



#### 4.1 ผลการเตรียมคอนจูเกตระหว่างสเปอรฺมีตินกับโปรตีนตัวนำ

เนื่องจากสเปอรฺมีตินมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำคือประมาณ 300 ดาลตัน และลักษณะของโมเลกุลเป็นเส้นยาว จึงไม่มีคุณสมบัติในการเป็นอิมมูโนเจน ในการทดลองจึงจำเป็นต้องทำให้สเปอรฺมีตินมีคุณสมบัติเป็นอิมมูโนเจนโดยให้สเปอรฺมีตินเกาะกับโปรตีนตัวนำโดยมีคาร์บอไดอิมิดเป็นตัวช่วยให้เกิดการเกาะกัน โปรตีนตัวนำที่ใช้มี 2 ชนิดคือ โบวายซีรัมอัลบูมิน (bovine serum albumin) กับไทโรกลอบบูลิน (thyroglobulin)

##### 4.1.1 ผลการเตรียมคอนจูเกตระหว่างสเปอรฺมีตินกับอัลบูมิน

จากผลการทดลองเตรียมคอนจูเกตระหว่างสเปอรฺมีตินกับอัลบูมิน ตามข้อ 3.3 หน้า 20 โดยเปลี่ยนอัตราส่วนจำนวนโมเลกุลของสารตั้งต้น (สเปอรฺมีติน : อัลบูมิน : คาร์บอไดอิมิด) 8 อัตราส่วน ดังแสดงในตารางที่ 4 หน้า 37 สเปอรฺมีตินคอนจูเกตที่ได้จะมีจำนวนโมเลกุลของสเปอรฺมีตินเกาะกับอัลบูมินได้มากน้อยแตกต่างกันขึ้นกับอัตราส่วนจำนวนโมเลกุลของสารตั้งต้นที่ใช้ เมื่อใช้จำนวนโมเลกุลของคาร์บอไดอิมิดคงที่ คือ 100 และเพิ่มจำนวนโมเลกุลของสเปอรฺมีตินเป็น 500, 1,000, 1,500 และ 2,000 ตามลำดับ พบว่าคอนจูเกตที่เตรียมได้จะมีจำนวนโมเลกุลของสเปอรฺมีตินเกาะกับอัลบูมินเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ แต่เมื่อเพิ่มจำนวนโมเลกุลสเปอรฺมีตินจนถึง 2,000 พบว่าคอนจูเกตจะมีจำนวนโมเลกุลของสเปอรฺมีตินเกาะกับอัลบูมินลดลง ในทำนองเดียวกันถ้าใช้จำนวนโมเลกุลของคาร์บอไดอิมิดคงที่ประมาณ 300 (คือ 300 หรือ 350) และเพิ่มจำนวนโมเลกุลของสเปอรฺมีตินจาก 120 เป็น 1,000 พบว่าจะได้คอนจูเกตที่มีจำนวนโมเลกุลของสเปอรฺมีตินเกาะกับอัลบูมินเพิ่มขึ้นตามจำนวนโมเลกุลของสเปอรฺมีตินที่ใช้เช่นกัน แต่เมื่อใช้จำนวนโมเลกุลของสเปอรฺมีตินคงที่คือ 500 และเพิ่มจำนวนโมเลกุลของคาร์บอไดอิมิดเป็น 100 และ 500 พบว่าคอนจูเกตจะมีจำนวนโมเลกุลของสเปอรฺมีตินเกาะกับอัลบูมินได้ใกล้เคียงกัน จะเห็นว่าการเพิ่มจำนวนโมเลกุลของคาร์บอไดอิมิดจะมีผลทำให้สเปอรฺมีตินเกาะกับอัลบูมินน้อยกว่าการเพิ่มจำนวนโมเลกุลของสเปอรฺมีติน ในการทดลองนี้สามารถเตรียมคอนจูเกตที่มีจำนวนโมเลกุลของสเปอรฺมีตินเกาะกับอัลบูมิน (1 โมเลกุล) ได้มากที่สุดคือ 30 จึงใช้คอนจูเกตที่มีจำนวนโมเลกุล

ของสเปอริมิตินเกาะกับอัลบูมิน (1 โมเลกุล) ตั้งแต่ 25 ถึง 30 ไปฉีดในสัตว์ทดลองเพื่อให้ สัตว์ทดลองสร้างแอนติสเปอริมิตินต่อไป

#### 4.1.2 ผลการเตรียมคอนจูเกตระหว่างสเปอริมิตินกับไทโรกลอบบูลิน

จากผลการทดลองเตรียมคอนจูเกตระหว่างสเปอริมิตินกับไทโรกลอบบูลิน ตามข้อ 3.3 หน้า 20 โดยเปลี่ยนอัตราส่วนจำนวนโมเลกุลของสารตั้งต้น (สเปอริมิติน : ไทโรกลอบบูลิน : คาร์บอไดอิมิด) 5 อัตราส่วน ดังแสดงในตารางที่ 5 หน้า 38 สเปอริมิตินคอนจูเกตที่ได้จะมีจำนวนโมเลกุลของสเปอริมิตินเกาะกับไทโรกลอบบูลินได้มากน้อยแตกต่างกันขึ้นอยู่กับอัตราส่วนจำนวนโมเลกุลของสารตั้งต้นที่ใช้ เมื่อใช้จำนวนโมเลกุลของคาร์บอไดอิมิดคงที่ คือ 1,700 และเพิ่มจำนวนโมเลกุลของสเปอริมิตินเป็น 1,000, 8,000 และ 16,000 ตามลำดับ พบว่า คอนจูเกตจะมีจำนวนโมเลกุลของสเปอริมิตินเกาะกับไทโรกลอบบูลินเพิ่มขึ้นตามจำนวนโมเลกุลของสเปอริมิตินที่ใช้ และถ้าใช้จำนวนโมเลกุลของสเปอริมิตินพอ ๆ กัน แต่เพิ่มจำนวนโมเลกุลของคาร์บอไดอิมิดจะทำให้ได้คอนจูเกตที่มีจำนวนโมเลกุลของสเปอริมิตินเกาะกับไทโรกลอบบูลินเพิ่มขึ้นด้วย ในการทดลองนี้สามารถเตรียมคอนจูเกตที่มีจำนวนโมเลกุลของสเปอริมิตินเกาะกับไทโรกลอบบูลิน (1 โมเลกุล) ได้มากที่สุด คือ 601 จึงใช้คอนจูเกตที่มีจำนวนโมเลกุลของสเปอริมิตินเกาะกับไทโรกลอบบูลิน (1 โมเลกุล) ตั้งแต่ 203 ถึง 601 ไปฉีดในสัตว์ทดลอง เพื่อให้สัตว์ทดลองสร้างแอนติสเปอริมิตินต่อไป

ตารางที่ 4 ผลการเตรียมคอนจูเกตระหว่างสเปอรฺมีตินกับอัลบูมิน

Reagent molar ratio (Spd:BSA:CDI)	Incorporation molar ratio (Spd:BSA)	Code of conjugate
500:1:100	14:1	A <sub>1</sub>
1,000:1:100	25:1	A <sub>2</sub>
1,500:1:100	26:1	A <sub>3</sub>
2,000:1:100	18:1	A <sub>4</sub>
120:1:300	4:1	A <sub>5</sub>
1,000:1:350	20:1	A <sub>6</sub>
500:1:500	15:1	A <sub>7</sub>
1,000:1:1,700	28-30:1	A <sub>8</sub>

ตารางที่ 5 ผลการเตรียมคอนจูเกตระหว่างสเปอริมิดีนกับไทโรกลอบบูลิน

Reagent molar ratio (Spd:Tg:CDI)	Incorporation molar ratio (Spd:Tg)	Code of conjugate
1,000:1:1,700	59:1	T <sub>1</sub>
8,000:1:1,700	361:1	T <sub>2</sub>
16,000:1:1,700	601:1	T <sub>3</sub>
10,000:1:1,000	203:1	T <sub>4</sub>
12,000:1:4,000	506:1	T <sub>5</sub>

#### 4.2 ปริมาณแอนติสเปอริมิตินที่สัตว์ทดลองสร้างขึ้น

เมื่อนำซีรัมของสัตว์ทดลองที่เก็บไว้ในแต่ละครั้งมาหาปริมาณแอนติสเปอริมิติน ตามวิธี  
ข้อ 3.5 หน้า 26 ได้ผลดังนี้

##### 4.2.1 ปริมาณแอนติสเปอริมิตินที่กระต่ายสร้างขึ้น

ได้ฉีดสเปอริมิตินคอนจูเกตให้กับกระต่าย 4 กลุ่ม

กระต่ายกลุ่มที่ 1 ( $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  และ  $R_4$ ) ฉีดด้วยสเปอริมิตินคอนจูเกตที่มีสเปอริมิตินเกาะกับอัลบูมินด้วยอัตราส่วน 25:1 ถึง 28:1 ที่ผสมกับคอมพลีเมนท์แอดจูแวนท์โดยฉีดเข้าทุก 4 สัปดาห์ 8 ครั้งแล้วทิ้งไว้อีก 8 สัปดาห์ จึงฉีดซ้ำอีก 1 ครั้ง หลังจากนั้นอีก 7 สัปดาห์ จึงฉีดเฉพาะกระต่าย  $R_1$  และ  $R_3$  ซ้ำอีก 1 ครั้ง (รูปที่ 5 หน้า 41) พบว่า กระต่าย  $R_1$  สร้างแอนติสเปอริมิตินได้สูงสุดหลังจากฉีดซ้ำครั้งที่ 2 ประมาณ 2 สัปดาห์หรือหลังจากฉีดครั้งแรก ประมาณ 10 สัปดาห์ คือ มีไตเตอร์เท่ากับ 39 กระต่าย  $R_2$  สร้างแอนติสเปอริมิตินได้สูงขึ้นไปหลังจากฉีดซ้ำครั้งที่ 1 ประมาณ 2 สัปดาห์ โดยมีไตเตอร์เท่ากับ 25 กระต่าย  $R_3$  สร้างแอนติสเปอริมิตินได้สูงสุดหลังจากฉีดซ้ำครั้งที่ 3 ประมาณ 2 สัปดาห์หรือหลังจากฉีดครั้งแรก ประมาณ 14 สัปดาห์ มีไตเตอร์ประมาณ 62 เมื่อฉีดซ้ำต่อไปอีก พบว่ากระต่าย  $R_1$  และ  $R_3$  จะสร้างแอนติสเปอริมิตินได้ลดลงในช่วงระยะเวลาหนึ่ง (ประมาณ 2 เดือน) หลังจากนั้นจึงเพิ่มขึ้น แต่การเพิ่มครั้งหลังนี้เพิ่มได้น้อยกว่าครั้งแรก และในที่สุดไตเตอร์ของแอนติสเปอริมิตินจะค่อย ๆ ลดลงไปตลอดการทดลอง ส่วนกระต่าย  $R_2$  หลังจากฉีดซ้ำครั้งที่ 2, 3, และ 4 แล้ว พบว่าปริมาณแอนติสเปอริมิตินค่อนข้างคงที่คือเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย เมื่อฉีดซ้ำต่อไปอีกพบว่าปริมาณแอนติสเปอริมิตินจะลดลงเรื่อย ๆ จนในที่สุดหาไตเตอร์ไม่ได้ กระต่าย  $R_4$  สร้างแอนติสเปอริมิตินได้ต่ำมากจนหาไตเตอร์ไม่ได้ตลอดการทดลอง

กระต่ายกลุ่มที่ 2 ( $R_5$ ,  $R_6$  และ  $R_7$ ) ฉีดด้วยสเปอริมิตินคอนจูเกตที่มีสเปอริมิตินเกาะกับอัลบูมินด้วยอัตราส่วน 28:1 การฉีดครั้งแรกและการฉีดซ้ำครั้งที่ 1 กับครั้งที่ 2 ใช้สเปอริมิตินคอนจูเกตผสมกับคอมพลีเมนท์แอดจูแวนท์โดยฉีดเข้าทุก 2 สัปดาห์ 2 ครั้ง ส่วนการฉีดซ้ำครั้งที่ 3, 4 และ 5 (ฉีดเฉพาะ  $R_6$ ) ใช้สเปอริมิตินคอนจูเกตผสมกับอินคอมพลีเมนท์แอดจูแวนท์ฉีดซ้ำหลังจากการฉีดซ้ำครั้งที่สอง 4 สัปดาห์ และหลังจากนั้นอีก 8 สัปดาห์และ 4 สัปดาห์ตามลำดับ (รูปที่ 6 หน้า 42) พบว่ากระต่าย  $R_5$  และ  $R_6$  สร้างแอนติสเปอริมิตินได้สูงสุดหลังจากฉีดซ้ำครั้งที่ 2 ประมาณ 2 สัปดาห์ หรือหลังจากฉีดครั้งแรกประมาณ 6 สัปดาห์ คือ

มีไตเตอร์ประมาณ 33 และ 30 ตามลำดับ ส่วนกระต่าย  $R_7$  สร้างแอนติสเปอรฺมิตินได้สูงสุดหลังจากฉีดซ้ำครั้งที่ 2 และ 3 ประมาณ 2 สัปดาห์ จะเห็นว่าแอนติสเปอรฺมิตินที่กระต่ายกลุ่มนี้สร้างมีปริมาณต่ำกว่ากระต่ายกลุ่มแรกบางตัว เช่น  $R_1$  และ  $R_3$  ในกระต่ายกลุ่มนี้พบว่าหลังจากฉีดซ้ำครั้งที่ 3 เป็นต้นไป กระต่าย  $R_5$  และ  $R_6$  มีปริมาณแอนติสเปอรฺมิตินลดลงและคงที่อยู่ระดับหนึ่ง ส่วนกระต่าย  $R_7$  มีปริมาณแอนติสเปอรฺมิตินลดลง จนในที่สุดหาไตเตอร์ไม่ได้

กระต่ายกลุ่มที่ 3 ( $R_8, R_9, R_{10}$  และ  $R_{11}$ ) ฉีดด้วยสเปอรฺมิตินคอนจูเกตที่มีสเปอรฺมิตินเกาะกับไทโรกลอบบูลินด้วยอัตราส่วน 361:1 ที่ผสมกับคอมพลีทฟรอยด์แอดจูแวนท์โดยฉีดซ้ำหลังจากฉีดครั้งแรก 2 สัปดาห์ 1 ครั้ง และหลังจากนั้นทุก ๆ 4 สัปดาห์ 4 ครั้ง (ยกเว้น  $R_{11}$  ฉีดซ้ำเพียง 3 ครั้ง) (รูปที่ 7 หน้า 43) การฉีดซ้ำครั้งที่ 3 ของกระต่าย  $R_8$  และ  $R_9$  ฉีดเข้ากล้ามเนื้อ ส่วนกระต่าย  $R_{10}$  และ  $R_{11}$  ฉีดเข้าระหว่างอุ้งเท้า การฉีดซ้ำครั้งที่ 4 และ 5 ใช้อินคอมพลีทฟรอยด์แอดจูแวนท์แทนคอมพลีทฟรอยด์แอดจูแวนท์และฉีดแบบเข้าใต้ผิวหนัง ด้านหลังประมาณ 30 จุด พบว่ากระต่าย  $R_8, R_9$  และ  $R_{10}$  สร้างแอนติสเปอรฺมิตินได้สูงสุดหลังจากฉีดซ้ำครั้งที่ 2 ประมาณ 2 สัปดาห์ หรือหลังจากฉีดครั้งแรกประมาณ 8 สัปดาห์ โดยมีไตเตอร์เป็น 38, 14 และ 32 ตามลำดับ หลังจากฉีดซ้ำครั้งที่ 3 พบว่าแอนติสเปอรฺมิตินของกระต่ายทั้ง 3 ตัวลดลงจนหาไตเตอร์ไม่ได้ หลังฉีดซ้ำครั้งที่ 4 เฉพาะกระต่าย  $R_8$  ที่มีปริมาณแอนติสเปอรฺมิตินสูงขึ้นเล็กน้อย กระต่าย  $R_{11}$  สร้างแอนติสเปอรฺมิตินได้ต่ำมากจนหาไตเตอร์ไม่ได้ตลอดการทดลอง

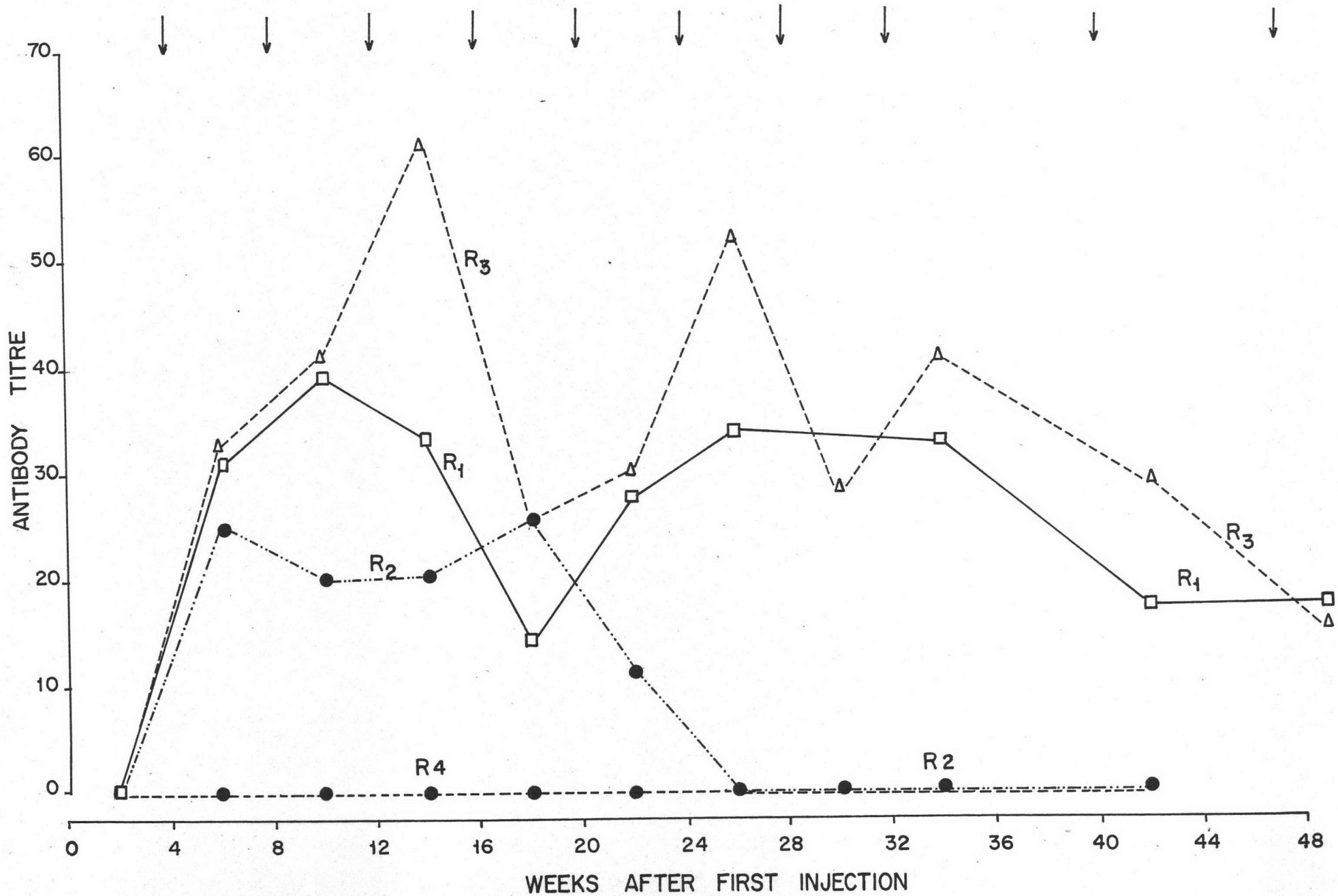
กระต่ายกลุ่มที่ 4 ( $R_{12}, R_{13}$  และ  $R_{14}$ ) ฉีดด้วยสเปอรฺมิตินคอนจูเกตที่มีสเปอรฺมิตินเกาะกับไทโรกลอบบูลินด้วยอัตราส่วน 506:1 ที่ผสมกับคอมพลีทฟรอยด์แอดจูแวนท์โดยฉีดซ้ำหลังจากฉีดครั้งแรก 2 สัปดาห์ 1 ครั้ง และหลังจากนั้นทุก ๆ 4 สัปดาห์ 2 ครั้ง (รูปที่ 8 หน้า 44) ซึ่งการฉีดซ้ำครั้งที่ 3 ของ  $R_{12}$  และ  $R_{14}$  ใช้อินคอมพลีทฟรอยด์แอดจูแวนท์แทนคอมพลีทฟรอยด์แอดจูแวนท์ พบว่ากระต่ายทั้ง 3 ตัวสร้างแอนติสเปอรฺมิตินได้สูงสุดหลังการฉีดซ้ำครั้งที่ 2 ประมาณ 2 สัปดาห์ หรือหลังการฉีดครั้งแรกประมาณ 8 สัปดาห์และมีไตเตอร์เป็น 30, 15 และ 45 ตามลำดับ หลังจากฉีดซ้ำครั้งที่ 3 ปริมาณแอนติสเปอรฺมิตินของกระต่ายทั้ง 3 ตัวจะลดลงโดยเฉพาะ  $R_{13}$  ลดลงต่ำมากจนหาไตเตอร์ไม่ได้

รูปที่ 5 ปริมาณแอนติสเปอรัมิตินที่กระต่ายกลุ่มที่ 1 สร้างขึ้นหลังจากฉีดสเปอรัมิตินคอนจูเกต

เครื่องหมาย ↓ แสดงการฉีดสเปอรัมิตินคอนจูเกตที่มีสเปอรัมิตินเกาะกับอัลบูมิน  
ด้วยอัตราส่วน 25:1 ถึง 28:1 ฉ้ำ (booster injection)

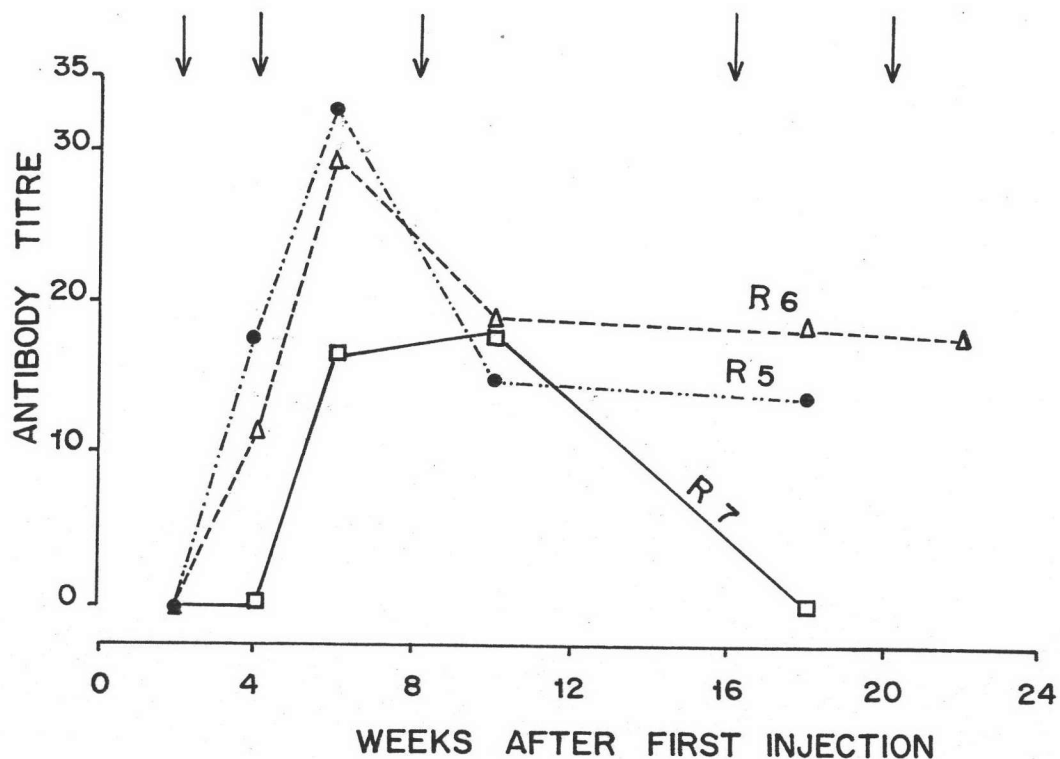
การฉีดกระต่ายแต่ละตัวในแต่ละครั้งใช้สเปอรัมิตินคอนจูเกต 1 มิลลิกรัม ละลายในสารละลายโซเดียมคลอไรด์  
(0.85 เปอร์เซ็นต์) 1 มิลลิลิตรแล้วผสมกับคอมพลีทฟรอยด์แอดจูแวนท์จนเป็นอิมัลชันในอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตรแล้ว  
ฉีดเข้าใต้ผิวหนังด้านหลังประมาณ 30 จุด แต่ละจุดห่างกันประมาณ 3 เซนติเมตร

รูปที่ 5 ปริมาณแอนติลเปอร์มิตินที่กระต่ายกลุ่มที่ 1 สร้างขึ้นหลังจากฉีด ลเปอร์มิตินคอนจูเกต.





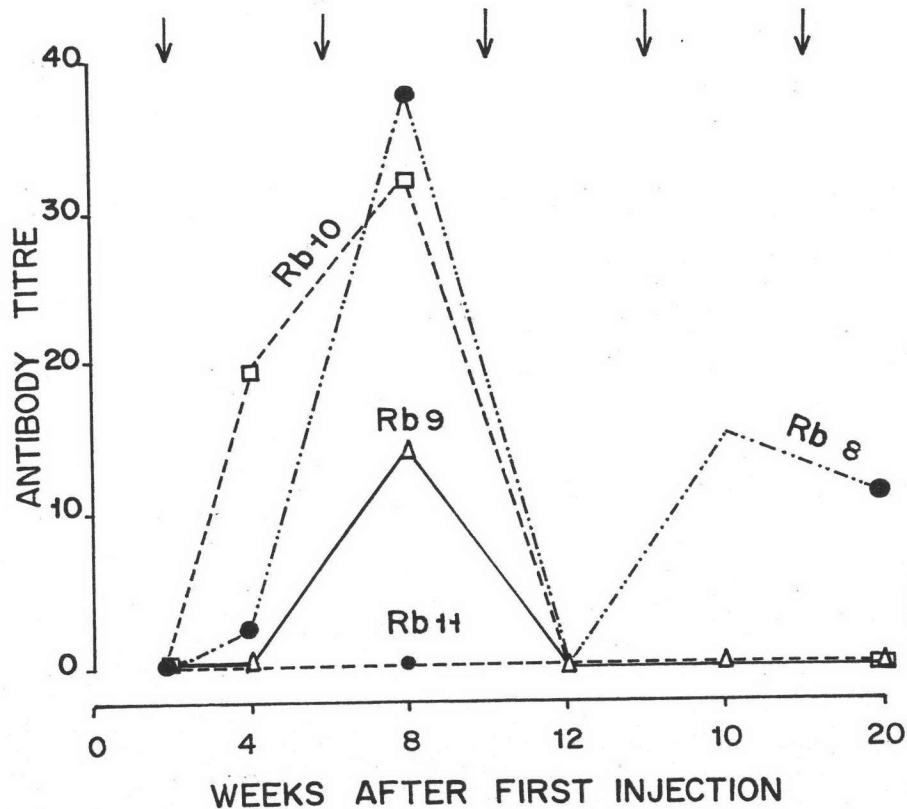
รูปที่ 6 ปริมาณแอนติสเปอรัมิตินที่กระจายกลุ่มที่ 2 สร้างขึ้นหลังจากฉีดสเปอรัมิตินคอนจูเกต



เครื่องหมาย ↓ แสดงการฉีดสเปอรัมิตินคอนจูเกตที่มีสเปอรัมิตินเกาะกับอัลบูมินด้วยอัตราส่วน 28:1 ซ้ำ (booster injection)

การฉีดกระจายแต่ละตัวในแต่ละครั้งใช้สเปอรัมิตินคอนจูเกต 1 มิลลิกรัมละลายในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (0.85 เปอร์เซ็นต์) 1 มิลลิลิตร แล้วผสมจนเป็นอิมัลชันกับคอมพลีท-ฟรอยด์แอดจูแวนท์ในอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร แล้วฉีดเข้าใต้ผิวหนังด้านหลังประมาณ 30 จุด แต่ละจุดห่างกันประมาณ 3 เซนติเมตร (การฉีดซ้ำครั้งที่ 3, 4 และ 5 ใช้อินคอม-พลีทฟรอยด์แอดจูแวนท์แทน)

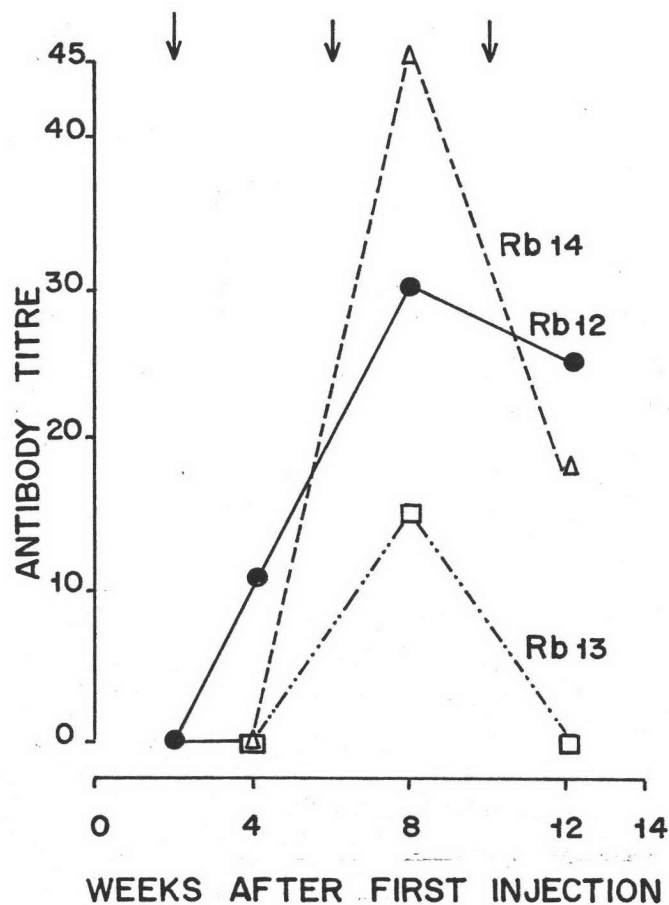
รูปที่ 7 ปริมาณแอนติสเปอร์มิตินที่กระต่ายกลุ่มที่ 3 สร้างขึ้นหลังจากฉีดสเปอร์มิตินคอนจูเกต



เครื่องหมาย † แสดงการฉีดสเปอร์มิตินคอนจูเกตที่มีสเปอร์มิตินเกาะกับไทโรโกลอบบูลินด้วยอัตราส่วน 361:1 ซ้ำ (booster injection)

การฉีดกระต่ายแต่ละตัวในแต่ละครั้งใช้สเปอร์มิตินคอนจูเกต 1 มิลลิกรัมละลายในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (0.85 เปอร์เซ็นต์) 1 มิลลิลิตร แล้วผสมจนเป็นอิมัลชันกับคอมพลีทฟรอยด์แอดจูแวนท์ในอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร แล้วฉีดเข้าใต้ผิวหนังด้านหลังประมาณ 30 จุด แต่ละจุดห่างกันประมาณ 3 เซนติเมตร การฉีดกระต่าย Rb8, Rb9 ซ้ำครั้งที่ 3 ฉีดแบบเข้ากล้ามเนื้อ (intramuscular) ส่วน Rb10, Rb11 ฉีดซ้ำครั้งที่ 3 เข้าระหว่างอุ้งเท้า (foot pad) การฉีดกระต่ายซ้ำครั้งที่ 4, 5 ใช้อินคอมพลีทฟรอยด์แอดจูแวนท์แทน และฉีดซ้ำโดยการฉีดเข้าใต้ผิวหนังด้านหลังประมาณ 30 จุด

รูปที่ 8 ปริมาณแอนติสเปอร์มิตินที่กระต่ายกลุ่มที่ 4 สร้างขึ้นหลังจากฉีดสเปอร์มิตินคอนจูเกต



เครื่องหมาย ↓ แสดงการฉีดสเปอร์มิตินคอนจูเกตที่มีสเปอร์มิตินเกาะกับไทโรกลอบบูลินด้วยอัตราส่วน 506:1 ซ้ำ (booster injection)

การฉีดกระต่ายแต่ละตัวในแต่ละครั้งใช้สเปอร์มิตินคอนจูเกต 1 มิลลิกรัมละลายในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (0.85 เปอร์เซ็นต์) 1 มิลลิลิตร แล้วผสมจนเป็นอิมัลชันกับคอมพลีทฟรอยด์ฟรอยด์แอดจูแวนท์ในอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร แล้วฉีดเข้าใต้ผิวหนังด้านหลังประมาณ 30 จุด แต่ละจุดห่างกันประมาณ 3 เซนติเมตร (การฉีดกระต่าย Rb12, Rb14 ซ้ำครั้งที่ 3 ใช้อินคอมพลีทฟรอยด์แอดจูแวนท์แทน)

#### 4.2.2 ปริมาณแอนติสเปอร์มิตินที่หนุตะเกาส์สร้างขึ้น

ชนิดสเปอร์มิตินคอนจูเกตให้กับหนุตะเกา 5 กลุ่ม

หนุตะเกากลุ่มที่ 1 มี 3 ตัว ( $G_1$ ,  $G_2$  และ  $G_3$ ) ชนิดด้วยสเปอร์มิตินคอนจูเกตที่มีสเปอร์มิตินเกาะกับอัลบูมินด้วยอัตราส่วน 26:1 ผสมกับคอมพลีทฟรอยด์แอดจูแวนท์โดยฉีดซ้ำทุก 2 สัปดาห์ 2 ครั้ง และทุกเดือนอีก 2 ครั้ง แล้วจึงเจาะเลือดหนุตะเกามาหาไตเตอร์ หลังจากฉีดซ้ำครั้งสุดท้ายประมาณ 2 สัปดาห์ พบว่าหนุตะเกาทั้ง 3 ตัว สร้างแอนติสเปอร์มิตินได้ ปริมาณต่ำมากจนหาไตเตอร์ไม่ได้

หนุตะเกากลุ่มที่ 2 มี 9 ตัว ( $G_4$ ,  $G_5$ ,  $G_6$ ,  $G_7$ ,  $G_8$ ,  $G_9$ ,  $G_{10}$ ,  $G_{11}$  และ  $G_{12}$ ) ชนิดด้วยสเปอร์มิตินคอนจูเกตที่มีสเปอร์มิตินเกาะกับอัลบูมินด้วยอัตราส่วน 25:1 ผสมกับคอมพลีทฟรอยด์แอดจูแวนท์ ฉีดซ้ำทุก 2 สัปดาห์ 4 ครั้ง แล้วจึงเจาะเลือดหนุตะเกามาหาไตเตอร์ หลังจากฉีดซ้ำครั้งที่ 4 ประมาณ 2 สัปดาห์ พบว่ามีหนุตะเกาเพียง 1 ตัวจาก 9 ตัวที่สามารถสร้างแอนติสเปอร์มิตินสูงพอที่จะหาไตเตอร์ได้ ( $G_{11}$ ) และมีไตเตอร์เท่ากับ 17 (ตารางที่ 6 หน้า 48 )

หนุตะเกากลุ่มที่ 3 มี 22 ตัว ( $G_{13}$ ,  $G_{14}$ ,  $G_{15}$ ,  $G_{16}$ ,  $G_{17}$ ,  $G_{18}$ ,  $G_{19}$ ,  $G_{20}$ ,  $G_{21}$ ,  $G_{22}$ ,  $G_{23}$ ,  $G_{24}$ ,  $G_{25}$ ,  $G_{26}$ ,  $G_{27}$ ,  $G_{28}$ ,  $G_{29}$ ,  $G_{30}$ ,  $G_{31}$ ,  $G_{32}$ ,  $G_{33}$  และ  $G_{34}$ ) ชนิดด้วยสเปอร์มิตินคอนจูเกตที่มีสเปอร์มิตินเกาะกับอัลบูมินด้วยอัตราส่วน 28-30:1 ที่ผสมกับคอมพลีทฟรอยด์แอดจูแวนท์ ฉีดซ้ำทุก 2 สัปดาห์ 2 ครั้ง แล้วจึงเจาะเลือดหนุตะเกามาหาไตเตอร์ หลังจากฉีดซ้ำครั้งที่ 2 ประมาณ 2 สัปดาห์ พบว่า หนุตะเกาที่สามารถสร้างแอนติสเปอร์มิตินสูงพอที่จะหาไตเตอร์ได้มีเพียง 8 ตัว คือ  $G_{14}$ ,  $G_{18}$ ,  $G_{20}$ ,  $G_{21}$ ,  $G_{26}$ ,  $G_{27}$ ,  $G_{32}$  และ  $G_{34}$  และมีไตเตอร์ค่อนข้างต่ำ คือ มีค่าอยู่ระหว่าง 10 ถึง 29 เท่านั้น (ตารางที่ 6 หน้า 48 )

หนุตะเกากลุ่มที่ 4 มี 23 ตัว ( $G_{35}$ ,  $G_{36}$ ,  $G_{37}$ ,  $G_{38}$ ,  $G_{39}$ ,  $G_{40}$ ,  $G_{41}$ ,  $G_{42}$ ,  $G_{43}$ ,  $G_{44}$ ,  $G_{45}$ ,  $G_{46}$ ,  $G_{47}$ ,  $G_{48}$ ,  $G_{49}$ ,  $G_{50}$ ,  $G_{51}$ ,  $G_{52}$ ,  $G_{53}$ ,  $G_{54}$ ,  $G_{55}$ ,  $G_{56}$  และ  $G_{57}$ ) ชนิดด้วยสเปอร์มิตินคอนจูเกตที่มีสเปอร์มิตินเกาะกับไทโรโกลอบบูลินด้วยอัตราส่วน 60:1 ผสมกับคอมพลีทฟรอยด์แอดจูแวนท์ ฉีดซ้ำทุก 2 สัปดาห์ 2 ครั้งแล้วจึงเจาะเลือดหนุตะเกามาหาไตเตอร์ หลังจากฉีดซ้ำครั้งที่ 2 ประมาณ 2 สัปดาห์ พบว่าหนุตะเกาที่สามารถสร้างแอนติสเปอร์มิตินสูงพอที่จะหาไตเตอร์ได้มีเพียง 8 ตัว คือ  $G_{35}$ ,  $G_{36}$ ,  $G_{37}$ ,  $G_{41}$ ,  $G_{43}$ ,  $G_{45}$ ,  $G_{49}$  และ  $G_{55}$  ซึ่งมีไตเตอร์อยู่ระหว่าง 10 ถึง 110 (ตารางที่ 6 หน้า 48 )

หนูตะเภากลุ่มที่ 5 มี 10 ตัว ( $G_{58}$ ,  $G_{59}$ ,  $G_{60}$ ,  $G_{61}$ ,  $G_{62}$ ,  $G_{63}$ ,  $G_{64}$ ,  $G_{65}$ ,  $G_{66}$  และ  $G_{67}$ ) ฉีดด้วยสเปอรฺมิตินคอนจูเกตที่มีสเปอรฺมิตินเกาะกับไทโรกลอบบูลินด้วยอัตราส่วน 203:1 ผสมกับคอมพลีทฟรอยด์แอดจูแวนท์ฉีดซ้ำทุก 2 สัปดาห์ 2 ครั้ง แล้วจึงเจาะเลือดหนูตะเภามาหาไตเตอร์หลังจากฉีดซ้ำครั้งที่ 2 ประมาณ 2 สัปดาห์ พบว่ามีหนูตะเภาเพียง 3 ตัวเท่านั้นคือ  $G_{64}$ ,  $G_{66}$  และ  $G_{67}$  ที่สามารถสร้างแอนติสเปอรฺมิตินสูงพอที่จะหาไตเตอร์ได้ ซึ่งพบว่ามีไตเตอร์เป็น 17, 11 และ 17 ตามลำดับ (ตารางที่ 6 หน้า 48 )

จะเห็นว่าหนูตะเภาที่ฉีดด้วยสเปอรฺมิตินที่คอนจูเกตกับอัลบูมิน (กลุ่มที่ 1, 2 และ 3) รวมทั้งหมด 34 ตัว สามารถสร้างแอนติสเปอรฺมิตินสูงพอที่จะหาไตเตอร์ได้มีเพียง 9 ตัวเท่านั้น และมีไตเตอร์ค่อนข้างต่ำคือ มีค่าระหว่าง 10 ถึง 29 ซึ่งไม่สามารถนำมาใช้ในการทำการทดลองต่อไปได้ ส่วนหนูตะเภาที่ฉีดด้วยสเปอรฺมิตินคอนจูเกตกับไทโรกลอบบูลิน (กลุ่มที่ 4 และ 5) รวมทั้งหมด 33 ตัว สามารถสร้างแอนติสเปอรฺมิตินสูงพอที่จะหาไตเตอร์ได้มีเพียง 11 ตัว มีค่าไตเตอร์อยู่ระหว่าง 10-110 ถึงแม้ว่าหนูตะเภา  $G_{37}$  จะมีไตเตอร์ของแอนติสเปอรฺมิตินค่อนข้างสูงคือ 110 ซึ่งสูงพอที่จะนำมาใช้ในการทำเรดิโออิมมูโนแอสเสย์ได้ แต่เนื่องจากหนูตะเภามีขนาดเล็ก จึงมีปริมาณซีรัมน้อย โดยเฉลี่ยเมื่อเจาะเลือดทั้งหมดจะได้ซีรัมประมาณตัวละไม่เกิน 10 มิลลิลิตร จึงทำให้มีซีรัมไม่เพียงพอในการทดลองต่อไป

ผู้ทดลองจึงได้เลือกแอนติสเปอรฺมิตินที่ได้จากกระต่าย  $R_1$  และ  $R_3$  ซึ่งมีไตเตอร์ของแอนติสเปอรฺมิตินอยู่ระหว่าง 28 ถึง 62 สำหรับใช้ในการทดลองต่อไป กระต่าย 2 ตัวนี้ให้ไตเตอร์ของแอนติสเปอรฺมิตินสูงพอควรและซีรัมที่ได้มีปริมาณ มากเพียงพอที่จะใช้ในการทดลองต่อไป เนื่องจากกระต่ายแต่ละตัวถูกเจาะเลือดทุกครั้งหลังจากฉีดสเปอรฺมิตินคอนจูเกตประมาณ 2 สัปดาห์ จึงรวมซีรัมที่ได้จากกระต่าย  $R_1$  หลังจากฉีดสเปอรฺมิตินคอนจูเกตซ้ำครั้งที่ 2 ถึง 6 และซีรัมที่ได้จากกระต่าย  $R_3$  หลังจากฉีดสเปอรฺมิตินคอนจูเกตซ้ำครั้งที่ 2, 3, 5, 6 และ 7 นำซีรัมทั้งหมดมาผสมรวมกัน (pool antiserum) แล้วหาไตเตอร์ของแอนติสเปอรฺมิตินโดยทำการทดลองตามข้อ 3.5 หน้า 26 ได้ไตเตอร์ของแอนติสเปอรฺมิตินเท่ากับ 25 (รูปที่ 9 หน้า 49 )

ในการทดลองครั้งต่อไปจึงใช้ซีรัมผสมซึ่งมีไตเตอร์ของแอนติสเปอรฺมิตินเท่ากับ 25 มาเจือจางเป็น 10 เท่า ด้วยบอเรตบัฟเฟอร์ที่มีความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ pH 8.0 (จากข้อ 3.1 หน้า 18 ) สำหรับใช้ในเรดิโออิมมูโนแอสเสย์ และได้สร้างกราฟมาตรฐานของสเปอรฺมิติน

(รูปที่ 10 หน้า 50 ) ตามการทดลองดังตารางที่ 2 หน้า 29 โดยใช้เปอร์มิติน  
มาตรฐานความเข้มข้นละ 2 หลอด (duplicate)

ตารางที่ 6 แสดงปริมาณแอนติสเปอริมีดินที่หนูตะเภาสร้างขึ้น

หนูตะเภากลุ่มที่ 1 ที่ไม่ได้แสดงในตารางนี้เป็นกลุ่มของหนูตะเภาที่สร้างแอนติสเปอริมีดินต่ำมากจนไม่สามารถหาไตเตอร์ได้

การฉีดหนูตะเภาแต่ละตัวแต่ละครั้งใช้สเปอริมีดินคอนจูเกต 100 ไมโครกรัม ละลายด้วยโซเดียมคลอไรด์ (0.85%) 0.1 มิลลิลิตร ผสมจนเป็นอิมัลชันกับคอมพลีทฟรอยด์แอดจูแวนท์ในอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร ฉีดเข้าใต้ผิวหนังด้านหลังประมาณ 7 จุด ห่างกันจุดละประมาณ 3 เซนติเมตร แบ่งหนูตะเภาเป็น 5 กลุ่ม หลังจากฉีดสเปอริมีดินคอนจูเกตครั้งแรกแล้ว 2 สัปดาห์ จึงฉีดซ้ำ (booster injection) ดังต่อไปนี้

กลุ่มที่ 1 ( $G_1$  ถึง  $G_3$ ) ฉีดซ้ำด้วย  $A_3$  (Spd:BSA = 26:1) ทุก 2 สัปดาห์ 2 ครั้ง และหลังทุก 1 เดือนอีก 2 ครั้ง

กลุ่มที่ 2 ( $G_4$  ถึง  $G_{12}$ ) ฉีดซ้ำด้วย  $A_2$  (Spd:BSA = 25:1) ทุก 2 สัปดาห์ 4 ครั้ง

กลุ่มที่ 3 ( $G_{13}$  ถึง  $G_{34}$ ) ฉีดซ้ำด้วย  $A_8$  (Spd:BSA = 30:1) ทุก 2 สัปดาห์ 2 ครั้ง

กลุ่มที่ 4 ( $G_{35}$  ถึง  $G_{57}$ ) ฉีดซ้ำด้วย  $T_3$  (Spd:Tg = 601:1) ทุก 2 สัปดาห์

2 ครั้ง

กลุ่มที่ 5 ( $G_{58}$  ถึง  $G_{67}$ ) ฉีดซ้ำด้วย  $T_4$  (Spd:Tg = 203:1) ทุก 2 สัปดาห์

2 ครั้ง

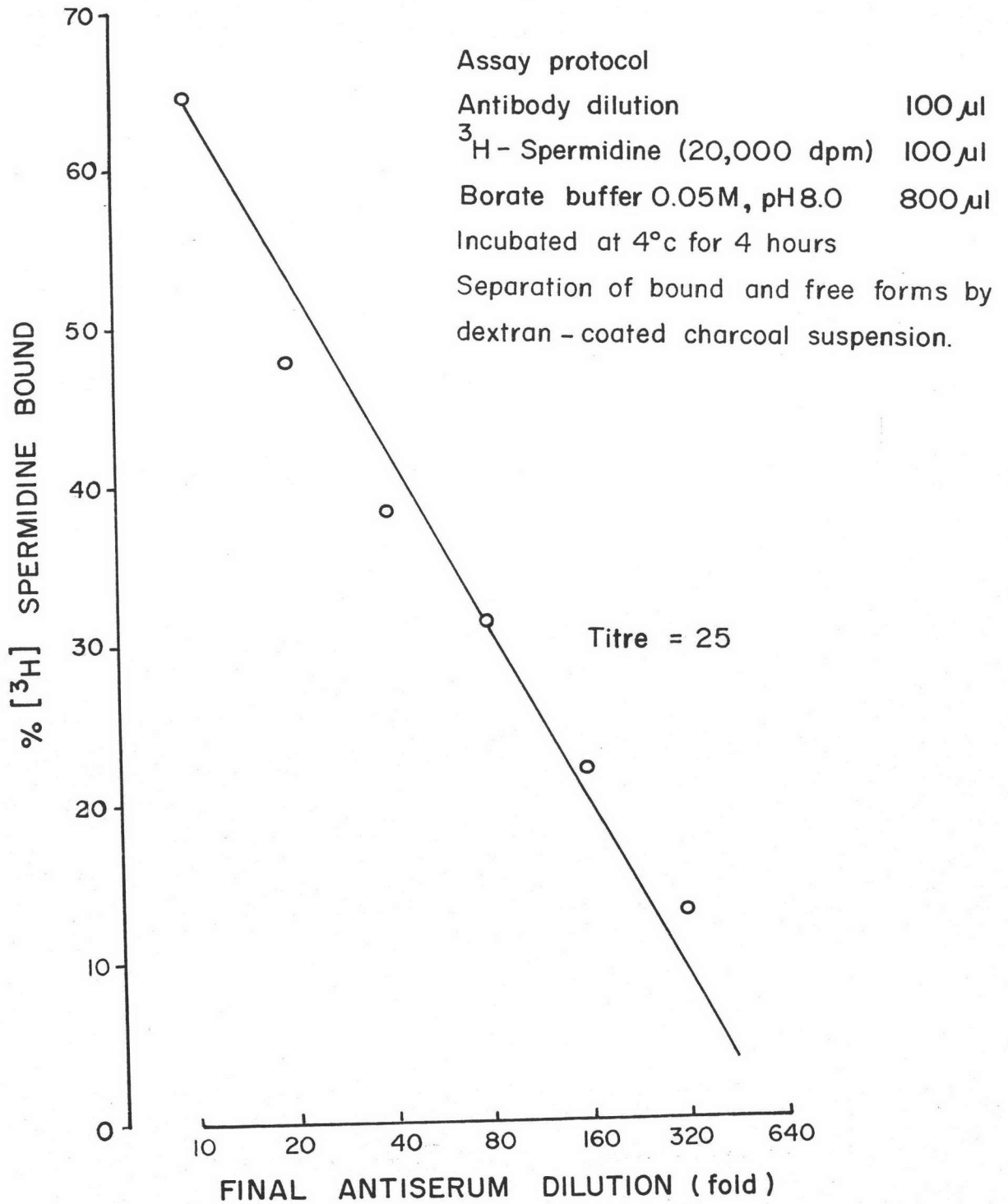
ตารางที่ 6 ปริมาณแอนติสเปอรัมิตินที่หนูตะเภาสร้างขึ้น

Group	Code of conjugate	Code of guinea pig	Antibody titre
2	A <sub>2</sub>	G <sub>11</sub>	17
3	A <sub>8</sub>	G <sub>14</sub>	29
		G <sub>18</sub>	19
		G <sub>20</sub>	28
		G <sub>21</sub>	19
		G <sub>26</sub>	10
		G <sub>27</sub>	10
		G <sub>32</sub>	11
		G <sub>34</sub>	11
4	T <sub>3</sub>	G <sub>35</sub>	65
		G <sub>36</sub>	16
		G <sub>37</sub>	110
		G <sub>41</sub>	63
		G <sub>43</sub>	62
		G <sub>45</sub>	15
		G <sub>49</sub>	10
		G <sub>55</sub>	13
5	T <sub>4</sub>	G <sub>64</sub>	17
		G <sub>66</sub>	11
		G <sub>67</sub>	17



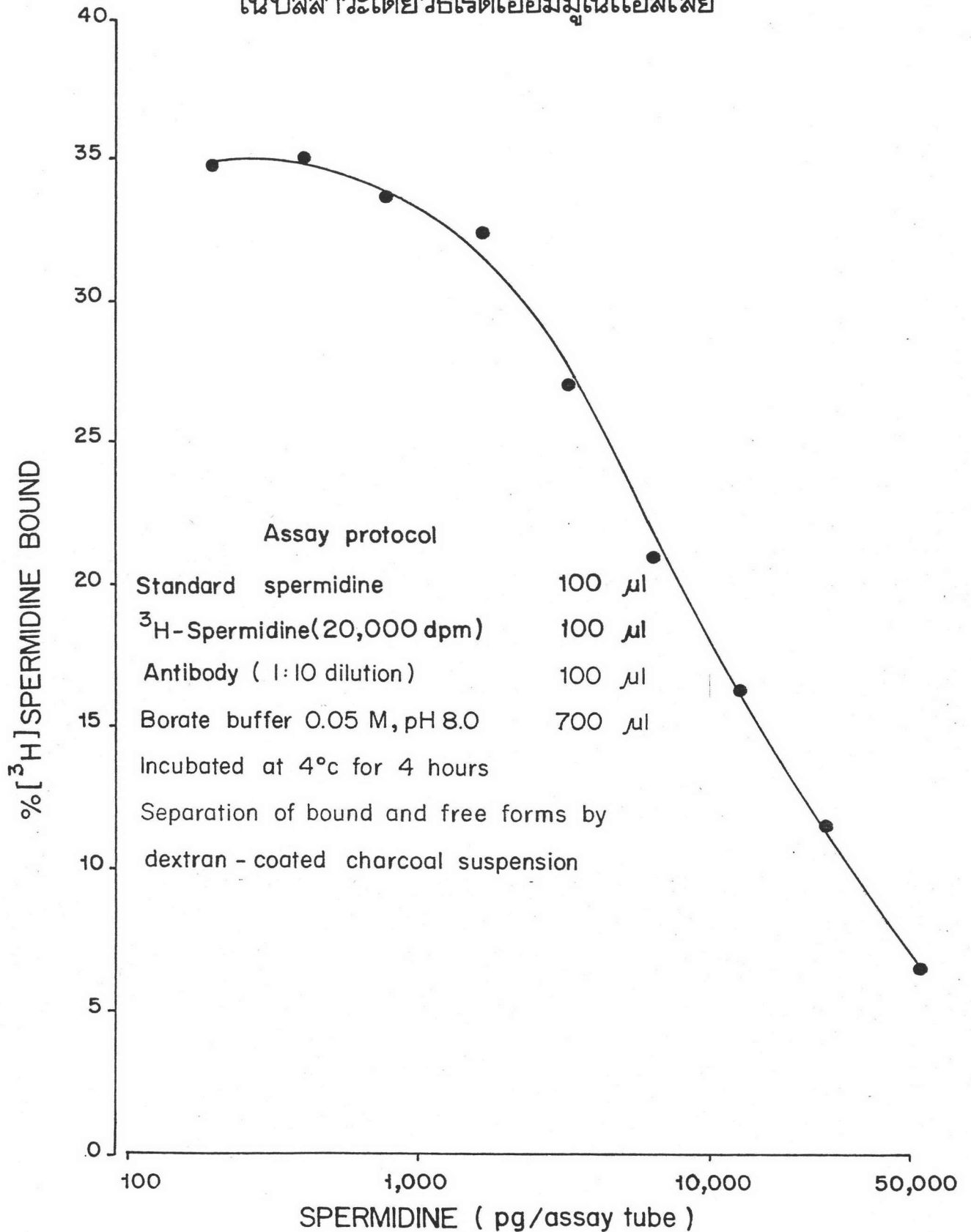
รูปที่ 9

ไตเตอร์ของแอนติสเปอर्मิดินที่สร้างโดยกระต่าย



แอนติซีรัมได้มาจากกระต่าย  $R_1$  และ  $R_3$  ซึ่งฉีดด้วยสเปอर्मิดินคอนจูเกตที่มีสเปอर्मิดินเกาะกับอัลบูมินด้วยอัตราส่วน 25:1 ถึง 28:1 โดยรวมซีรัมที่ได้หลังจากการฉีดซ้ำครั้งที่ 2, 3, 5, 6 และ 7

รูปที่ 10 กราฟมาตรฐานสำหรับวัดปริมาณลเปอรัมิติน  
ในปัสสาวะโดยวิธีเรดิโออิมมูโนแอสเสย์



#### 4.3 ผลการศึกษาคณสมบัติต่าง ๆ ของแอนติสเปอรัมิติน

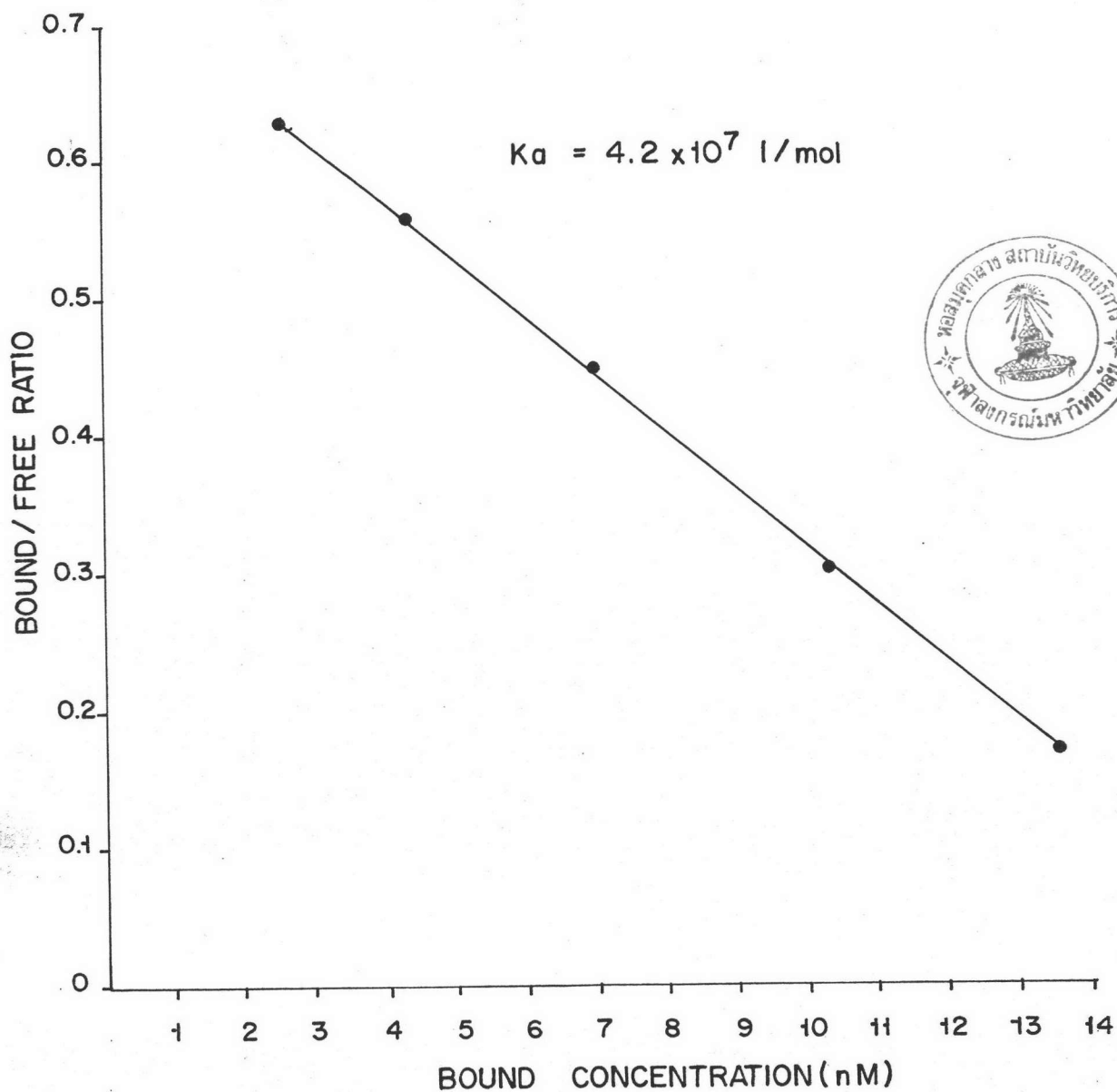
##### 4.3.1 ผลการหาค่าคงที่ของการจับกัน (Association constant, Ka) ของแอนติสเปอรัมิติน

ค่า Ka เป็นค่าคงที่ของการจับกันระหว่างตำแหน่งบนแอนติเจนที่จะให้แอนติบอดีเข้าเกาะ (antibody binding site) กับตำแหน่งบนแอนติบอดีที่เกาะกับแอนติเจน (immuno-reactive site) และหาได้จากการทำเรดิโออิมมูโนแอสเสย์ของสเปอรัมิตินมาตรฐานที่อยู่ในช่วงความเข้มข้น 0 ถึง 51,200 พิโคกรัมต่อหลอดทดลองโดยทำซ้ำความเข้มข้นละ 5 หลอด (5 replicates) ตามข้อ 3.6.1 หน้า 28 ค่า Ka คำนวณได้ตามวิธีของ Scatchard (1949) ดังแสดงในรูปที่ 11 หน้า 52 พบว่า Ka ของแอนติสเปอรัมิตินที่ผลิตได้มีค่าเท่ากับ  $4.2 \times 10^7$  ลิตรต่อโมล

##### 4.3.2 ผลการหาความจำเพาะของแอนติสเปอรัมิติน

วิธีการทดสอบความจำเพาะของแอนติสเปอรัมิตินทำได้โดยการหาร้อยละของปฏิกิริยาข้ามชนิดกับสารที่มีลักษณะโครงสร้างคล้ายคลึงกับสเปอรัมิติน เช่น ออร์นิติน คาตาเวอริน พูเทรสซินและสเปอรัมิน โดยทำการทดลองตามข้อ 3.6.2 หน้า 30 พบว่าแอนติสเปอรัมิตินมีความจำเพาะสูงพอสมควร (รูปที่ 12 หน้า 53 ) โดยมีปฏิกิริยาข้ามชนิดกับพูเทรสซินสูงสุดคือ มีร้อยละของปฏิกิริยาข้ามชนิดเท่ากับ 16.8 รองลงมาคือสเปอรัมินและคาตาเวอรินซึ่งมีร้อยละของปฏิกิริยาข้ามชนิดเป็น 6.0 และ 2.0 ตามลำดับ ส่วนออร์นิตินไม่มีปฏิกิริยาข้ามชนิดกับแอนติสเปอรัมิติน (ตารางที่ 7 หน้า 54 )

รูปที่ 11 การหาค่า  $K_a$  ของแอนติบอดีโดย  
Scatchard plot

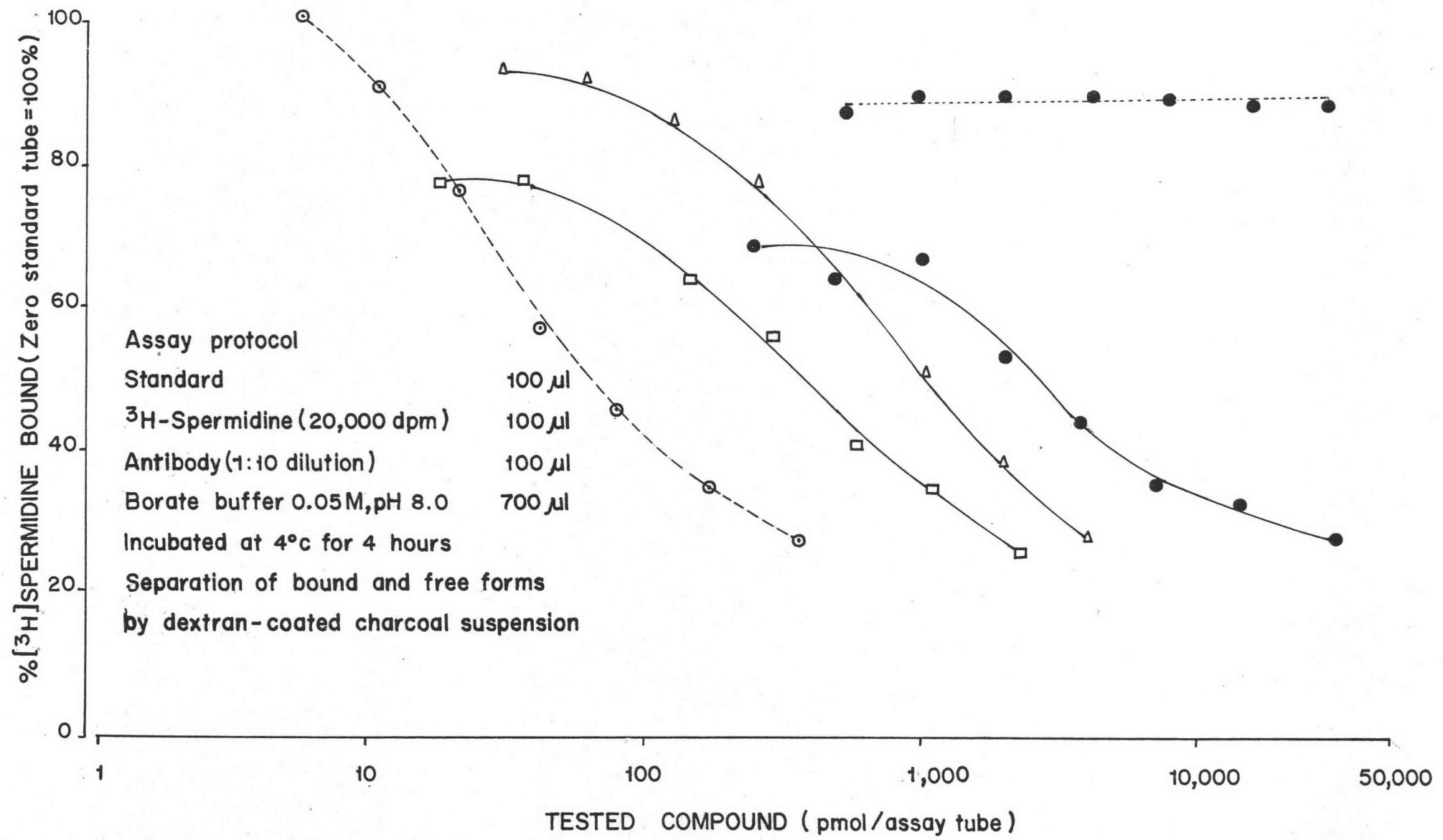


รูปที่ 12 ความจำเพาะของแอนติสเปอริมิติน

ทดสอบความจำเพาะของแอนติสเปอริมิตินกับสารต่าง ๆ ที่อยู่ในช่วงความเข้มข้น ดังต่อไปนี้

สเปอริมิติน	(○—○)	2.7 - 352	ฟิโคโมลต่อหลอดทดลอง
พูเทรสซิน	(□—□)	18 - 2,322	ฟิโคโมลต่อหลอดทดลอง
สเปอริมิน	(△—△)	31 - 4,048	ฟิโคโมลต่อหลอดทดลอง
คาคาเวอริน	(●—●)	251 - 32,124	ฟิโคโมลต่อหลอดทดลอง
ออร์นิติน	(●-----●)	496 - 31,743	ฟิโคโมลต่อหลอดทดลอง

รูปที่ 12 ความจำเพาะของแอนติสเปอิร์มิดีน



ตารางที่ 7 ความจำเพาะของแอนติสเปอรัมิติน

Compound investigated	Cross - reaction (%)
Spermidine	100
Putrescine	16.8
Spermine	6.0
Cadaverine	2.0
Ornithine	0

#### 4.4 ผลการศึกษาความถูกต้องและความเชื่อถือได้ของการวัดปริมาณสเปอรฺมิตินในปัสสาวะโดยวิธีเรดิโออิมมูโนแอสเสย์

##### 4.4.1 ความไวของวิธีวัด

ความไวของวิธีวัดหมายถึงปริมาณสารที่น้อยที่สุดที่สามารถวัดได้ (Midgley, 1969) ได้ทดสอบความไวของวิธีเรดิโออิมมูโนแอสเสย์โดยใช้สเปอรฺมิตินมาตรฐานซึ่งอยู่ในช่วงความเข้มข้น 0 ถึง 51,200 พิโคกรัม ต่อหลอดทดลองตามตารางที่ 2 หน้า 29 โดยทำซ้ำกันความเข้มข้นละ 5 หลอด (5 replicates) แล้วหาความไวของการวัดปริมาณสเปอรฺมิตินโดยวิธีเรดิโออิมมูโนแอสเสย์ตามวิธีของ Midgley (1969) ได้ค่าเป็น 55 พิโคโมลต่อ 1 มิลลิลิตร ของปัสสาวะ (รูปที่ 13 หน้า 57 )

##### 4.4.2 ความแม่นยำของวิธีวัด

ความแม่นยำของวิธีวัดหมายถึงความสามารถในการวัดปริมาณของสารในตัวอย่างเดียวกันหลาย ๆ ครั้งมีค่าใกล้เคียงกับค่าเฉลี่ยของการวัดชุดนั้น (Midgley, 1969) ความแม่นยำในการวัดสามารถทดสอบได้โดยใช้การคำนวณหาค่าร้อยละของสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนที่ได้จากการวัดปริมาณสเปอรฺมิตินซ้ำ ๆ กันในตัวอย่างปัสสาวะอันเดียวกัน

ตัวอย่างปัสสาวะที่ใช้ในการทดสอบความแม่นยำของวิธีวัดปริมาณสเปอรฺมิตินโดยเรดิโออิมมูโนแอสเสย์ มีทั้งหมด 3 ตัวอย่าง คือ ตัวอย่างที่ความเข้มข้นของสเปอรฺมิตินต่ำ กลาง และสูง ได้วัดปริมาณสเปอรฺมิตินในปัสสาวะทั้ง 3 ตัวอย่างโดยทำการทดลองซ้ำตัวอย่างละ 12 หลอด (12 replicates) ตามวิธีข้อ 3.7.2.1 หน้า 31 พบว่าได้ค่าร้อยละของสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนเป็น 17.8, 7.6 และ 8.6 ที่ความเข้มข้นของสเปอรฺมิติน 0.54, 0.66 และ 0.91 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมครีอะตินินตามลำดับ และในการวัดปริมาณสเปอรฺมิตินในปัสสาวะทั้ง 3 ตัวอย่างนั้นในต่างการทดลองและต่างวันกันตัวอย่างละ 5, 13 และ 10 ครั้งตามลำดับ พบว่าร้อยละของสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนเป็น 14.8, 14.7 และ 12.8 ที่ความเข้มข้นของสเปอรฺมิติน 0.54, 0.75 และ 0.86 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมครีอะตินินตามลำดับ (ตารางที่ 3 หน้า 34 )

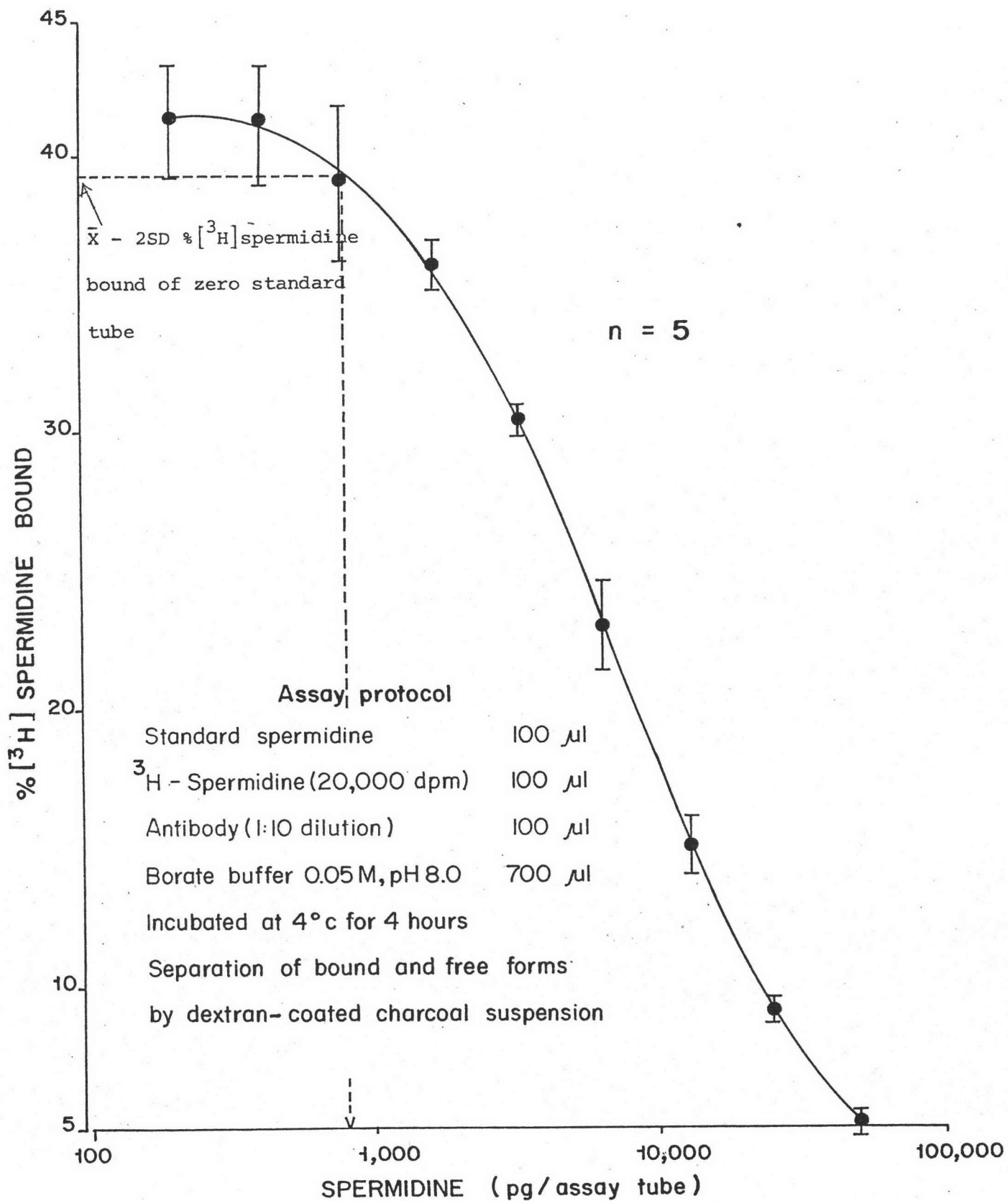
##### 4.4.3 ความถูกต้องของวิธีวัด

ความถูกต้องของวิธีวัดแสดงถึง ค่าเฉลี่ยของปริมาณของสารที่วัดได้สอดคล้องกับค่าที่มีอยู่จริง (Midgley, 1969) การทดสอบความถูกต้องของวิธีวัดสามารถศึกษาได้จากการศึกษารีคอปเวอรีและพาราลเลลิซึม (recovery and parallelism studies)



การศึกษารีคอบเวอรีของสเปอร์มิตินทำได้โดยการเติมสเปอร์มิตินมาตรฐานความเข้มข้นต่าง ๆ กันลงในตัวอย่างปัสสาวะแล้ววัดปริมาณสเปอร์มิตินในตัวอย่างนั้น ๆ (ตามวิธีข้อ 3.7.3.1 หน้า 31 ) พบว่าได้ค่ารีคอบเวอรีอยู่ระหว่าง 89.7 ถึง 101.9 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำผลการทดลองไปวิเคราะห์โดยรีเกรสชันเส้นตรงแบบธรรมดา (simple linear regression) ปรากฏว่าได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient) เป็น 0.998 ซึ่งแสดงว่าปริมาณสเปอร์มิตินมาตรฐานที่เติมลงไปกับค่าที่วัดได้มีความสัมพันธ์กัน (ตามตารางที่ 9 หน้า 59 ) การศึกษาพาราแลลลิสซึมทำได้โดยนำตัวอย่างปัสสาวะที่มีความเข้มข้นของสเปอร์มิตินสูง ๆ มาทำให้เจือจางเป็นเท่าตัวไปเรื่อย ๆ (serial double dilution) แล้วทำเรดิโออิมมูโนแอสเสย์ของตัวอย่างปัสสาวะที่มีความเจือจางต่าง ๆ กันนั้น เทียบกับสเปอร์มิตินมาตรฐานความเข้มข้นต่าง ๆ กัน แล้วเปรียบเทียบลักษณะของกราฟที่ตอบสนองต่อปริมาณสเปอร์มิติน (dose - response curve) ที่มีในปัสสาวะเทียบกับสเปอร์มิตินมาตรฐาน (ตามวิธีข้อ 3 หน้า 34 ) ปรากฏว่ากราฟของตัวอย่างปัสสาวะและสเปอร์มิตินมาตรฐานมีลักษณะคล้ายกันดังแสดงในรูปที่ 14 หน้า 60 และมีความชันของกราฟใกล้เคียงกันมากคือไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P > 0.5$ ) ซึ่งแสดงว่าการเจือจางปัสสาวะไม่มีผลต่อการวัดปริมาณสเปอร์มิติน

รูปที่ 13 กราฟมาตรฐานของสเปออร์มิดีน



ตารางที่ 8 ความแม่นยำของการวัดปริมาณสเปอรฺมีตินในปัสสาวะโดยวิธีเรดิโออิมมูโนแอสเสย์

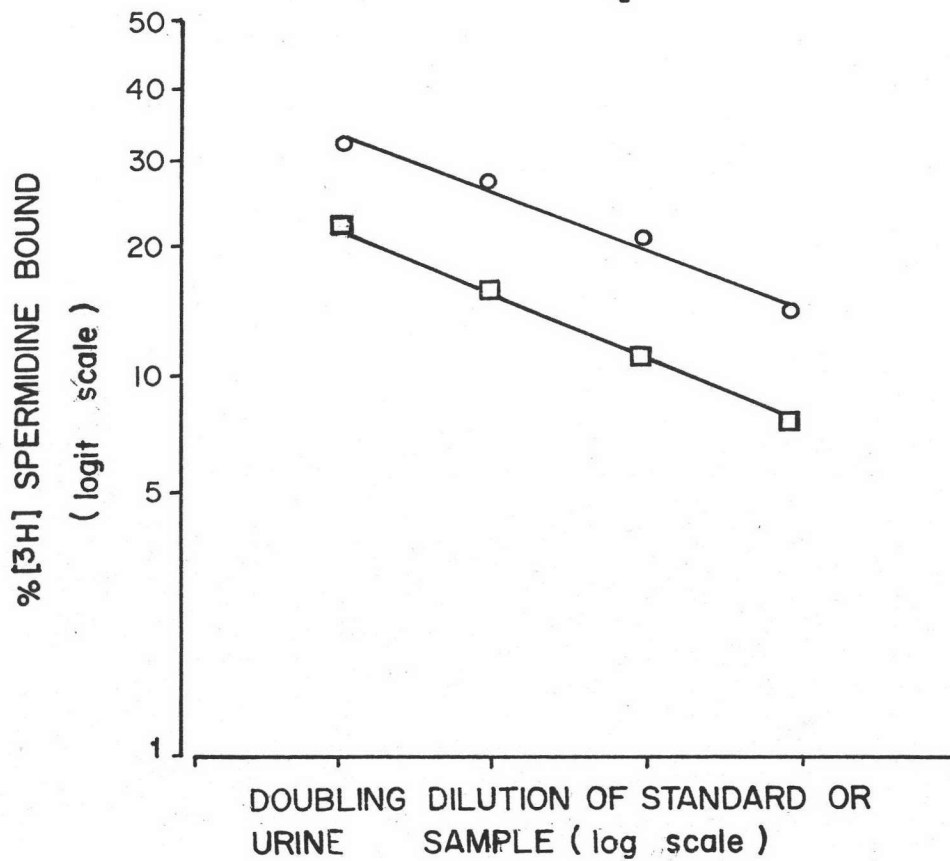
Assay variance	Low	Medium	High
Within assay			
n	12	12	12
$\bar{X}$ ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinine)	0.54	0.66	0.91
SD	0.10	0.05	0.08
% CV	17.8	7.6	8.6
Between assay			
n	5	13	10
$\bar{X}$ ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinine)	0.54	0.75	0.86
SD	0.08	0.11	0.11
% CV	14.8	14.7	12.8

ตารางที่ 9 ความถูกต้องของการวัดปริมาณสเปอริมิดีนในปัสสาวะโดยวิธี เรดิโออิมมูโนแอสเสย์

Spermidine added (ng/ml urine)	Spermidine measured (ng/ml urine)	Recovery (%)
0	37	-
16	54	101.9
32	65	94.2
48	78	91.8
64	94	93.1
80	105	89.7

สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient,  $\gamma$ ) = 0.998

รูปที่ 14 ความถูกต้องของการวัดปริมาณลเปอ์มิตินในปัสสาวะ  
โดยวิธีเรดิโออิมมูโนแอสเสย์



○—○ ลเปอ์มิตินมาตรฐาน

□—□ ตัวอย่างปัสสาวะ

#### 4.5 ความเข้มข้นของสเปอริมิตินในปัสสาวะของคนปกติและของผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดชนิดต่าง ๆ ก่อนได้รับการรักษา

ในการวัดปริมาณสเปอริมิตินในตัวอย่างปัสสาวะของคนปกติทั้งชายและหญิงที่มีอายุ 18-38 ปี จำนวน 46 ราย โดยวิธีเรดิโออิมมูโนแอสเสย์ ปรากฏว่าได้ค่าเฉลี่ยของสเปอริมิตินเป็น  $0.91 \pm 0.28$  ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ครีอะตินินและจากการวัดปริมาณสเปอริมิตินในปัสสาวะของผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดชนิดต่าง ๆ ทั้งชายและหญิงก่อนได้รับการรักษา พบว่าผู้ป่วยด้วยโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลือง (lymphoma) (13 ราย) โรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลัน (acute leukemia) (13 ราย) โรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรัง (chronic leukemia) (4 ราย) มัลติเพิลไมอีโลมา (multiple myeloma) (3 ราย) โพลีไซทีเมียวีรา (polycythemia vera) (2 ราย) แมกโครกลอบบูลินีเมีย (macroglobulinemia) (1 ราย) และโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังเข้าชนิดเฉียบพลัน (chronic leukemia with blastic crisis) (1 ราย) มีความเข้มข้นของสเปอริมิตินในปัสสาวะเป็น  $3.50 \pm 2.83$ ,  $4.44 \pm 5.02$ ,  $4.11 \pm 1.23$ ,  $1.53 \pm 1.08$ ,  $3.09 \pm 0.49$ , 2.03, 1.42 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมครีอะตินินตามลำดับ (ตารางที่ 3 หน้า 34) และพบว่าผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดทั้ง 7 ชนิด (ยกเว้นผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังเข้าชนิดเฉียบพลัน) มีปริมาณสเปอริมิตินในปัสสาวะสูงกว่าของคนปกติอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.005$  โดย Student t'test)

ในรูปที่ 15 ได้แสดงความเข้มข้นของสเปอริมิตินในปัสสาวะของผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดแต่ละราย เปรียบเทียบกับของคนปกติ ถ้ากำหนดว่าค่าความเข้มข้นของสเปอริมิตินในช่วงค่าเฉลี่ยของคนปกติ  $\pm 2SD$  เป็นช่วงความเข้มข้นปกติ (normal range) และค่าความเข้มข้นของสเปอริมิตินที่สูงกว่าค่าเฉลี่ยของคนปกติ  $+ 2SD$  ถือว่าเป็นค่าที่สูงกว่าระดับปกติ (elevated level) พบว่าผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือด (7 ชนิด) 30 ราย จากทั้งหมด 37 ราย หรือประมาณร้อยละ 80 ของผู้ป่วยที่มีความเข้มข้นของสเปอริมิตินสูงกว่าระดับปกติ และจะสังเกตได้ว่าประมาณร้อยละ 92 ของผู้ป่วยโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลืองมีความเข้มข้นของสเปอริมิตินสูงกว่าระดับปกติ ในขณะที่ประมาณร้อยละ 69 ของผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันที่มีความเข้มข้นของสเปอริมิตินสูงกว่าระดับปกติ

ตารางที่ 10 ปริมาณสเปอ์มิดีนในปัสสาวะของคนปกติและผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดชนิดต่างๆ ก่อนได้รับการรักษา

Subject	Age (years)	No. of Subjects	Urinary spermidine concentration ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinine)	
			Mean $\pm$ SD	Range
Normal	18-38	46	0.91 $\pm$ 0.28	0.44 - 1.53
Lymphoma	17-69	13	3.50 $\pm$ 2.83	0.93 - 11.3
Acute leukemia	16-72	13	4.44 $\pm$ 5.02	0.38 - 17.9
Chronic leukemia	16-44	4	4.11 $\pm$ 1.23	1.42 - 5.52
Multiple myeloma	48-61	3	1.53 $\pm$ 1.08	0.41 - 2.56
Polycythemia vera	40,56	2	3.09 $\pm$ 0.49	2.75 - 3.44
Macroglobulinemia	72	1	2.03	-
Chronic leukemia with blastic crisis	34	1	1.42	-







#### 4.6 ความเข้มข้นของสเปอรัมิตินในบัสสาวะของผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดชนิดต่าง ๆ ในระหว่างการรักษา

ในการศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสเปอรัมิตินในบัสสาวะของผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดในระหว่างการรักษา กับประสิทธิภาพของการรักษา ได้ศึกษาในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือด 4 ชนิด คือ โรคมะเร็งต่อมน้ำเหลือง (2 ราย) โรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรัง (1 ราย) โรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังเข้าชนิดเฉียบพลัน (1 ราย) และโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลัน (4 ราย) โดยผู้ป่วยโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลืองได้รับการรักษาด้วยเคมีบำบัดและรังสีรักษา ส่วนผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวทั้ง 3 ชนิดได้รับการรักษาด้วยเคมีบำบัด ผู้ป่วยตอบสนองต่อการรักษาต่าง ๆ กันซึ่งประกอบด้วย 3 ชั้น คือ complete response partial response และ non response เกณฑ์ในการตัดสินว่าผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาตอบสนองต่อการรักษาชั้นใดนั้นใช้เกณฑ์ดังต่อไปนี้

4.6.1 ผู้ป่วยโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลือง ใช้เกณฑ์การตัดสินการตอบสนองต่อการรักษาของ ถนอมศรี และคณะ (2524) คือ

ก. complete response เมื่อพบว่าเซลล์มะเร็งถูกกำจัดออกไปและร่างกายกลับมามีสภาวะปกติโดยที่แพทย์ตรวจหาร่องรอยของโรคไม่ได้ จากการตรวจการเปลี่ยนแปลงทางอาการหรืออาการแสดง เช่น ต่อมน้ำเหลืองโต มีไข้ อาการทางระบบหายใจ ระบบประสาท ระบบทางเดินอาหาร อาการซีดหรือมีเลือดออกที่ผิวหนังเนื่องจากเกร็ดเลือดต่ำ พยาธิสภาพตามระบบต่าง ๆ การเปลี่ยนแปลงทางโลหิตวิทยาในเลือดและไขกระดูกและการเปลี่ยนแปลงทางอิมมูโนวิทยา

ข. partial response เมื่อพบว่าโรคสงบลงเกินครึ่งหนึ่งของที่ปรากฏอยู่

ค. non response เมื่อพบว่าสภาวะของโรคอยู่ในสภาพเดิมหรือลุกลามไปกว่าเดิมหรือหุเลาลงน้อยกว่า 25% ของ ๆ เดิม ซึ่งถือว่าไม่ตอบสนองต่อการรักษา

4.6.2 ผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลัน ใช้เกณฑ์ในการตัดสินการ  
 ตอบสนองต่อการรักษาของ Monfardini และคณะ (1981) ดังนี้

Ratings	Response to therapy	Non - response	Partial response	Complete response
<b>1. Marrow ratings</b>				
1.1 Leukaemic cells				
ALL {	blast cells (%)	>50	5-25	no leukaemic cells
	blasts+ lymphocytes(%)	-	<70	
AML {	blast cells (%)	>50	5-25	no leukaemic cells
	blasts+promyelocytes(%)	>55	10-30	
	1.2 Erythroid elements(%)		>10	>15
	Granulocytic elements(%)		>15	>25
<b>2. Haemogram ratings</b>				
	2.1 blasts (%)	>20	<5	0
	2.2 platelets	<25,000	50,000-90,000	>200,000
	2.3 neutrophilic			
	granulocytes <4 years	<500	>750	>2,000
	>4 years	<500	>1,000	>3,500
	2.4 haemoglobin (g%)			
(adults)	male	<7	>9	>14
	female	<7	>9	>13
<b>3. Ratings of physical findings</b>				
	3.1 liver	below um-bilicus	<5 cm↓costal margin	normal size (+ biopsy)
	3.2 spleen	below um-bilicus	<2 cm↓costal margin	normal size (+ biopsy)
	3.3 lymph nodes	>5 cm of generalized >2 cm	<2cm	normal size (+ biopsy)
	3.4 haemorrhage	severe	mild	none
	3.5 infection	severe	mild	none
<b>4. Ratings of symptoms</b>				
	organ symptoms and activity	severe >50% in bed	mild	none normal activity

ในการวิจัยนี้ได้ติดตามวัดปริมาณสเปอรัมิตินในปัสสาวะของผู้ป่วยโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลือง 2 ราย มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรัง 1 ราย ชนิดเรื้อรังที่จะเข้าชนิดเฉียบพลัน 1 ราย และชนิดเฉียบพลัน 4 ราย ในระหว่างได้รับการรักษา

ผู้ป่วยโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลือง 2 ราย รายที่ 1 (รูปที่ 16 ) เป็นโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด Hodgkin's lymphoma, lymphocytic predominate ระยะ IIIB ซึ่งตอบสนองต่อการรักษาด้วยเคมีบำบัดและรังสีรักษาชั้น partial response พบว่าหลังจากได้รับการรักษา 2 วัน ผู้ป่วยมีสเปอรัมิตินในปัสสาวะมากกว่าก่อนการรักษาประมาณ 2 เท่า และลดลงในวันที่ 3 แต่หลังจากเริ่มการรักษา 4 วัน เป็นต้นไประดับของสเปอรัมิตินในปัสสาวะจะลดลงตามลำดับจนกระทั่ง 2 สัปดาห์หลังจากเริ่มการรักษา ระดับของสเปอรัมิตินจะลดลงจนใกล้เคียงระดับปกติ รายที่ 2 (รูปที่ 17 ) เป็นโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด Diffused lymphocytic, poorly differentiated ระยะ IV ซึ่งตอบสนองต่อการรักษาด้วยเคมีบำบัดและรังสีรักษาชั้น complete response พบว่าหลังจากได้รับการรักษา 1 และ 2 วัน ผู้ป่วยมีสเปอรัมิตินในปัสสาวะเพิ่มสูงขึ้นตามลำดับ และสูงที่สุดในวันที่ 2 ซึ่งสูงกว่าก่อนการรักษาประมาณ 3 เท่า และลดลงในวันที่ 3 เช่นเดียวกับรายที่ 1 หลังจากนั้นมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย

ในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรัง (รูปที่ 18 ) ซึ่งตอบสนองต่อการรักษาด้วยเคมีบำบัดชั้น partial response พบว่าหลังจากได้รับการรักษา 1 วัน ผู้ป่วยจะมีสเปอรัมิตินในปัสสาวะเพิ่มขึ้นประมาณ 2 เท่าของก่อนได้รับการรักษา และลดลงในวันที่ 2 จนถึงระดับใกล้เคียงกับก่อนได้รับการรักษา แต่หลังจากเริ่มการรักษา 3-7 วัน พบว่าความเข้มข้นของสเปอรัมิตินในปัสสาวะได้สูงเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ซึ่งหลังจากเริ่มการรักษา 7 วัน จะสูงกว่าระดับก่อนการรักษาประมาณ 3 เท่า

ผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังจะเข้าชนิดเฉียบพลัน (รูปที่ 19 ) ซึ่งตอบสนองต่อการรักษาด้วยเคมีบำบัดชั้น partial response พบว่ามีความเข้มข้นของสเปอรัมิตินในปัสสาวะก่อนได้รับการรักษาพอ ๆ กับระดับปกติ แต่หลังจากได้รับการรักษา 1-4 วัน ผู้ป่วยมีสเปอรัมิตินในปัสสาวะสูงเพิ่มขึ้นตามลำดับ ซึ่งในวันที่ 4 หลังเริ่มการรักษาพบว่าสูงเพิ่มขึ้นเกือบ 2 เท่าของก่อนได้รับการรักษา หลังจากนั้นจึงลดลงจนต่ำกว่าระดับปกติและมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยตลอดระยะเวลา 7-51 วัน หลังจากเริ่มการรักษา

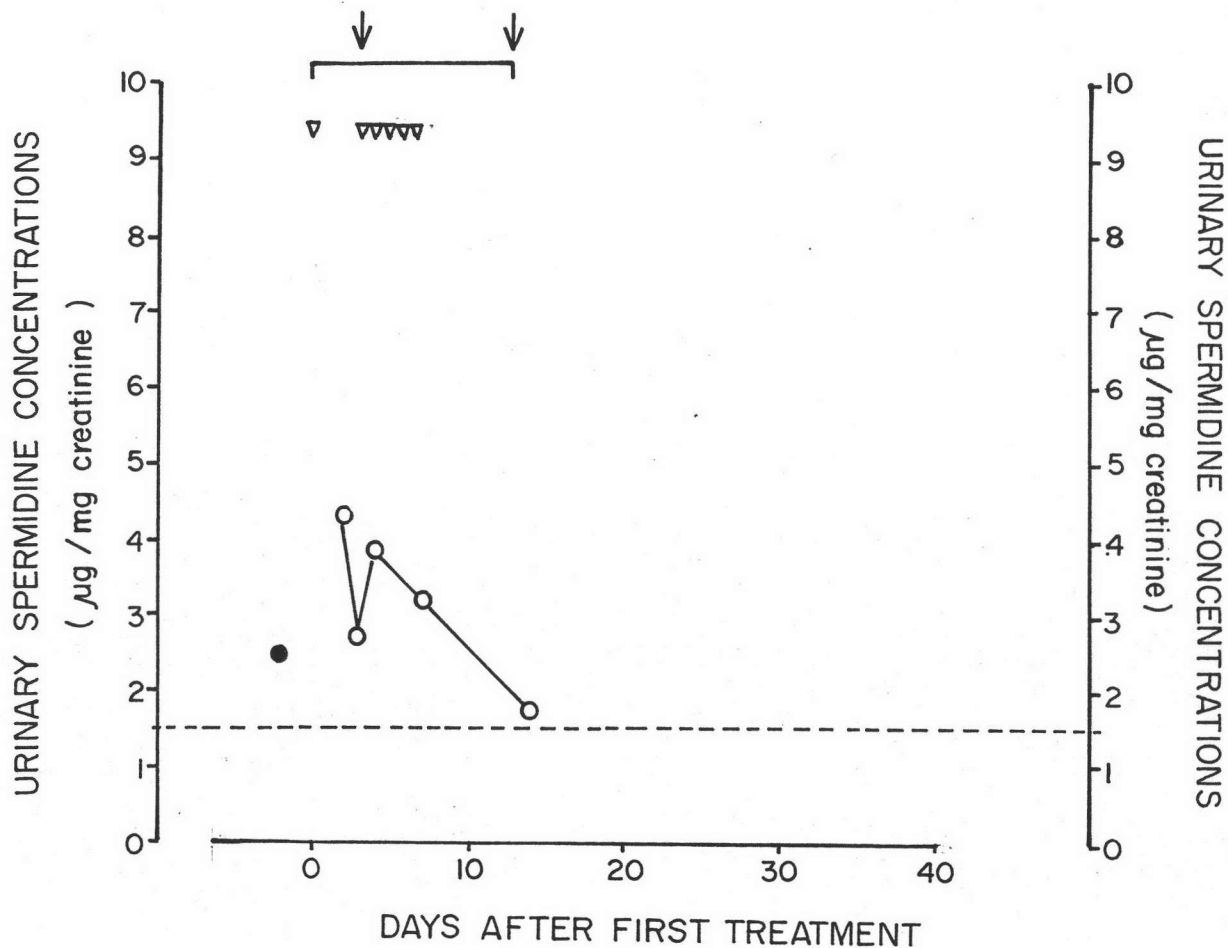
ผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลัน รายที่ 1 (รูปที่ 20) ซึ่งไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยเคมีบำบัด (non-response) พบว่าหลังจากได้รับเพรดนิโซโลน (prednisolone) 1 วัน ผู้ป่วยมีสเปอร์มิตินในปัสสาวะสูงเพิ่มขึ้นเล็กน้อย และลดลงในวันที่ 2 หลังจากนั้นมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยใกล้เคียงระดับปกติ และหลังจากเริ่มการรักษาด้วยเคมีบำบัด 4 วัน พบว่าระดับของสเปอร์มิตินในปัสสาวะเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย ผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลัน รายที่ 2 (รูปที่ 21) ซึ่งตอบสนองต่อการรักษาด้วยเคมีบำบัดขั้น partial response ผู้ป่วยรายนี้ไม่ได้เก็บตัวอย่างปัสสาวะหลังจากเริ่มการรักษาตอนแรก ๆ ได้เริ่มเก็บตัวอย่างปัสสาวะครั้งแรกหลังจากเริ่มการรักษา 5 วัน ซึ่งพบว่าผู้ป่วยมีปริมาณสเปอร์มิตินในปัสสาวะสูงกว่าก่อนการรักษาประมาณ 3 เท่า หลังจากนั้น (วันที่ 10) จึงลดลงและเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยใกล้เคียงระดับปกติตลอดระยะเวลาของการรักษาจนถึงวันที่ 46 ผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลัน รายที่ 3 (รูปที่ 22) ได้เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล 2 ครั้ง ครั้งแรกได้รับการรักษา 21 วัน หลังจากนั้น 2 สัปดาห์จึงเข้ามารับการรักษาครั้งที่สอง ผู้ป่วยรายนี้ตอบสนองต่อการรักษาด้วยเคมีบำบัดขั้น partial response พบว่าหลังจากได้รับการรักษาเคมีบำบัด (ครั้งแรก) 1-5 วัน ผู้ป่วยมีสเปอร์มิตินในปัสสาวะสูงขึ้นตามลำดับ และสูงที่สุดในวันที่ 5 หลังจากนั้นจึงลดลงและเพิ่มขึ้นอีกในวันที่ 15 ซึ่งสูงกว่าวันที่ 5 เล็กน้อย เมื่อผู้ป่วยเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลครั้งที่สอง พบว่าหลังจากเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลครั้งที่สอง 2 วัน ผู้ป่วยมีสเปอร์มิตินในปัสสาวะสูงกว่าก่อนเริ่มการรักษาประมาณ 3 เท่า หลังจากนั้นจึงลดลงตลอดระยะเวลาของการรักษาจนกระทั่งถึงวันที่ 56 พบว่าลดลงต่ำกว่าระดับก่อนเริ่มการรักษา ผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลัน รายที่ 4 (รูปที่ 23) ได้เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล 2 ครั้งเช่นกัน ครั้งแรกผู้ป่วยอยู่ในโรงพยาบาล 30 วัน หลังจากนั้น 21 วันจึงเข้ามาอยู่ในโรงพยาบาลครั้งที่ 2 ผู้ป่วยตอบสนองต่อการรักษาด้วยเคมีบำบัดขั้น complete response ผู้ป่วยรายนี้มีสเปอร์มิตินในปัสสาวะก่อนได้รับการรักษาอยู่ในระดับปกติ หลังเริ่มการรักษาครั้งแรก 3-5 วัน ผู้ป่วยมีสเปอร์มิตินในปัสสาวะสูงกว่าก่อนได้รับการรักษา ซึ่งพบว่าหลังจากเริ่มการรักษา 5 วัน ผู้ป่วยมีสเปอร์มิตินในปัสสาวะสูงกว่าก่อนได้รับการรักษาถึง 5 เท่า หลังจากนั้นไม่สามารถวัดปริมาณสเปอร์มิตินในปัสสาวะของผู้ป่วยได้ เนื่องจากผู้ป่วยได้ออกจากโรงพยาบาล จนกระทั่งวันที่ 27 จึงเข้ามาอยู่ในโรงพยาบาลอีกครั้ง จึงได้เริ่มวัดปริมาณสเปอร์มิตินในปัสสาวะต่อไป ซึ่งพบว่าหลังจากเริ่มการรักษาครั้งแรก 32 วันเป็นต้นไประดับของสเปอร์มิตินในปัสสาวะของผู้ป่วยมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยใกล้เคียงระดับปกติจนถึงกระทั่งถึงวันที่ 88 พบว่าลดลงต่ำกว่าระดับ

ก่อนได้รับการรักษา ในการศึกษาผู้ป่วยรายนี้ไม่ได้ติดตามวัดปริมาณสเปอรัมิตินในปัสสาวะหลังจากได้รับเคมีบำบัดครั้งที่สอง

จากการติดตามวัดปริมาณสเปอรัมิตินในผู้ป่วยโรคมะเร็ง เม็ดเลือด 8 รายในระหว่างได้รับการรักษา จะเห็นว่าผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษาชั้น partial response หรือ complete response จะมีระดับของสเปอรัมิตินในปัสสาวะเพิ่มขึ้น 2-5 เท่าภายใน 1-5 วันหลังจากเริ่มการรักษา และถ้าติดตามวัดปริมาณสเปอรัมิตินในปัสสาวะต่อไปเรื่อย ๆ จะพบว่าหลังจากเริ่มการรักษา 10 วันเป็นต้นไป (รูปที่ 16, 19, 21 และ 23) ปริมาณสเปอรัมิตินในปัสสาวะลดลงสู่ระดับปกติและมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย ส่วนผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษา (non - response) ซึ่งมีเพียงรายเดียว (รูปที่ 20) จะเห็นว่าหลังจากเริ่มการรักษา(4 วัน) ผู้ป่วยมีสเปอรัมิตินในปัสสาวะเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย นอกจากนั้นเป็นที่น่าสังเกตว่าผู้ป่วยที่มีความเข้มข้นของสเปอรัมิตินในปัสสาวะก่อนได้รับการรักษาสูงมาก ๆ ดังเช่น ในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลันรายที่ 3 (รูปที่ 22) ซึ่งมีสเปอรัมิตินในปัสสาวะก่อนได้รับการรักษาสูงกว่าระดับปกติประมาณ 8 เท่า หลังได้รับการรักษาจะมีการเปลี่ยนแปลงระดับของสเปอรัมิตินค่อนข้างสูงมาก

รูปที่ 16

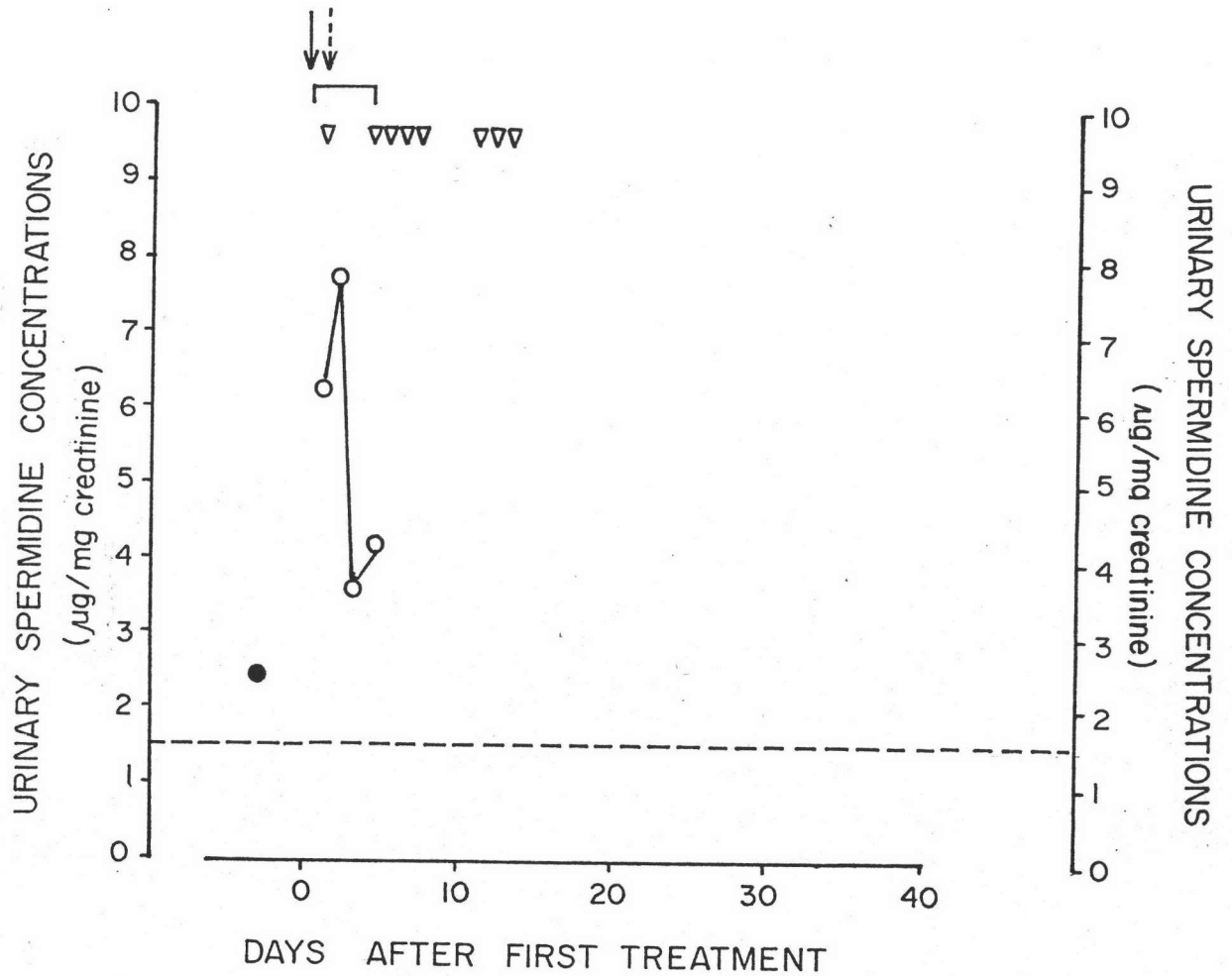
ความเข้มข้นของสเปอริมิดีนในปัสสาวะของผู้ป่วยโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด Hodgkin's lymphoma, lymphocytic predominate ระยะ III B ในระหว่างการรักษาซึ่งตอบสนองต่อเคมีบำบัดและรังสีรักษา ชั้น partial response



- = Urinary spermidine concentration before treatment
- = Urinary spermidine concentration during treatment
- [        ] = Daily oral administration of prednisolone (60 mg) and procabazine (50 mg) for 13 and 10 days respectively
- +        = Intravenously injected with nitrogen mustard (10 mg) and oncovin (1 mg)
- ∇        = Radiation 300-400 rad/day
- = Normal concentration of urinary spermidine ( $\bar{X} + 2SD$ )

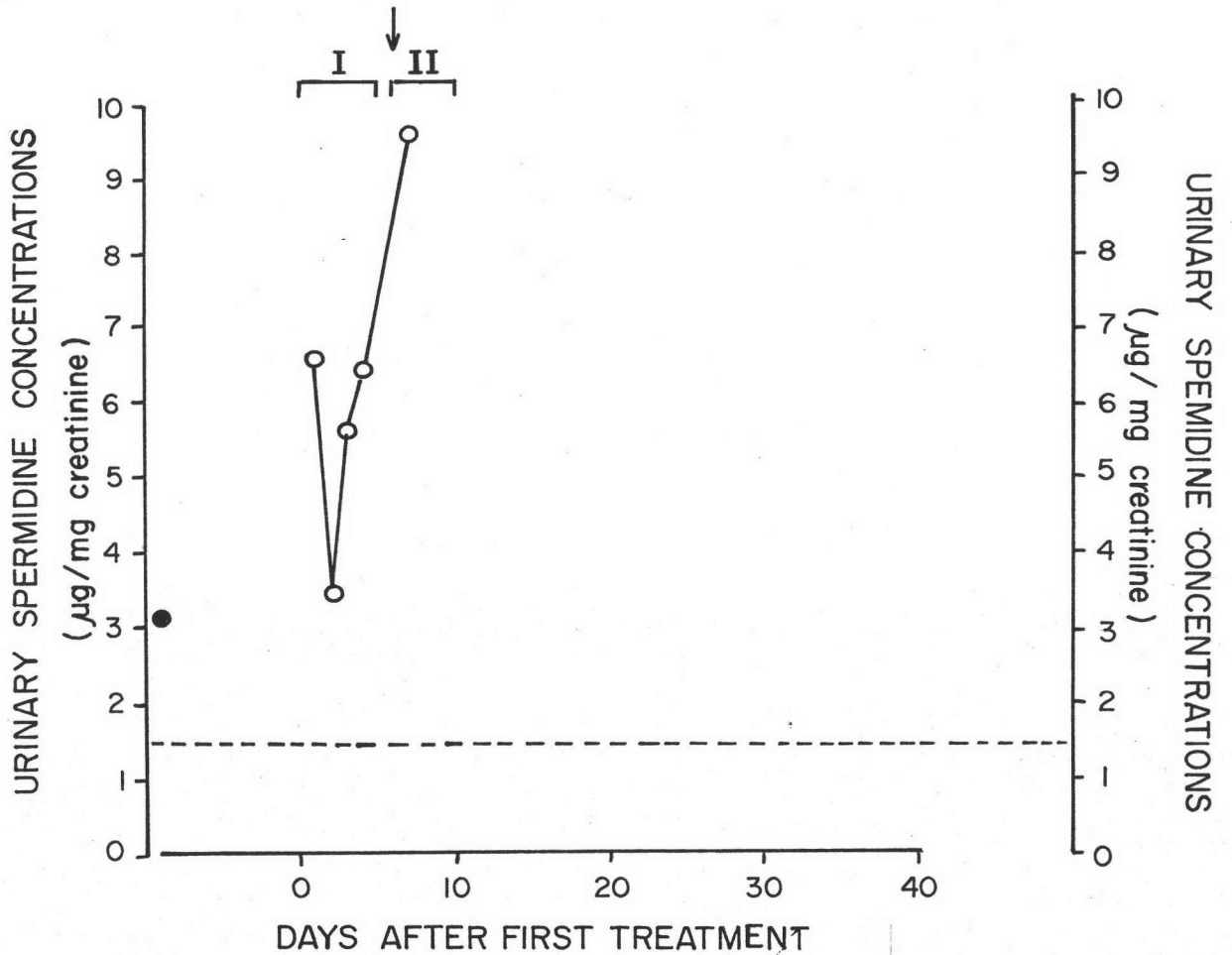
รูปที่ 17

ความเข้มข้นของสเปอริมิดีนในปัสสาวะของผู้ป่วยโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด Malignant lymphoma, diffused lymphocytic, poorly differentiated ระยะ IV ในระหว่างการรักษาซึ่งตอบสนองต่อเคมีบำบัดและรักษาขั้น complete response



- = Urinary spermidine concentration before treatment
- = Urinary spermidine concentration during treatment
- ┌──┐ = Daily oral administration of prednisolone (60 mg)
- ↓ = Intravenously injected with oncovin (1 mg) and endoxan (1 g)
- ⋮ = Intravenously injected with endoxan (800 mg)
- ▽ = Radiation 200 rad/day
- = Normal concentration of urinary spermidine ( $\bar{x} + 2SD$ )

รูปที่ 18 ความเข้มข้นของสเปอรัมิดีนในปัสสาวะของผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรัง  
 ในระหว่างการรักษาซึ่งตอบสนองต่อเคมีบำบัดขั้น partial response



- = Urinary spermidine concentration before treatment
- = Urinary spermidine concentration during treatment
- I = Daily oral administration of prednisolone (60 mg) and endoxan (150 mg)
- II = Daily oral administration of prednisolone (100 mg) and endoxan (100 mg) and intravenously injected with Ara C (100mg)
- ↓ = Intravenously injected with oncovin (1 mg)
- = Normal concentration of urinary spermidine ( $\bar{x} + 2SD$ )

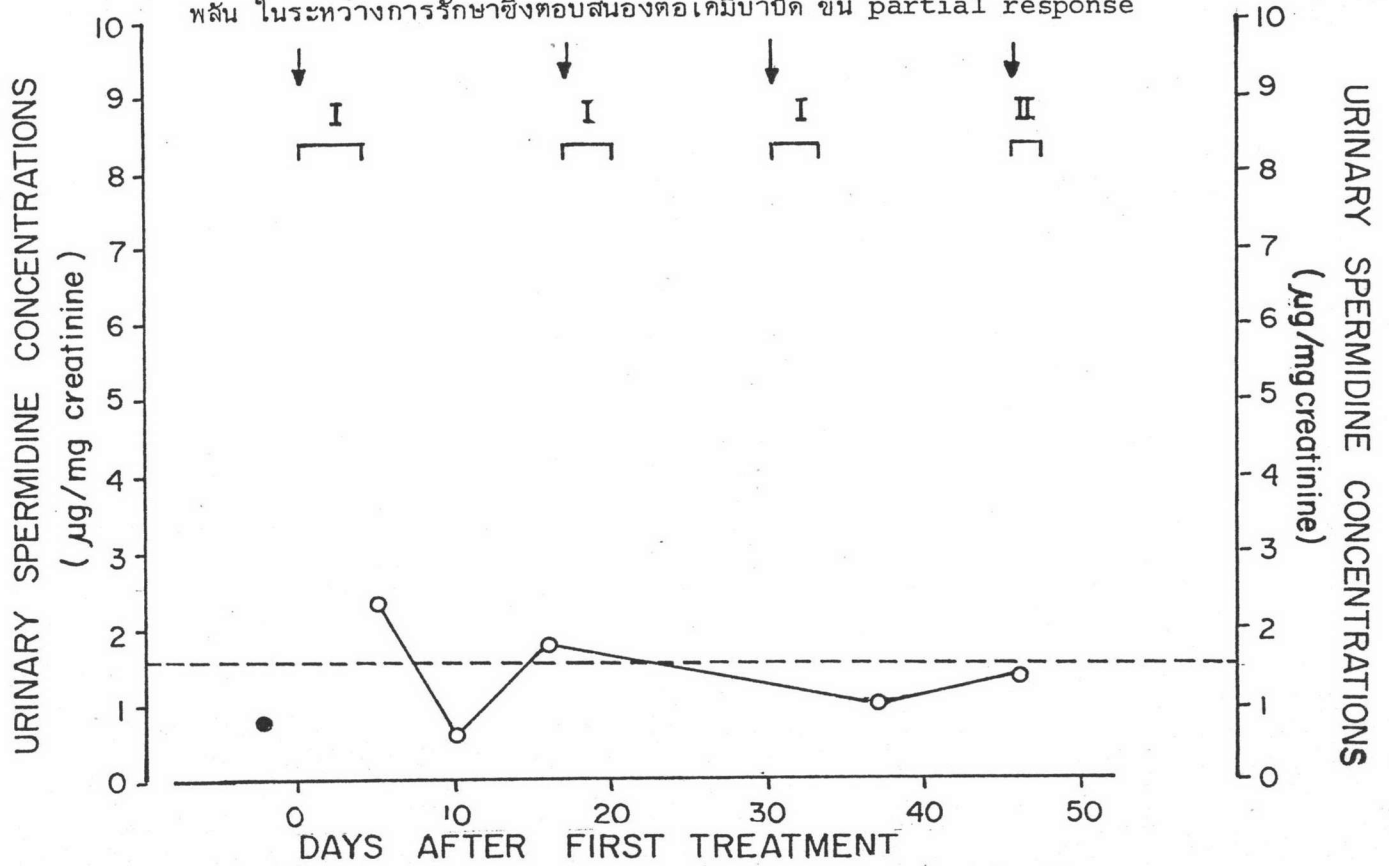




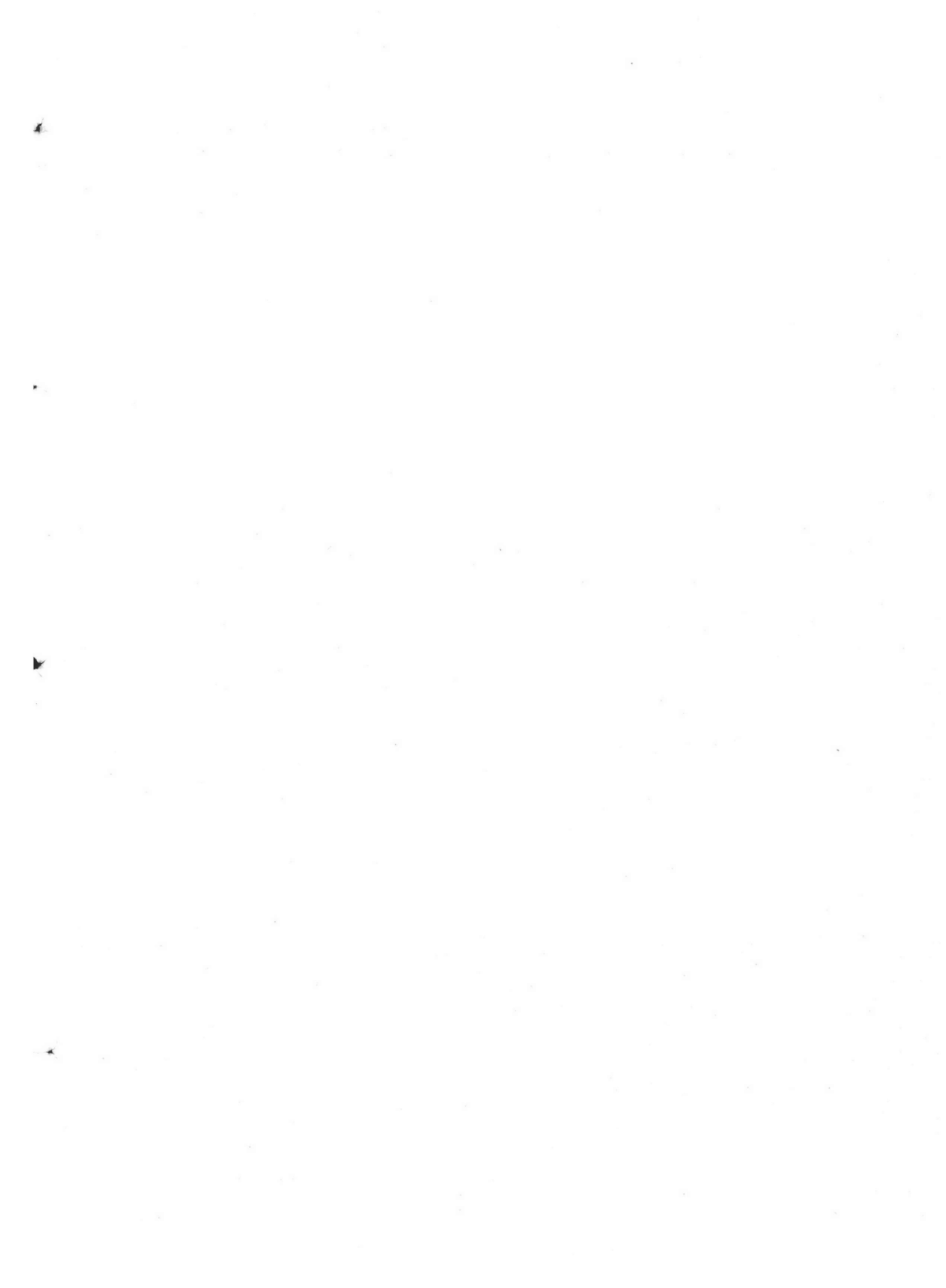


รูปที่ 21 ความเข้มข้นของสเปอริมิดีนในปัสสาวะของผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลัน

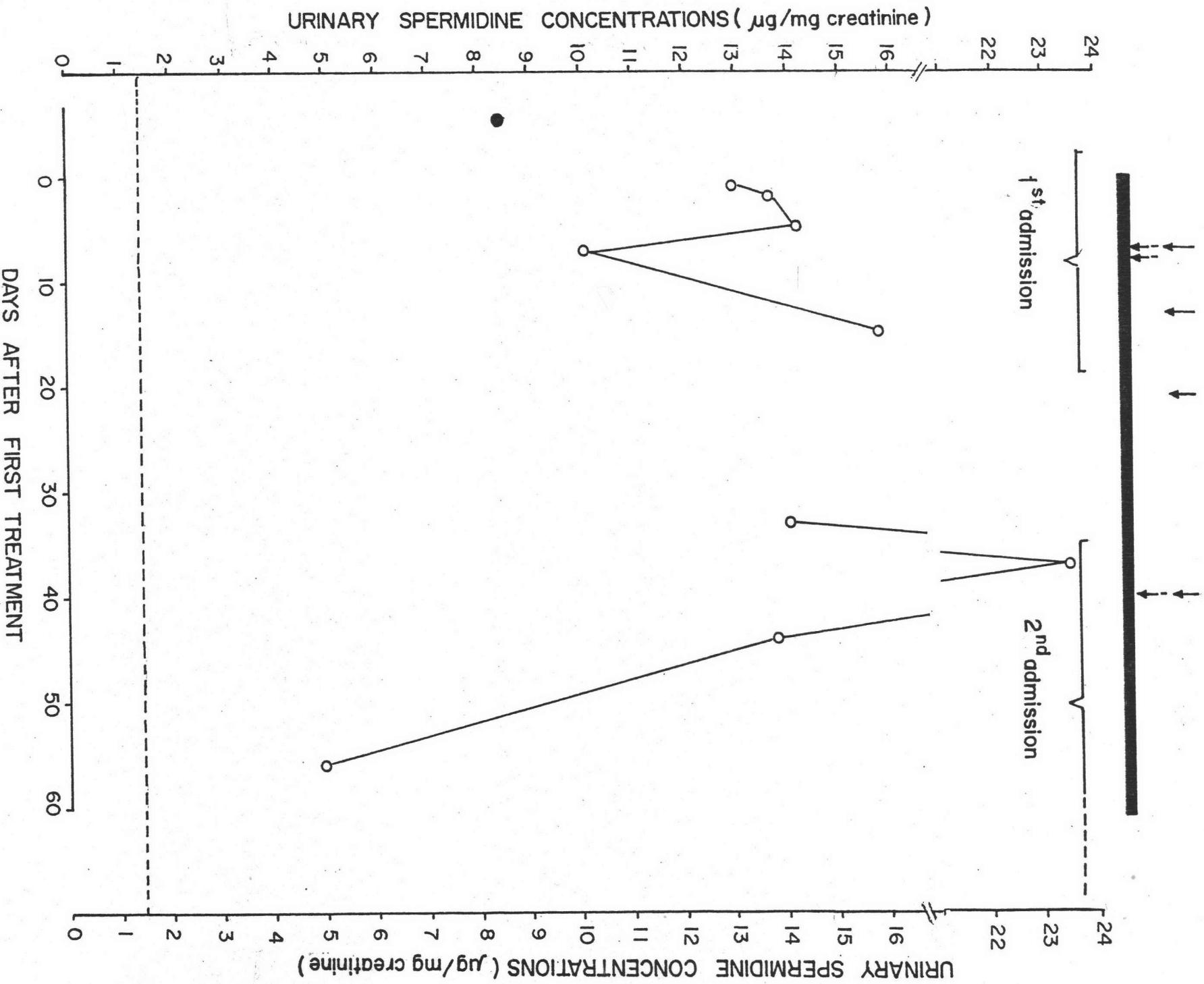
ในระหว่างการรักษาซึ่งตอบสนองต่อเคมีบำบัด ชั้น partial response



- = Urinary spermidine concentration before treatment
- = Urinary spermidine concentration during treatment
- I = Daily oral administration of prednisolone (105 mg) and endoxan (100 mg) and intravenously injected with Ara C (100 mg)
- II = Daily oral administration of prednisolone (100 mg) and endoxan (100 mg) and intravenously injected with Ara C (100 mg)
- ↓ = Intravenously injected with oncovin (1 mg)
- = Normal concentration of urinary spermidine ( $\bar{X} + 2SD$ )

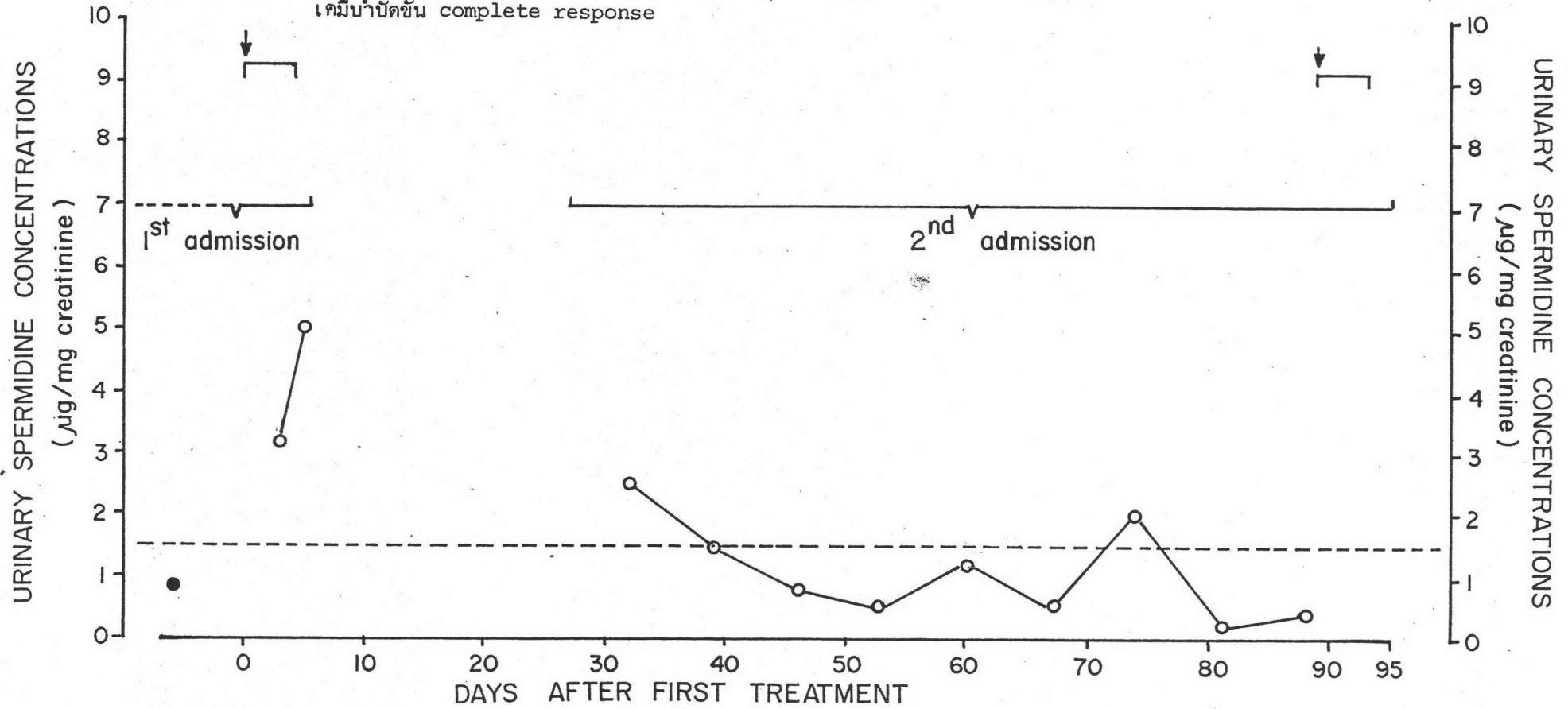


รูปที่ 22 ความเข้มข้นของสเปอรัมิดีนในปัสสาวะของผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวแบบลิมโฟบลาสติก  
ชนิดเฉียบพลันในระหว่างการรักษาซึ่งตอบสนองต่อเคมีบำบัดขั้น partial response



รูปที่ 23

ความเข้มข้นของสเปอริมิดีนในปัสสาวะของผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลัน ในระหว่างการรักษาซึ่งตอบสนองต่อเคมีบำบัดขั้น complete response

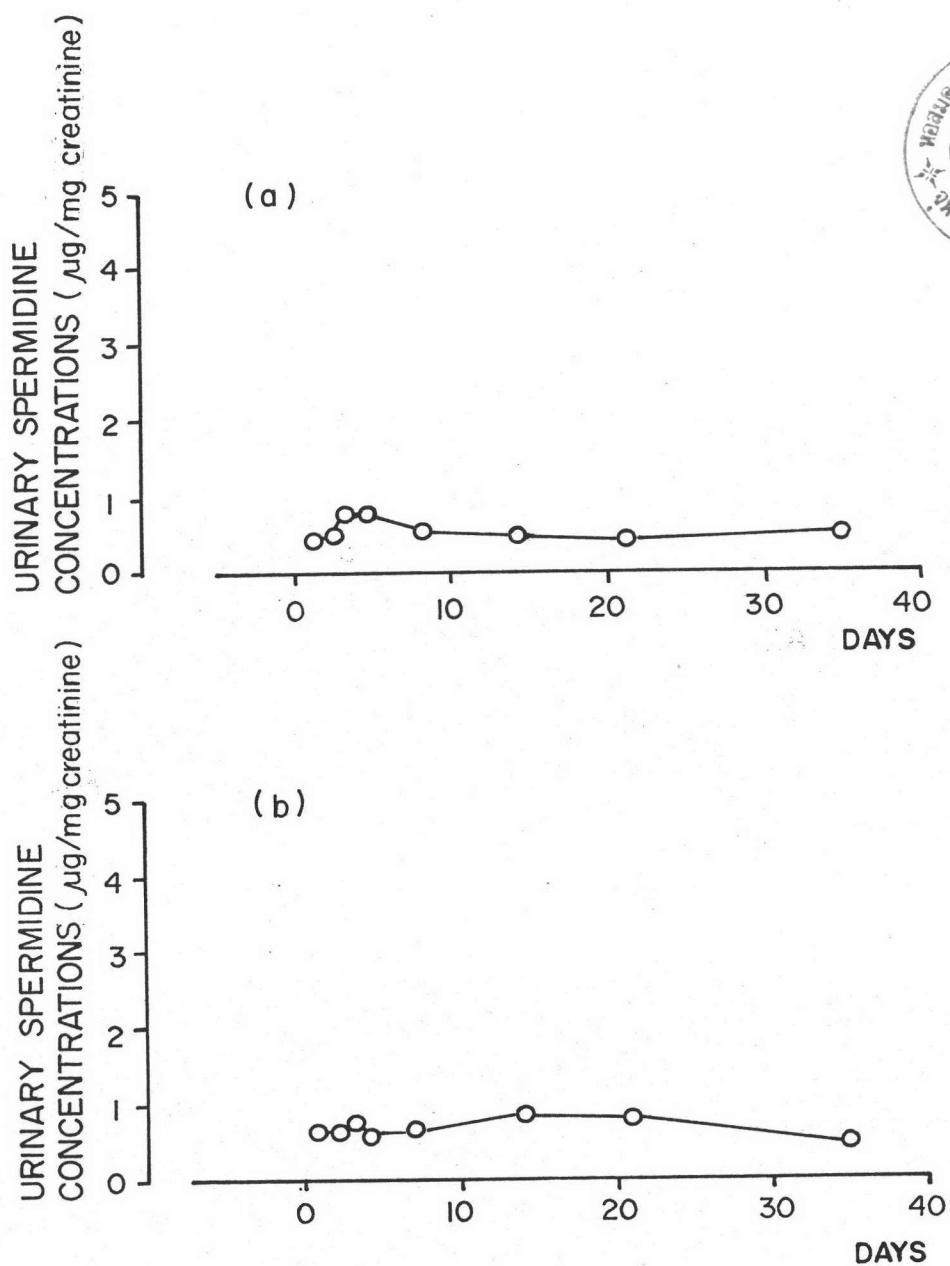


- = Urinary spermidine concentration before treatment
- = Urinary spermidine concentration during treatment
- ┌───┐ = Daily oral administration of prednisolone (100 mg) and endoxan (100 mg) and intravenously injected with Ara C (100 mg)
- ↓ = Intravenously injected with oncovin (1 mg)
- = Normal concentration of urinary spermidine ( $\bar{X} + 2SD$ )

#### 4.7 ความเข้มข้นของสเปอริมิตินในปัสสาวะคนปกติในวันต่าง ๆ กัน

การที่จะทราบว่า การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสเปอริมิตินในปัสสาวะของผู้ป่วยโรค มะเร็งเม็ดเลือดในระหว่างได้รับการรักษา เกิดเนื่องจากผลของการรักษาหรือไม่ จำเป็นต้อง เปรียบเทียบกับการเปลี่ยนแปลงในคนปกติด้วย จึงได้วัดปริมาณสเปอริมิตินในปัสสาวะของ คนปกติ ชาย 2 คน และหญิง 2 คน ซึ่งมีอายุระหว่าง 25-38 ปี โดยวัดปริมาณสเปอริมิตินในปัสสาวะ ในวันต่าง ๆ กัน เช่นวันที่ 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 13, 14, 21, 31, 34 และ 35 วัน ตามลำดับ พบว่าในวันต่าง ๆ กันคนปกติทั้งชายและหญิงมีระดับสเปอริมิตินในปัสสาวะค่อนข้างคงที่ ตลอดระยะเวลาที่ทำการศึกษา ดังแสดงในรูปที่ 24 และ 25

รูปที่ 24 ความเข้มข้นของสเปอ์รมิตินในปัสสาวะของ  
ชายปกติในวันต่างๆ กัน





รูปที่ 25 ความเข้มข้นของลเปอ์รมิตินในปัสสาวะ  
ของหญิงปกติในวันต่าง ๆ กัน

