บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

ในการพัฒนาวิธีเรดิโออิมมูโนแอสเสย์สำหรับวัดปริมาณสารใด ๆ ก็ตามขึ้นมาเองจำเป็นต้องสร้างแอนติบอดีให้ได้ก่อน ซึ่งความไว ความจำเพาะ ความแม่นยำ ตลอดจนความถูกต้องของวิธีที่พัฒนาขึ้นมามักจะขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของแอนติบอดี ปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการสร้างแอนติบอดี ได้แก่ อิมมูโนเจน แอดจูแวนท์ สัตว์ทดลอง ปริมาณของอิมมูโนเจนและวิธีที่ใช้ฉีดสัตว์ทดลอง ระยะเวลาของการฉีดและระยะเวลาของการเก็บแอนติซีรัม เป็นต้น (Skowsky และ Fisher, 1972)

สเปอร์มิดีนเป็นเพียงแฮบเทน (hapten) จึงไม่มีคุณสมบัติในการเป็นอิมมูโนเจน (immunogenicity) แต่ถ้าให้แฮบเทนเกาะติดกับโมเลกุลตัวนำ(carrier molecule) เช่น โปรตีนบางชนิด แล้วจะทำให้สามารถกระตุ้นให้มีการสร้างแอนติบอดีต่อตัวมันได้ ซึ่งแฮบเทนจะเปรียบเสมือนเป็นแอนติจินิคดีเทอร์มิแนนท์ (antigenic determinant) สามารถจับกับแอนติบอดีได้

ในการวิจัยนี้ได้ใช้อัลบูมินและไทโรกลอบบูลินเป็นโปรตีนตัวนำ ซึ่งมีคุณสมบัติในการเป็นอิมมูโนเจนได้ดี (Playfair และคณะ, 1974, สดใส เวชชาชีวะ และคณะ, 2522) คอนจูเกตกับสเปอร์มิดีนโดยมีคาร์บอไดอิไมด์เป็นตัวที่ช่วยทำให้เกิดโควาเลนท์บอนด์ระหว่างโปรตีนตัวนำและสเปอร์มิดีน ปกติจะมีการกระตุ้นให้เกิดการสร้างแอนติบอดีได้มากถ้าโมเลกุลตัวนำเองมีคุณสมบัติในการเป็นอิมมูโนเจนและมีแฮบเทนมาเกาะเป็นจำนวนมาก นอกจากนั้นความจำเพาะของแอนติบอดีจะขึ้นอยู่กับการจัดตัวของแฮบเทนที่เกาะกับโมเลกุลตัวนำ เนื่องจากแอนติบอดีจะมีความจำเพาะกับส่วนของแฮบเทนที่อยู่ไกลจากตำแหน่งที่เกาะกับโมเลกุลตัวนำที่สุด (Walker และคณะ, 1973)

ในการเตรียมคอนจูเกต จำนวนโมเลกุลของแฮบเทนที่จะเกาะกับโมเลกุลของตัวนำจะขึ้นอยู่กับอัตราส่วนของสารตั้งต้นอันได้แก่ แฮบเทน โมเลกุลตัวนำ และตัวที่ช่วยให้เกิดการเกาะกันระหว่างแฮบเทนและโมเลกุลตัวนำ (Skowsky และ Fisher, 1972) สำหรับการวิจัยนี้สารตั้งต้นที่ใช้ได้แก่ สเปอร์มิดีน อัลบูมินหรือไทโรกลอบบูลิน และคาร์บอไดอิไมด์ ตามลำดับ ได้ทดลองเปลี่ยนอัตราส่วนของสารตั้งต้นแล้วพบว่าการเพิ่มจำนวนโมเลกุลของสเปอร์มิดีนหรือคาร์บอไดอิไมด์

มีผลทำให้มีจำนวนโมเลกุลของสเปอร์มิดีนเกาะกับโปรตีนตัวนำเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามในการเตรียมคอนจูเกตระหว่างสเปอร์มิดีนกับอัลบูมินและสเปอร์มิดีนกับไทโรกลอบบูลินปรากฏว่ามีจำนวนโมเลกุลของสเปอร์มิดีนเกาะกับอัลบูมินและไทโรกลอบบูลินแตกต่างกันคือจำนวนโมเลกุลของสเปอร์มิดีนเกาะกับอัลบูมิน (1 โมเลกุล) ได้มากที่สุดเพียง 30 และเกาะกับไทโรกลอบบูลิน (1 โมเลกุล)ได้มากที่สุดประมาณ 600 อัลบูมินและไทโรกลอบบูลินมีหมู่คาร์บอกซิลิค (carboxylic group) ที่สามารถจับเป็นเปปไทด์บอนด์กับหมู่อะมิโน(amino group) ของสเปอร์มิดีนได้ประมาณ 118 และ 1,100 หมู่ ตามลำดับ นั่นคือประมาณร้อยละ 25 ของหมู่คาร์บอกซิลิคของอัลบูมินมีสเปอร์มิดีนเข้าไปเกาะ และประมาณร้อยละ 55 ของหมู่คาร์บอกซิลิคของไทโรกลอบบูลินมีสเปอร์มิดีนเข้าไปเกาะ จะเห็นว่าหมู่คาร์บอกซิลิคของไทโรกลอบบูลินมีสเปอร์มิดีนเข้าไปเกาะได้มากกว่าหมู่คาร์บอกซิลิคของอัลบูมิน ทั้งนี้อาจเนื่องจากไทโรกลอบบูลินมีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่าอัลบูมิน และมีจำนวนหมู่คาร์บอกซิลิคมากกว่าอัลบูมินประมาณ 10 เท่า จึงทำให้สเปอร์มิดีนมีโอกาสมาเกาะกับไทโรกลอบบูลินได้มากกว่าอัลบูมิน

จากรายงานวิจัยในอดีตบางรายงานได้แสดงให้เห็นว่าจำนวนโมเลกุลของแฮบเทนที่เกาะกับโปรตีนตัวนำไม่จำเป็นต้องสูงนักก็สามารถทำให้สัตว์ทดลองสร้างแอนติบอดีที่มีไตเตอร์สูง ๆ ได้ ตัวอย่างเช่น Jaffe และคณะ (1971) ได้ใช้คอนจูเกตที่มีจำนวนโมเลกุลของโพรสตาแกลนดิน (prostaglandin) เกาะกับอัลบูมินในอัตราส่วนเพียง 3:1 ฉีดสัตว์ทดลองแล้วสัตว์ทดลองสามารถสร้างแอนติบอดีต่อโพรสตาแกลนดินได้และมีไตเตอร์สูงถึง 10,000 หรือ Skowsky และ Fisher (1972) ใช้คอนจูเกตที่มีจำนวนโมเลกุลของไลซีนวาโสเพรสซิน (lysine vasopressin) เกาะกับไทโรกลอบบูลินในอัตราส่วน 40-60:1 ฉีดสัตว์ทดลองแล้วสัตว์ทดลองสามารถสร้างแอนติบอดีซึ่งมีไตเตอร์ 50,000 ในขณะที่ Bartos และคณะ (1975) ใช้คอนจูเกตที่มีจำนวนโมเลกุลของสเปอร์มีนเกาะกับไทโรกลอบบูลินในอัตราส่วน 131:1 แต่ทำให้สัตว์ทดลองสามารถสร้างแอนติบอดีที่มีไตเตอร์เพียง 900 Skowsky และ Fisher (1972) พบว่าโปรตีนที่ใช้เป็นโมเลกุลตัวนำได้ดีคือ ไทโรกลอบบูลินเนื่องจากมีน้ำหนักโมเลกุลมากคือ 650,000 ดาลตัน แรงยึดเหนียวภายในโมเลกุลเป็นครอสลิงค์เปปไทด์(cross linked peptide) ทำให้มีความแข็งแรงรวมทั้งมีความคงทนในสัตว์ทดลอง (stability in vivo) ด้วย และสามารถกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาตอบโต้ (immune response) ได้ แต่จากรายงานของ Chaisiri และคณะ (1980) ที่เกี่ยวกับการสร้างแอนติสเปอร์มิดีน ได้ใช้โปรตีนตัวนำคืออัลบูมินซึ่งมีน้ำหนักโมเล -

กุล 67,000 ดาลตันปรากฏว่าใช้ได้ดีพอสมควร จากรายงานต่าง ๆ เหล่านี้แสดงให้เห็นว่าในการสร้างแอนติบอดีจำนวนโมเลกุลของแฮบเทนที่จับกับโปรตีนตัวนำ ไม่น่ามีข้อจำกัดที่ตายตัว การที่จะเกิดการสร้างแอนติบอดีที่มีไตเตอร์สูงน่าจะขึ้นอยู่กับการเป็นอิมมูโนเจนของโปรตีนตัวนำหรือลักษณะโครงสร้างของแฮบเทน รวมทั้งปัจจัยต่าง ๆ ที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้นด้วย การวิจัยครั้งนี้ได้สร้างแอนติบอดีต่อสเปอร์มิดีนโดยใช้คอนจูเกตที่มีจำนวนโมเลกุลของสเปอร์มิดีนเกาะกับอัลบูมินในอัตราส่วน 25-30:1 และคอนจูเกตที่มีจำนวนโมเลกุลของสเปอร์มิดีนเกาะกับไทโรกลอบบูลินในอัตราส่วน 203-601:1 พบว่ากระต่ายที่ฉีดด้วยคอนจูเกตระหว่างสเปอร์มิดีนกับอัลบูมินสามารถสร้างแอนติบอดีต่อสเปอร์มิดีนซึ่งมีไตเตอร์สูงสุดเพียงประมาณ 62 ซึ่งนับว่าได้ไตเตอร์ที่ค่อนข้างต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับของ Chaisiri และคณะ (1980) ที่ใช้คอนจูเกตระหว่างสเปอร์มิดีนกับอัลบูมินในอัตราส่วน 46:1 แต่ฉีดให้กับหนูตะเภาซึ่งปรากฏว่าได้แอนติบอดีที่มีไตเตอร์ 1,000

สัตว์ทดลองที่นิยมใช้ในการผลิตแอนติบอดีมีหลายชนิด เช่น กระต่าย แกะ ห่าน ม้า และหนูตะเภา เป็นต้น สัตว์ทดลองที่นิยมกันมากคือ หนูตะเภาและกระต่าย เนื่องจากเลี้ยงดูได้ง่ายกว่าสัตว์ชนิดอื่น (Playfair และคณะ, 1974) Bartos และคณะ (1975) ได้สร้างแอนติ-สเปอร์มีนโดยใช้กระต่ายและม้า Chaisiri และคณะ (1979) สร้างแอนติสเปอร์มีนโดยใช้กระต่ายแต่สร้างแอนติสเปอร์มิดีนโดยใช้หนูตะเภา (Chaisiri และคณะ, 1980) การวิจัยครั้งนี้ได้เลือกใช้ทั้งกระต่ายและหนูตะเภาเป็นสัตว์ทดลองในการสร้างแอนติบอดีต่อสเปอร์มิดีน ปรากฏว่ากระต่ายส่วนใหญ่สร้างแอนติสเปอร์มิดีนได้สูงกว่าหนูตะเภา จากจำนวนกระต่ายที่นำมาศึกษาทั้งหมด 14 ตัว พบว่าประมาณร้อยละ 86 สามารถสร้างแอนติสเปอร์มิดีนได้ แต่ประมาณร้อยละ 30 ของหนูตะเภาทั้งหมด 67 ตัวที่สามารถสร้างแอนติสเปอร์มิดีนสูงพอที่จะหาไตเตอร์ได้ และหนูตะเภาส่วนใหญ่สร้างแอนติสเปอร์มิดีนได้ไตเตอร์ต่ำกว่าของกระต่าย

จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่ากระต่ายสามารถสร้างแอนติสเปอร์มิดีนได้สูงกว่าหนูตะเภาซึ่งต่างจากที่ Chaisiri และคณะ (1980) ที่สร้างแอนติสเปอร์มิดีนได้ไตเตอร์ค่อนข้างสูงโดยใช้หนูตะเภาพันธ์ดันกินฮาร์ทเลย์ (Dunkin Hartley guinea pig) ซึ่งความแตกต่างกันนี้อาจเนื่องมาจากสัตว์ทดลองที่ใช้ต่างพันธุ์กัน Playfair และคณะ (1974) ได้เคยรายงานไว้ว่าสัตว์แต่ละชนิดมีการตอบสนองต่ออิมมูโนเจนได้แตกต่างกัน ซึ่งความแตกต่างนี้เนื่องมาจากการมีพันธุกรรมที่แตกต่างกัน ในการศึกษาครั้งนี้ทั้งกระต่ายและหนูตะเภาไม่ได้ขยายพันธุ์เองในห้องปฏิบัติการ กระต่ายเป็นพันธุ์พื้นเมืองซื้อมาจากเจ้าของเดียวกันแต่อาจจะต่างพ่อแม่กัน ส่วน

หนูตะเภาเป็นพันธุ์พื้นเมืองเช่นกัน ซื้อมาจากคนกลางที่อยู่ในกรุงเทพฯ ซึ่งรับซื้อจากผู้เลี้ยงในต่างจังหวัดหลาย ๆ แห่ง สัตว์ทดลองชนิดเดียวกันที่ใช้ในแต่ละกลุ่มจึงอาจมีพันธุ์กรรมแตกต่างกันด้วย

วิธีฉีดอิมมูโนเจนให้กับสัตว์ทดลองมีอยู่หลายวิธีด้วยกัน เช่น การฉีดเข้าอุ้งเท้า เข้าเส้นเลือด เข้าต่อมน้ำเหลือง เข้าใต้ผิวหนัง และเข้ากล้ามเนื้อ (Herbert และคณะ, 1973) เป็นต้น วิธีการที่ให้ผลดีและง่ายคือวิธีการฉีดเข้าใต้ผิวหนังหลาย ๆ จุด (Playfair และคณะ, 1974) นอกจากนั้นวิธีมะโครฟาจฮาร์เวสติงเทคนิค (macrophage harvesting technique) ก็เป็นวิธีที่ได้ผลดีวิธีหนึ่งแต่มีวิธีการค่อนข้างยุ่งยาก จึงมักนิยมใช้ต่อเมื่อวิธีอื่น ๆ ใช้แล้วไม่ได้ผล (Bartos และคณะ, 1975, Chaisiri และคณะ, 1979 และ Furuichi และคณะ, 1980) การวิจัยครั้งนี้ได้ฉีดอิมมูโนเจนให้กับสัตว์ทดลอง 3 วิธีคือ ฉีดเข้าใต้ผิวหนังด้านหลังหลาย ๆ จุด เข้ากล้ามเนื้อและเข้าอุ้งเท้า แต่ผลการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน

การวิจัยครั้งนี้ได้ผสมแอดจูแวนท์เข้ากับอิมมูโนเจนสำหรับฉีดสัตว์ทดลอง แอดจูแวนท์ที่ใช้คือ คอมพลีทฟรอยด์แอดจูแวนท์ซึ่งมีไมโคแบคทีเรีย (mycobacteria) ผสมอยู่ และอินคอมพลีทฟรอยด์แอดจูแวนท์ซึ่งไม่มีไมโคแบคทีเรียผสมอยู่ การทำงานของแอดจูแวนท์อาจกล่าวรวม ๆ ได้ว่าช่วยลดการแทรกซึม การแพร่กระจาย และการทำลายของแอนติเจน ทำให้แอนติเจนอยู่ในร่างกายได้นานขึ้น ทำให้เกิดการอักเสบเฉพาะที่ ซึ่งจะทำให้ฟาโกซัยท์ (phagocyte) และลิมโฟซัยท์ (lymphocyte) มาอยู่ในบริเวณนั้นมากขึ้น ทำให้แอนติเจนมีโอกาสถูกจับโดยฟาโกซัยท์และส่งต่อไปกระตุ้นลิมโฟซัยท์ได้ดีขึ้น กระตุ้นระบบเรติคูโลเอ็นโดทีเรียล (reticuloendothelial system) โดยทั่วไป และกระตุ้นลิมโฟซัยท์ให้มีการแบ่งตัวและดิฟเฟอเรนทีเอชัน (differentiation) (สดใส เวชชาชีวะ, 2522) การวิจัยครั้งนี้ไม่พบความแตกต่างระหว่างการใช้คอมพลีทและอินคอมพลีทฟรอยด์แอดจูแวนท์

ในการวิจัยนี้พบว่ากระต่ายส่วนใหญ่สามารถสร้างแอนติสเปอร์มิดีนได้สูงสุด หลังจากการฉีดอิมมูโนเจนซ้ำครั้งที่ 2 หรือครั้งที่ 3 ไม่ว่าการฉีดซ้ำแต่ละครั้งจะห่างกัน 2 สัปดาห์ หรือ 4 สัปดาห์ก็ตาม ส่วนหนูตะเภากลุ่มที่ฉีดซ้ำ 4 ครั้ง จะมีจำนวนหนูตะเภาที่สร้างแอนติสเปอร์มิดีนได้ (ร้อยละ 8) น้อยกว่ากลุ่มที่ฉีดซ้ำ 2 ครั้ง (ร้อยละ 35) อย่างไรก็ตามไม่สามารถบอกได้ว่าหนูตะเภาส่วนใหญ่จะสร้างแอนติสเปอร์มิดีนได้สูงสุดเมื่อไร เพราะไม่สามารถเจาะเลือด

จากหัวใจหนูตะเภามาหาไตเตอร์หลังจากฉีดอิมมูโนเจนทุกครั้งได้ ในการทดลองจะเจาะเลือดเพียง 2 ครั้งเท่านั้นคือเจาะก่อนฉีดอิมมูโนเจนและหลังจากฉีดอิมมูโนเจนครั้งสุดท้าย การสร้างแอนติบอดีแต่ละชนิดมักจะได้แอนติบอดีที่มีไตเตอร์สูงหลังจากการฉีดซ้ำ (booster injection) แต่ช่วงเวลาและจำนวนครั้งของการฉีดซ้ำจะแตกต่างกันไป เช่น การสร้างแอนติบอดีต่อฮอร์โมนโคริโอนิกโกนาโดโทรฟิน (chorionic gonadotrophin) ฉีดด้วยหน่วยย่อยเบตา (β sub-unit) ของฮอร์โมนเพียงครั้งเดียวก็สามารถทำให้กระต่ายสร้างแอนติบอดีมีไตเตอร์สูงถึง 10,000 หลังจากฉีดแอนติเจน 35 วัน (Vaitukatis และคณะ, 1971) แต่การสร้างแอนติบอีดต่อเอสตราไดออล (estradiol) ต้องฉีดแอนติเจนซ้ำทุกสัปดาห์ 6 ครั้ง และฉีดซ้ำทุกเดือนอีก 11 ครั้ง สัตว์ทดลองจึงจะสร้างแอนติบอดีที่มีไตเตอร์สูง 100,000 ได้ (Parker, 1976) อย่างไรก็ดีผลการวิจัยครั้งนี้ทำให้เป็นแนวทางที่จะนำไปใช้ประโยชน์ได้ว่าถ้าจะมีการสร้างแอนติสเปอร์มิดีนในกระต่าย ควรจะพิจารณาหลังจากการฉีดซ้ำเพียง 2 ครั้งเท่านั้นว่ากระต่ายตัวนั้นสามารถสร้างแอนติบอดีได้มากน้อยเพียงใด เพราะการฉีดซ้ำมากกว่านี้อาจไม่ทำให้กระต่ายสร้างแอนติบอดีได้เพิ่มขึ้นและเป็นการสิ้นเปลือง

คุณสมบัติที่สำคัญอย่างหนึ่งของแอนติบอดีก็คือ ความสามารถของการจับกันระหว่างแอนติบอดีกับแอนติเจน ซึ่งแสดงด้วยค่าคงที่ Ka (association constant หรือ affinity constant) ซึ่งโดยทั่วไปมักมีค่าอยู่ระหว่าง $1x10^{4}$ - $1x10^{13}$ ลิตรต่อโมล (Parker, 1976) แอนติบอดีต่อสเปอร์มิดีนที่ได้จากการวิจัยครั้งนี้มีค่า Ka เท่ากับ $4.2x10^{7}$ ลิตรต่อโมล ซึ่งต่ำกว่าของ Chaisiri และคณะ (1980) และของ Bartos และคณะ (1978) ซึ่งมีค่า Ka อยู่ในช่วง 10^{8} - 10^{9} ลิตรต่อโมล อย่างไรก็ตาม แอนติบอดีที่ได้จากการวิจัยครั้งนี้ มีค่า Ka 4.2×10^{7} ลิตรต่อโมล นับว่าอยู่ในช่วงที่เหมาะสมที่จะใช้ในการพัฒนาวิธีเรดิโออิมมูโนแอสเสย์ได้ แต่ถ้าแอนติบอดีที่มีค่า Ka ระหว่าง $1x10^{4}$-$1x10^{6}$ ลิตรต่อโมล จะไม่เหมาะสมสำหรับวิธีเรดิโออิมมูโนแอสเสย์เนื่องจากจะทำให้ความไวและความแม่นยำของวิธีเรดิโออิมมูโนแอสเสย์ต่ำ (Skelley และคณะ, 1973)

จากการศึกษาความจำเพาะของแอนติสเปอร์มิดีนที่สร้างได้พบว่ามีปฏิกิริยาข้ามชนิดสูงสุดกับพูเทรสซีน คือมีร้อยละของปฏิกิริยาข้ามชนิดประมาณ 17 รองลงมาคือสเปอร์มีนซึ่งมีร้อยละของปฏิกิริยาข้ามชนิดเท่ากับ 6 นับว่าแอนติสเปอร์มิดีนนี้มีความจำเพาะพอสมควร ซึ่งมีความจำเพาะมากกว่า Bartos (1978) แต่น้อยกว่าของ Chaisiri (1980) การที่แอนติสเปอร์มิดีนมี

ปฏิกิริยาข้ามชนิดกับพูเทรสซีนสูงกว่าสเปอร์มีน แสดงว่าในการเกิดคอนจูเกตระหว่างสเปอร์มิดีนกับอัลบูมิน หมู่ในโมเลกุลของสเปอร์มิดีนที่เกาะกับอัลบูมินคือหมู่โพรพิลลามีน (propylamine group)

เมื่อนำเอาแอนติสเปอร์มิดีนที่ได้ซึ่งมีคุณสมบัติดังกล่าวข้างต้นมาพัฒนาวิธีเรดิโออิมมูโนแอสเสย์สำหรับวัดปริมาณสเปอร์มิดีนในปัสสาวะ พบว่าวิธีที่พัฒนาได้มีความไวเท่ากับ 55 พิโคโมลต่อมิลลิลิตรปัสสาวะ ถึงแม้ว่าความไวนี้จะต่ำกว่าของ Chaisiri และคณะ (1980) มากก็ตาม แต่ความไวขนาดนี้ก็เพียงพอสำหรับการวัดปริมาณสเปอร์มิดีนในปัสสาวะ เนื่องจากในปัสสาวะมีความเข้มข้นของสเปอร์มิดีน (ขนาดไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรปัสสาวะ) มากกว่าในซีรัมหรือพลาสมา (ขนาดนาโนกรัมต่อมิลลิลิตรซีรัมหรือพลาสมา) มาก ส่วนความแม่นยำของวิธีวัดปริมาณสเปอร์มิดีนในปัสสาวะทั้งในการทดลองเดียวกันและต่างการทดลองกันนับว่าอยู่ในช่วงที่ยอมรับกัน ยกเว้นความแม่นยำในการวัดปริมาณสเปอร์มิดีนที่มีความเข้มข้นต่ำ ๆ (0.54 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมครีอะตินิน) ดังนั้นในการทดลองแต่ละครั้งจึงได้นำปัสสาวะที่มีความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูงที่เตรียมไว้สำหรับใช้เป็นตัวควบคุมคุณภาพ (quality control) มาวัดปริมาณควบคู่ไปด้วยทุกครั้ง ซึ่งถ้าการทดลองครั้งใดวัดปริมาณสเปอร์มิดีนในปัสสาวะทั้ง 3 ตัวอย่างแล้วได้ค่าแตกต่างไปจากค่าเฉลี่ย ±2SD จะถือว่าการทดลองนั้นใช้ไม่ได้ต้องตรวจสอบความบกพร่องของการวัดปริมาณสเปอร์มิดีนและการทำการทดลองซ้ำใหม่ ซึ่งความบกพร่องที่พบค่อนข้างบ่อยได้แก่ การเตรียมสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลต่อลิตร pH 8.0 ซึ่งจะต้องเตรียมให้ได้ความเข้มข้นและได้ pH ที่ถูกต้องจริง ๆ และจะต้องเตรียมและใช้ภายใน 1 สัปดาห์ และปริมาณของสเปอร์มิดีนติดฉลากที่ใช้ ซึ่งจะต้องควบคุมให้อยู่ในช่วง 20,000-30,000 dpm เป็นต้น

สำหรับความถูกต้องของวิธีวัดเรดิโออิมมูโนแอสเสย์ จากการศึกษารีคอบเวอรี (recovery study) ได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เป็น 0.998 แสดงว่าปริมาณสเปอร์มิดีนในปัสสาวะที่วัดได้โดยวิธีนี้ใกล้เคียงกับที่มีอยู่จริง ตัวอย่างปัสสาวะที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้มีความเข้มข้นของสเปอร์มิดีนแตกต่างกันมาก ดังนั้นในการวัดปริมาณสเปอร์มิดีนจำเป็นต้องทำให้เจือจางมากน้อยแตกต่างกัน และถ้าในตัวอย่างปัสสาวะมีสารประกอบบางอย่างที่มีผลต่อการจับกันระหว่างสเปอร์มิดีนกับแอนติสเปอร์มิดีน การเจือจางย่อมมีผลต่อการวัดปริมาณสเปอร์มิดีน อย่างไรก็ตามปัญหานี้สามารถทดสอบได้โดยการศึกษาพาราเรลลิซึม (parallelism study) ระหว่างตัวอย่างปัสสาวะที่มีความเจือจางต่าง ๆ กันเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานจากผลการทดลองได้พบว่าการเจือจางปัสสาวะระหว่าง 10 ถึง 80 เท่า ไม่มีผลต่อการวัดปริมาณสเปอร์มิดีน

วิธีเรดิโออิมมูโนแอสเสย์ที่พัฒนาได้นี้นับได้ว่าเป็นวิธีที่สามารถใช้วัดปริมาณสเปอร์มิดีนในปัสสาวะได้ดีพอสมควรทั้งในด้านความไวและความถูกต้องของวิธี ถึงแม้ว่าจะไม่มีความจำเพาะสูงเท่าวิธีอื่น ๆ บางวิธีก็ตาม ส่วนในด้านความแม่นยำนั้น แม้จะไม่ค่อยสูงนักแต่ในการทดลองได้มีการควบคุมคุณภาพทุกการทดลอง

จากรายงานของ Russell และคณะ (1974, 1976) พบว่า การเพิ่มปริมาณโพลีเอมีนในซีรัมหรือภายนอกเซลล์นั้น มาจากโพลีเอมีนที่สะสมอยู่ภายในเซลล์มะเร็ง เซลล์มะเร็งมีปัจจัยที่ทำให้เซลล์แตกตลอดเวลา (spontaneous cell loss factor) ดังนั้นหลังจากเซลล์แตก (cell lysis) โพลีเอมีนซึ่งมีปริมาณสูงภายในเซลล์จึงออกมาในพลาสมาและปัสสาวะตามลำดับ

ในการวิจัยครั้งนี้ได้วัดปริมาณสเปอร์มิดีนด้วยวิธีเรดิโออิมมูโนแอสเสย์ในปัสสาวะของคนปกติทั้งชายและหญิงที่มีอายุระหว่าง 18-38 ปี จำนวน 46 ราย ได้ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.91±0.28 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมครีอะตินิน ซึ่งต่ำกว่าที่ Russell (1977) และ Durie และคณะ (1977) ได้รายงานไว้เล็กน้อย ซึ่งเขาใช้วิธีอะมิโนแอซิดแอนาไลเซอร์วัดปริมาณสเปอร์มิดีนในปัสสาวะคนปกติทั้งชายและหญิงอายุระหว่าง 18-60 ปี จำนวน 16 ราย ได้ค่าเฉลี่ยเป็น 1.2 ± 0.18 มิลลิกรัมต่อกรัมครีอะตินิน และต่ำกว่าของ Townsend และคณะ (1976) เล็กน้อยซึ่งวัดปริมาณสเปอร์มิดีนโดยวิธีอะมิโนแอซิดแอนาไลเซอร์เช่นเดียวกันในคนปกติจำนวน 15 รายได้ค่าเฉลี่ยเป็น 1.7 ± 0.10 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมครีอะตินิน แต่สูงกว่าของ Makita และคณะ (1978) เล็กน้อยซึ่งวัดโดยวิธีแกสโครมาโตกราฟฟีในคนปกติ 7 รายได้ค่าเฉลี่ย 0.81 ± 0.28 มิลลิกรัมต่อกรัมครีอะตินิน ความแตกต่างนี้อาจเนื่องจากวิธีที่ใช้วัดปริมาณสเปอร์มิดีนแตกต่างกัน (Fujita , 1980) อย่างไรก็ตามปริมาณสเปอร์มิดีนที่วัดโดยวิธีเรดิโออิมมูโนแอสเสย์นี้นับว่าได้ค่าใกล้กับที่วัดได้โดยวิธีอื่น เช่น อะมิโนแอซิดแอนาไลเซอร์หรือแกสโครมาโตกราฟฟีซึ่งเป็นวิธีที่ค่อนข้างมีความจำเพาะสูงและต้องผ่านขั้นตอนการไฮโดรไลส์สเปอร์มิดีนให้อยู่ในรูปอิสระก่อน แสดงว่าการวัดปริมาณสเปอร์มิดีนในปัสสาวะโดยวิธีเรดิโออิมมูโนแอสเสย์ซึ่งวัดในปัสสาวะโดยตรงโดยไม่ต้องไฮโดรไลส์สามารถวัดสเปอร์มิดีนทั้งในรูปอิสระและในรูปอนุพันธ์ได้ โพลีเอมีนที่พบในปัสสาวะของคนส่วนใหญ่อยู่ในรูปคอนจูเกต (Abdel - Monem, 1978) ประมาณร้อยละ 80 ของสเปอร์มิดีนที่พบในปัสสาวะในคนปกติอยู่ในลักษณะอนุพันธ์ของโมโนอะเซททิล (mono-acetyl derivative) คือ เอ็น^{1}-อะเซททิลสเปอร์มิดีน (N^{1}- acetylspermidine)

และ เอ็น^{8}- อะเซททิลสเปอร์มิดีน (N^{8}-acetylspermidine) (Seiler และ Knödgen, 1979) มีเพียงส่วนน้อยที่ถูกขับออกมาในรูปอิสระ (nonconjugated form) (Seilerและคณะ, 1981) ซึ่งถ้าเป็นเช่นนั้นจริงแสดงว่าแอนติสเปอร์มิดีนที่ใช้อยู่นี้สามารถจับกับอนุพันธ์ของสเปอร์มิดีนได้ด้วย ซึ่งข้อนี้สามารถพิสูจน์ได้โดยการทดสอบปฏิกิริยาข้ามชนิดกับอนุพันธ์ทั้ง 2 ชนิดนั้น แต่น่าเสียดายที่ในการวิจัยครั้งนี้ไม่ได้ทดสอบปฏิกิริยาข้ามชนิดกับอนุพันธ์ดังกล่าวของสเปอร์มิดีน

จากการศึกษาในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือด 7 ชนิด จำนวน 37 ราย ปรากฏว่าประมาณร้อยละ 80 ของผู้ป่วยทั้งหมดมีความเข้มข้นของสเปอร์มิดีนในปัสสาวะสูงกว่าระดับปกติ (normal range) ซึ่งบางรายสูงกว่าปกติถึง 12 เท่า ผลการวิจัยนี้ใกล้เคียงกับที่ Fujita และคณะ (1980) ได้เคยรายงานไว้ว่าประมาณร้อยละ 77 ของผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดมีสเปอร์มิดีนในปัสสาวะสูงกว่าปกติ ในการวิจัยครั้งนี้พบว่าค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของสเปอร์มิดีนในปัสสาวะของผู้ป่วยโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลือง 13 ราย มีค่าเท่ากับ 3.50 ± 2.83 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมครีอะตินินและของผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาว 13 รายเท่ากับ 4.44 ± 5.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมครีอะตินิน แต่ Durie และคณะ (1977) และ Russell (1977) วัดปริมาณสเปอร์มิดีนในปัสสาวะผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดด้วยวิธีอะมิโนแอซิดแอนาไลเซอร์ จำนวน 68 และ 54 ราย ได้ค่าเท่ากับ 3.7 ±0.79 และ 3.7 ± 0.70 มิลลิกรัมต่อกรัมครีอะตินิน ตามลำดับ แต่อัญชลี มไหศิริโยดม (2526) ได้เคยวัดปริมาณของสเปอร์มิดีนในปัสสาวะของผู้ป่วยโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลือง ซึ่งเป็นคนไทย 8 ราย พบว่ามีค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของสเปอร์มิดีนในปัสสาวะเท่ากับ 13.1 ± 6.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมครีอะตินิน และประมาณร้อยละ 87 ของผู้ป่วยโรคนี้มีสเปอร์มิดีนในปัสสาวะสูงกว่าปกติ ในการวิจัยครั้งนี้ ถึงแม้ว่ามากกว่าร้อยละ 90 ของผู้ป่วยมะเร็งต่อมน้ำเหลืองและประมาณร้อยละ 69 ของผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลันมีความเข้มข้นของสเปอร์มิดีนในปัสสาวะสูงกว่าระดับปกติ แต่ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของสเปอร์มิดีนในปัสสาวะของผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาว (4.44 ± 5.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมครีอะตินิน) สูงกว่าผู้ป่วยมะเร็งต่อมน้ำเหลือง (3.50 ± 2.83 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมครีอะตินิน) ทั้งนี้เนื่องจากผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลันบางรายมีสเปอร์มิดีนในปัสสาวะสูงมาก สูงกว่าปกติถึง 12 เท่า เป็นที่น่าสังเกตว่าช่วงความเข้มข้นของสเปอร์มิดีนในปัสสาวะของผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดค่อนข้างกว้างมากโดยเฉพาะของผู้ป่วยมะเร็งต่อมน้ำเหลืองและมะเร็งเม็ดเลือดขาวทั้งนี้อาจเป็นเพราะผู้ป่วยแต่ละรายมีระยะของโรคแตกต่างกันมาก จากการศึกษานี้ที่พบว่าผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดมี

ปริมาณสเปอร์มิดีนในปัสสาวะสูงกว่าระดับปกติประมาณร้อยละ 80 ทำให้เห็นแนวทางว่าการวัดปริมาณสเปอร์มิดีนในปัสสาวะน่าจะใช้ช่วยในการวินิจฉัยโรคมะเร็งเม็ดเลือดได้โดยเฉพาะมะเร็งต่อมน้ำเหลือง

นอกจากนี้ยังเคยมีรายงานว่าผู้ป่วยมะเร็งชนิดอื่นบางชนิดที่ไม่ใช่มะเร็งเม็ดเลือด เช่น มะเร็งเต้านม มะเร็งหลังโพรงจมูก มะเร็งตับ และมะเร็งปอด เป็นต้น มีความเข้มข้นของสเปอร์มิดีนในปัสสาวะสูงกว่าคนปกติมาก ซึ่งประมาณร้อยละ 89-100 ของผู้ป่วยโรคมะเร็งเหล่านี้มีปริมาณของสเปอร์มิดีนสูงกว่าคนปกติ (อัญชลี มไหศิริโยดม , 2526)

อย่างไรก็ตามนอกจากจะพบโพลีเอมีนมีความเข้มข้นสูงในปัสสาวะของผู้ป่วยโรคมะเร็งชนิดต่าง ๆ แล้ว ยังมีผู้เคยพบว่าในผู้ป่วยตับอักเสบ (active hepatitis) ผู้ป่วยโรคโลหิตจาง (pernicious anemia) ผู้ป่วยอะโครเม็กกะลี (acromegaly) ผู้ป่วยไวรัลคาร์ไดติส (viral carditis) และสตรีที่รับประทานยาคุมกำเนิด มีปริมาณโพลีเอมีนในปัสสาวะสูงกว่าปกติด้วย (Lipton และคณะ , 1975) ดังนั้นในการใช้ประโยชน์ของโพลีเอมีนหรือสเปอร์มิดีนในการช่วยในการวินิจฉัยโรคมะเร็งจึงจำเป็นต้องพิจารณาถึงปัจจัยอื่น ๆ ประกอบด้วย

จากการวิจัยในอดีตของ Russell (1975) ได้แสดงให้เห็นว่าประมาณสเปอร์มิดีนในเลือดหรือในปัสสาวะอาจใช้เป็นเครื่องบ่งชี้การตายของเซลล์มะเร็งและการเปลี่ยนแปลงปริมาณของสเปอร์มิดีนในระหว่างการรักษาอาจใช้เป็นเครื่องบ่งชี้ประสิทธิภาพของการรักษาได้ (Russell และคณะ, 1975, Durie และคณะ , 1977) จากการวัดปริมาณของสเปอร์มิดีนในปัสสาวะของผู้ป่วยมะเร็งต่อมน้ำเหลืองที่ได้รับการรักษาโดยเคมีบำบัดและรังสีรักษา 2 ราย และในปัสสาวะของผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวที่ได้รับการรักษาโดยเคมีบำบัด 6 ราย ผู้ป่วยมะเร็งต่อมน้ำเหลืองที่ตอบสนองต่อการรักษาขั้น partial response หลังจากเริ่มการรักษา 2 วัน มีสเปอร์มิดีนในปัสสาวะสูงขึ้นประมาณ 2 เท่าของก่อนได้รับการรักษา และลดลงใกล้เคียงกับระดับปกติหลังเริ่มการรักษา 10 วัน เป็นต้นไป ส่วนรายที่ตอบสนองต่อการรักษาขั้น complete response หลังจากเริ่มการรักษา 2 วัน มีสเปอร์มิดีนในปัสสาวะสูงขึ้นประมาณ 3 เท่าของก่อนได้รับการรักษา ซึ่งคล้ายกับของ Durie และคณะ (1977) ที่พบว่าหลังจากเริ่มการรักษาภายใน 3 วันปริมาณสเปอร์มิดีนในปัสสาวะของผู้ป่วยมะเร็งต่อมน้ำเหลือง (6 ราย) ที่ตอบสนองต่อเคมีบำบัดขั้น complete response สูงขึ้น 2.75 - 4.65 เท่าของก่อนได้รับการรักษา ส่วนผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษา (1 ราย) มีปริมาณสเปอร์มิดีนในปัสสาวะสูงขึ้น 1.38 เท่าของก่อนได้รับการรักษา เนื่องจากในการศึกษาครั้งนี้ไม่ได้ศึกษาในผู้ป่วยมะเร็งต่อมน้ำเหลืองที่ไม่ตอบสนองต่อ

การรักษา ดังนั้นจึงไม่สามารถทราบได้ว่าการเปลี่ยนแปลงปริมาณของสเปอร์มิดีนในปัสสาวะของผู้ป่วยมะเร็งต่อมน้ำเหลืองที่ตอบสนองต่อการรักษาและไม่ตอบสนองต่อการรักษาแตกต่างกันหรือไม่ อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณสเปอร์มิดีนในปัสสาวะของผู้ป่วยมะเร็งต่อมน้ำเหลืองที่ตอบสนองต่อการรักษาขั้น complete response มีรูปแบบการเปลี่ยนแปลงปริมาณของสเปอร์มิดีนคล้ายกับของ Durie และคณะ (1977) ในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาว 4 ราย ที่ตอบสนองต่อการรักษาขั้น partial response มีสเปอร์มิดีนในปัสสาวะสูงขึ้น 2-3 เท่าของก่อนได้รับการรักษาภายใน 5 วัน หลังจากเริ่มการรักษา ผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษาขั้น complete response หลังจากเริ่มการรักษา 5 วัน มีสเปอร์มิดีนในปัสสาวะสูงขึ้นประมาณ 5 เท่าของก่อนได้รับการรักษา ส่วนที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาหลังจากเริ่มการรักษา 4 วัน มีสเปอร์มิดีนในปัสสาวะเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยคือ 1.12 เท่าของก่อนได้รับการรักษา เป็นที่น่าเสียดายที่เก็บปัสสาวะจากผู้ป่วยรายนี้หลังจากเริ่มการรักษาโดยเคมีบำบัดเพียงครั้งเดียวจึงทำให้ไม่เห็นรูปแบบของการเปลี่ยนแปลงปริมาณของสเปอร์มิดีนในปัสสาวะหลังได้รับการรักษาอย่างชัดเจน Durie และคณะ (1977) พบว่าหลังเริ่มการรักษาภายใน 3 วัน ผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวที่ตอบสนองต่อเคมีบำบัด ขั้น partial response (7ราย) และ complete response (6 ราย) มีปริมาณสเปอร์มิดีนในปัสสาวะสูงขึ้น 4.30 ± 2.54 และ 3.97 ± 1.49 เท่าของก่อนได้รับการรักษาตามลำดับ ส่วนผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษา (1 ราย) มีปริมาณสเปอร์มิดีนในปัสสาวะสูงขึ้น 1.54 เท่าของก่อนได้รับการรักษา แต่ Russell และคณะ (1975) ได้ศึกษาในผู้ป่วยโรคมะเร็งชนิดต่าง ๆ พบว่า หลังการรักษาภายใน 2 วัน ผู้ป่วยมะเร็งที่ตอบสนองต่อการรักษาขั้น partial response (18 ราย) และ complete response (11 ราย) มีปริมาณสเปอร์มิดีนในปัสสาวะสูงขึ้น 3.3 ± 1.7 และ 3.5 ± 1.2 เท่าของก่อนได้รับการรักษาตามลำดับ และผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษา (13 ราย) มีปริมาณสเปอร์มิดีนในปัสสาวะสูงขึ้น 1.5 ± 0.6 เท่าของก่อนได้รับการรักษา เป็นที่น่าสังเกตว่าในการศึกษาครั้งนี้ผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเดียวกันมีระดับสเปอร์มิดีนในปัสสาวะก่อนการรักษาต่างกัน ทั้งนี้อาจเนื่องจากสาเหตุดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น นอกจากนั้นผู้ป่วยแต่ละรายยังได้รับเคมีบำบัดแตกต่างกันด้วย จึงทำให้ปริมาณของการเปลี่ยนแปลงสเปอร์มิดีนต่างกัน อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณของสเปอร์มิดีนน่าจะมาจากผลของการที่เซลล์มะเร็งถูกทำลาย เพราะจากการศึกษาในคนปกติในช่วงเวลาประมาณ 40 วัน ได้พบว่าปริมาณของสเปอร์มิดีนในปัสสาวะของคนปกติในช่วงระยะเวลาของการศึกษา

นั้นมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย แสดงว่าการเปลี่ยนแปลงปริมาณสเปอร์มิดีนในปัสสาวะผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดในระหว่างได้รับการรักษาอาจเป็นผลจากการรักษานั่นเอง แต่ในข้อนี้ยังไม่สามารถสรุปได้แน่ชัด เพราะในผู้ป่วยโรคมะเร็งอาจมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณของสเปอร์มิดีนในปัสสาวะเช่นนี้อยู่แล้วตั้งแต่ก่อนได้รับการรักษา การที่จะได้ข้อสรุปที่ดีควรติดตามวัดปริมาณของสเปอร์มิดีนในปัสสาวะของผู้ป่วยก่อนได้รับการรักษาเป็นระยะ ๆ ในช่วงเวลาหนึ่ง แล้วเปรียบเทียบรูปแบบของการเปลี่ยนแปลงระหว่างก่อนและหลังได้รับการรักษา สิ่งที่เห็นได้ชัดจากการศึกษาครั้งนี้ก็คือในผู้ป่วยที่มีสเปอร์มิดีนก่อนการรักษาสูงมาก ๆ ซึ่งย่อมหมายถึงมีสเปอร์มิดีนสะสมภายในเซลล์มาก เมื่อได้รับการรักษาและเซลล์ถูกทำลายพบว่ามีสเปอร์มิดีนในปัสสาวะเพิ่มสูงขึ้นหลายเท่า นับว่าเป็นหลักฐานอันหนึ่งที่ชี้ให้เห็นว่าสเปอร์มิดีนที่เพิ่มขึ้นในปัสสาวะน่าจะมาจากเซลล์มะเร็งที่ถูกทำลาย

จากการติดตามวัดปริมาณของสเปอร์มิดีนในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดในระหว่างการรักษายังไม่สามารถสรุปได้แน่นอนว่าการเปลี่ยนแปลงสเปอร์มิดีนในปัสสาวะของผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดมีความสัมพันธ์กับประสิทธิภาพของการรักษาหรือไม่ เนื่องจากจำนวนผู้ป่วยที่ใช้ศึกษาในแต่ละกรณีมีจำนวนน้อยเกินไป อย่างไรก็ตามพอที่จะสรุปได้ว่าในผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษาจะมีปริมาณสเปอร์มิดีนในปัสสาวะสูงขึ้นกว่าก่อนการรักษาหลายเท่า (2-5 เท่า) ภายใน 5 วัน หลังเริ่มการรักษาและปริมาณสเปอร์มิดีนที่เพิ่มขึ้นน่าจะมาจากเซลล์มะเร็งที่ถูกทำลาย (Durie และคณะ, 1977)

การวิจัยครั้งนี้พอสรุปได้ว่าการวัดปริมาณสเปอร์มิดีนในปัสสาวะอาจใช้ช่วยในการวินิจฉัยผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดได้ เนื่องจากปริมาณสเปอร์มิดีนในปัสสาวะของผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดส่วนใหญ่ (ร้อยละ 80) สูงกว่าระดับปกติ แต่สำหรับความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงปริมาณสเปอร์มิดีนในปัสสาวะของผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดกับประสิทธิภาพของการรักษายังไม่สามารถสรุปได้แน่ชัดในขณะนี้ ถึงแม้ว่าผู้ป่วยที่ตอบสนองและไม่ตอบสนองต่อการรักษาที่ได้ศึกษานั้นจะมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณสเปอร์มิดีนในปัสสาวะแตกต่างกันก็ตาม เนื่องจากได้ศึกษาในผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาเพียงรายเดียว นอกจากนั้นวิธีเรดิโออิมมูโนแอสเสย์ นับว่าเป็นวิธีที่ง่าย สะดวก และรวดเร็ว มีความแม่นยำ และความถูกต้องพอสมควร และเป็นวิธีที่สามารถใช้วัดปริมาณสเปอร์มิดีนครั้งละหลาย ๆ ตัวอย่างได้จึงเหมาะสำหรับใช้วัดปริมาณสเปอร์มิดีนสำหรับการตรวจโรคโดยทั่วไป (screening test)

ในอนาคตถ้าจะมีการวิจัยในทำนองนี้ต่อไปอีกน่าจะวัดปริมาณสเปอร์มิดีนในปัสสาวะของผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดชนิดต่าง ๆ จำนวนมากขึ้น เพื่อจะได้ทราบว่าผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดชนิดใดบ้างที่ผู้ป่วยส่วนใหญ่มีปริมาณสเปอร์มิดีนในปัสสาวะสูงกว่าปกติ เพื่อที่จะได้เลือกผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดชนิดนั้นไปศึกษาเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงปริมาณสเปอร์มิดีนในปัสสาวะกับประสิทธิภาพของการรักษา และในการติดตามเก็บตัวอย่างปัสสาวะในผู้ป่วยในระหว่างได้รับการรักษาควรเก็บทุกวัน เพื่อจะได้เห็นการเปลี่ยนแปลงได้ชัดเจนยิ่งขึ้น และน่าจะเก็บตัวอย่างปัสสาวะก่อนได้รับการรักษาทุกวันด้วยถ้าเป็นไปได้ เพื่อจะได้เปรียบเทียบกับหลังได้รับการรักษา ในการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษาต่าง ๆ กันควรเลือกศึกษาในผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาเหมือน ๆ กัน นอกจากนั้นน่าจะใช้วิธีเรดิโออิมมูโนแอสเสย์สำหรับวัดปริมาณสเปอร์มิดีนเนื่องจากมีข้อดีหลายประการดังกล่าวมาแล้วข้างต้น ความยากอยู่ที่การสร้างแอนติบอดีเท่านั้น แต่จากผลการวิจัยครั้งนี้สามารถนำไปใช้เป็นแนวทางได้พอสมควร