บทนำ

ต่อมหมวกไต (adrenal gland) ประกอบด้วยเนื้อ 2 ชั้น ชั้นนอกเรียกว่า คอร์เทกซ์ (cortex) และชั้นในเรียกว่า เมดัลลา (medulla)

ในชั้นคอร์เทกซ์ของต่อมหมวกไต มีหน้าที่หลั่งสเตียรอยด์ฮอร์โมน (steroid hormones) ซึ่ง Turner (1966) ได้แบ่งไว้เป็น 4 กลุ่มคือ

1. 11 – ออกซิเจนเนเตด คอร์ติโคสเตียรอยด์ (11 - oxygenated corticosteroids) ฮอร์โมนในกลุ่มนี้มีออกซิเจนอยู่ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 11 ซึ่งอาจจะอยู่ในรูปไฮดรอกซิล (hydroxyl group) หรือ ออกโซ (oxo group)

ฮอร์โมนในกลุ่มนี้มีความสำคัญเกี่ยวกับเมตาบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรท และโปรตีนมาก แต่ไม่ค่อยมีความสำคัญต่อเมตาบอลิซึมของน้ำและอีเล็กโตรไลท์ (electrolytes) จึงเรียกฮอร์โมนในกลุ่มนี้ได้อีกชื่อหนึ่งว่า กลูโคคอร์ติคอยด์ (glucocorticoids)

ฮอร์โมนที่สำคัญในกลุ่มนี้คือ คอร์ติซอล (cortisol) , คอร์ติโคสเตียโรน (corticosterone) , 11 – ดีไฮโดรคอร์ติโคสเตียโรน (11-dehydrocorticosterone) และ คอร์ติโซน (cortisone)

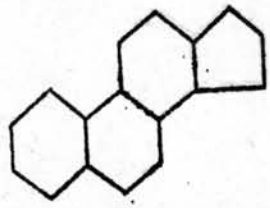
2. คอร์ติโคสเตียรอยด์ที่ขาดออกซิเจน ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 11 ฮอร์โมนในกลุ่มนี้มีความสำคัญเกี่ยวกับเมตาบอลิซึมของน้ำและอีเล็กโตรไลท์ มากกว่าเมตาบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรท และโปรตีน

ฮอร์โมนที่สำคัญในกลุ่มนี้คือ 11 – ดีออกซีคอร์ติโคสเตียโรน (11 – deoxycorticosterone, DOC) และ 11 – ดีออกซีคอร์ติซอล (11 – deoxycortisol)

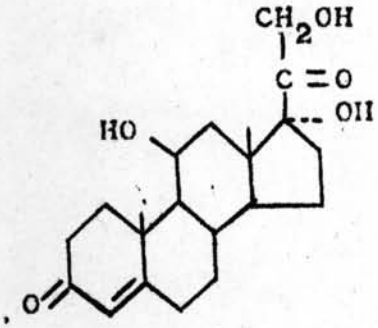
3. อัลโดสเตียโรน (aldosterone) มีออกซิเจนที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 18 มีความสำคัญต่อเมตาบอลิซึมของอีเล็กโตรไลท์มาก

เรียกฮอร์โมนในกลุ่มที่ 2 และ 3 ว่า มินเนอราลโลคอร์ติคอยด์ (mineralocorticoids)

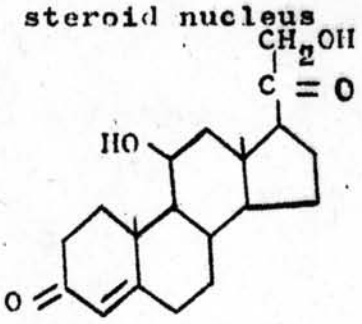
4. ฮอร์โมนเพศ (sex hormones)



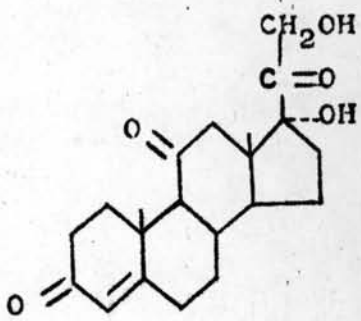
steroid nucleus



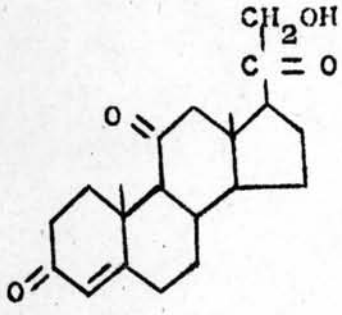
cortisol



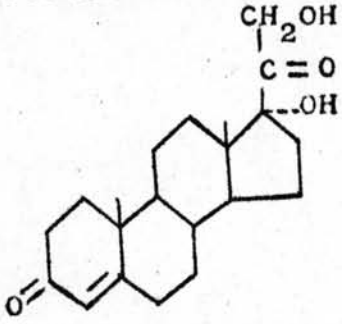
corticosterone



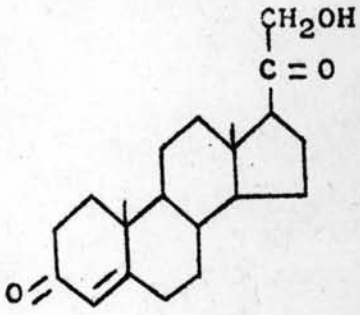
cortisone



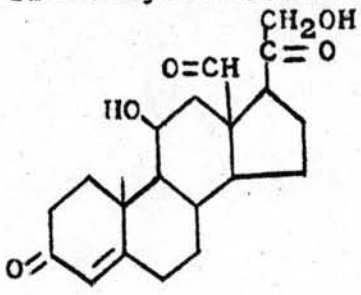
11-dehydrocorti-
costerone



11-deoxycortisol

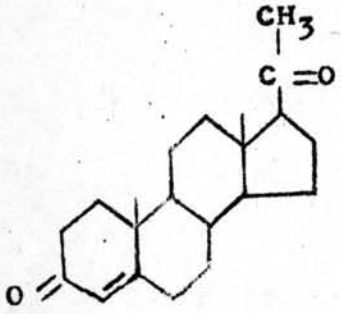


11-deoxycorticosteroid

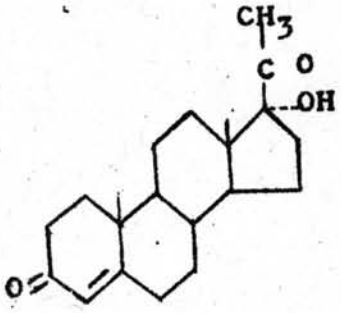


aldosterone

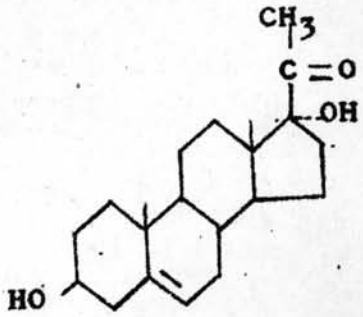
รูปที่ 1 ฮอร์โมนคอร์ติโคสเตียรอยด์ที่หลั่งออกมาจากชั้น คอร์เทกซ์ของต่อมหมวกไต



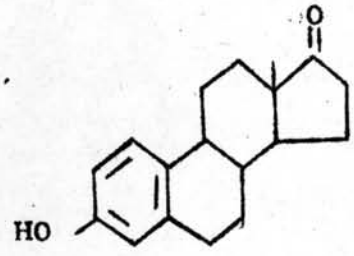
progesterone



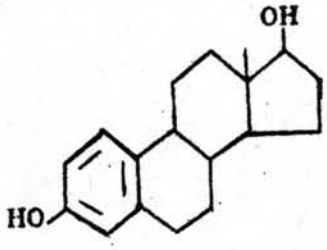
17α-hydroxyprogesterone



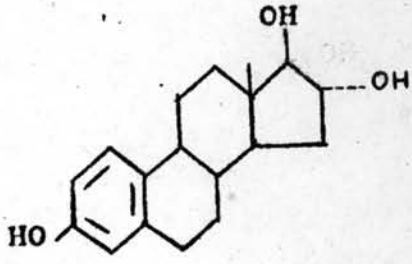
17α-hydroxy-Δ^5-pregnenolone



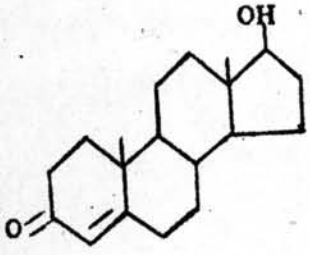
estrone



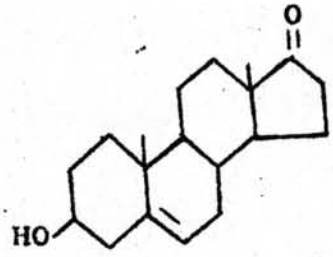
estradiol-17 β



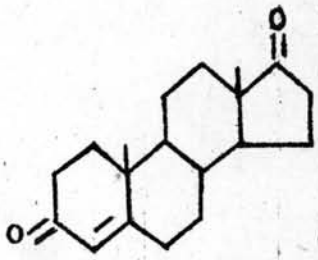
estriol



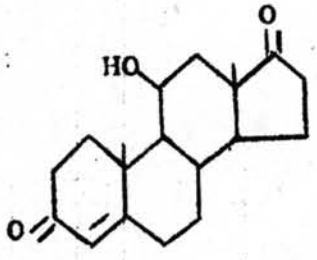
testosterone



dehydroepiandrosterone



Δ^4-androstendione



11 β -hydroxy-Δ^4-androstendione

รูปที่ 2 ฮอร์โมนเพศที่หลั่งออกมาจากชั้นคอร์เทกซ์ของต่อมหมวกไต

การควบคุมการหลั่งของฮอร์โมนคอร์ติโคสเตียรอยด์จากต่อมหมวกไต

Corticotrophin releasing factor (CRF) จาก hypothalamus จะไปควบคุมการหลั่งของฮอร์โมนอดรีโนคอร์ติโคโทรฟิค (adrenocorticotrophic hormone, ACTH) จากต่อมใต้สมองส่วนหน้า (anterior pituitary gland) ACTH จะไปกระตุ้นการหลั่งของฮอร์โมนสเตียรอยด์จากชั้นคอร์เทกซ์ของต่อมหมวกไต

ในสภาวะเครียด (stress condition) ต่อมใต้สมองส่วนหน้าจะถูกกระตุ้นให้หลั่งฮอร์โมน ACTH ออกมามากขึ้น ฮอร์โมน ACTH จะไปมีผลโดยตรงต่อการสร้างฮอร์โมนคอร์ติโคสเตียรอยด์ที่ชั้นคอร์เทกซ์ของต่อมหมวกไต

ในคนปกติซึ่งได้รับการพักผ่อนเพียงพอ ฮอร์โมนกลูโคคอร์ติคอยด์ในพลาสม่าจะมีปริมาณน้อยที่สุดตอนเที่ยงคืน, มากที่สุดตอนเช้า และจะค่อย ๆ ลดลงในระหว่างเวลากลางวัน (Perkoff et al, 1959 ; Liddle, 1965; Nichols et al, 1967; Orth et al, 1969)

Dermura และคณะ (1966) ได้ทำการทดลองในหนู พบว่า การเปลี่ยนแปลงระดับของฮอร์โมนกลูโคคอร์ติคอยด์ คู่ขนานไปกับการเปลี่ยนแปลงระดับของฮอร์โมน ACTH ในเลือดและ David-Nelson และคณะ (1969) พบว่า การสร้าง corticotrophin-releasing factors (CRF) ก็คู่ขนานไปกับการเปลี่ยนแปลงระดับของฮอร์โมน ACTH ด้วย

Haynes (1958) และ Grahame-Smith และคณะ (1967) ได้ทำการทดลองในต่อมหมวกไตของวัว-ควาย พบว่า ฮอร์โมน ACTH จะไปเพิ่มปริมาณของ cAMP (adenosine cyclic 3',5'-monophosphate) และการให้ฮอร์โมน ACTH ทุก ๆ ความเข้มข้นจะไปเพิ่มปริมาณของ cAMP และ การสร้างสเตียรอยด์ (steroidogenesis) และจากการทดลองของ Beall และ Sayers (1972) ในเซลของต่อมหมวกไตของหนู ก็ได้ผลเช่นเดียวกัน

การควบคุมการสร้างโปรตีนของต่อมหมวกไตโดยฮอร์โมน ACTH ผ่านทาง cAMP จะทำในระดับ translation ของ mRNA (messenger ribonucleic acid) (Garren, 1968; Garren et al, 1969)

กลไกของฮอร์โมน ACTH ที่ไปกระตุ้นการสร้างฮอร์โมนคอร์ติโคสเตียรอยด์ (Sayers et al, 1972)

1. ฮอร์โมน ACTH ไปเกาะที่ receptor ซึ่งอยู่ที่ผิวของเซลของต่อมหมวกไต และไปกระตุ้นให้เอนไซม์ อดีนิล ไซเคลส (adenyl cyclase) พร้อมที่จะทำงาน

2. การสร้าง cAMP เพิ่มขึ้น และไปกระตุ้นเอนไซม์โปรตีน ไคเนส (protein kinase) ให้พร้อมที่จะทำงาน

3. โคเลสเตอรอล จะถูกเปลี่ยนเป็นฮอร์โมนคอร์ติโคสเตียรอยด์

เมื่อมีฮอร์โมนคอร์ติโคสเตียรอยด์ในเลือดมาก จะไปหยุด (feedback inhibition) การสร้างฮอร์โมน ACTH ที่ต่อมใต้สมองส่วนหน้าโดยตรง ทำให้มีการสร้างฮอร์โมนคอร์ติโคสเตียรอยด์ที่ต่อมหมวกไตลดลง

ในสภาวะเครียด (stress condition) กลูโคคอร์ติคอยด์ในพลาสม่าจะมีระดับสูงขึ้น เช่น ภายหลังการผ่าตัด (Sanberg et al, 1954), ไฟไหม้ (Hume et al, 1956), ความร้อน และการอยู่ในที่ที่มี oxygen tension ต่ำ (Hale et al, 1957), electro-convulsive therapy (Bliss et al, 1954), delirium tremens (Kissin et al, 1959), myocardial infarction ชนิดรุนแรง และ cerebro-vascular accidents (Oka, 1956 a)

การหาปริมาณคอร์ติซอล

การหาปริมาณในระยะเริ่มแรก เป็นแบบ group determination ได้แก่วิธี Bioassay และ Chemical assay ในเวลาต่อมาได้พยายามหาวิธีที่วัดคอร์ติซอลตัวเดียว ได้แก่วิธี competitive protein binding แต่ก็ยังไม่ได้ 100 % คอร์ติซอลเป็นสเตียรอยด์ฮอร์โมนที่หลั่งจากต่อมหมวกไตเป็นปริมาณสูงสุด (Nugent et al, 1966) ปัญหาเรื่อง cross reaction จึงหมดไป

1. Bioassay เป็นวิธีที่ใช้หาปริมาณฮอร์โมนคอร์ติโคสเตียรอยด์ในระยะแรก ๆ มีความไวและความเฉพาะสูงกว่าวิธีทางเคมี สัตว์ทดลองที่ใช้ส่วนใหญ่เป็นพวกหนูขาวและเป็ดตัวผู้ หลักการของวิธีนี้คือ ฉีดสารที่ต้องการจะทดลองหาปริมาณฮอร์โมนเข้าไปในสัตว์ทดลอง และดูผลที่เกิดขึ้นซึ่งจะมีความจำเพาะต่อฮอร์โมนที่จะวัดนั้น วิธีนี้ในปัจจุบันเลิกใช้แล้ว แต่ยังมีประโยชน์ในการตรวจสอบ physiological activity ของสารสังเคราะห์

วิธีนี้แบ่งเป็น 4 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ

ก. Methods depending on survival and growth (Grollman,1941)

ข. Glycogen deposition tests (Olson et al, 1944 a, 1944 b, Venning et al, 1946; Eggleston et al, 1946)

ค. Thymolytic assay method (Ringler และ Brownfield, 1960)

ง. Anti-inflammatory and stress tests (Dorfman et al, 1946 b, 1946 c)

2. Chemical aasay เป็นวิธีที่ทำได้รวดเร็วกว่าและ สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายน้อยกว่า และเหมาะที่จะใช้ในงานประจำวันมากกว่าวิธี Bioassay

วิธีนี้แบ่งเป็น 2 กลุ่มคือ

ก. Colorimetric method (Peterson, 1957) วิธีนี้อาศัยปฏิกริยา Porter-Silber คือ คอร์ติโคสเตียรอยด์ที่มี 17,21 - ไดไฮดรอกซี - 20 - ออกโซ (17,21 - dihydroxy-20-oxo group) เมื่อทำปฏิกริยากับ phenylhydrazine ใน methanolic หรือ ethanolic sulphuric acid จะให้สีเหลืองซึ่งมี maximum absorption ที่ 410 mm

วิธีนี้มีข้อเสียคือใช้พลาสม่ามาก (ประมาณ 10 มล.) และมีความไวค่อนข้างต่ำกว่าวิธีอื่น

ข. Fluorometric method (Mattingly,1962) วิธีนี้มีหลักว่าพวกสเตียรอยด์ที่มีหมู่ไฮดรอกซีอยู่ที่ C-11 สามารถเรืองแสงได้กับสารละลายผสมของอัลกอฮอล์ กับกรดกำมะถัน

วิธีนี้มีข้อเสียคือ มีสารเจือปนที่ทำให้เกิดการเรืองแสง ซึ่งจะทำให้การวัดปริมาณฮอร์โมนผิดพลาดไปได้

3. Competitive protein binding radioassay

Eik - Nes และคณะ (1954) และ Westphal (1958) พบว่าสเตียรอยด์จะเกาะกับอัลบูมิน และยิ่งสเตียรอยด์มีประจุ (polar) น้อยก็จะสามารถเกาะกับโปรตีนได้เหนียวแน่นยิ่งขึ้น

Daughaday (1956, 1958, 1959), Upton (1958) และ Mills (1962) พบว่า คอร์ติซอลสามารถเกาะกับโปรตีนอีกชนิดหนึ่งในพลาสม่าของคนได้อีกด้วย อัลบูมินมี capacity สูง แต่มี affinity ต่ำต่อคอร์ติซอล แต่ทรานสคอร์ตีน ซึ่งเป็นพวก α - globulin (Daughaday, 1958) มี capacity จำกัด แต่มี affinity สูงต่อคอร์ติซอล. 17 – ไฮดรอกซี – 11 – คีโอกซี–คอร์ติโคสเตอโรน (Compound S) , คอร์ติโคสเตียโรน, เพรกนีโซโลน และ 17 – OH โปรเจส–เตียโรน ก็สามารถเกาะกับโปรตีนทรานสคอร์ตีนได้เช่นเดียวกับคอร์ติซอล แต่เนื่องจากคอร์ติซอลเป็นสเตียรอยด์ฮอร์โมนที่หลั่งจากชั้นคอร์เทกซ์ของต่อมหมวกไต ออกมาเป็นปริมาณมากที่สุด เมื่อเทียบกับสเตียรอยด์อื่น ๆ (Nelson, D.H., 1969; Jeffery, D.A. และ Noujaim, A.A., 1971) จึงถือว่าสารเหล่านี้ไม่มีอุปสรรคต่อการหาปริมาณคอร์ติซอลโดยวิธี competitive protein binding มากนัก

Bush (1952) Appleby และคณะ (1955) และ Braunsberg และคณะ (1961) พบว่า ในพวกคอร์ติโคสเตียรอยด์ทั้งหมด CBG (cortisol binding globulin) มี affinity สูงสุดต่อคอร์ติซอลและคอร์ติโคสเตอโรน

การจับของคอร์ติโคสเตียรอยด์กับ CBG แตกต่างจากการจับของสเตียรอยด์อื่นกับอัลบูมิน คือ คอร์ติโคสเตียรอยด์จะจับกับ CBG ได้เหนียวแน่นขึ้น ถ้าในโมเลกุลของคอร์ติโคสเตียรอยด์มีหมู่ไฮดรอกซิลที่คาร์บอนตำแหน่ง 11 β, 17 α และ 21 ซึ่งการมีหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่งเหล่านี้จะไปลดการจับกับอัลบูมิน

หลักการของวิธี competitive protein binding ใช้หลักเดียวกับ saturation analysis ซึ่งมีหลักการดังนี้

ถ้า P เป็นสารที่ต้องการจะวัด เช่นสเตียรอยด์ฮอร์โมน, แอนติเจน, เอนไซม์ ฯลฯ

Q เป็น specific reagent ที่มีความจำเพาะ กับ P เช่น CBG, แอนติบอดี ฯลฯ

เมื่อ labelled P (P^*) ซึ่งมีปริมาณคงที่ทำปฏิกริยากับ Q ซึ่งมีปริมาณคงที่ เช่นเดียวกัน ได้เป็น P^* - Q (bound) คือเป็นส่วนที่ทำปฏิกริยา กับส่วนที่ไม่ได้ทำปฏิกริยา F(free) แยกส่วนที่ทำปฏิกริยาและส่วนที่ไม่ได้ทำปฏิกริยาโดยใช้สารที่เหมาะสมในการทดลองนี้ใช้ Fuller's earth ไป absorb F

LABELLED CORTISOL SPECIFIC CBG LABELLED CORTISOL-CBG COMPLEX

$$P^{*}_{(F)} + Q \longrightarrow P^{*}\text{-}Q_{(B)} + P$$

P UNLABELLED CORTISOL

P - Q UNLABELLED CORTISCOL - CBG COMPLEX

P (ที่ต้องการจะหาปริมาณ) จะไปแย่ง (compete) จับ binding site ของ Q จาก P^{*} ทำให้อัตราส่วนของ B ต่อ F เปลี่ยนไป (F จะเพิ่มขึ้น) เอาค่า F หรือ B มาเขียนเป็นกราฟมาตรฐาน เพื่อใช้หาปริมาณของสารที่ต้องการในสารตัวอย่าง

งานที่ได้ศึกษาเป็นการหาปริมาณ คอร์ติซอลในพลาสม่าและในปัสสาวะ แบ่งการศึกษาเป็นหัวข้อดังนี้

ก. หาปริมาณของคอร์ติซอลในพลาสม่าและในปัสสาวะของคนปกติ โดยวิธี competitive protein binding ของ Murphy, 1967,1968

ข. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงระดับของคอร์ติซอลในตอนเช้า (8–9 น.) และตอนบ่าย (15 – 16 น.) ในพลาสม่า และตลอดเวลา 24 ช.ม. ในปัสสาวะของคนปกติ โดยแบ่งเป็นช่วง ๆ ละ 2 ช.ม.

ค. ใช้ ACTH กระตุ้นเพื่อดู adrenal cortical reserve

งานนี้มีประโยชน์ในด้านการใช้หลักการเดียวกันนี้ในการหาปริมาณฮอร์โมนอื่น และใช้ทดสอบและรักษาการเจ็บป่วยเนื่องจาก diseases ของต่อมหมวกไตชั้นคอร์เตกซ์