

ความเป็นไปได้ในการใช้สเปอรัมตินในปัสสาวะเพื่อการวินิจฉัยและติดตามผลการรักษา

ผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือด



นางสาวกฤษณา ปทีปโชติวงศ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาชีวเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2527

ISBN 974-563-219-8

010002

THE FEASIBILITY OF USING URINARY SPERMIDINE AS A
CRITERION FOR DIAGNOSIS AND FOLLOW-UP OF
HAEMATOLOGICAL MALIGNANCIES

Miss Kritsana Pathepchotiwong

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Sciences

Department of Biochemistry

Graduate School

Chulalongkorn University

1984

หัวข้อวิทยานิพนธ์

ความเป็นไปได้ในการใช้สเปิร์มตินในปลาสวายเพื่อการวินิจฉัยและ
ติดตามผลการรักษาผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือด

โดย

นางสาว กฤษณา ปทีปโชติวงค์

ภาควิชา

ชีวเคมี

อาจารย์ที่ปรึกษา

อาจารย์ ดร. ปรีดา ชัยศิริ

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

รองศาสตราจารย์ นายแพทย์วิชัย อติชาติการ



บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโทบัณฑิต

[Handwritten signature]

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุประดิษฐ์ บุนนาค)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

[Handwritten signature] ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สรรเสริญ ทรัพย์โตเชก)

[Handwritten signature] กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.วราพรธม ต้านอุตรา)

[Handwritten signature] กรรมการ
(ดร. เพชรินทร์ ศรีวัฒนกุล)

[Handwritten signature] กรรมการ
(รองศาสตราจารย์นายแพทย์ วิชัย อติชาติการ)

[Handwritten signature] กรรมการ
(อาจารย์ ดร. ปรีดา ชัยศิริ)

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ความเป็นไปได้ในการใช้สเปอรฺมิตินในปัสสาวะเพื่อการวินิจฉัยและติดตามผลการรักษาผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือด
ชื่อนิสิต	นางสาว กฤษณา ปทีปโชติวงศ์
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ ดร. ปรีดา ชัยศิริ
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ นายแพทย์วิชัย อติชาติการ
ภาควิชา	ชีวเคมี
ปีการศึกษา	2526



บทคัดย่อ

ในการศึกษาคั้งนี้ ได้วัดปริมาณของสเปอรฺมิตินในปัสสาวะของผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือด และของคนปกติ โดยวิธีเรดิโออิมมูโนแอสเสย์ที่พัฒนาขึ้นเอง ซึ่งมีความไว 55 พิโคโมลต่อมิลลิ-ลิตรปัสสาวะ และมีความจำเพาะพอใช้ได้ โดยมีร้อยละของปฏิกิริยาข้ามชนิดสูงสุดกับภูเทรลซิน ซึ่งเท่ากับ 16.8 และรองลงมาคือกับสเปอรฺมิน ซึ่งมีร้อยละของปฏิกิริยาข้ามชนิดเท่ากับ 6.0 และเป็นวิธีที่มีความแม่นยำและความถูกต้องดีพอสมควร ประมาณร้อยละ 80 ของผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดทั้งหมด 37 ราย มีปริมาณสเปอรฺมิตินในปัสสาวะสูงกว่าระดับปกติ ในจำนวนนี้พบว่า ประมาณร้อยละ 92 ของผู้ป่วยมะเร็งต่อมน้ำเหลือง 13 ราย มีปริมาณสเปอรฺมิตินในปัสสาวะสูงกว่าระดับปกติ และประมาณร้อยละ 69 ของผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลัน 13 ราย มีปริมาณสเปอรฺมิตินในปัสสาวะสูงกว่าระดับปกติ จากผลการศึกษาครั้งนี้ทำให้เห็นความเป็นไปได้ในการใช้ปริมาณสเปอรฺมิตินในปัสสาวะ เป็นเครื่องบ่งชี้การเป็นโรคมะเร็งเม็ดเลือด

ผู้ป่วยมะเร็งต่อมน้ำเหลือง 2 ราย และมะเร็งเม็ดเลือดขาว 5 ราย ที่ตอบสนองต่อการรักษามีปริมาณสเปอรฺมิตินในปัสสาวะเพิ่มสูงขึ้น 2-5 เท่าภายใน 5 วันหลังเริ่มการรักษา การเพิ่มปริมาณของสเปอรฺมิตินในปัสสาวะของผู้ป่วยหลังจากได้รับการรักษาน่าจะเป็นผลมาจากเซลล์มะเร็งถูกทำลาย ซึ่งแสดงว่าการเปลี่ยนแปลงปริมาณของสเปอรฺมิตินในปัสสาวะในระหว่างการรักษาอาจใช้เป็นเครื่องบ่งชี้ผลของการรักษาได้

Urinary spermidine measurement might be useful in assessing the efficacy of therapy in haematological malignancy patients.



กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้จะไม่สำเร็จล่วงไปได้ ถ้าไม่ได้รับความช่วยเหลือจาก อาจารย์ ดร.ปรีดา ชัยศิริ ที่ได้กรุณาแนะนำและให้คำปรึกษาในการทำวิจัยมาโดยตลอด

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ นายแพทย์วิชัย อติชาตการ ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษาและให้ความสะดวกในการเก็บตัวอย่างปัสสาวะจากผู้ป่วยโรคมะเร็งของเลือดในโรงพยาบาลรามาศิบัติ ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ แพทย์หญิงแสงสุรีย์ จูธา ที่ได้กรุณาให้ความสะดวกในการเก็บตัวอย่างปัสสาวะจากผู้ป่วยโรคมะเร็งของเลือดในโรงพยาบาลรามาศิบัติ

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ระปิล รัตนพณี คณบดี คณะสัตวแพทย์ศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่อนุญาตให้ใช้ห้องในตึกสัตว์ทดลองของคณะสัตวแพทย์สำหรับเลี้ยงกระต่ายและหนูตะเภา ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.นิคม ชัยศิริ ที่ให้ความช่วยเหลือเกี่ยวกับการเลี้ยงสัตว์ทดลองและการใช้เครื่องมือบางอย่างของหน่วยวิชาชีวเคมี คณะสัตวแพทย์ศาสตร์

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.วราพรธม ค่านอุตรา และเจ้าหน้าที่วิจัยยาเสพติด ที่กรุณาอนุญาตให้ใช้ห้องปฏิบัติการของศูนย์วิจัยยาเสพติด จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับทำการทดลองบางการทดลองและให้ความสะดวกในการใช้ห้องปฏิบัติการรวมทั้งวัสดุและครุภัณฑ์ต่าง ๆ

ขอขอบคุณ นางสาวนภาพร อัจฉราฤทธิ์ และนางบุบผา รุ่งเหลือง หน่วยโลหิตวิทยา ศูนย์วิจัย โรงพยาบาลรามาศิบัติ ที่ให้ความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างปัสสาวะของผู้ป่วยโรคมะเร็งของเลือดและคนปกติ ขอขอบคุณผู้ป่วยโรคมะเร็งของเลือดและอาสาสมัครทุกท่านที่กรุณาให้ตัวอย่างปัสสาวะสำหรับการวิจัยครั้งนี้

สุดท้ายนี้ ขอขอบคุณภาคีวิชาชีพเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่อำนวยความสะดวกให้ใช้ห้องปฏิบัติการรวมทั้งวัสดุและครุภัณฑ์ต่าง ๆ และขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาให้ทุนอุดหนุนการวิจัยครั้งนี้



สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ช
สารบัญตาราง	ญ
สารบัญภาพ	ฉ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	ซ

บทที่

1. บทนำ	1
2. เคมีภัณฑ์ วัสดุภัณฑ์ และ เครื่องมือ	
2.1 เคมีภัณฑ์	14
2.2 วัสดุภัณฑ์	15
2.3 เครื่องมือ	16
2.4 สัตว์ทดลอง	17
2.5 ตัวอย่างปัสสาวะ	17
2.6 วิธีเก็บตัวอย่างปัสสาวะ	17
3. วิธีทดลอง	
3.1 การเตรียมสารละลายสำหรับ เรดิโออิมมูโนแอสเสย์ . .	18
3.2 การเตรียมปัสสาวะสำหรับใช้ควบคุมคุณภาพของการวัดปริมาณ ปัสสาวะ	20
3.3 การเตรียมคอนจูเกตระหว่างสเปอรัมิตินกับโปรตีนตัวนำ .	20
3.4 วิธีทำให้สัตว์ทดลองสร้างแอนติสเปอรัมิติน	23
3.5 การหาปริมาณแอนติสเปอรัมิติน	26

	หน้า
3.6 การศึกษาคุณสมบัติต่าง ๆ ของแอนติสเปอร์มิติน . . .	28
3.7 การศึกษาความถูกต้องและความ เชื่อถือได้ของการวัด ปริมาณสเปอร์มิตินในปัสสาวะ โดยวิธีเรดิโออิมมูโน แอสเสย์	30
3.8 การวัดปริมาณสเปอร์มิตินในปัสสาวะโดยวิธี เรดิโออิมมู โนแอสเสย์	33
4. ผลการทดลอง	
4.1 ผลการเตรียมคอนจูเกตระหว่างสเปอร์มิตินกับโปรตีน ตัวนำ	35
4.2 ปริมาณแอนติสเปอร์มิตินที่สัตว์ทดลองสร้างขึ้น	39
4.3 ผลการศึกษาคุณสมบัติต่าง ๆ ของแอนติสเปอร์มิติน . .	51
4.4 ผลการศึกษาความถูกต้องและความ เชื่อถือได้ของการวัด ปริมาณสเปอร์มิตินในปัสสาวะโดยวิธี เรดิโออิมมูโน - แอสเสย์	55
4.5 ความ เข้มข้นของสเปอร์มิตินในปัสสาวะของคนปกติและ ของผู้ป่วยโรคมะเร็ง เม็ดเลือดชนิดต่าง ๆ ก่อนได้รับ การรักษา	61
4.6 ความ เข้มข้นของสเปอร์มิตินในปัสสาวะของผู้ป่วย โรคมะเร็งเม็ดเลือดชนิดต่าง ๆ ในระหว่างการรักษา.	64
4.7 ความ เข้มข้นของสเปอร์มิตินในปัสสาวะคนปกติในวัน ต่าง ๆ กัน	77
5. วิจารณ์ผลการทดลอง	80
เอกสารอ้างอิง	92
ภาคผนวก	101
ประวัติผู้เขียน	109

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	การหาปริมาณแอนติสเปอรัมิติน	27
2	เรติโออิมมูโนแอสเสย์ของสเปอรัมิตินมาตรฐาน	29
3	การวัดปริมาณสเปอรัมิตินในปัสสาวะโดยวิธีเรติโออิมมูโนแอสเสย์	34
4	ผลการเตรียมคอนจูเกตระหว่างสเปอรัมิตินกับอัลบูมิน	37
5	ผลการเตรียมคอนจูเกตระหว่างสเปอรัมิตินกับไทโรกลอบบูลิน	38
6	แสดงปริมาณแอนติสเปอรัมิตินที่หนูตะเภาสร้างขึ้น	48
7	ความจำเพาะของแอนติสเปอรัมิติน	54
8	ความแม่นยำของการวัดปริมาณสเปอรัมิตินในปัสสาวะโดยวิธีเรติโออิมมูโน - แอสเสย์	58
9	ความถูกต้องของการวัดปริมาณสเปอรัมิตินในปัสสาวะโดยวิธีเรติโออิมมูโน - แอสเสย์	59
10	ปริมาณสเปอรัมิตินในปัสสาวะของคนปกติและผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดชนิดต่าง ๆ ก่อนได้รับการรักษา	62

สารบัญภาพ

รูปที่		หน้า
1	ขบวนการต่าง ๆ ในการสร้าง เม็ดเลือด	1
2	ขบวนการสร้างโพลีเอมีนในสัตว์	7
3	เมตาบอลิซึมของโพลีเอมีน	12
4	หลักการของวิธีเรดิโออิมมูโนแอสเสย์	13
5	ปริมาณแอนติสเปอर्मิตินที่กระต่ายกลุ่มที่ 1 สร้างขึ้น หลังจากฉีดสเปอรั- มิตินคอนจูเกต	41
6	ปริมาณแอนติสเปอรัมิตินที่กระต่ายกลุ่มที่ 2 สร้างขึ้น หลังจากฉีดสเปอรั- มิตินคอนจูเกต	42
7	ปริมาณแอนติสเปอรัมิตินที่กระต่ายกลุ่มที่ 3 สร้างขึ้น หลังจากฉีดสเปอรั- มิตินคอนจูเกต	43
8	ปริมาณแอนติสเปอรัมิตินที่กระต่ายกลุ่มที่ 4 สร้างขึ้น หลังจากฉีดสเปอรั- มิตินคอนจูเกต	44
9	ไตเตอร์ของแอนติสเปอรัมิตินที่สร้างโดยกระต่าย	49
10	กราฟมาตรฐานสำหรับวัดปริมาณสเปอรัมิตินในปัสสาวะโดยวิธีเรดิโออิม- มูโนแอสเสย์	50
11	การหาค่า Ka ของแอนติสเปอรัมิติน โดย Scatchard plot	52
12	ความจำเพาะของแอนติสเปอรัมิติน	53
13	กราฟมาตรฐานของสเปอรัมิติน	57
14	ความถูกต้องของการวัดปริมาณสเปอรัมิตินในปัสสาวะโดยวิธีเรดิโออิมมู- โนแอสเสย์	60
15	ความเข้มข้นของสเปอรัมิตินในปัสสาวะของคนปกติและของผู้ป่วยโรคมะ- เร็งเม็ดเลือดชนิดต่าง ๆ ในแต่ละราย	63

รูปที่		หน้า
16	ความเข้มข้นของสเปอริมิตินในปัสสาวะในผู้ป่วยโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด Hodgkin's lymphoma, lymphocytic predominate ระยะ III B ในระหว่างการรักษาซึ่งตอบสนองต่อเคมีบำบัดและรังสีรักษาชั้น partial response	69
17	ความเข้มข้นของสเปอริมิตินในปัสสาวะของผู้ป่วยโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด Malignant lymphoma, diffused lymphocytic, poorly differentiated ระยะ IV ในระหว่างการรักษาซึ่งตอบสนองต่อเคมีบำบัดและรังสีรักษาชั้น complete response	70
18	ความเข้มข้นของสเปอริมิตินในปัสสาวะของผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรัง ในระหว่างการรักษาซึ่งตอบสนองต่อเคมีบำบัดชั้น partial response	71
19	ความเข้มข้นของสเปอริมิตินในปัสสาวะของผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังจะเข้าชนิดเฉียบพลัน ในระหว่างการรักษาซึ่งตอบสนองต่อเคมีบำบัดชั้น partial response	72
20	ความเข้มข้นของสเปอริมิตินในปัสสาวะของผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลันในระหว่างการรักษาซึ่งไม่ตอบสนองต่อเคมีบำบัด (non-response)	73
21	ความเข้มข้นของสเปอริมิตินในปัสสาวะของผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลันในระหว่างการรักษาซึ่งตอบสนองต่อเคมีบำบัดชั้น partial response	74
22	ความเข้มข้นของสเปอริมิตินในปัสสาวะของผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลันในระหว่างการรักษาซึ่งตอบสนองต่อเคมีบำบัดชั้น partial response	75
23	ความเข้มข้นของสเปอริมิตินในปัสสาวะของผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลันในระหว่างการรักษาซึ่งตอบสนองต่อเคมีบำบัดชั้น complete response	76

รูปที่		หน้า
24	ความเข้มข้นของสเปอรัมิตินในปัสสาวะของชายปกติในวันต่าง ๆ กัน . .	78
25	ความเข้มข้นของสเปอรัมิตินในปัสสาวะของหญิงปกติในวันต่าง ๆ กัน . .	79
26	กราฟมาตรฐานของโปรตีน โดยวิธีของ Lowry และคณะ(1951) . . .	106
27	กราฟมาตรฐานของครีอะตินิน โดยวิธีของ Tausky และ Bornsner(1945)	107
28	การแยกสเปอรัมิตินที่ตกจากออกจากสารรังสีเจือปนโดยวิธีทินเลเยอร์ โครมาโตกราฟฟี	108

คำย่อ

ALL	=	acute lymphocytic leukemia
AML	=	acute myelocytic leukemia
BSA	=	bovine serum albumin
CDI	=	carbodiimide
CV	=	coefficient of variation
dpm	=	disintegrate per minute
M	=	molar
mg	=	milligram
ml	=	millilitre
ng	=	nanogram
pg	=	picogram
r	=	correlation coefficient
SD	=	standard derivation
Spd	=	spermidine
Tg	=	thyroglobulin
µg	=	microgram
µl	=	microlitre