บทนำ

กรดเกลือในกระเพาะอาหารที่หลั่งออกมาจาก parietal cells ของกระเพาะอาหาร นอกจากจะมีหน้าที่ในการเปลี่ยน pepsinogen ซึ่งเป็น zymogen ให้เป็น pepsin ที่เป็นเอนซัยม์ที่มีฤทธิ์ในการย่อยอาหารโปรตีนได้แล้ว ความเป็นกรดของกระเพาะอาหารยังช่วยทำลายจุลินทรีย์บางชนิดที่เป็นอันตรายต่อร่างกาย ที่ปะปนมากับอาหารที่กินเข้าไป แต่กรดเกลือในกระเพาะอาหารอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดโรคแผลเปื่อยในกระเพาะอาหารได้ ถ้ามีการหลั่งกรดออกมามากเกินไป (McGuigan, 1974), โดยกรดจะไปทำให้เกิดแผลตรงบริเวณ epithelial cells ในกระเพาะอาหารที่มีความผิดปกติเกิดขึ้น เช่น มีความทนกรดลดลง ซึ่งการเกิดแผลในกระเพาะอาหารอาจมีสาเหตุมาจากระดับฮอร์โมนแกสตรินผิดปกติไปก็ได้ เพราะว่า หน้าที่ที่สำคัญของฮอร์โมนแกสตรินคือ กระตุ้นการหลั่งกรดเกลือในกระเพาะอาหาร และอาจจะควบคุมการเจริญเติบโตและความสมบูรณ์ของ epithelial cells ในกระเพาะอาหารด้วย

การควบคุมการหลั่งกรดและฮอร์โมนในกระเพาะอาหารแบ่งออกได้เป็น 3 phases (Baron, 1971 รูปที่ 1) คือ

1. Cephalic phase เกิดจากการเห็น ได้กลิ่น และนึกถึงอาหาร จะมีการกระตุ้นที่สมองส่งสัญญาณผ่านไปทาง vagus nerve ไปกระตุ้น

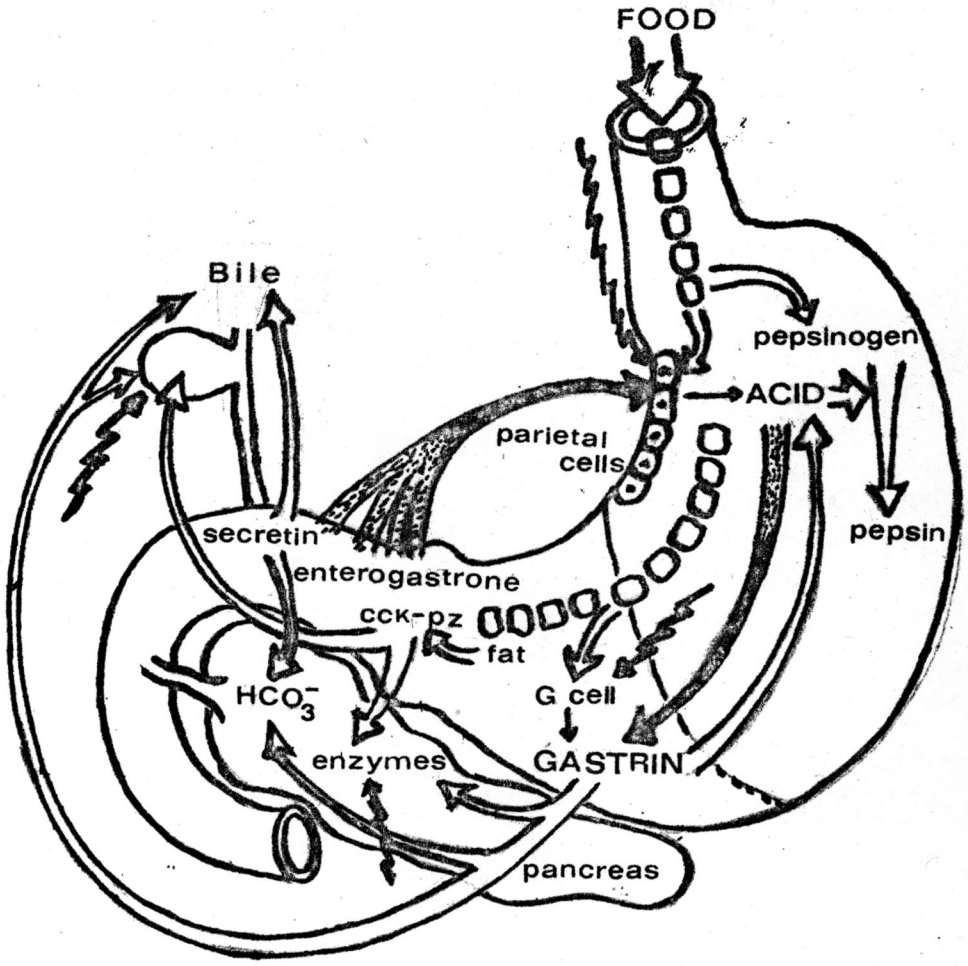
ก. parietal cells ในกระเพาะอาหาร ให้หลั่งกรดเกลือออกมา

ข. pyloric antrum ให้หลั่งแกสตริน แกสตรินจะไปกระตุ้นการหลั่งกรดเกลือออกมาจาก parietal cells

2. Gastric phase เกิดขึ้นเมื่อ

ก. อาหารที่กินเข้าไปถึงกระเพาะอาหาร จะกระตุ้นให้กระเพาะอาหารเคลื่อนไหวมากขึ้น ซึ่งเป็นการกระตุ้นแกสตรินให้หลั่งจาก pyloric antrum มาช่วยกระตุ้นการหลั่งกรด

ข. อาหารเมื่อถึงบริเวณ antrum จะไปกระตุ้น neuro-receptor ของ pyloric glands ทำให้แกสตรินหลั่งมากขึ้นอีก
แกสตรินที่หลั่งออกมานี้จะไปกระตุ้น parietal cells ให้หลั่งกรดเกลือออกมามากขึ้น



รูปที่ 1. การควบคุมการหลั่งกรดเกลือในกระเพาะอาหาร

ลูกศรเส้นซิกแซกแทน impulse จาก vagus nerve

ลูกศรเส้นโปร่งแทนการกระตุ้น

ลูกศรเส้นทึบแทนการยับยั้ง

CCK - PZ = cholecystokinin- pancreozymin

(คัดแปลงจาก Baron, 1971)

3. Intestinal phase เกิดขึ้นเมื่ออาหารผ่านลงไปถึงส่วนปลายของกระเพาะอาหารเข้าลำไส้เล็กส่วนต้น (duodenum) การหลั่งของกรดเกลือ แกสตริน เอนซัยม์ และสารต่าง ๆ ที่เกี่ยวกับการย่อยใน phase นี้ เกิดจากการทำงานร่วมกันของฮอร์โมนหลายตัวคือ

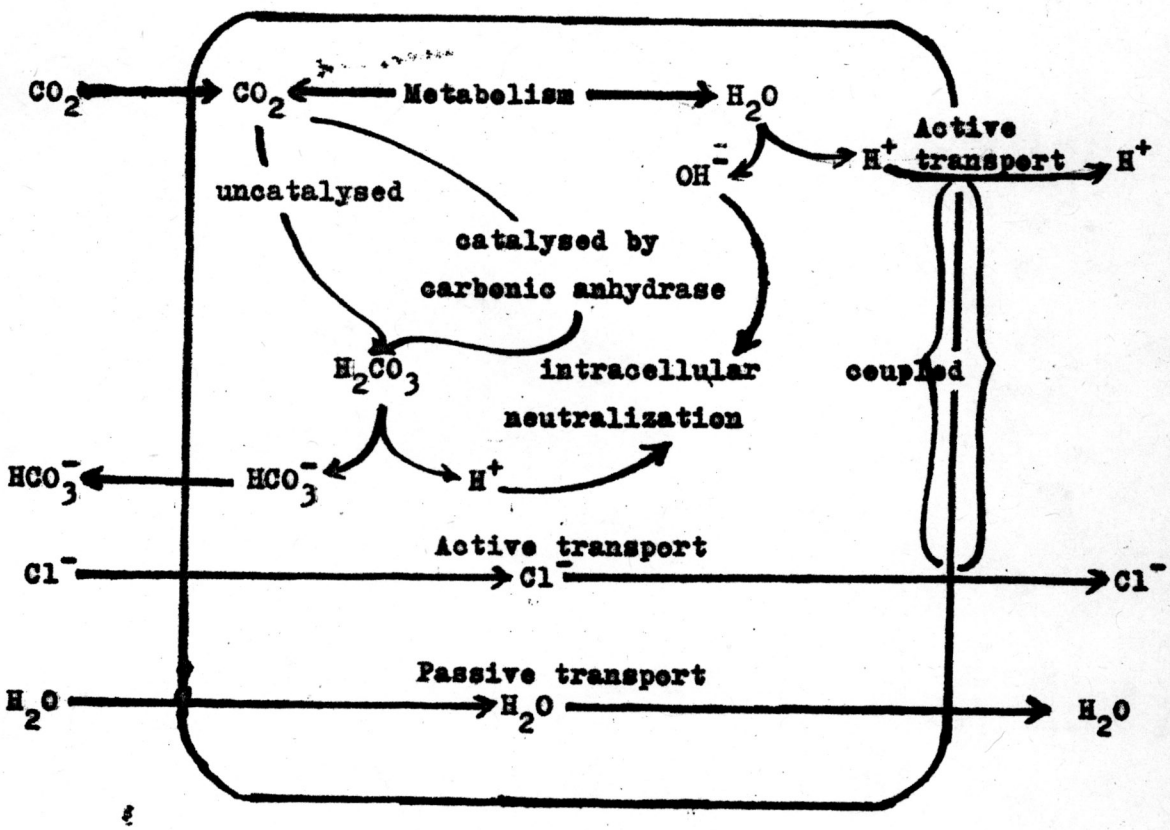
ก. Cholecystokinin-pancreozymin (CCK-PZ) จาก antrum และ duodenum กระตุ้นการหลั่งเอนซัยม์จากตับอ่อน และกระตุ้นถุงน้ำดีให้บีบตัวขับน้ำดีออกมา

ข. Secretin จาก duodenum ทำให้มี bicarbonate ออกมาจากตับอ่อนมากขึ้น และยับยั้งการหลั่งกรดเกลือจาก parietal cells ผลจากการกระตุ้นของ cholecystokinin-pancreozymin และ secretin ทำให้ pH บริเวณ duodenum เป็นด่าง จากการเคลื่อนไหวของลำไส้เล็กที่มีมากขึ้น จะทำให้อาหารที่เป็นด่างกลับขึ้นไปบริเวณ antrum ได้บางบางส่วน ทำให้ pH บริเวณ antrum สูงขึ้น pH ที่สูงขึ้นนี้จะกระตุ้นให้แกสตรินหลั่งออกมาได้อีก

ค. Enterogastrone จาก duodenum จะไปยับยั้งการหลั่งกรดเกลือจาก parietal cells

การควบคุมการหลั่งกรดเกลือและฮอร์โมนในกระเพาะอาหารและลำไส้แสดงไว้ในรูปที่ 1.

กลไกที่แท้จริงของการสร้าง กรดเกลือ จาก parietal cells ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด ตามรูปที่ 2. แสดงถึงกลไกการสร้างกรดเกลือที่ยอมรับในปัจจุบัน (Mountcastle, 1974) H^+ เกิดจากการ ไอออนไนซ์ ของน้ำ หรือ อาจได้จาก substrate อื่น เช่น กลูโคส ทาง flavoprotein cytochrome respiratory enzyme chain ในกรณีที่ได้ H^+ จากน้ำ OH^- ภายในเซลล์จะถูก neutralized ด้วย H^+ ที่ได้จากการแตกตัวของ H_2CO_3 HCO_3^- จะกลับคืนสู่กระแสโลหิต และ Cl^- จากกระแสโลหิตจะเข้าสู่ parietal cells และจะหลั่งออกมาพร้อมกับ H^+ ในน้ำย่อยในกระเพาะอาหาร H_2CO_3 ได้มาจากการ hydration ของ CO_2 ซึ่งในกระเพาะอาหาร arterial blood มี CO_2 มากกว่า venous blood และใน gastric mucosa มีเอนซัยม์ carbonic acid anhydrase อยู่มาก การ hydration ของ CO_2 เป็น H_2CO_3 จึงเกิดได้ดี การที่เลือดจากกระเพาะอาหารมี HCO_3^- มาก ปัสสาวะหลังอาหารจึงเป็นด่างมากกว่าปกติ



รูปที่ 2. แสดงกลไกการหลั่งกรดเกลือจาก parietal cell

(ดัดแปลงจาก Mountcastle, 1974)

<u>แกสตริน</u> (gastrin)

Edkin (1905) พบว่าสารที่สกัดจาก antral mucosa สามารถกระตุ้นการหลั่งน้ำย่อยและกรดในกระเพาะอาหารได้ Edkin เชื่อว่าสารนี้เป็นฮอร์โมน และให้ชื่อว่า "gastrin" (แกสตริน) ต่อมา Komarov (1938) พบว่าสารที่สกัดจาก antral mucosa ของหมู ที่กระตุ้นการหลั่งกรดในกระเพาะอาหารนั้นเป็นโปรตีน ไม่ใช่ ฮิสตามีน ตามที่เข้าใจกันแต่แรก หลังจากนั้นอีก 10 ปี Grossman และคณะ (1948) ได้พิสูจน์ว่า แกสตรินเป็นฮอร์โมนที่กระตุ้นการหลั่งกรดในกระเพาะอาหารจริง

Gregory และ Tracy (1961,1964), Tauber และ Madison (1964,1965) และ Wilding และคณะ (1966) ได้ปรับปรุงวิธีการสกัดแกสตรินของ Komarov (1938) จาก antral mucosa ของหมู ให้ได้แกสตรินที่บริสุทธิ์มากพอที่จะนำมาศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและชีวะ ได้ Bentleyและคณะ (1966)สกัดแกสตรินจาก antral mucosa ของคน พบว่า แกสตรินที่สกัดได้นี้ กระตุ้นการหลั่งกรดในกระเพาะอาหารของสุนัขได้ผลเหมือนกับที่ Makhlouf (1964) ฉีดแกสตรินที่สกัดได้ตามวิธีของ Gregory และ Tracy (1961)ในแมว แกสตรินที่สกัดได้นี้มีฤทธิ์ในการกระตุ้นการหลั่งกรดในกระเพาะอาหารได้แรงกว่าฮิสตามีนถึง 500 เท่า

จากการศึกษาด้วยวิธี electrophoresis Gregory และ Tracy (1964) พบว่าแกสตรินเป็น polypeptide 2 ชนิด ที่คล้ายกัน ต่างกันเฉพาะความเป็นกรดเท่านั้น เรียกว่า gastrin I และ gastrin II

Gregory และคณะ (1964) ศึกษาส่วนประกอบของแกสตรินที่สกัดได้จากวิธีของ Gregory และ Tracy (1964) พบว่า polypeptide ทั้ง gastrin I และ gastrin II ประกอบด้วย กรดอมิโน 17 ตัว น้ำหนักโมเลกุลประมาณ 2114 ตามรูปที่ 3. หน้า 6. gastrin I และ gastrin II แตกต่างกันตรงกรดอมิโนตำแหน่งที่ 12 คือ tyrosine ซึ่งใน gastrin II เป็น tyrosine-O-sulphate

แกสตรินที่สกัดได้โดยวิธีของ Tauber (1964) มีส่วนประกอบแตกต่างไปจากแกสตรินที่สกัดได้โดยวิธีของ Gregory และ Tracy (1964) คือมีกรดอมิโนถึง 17 ชนิด รวมกันทั้งหมด 106 ตัว ได้แก่ asp_{14}, thr_5, ser_5, glu_{13}, pro_7, gly_6, ala_4, lys_7, cys_1, val_4, met_3, $ileu_9$, leu_9, tyr_8, phe_4, his_6 และ arg_2 น้ำหนักโมเลกุลประมาณ 12,514 แต่ Wilding และคณะ (1966) สกัดได้แกสตรินที่มีน้ำหนักโมเลกุล 5,000

Gastrin	น้ำหนักโมเลกุลโดยประมาณ I	II	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
คน (Bentley และคณะ 1966)	2096	2176	⌐glu	-gly	-pro	-try	-leu	-glu	-glu	-glu	-glu	-glu	-ala	-tyr*	-gly	-trp*	-met	-asp	-phe-NH_2
หมู (Gregory และคณะ 1964)	2114	2194				-met-													
สุนัข (Gregory 1966)	2038	2118				-met-				-ala-									
วัว และ แกะ (Gregory,1966)	2024	2104				-val-						-ala-							

⌐glu = Pyroglutamyl

* gastrin I เป็น tyrosine ส่วน gastrin II เป็น tyrosine-O-sulfate

รูปที่ 3. ส่วนประกอบ และ ลำดับของกรดอมิโน ในโมเลกุลของแกสตรินจากสัตว์ species ต่าง ๆ

Broome' และคณะ (1968) สกัดแกสตรินจากชั้นต่าง ๆ ของ pyloric mucosa พบว่า แกสตรินอยู่ใน endocrine cells ที่อยู่ตรงบริเวณส่วนกลางของชั้น pyloric mucosa ซึ่งตรงกับผลการศึกษาโดยวิธี immunofluorescence ของ McGuigan (1968a) Solcia และคณะ (1969) พบว่า endocrine cells ที่เรียกว่า gastrin cell หรือ G-cell จะสร้างแกสตรินออกมาในรูป granule

Yalow และ Berson (1970) พบว่าในพลาสมาจะมีแกสตรินอยู่ 2 ส่วน คือ ส่วนที่ประกอบด้วยกรดอมิโน 17 ตัว เรียก little gastrin (LG) มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 5,000 และ ส่วนที่มีความเป็นกรดน้อยกว่าซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 7,000 เรียกว่า big gastrin (BG) Yalow และ Berson (1971) และ Berson และ Yalow (1971) พบว่าเมื่อย่อย BG ด้วยเอนซัยม์ trypsin จะได้ LG

Gregory และ Tracy (1972) สกัดแกสตรินจากเนื้อเยื่อของ Zollinger-Ellison tumour พบว่า LG ต่ออยู่กับ polypeptide อีกส่วนหนึ่งด้วย peptide bond lysyl-glutamyl ซึ่งก็คือ BG ที่ Yalow และ Berson (1970) พบ BG นี้แยกได้เป็น 2 ชนิดคือ BG I และ BG II มีส่วนประกอบของกรดอมิโนเหมือนกัน ต่างกันเฉพาะความเป็นกรดเท่านั้น BG ประกอบด้วย $lys_2, his_1, asp_2, ser_1, glu_8, pro_5, gly_4, ala_2, val_1, met_1, leu_3, tyr_1, phe_1, try_1$

Rehfeld และ Stadil (1973) แยกแกสตรินในพลาสมาโดย gel และ ion exchange chromatography พบว่า immunoreactive gastrin ในพลาสมามี 4 ส่วน คือ

ส่วนที่ 1. มีน้ำหนักโมเลกุลใกล้เคียงกับ proinsulin มีประมาณ 10%

ส่วนที่ 2. มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ระหว่าง proinsulin และ insulin มีประมาณ 56 %

ส่วนที่ 3. คือ gastrin I และ gastrin II ที่ประกอบด้วยกรดอมิโน 17 ตัว มีประมาณ 29 %

ส่วนที่ 4. คือส่วนที่อยู่ก่อน salt peak มีประมาณ 5 %

Anderson และคณะ (1964) สังเคราะห์แกสตรินของหมู และ Beacham (1966) สังเคราะห์แกสตรินของคน ขึ้นใช้ทดลองฉีดสุนัขและฉีดคนเปรียบเทียบกับผลของการฉีดแกสตรินที่สกัดได้จาก antral mucosa ของหมูและคน พบว่าฤทธิ์ในการกระตุ้นการหลั่งกรดในกระเพาะอาหารเหมือนกัน

Gregory และคณะ (1964) ศึกษาฤทธิ์ของแกสตรินที่สกัดได้จาก antral mucosa ของหมูพบว่าแกสตรินมีฤทธิ์การทำงานกว้างขวางมากคือ

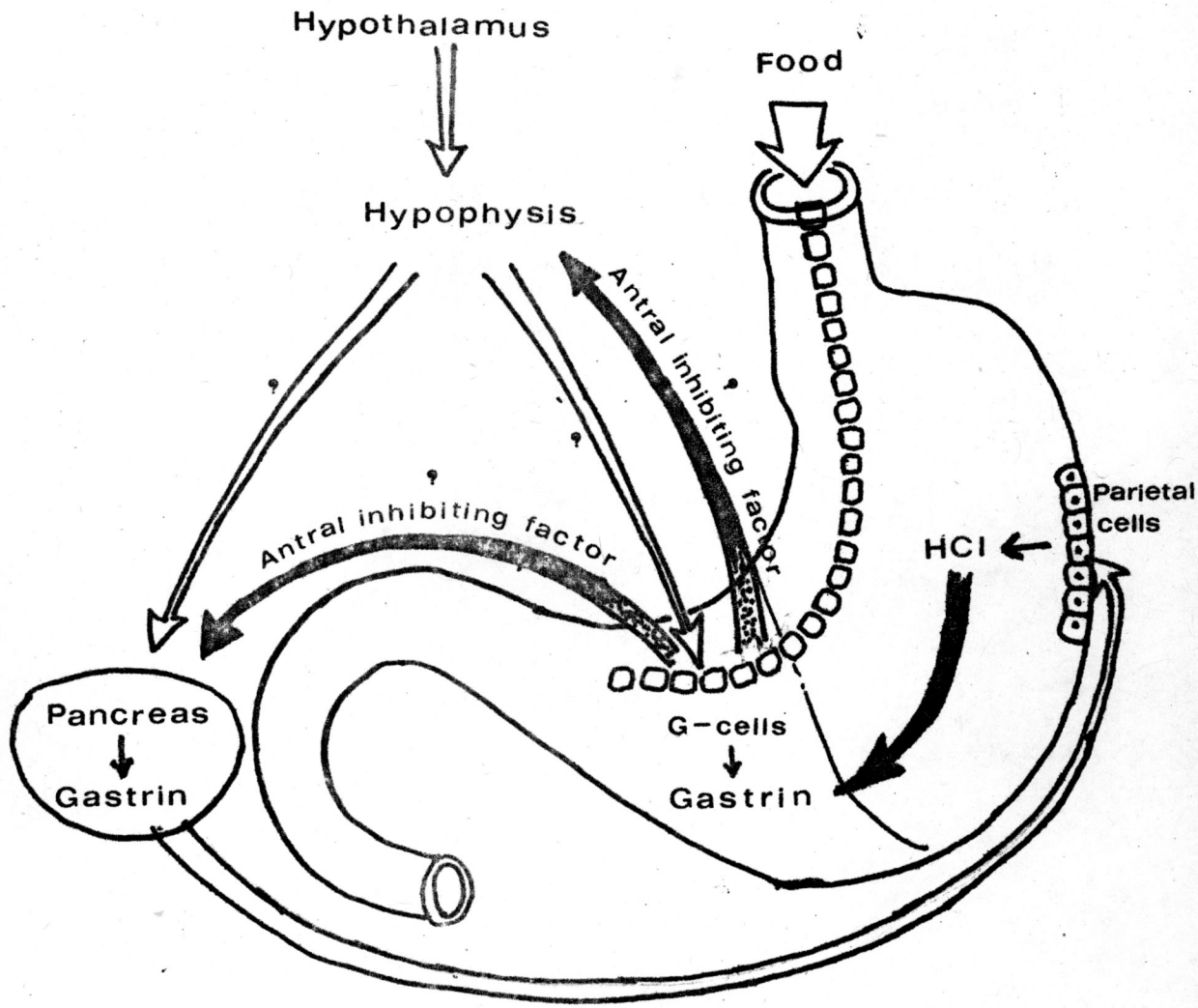
1. กระตุ้นการหลั่งกรดในกระเพาะอาหาร
2. ยับยั้งการหลั่งกรดในกระเพาะอาหารแบบป้อนกลับ (feedback mechanism)
3. กระตุ้นการหลั่ง pepsin ภายหลังจากการหลั่งกรดในกระเพาะอาหาร
4. กระตุ้นการเคลื่อนไหวของกระเพาะและลำไส้
5. กระตุ้นการหลั่งของเอนซัยม์ และ bicarbonate จากตับอ่อน
6. กระตุ้นการบีบตัวของท่อน้ำดี

หน้าที่ที่สำคัญที่สุดของแกสตริน คือ การกระตุ้นการหลั่งกรดในกระเพาะอาหารจาก parietal cells กลไกการทำงานยังไม่ทราบแน่ชัดในขณะนี้

Tracy และ Gregory (1964) พบว่าส่วนที่เล็กที่สุดของแกสตรินที่กระตุ้นการหลั่งกรดในกระเพาะอาหารได้เป็น peptide ที่ประกอบด้วยกรดอมิโน 4 ตัว สุดท้ายของโมเลกุลของแกสตริน เรียกว่า gastrin tetrapeptide (-try-met-asp-phe-NH_2) Morley และคณะ (1965) สังเคราะห์สารอนุพันธ์ของแกสตรินหลายตัว เพื่อศึกษาฤทธิ์การกระตุ้นการหลั่งกรดในกระเพาะอาหาร พบว่า หมู $-NH_2$ ที่ตออยู่กับหมู -COO ของกรดอมิโน phenylalanine มีความสำคัญมากต่อการออกฤทธิ์ของแกสตริน ถ้าเปลี่ยนไปเป็นหมู่อื่นเช่น -OH แล้ว ฤทธิ์ในการกระตุ้นการหลั่งกรดในกระเพาะอาหารของแกสตรินจะหมดไป

Dragstedt และคณะ (1968) ทดลองในสุนัข พบว่า การหลั่งแกสตรินจาก gastrin cells เกิดขึ้นได้จากการกระตุ้น 2 ชนิด คือ

1. การเห็น กลิ่น รส ของอาหาร รวมทั้งการนึกคิดอยากกินอาหาร เป็นการกระตุ้นสมองมาทาง vagus nerve จะมี impulse ไปกระตุ้น gastrin cells โดยตรง หรือกระตุ้นให้มีการเคลื่อนไหวของกระเพาะอาหารมากขึ้นซึ่งจะทำให้มีการหลั่งแกสตริน



รูปที่ 4. สมมุติฐานการควบคุมการหลั่งแกสตริน

⟹ ลูกศรเส้นโปร่งแทนการกระตุ้น

➡ ลูกศรเส้นทึบแทนการยับยั้ง

(ดัดแปลงจาก Polak และคณะ, 1972)

แรงกระตุ้นจากสมองนี้อาจจะไปกระตุ้น anterior pituitary ให้หลั่ง gastrinotrophic factor ไปกระตุ้น gastrin cells ใน pyloric antrum และ non beta islet cells ในตับอ่อนให้หลั่งแกสตริน (Polak และคณะ 1972)

2. อาหารที่กินเข้าไปเมื่อถึงกระเพาะอาหารจะกระตุ้นให้ antral mucosa หลั่งแกสตรินออกมามากยิ่งขึ้น แรงกระตุ้นนี้แรงกว่าแรงกระตุ้นที่ผ่านทาง vagus nerve ทำให้หลั่งแกสตรินออกมามากขึ้น

Magee และ Nakajima (1968) และ Gellespies (1959) พบว่าเมื่อ pH ใน pyloric antrum ลดลงเหลือ 1.0-1.5 จะไม่มีการหลั่งแกสตรินออกมาอีก Byrnes และ Lazarus (1971) ศึกษาระดับของแกสตรินในเลือดและความเปลี่ยนแปลงของ pH ในกระเพาะอาหาร พบว่าผู้ป่วยด้วยโรค duodenal ulcer เมื่อทำให้ pH ในกระเพาะอาหารลดลง ระดับแกสตรินในเลือดจะลดลงด้วย Friesen (1970) พบว่าการหลั่งฮอร์โมนแกสตรินอาจถูกควบคุมโดย antral inhibiting factor จาก antrum ซึ่งจะไปยับยั้งการหลั่ง gastrinotrophic factor จาก pituitary gland ดังที่ได้แสดงไว้ในรูปที่ 4.

ปัจจุบันเป็นที่ทราบกันโดยทั่วไปแล้วว่าฮอร์โมนแกสตริน มีฤทธิ์ในการกระตุ้นการหลั่งกรดในกระเพาะอาหาร จึงเกิดปัญหาว่า การที่ผู้ป่วยด้วยโรคแผลเปื่อยในกระเพาะอาหารหลั่งกรดในกระเพาะอาหารออกมามากกว่าปกตินั้นเป็นผลมาจากความผิดปกติของการหลั่งฮอร์โมนแกสตรินหรือไม่ จึงได้มีการศึกษาหาระดับแกสตรินในซีรั่มของผู้ป่วยด้วยโรคแผลเปื่อยในกระเพาะอาหาร โรค Zollinger-Ellison syndrome และโรค pernicious anemia กันอย่างกว้างขวาง

โรคแผลเปื่อยเปปติค (peptic ulcer)

โรคแผลเปื่อยเปปติค เป็นโรคที่พบได้บ่อยในคนไทย สาเหตุของการเกิดโรคนี้ยังไม่ทราบแน่ชัด เชื่อกันว่า กรดเกลือ และ เอนซัยม์ pepsin ในน้ำย่อย ในกระเพาะอาหาร จะเป็นปัจจัยที่สำคัญที่ทำให้เกิดแผลเปื่อยเปปติค และ ยังทำให้แผลเปื่อยที่เกิดขึ้นนั้นรักษาหายยากด้วย (Keele and Neil, 1971)

โรคแผลเปื่อยเปปติคนี้แบ่งออกได้เป็น 2 พวก ตามบริเวณที่เกิดแผลเปื่อย คือ

ก. gastric ulcer เป็นโรคที่เกิดมีแผลเปื่อยขึ้นที่กระเพาะอาหาร

ข. duodenal ulcer เป็นโรคที่มีแผลเปื่อยเกิดขึ้นที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนต้น (duodenum)

อาการของโรคทั้งสองนี้คล้ายคลึงกัน การวินิจฉัยโรคจึงต้องอาศัย x-rays เข้าช่วย

Dragstedt และคณะ (1964) ได้ให้ทฤษฎีว่า duodenal ulcer และ gastric ulcer เกิดจากการที่ mucosa ของกระเพาะอาหารถูกกรดนานเกินไป ในกรณีของ gastric ulcer กระเพาะอาหารเคลื่อนไหวน้อยลง ทำให้อาหารตกค้างอยู่ในกระเพาะอาหารนานกว่าเดิมซึ่งจะไปกระตุ้นให้ pyloric antrum หลั่งแกสตรินออกมามากขึ้น ทำให้กรดเกลือหลั่งออกมามาก และเกิดแผลเปื่อยในกระเพาะอาหารขึ้นได้

Bynum และคณะ (1972) เชื่อว่าระดับฮอร์โมนแกสตรินที่ผิดปกติเป็นเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดโรคแผลเปื่อยในกระเพาะอาหารได้ เพราะนอกจากแกสตรินจะกระตุ้นการหลั่งกรดในกระเพาะอาหารแล้วยังควบคุมการเจริญเติบโตและความสมบูรณ์ของ gastric mucosa ด้วย เพราะในรายที่เป็น atrophic gastritis มักจะมี gastric ulcer เกิดร่วมด้วยเสมอ และ oxyntic gland mucosa จะฝ่อไปเมื่อตัด antrum ออก ระดับแกสตรินที่ลดลงจะทำให้ gastric mucosa มีความทนกรดน้อยลงเกิดแผลเปื่อยในกระเพาะอาหารได้ง่าย Miller และคณะ (1973) ได้แสดงให้เห็นว่า แกสตรินเป็นฮอร์โมนที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตของ epithelial mucosa cells ของกระเพาะอาหาร และทำให้คุณสมบัติของเซลล์นั้นดำรงอยู่ต่อไปได้ โดยนำ epithelial mucosa cells มาเลี้ยงในหลอดทดลอง พบว่า เซลล์ที่เลี้ยงใน media ที่ไม่มี pentagastrin epithelial mucosa cells จะมีการเจริญเติบโตเป็น fibroblasts อย่างรวดเร็ว

ต่อมามีผู้พยายามศึกษาการทำงานของกระเพาะอาหารโดยการวัดปริมาณกรดเกลือในน้ำย่อยจากกระเพาะอาหาร Woodward และคณะ (1949) และ Levin และคณะ (1953) พบว่าปริมาณกรดในน้ำย่อยที่หลั่งจากกระเพาะอาหารตลอดทั้งคืนในผู้ป่วย duodenal ulcer จะมากกว่าในคนปกติ ต่อจากนั้น Kays (1953) ได้ปรับปรุงวิธีการศึกษาการหลั่งกรดเกลือในน้ำย่อยจากกระเพาะอาหาร โดยใช้ ฮีสตามีน (histamine) ซึ่งเป็นสารที่จะไปกระตุ้น parietal cells ให้หลั่งกรดเกลือออกมา แล้วเปรียบเทียบปริมาณกรดที่หลั่งออกมาภายหลังจากฉีด ฮีสตามีน แล้ว หนึ่งชั่วโมง ในคนปกติ และ ผู้ป่วยด้วยโรคแผลเปื่อยเปปติค พบว่า ในผู้ป่วยแผลเปื่อยเปปติคมีการหลั่งกรดเกลือออกมามากกว่าคนปกติ ภายหลังจากฉีดฮีสตามีน ต่อมา Card และ Marks (1960) ได้ปรับปรุงวิธีการของ Kays (1953) โดยใช้สารอนุพันธ์ของ ฮีสตามีน ที่เรียกว่า ฮีสตาลอก (histalog) เป็นสารกระตุ้นการหลั่งกรดในกระเพาะอาหารแทน ฮีสตามีน เพราะ ฮีสตามีน มีฤทธิ์ข้างเคียงอื่น ๆ นอกจากกระตุ้นการหลั่งกรด เช่น ทำให้ปวดศีรษะ คลื่นไส้ ความดันโลหิตและชีพจรไม่เป็นปกติ และอาจทำให้เลือดออกในกระเพาะอาหาร แต่ ฮีสตาลอก มีฤทธิ์ข้างเคียงนี้น้อยมาก

การทดสอบการหลั่งกรดเกลือในกระเพาะอาหารภายหลังกระตุ้นด้วย ฮีสตามีน และ ฮีสตาลอก นี้ Lopes และคณะ (1959) Baron (1963) Grossman (1963) Wormsley และ Grossman (1965) Vakil (1965) Goyal (1966) Fung (1969) และ Quina (1974) ได้นำไปใช้ในการศึกษาเปรียบเทียบ การหลั่งกรดในกระเพาะอาหารในผู้ป่วย duodenal ulcer gastric ulcer และในคนปกติ พบว่า ผู้ป่วย duodenal ulcer จะมีปริมาณกรดเกลือหลั่งออกมามากกว่าในคนปกติ และ ผู้ป่วย gastric ulcer

สำหรับในประเทศไทย วีกิจ วีรานุวัตติ์ และคณะ (1971) เป็นคณะแรกที่ศึกษาการหลั่งกรดในกระเพาะอาหาร ใน คนไทยปกติ และ ผู้ป่วยด้วยโรคแผลเปื่อยเปปติค ภายหลังกระตุ้นด้วย ฮีสตาลอก ซึ่งได้ผลเช่นเดียวกับผู้ทดลองที่กล่าวแล้วข้างต้น

ในการศึกษาครั้งนี้ ผู้ทดลองได้ทำการทดสอบการหลั่งกรดเกลือในกระเพาะอาหารในคนปกติ ผู้ป่วยด้วยโรคแผลเปื่อยเปปติค และ ผู้ป่วยด้วยโรคมะเร็งในกระเพาะอาหาร โดยใช้วิธีทดสอบฮีสตาลอกเสริม (augmented histalog test) ของ วีกิจ วีรานุวัตติ์ และคณะ (1971)

การวัดระดับของฮอร์โมนแกสตริน

เนื่องจากแกสตรินอาจจะเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดแผลเปื่อยในกระเพาะอาหารได้ จึงมีการศึกษาหาวิธีการที่จะวัดระดับของแกสตริน เปรียบเทียบกันในสภาวะต่าง ๆ วิธีการวัดปริมาณ แกสตริน มี 2 วิธี คือ

1. Bio-assay อาศัยหลักการที่ว่า เมื่อฉีดแกสตรินเข้าไปในสัตว์ทดลอง แล้วทำให้เกิดการหลั่งกรดในกระเพาะอาหารออกมา หาปริมาณของกรดที่หลั่งออกมาหลังฉีดสารละลายแกสตรินตัวอย่าง ได้โดย เปรียบเทียบกับ กรดที่หลั่งออกมาภายหลังฉีดแกสตรินมาตรฐาน ที่ทราบจำนวนแน่นอน (ก่อนที่จะมีแกสตรินสังเคราะห์ เดิมใช้ ฮีสตามีน เป็นสารมาตรฐานเพื่อบอกถึง gastrin activity แทน แกสตรินมาตรฐาน เนื่องจาก ยังไม่สามารถเตรียมแกสตรินที่บริสุทธิ์เพียงพอที่จะนำมาใช้เป็นสารมาตรฐานได้)

Uvnäs และ Emäs (1961) ใช้วิธี bioassay เพื่อหาความแรงของฤทธิ์ของแกสตริน ในการกระตุ้นการหลั่งกรดในกระเพาะอาหาร ของน้ำสกัดที่ได้จาก antrum ของหมู โดยใช้แมวเป็นสัตว์ทดลอง และใช้ ฮีสตามีนเป็นสารมาตรฐาน Blair และคณะ (1962,1968a) ใช้วิธีเดียวกับ Uvnäs และ Emäs (1961) แต่ใช้แมวที่ทำให้สลบ เขาพบว่า การฉีดแกสตรินหลายครั้งติดต่อกันจะทำให้การหลั่งกรดในกระเพาะอาหารมีปริมาณสูงขึ้นคงที่ ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอีกต่อไป ซึ่งแก้ไขได้โดย ใช้สารละลายแกสตรินที่มีปริมาณแกสตริน ต่ำ และ สูง สลับกัน และเพิ่มช่วงระยะเวลาของการฉีดให้หางออกไป

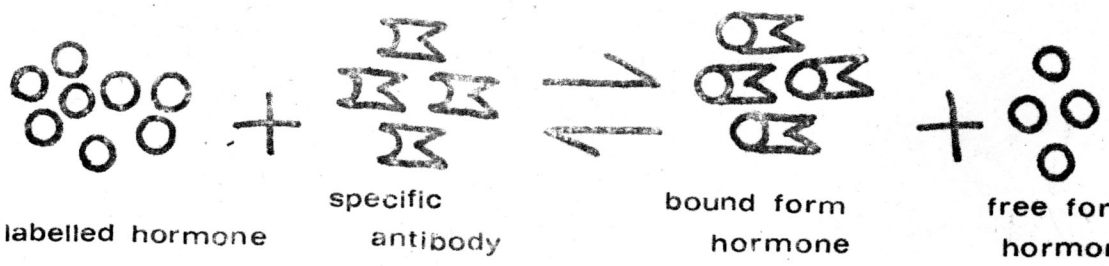
Lai (1964) ใช้หนูเป็นสัตว์ทดลอง โดยที่หนูแต่ละตัวจะได้รับแกสตรินเพียง 3 ครั้งเท่านั้น วิธีนี้ใช้เวลานาน เพราะ จะต้องรอให้ผลของการฉีดแต่ละครั้งหมดไปเสียก่อน จึงจะฉีดแกสตรินซ้ำอีกได้ เมื่อมีแกสตรินสังเคราะห์ใช้ Blair และ Wood (1968) ใช้วิธี bioassay นี้วัดระดับแกสตรินในพลาสมาของผู้ป่วยด้วยโรค Zollinger-Ellison syndrome วิธีนี้จะต้องใช้พลาสมาถึง 50 มิลลิลิตร Herring และ Blair (1969) ใช้วิธีของ Blair และ Wood (1968) วัดปริมาณแกสตริน ที่มีค่าน้อยกว่า 2 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตรได้ ต่อมา Colin-Jones และคณะ (1969) ได้ปรับปรุงวิธีนี้โดยฉีดแกสตรินสังเคราะห์ผสมกับซีรั่ม เปรียบเทียบ ผลการหลั่งกรด กับเมื่อฉีดแกสตรินสังเคราะห์ผสมกับน้ำเกลือ เพื่อให้ได้ผลที่เชื่อถือได้มากยิ่งขึ้น

อย่างไรก็ตาม ถึงแม้ว่าวิธี bioassay แกสตริน จะเป็นวิธีการที่ยากลำบากในการทำการทดลอง ทั้งการเตรียมสัตว์ทดลอง และ ซีรั่มที่ต้องใช้เป็นจำนวนมาก การฉีดแกสตรินบ่อยครั้งในสัตว์ทดลองตัวเดียวกัน จะทำให้การตอบสนองต่อฮอร์โมนที่ฉีดเข้าไป (การหลั่งกรดในกระเพาะอาหาร) คงที่ ทำให้การวัดปริมาณแกสตริน ไม่ได้ผล และเปรียบเทียบกันได้ยาก แต่ก็เป็นการดีที่จะใช้ bioassay ทำร่วมกับวิธีอื่น ๆ เพราะ bioassay เป็นวิธีการวัดฤทธิ์การทำงานของแกสตรินที่เกี่ยวกับการกระตุ้นการหลั่งกรดในกระเพาะอาหารโดยตรง (biological activity)

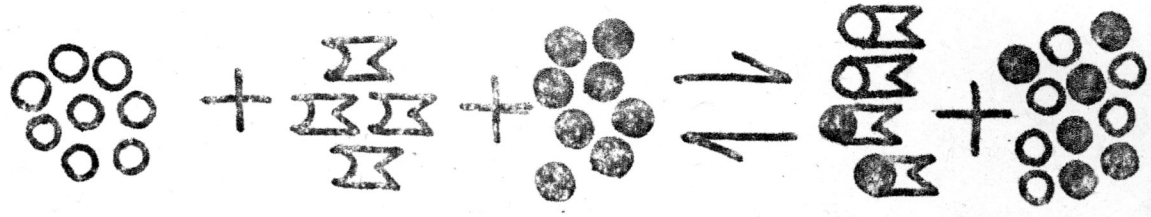
2. วิธี radioimmunoassay ของแกสตริน

Yalow และ Berson (1960) เป็นคนแรกที่ได้นำเอาปฏิกริยาระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี (antigen-antibody) มาใช้ในการหาปริมาณของ อินซูลิน (insulin) และเรียกวิธีการนี้ว่า radioimmunoassay ในขณะเดียวกัน Ekins (1960) ใช้ปฏิกริยาระหว่าง Thyroxine และ thyroxine binding globulin เรียกว่า saturation analysis ซึ่งมีหลักการคล้ายกัน มาใช้วัด thyroxine ปัจจุบันมีผู้นำเอา radioimmunoassay มาใช้วัดปริมาณ peptide hormone เกือบทั้งหมด steroids หลายตัวด้วยกัน ยาบางชนิด วิตามิน เอนซัยม์ และ nucleotides

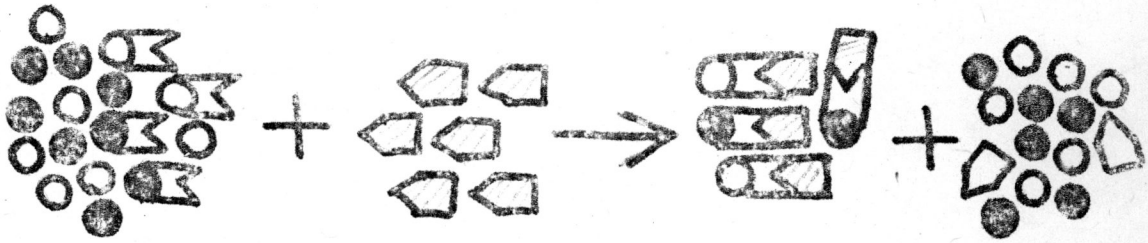
หลักการของ radioimmunoassay อาศัยปฏิกริยาระหว่าง แอนติเจน และแอนติบอดี แอนติเจน ได้แก่ peptide hormones หรือ steroid hormones และอื่น ๆ ที่ต้องการหาปริมาณ สำหรับสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่า 10,000 อาจดัดแปลงให้มีน้ำหนักโมเลกุลมากพอที่จะมีคุณสมบัติเป็น แอนติเจนได้ โดยนำมา conjugate กับ albumin เช่น bovine serum albumin (BSA) หรือนำไปเคลือบบน latex particles แล้วผสมกับ complete Freund's adjuvant ฉีดเข้าไปในสัตว์ทดลอง เพื่อให้สร้าง แอนติบอดี ที่จำเพาะต่อ แอนติเจน ที่ต้องการหาปริมาณ ปัจจัยที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งสำหรับ radioimmunoassay คือ labelled hormone หรือ labelled antigen ได้แก่ แอนติเจนที่มีสารกัมมันตภาพรังสีอยู่ในโมเลกุล สารกัมมันตภาพรังสีที่ใช้คือ ไอโอดีน-131 หรือ ไอโอดีน-125 สำหรับ peptide hormone และ tritium หรือ carbon-14 สำหรับ steroid hormone ปฏิกริยาที่เกิดขึ้นเมื่อทำการวัดปริมาณแอนติเจนหรือฮอร์โมนแสดงไว้ในรูปที่ 5.



ก



ข



ค

001664

รูปที่ 5. ปฏิกริยาที่เกิดขึ้นเมื่อวัดปริมาณฮอร์โมนโดยวิธี **radioimmunoassay** โดยใช้ **double antibody technique**

ก. **labelled hormone** ทำปฏิกริยากับ แอนติบอดี

ข. ปฏิกริยาแย่ง แอนติบอดีกันระหว่าง **labelled** และ **unlabelled hormone**

ค. ปฏิกริยาที่เกิดขึ้นเมื่อทำการแยก **labelled free form** ออกจาก **bound form** ด้วยแอนติบอดีชนิดที่สอง **(anti gamma globulin)**

labelled และ unlabelled antigen จะไปแย่ง binding site ของแอนติบอดี ตามรูปที่ 5 ก ปฏิกริยาระหว่าง labelled antigen และ แอนติบอดี เมื่อไม่มี unlabelled antigen เรียกว่า Zero dose response ซึ่งในจุดนี้ปริมาณของ labelled antigen ที่รวมกับ แอนติบอดี จะมากที่สุด และจะลดลงเมื่อปริมาณของ unlabelled antigen เพิ่มขึ้นตามลำดับ ตามรูปที่ 5 ข ความเปลี่ยนแปลงนี้วัดได้จาก activity ของสารกัมมันตภาพรังสีใน bound form (antibody bound antigen) และ free form ภายหลังจากแยกทั้ง 2 ส่วนนี้ออกจากกัน เมื่อใช้ labelled antigen และ แอนติบอดีปริมาณคงที่ และใช้ unlabelled antigen ปริมาณที่ทราบค่าแน่นอนต่าง ๆ กัน วัดความเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นแล้วนำมาเขียนเป็นกราฟมาตรฐาน สำหรับเปรียบเทียบกับความเปลี่ยนแปลง เมื่อทำการทดลองใน sample เช่น ซีรั่ม หรือ ปัสสาวะ จะหาปริมาณ แอนติเจน ที่ต้องการวัดได้จากรูปที่ 5 นำมาเขียนเป็นสมการได้ดังนี้

$$\underset{\text{specific antibody}}{Ab} + \underset{\text{unlabelled antigen}}{Ag} \rightleftharpoons \underset{\text{antibody bound antigen}}{AgAb}$$

$$+ \quad {}^{125}\text{I-Ag} \quad \rightleftharpoons \quad {}^{125}\text{I-AgAb}$$

labelled antigen

bound form นั้นจะคงละลายอยู่ในสารละลายจะแยกออกจาก free form ได้โดย

1. โดยการกรองผ่าน gel (Geruth และคณะ 1965) ส่วนใหญ่ใช้ sephadex

2. โดยการตกตะกอน bound form ด้วย แอนติบอดี ชนิดที่สอง ได้แก่ anti gamma globulin วิธีนี้ใช้มาก สะดวกแต่ราคาแพง

3. โดยการตกตะกอน free form ด้วยการดูดซับ free form ด้วยผงถ่าน หรือ dextran ที่เคลือบด้วยผงถ่าน วิธีนี้ใช้มากราคาถูก แต่จะได้ค่า hormone concentration ต่ำเพราะผงถ่านอาจดูดรับ bound form ไว้ด้วยได้

สำหรับ radioimmunoassay ของแกสตรินนั้นเริ่มขึ้นภายหลังจากที่ Waddel และคณะ (1961) สามารถกระตุ้นการสร้างแอนติบอดีที่จำเพาะต่อแกสตรินที่สกัดได้จาก antrum ของหมู ในกระต่าย ต่อมาจึงมีผู้ทำการทดลองหลายกลุ่มกระตุ้นให้เกิดการสร้างแอนติบอดีต่อแกสตรินในกระต่าย หนูตะเภา และ ไก่ โดยใช้แกสตรินที่สกัดจาก antrum ของหมูตามวิธีของ Gregory และ Tracy(1964) แกสตรินสังเคราะห์ แกสตรินที่เคลือบบน latex particle แกสตรินที่คอนจูเกตกับ bovine serum albumin (BSA) gastrin tetrapeptide amide คอนจูเกตกับ BSA เป็นแอนติเจน ได้แอนติบอดีที่มีความจำเพาะต่อแกสตริน และมีความไวมากพอที่จะนำมาใช้วัดปริมาณแกสตรินในซีรั่มของผู้ป่วยด้วยโรคแผลเปื่อยในกระเพาะอาหาร (Schneider และคณะ 1967, Stremple และคณะ 1967,1968, McGuigan, 1967,1968a,1968b, Odell และคณะ 1968, Young และคณะ 1969, Hansky และ Cain, 1969 Chanyip และ Jordan,1970, Jeffcoate, 1969, Yalow และ Berson, 1970a, Rehfeld และ Stadil, 1972, Ganguli และ Hunter, 1972)

ผู้ทดลองได้ทดลองใช้วิธี radioimmunoassay ของ McGuigan (1968) ทำการวัดหาระดับแกสตรินในซีรั่ม เนื่องจากวิธีของ McGuigan (1968)นั้นเป็นวิธีที่ง่ายและสะดวกมีความไวในการวัดสูง ให้เปรียบเทียบผลของการวัดแกสตริน ด้วยวิธีนี้ในซีรั่มของคนปกติ คนป่วยด้วยโรคแผลเปื่อยเปปติค และโรคมะเร็งในกระเพาะอาหาร

<u>วัตถุประสงค์ของการศึกษา</u>

เพื่อต้องการหาปริมาณกรดในกระเพาะอาหารภายหลังกระตุ้นด้วย ฮิสตาลอกและระดับของฮอร์โมนแกสตรินในซีรั่มก่อนอาหารในคนไทยปกติ ในผู้ป่วยด้วยโรคแผลเปื่อยเปปติค และในผู้ป่วยด้วยโรคมะเร็งของกระเพาะอาหาร เพื่อเปรียบเทียบกัน เพื่อจะได้ทราบถึงสาเหตุของการเกิดโรคว่าเนื่องมาจากการหลั่งฮอร์โมนแกสตรินออกมามากเกินไปแล้วไปกระตุ้นการหลั่งกรด หรือมีการหลั่งกรดมากเนื่องจากสาเหตุอื่น และเพื่อศึกษาว่าระดับของฮอร์โมนแกสตรินนี้จะนำไปใช้ช่วยในการวินิจฉัยโรค ในผู้ป่วยที่สงสัยว่าจะมีโรคแผลเปื่อยเปปติคได้หรือไม่ เพราะในปัจจุบันนี้มีวิธีการวัดระดับของแกสตรินโดยวิธี radioimmunoassay ซึ่งมีความแม่นยำ ความไวสูง และไม่ทำความลำบากให้แก่ผู้ป่วยมากนัก