

V. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 วิธีวัดปริมาณซีรอกซินในซีรัม

ได้ค้นพบวิธีหาปริมาณซีรอกซินในซีรัมโดยวิธี 'saturation analysis' ของ Ekins (1963) โดยใช้ binding protein จากซีรัมของคนมีครรภ์ที่เจือจางด้วย barbital buffer pH 8.6 ใช้อัตราส่วน 1:5 (ซีรัม: buffer) วิธีที่ใช้ในการทดลองนี้มีเปอร์เซ็นต์ extraction recovery = $74.55 \pm 2.31\%$ เปอร์เซ็นต์ recovery อยู่ในช่วง 99-111 % ค่าเฉลี่ย = $104.68 \pm 4.69\%$ precision ของวิธีการทดลองนี้เปรียบเทียบภายในวันเดียวกัน วัดปริมาณได้ 8.43 ไมโครกรัม % $\pm 2.61\%$ และถ้าทำต่างวันได้ค่าเฉลี่ย 8.84 ไมโครกรัม % $\pm 7.24\%$ ถ้าเปรียบเทียบกับผลงานของ Ekins แล้ว ก็ถือว่ายังไม่มีรายงานใดที่มีผลการทดลองที่มี precision สูงกว่านี้ นอกจากนี้ยังมี sensitivity ค่อนข้างสูง คือสามารถวัดซีรอกซินได้ต่ำถึง 62 พิโคกรัม/มล. และสูงที่สุดถึง 50 นาโนกรัมต่อ 0.5 มล.

5.2 แพ็คเกจต่าง ๆ ที่มีผลต่อการวัด

5.2.1 อุณหภูมิ อุณหภูมิที่ใช้ในการอินคิวเบตสาร การเขย่าสาร กับเรซิน และการแยก supernatant ออกจากเรซิน จะต้องให้สม่ำเสมอ และค่าอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดคืออุณหภูมิในช่วง 0-4 °ซ.

5.2.2 เวลา

ก. เวลาการอินคิวเบตสาร ควรให้นานจนถึงสมบูรณ์และเวลาอย่างต่ำที่สุดที่สารอินคิวเบตถึงสมบูรณ์คือ 60 นาที

ข. เวลาการเขย่าสารเมื่อใส่เรซินลงไป adsorb ส่วนที่โปรตีนไม่จับกับฮอว์โมน ไม่ควรนานเกินไป ถ้าอุณหภูมิค่า 0-4 °ซ. เวลาที่ควรจะใช้ในการเขย่าคือ 45 นาที แต่ถ้าอุณหภูมิสูง (23 °ซ.) จะต้องลดเวลาการเขย่าลงตามอัตราส่วน

5.3 การทดสอบความไวในการวัด เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ reagent จะพบว่า binding protein จากซีรัมของคนมีครรภ์ต้องเจือจางด้วย buffer ในอัตราส่วน 1:5 (ซีรัม: buffer) ปริมาณ Tracer $^{125}\text{I-T}_4$ ที่ใช้มีปริมาตร 10 ไมโครลิตร (มีความเข้มข้นของ $\text{T}_4 = 0.2$ นาโนกรัม) ปริมาณที่ได้นี้เหมาะสมสำหรับการใช้วัดปริมาณ รัยรอกซินจากซีรัมปริมาตรเพียง 0.2 มล. และมีความไวในการวัดปริมาณฮอร์โมนในช่วง 0-20 นาโนกรัม/0.5 มล. คือในช่วงค่า ถ้ามีการเปลี่ยนแปลง binding protein, ปริมาตรซีรัมในการวัด, activity ของ tracer ใหม่ หรือต้องการความไวในการวัดปริมาณฮอร์โมนในช่วงสูงต้องทำการทดสอบ ความไว และหาความเข้มข้นที่เหมาะสมใหม่

5.4 การวัด thyroxine binding globulin capacity
สำหรับคนปกติจะพบว่ามีค่า = 0.45 ไมโครกรัมต่อ มล. ซึ่งมีค่าสูงกว่าคนปกติที่ Robbins (1956) ได้รายงานไว้มีค่าเฉลี่ย = 0.19 ไมโครกรัม/มล.

5.5 ข้อเสนอแนะ

5.5.1 ห้องปฏิบัติการใดที่ประสงค์จะวัดรัยรอกซินในซีรัมควรจะสร้างวิธีวัดของตนเอง ไม่ว่าจะต้องลอกเลียนแบบจากวิธีการที่มีในรายงานไว้ ทั้งนี้เพราะเครื่องมือ เครื่องใช้ต่าง ๆ ย่อมมีความแตกต่างกัน ควรจะพิจารณาให้เหมาะสมกับสิ่งที่มีอยู่แล้ว แต่มีข้อควรระวังอยู่ที่ผู้ปฏิบัติงานจะต้องมีความรู้พื้นฐานของวิธีการเป็นอย่างดี

5.5.2 การหาปริมาณรัยรอกซินโดยวิธี saturation analysis ควรจะได้ทำความเข้าใจกับการหา thyroxine binding capacity ในการวินิจฉัยภาวะการทำงานของต่อมรัยรอก

5.5.3 สิ่งที่ควรทำเพิ่มเติมอีกคือ

ก. หา TBG capacity ในคนเป็น hyperthyroid และ hypothyroid รวมทั้งคนที่ เป็นโรคเกี่ยวกับรัยรอกขึ้นมาแต่กำเนิด

ข. ศึกษาว่าปริมาณอินเทอร์-แอลฟา โกลบูลิน มีความสามารถในการจับฮอร์โมนหรือไม่ และค่ามากน้อยเท่าใดในคนที่ เป็น hyperthyroid ของคนไทย

ค. ศึกษาว่ายาคุมกำเนิดมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีน
thyroxine binding globulin ในตัวเมียหรือไม่

ง. ศึกษาหา sensitivity และ precision ของวิธีวัดซีรอกซีน
โดย saturation analysis เมื่อใช้ charcoal ในการแยก