01/0002/30

นิพนธ์ต้นฉบับ

การศึกษาหาระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนในซีรัมของชายไทยสูงอายุ โดยวิธีเรดิโออิมมิวโนเอสเสย์*

The determination of hormone testosterone level in serum of elderly Thai male by radioimmunoassay*

*สาวิตรี ธนศิลป์ **, สุกัญญา วีรวัฒนะกุมพะ ***, นิกร ดุสิตสิน *****

Abstract : **Sawitree Thanasil, Sukanya Werawatgoompa and Nikorn Dusitsin. 1987. The determination of hormone testosterone level in serum of elderly Thai male by radioimmunoassay. Thai J Hlth Resch 1 (1) : 7-12**

One hundred seventy three healthy Thai males were divided into 2 groups. The first group aged between 21-59 years (99 subjects), and the second group aged over 60 years (74 subjects). Serum of each subject was assayed for hormone testosterone by radioimmunoassay. The accuracy of the method was 85.8% and 103.2% at the concentrations of 39.4 nmol/L and 15.2 nmol/L respectively. The precision of the assay as expressed interms of the percentage coefficients of variation was 8.26% (4.85-10.53%) AT 34.97 nmol/L and 7.62% (7.41-7.98%) at 15.10 nmol/L (intra-assay). The inter-assay coefficient of variation was 13.03% and 9.35% at the concentration of 34.97 nmol/L and 15.10 nmol/L respectively. The method was applied to measure serum testosterone of Thai males at age group 21-59 years and elderly subjects (> 60 years). It was found that the level of testosterone in Thai males of elderly subjects and at 21-59 years of age showed 8.93-27.9 nmol/L and 12.43-27.223 nmol/L respectively. When cumulative percentile at 5-95 was applied, it was found that the hormone testosterone levels of both groups showed no significantly different ($p > 0.05$).

* *งานวิจัยภายใต้โครงการ การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์*
Senior project

** *ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย*
Dept of Medical Technology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University.

*** *สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย*
(ปัจจุบันภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)
Institute of Health Research, Chulalongkorn University.
(Present : Biochemistry Department, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University)

**** *สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย*
(ปัจจุบันภาควิชาสูติศาสตร์ - นรีเวชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)
Institute of Health Research, Chulalongkorn University.
(Present : Dept of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University)

บทคัดย่อ :

การศึกษานี้ แบ่งชายไทยอาสาสมัคร ออกเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มชายอายุระหว่าง 21-59 ปี (99 ราย) และกลุ่มชายอายุตั้งแต่ 60 ปีขึ้นไป (74 ราย) นำซีรั่มของอาสาสมัครแต่ละราย มาหาระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน โดยวิธีเรดิโอ-อิมมิวโนเอสเสย์

จากการศึกษา พบว่าวิธีนี้วัดได้ถูกต้อง 85.8% และ 103.2% ที่ความเข้มข้น 39.4 nmol/L และ 15.2 nmol/L ตามลำดับ นอกจากนี้ ความแม่นยำของวิธีการ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์สัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน (% CV) เมื่ออยู่ในชุดเดียวกันมีค่า 8.26% (4.85-10.53%) ที่ความเข้มข้น 34.97 nmol/L และ 7.62% (7.41-7.98%) ที่ความเข้มข้น 15.10 nmol/L เมื่อวัดต่างชุดกัน เปอร์เซ็นต์สัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน มีค่า 13.03% และ 9.35% ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์ระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนในชายไทยอายุ 60 ปีขึ้นไป มีค่าระหว่าง 8.93-27.9 nmol/L และชายไทยกลุ่มอายุ 21-59 ปี มีค่าระหว่าง 12.43-27.23 nmol/L เมื่อใช้ cumulative percentileที่ 5-95 พบว่าระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนของชายไทยสองกลุ่มมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P > 0.05)

บทนำ

ฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน เป็นฮอร์โมนจำพวกแอนโดรเจน ที่ช่วยให้อวัยวะเพศชายเจริญเติบโตและทำงานเป็นปกติ ฮอร์โมนนี้สร้างโดย Interstitial (Leydig) cells ที่อยู่ในอัณฑะ David และคณะ เป็นผู้ค้นพบและแยกฮอร์โมนตัวนี้จากอัณฑะได้สำเร็จเป็นครั้งแรกเมื่อปี ค.ศ. 1935

ระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนในเลือด ขึ้นกับอัตราการสร้างและสลายของพวกสเตอรอยด์ ความเข้มข้นของ Sex hormone binding globulin (SHBG) นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับเพศและอายุด้วย Vermeulen *et al.* (1972) พบว่า ในผู้ชายปกติจะมีระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนในเลือดสูงกว่าผู้หญิงปกติประมาณ 15 เท่า เมื่อผู้ชายปกติมีอายุสูงเกิน 50 ปีขึ้นไป ระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนในเลือดจะลดต่ำลง การเจริญเติบโตของอวัยวะสืบพันธุ์ของเพศชายจึงลดลงและทำหน้าที่ได้น้อยลงด้วย การศึกษาหาระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนในร่างกายจะช่วยบ่งสภาวะของระบบสืบพันธุ์ได้ เช่น กรณีที่ระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนต่ำกว่าปกติ จะทำให้เกิดภาวะที่ระบบสืบพันธุ์ไม่เจริญเติบโต หรือกรณีที่ระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนสูงกว่าปกติ จะทำให้ระบบสืบพันธุ์เจริญเติบโตผิดปกติ เช่นจากรายงานของ Guyton (1961) พบว่า ฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนสามารถกระตุ้นต่อมลูกหมาก (prostate gland) ให้เจริญและแบ่งตัวอย่างรวดเร็ว เมื่อต่อมลูกหมากโต จะทำให้มีอาการเจ็บปวดขณะปัสสาวะ ต่อมลูกหมากโตนี้มักจะพบในผู้สูงอายุ หลังจากตัดลูกอัณฑะออก เซลที่เจริญและแบ่งตัวอย่างรวดเร็วก็จะหยุดการเจริญ ดังนั้น การวัดระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน จึงมีความสำคัญ อาจช่วยในการวินิจฉัยโรคต่อมลูกหมากโตได้

วิธีการวัดระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนในเลือดมีหลายวิธีด้วยกัน แต่วิธีที่ให้ทั้งความแม่นยำ ความไวสูง และความถูกต้องของการวัดดี ได้แก่วิธีเรดิโออิมมิวโนเอสเสย์ การวิจัยจึงใช้วิธีเรดิโออิมมิวโนเอสเสย์ วัดหาระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนในซีรัมของชายไทยปกติที่อยู่ในวัย 21–59 ปี กับวัยอายุ 60 ปีขึ้นไป และเปรียบเทียบระดับฮอร์โมนของชายไทยทั้งสองกลุ่มนี้

วัสดุและวิธีการ

วัสดุ

ซีรัมของชายไทยปกติอายุระหว่าง 21 ถึงมากกว่า 80 ปี ได้จากห้องปฏิบัติการเคมีคลินิก ภาควิชาพยาธิวิทยา และคลินิกผู้สูงอายุ โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า ซีรัมได้จากการเจาะเลือดระหว่าง 9.00–12.00 น. เก็บแช่แข็งที่ –20° ซ. จนกว่าจะทำการวิเคราะห์หาฮอร์โมน

สารเคมีที่ใช้เตรียม phosphate buffer saline pH 7.2-7.4 (เอสเสย์บัฟเฟอร์) ไดเอธิลอีเธอร์ ที่ใช้ในการสกัด และสารเคมีอื่น ๆ ที่ใช้ในการเอสเสย์ เป็นสารบริสุทธิ์ (analytical reagent grade) ซื้อจากบริษัท Sigma และ BDH ส่วนสารมาตรฐานเทสโทสเตอโรน ใช้ของ WHO Batch No. 83/N (220 nmol/L) แอนตี้ซีรัม WHO Batch No. 83/N และสารติดสลากรังสี (1,2,6,7-^{3}H) testosterone (250 uCi or 9.25 MBq) ของ Amersham จากองค์การอนามัยโลก

วิธีการ

การเตรียมสารมาตรฐาน แอนตี้บอดี้ สารติดสลากดำเนินการตามวิธีของ WHO Method Manual 8th ed. Jan. 1984 ส่วนวิธีดำเนินการเตรียมสารตัวอย่างดัดแปลงเล็กน้อยจากวิธีของ WHO Method Manual มีวิธีดำเนินการดังนี้

ดูดซีรัมตัวอย่าง 0.1 มล. ใส่หลอดแก้วสำหรับสกัดเติมน้ำกลั่น 0.9 มล. เขย่าให้เข้ากัน เติมสารติดสลากเทสโทสเตอโรนลงไป 0.1 มล. มีปริมาณเป็น 1/10 ของสารติดสลากที่ใช้ในการเอสเสย์ เพื่อติดตามเปอร์เซ็นต์ของการสกัด เขย่าตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที เติมไดเอธิลอีเธอร์ 5 มล. สกัดโดยการเขย่า 2 นาที ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที แล้วนำไปแช่ในที่ ๆ อุณหภูมิ −20° ซ. หรือต่ำกว่า เพื่อให้ชั้นที่เป็นซีรัมแข็งตัว เทส่วนที่เป็นชั้นอีเธอร์ใส่ในหลอดแก้วใหม่ที่สะอาด ระเหยไล่อีเธอร์จนแห้ง เติมเอสเสย์บัฟเฟอร์ 2 มล. เขย่าให้ส่วนที่ติดก้นหลอดแก้วละลาย ดูด 0.5 มล. ใส่ใน counting vial แล้วเติม liquid scintillator 3 มล. ปิดจุก เขย่า ตั้งทิ้งไว้ แล้วนำไปวัดปริมาณรังสีที่สกัดออกมาได้ในเครื่อง B-counter

ดูดอีก 2× 0.5 มล. ใส่ในหลอดสำหรับเอสเสย์ ขนาด 12×75 มม. เติมแอนตี้บอดี้ที่เตรียมไว้ 0.1 มล. ตามด้วยสารติดสลาก 0.1 มล. เขย่าให้เข้ากัน นำไปอินคิวเบทที่ 4° ซ. เป็นเวลา 18–24 ชม. เติมผงถ่าน 0.2 มล. (0.625% ผงถ่านกับ 0.0625% เด็กซแทรนในเอสเสย์บัฟเฟอร์ 100 มล.) เขย่าแรง ๆ 30 วินาที อินคิวเบทที่ 4° ซ. 15 นาที นำไปปั่นแยกด้วยเครื่องปั่นแยกที่ 4° ซ. 500 g เป็นเวลา 15 นาที เทส่วนที่เป็นของเหลวซึ่งอยู่ชั้นบนลงใน counting vial เติม scintillator ปิดจุกเขย่านำไปวัดปริมาณรังสีบีต้า ด้วยเครื่อง B-counter การเอสเสย์สารตัวอย่างจะทำควบคู่กันไปกับสารที่ใช้ในการควบคุมคุณภาพสารมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 0.34–11.00 พิโคกรัมต่อมล. เมื่อได้ค่าปริมาณรังสี นำไปคำนวณหาปริมาณฮอร์โมน โดยใช้เครื่องคิดเลข HP 97 และตามวิธีของ WHO Method Manual 1984

ผลการวิจัย

1. จากการหาความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์ โดยการเติมสารละลายมาตรฐานฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนที่ทราบค่าแน่นอนลงในซีรัม แล้ววิเคราะห์หาปริมาณเทสโทสเตอโรนคิดออกมาเป็นเปอร์เซ็นต์รีคอฟเวอรี พบว่าที่ความเข้มข้น 15.2 nmol/L วิเคราะห์ได้ 103.2% และที่ความเข้มข้น 39.4 nmol/L วิเคราะห์ได้ 85.8%

2. จากการหาความแม่นยำของการวิเคราะห์ โดยการวิเคราะห์สารตัวอย่างชนิดเดียวกันซ้ำ ๆ กัน 3 ครั้ง ๆ ละ 10 ตัวอย่าง แล้วคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์สัมประสิทธิ์ของการแปรปรวน พบว่า ที่ความเข้มข้น 15.10 nmol/L วิเคราะห์ได้แม่นยำเมื่อวิเคราะห์ชุดเดียวกันคิดเป็นเปอร์เซ็นต์การแปรปรวน 7.62% (7.41–7.98%) และที่ความเข้มข้น 34.97 nmol/L วิเคราะห์ได้แม่นยำ 8.26% (4.85–10.53%) เมื่อวิเคราะห์ต่างชุดกันได้ 9.35% และ 13.08% ที่ความเข้มข้น 15.10 และ 34.97 nmol/L ตามลำดับ

3. จากการวิเคราะห์หาระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน ในซีรัมตัวอย่างของชายไทย ได้ผลดังนี้

3.1 ค่าพิสัยของฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนในชายไทย ที่อยู่ในวัยอายุ 21–59 ปี มีค่า 12.43-27.23 nmol/L โดยใช้ตำแหน่งเปอร์เซ็นไทล์ที่ 5–95 ตัดสินดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 *แสดงการจัดอันตรภาคชั้นและตำแหน่งเปอร์เซ็นต์ไทล์ของฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนในชายไทยที่อยู่ในวัย 21-59 ปี จำนวน 99 ราย*

ชั้น	ความกว้าง (nmol/L)	ความถี่ (จำนวนคน)	ตำแหน่งเปอร์เซ็นไทล์
1	8.00–10.95	4	2.02
2	10.96–13.91	10	9.09
3	13.92–16.87	18	23.23
4	16.88–19.83	23	43.93
5	19.84–22.79	15	63.13
6	22.80–25.75	18	79.79
7	25.76–28.71	7	92.42
8	28.72–31.67	3	97.47
9	31.68–34.63	0	98.98
10	34.64–37.59	1	99.49

3.2 ค่าพิสัยของฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนในชายไทยอายุ > 60 ปี มีค่าเท่ากับ 8.93-27.90 nmol/L โดยใช้ตำแหน่งเปอร์เซ็นไทล์ที่ 5–95 ตัดสิน ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 *แสดงการจัดอันตรภาคชั้นและตำแหน่งเปอร์เซ็นไทล์ของฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน ในชายไทยอายุ 60 ปีขึ้นไป จำนวน 74 ราย*

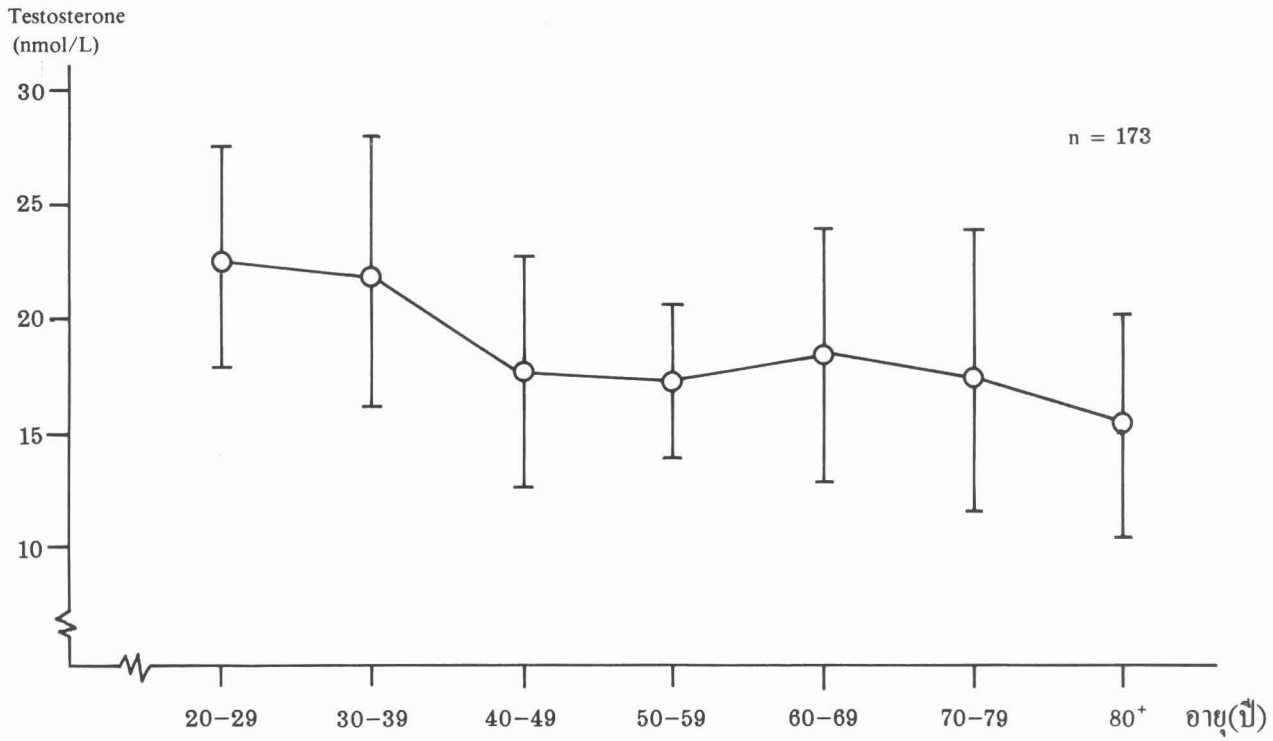
ชั้น	ความกว้าง (nmol/L)	ความถี่ (จำนวนคน)	ตำแหน่งเปอร์เซ็นไทล์
1	4.87– 7.57	2	1.35
2	7.58–10.28	4	5.40
3	10.29–12.99	7	12.83
4	13.00–15.70	15	27.70
5	15.71–18.41	12	45.94
6	18.42–21.42	15	64.18
7	21.13–23.83	6	78.37
8	23.84–26.54	6	86.48
9	26.55–29.25	3	92.56
10	29.26–31.26	4	97.29

4. จากการนำค่าของฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนที่วิเคราะห์ได้ มาแบ่งตามช่วงอายุ ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 *แสดงค่าเฉลี่ยและค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนที่อยู่ในช่วงอายุต่าง ๆ จำนวน 173 ราย*

อายุ (ปี)	จำนวนคน	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน *(nmol/L)*
20–29	21	22.88 ± 4.87
30–39	23	22.11 ± 5.79
40–49	27	17.67 ± 4.92
50–59	28	17.33 ± 3.29
60–69	50	18.54 ± 5.49
70–79	18	17.73 ± 6.15
> 80	6	15.52 ± 4.81

เมื่อนำค่าฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนมาสร้างกราฟหาความสัมพันธ์กับอายุจะมีลักษณะดังรูป



กราฟแสดงระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนในชายไทย กับช่วงอายุต่างๆ

วิจารณ์ผล

จากผลการวิจัยพบว่า ระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนในชายไทยอายุ 60 ปีขึ้นไปมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อย เมื่อเทียบกับชายไทยที่อยู่ในวัย 21–59 ปี เมื่อนำค่าฮอร์โมนของชายไทยทั้งสองกลุ่ม มาทดสอบทางสถิติโดยใช้ student t-test พบว่าระดับฮอร์โมนทั้งสองกลุ่ม มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) การศึกษานี้ต่างจากรายงานของ Vermeulen *et al.* (1972) ที่ว่าระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนจะลดลง เมื่ออายุมากกว่า 50 ปีขึ้นไป Hollander and Hollander (1958) ก็พบระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนคงเดิมไม่เปลี่ยนแปลง Kirchner

and Coffman (1968) รายงานว่าระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนลดลงเห็นได้ชัด ในชายที่อายุระหว่าง 55–65 ปี (n = 6) เมื่อเปรียบเทียบกับชายอายุระหว่าง 18–38 ปี (n = 12) Vermeulen *et al.;* (1969) รายงานว่า การที่ระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนต่ำในวัยก่อนเข้าสู่วัยหนุ่มสาว และในวัยที่อวัยวะเพศทำงานน้อยลง (hypogonadism) เนื่องมาจากระดับเทสโทสเตอโรนไบน์ดิ้งโกลบูลิน (testosterone binding globulin, TeBG) สูง การที่พบระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนลดลงในผู้สูงอายุ อาจเป็นเพราะระดับ TeBG สูง จึงทำให้เทสโทสเตอโรนที่อยู่ในรูปอิสระ (free) จับกับ TeBG มากขึ้น ทำให้ฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนที่จะไปกระตุ้นอวัยวะเพศลดลง ดังนั้นการตรวจหาระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนในผู้สูงอายุ จึงอาจช่วยวินิจฉัยโรคบางชนิด เช่นต่อมลูกหมากโตได้

สรุป

จากผลการวิจัยนี้พอสรุปได้ว่า

1. วิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์หาฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนมีความถูกต้อง 85.8% และ 103.2% ที่ความเข้มข้น 39.4 nmol/L และ 15.2 nmol/L ตามลำดับ และความแม่นยำของการวัดคิดเป็นเปอร์เซ็นต์สัมประสิทธิ์ของการแปรปรวน (%CV) เมื่ออยู่ในชุดเดียวกันมีค่า 8.26% (4.85–10.53%) ที่ความเข้มข้น 34.97 nmol/L และ 7.62% (7.41–7.98%) ที่ความเข้มข้น 15.01 nmol/L และเมื่อวัดในต่างชุดกันเปอร์เซ็นต์สัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนมีค่า 13.03% และ 9.35% ตามลำดับ

2. ค่าพิสัยของฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนที่อยู่ในวัย 21–59 ปี จำนวน 99 ราย มีค่าระหว่าง 12.43-27.29 nmol/L และในชายไทยอายุ > 60 ปี มีค่าระหว่าง 8.93-27.9 nmol/L

3. เมื่อเปรียบเทียบระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนของชายไทยอายุ > 60 ปี และชายไทยอายุ 21–59 ปี พบว่ามีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ฝ่ายวิชาการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้เงินทุนอุดหนุนโครงการวิจัยนี้ องค์การอนามัยโลกให้สารติดสลาก เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการฝ่ายเวชศาสตร์ประชากร ตลอดจนเจ้าหน้าที่ธุรการของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ช่วยให้งานนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี และขอขอบคุณร้อยเอกหญิงสายจิตร วงศ์ใหญ่ หัวหน้าห้องปฏิบัติการเคมีคลินิก ภาควิชาพยาธิวิทยา โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า ที่ได้ให้ความร่วมมือในการเก็บสารตัวอย่างผู้สูงอายุ เพื่อการศึกษานี้

เอกสารอ้างอิง

Gandy HM and Peterson RE. 1968. Measurement of testosterone and 17-ketosteroids in plasma by the double isotope dilution derivative technique. J Clin End 28 : 949

Guyton AC. 1961. Textbook of Medical Physiology. 6th ed WB Saunders Company. p 1078.

Hollander N and Hollander VP. 1958. J Clin End 18 : 966.

Kirchner MA and Coffman GD. 1968. J Clin End 28 : 1347.

Vermeulen AL, Verdonck M, Van der Straeten, and Orie N. 1969. Capacity of the testosterone-binding globulin in human plasma and influence of specific binding of testosterone on its metabolic clearance rate. J Clin End 29 : 1470.

Vermeulen A, Rubens R, and Verdonck L. 1972. Testosterone secretion and metabolism in male senescence. J Clin End 34 : 730.