ที่โรงพยาบาลนครเชียงใหม่ และอายุ
เฉลี่ยผู้ป่วยที่กำลังเริ่มเป็นมะเร็งปาก-
มดลูกตลอดจนผู้ป่วยเป็นมะเร็งปากมดลูก
อยู่แล้วให้ทราบถึงการกระจายอายุของ
ผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งปากมดลูก แสดงถึง
จำนวนเปอร์เซ็นต์ผู้ป่วยที่ได้รับการตรวจ
ซ้ำสองครั้งขึ้นไป ตลอดจนหลักการวินิจฉัย
อย่างย่อและประการที่สำคัญคือ ผล
ของตัวเลขต่าง ๆ มีผลสะท้อนที่มีประโยชน์
ต่อผู้ป่วยและประชากรอย่างไรบ้าง ยก-
ตัวอย่าง ทำไมอายุเฉลี่ยของผู้ป่วยที่มา
รับการตรวจภายในสูงถึงกว่า 40 ปี
อาจจะแสดงให้เห็นว่า ผู้ป่วยมารับการ
ตรวจช้าไป เป็นเพราะสาเหตุจากอะไร
ถ้าเป็นเช่นนี้ควรแนะนำผู้ป่วยหรือประชา-
ชนในท้องถิ่นให้มารับการตรวจให้เร็ว
กว่านี้

วัสดุและวิธีการ (Materials and Methods)

เซลล์ที่ส่งมาตรวจ ได้มาจากอวัยวะสืบพันธุ์-
สตรี แบ่งออกเป็น 3 บริเวณ คือ

- (1) ช่องคลอดส่วนบนด้านหลัง
(posterior fornix) ตำแหน่งนี้จะเป็นที่
รวมของเซลล์ที่หลุดออกมาจากส่วนต่าง ๆ ที่
อยู่เหนือขึ้นไป โดยเฉพาะจากโพรงมดลูก
(endometrium)
- (2) ด้านนอกปากมดลูก (ecto-
cervix) จะได้เซลล์จากบริเวณปากมดลูก
- (3) ด้านในปากมดลูก (endocervix)
จะได้เซลล์จากบริเวณช่องของปากมดลูก
(endocervical canal) และ squamo-
columnar junction เซลล์จากโพรง
มดลูกอาจจะติดตามมาบ้างแต่เป็นส่วนน้อยมาก

วิธีทำสเมียร์ ใช้แบบ V-C-E technique(7)

วิธีย้อมสี ใช้ Papanicolaou staining
method(2) ประกอบด้วยหลักใหญ่ 3 ประการ

- (1) การย้อมนิวเคลียส ใช้สี
Harris' hematoxylin
- (2) การย้อมซัยโตพลาสซึม ใช้สีย้อม
2 ชนิด Orange G-6 และ EA - 50
- (3) การทำให้ใส (clearing)
ใช้น้ำยา xylene

การวินิจฉัยเซลล์ใน pap smear จะต้องดู
ลักษณะเซลล์ปกติ และเซลล์ผิดปกติได้อย่าง
แม่นยำ (2,7,9)

สรุปการแยก Carcinoma in situ จาก dysplasia และ
invasive cell carcinoma โดยอาศัยลักษณะเซลล์และพื้นที่สเมียร์

	Dysplasia	Carcinoma in situ	Invasive CA
นิวเคลียส	มักกลม ขนาดและ รูปร่างสม่ำเสมอ	ส่วนใหญ่กลมขนาด ใกล้เคียงกัน	รูปร่างแปลก ๆ อาจ กลมยาวรี ขนาดแตก- ต่างกันมาก
ซีตโอพลาสซึม	มีจำนวนมากกว่า	มีจำนวนน้อย ล้อมรอบ นิวเคลียสหมดทุกด้าน แต่เป็นเพียงขอบ ๆ เท่านั้น	มีจำนวนน้อยมาก
สัดส่วนของ นิวเคลียสกับ ซีตโอพลาสซึม (N/C ratio)	เพิ่มเล็กน้อยหรือ ไม่เพิ่มเลย	เพิ่มมาก	เพิ่มมาก
ลักษณะของเซลล์	รูปร่างกลมหรือเป็น เหลี่ยมแล้วแต่ชนิด	ส่วนใหญ่รูปร่างกลม ขนาดใกล้เคียงกัน	รูปร่างแปลก ๆ อาจ เป็น tadpole หรือ fiber cell เป็นต้น ขนาดแตกต่างกันมาก
การรวมกลุ่ม ของเซลล์	มักจะไม่ติดกันแน่น เพราะมีซีตโอพลาสซึม มาก	มักจะยึดติดกันแน่น เนื่องจากซีตโอพลาสซึม น้อย	มีทั้งรวมกลุ่มแน่นและ กระจายอยู่ทั่วไป
พื้นที่ของสเมียร์	สะอาด	ค่อนข้างสะอาด	สกปรก เต็มไปด้วย เม็ดเลือดขาว เม็ดเลือด- แดง และเศษเซลล์

การรายงานผลและการจำแนกทางเซลล์วิทยา (2,9) แบ่งระดับออกเป็น 5 ชั้น (class system) ดังนี้

- Class I, Negative for malignant cells.
- Class II, Atypical cells probably benign (usually due to infection).
- Class III, Atypical cells suspicious of malignancy. The lesion is probably an epithelial dysplasia.
- Class IV, Probably malignant cells. The lesion is probably a carcinoma in situ (CIS).
- Class V, Positive for malignant cells. The lesion is probably an invasive carcinoma (ICA).

ผล (Result)

จากตารางที่ 1 ผู้ป่วยที่มาตรวจมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น จำนวนผู้ป่วยที่มารับการตรวจทั้งสิ้น 25,004 ราย 12,552 ราย ที่จำแนกอยู่ในสภาวะที่พบเซลล์ปกติทุกอย่าง หรือ 502.5 รายใน 1,000 ราย จำนวน 11,286 ราย ที่จัดอยู่ใน pap smear class II หรือ 451.8 ราย ใน 1,000 ราย pap smear class III มี 605 ราย หรือ 24.2 ราย ใน 1,000 ราย pap smear class IV มี 192 ราย หรือ 7.7 รายใน 1,000 ราย อีก 122 รายที่จำแนกอยู่ใน pap smear class V หรือ 4.9 รายใน 1,000 ราย จำนวนทั้งหมดที่คาดการณ์ว่าเป็นโรคมะเร็งปาก-

มดลูกมี 919 ราย หรือพบอัตราที่เป็นโรค 36.8 รายใน 1,000 รายของผู้ป่วยที่มาตรวจ

จากตารางที่ 2 เป็นอายุเฉลี่ยของผู้ป่วยที่จัดอยู่ใน pap smear class ต่าง ๆ class I อายุเฉลี่ยของผู้ป่วยเท่ากับ 35.8 ปี class II เท่ากับ 37.5 ปี class III เท่ากับ 42.5 ปี class IV เท่ากับ 45 ปี และ class V เท่ากับ 46 ปี อายุเฉลี่ยทั้งหมดของผู้ป่วยเท่ากับ 41.4 ปี กลุ่มผู้ป่วยที่เป็น dysplasia และที่คาดว่าจะ เป็น CIS มากที่สุด มีอายุอยู่ระหว่าง 40-49 ปี กลุ่มผู้ป่วยที่คาดว่าจะ เป็น ICA มากที่สุด มีอายุอยู่ระหว่าง 30-49 ปี ผู้ป่วยที่เป็น dysplasia ที่มีอายุน้อยที่สุด 20 ปี มี 4 ราย สูงสุด 84 ปี มี 1 ราย ผู้ป่วยที่เป็น ICA ที่มีอายุน้อยที่สุด 24 ปี และอายุสูงสุด 80 ปี อย่างละ 1 ราย ส่วนผู้ป่วยที่เป็น CIS ที่มีอายุน้อยที่สุด 27 ปี สูงสุด 80 ปี อย่างละ 1 ราย อายุของผู้ป่วยที่มีอายุต่ำกว่า 15 ปี มีทั้งหมด 17 ราย มีลักษณะของเซลล์ปกติที่จัดอยู่ใน class I 8 ราย class II 9 ราย อายุสูงสุดของผู้ป่วยที่มารับการตรวจคือ 84 ปี 1 ราย อายุต่ำสุด 1 ปี 1 ราย

จากตารางที่ 3 เป็นตัวเลขที่จะแจ้งให้ทราบถึงจำนวนผู้ป่วยใน class ต่าง ๆ ที่ได้รับการตรวจซ้ำและในจำนวนรายที่ไม่สามารถอ่านเซลล์วินิจฉัยได้มีทั้งหมด 248 ราย หรือ 1% ตรวจ pap smear 2 ครั้ง มี 111 ราย ใน class I, 145 รายใน class II, 59 รายใน class III, 18 รายใน class IV, และ 3 รายใน class V, ถ้าคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ class I เท่ากับ 0.45% class II เท่ากับ 0.59% class III เท่ากับ 0.24

Table I. Number of Cytologic Examination and Finding

Year	Number of specimens	Cytologic Diagnosis				
		Class I	Class II	Class III	Class IV	Class V
1962	535	220	257	24	20	3
1963	780	160	550	34	22	-
1964	538	160	354	9	4	1
1965	539	208	309	5	4	-
1966	352	88	212	20	23	-
1967	392	164	199	16	5	1
1968	765	288	404	39	16	5
1969	887	500	330	22	14	6
1970	924	584	297	13	5	13
1971	729	440	239	19	3	17
1972	797	453	307	5	4	14
1973	1,200	839	320	13	2	11
1974	1,337	972	334	11	6	3
1975	1,683	953	685	18	4	6
1976	2,046	550	1,410	47	16	9
1977	3,452	944	2,351	110	11	17
1978	4,284	2,180	1,946	107	14	12
1979	3,764	2,847	782	93	19	6
Total	25,004	12,552	11,286	605	192	122
Per thousand		502.5	451.8	24.2	7.7	4.9
						9.5

Table II. Age Distribution

Age (year)	Class I	Class II	Class III	Class IV	Class V
10-19	161	135	-	-	-
20-29	2,998	2,352	51	7	2
30-39	4,005	2,542	87	43	37
40-49	3,299	3,037	228	65	36
50-59	1,124	1,267	98	40	21
60-69	365	334	50	19	14
70-79	108	170	28	6	4
80-89	25	9	14	2	2
Unknown	467	340	49	10	6
Average age	35.8	37.5	42.5	45	46

Average age of screened population 41.4 yrs.

Table III. The frequency of multiple examinations

Year	Number of specimens	Class I		Class II		Class III		Class IV		Class V	
		examination two	examination three	examination two	examination three	examination two	examination three	examination two	examination three	examination two	examination three
1962	535	6	1	9	1	5	-	2	-	-	-
1963	780	3	-	11	-	6	-	3	-	-	-
1964	538	5	-	7	-	1	-	-	-	-	-
1965	539	3	-	8	1	-	-	-	-	-	-
1966	352	4	-	6	-	2	1	4	1	-	-
1967	392	3	-	7	-	3	-	-	-	-	-
1968	765	2	-	9	1	4	1	1	-	-	-
1969	887	4	-	5	-	3	-	1	-	-	-
1970	924	5	1	7	-	1	-	-	-	1	-
1971	729	4	-	3	-	2	1	-	-	-	-
1972	797	7	-	4	-	-	-	-	-	1	-
1973	1,200	9	-	6	-	2	-	-	-	-	-
1974	1,337	10	-	5	1	1	-	-	-	-	-
1975	1,683	13	1	7	-	3	1	-	-	-	-
1976	2,046	7	-	13	1	5	1	1	1	1	-
1977	3,452	5	-	16	1	8	2	1	-	-	-
1978	4,284	10	-	13	2	6	-	2	-	-	-
1979	3,764	11	-	9	1	7	1	3	-	-	-
Total	25,004	111	3	145	9	59	8	18	1	3	0
Percentage		0.45	0.01	0.59	0.04	0.24	0.03	0.07	0.004	0.01	0

class IV เท่ากับ 0.07 และ class V เท่ากับ 0.01% ตรวจ pap smear 3 ครั้ง มี 3 รายใน class I 9 รายใน class II 8 รายใน class III 1 รายใน class IV class V ไม่มีเลยที่ตรวจซ้ำ 3 ครั้ง ถ้าคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ class I เท่ากับ 0.01% class II เท่ากับ 0.04% class III เท่ากับ 0.03% class IV เท่ากับ 0.004% class V เท่ากับ 0% ผู้ป่วยทั้งหมดที่ตรวจซ้ำ 2 ครั้งขึ้นไปมี 357 ราย หรือ 1.43% หรือ 14.3 รายใน 1,000 ราย ผู้ป่วยที่เป็นโรคหรือผู้ป่วยที่สัต์อยู่ใน class III ขึ้นไปมี 89 ราย หรือ 0.36% หรือ 3.6 ราย ต่อ 1,000 ราย

วิจารณ์ (Discussion)

จากผลวิสัยการตรวจเซลล์วิญฉัย เริ่มแรกของมะเร็งปากมดลูก ผู้ป่วยที่สัต์อยู่ใน pap smear class III หรือพยาธิสภาพ ก้ำกึ่ง (dysplasia) พบว่ากลุ่มอายุผู้ป่วย อยู่ระหว่าง 40-49 ปีที่พบมาก และอัตราที่พบ โดยเฉลี่ย 16 ต่อ 1,000 ราย ถ้าเปรียบเทียบกับกลุ่มสตรีไทยที่รับการตรวจที่ภาควิชา-สูติศาสตร์-นรีเวชวิทยา โรงพยาบาลรามา-ธิบดี (พ.ศ.2512-2516) ซึ่งพบ dysplasia มากที่สุดอายุระหว่าง 25-29 ปี และอัตราที่พบโดยเฉลี่ย 15.4 ต่อ 1,000 ราย จะเห็นได้ว่าอัตราการเป็น dysplasia ของสตรีไทยที่อยู่ส่วนเหนือ มีจำนวนผู้ป่วยที่เป็นพอ ๆ กับส่วนกลางหรือในเมืองหลวง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากประชากรในส่วนเหนือและส่วนกลาง ไม่มีความสนใจสังเกตผิดปกติที่เกิดขึ้นกับร่างกายเท่า ๆ กัน และอีกประการหนึ่ง สถานที่ตรวจพยาบาล ที่มีห้องปฏิบัติการไฮโต-โลยีมีไม่เพียงพอเพราะขาดบุคลากรในด้านนี้

แต่ถ้าเปรียบเทียบการเป็น dysplasia ของประเทศอิหร่าน (1) แล้ว มีอัตราการเป็น dysplasia เฉลี่ยเพียง 2.5 ต่อ 1,000 ราย จะเห็นได้ว่าผู้ป่วยสตรีไทยทั้งภาคเหนือ และภาคกลางมีอัตราการเป็น dysplasia มากกว่าประเทศอิหร่านหลายเท่าตัว

ผู้ป่วยที่เป็น dysplasia นี้เป็นจุดที่สำคัญที่สุด เพราะพฤติกรรมทางชีวภาพของภาวะ dysplasia เป็นจุดแรกเริ่มที่จะนำไปสู่ภาวะ CIS (3,8) และ ICA ของปากมดลูก ดังรายงานของ Petersen (5) ภาวะของ dysplasia สามารถกลับมาเป็นเซลล์ปกติได้ ถ้ามีการรักษาที่ถูกต้อง (6) แต่ถ้าไม่ได้รับการรักษา ก็มีโอกาสที่เป็น CIS และ ICA ดังนั้น ประ-เทศไหนก็ตาม ถ้ามีการตรวจพบ dysplasia ของปากมดลูกมาก ก็จะต้องพบ CIS และ ICA มากขึ้น หรือจะพูดอีกอย่างหนึ่งว่า พบอัตราที่เป็น มะเร็งเพิ่มขึ้น

CIS เป็นจุดสำคัญ เพราะถ้าไม่ได้ รับการรักษาที่ถูกต้อง ผู้ป่วยที่เป็น CIS จะกลายเป็น ICA ดังรายงานของ Koss (4,10) ว่าผู้ป่วยหลังจากที่เป็น CIS 1 ปี กลายเป็น ICA ของมดลูกได้ ผู้ป่วยที่เป็น ICA หรือที่ จำแนกอยู่ใน pap smear class V จะทำให้ การรักษามะเร็งยากขึ้น เพราะเซลล์มะเร็งได้ แทรกซึมและเริ่มกระจายไปตามอวัยวะที่ใกล้เคียง ส่วนมากผู้ป่วยที่มาตรวจและถูกวินิจฉัยเป็น pap smear class V นี้ มักมาตรวจล่าช้า จะเห็น ได้จากอายุเฉลี่ยของผู้ป่วยที่เป็น ICA เท่ากับ 46 ปี ผู้ป่วยส่วนมากมีภูมิลำเนาต่างจังหวัด เช่น เชียงราย พะเยา ลำปาง แพร่ น่าน ลำพูน และ อำเภอรอบนอกของจังหวัดเชียงใหม่ ส่วนในอำเภอ เมืองมีเพียง 12 รายเท่านั้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก ประชาชนในอำเภอเมืองเชียงใหม่ สามารถตรวจ

ภายในได้สะดวกกว่าที่อื่น ๆ และประการที่สำคัญคือ ประชาชนยังไม่มีความรู้ที่เกี่ยวกับโรคมะเร็งปากมดลูก ดังจะเห็นได้จากเปอร์เซ็นต์การตรวจหามีค่าต่ำมากในแต่ละ class มีค่าไม่ถึง 1% เลย ค่าสูงสุดของการตรวจ pap smear เข้า 2 ครั้งใน Class II เท่ากับ 0.59% ตามปกติแล้ว สตรีไทยที่มีบุตรแล้ว ควรตรวจ pap smear อย่างน้อยปีละ 2 ครั้ง เพื่อที่จะทราบการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ปากมดลูก ช่องคลอด และโพรงมดลูกว่ามีการเปลี่ยนแปลงผิดปกติใหม่ เพราะถ้ารู้ความผิดปกติแรกเริ่ม ก็สามารถป้องกันและรักษาได้ทัน (7) และอีกประการหนึ่ง สถานือนามัยและโรงพยาบาลต่าง ๆ ส่วนมากยังไม่มีห้องปฏิบัติการไซโตโลยี ซึ่งอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้การตรวจภายใน (pap smear) ของสตรี มีการตรวจน้อยลงและอาจเป็นสาเหตุให้การป้องกันและรักษาของผู้ป่วยต้องล่าช้าไป

อายุเฉลี่ยทั้งหมดของผู้ป่วยที่ตรวจภายในเท่ากับ 41.4 ปี เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มประเทศมุสลิม เช่น อิหร่าน (1) มีอายุเฉลี่ยทั้งหมดที่ตรวจเท่ากับ 30.4 ปี แสดงให้เห็นว่า ประชากรของอิหร่าน มารับการตรวจภายในเร็วกว่าคนไทย ดังนั้น การป้องกันและรักษาของอิหร่านจึงได้ผลดีกว่า ประเทศอิหร่านยังมีพิธีการตัดหนังปลายองคชาต (circumcision) (7) ของเด็กชายที่เป็นมุสลิม สตรีชาวอิหร่านไม่มีอาชีพเป็นโสเภณี ส่วนประเทศไทย ไม่มีพิธีกรรมการทำ circumcision สตรีไทยยังมีอาชีพโสเภณี โดยเฉพาะแถบจังหวัดภาคเหนือของประเทศไทย สาเหตุเหล่านี้ อาจเป็นต้นเหตุให้เกิดมะเร็งปากมดลูกได้

การตรวจเซลล์วินิจฉัยชั้นนี้ ที่จะบอกให้ผู้ป่วยเป็น invasive carcinoma แน่-นอน หรือรายงานชนิดของมะเร็งไปเลยนั้น รู้สึกว่าค่อนข้างจะเสี่ยงมาก เพราะการที่ดูเพียงแต่เซลล์โดด ๆ เท่านั้น จะวินิจฉัยว่าเป็น invasive carcinoma ก็เห็นจะยากเพราะไม่เห็นลักษณะของ Histology ดังนั้นผู้ทาวินิจฉัยเรื่องนี้ จึงเลือกคำนิยาม pap smear ใน class ต่าง ๆ โดยมีคำว่า "Probably" นำหน้า carcinoma in situ และ invasive carcinoma ส่วนคำว่า dysplasia ไม่ต้องใช้คำว่า probably นำหน้า เพราะลักษณะทางเซลล์เห็นเด่นชัดอยู่แล้วตั้งแต่ mild ถึง severe แต่ในรายที่เป็น severe dysplasia ต้องมีการทำ biopsy confirm เพื่อการวินิจฉัยที่แน่นอน เพราะเห็นลักษณะของเซลล์รวมเป็น tissue ที่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจน

เอกสารอ้างอิง (References)

1. Behrard, S., Taherzadeh, D., and Gondos, B.: Cytologic screening for cervical cancer in Southern Iran, Acta Cytol., 21 : 432-434, 1977.
2. Graham, M.: The Cytologic diagnosis of cancer, Ed.3, W.B., Saunders, Philadelphia, P. 1-228, 1972.
3. Hulme, G.W. and Eisenberg, H.S.: Carcinoma in situ of the cervix in Connecticut, Am. J. Obstet. Gynecol. 102: 415-425, 1968.

4. Koss, L.G.: Diagnostic cytology and its histopathologic bases, Ed. 2, J.B. Lippincott, Philadelphia, P. 93-291, 1968.
 5. Peterson, O. : Precancerous changes of the cervical epithelium in relation to manifest cervical carcinoma, Clinical and histological aspect, Copenhagen, Danish Science, 1-25 , 1955
 6. Robbins, L.: Pathologic basis of diseases, W.B. Saunders, Philadelphia, P. 106-141, 1201-1205, 1974.
 7. Tortora, M.: Nappi, R. and Togliani, L. : Prevention of cancer of the uterus and breast, Department of Obstetrics and Gynaecology of the University of Ferrara, Italy, P. 11-43, 1970.
 8. Walton, R.J.: Cervical cancer screening programs: I. Epidemiology and natural history of carcinoma of the cervix, Can. Med. Assoc. J. 114: 1003-1012, 1976.
 9. World Health Organization : Cytology of the female genital tract, by Rietton, G. and Christopherson, W.M., P.27-41, 1973. (International histological classification of Tumours, No. 8)
 10. Wynder, et al : A Study of environmental factors in carcinoma of the cervix, Am. J. Obstet. Gynecol. 68 : 1016-1047, 1954.
-

ABSTRACTCYTOLOGIC SCREFFNING FOR CERVICAL CANCER IN
NORTHERN THAILAND

Tanin Kanwatanasirikul B.Sc. (Med. Tech.)*

During 18 years from 1962 to 1979, the total of 25,004 suspected women with cervical carcinoma were cytologically studies in Chiang Mai hospital, Chiang Mai province, Northern Thailand. Those women were 95.3% Buddhist population and 41 years of average age. It was found that the prevalent rate of pap smear class III (dysplasia), class IV (probably carcinoma in situ) and class IV (probably invasive carcinoma) were 24.2/1,000, 7.7/1,000 and 4.6/1,000 respectively. The incidence of carcinoma of the uterine cervix or cervical carcinoma were observed in patients of all age groups with a peak between 40 and 50 of age and much lower incidence in the age under 35 and over 65 years. The risk of cervical carcinoma where as to increase not so much with the number of pregnancies as with early start of sexual intercourse. A high incidence of cervical carcinoma has been observed in widows and divorced women, apparently in connection with multiple marriages.

* Department of Pathology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University.

ลำสุดจากโอลิมปัส Model BH



สร้างขึ้นเพื่องานวิจัยโดยเฉพาะ:
ระบบ Modular พร้อมอุปกรณ์ครบครัน
(Complete System)
ราคาที่นักวิจัยทุกท่าน
สามารถเป็นเจ้าบองได้

รัชมอร์

111 ทองหล่อซอย 5 สุขุมวิท 65 กรุงเทพฯ
โทร. 013143, 024100

ผู้แทนจำหน่ายและบริการ แต่ผู้เดียวในประเทศไทย



Alpha-fetoprotein ในโรคมะเร็งตับและความสัมพันธ์กับ
Hepatitis B surface antigen*

ปกรณ โทยานันท์ วท.ม. **

สุกัญญา สมหวังประเสริฐ วท.บ *

สนธิ มกรแก้วเกยูร Ph.D. **

บทคัดย่อ

จากการศึกษาในซีรัมของผู้ป่วยที่สงสัยว่าจะเป็นโรคมะเร็งตับ จำนวน ๑๗๔ ราย ด้วยวิธี immunodiffusion (ID), radial immunodiffusion (RID) และ counterimmunoelectrophoresis (CIE) ตรวจพบ alpha-fetoprotein (AFP) ๑๔ ราย (๑๑%), ๒๔ ราย (๑๔%) และ ๒๔ ราย (๑๖%) ตามลำดับ และในซีรัมของผู้ป่วย ๒๔ ราย ที่ทราบแน่นอนแล้วว่าเป็นโรคมะเร็งตับโดยการวินิจฉัยทาง histopathology สามารถตรวจพบ AFP ๔ ราย (๓๖%), ๑๔ ราย (๕๘%) และ ๑๖ ราย (๖๕%) ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบการตรวจพบ AFP ในซีรัมกับอายุของผู้ป่วย พบว่าผู้ป่วยที่มีอายุน้อยขึ้นการตรวจพบ AFP ลดลง จากการศึกษถึงความสัมพันธ์ของผู้ป่วยที่เป็นโรคมะเร็งตับกับผู้ป่วยที่เป็นโรคตับอักเสบจากไวรัส (viral hepatitis) พบว่าผู้ป่วยที่เป็นโรคมะเร็งตับ ๒๔ รายมี hepatitis B surface antigen (HB_sAg) ในซีรัม ๔ ราย แต่ไม่พบ AFP เลยในซีรัมของผู้ป่วยที่เป็นโรคตับอักเสบ ๓๐ ราย ซึ่งยังไม่สามารถสรุปได้ว่า โรคตับอักเสบเป็นสาเหตุของโรคมะเร็งตับจริงหรือไม่

บทนำ

AFP เป็นโปรตีนที่สร้างขึ้นใน endoderm ของ yolk sac, hepatocyte ของ embryonic liver และใน fetal gastrointestinal tract (๑,๒,๓) AFP พบมากในทารกที่ยังอยู่ในครรภ์ ในช่วงอายุ ๑๒-๑๔ อาทิตย์จะมีปริมาณสูงถึง ๓ มก./มล. หลังจากนั้นจะลดลงเรื่อยๆ จนกระทั่งคลอดและหลังคลอดแล้ว ๑ ปี จะไม่พบโปรตีนนี้อีกเลย (๔) แต่อาจพบได้ในสตรีที่มีครรภ์บางราย และในผู้ที่เป็นโรคมะเร็งที่อวัยวะที่เกี่ยวข้องกับการสร้าง AFP เช่น โรคมะเร็งตับ, teratocarcinoma ของอัณฑะและรังไข่ (๕,๖) ดังนั้น AFP จึงมีความ

สำคัญในการวินิจฉัยโรคมะเร็งตับ เคยมีผู้รายงานว่าคนที่เป็นโรคมะเร็งตับจริงๆ แต่การตรวจพบ AFP มีเพียง ๕๐-๘๐% เท่านั้น (๒,๗) และ AFP อาจตรวจพบได้ในผู้ป่วยที่เป็นโรคตับอักเสบจากไวรัส ในงานวิจัยนี้จึงมีความสนใจเพื่อจะตรวจหา AFP ในผู้ป่วยที่สงสัยว่าจะเป็นโรคมะเร็งตับและผู้ป่วยที่ทราบแน่นอนแล้วว่าเป็นโรคมะเร็งตับจริงๆ โดยวิธีทางน้ำเหลืองวิทยา ๓ วิธีคือ immunodiffusion, radial immunodiffusion และ counterimmunoelectrophoresis (CIE) เปรียบเทียบกัน นอกจากนี้ยังได้ศึกษาถึงความสัมพันธ์ของโรค

* ได้รับทุนจากมหาวิทยาลัยเชียงใหม่

** ภาควิชาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

มะเร็งตับกับโรคตับอักเสบจากไวรัส โดยอาศัย

การตรวจหา AFP และ HB_s Ag.

วัสดุและวิธีการ

ซีรัมที่ใช้ในการทดลองนี้ได้นำจากผู้ป่วย

ที่สงสัยว่าจะเป็นโรคตับ ๑๗ ราย ที่ส่งมายัง
ห้องปฏิบัติการภูมิคุ้มกันวิทยา โรงพยาบาลนคร-
เชียงใหม่ และซีรัมของผู้ที่ให้ผลบวกต่อ HB_s Ag
๓๔ ราย จากโรงพยาบาลเดียวกัน ซีรัมทั้งหมด
นี้ได้เก็บไว้ในตู้เย็นแข็งจนกว่าจะนำมาทดลอง

Radial immunodiffusion (RID)

ต้มละลาย ๑.๕% special Noble agar
(Diffco) ใน ๒.๔ มล. ของ isotonic
Mancini's method, pH ๘.๐ แล้วแช่ไว้ที่
๔๖°ซ. เติม specific antihuman AFP
serum (Behringwerke AG, Marberg, W.
Germany) ลงไป ๐.๒ มล. ผสมให้เข้ากัน
แล้วเทลงบนแผ่นสไลด์ ปล่อยให้แข็งที่อุณหภูมิห้อง
เจาะหลุมขนาด ๓ มม. ให้ห่างกัน ๑.๕ ซม. ใส่
ซีรัมที่ต้องการตรวจลงในแต่ละหลุมๆ ละ ๑๐ µl.
เก็บไว้ในตู้เย็นในตู้เย็น ๒๔ ชม. อ่านผลโดยวัด
เส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นตะกอน แล้วคำนวณหา
ปริมาณของ AFP จาก standard curve ส่วน
วิธี ID และ CIE ใช้วิธีเดียวกับวิธี routine
ทั่วๆ ไป

ผลการทดลอง

จากการตรวจหา AFP ในซีรัมของผู้ที่
สงสัยว่าจะเป็นโรคมะเร็งตับ ๑๗ ราย ด้วย
วิธี ID, RID และ CIE สามารถตรวจพบ
๑๔ ราย (๑๑%) ๒๔ ราย (๑๔%) (range
๓๐-๖๓๐ µg/ml.) และ ๒๔ ราย (๑๖%) ตาม
ลำดับ (ตารางที่ ๑) และพบว่าความไว (sen-
sitivity) ของวิธี ID อย่างมาก ๓๕ µg/
ml. วิธี RID อย่างมาก ๓๐ µg/ml. ส่วนวิธี
CIE มีความไวสูงกว่าทั้งสองวิธีนี้

ในการตรวจหา AFP ในซีรัมของผู้ป่วย
ที่ทราบแน่นอนแล้วว่าเป็นโรคมะเร็งตับ โดยการ
ตรวจทาง cytology จำนวน ๒๔ ราย ด้วยวิธี
ID, RID และ CIE สามารถตรวจพบ AFP
๔ ราย (๓๖%), ๑๔ ราย (๕๘%) และ ๑๖
ราย (๖๕%) ตามลำดับ (ตารางที่ ๒)

ในการเปรียบเทียบการตรวจพบ AFP
และ HB_s Ag ในผู้ป่วยโรคตับอักเสบจากไวรัส
และโรคมะเร็งตับ ผลการตรวจในซีรัมของผู้ที่ให้
ผลบวกต่อ HB_s Ag จำนวน ๓๐ ราย ด้วยวิธี
CIE ปรากฏว่า ไม่พบ AFP เลย ส่วนในซีรัม
ของผู้ที่เป็นโรคมะเร็งตับที่ให้ผลบวกต่อ AFP จำนวน ๒๔ ราย นำมาตรวจหา HB_s Ag ปรากฏว่า
พบ AFP ๔ ราย (ตารางที่ ๓)

การเปรียบเทียบอายุของผู้ป่วยโรคมะเร็งระดับกับการตรวจพบ AFP ผลการทดลองพบว่าเปอร์เซ็นต์ที่ให้ผลบวกต่อ AFP ลดลงเมื่ออายุมากขึ้น ด้วยวิธี ID, RID และ CIE ได้ผลตามลำดับ

ดังนี้ ผู้ที่มีอายุต่ำกว่า ๔๐ ปี ๒/๓, ๒/๓ และ ๒/๓, อายุ ๔๑-๖๐ ปี ๔/๑๓, ๘/๑๓ และ ๑๐/๑๓ อายุสูงกว่า ๖๐ ปี ๑/๖, ๒/๖ และ ๒/๖ (ตารางที่ ๔)

ตารางที่ ๑ การเปรียบเทียบความไว (sensitivity) ของวิธี ID, RID และ CIE ในการตรวจหา AFP

จำนวนรวม	ID		RID		CIE ✓	
	จำนวน	%	จำนวน	%	จำนวน	%
๑๓๘	๑๔	๑๑	๒๕	๑๘	๒๘	๑๖

ตารางที่ ๒ การเปรียบเทียบการตรวจพบ AFP โดยวิธีทาง serology และ cytology ในผู้ป่วยโรคมะเร็งระดับ

cytology	จำนวนรวม	ID		RID		CIE ✓	
		จำนวน	%	จำนวน	%	จำนวน	%
hepatocellular carcinoma	๒๕	๔	๓๖	๑๔	๕๖	๑๖	๖๔

ตารางที่ ๓ การเปรียบเทียบการตรวจพบ AFP และ HB_sAg ในผู้ป่วยโรคตับอักเสบจากไวรัสและโรคมะเร็งระดับ ด้วยวิธี CIE

ซีรัม	จำนวนรวม	AFP ให้ผลบวก	HB _s Ag ให้ผลบวก
โรคมะเร็งระดับ	๒๘	๒๘	๔
โรคตับอักเสบ	๓๐	๐	๓๐

ตารางที่ ๔ การเปรียบเทียบอายุของผู้ป่วยโรคมะเร็งตับกับการตรวจพบ AFP

อายุ (ปี)	Cytology	ID	RID	CIE
≤ ๒๐	๑	๑	๑	๑
๒๑ - ๔๐	๓	๒	๒	๒
๔๑ - ๖๐	๑๓	๔	๔	๑๐
> ๖๐	๖	๑	๒	๒

วิจารณ์

จากผลการทดลองนี้จะเห็นว่าวิธี CIE มีความไวสูงที่สุด เมื่อเทียบกับอีกสองวิธีในการตรวจหา AFP ในซีรัมของผู้ป่วยมะเร็งตับ วิธี RID มีความไวรองลงมาและยังใช้หาปริมาณเล็กน้อยของ AFP ได้ด้วย จากผลการทดลองนี้สามารถตรวจหา AFP ได้ปริมาณน้อยที่สุด ๓๐ µg/ml. และมากที่สุด ๖๓๐ µg/ml. (ค่าเฉลี่ย ๑๑๔ µg/ml.) ในจำนวนผู้ป่วย ๒๔ ราย ส่วนวิธี ID มีความไวต่ำสุด จากการศึกษาไม่ได้พบว่าวิธี CIE มีความไวเท่าไร แต่มีผู้ที่เคยศึกษามาแล้วพบว่ามีความไว ๐.๕-๑.๐ µg/ml. (๔) ดังนั้นในการตรวจหา AFP ในผู้ป่วยที่สงสัยว่าจะเป็นโรคมะเร็งตับควรใช้วิธี CIE อย่างไรก็ตามวิธี ID ก็ยังเป็นวิธีที่นิยมใช้ในท้องปฏิบัติการทั่วไป เนื่องจากประหยัด anti-AFP serum กว่าวิธีอื่นๆ ส่วนวิธี RID ซึ่งใช้หาปริมาณ AFP นั้นเหมาะสม

สำหรับงานวิจัยมากกว่า

ในผู้ป่วยที่ทราบแน่นอนแล้วว่าเป็นโรคมะเร็งตับ โดยการวินิจฉัยทาง cytology จำนวน ๒๔ ราย ตรวจพบ AFP เพียง ๓๖%, ๕๖% และ ๖๔% ตามลำดับ จะเห็นว่าถึงแม้ว่าวิธี CIE ซึ่งเป็นวิธีที่มีความไวสูง แต่ก็ตรวจพบ AFP เพียงหกสิบกว่าเปอร์เซ็นต์เท่านั้น ทั้งนี้อาจขึ้นอยู่กับสาเหตุหลายประการ เช่น โรคยังอยู่ในระยะเริ่มต้น การสร้าง AFP ยังมีน้อยเกินไป จึงตรวจไม่พบหรือผู้ป่วยมีอายุมาก การสร้างโปรตีนจึงมีน้อยกว่าปกติ หรือวิธีที่ใช้ตรวจหา AFP มีความไวไม่สูงพอ หรือเกิดจากผู้ป่วยไม่สร้าง AFP ปกติ AFP จะสร้างขึ้นเฉพาะในเด็กทารกเท่านั้น เซลล์ตับที่ยังอ่อนอยู่เป็นตัวสร้าง เชื่อว่าเมื่อโตขึ้นยีนที่ควบคุมการสร้าง AFP นี้ถูกปิด

ไว้ จึงไม่พบ AFP เมื่อโตขึ้น แต่ถ้าผู้ป่วยเป็นโรคมะเร็งตับ ซึ่งมีเซลล์อ่อนเกิดขึ้นมากมายและยืนถูกเปิดอีกครั้ง จึงทำให้เซลล์ตับที่อ่อนนี้สร้าง AFP ขึ้นมาใหม่ได้ (๑,๒,๔)

จากผลการทดลองจะเห็นว่า AFP ไม่มีความสัมพันธ์กับ HB_SAg ในผู้ป่วยโรคตับอักเสบทดลองไม่พบ AFP เลย แต่ในผู้ป่วยโรคมะเร็งตับสามารถตรวจพบ HB_SAg ได้ ๔ ราย ซึ่งผู้ป่วยทั้ง ๔ รายนี้ เมื่อได้สับประวัติดูแล้วไม่สามารถบอกได้ว่า เป็นโรคตับอักเสบบาก่อนหรือหลังโรคมะเร็งตับ ทั้งนี้เพราะว่าผู้ป่วยทั้งหมดนี้มาหาแพทย์ด้วยโรคมะเร็งตับและตรวจพบ HB_SAg ด้วย ดังนั้นการที่จะสรุปว่าโรคตับอักเสบจากไวรัสเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคมะเร็งตับได้หรือไม่นั้น ต้องศึกษาในระยะยาว โดยศึกษาในผู้ป่วยที่เป็นโรคตับอักเสบทดพบ HB_SAg แล้วติดตามตรวจ AFP ตลอดเวลา ซึ่งจะสรุปผลการทดลองได้ แต่เนื่องจากการทดลองนี้มีระยะเวลาสั้น จึงไม่สามารถติดตามผลของโรคตับอักเสบดีได้ จึงสรุปไม่ได้ว่าโรคตับอักเสบเป็นสาเหตุหนึ่งของโรคมะเร็งตับจริงหรือไม่ จากการที่พบ HB_SAg ๔ ราย ในผู้ป่วยโรคมะเร็งตับ ๒๕ รายนั้น อาจเป็นไปได้ว่าผู้ป่วยที่เป็นโรคมะเร็งตับ มีความต้านทานของร่างกายต่ำ จึงทำให้ง่ายต่อการติดเชื้อไวรัสชนิดนี้ ซึ่งมีรายงานสนับสนุนมาแล้วว่า มักพบ

HB_SAg เปอร์เซ็นต์สูงในผู้ป่วยที่เป็นโรคมะเร็งตับ (๔)

เอกสารอ้างอิง

1. Egan, M.L., Engvall, Rouslahti, E.I., Todd, C.W., Detection of circulating tumor antigens. Cancer 40:458-466, 1977.
2. Silver, H.K.b; Deneault, J., Gold, P., Thompson, W.G., Shuster, J., and Freeman, S.D. : The detection of α_1 -feto-protein in patients with viral hepatitis. Cancer Res., 34:244-247, 1974.
3. Yachnin, S., Hsu, R., heinrikson, R.L., and Miller, J.B. : Studies on hyman alpha-fetoprotein : Isolation and characterization on monomeric and polymeric forms and amino-terminal sequence analysis. Biochemical et. Biophysica. Acta., 493:418-428, 1977.
4. Rouslahti, E., Seppala, M. : Alpha-fetoprotein in normal

Nature 235:161-162, 1972.

5. Chen, D.S., and Sung, J. L. :

Serum alpha-fetoprotein in hepatocellular carcinoma. Cancer 40: 779-783, 1977.

6. Smuckler, E.A., Koplitz, M., and

Sell, S. : Alpha-fetoprotein in toxic liver injury. Cancer Res. 36 (12) : 4558-4561, 1976.

7. Niazi, S. : Isolation and cha-

racterization of a human fetal alpha-globulin from the sera of fetuses and a hepatoma patient..

Cancer Res., 30:2507-2513, 1970.

8. Ruoslahti, E., and Seppala, M.,

: Alpha-fetoprotein, Contr.

- Gynec. Obstet, 2:143-186, 1976.

9. Kubo, Y., Okuda, K., Shimokawa-

Y., Arishima, T., Nagata, E.,

Hashimoto, M., Jinnouchi, S.,

Sawa, Y., Obata, H., and Haya-

shi, N., : Hepatitis B surface

antigenemia in patients with

hepatocellular carcinoma in

relation to clinical course

and alpha-fetoprotein. Gastro-

enterology 72:1213-1216, 1977.

ABSTRACT

Alpha-fetoprotein in patient with liver cancer
and relation to hepatitis B surface antigen^{*}

Pakorn Thaiyanan, M.Sc. ^{**}

Sukanya Somwangprasert, B.Sc.

Sanit Makankawayoon Ph.D. ^{**}

The serum alpha-fetoprotein (AFP) was studied in 178 patients who suspected hepatocellular carcinoma by means of immunodiffusion (ID) radial immunodiffusion (RID) and counterimmunoelectrophoresis (CIE). It was positive in 19 of cases (11%) with ID, 25 of cases (14%) with RID and 28 of cases (16%) with CIE. In 25 histologically cases of hepatocellular carcinoma, AFP appeared in 9(36%), 14(56%) and 16(64%) of all patients, respectively. The comparison of the detectable AFP with age of patient, it was found that AFP declined as the age increased of the 28 patients with hepatocellular carcinoma, hepatitis B surface antigen (HB_sAg) appeared in only 4 of cases while it had no presence of AFP in 30 patient with viral hepatitis. In conclusion, there was no relation ship between viral hepatitis and hepatocellular carcinoma.

* Received fundation from Chiang Mai University

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



บริษัท เบคไทย กรุงเทพมหานครเดมิกัลท์ จำกัด
Becthai Bangkok Equipment & Chemical Co. Ltd.

1017-1019 ถนนพหลโยธิน กรุงเทพฯ 4 TEL 278-5123, 278-6969, 279-2903
1017-1019 PHAHOLYOTHIN RD. BANGKOK 4, THAILAND CABLE BECTHAI

We deals Various Instrument and Supplies products below

- | | |
|--|---|
| 1. Arthur H. Thomas Company, U.S.A. | -General Scientific Apparatus |
| 2. Büchi Laboratory Techniques Ltd.,
Switzerland | -Rotary Evaporators |
| | -Fraction Collector |
| 3. Chemtrix, Inc. U.S.A. | -Water Stills |
| | -pH meter |
| 4. Du Pont Instrument, U.S.A. | -Automatic Clinical Analyzer |
| | -Liquid Chromatographs, HPLC |
| | -Mass Spectrometers, GC/MS |
| 5. Forma Scientific, Inc. U.S.A. | -Baths and Circulators |
| | -Environmental Rooms |
| | -Incubator and CO ₂ Incubators |
| 6. JEOL, Japan | -Analytical Instruments |
| | -Electron Microscopes |
| | -Industrial Equipments |
| 7. LKB Produkter AB, Sweden | -Amino Acid Analyzers |
| | -Nuclear Instruments |
| | -Ultramicrotomy Instruments |
| 8. Spectra-Physics, U.S.A. | -Lasers |
| | -Optics |
| 9. Turtex/Cambosco, Macmillan Science Co.
Inc. U.S.A. | -Living Materials |
| | -Preserved Materials |
| | -Microscope Slides |
| 10. Boeckel & Co., Export W.Germany | -Laboratory & Hospital Supply |
| 11. Brand, W.Germany | -Laboratory Glasswares |
| 12. EDU-MED International, U.S.A. | -Livine Material |
| | -Models and demonstration materials |
| 13. Andreas Hettich, W.Germany | -Small Centrifuges |
| | -Universal and laboratory Centrifuges |
| 14. Hirayama Manufacturing Corp. Japan | -Autoclaves |
| | -Hot Air Sterilizers |

We are also the representative of Various Chemicals

Chemical * Glasswares * Scientific equipments * Hospital and laboratory supplies



เปรียบเทียบวิธีหา Serum Phosphorus และระดับ Phosphorus,
total calcium รวมทั้ง free calcium ในผู้ป่วยโรคนี้

ลักษณะ มกรแก้วเกียร M.S.(ชีวเคมี) *

อรชร คุณาศักดากุล B.Sc.(เทคนิคการแพทย์) **

บทคัดย่อ

ในการหาระดับ Total calcium, Free calcium, Phosphorus & Total protein ในซีรัมผู้ป่วยนี้ ๓๓ ราย ได้ค่า Total calcium 13.33 ± 1.49 mg.% Free Calcium 6.16 ± 0.66 mg.% จากผู้ป่วย preoperation ๒๕ ราย และ 12.73 ± 1.52 mg.% 5.74 ± 0.77 mg.% จากผู้ป่วย post operation ๘ ราย ส่วนคนปกติจำนวน ๔๗ รายได้ค่า $10.58 \pm .99$ mg.% และ 4.67 ± 0.4 mg.% ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน ($P < 0.05$) ส่วนระดับ Phosphorus และ Total protein ในซีรัมผู้ป่วย ๓๓ ราย ดังกล่าวได้ค่าเท่ากับ 3.66 ± 0.79 mg.% และ 6.85 ± 0.67 gm.% ตามลำดับ

บทนำ

ฟอสฟอรัสในซีรัมส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของ inorganic phosphate และ organic phosphate ในการหา serum phosphorus โดยวิธี Fisk-Subbarow อาศัยหลักการว่าฟอสฟอรัสในซีรัมจะทำปฏิกิริยากับกรด ทำให้ organic phosphate แตกตัวได้ free phosphate แล้ว free phosphate ทำปฏิกิริยากับ Ammonium Molybdate ได้สารประกอบ Ammonium Phosphamolybdate $(NH_4)_3 P(Mo_3O_4)_4$ ซึ่งเมื่อทำปฏิกิริยากับ reducing agent เช่น -amino-naphthol sulfonic acid (ANSA) จะได้สารประกอบเชิงซ้อน complex ของ Molybdenum blue สีน้ำเงินเกิดขึ้น ซึ่งสีนี้จะมี maximum absorption ที่ wave-

length 660 nm จากค่า absorption สามารถรู้ปริมาณของ phosphorus โดยเทียบกับ standard curve ในการทดลองครั้งนี้ต้องการเปรียบเทียบวิธี Fisk-Subbarow (1923) กับวิธีของ Grindney-Nichol (1970) เพื่อดูว่าวิธีใดทำง่ายสะดวก และใช้สารราคาถูก สำหรับวิธี Grindney-Nichol ใช้หลักการคล้ายกับวิธีแรกยกเว้นแต่จะใช้ Bisulfate solution และ Thioglycerol แทน ANSA ในการทำให้เกิดสารเชิงซ้อนสีเหลืองซึ่งมี maximum absorption ที่ wave length 775 nm

โรคนี้ในทางเดินปัสสาวะเป็นโรคที่แพร่หลายในประเทศไทย โดยเฉพาะภาคอีสานและภาคเหนือ จะมีผู้ป่วยโรคนี้มากที่สุด (Gershoff 1963) ซึ่งสาเหตุในการเกิดนี้มีมาก

* ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

** คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

มายหลายสาเหตุรวมๆ กัน ปัจจุบันไม่ทราบแน่ชัด
 นี้จะประกอบขึ้นด้วย organic matrix อยู่ใ
 กลาง แล้วล้อมรอบด้วย crystalline หลายๆ
 ชนิดจนเป็นก้อนนี้ (Boyce, 1959) นี้นี้พบได้
 บ่อยส่วนใหญ่จะเป็นเกลือของแคลเซียม เช่นแคล-
 เซียมออกซาเลต แคลเซียมฟอสเฟตที่รวมกับแอม-
 โมเนียม (NH_4^+) หรือแมกนีเซียม (Mg^{++}) นี
 ยูเรตและยูริกก็พบได้เช่นกันแต่น้อย Robertson,
 1969. 1971) มีผู้ทดลองเลี้ยงหนูด้วยอาหารที่
 ขาดฟอสฟอรัส พบว่าหนูจะเกิดนิ่วชนิด Calcium
 oxalate ใน urinary tract ได้ (Coburn
 1962) และยังมีผู้พบว่า ปริมาณแคลเซียมในซีรัม
 สูงกว่าปกติ จะทำให้มีการฉีกขาดของ epithe-
 lial cell ในไต และเกิด necrosis มี
 โอกาสเป็นแกนกลาง (matrix) ให้ crista-
 lloidมาเกาะรวมกันเป็นก้อนนี้ได้ และยังพบว่า
 ถ้าผู้ป่วยขาดอาหารที่มีฟอสเฟต จะมีโอกาสเกิดนิ่ว
 แคลเซียมได้ด้วย (Valyasevi 1969) ดังนั้น
 จึงเป็นที่น่าสนใจที่จะหาระดับของ ฟอสฟอรัส แคล
 เซียมรวมทั้งแคลเซียมอิสระในซีรัมผู้ป่วยนี้ ใน-
 การหาระดับของฟอสฟอรัสครั้งนี้จะเลือกใช้วิธีที่
 ง่าย สดวก และประหยัด เหมาะสมในการที่จะใช้
 สรรวจผู้ป่วย

วัตถุประสงค์

๑. เพื่อเปรียบเทียบวิธีหา serum
 phosphorus ๒ วิธีระหว่าง Fisk-Subba-
 row Method และ Grindney-Nichol
 Method ว่าอย่างไหนจะสดวก ประหยัด และ
 ได้ผลดี

๒. เพื่อทราบปริมาณฟอสฟอรัส และแคล
 เซียมอิสระในซีรัมของผู้ป่วยโรคนี้ว่ามีความสัม-

พันธ์กันอย่างไร

วัสดุและวิธีการ

ก. การเก็บตัวอย่างซีรัม

การเก็บตัวอย่างซีรัมของผู้ป่วยโรคนี้
 จำนวน ๓๓ ราย โดยเป็นผู้ป่วยนี้ก่อนทำการผ่า
 หัศ จำนวน ๒๔ ราย และผู้ป่วยนี้หลังทำการผ่า
 หัศ จำนวน ๙ ราย ผู้ป่วยนี้ทุกรายวินิจฉัยโดย
 การเอกซเรย์ สำหรับตัวอย่างซีรัมของคนปกติ
 จำนวน ๔๗ ราย ได้จากผู้ป่วยที่ไม่เคยมีประวัติ
 ว่าเป็นนี้

ข. Phosphorus (Fisk-Subbarow Method)

๑. Molybdate reagent ละลาย ๒๔
 กรัมของ Ammonium molybdate ในน้ำกลั่น
 ๒๐๐ มล. เติม ๑๐ นอร์มอลกรด H_2SO_4 จา-
 นวน ๓๐๐ มล. แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นจนครบ
 ๑,๐๐๐ มล.

๒. Aminonaphthol sulfonic
 acid (ANSA) ละลาย ๐.๕ กรัมของ ANSA
 ใน 15% Sodium bisulfite จำนวน ๑๔๔
 มล. เขย่าแล้วเติม ๒๐% Sodium sulfite
 จำนวน ๕ มล. คนให้ ANSA ละลายจนหมด
 ถ้าไม่ละลายเติม ๒๐% Sodium sulfite ลง
 ไปอีก ๑ มล. คนจนละลาย เก็บไว้ในขวดสีน้ำ-
 ตาลที่ ๔'ซ. จะใช้ได้ภายใน ๑ เดือน

๓. Stock phosphate Solution
 ชั่ง ๑.๔๖๓๗ กรัมของ monopotassium
 phosphate (KH_2PO_4) ละลายลงในน้ำที่มี
 กรด H_2SO_4 ๑๐ มล. แล้วเจือจางด้วยน้ำ-
 กลั่นจนครบ ๑๐๐ มล.

๔. Working Standard นำ
 stock phosphate solution ๑ มล. มา
 เจือจางด้วยน้ำกลั่น ๑๐ มล.

๕. ๔๐% Trichloroacetic acid

วิธีทำ นำซีรัม ๒ มล. ที่ต้องการหามาตกตะกอนโปรตีนด้วย ๔๐% TCA จำนวน ๔ มล. (อัตราส่วน ๑ ต่อ ๒) เขย่าให้เข้ากันแล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ ๔๒ นำ filtrate ที่ได้ ๑ มล. มาเติม ANSA ๐.๒๕ มล. ทิ้งไว้อย่างน้อย ๓๐ นาที แต่ไม่เกิน ๒ ชม. นำไปวัด OD ด้วยเครื่อง Coleman Spectrophotometer Junior II wavelength 660 nm

ค. Phosphorus (Grindney and Nichol Method)

๑. Molybdate reagent เหมือนกับ Fisk-Subbarow Method

๒. Bisulfite solution ละลาย ๑๐ กรัม NaHSO_3 และ ๐.๕ กรัม Na_2SO_3 ในน้ำกลั่น ๑๐๐ มล.

๓. Thioglycerol solution เจือจาง ๐.๕ มล. ของ monothiol glycerol (Sigma Chemical Co) ลงในน้ำกลั่น ๕ มล. เก็บไว้ที่ ๔°ซ. น้ำยานี้ไม่อยู่ตัวต้องเตรียมใหม่ทุกครั้งก่อนใช้

๔. Standard phosphate solution ชั่ง ๑๓๖.๑๓ มก. K_2HPO_4 ในน้ำกลั่น ๑๐๐ มล. หยด ๑ หยด คลอโรฟอร์มเก็บที่ ๔°ซ. เวลาใช้นำมาเจือจางด้วยน้ำกลั่น ๑ ต่อ ๑๐

วิธีทำ

แบ่งซีรัมที่ตกตะกอนด้วย ๔๐% TCA ด้วยอัตราส่วน ๑ ต่อ ๒ มาจำนวน ๐.๕ มล. เติมน้ำกลั่น ๓.๕ มล. แล้วเติม Molybdate reagent ๐.๒๕ มล. เขย่าให้เข้ากันแล้วเติม Bisulfite ๐.๕ มล. เขย่า เติม Thioglycerol solution ๐.๒๕ มล. นำไปอ่าน OD ด้วยเครื่อง Coleman Junior Spectrophotometer ที่ wavelength 775 nm หลัง

จากเติม glycerol ไปแล้ว ๑๐ นาที

ง. Calcium (Calcium-Calcein titration)

๑. EDTA ชั่ง ๐.๕๕ กรัมของ EDTA ละลายในน้ำกลั่น ๑ ลิตร

๒. Calcein mixture ชั่ง Calcein ๒๐๐ มก. และ Thymolphthalein ๑๒๐ มก. และ KCl ๒๐ กรัม บดละเอียด เก็บไว้ใน Amber glass bottle

๓. Alkaline buffer นำ ๐.๑ M glycerine (๗.๕๐๗ กรัม/ลิตร) จำนวน ๒๐๐ มล. ผสมกับ ๔๐๐ มล. ของ ๐.๑ N. NaOH เขย่าให้เข้ากัน เก็บไว้ในขวดพลาสติกที่อุณหภูมิห้อง

๔. Calcein mixture in alkaline buffer calcein mixture ในข้อ ๒ มาจำนวน ๒๐๐ มก. ละลายใน alkaline buffer ๑๐ มล. เก็บไว้ในขวดสีทึบ

๕. KOH-Calcein buffer mixture นำ ๑ ปริมาตรของ Calcein mixture in alkaline buffer ผสมกับ ๑.๒๕ KOH จำนวน ๑๐ มล. เขย่าให้เข้ากัน น้ำยานี้ต้องเตรียมใหม่ทุกวัน

๖. Standard Calcium Solution ๐.๑ มก./มล. ละลาย ๐.๒๔๔๗ กรัม Calcium carbonate (pulverized in iceland spar) ในข้อ ๑ ลงใน 1N KCl แล้วเติมน้ำกลั่นให้ได้ ๑ ลิตร

วิธีทำ

นำซีรัมที่ต้องการหา ๐.๑ มล. ใส่ลงใน cup ของเครื่อง Microtiter แล้วเติม KOH-calcein buffer mixture ลงไป ๐.๕ มล. เขย่าให้เข้ากันแล้วไตเตรทด้วย EDTA

solution จนสีเปลี่ยนจากเขียวไปเป็นม่วง (end point) แล้วอ่านค่าที่ได้จาก standard curve

จ. Free Calcium

วิธีทำ

ใช้วิธี Indirect measurment

โดยใช้ Zeisler Formula

$$Ca^{+2} (mg) = \frac{6 Ca - P/3}{P+6}$$

เมื่อ Ca คือ Total calcium

Ca^{++} คือ Free calcium

P คือ Total protein

ฉ. Total Protein (biuret)

๑. Stock Biuret reagent ซึ่ง

๔๕ กรัม Sodium potassium tartrate

ละลายใน 0.2 N NaOH จำนวน ๔๐๐ มล.

คนให้ละลายเต็ม $CuSO_4 \cdot 5 H_2O$ ลงไป ๑๔

กรัม คนตลอดเวลาให้ละลายแล้วเติม KI ลงไป

อีก ๔ กรัม เติม ๐.๒ N NaOH ให้ครบ ๑

ลิตร

๒. Working Biuret reagent นำ

Stock biuret reagent มา ๒๐๐ มล. เติม

KI ๔ กรัม คนจนละลาย แล้วเติม ๐.๒ N

NaOH จนครบ ๑ ลิตร

วิธีทำ

นำซีรัมมา ๐.๑ ลิตร เติม Biuret

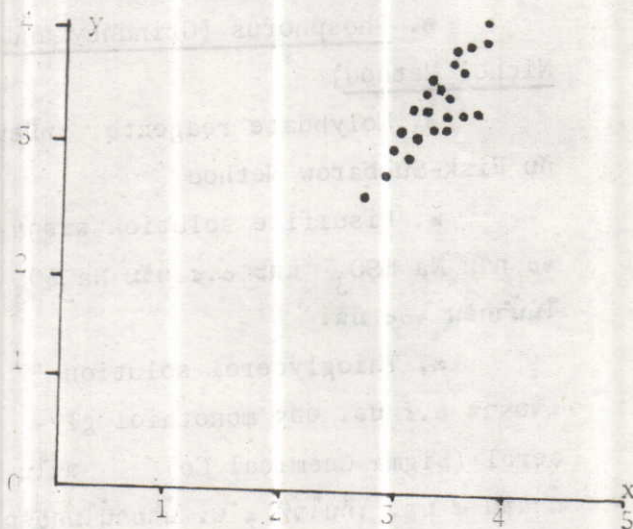
reagent ๔ มล. เขย่าให้เข้ากันทิ้งไว้ ๓๐ นาที วัดที่ 550 nm.

คำนวณ protein (gm%) = OD x Factor

= OD x 9.6448

Factor = $\frac{\text{concentration Std.}}{\text{OD of Std.}}$

ผลการทดลอง



รูปที่ ๑ แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า

serum phosphorus ในคนปกติ

จำนวน ๒๒ ราย โดยวิธี Fisk-

Subbarow และ Grindney-

Nichol.

x = mg% of serum phosphorus

(Grindney method)

y = mg% of serum phosphorus

(Fisk method)

ตารางที่ I แสดงค่า Total calcium, Free calcium, Total phosphorus,
Total protein ในซีรัมของผู้ป่วยก่อนทำการผ่าตัด (pre-operation)

No.	Total Calcium mg. %	Free Calcium	Total Phosphorus mg. %	Total Protein gm. %
1	11.625	5.38	3.75	6.65
2	11.375	5.30	2.40	6.45
3	10.875	5.26	2.25	6.03
4	14.31	6.72	3.975	6.45
5	10.37	6.40	4.05	5.59
6	13.875	6.72	3.675	6.08
7	13.75	6.55	3.525	6.27
8	10.875	5.19	3.525	6.85
9	14.25	6.72	3.525	7.04
10	13.625	6.10	2.14	4.4
11	14.95	6.6	2.4	7.23
12	13.625	6.89	3.75	5.59
13	13.875	6.67	3.15	6.17
14	14.375	5.20	3.45	7.81
15	12.375	5.20	3.45	7.81
16	10.69	4.56	2.85	7.25
17	12.375	5.43	3.975	7.23
18	15.25	6.53	2.925	7.62
19	14.75	6.46	3.6	7.33
20	14.75	7.16	3.15	6.07
21	13.85	6.24	3.0	6.85
22	14.25	6.53	3.9	6.75
23	14.5	6.73	3.225	6.56
24	13.875	6.41	3.525	6.65
25	14.875	6.37	4.5	7.62

ตารางที่ I (ต่อ) แสดงค่า Total calcium, Free calcium, Total phosphorus และ Total protein ในซีรัมของผู้ป่วยหลังทำการผ่าตัด (post-operation)

No.	Total Calcium mg. %	Free Calcium	Total Phosphorus mg. %	Total Protein gm. %
26	11.837	5.67	4.5	6.17
27	13.75	6.29	3.75	6.75
28	15.5	7.10	5.1	7.42
29	11.375	5.39	4.725	6.27
30	11.375	5.10	4.125	7.04
31	12.75	5.39	4.124	7.71
32	13.875	6.2	4.425	7.04
33	11.375	4.82	5.625	7.82

ตารางที่ II แสดงค่าเฉลี่ยของ Total calcium, Free calcium, Total phosphorus, Total protein ในซีรัมของกลุ่ม control เทียบกับผู้ป่วยโรคนี้ Pre-operation & Post-operation

	คนปกติ (n = 57)	ผู้ป่วยนี้ Pre-operation (n = 25)	ผู้ป่วยนี้ Post-operation (n = 8)
Total calcium*	10.58±0.99	13.33±1.49*	12.73±1.52
Free calcium*	4.67±0.40	6.16±0.66*	5.47±0.74
Total Phosphorus*	3.72±0.44	3.38±0.63	4.54±0.59
Total Protein**	7.05±0.50	6.81±0.69	7.03±0.61
* mg%		P < 0.05	
** gm%			

รูปที่ ๑ เป็นการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าของซีรัมฟอสฟอรัสโดยวิธี Fisk-Subbarow กับวิธี Grindney-Nichol จะเห็นว่าทั้ง ๒ วิธีให้ค่าที่ใกล้เคียงกันมาก ($C = 1.18$) ตารางที่ ๑ เป็นการแสดงระดับของแคลเซียม แคลเซียมอิสระ ฟอสฟอรัส และโปรตีนในซีรัมของผู้ป่วยนี้วก่อนผ่าตัดนิ้วและหลังผ่าตัดนิ้ว จำนวนทั้งหมด ๓๓ ราย จะเห็นว่าระดับแคลเซียมและแคลเซียมอิสระในผู้ป่วยหลังผ่าตัด ๓ รายจากจำนวน ๔ ราย ลดลง ส่วนระดับของฟอสฟอรัสในผู้ป่วยจำนวนนี้ ๕ ราย กลับเพิ่มสูงขึ้นกว่าผู้ป่วยนี้วก่อนผ่าตัด สำหรับระดับแคลเซียม แคลเซียมอิสระ ฟอสฟอรัส โปรตีนในซีรัมของคนปกติ จำนวน ๔๗ ราย

นั้ได้ค่าแคลเซียม	๑๐.๒ - ๑๔.๕ mg. %
ค่าเฉลี่ยเท่ากับ	๑๐.๕๔ ± ๐.๕๔ mg. %
ค่าแคลเซียมอิสระ	๔.๐๔ - ๖.๓๔ mg. %
ค่าเฉลี่ยเท่ากับ	๔.๖๗ ± ๐.๐๔ mg. %
ค่าฟอสฟอรัส	๒.๗ - ๔.๘๗ mg. %
ค่าเฉลี่ยเท่ากับ	๓.๗๒ ± ๐.๕๔ mg. %
ค่าโปรตีน	๖.๑๒ - ๘.๒๐ gm. %
ค่าเฉลี่ยเท่ากับ	๗.๐๔ ± ๐.๐๕ gm. %

เมื่อเปรียบเทียบระดับแคลเซียม แคลเซียมอิสระ ในซีรัมผู้ป่วยนี้วกับคนปกติ พบว่าในผู้ป่วยจะสูงกว่าอย่างเห็นได้ชัด ($P < 0.05$) ส่วนระดับฟอสฟอรัส และโปรตีนในผู้ป่วยกับคนปกติไม่มีความแตกต่างกัน ($P > 0.05$) ดังแสดงไว้ในตารางที่ II

สรุปและวิจารณ์ผล

วิธีของ Fisk-Subbarow สีของสารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นจะวัด

ได้ต้องหลังจากทำปฏิกิริยา ๓๐ นาที Grindney-Nichol นั้นใช้เวลาเพียง ๑๐ นาที เท่านั้น แต่วิธีนี้มีข้อเสียคือ สีจะไม่อยู่ตัว ต้องวัดทันทีหลัง ๑๐ นาที มิฉะนั้นสีจะจางลงเรื่อยๆ จึงไม่ค่อยสะดวกนักในเวลาทำการทดลอง และวิธีนี้แม้ว่าจะใช้ปริมาณซีรัมน้อยกว่า แต่ผลที่ได้ก็มีได้แตกต่างกัน ($C = 1.18$) นอกจากนั้นวิธี Fisk-Subbarow ยังใช้สารที่หาง่าย ราคาถูก จึงเลือกใช้วิธี Fisk-Subbarow ในการหาระดับฟอสฟอรัส ในซีรัมของผู้ป่วยนี้ว (รูปที่ ๑)

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่า ระดับแคลเซียมและแคลเซียมอิสระในผู้ป่วยนี้วมีระดับสูงกว่าคนปกติอย่างเห็นได้ชัด ($P < 0.05$) ในจำนวนนี้มี ๑๔ ราย (๑๕ ราย เป็นผู้ป่วยก่อนผ่าตัด และ ๓ รายเป็นผู้ป่วยหลังผ่าตัด ที่มีระดับแคลเซียมและแคลเซียมอิสระสูงมาก ดังนั้นจึงพอจะสรุปได้ว่าในผู้ป่วยนี้วส่วนใหญ่จะมีภาวะ Hypercalcaemia ซึ่งตรงกับรายงานของ Lydwood (1978) ส่วน ๕ รายที่มีระดับแคลเซียมปกตินั้นเป็นไปได้ เพราะมีผู้รายงานพบว่า Hypercalciuria เป็นสาเหตุของการเกิดนี้วได้ทั้งๆ ที่มี normal calcaimai (William Thomas 1978) ที่เหลืออีก ๑๐ รายนั้นมีระดับแคลเซียมสูงกว่าค่าปกติเล็กน้อย ๑๐ ราย นี้ถือว่าเป็นผู้ป่วยชนิด Idiopathic urolithiasis ซึ่ง Lydwood ได้ศึกษาใน Idiopathic urolithiasis พบว่าผู้ป่วยเหล่านี้มี High normal calcium หรือ Slightly highly calcium ในเลือด

สำหรับ serum phosphorus ในผู้ป่วย ๓๓ ราย จะเห็นว่า ๔ รายมีค่าต่ำกว่าปกติ ๑๗ รายอยู่ในช่วงปกติและอีก ๗ ราย สูงกว่าปกติ จะเห็นว่าผู้ป่วยโรคนี้วส่วนใหญ่จะมีค่า serum phosphorus อยู่ในช่วงปกติถึงต่ำกว่าปกติ ซึ่งเป็นไปได้จากรายงาน

ของ Lydwood ผู้ป่วย Idiopathic Urolithiasis ๔๐-๗๕% จะมีภาวะฟอสฟอรัสในซีรัมต่ำ และจากรายงานของ Kaplan 1977 และ Shen F.H. 1977 พบว่าผู้ป่วย Hypercalciuria จะมีภาวะ Hypophosphatemia ส่วนผู้ป่วย ๗ ราย ที่มีค่าฟอสเฟตสูงกว่าปกตินั้นเป็นผู้ป่วยหลังการผ่าตัด ๕ ราย และ ๒ ราย จากผู้ป่วยก่อนผ่าตัด สำหรับ ๕ รายแรก อาจจะเนื่องจากการผ่าตัดก้อนนี้ออก ต้องได้รับการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะ เพื่อป้องกัน infection ยาเหล่านี้อาจมีผลทำให้ renal function ลดลง ทำให้ผู้ป่วยที่มี serum phosphorus ต่ำกลับเพิ่มสูงขึ้นสู่ระดับปกติได้ ส่วนอีก ๒ รายนั้น ไม่ทราบสาเหตุแน่ชัด แต่ Total protein ในผู้ป่วยโรคนี้และในคนปกติไม่พบว่ามีค่าแตกต่างกัน ($P > 0.05$)

เอกสารอ้างอิง

1. Fiske, C.A. and Y. Subbarow, Colorimetric Determination of Phosphorus. *J. Biol. Chem.* 66:375, 1925.
2. Grindney G.B. and Nichol C.A. Micro Procedure for Determination of Pyrophosphate and Orthophosphate. *Anal. Biochem* 33:114 - 119, 1970.
3. Gershoff, S.N., Prien, E.L. and Chandrapanond, A. Urinary Stones in Thailand. *J. urol.* 90:285-288, 1963.
4. Boyce, W.A. and King, K.S. Crystal matrix interrelationships

in calculi. *J. urol.* 81:35-38, 1959.

5. Robertson, W.A., Peacock, M. and Nordin, B.E. Calcium crystalluria in recurrent renal stone formers. *Lancet.* 2:21-24, 1969.

6. Robertson, W.A., Peacock, M. and Nordin, B.E. Calcium oxalate crystalluria and urine saturation in recurrent stone formers. *Clinical science.* 40:365-374, 1971.

7. Coburn, S.P. and Packett, L.V. Calcium, Phosphorus and citrate interaction in oxalate urolithiasis produced with low phosphorus diet in rates. *J. Nutr.* 76:385-392, 1962.

8. Valyasavi, A., Dhanamitta, S. and Van Reen R.V. Studies of bladder stone disease in Thailand X. Effect of orthophosphate and non-fat dry milk supplement of urine composition. *Amer. J. Clin. Nutr.* 22:218-227, 1969.

9. Lywood, H.S. Calcium containing renal stone. *Kidney International* 13:383, 1978.

10. William Thomas, J.R. Use of phosphate in patient with calcareous renal calculi. *Kidney International* 13:390-396, 1978.

11. Kaplan, R.A., Haussler, M.R., Deftos, L.J., Bone H. and Pak, C.Y.C. The role of 1, 25

dihydroxy vitamin D in the mediation of intestinal hyperabsorption of calcium in primary hyperparathyroidism and absorptive hypercalciuria, J. Clin - Invest. 59 : 756-760, 1977.

12. Shen , F.D., Baylink, D.J., Sherrard, dJ. and Hauseler MR. Idiopathic hypercalciuria (IH) : The phosphate leak hypothesis and the effect of oral phosphate supplement. Clin. Res. 25:448, 1977.

ABSTRACT

DETERMINATION SERUM CALCIUM, FREE CALCIUM AND PHOSPHORUS WITH URINARY LITHIASIS

Luksana Makonkawkeyoon M.S. (Biochem)*

Orachon Kunasakdakun B.Sc (Med.Tech) *

Determination of serum phosphorus by Fisk-Subbarow Method is more suitable than Grinane-Nichol's Method. Thirty three cases of patients with urinary lithiasis were studied. It was found that the average total calcium and free calcium in twenty five preoperative patient were 13.33 ± 1.49 mg.% and 6.16 ± 0.66 mg.% while 8 cases of postoperative patients were 12.73 ± 1.52 mg.% and 5.74 ± 0.77 mg.% respectively. In 57 cases of normal control total and free calcium were 10.58 ± 0.99 mg.% and 4.67 ± 0.4 mg.%. There was significant statistically different when the level of total calcium in the patient (post operation and preoperation) were compared with that of the normal control (P 0.05).

The level of phosphorus and protein in 33 cases of the patients with urinary lithiasis was 3.36 ± 0.79 mg.% and 6.85 ± 0.67 mg.%. However in 57 cases of normal controls were 3.72 ± 0.44 mg.% and 7.05 ± 0.5 mg.% respectively. There was no statistically different in these two groups.

* Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Chiang Mai University.

อภิธานการ

จาก

บริษัท บางกอกโนเวลตี จำกัด

๑๐๕ ถนนราชดำริ กรุงเทพมหานคร

ผู้แทนจำหน่าย

- เคมีภัณฑ์ สำหรับใช้ในห้องทดลอง และเครื่องมือ

วิทยาศาสตร์ทุกชนิด

- น้ำยาเคมีภัณฑ์ ทำความสะอาดพื้น-เบาะ-ห้องน้ำ

ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ จากประเทศเยอรมันนี

ขอขอบคุณที่ท่านได้อุดหนุนบริษัทด้วยดีตลอดมา

โทร. ๒๕๒๕๗๔๐, ๒๕๒๒๕๑๘

ข้อและวิธีวอกสาร

Technetium 99m Antimony Collord
for Bone = Marrow imaging. Martendale
AA, Papadimetrione J.M. & Turner JH.
J. Nucl. Med., 21 (11); 1035-1041,
1980

สารประกอบรังสีที่ใช้ในการตรวจไขกระดูก
กันอยู่ขณะนี้ ยังไม่มีสารตัวไหนที่มีคุณสมบัติครบถ้วน
เหมาะสม สารที่ดีที่สุดขณะนี้คือ Tc-99m sulfur
colloid (Tc Sc) ซึ่งจะถูกจับไว้โดย reticulo
endothelial cells โดยเฉพาะอย่างยิ่งใน
ตับและม้าม ผู้รายงานได้เสนอสารตัวใหม่คือ Tc-
99m antimony colloid (Tc SbC) ซึ่งทำจาก
poly vinylpyrrolidone ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล
๔๔,๐๐๐ ใต้ขนาดของ particle ระหว่าง ๑-
๑๓ nm เมื่อวัดโดย electron microscope
เล็กกว่าขนาดของ particle ของ Tc Sc ซึ่ง
เกินกว่า ๑๐๐ nm และมีขนาดแตกต่างกันมากมาย
เมื่อทดลองฉีด Tc SbC เข้าหลอดเลือดดำในกระ-
ต่าย แล้วเจาะไขกระดูกมาตรวจ พบว่ามันจะไป
อยู่ใน subendothelial dendritic phago-
cytes การกระจายของ Tc SbC เข้าไปใน
กระดูก (๒.๔๔% ที่ ๑ ชม.) มีมากกว่า Tc SC
(๐.๖๑% ที่ ๑ ชม.) ทำให้ภาพของไขกระดูกชัด-
เจน สรุปว่า Tc-SbC มีข้อดีกว่า Tc-SC ในด้าน
ขนาดของ particle และการกระจายเข้าสู่ไข
กระดูก จึงน่าจะเป็นสารที่เหมาะสมสำหรับการตรวจ
และสร้างภาพไขกระดูกต่อไป

กนกวรรณ อุโฆษกิจ M.Sc.

กลไกในการรบกวนของฮีโมโกลบินต่อการ
ตรวจวัดบิลิรูบินรวม โดยวิธีของมัลลอย-เอเวลีน
Mechanism of Interference by

Hemoglobin in the Determination of
Total Bilirubin 1. Method of Malloy-
Evelyn.

Shull, B.C., Lees, H., and Li,
P.K.: Mechanism of Interference by
Hemoglobin in the Determination of
Total Bilirubin I. Method of Malloy-
Evelyn. Clin. Chem. 26/1 22-25(1980)

คณะผู้วิจัยได้รายงานถึงออกซิฮีโมโกลบิน
(OHB) ซึ่งเป็นฮีโมโกลบิน (Hb) ชนิดหนึ่งที่อยู่ใน
เม็ดเลือดแดงที่แตกแล้วไปยับยั้งปฏิกิริยาของ
dialzo ในการวิเคราะห์บิลิรูบิน ตามวิธีของ
มัลลอย-เอเวลีน ส่วน ferric Hb deriva-
tive อื่นๆ และฮีโมโกลบินที่มีน้ำหนักโมเลกุล
ต่ำๆ จะไม่รบกวนปฏิกิริยา การเปลี่ยนออกซิฮี-
โมโกลบิน เป็น acid hematin ภายใต้ปฏิกิริ
ยาและภาวะที่ควบคุมไว้จะทำให้บิลิรูบินถูกทำลาย
อย่างรวดเร็วซึ่งเป็นสาเหตุจากปฏิกิริยา dialzo
ที่ผิดพลาด กลไกที่น่าจะเป็นไปได้มากที่สุดจากการ
ที่บิลิรูบินถูกทำลายนี้คือปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่ง
เกี่ยวข้องกับ H_2O_2 ที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาการออก
ซิไดส์ของฮีโมโกลบินและ acid hematin ที่ทำ
ตัวเป็น pseudoperoxidase ไม่พบว่ามี การร
บกวนปฏิกิริยาจากกลไกอื่นๆ เช่น ความผิดพลาด
ทางสเปกตรัม หรือจากการทำลาย azobili-
rubin การเติม KI ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายใน
สารผสม ๔.๐ มิลลิโมล/ลิตร จะกำจัดการรบกวน
จากฮีโมโกลบินที่มีความเข้มข้นสูงถึง ๑๐ กรัม/
ลิตร และยังช่วยกำจัดการรบกวนที่เกิดจาก he-
molysis ตามวิธีของเออร์ติงเฮาเซนและคณะ,
๑๙๗๓ ซึ่งใช้ ethylene glycol เป็นตัวเร่ง
ปฏิกิริยา

เกรียงศักดิ์ อัมใจ วท.ม.

Ornithine metabolism in normal subjects and patients with cancer

Webber, M.M., Buffkin, D.C., et al, J. Nucl. Med 21:1194-1196, 1980

Ornithine เป็นกรดอะมิโน ซึ่งเกี่ยวข้องกับอย่างใกล้ชิดกับการเจริญเติบโตของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ผู้เขียนได้ทำการทดลองโดยใช้ ^{14}C ornithine ฉีดเข้าทางหลอดเลือดดำแล้ววัด $^{14}\text{CO}_2$ ที่ออกมาที่ลมหายใจ และได้เคยรายงานไว้ก่อนแล้วว่าพบ % $^{14}\text{CO}_2$ ที่ออกมามากกว่าปกติในหนูที่มีก้อนมะเร็ง คราวนี้ผู้เขียนทำการทดลองในคนพบว่า % $^{14}\text{CO}_2$ ในผู้ป่วยมะเร็ง ๑๐ คน (23.03 ± 4.5 %) สูงกว่าในอาสาสมัครที่มีสุขภาพสมบูรณ์ ๑๒ คน (12.6 ± 3.11 %) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อติดตามผลในผู้ป่วย ๓ คนที่ได้รับการรักษาแล้ว ๒ คนที่มะเร็งหายไพบพบว่า % CO_2 ลดลงตามไปด้วย อีก ๑ คนนั้น การรักษาไม่ได้ผลและ % CO_2 คงเดิม ผลที่น่าสนใจอีกอันหนึ่งคือ ในอาสาสมัครหญิงคนหนึ่งมี $^{14}\text{CO}_2$ สูงกว่าปกติ (33.1 %) ต่อมาจึงพบว่าอาสาสมัครผู้นี้ตั้งครรภ์ได้ ๗-๘ วัน

ดังนั้น จึงอาจสรุปได้ว่าในคนการใช้ ornithine จะมากน้อยมีความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับ ขบวนการเจริญเติบโตทั้งที่เป็น malignant และ non-malignant process อย่างไรก็ดี ผู้เขียนจะทำการศึกษาต่อไปในคนปกติทั้งสองเพศ ในช่วงอายุต่างๆ, ในผู้ป่วยมะเร็งระยะต่างๆ ทั้งก่อนและหลังการรักษา และในผู้ป่วยอื่นๆ ที่ไม่ได้เป็นโรคมะเร็ง

กนกวรรณ อุโฆษกิจ, M.Sc.

" การฆ่าเชื้อ Nocardia asteroides โดย phagocytes "

(Effects of Human Neutrophils and Monocytes on Nocardia asteroides: Failure of Killing despite Occurrence of the Oxidative Metabolic Burst.)

Gregory A. Filice, Blaine L. Beaman, James A. Krick and Jack S. Remington. From : The Journal of Infectious Diseases. Vol.142. No.3. September 1980.

ผู้ทำการทดลองได้ศึกษาถึงกลไกการฆ่าเชื้อ Nocardia asteroides โดยเซลล์ชนิด Neutrophils และ Monocytes ในหลอดทดลอง ได้ผลสรุปได้ดังนี้คือ เมื่อนำเอาเชื้อ N.asteroides ที่ยังมีชีวิตอยู่ มาเลี้ยงรวมกับ Neutrophils และ Monocytes เป็นเวลานาน ๔ ชั่วโมง พบว่าประมาณ ๑๐% และ ๒๑% ของเชื้อถูกฆ่าโดย Neutrophils และ Monocytes ตามลำดับ ต่างจากเชื้อ Listeria monocytogenes และ Staphylococcus aureus ซึ่งจะถูกฆ่าไปประมาณ ๘๐% การที่ Neutrophils และ Monocytes ไม่มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ N.asteroides นี้ พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กับ oxidative metabolism burst เนื่องจากผลการทดลองยืนยันว่ามีการเกิด oxidative metabolism burst ขึ้นเมื่อใส่เชื้อ N.asteroides ลงไป โดยอาศัยวิธี chemiluminescence ในการตรวจหา.

ผศ.ลิขิต สงค์ศิริ ว.ม.

Chemiluminescence-Linked Immunoassay for Detection of Mumps Virus Antibody

"การหาแอนติบอดีต่อโรคคางทูมโดยวิธี Chemiluminescence Linked Immunoassay "

Eiko Konishi, Susumu Iwasa, Koichi Hondo and Masatake Hori. From The Journal of Clinical Microbiology, Vol. 12, No. 2, P. 140-143, Aug., 1980.

คณะผู้ทำการทดลองได้เสนอวิธี Chemiluminescence-Linked Immunoassay (CLIA) ในการตรวจหาแอนติบอดีต่อโรคคางทูม โดยอาศัย luminol เป็นตัว marker และใช้ polystyrene ball เป็นตัวให้แอนติเจนจับ

ในการทดลองได้ทำการเปรียบเทียบกับวิธี Enzyme linked fluorescence assay (ELFA) และ Hemagglutination inhibition ได้ทำการตรวจสอบตัวอย่างทั้งหมด ๔๐ ตัวอย่าง จากคน ๒๔ คนที่ได้รับวัคซีนและการติดเชื้อตามธรรมชาติ ผลการทดลองพบว่ามีความสัมพันธ์กันดีทั้งสามวิธี วิธี CLIA มีความไวในการตรวจมากกว่าวิธี Hemagglutination inhibition ถึง ๑๐ เท่า และใช้เวลาน้อยกว่าการตรวจโดยวิธี ELFA แต่พบว่า reproducibility ไม่ดีเท่าวิธี ELFA อย่างไรก็ตามความแตกต่างนี้ไม่มากนัก

ผศ.ลิขล สงค์ศิริ วท.ม.

ฉบับนี้แทนการจาก

ห้างหุ้นส่วนจำกัด เอส. เค. เทรดดิ้ง

S. K. TRADING LTD, PART.

เลขที่ 13-15 ถนนช้างคลาน ใกล้สี่แยกอุปกุด

เชียงใหม่

โทรศัพท์ 234048



ข่าวในวงการ

นายอนุชา ศรีอรุณ เจ้าหน้าที่บริหารงาน-
ทั่วไป สำนักงานเลขานุการคณะเทคนิคการแพทย์
ได้ไปประชุมชี้แจงเกี่ยวกับการรายงานและผลการ
ปฏิบัติงานเกี่ยวกับงบประมาณ ณ ห้องประชุมทบวง
มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร ระหว่างวันที่ ๓๑
ตุลาคม ถึง ๑ พฤศจิกายน ๒๕๒๓

อาจารย์พิมพ์อำไพ โกวาทิ และอาจารย์
อาภรณ์ ธรรมคุณิ โครงการจัดตั้งภาควิชาอาชีว-
บำบัด ได้เข้ารับการอบรมภาษาเยอรมันแบบเข้ม
ณ ศูนย์วัฒนธรรมเยอรมัน ระหว่างวันที่ ๑๐ กัน-
ยายน ๒๕๒๓ ถึงวันที่ ๒๗ ตุลาคม ๒๕๒๓

อาจารย์ระวีวรรณ โชติเจริญรัตน์ ภาควิชา
รังสีเทคนิค ได้ไปปฏิบัติงานเกี่ยวกับเครื่องมือเครื่อง
ใช้ในภาควิชารังสีเทคนิค คณะแพทยศาสตร์ โรง-
พยาบาลรามาธิบดี และคณะแพทยศาสตร์ โรง-
พยาบาลศิริราช ระหว่างวันที่ ๒-๔ พฤศจิกายน
๒๕๒๓

อาจารย์วารุณี คุณาชีวะ ภาควิชาภูมิคุ้ม-
กันวิทยาคลินิก ได้ไปฝึกอบรมเกี่ยวกับการปฏิบัติ
งานธนาคารเลือด ณ แผนกธนาคารเลือด โรง-
พยาบาลศิริราช ระหว่างวันที่ ๔-๒๒ พฤศจิกายน
๒๕๒๓

รศ.ดร.ขวัญชัย รัตนเสถียร ภาควิชาเคมี
คลินิก ได้ไปร่วมประชุมและเสนอผลงานทางวิชา
การ เรื่องวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเพื่อการ
พัฒนาประเทศ ณ คณะวิทยาศาสตร์ และคณะแพทย
ศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ระหว่างวันที่ ๔-๖
ธันวาคม ๒๕๒๓

อาจารย์กนกวรรณ อุโฆษกิจ อาจารย์
เดือนจิตร แจ่มศิลป์ อาจารย์พลาเดช เฉลยกิตติ
และอาจารย์จิตติพร เขียนประสิทธิ์ ภาควิชารังสี
เทคนิค ไปศึกษาและดูงาน ณ โรงพยาบาลใน

จังหวัดเชียงราย จังหวัดพะเยา จังหวัดน่าน
และจังหวัดแพร่ ระหว่างวันที่ ๑๒-๑๔ พฤศจิกายน
๒๕๒๓

ศาสตราจารย์นายแพทย์ชัยโรจน์ แสงอุดม
คณบดีคณะเทคนิคการแพทย์ ได้เดินทางไปร่วม
ประชุมคณะกรรมการพัฒนาการชันสูตร ณ กรม
วิทยาศาสตร์ กรุงเทพมหานคร ในวันที่ ๕ มก-
ราคม ๒๕๒๔

ศาสตราจารย์นายแพทย์ชัยโรจน์ แสงอุดม
คณบดีคณะเทคนิคการแพทย์ ได้ออกสำรวจความ
ต้องการเกี่ยวกับบุคคลากรและการปฏิบัติงานทาง
ห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลต่างๆ ในภาค -
เหนือ ตั้งแต่วันที่ ๖-๒๐ มกราคม ๒๕๒๔

อาจารย์ณรงค์ สุขานุกรณ์ อาจารย์อรพรรณ
วิญญูวรรณ และอาจารย์ปฐมรัตน์ ศักดิ์ศรี โครงการ
การจัดตั้งภาควิชาอาชีวบำบัด ได้ไปประชุมวิชา-
การระหว่างประเทศ เรื่อง First General
Assembly of Asian Confederation
for Physical Therapy, ณ สมาคม Y.M.
C.A. กรุงเทพมหานคร ระหว่างวันที่ ๕-๗ มก-
ราคม ๒๕๒๔

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อุดมศักดิ์ เทว-
ซึ่งเจริญ หัวหน้าภาควิชาเคมีคลินิก ได้ไปร่วม
เตรียมการสำหรับหลักสูตรฝึกอบรมเจ้าหน้าที่
เทคนิคการแพทย์ ณ คณะแพทยศาสตร์ โรงพยา-
บาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล ระหว่างวันที่
๑๑-๑๗ มกราคม ๒๕๒๔

อาจารย์อรพรรณ วิญญูวรรณ โครงการ
จัดตั้งภาควิชาอาชีวบำบัด ไปร่วมประชุมวิชาการ
สุขภาพจิตประจำปี ครั้งที่ ๓๔ ณ ห้องประชุมตึก
กองสุขภาพจิต โรงพยาบาลศรีธัญญา จังหวัดนน-
ทบุรี ระหว่างวันที่ ๑๔-๒๓ มกราคม ๒๕๒๔

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สนอง ไชยารักษ์ และ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ไพโรจน์ สภาวจิต พร้อมด้วย
คณาจารย์ของคณะเทคนิคการแพทย์ ได้นำนักศึกษา
ชั้นปีที่ ๔ คณะเทคนิคการแพทย์ ไปทัศนศึกษาห้อง
ปฏิบัติการขั้นสูงตามโรงพยาบาลและสถานพยาบาล
ในจังหวัดเชียงใหม่และต่างจังหวัด ระหว่าง
วันที่ ๑๐-๑๒ มีนาคม ๒๕๒๔

รองศาสตราจารย์ ดร.ขวัญชัย รัตนเสถียร
ภาควิชาเคมีคลินิก ได้ไปร่วมประชุมปฏิบัติการ

เรื่อง Planning and Management of
Development Research Project ณ สถานี
วิจัยทุ่งจ้อย จังหวัดเชียงใหม่ ระหว่างวันที่ ๑๖ -
๒๐ มีนาคม ๒๕๒๔

อาจารย์จิตติพร เขียนประสิทธิ์ ภาควิชา
รังสีเทคนิค ได้ลาราชการเพื่อไปศึกษาต่อระดับ
ปริญญาโท สาขาวิชาอุปกรณ์ชีวแพทย์ ณ มหาวิทยาลัย
ลัยมहितล มีกำหนด ๒ ปี นับตั้งแต่วันที่ ๑๖ มีนาคม
๒๕๒๔ เป็นต้นไป.

ห่างหุ้นส่วนจำกัด วีระชัยพพลาย

ผู้แทนจำหน่าย

อุปกรณ์โสตทัศนศึกษาทุกชนิด

สำนักงาน ๘๑-๘๓ ถนนเฉลิมเขตร์ ๑

สวนมะลิ กรุงเทพฯ ๑

โทร. ๒๒๓๘๖๔, ๒๕๓๙๑๒๒

โฆษณาในเล่ม

๑. ห้างหุ้นส่วนจำกัด รัชมอร์ จำหน่ายกล้องและอุปกรณ์ โอลิมปัส
๑๑๑ ทองหล่อ ซอย ๕ สุขุมวิท ๕๕ กรุงเทพฯ
โทร. ๓๙๑-๖๑๒๒
๒. ห้างเคมีกิจ จำหน่ายและรับสั่ง อุปกรณ์วิทยาศาสตร์และเคมีภัณฑ์
๓๔/๒๐ ถนนพญาไท (ใกล้สี่แยกพญาไท) กรุงเทพฯ ๔
โทร. ๒๔๔๔๑๗๒-๔
๓. บริษัทเบคไทย กรุงเทพ จำหน่ายเครื่องมือและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์
ทางการแพทย์
๑๐๑๗-๑๐๑๙ ถนนพหลโยธิน กรุงเทพฯ ๔
โทร. ๒๗๔-๔๑๒๓, ๒๗๔-๔๔๖๙, ๒๗๔-๒๙๐๓
๔. บริษัทบางกอกโนเวลตี จำกัด จำหน่ายเคมีภัณฑ์และเครื่องมือ-
วิทยาศาสตร์ทุกชนิด
๑๐๕ ถนนราชดำริ กรุงเทพฯ
โทร. ๒๔๒๔๗๔๐, ๒๔๒๒๔๑๔
๕. ห้างหุ้นส่วนจำกัดวิระชัยพลาย จำหน่ายอุปกรณ์โสตทัศนศึกษาทุกชนิด
๘๑-๘๓ ถนนเฉลิมเขตร์ ๑ สวนมะลิ กรุงเทพฯ ๑
โทร. ๒๒๓๑๘๖๔, ๒๒๓๙๑๒๒
๖. ร้านรัตนผล จำหน่ายอุปกรณ์และเครื่องใช้ในสำนักงานทุกชนิด
๑๑๐-๑๑๒ ถนนท่าแพ เชียงใหม่
๗. ห้างหุ้นส่วนจำกัด เอส เค เทรตตั้ง จำหน่ายเคมีภัณฑ์และเครื่องมือ-
วิทยาศาสตร์ทุกชนิด
๑๓-๑๕ ถนนช้างคลาน ใกล้สี่แยกอุคูต เชียงใหม่
โทร. ๒๓๔๐๔๔
๘. บริษัทเซนทรัลวิสาหกิจ จำหน่ายถุงและอุปกรณ์เกี่ยวกับการให้เลือด
๔๕/๔-๙ ถนนเศรษฐศิริ ริมทางรถไฟสามเสน กรุงเทพฯ ๓
โทร. ๒๗๔๒๐๗๒, ๒๗๔๒๐๗๓

(ต่อ)

๔. บริษัทวิทยาคม จำกัด แผนกเอ็กซ์เรย์และไอโซโทป

๑๔๔ ถนนพญาไท กรุงเทพฯ

โทร. ๒๔๑๔๒๑๑, ๒๔๑๔๔๒๖, ๒๔๑๔๗๓๗

๑๐. ห้างหุ้นส่วน สหเภณีสเคมี จำกัด จำหน่ายเครื่องมือวิทยาศาสตร์
ทางการแพทย์

โทร. ๓๔๒๖๔๐๐, ๓๔๒๗๖๐๓

๑๑. ห้างหุ้นส่วน จำกัด เกรทโก จำหน่ายน้ำยา ตรวจทาง "Serology"
ผลิตภัณฑ์ GAMMA "U.S.A."

๓๔๔/๔ ถนนประชาธิปไตย อ.พระนคร กรุงเทพฯ

โทร. ๒๔๒๖๐๔๖, ๒๔๒๒๗๔๗

๑๒. บริษัท F.E.C. จำกัด (F.E.C. Co., Ltd.)

จำหน่ายอุปกรณ์ และเครื่องมือทุกชนิดในห้องทดลอง

๓๔๗ ถนนอิสสระภาพ บางกอกใหญ่ กรุงเทพฯ

โทร. ๔๖๔๐๖๑๗, ๔๖๔๖๐๖



ห้างหุ้นส่วนจำกัด

เกรตโก

GREAT CO LTD., PART.

394/8 Prachatipatai Rd. Bangkok, Thailand
ถนนประชาธิปไตย อ.พระนคร กรุงเทพมหานคร ☎ 2826086, 2822747

ตรวจ Syphilis รู้ผลภายใน 4 นาที ด้วย GAMMA
"RPR" Antigen Sensitive ให้ผลดีกว่า V.D.R.L.
ไม่ต้อง inactivate สามารถอ่านผลได้ด้วยตาเปล่า
ผลิตภัณฑ์ GAMMA "U.S.A." เป็นที่ยอมรับ
และเชื่อถือทั่วโลก

Anti-Human Serums (Rabbit)
ABO Blood Grouping Serums
Rh Blood Grouping Serums (Anti D)
C-Reactive Protein Latex Test Set
Infectious Mononucleosis Test Set
Rheumatoid Factor Latex Test Set
Typhoid H, Typhoid O
Para typhoid A, Para typhoid B

สาขาย่อยติดต่อได้ที่ หกก. เอส. เค. เทรตติง

เลขที่ 13-15 ถนนช้างค้ำ
เชียงใหม่ โทรศัพท์ 234048

โดย คุณเกษม นพรัตน์กรลาศ

ห้างหุ้นส่วนจำกัด

เค มี กิ จ

CHEMIKIT Limited Partnership

เลขที่ ๓๕/๒๐ ถนนพญาไท ใกล้สี่แยกพญาไท กรุงเทพฯ ๔

35/20 PHYATHAI ROAD, NEAR PHYATHAI SQUARE,
BANGKOK 4, THAILAND.

โทรศัพท์ 2454172 - 4

จำหน่ายและรับสั่ง

อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ และเคมีภัณฑ์

SCIENTIFIC APPARATUS AND CHEMICALS SUPPLIES

F.E.C. Co., Ltd.

บริษัทจำหน่าย อุปกรณ์และเครื่องมือวิทยาศาสตร์

4557617 - 4558808

อภิธานนาการ

จาก

ร้านรัตนผล

110 - 112 ถนนท่าแพ เชียงใหม่

จำหน่าย และ ผู้แทนจำหน่าย

อุปกรณ์และเครื่องใช้ในสำนักงานทุกชนิด

รับงานพิมพ์ด้วยระบบออฟเซต

