วิจารณ์ผลการวิจัย

การหาปริมาณฮอร์โมนโดยวิธี RIA ต้องอาศัย specific binding protein ที่มีความเข้มข้นพอเหมาะในการทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการวัดปริมาณ โดยทั่ว ๆ ไปมักเลือกความเข้มข้นของแอนติบอดีที่สามารถจับกับแอนติเจนที่ติดสลากกัมมันตรังสีได้ 50% (Abraham และ Odell 1970, Spieler และคณะ, 1972)

จากการทดลองพบว่าอุณหภูมิมีอิทธิพลต่อปฏิกิริยาการจับตัวระหว่างแอนติบอดีกับแอนติเจน คือ การจับตัวระหว่างแอนติบอดีกับแอนติเจนจะสูงเมื่อเกิดปฏิกิริยาที่ 4°ซ และค่อย ๆ ลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น (รูปที่ 7 หน้า 29) การทดลองนี้ให้ผลคล้ายกับ Yalow และ Berson (1968) ซึ่งพบว่าที่ 4°ซ ค่า equilibrium constant (K) ของปฏิกิริยาระหว่างแอนติบอดีกับแอนติเจนจะสูง ซึ่งค่า K จะมีผลต่อความไวในการวัดและความแม่นยำในการวัดอีกด้วย (Ekins 1970, Yalow และ Berson 1970) ดังนั้นการวิจัยนี้จึงเลือกอินคิวเบทปฏิกิริยาของแอนติบอดีกับสารที่ต้องการวัดไว้ที่ 4°ซ โดยการอินคิวเบทค้างคืน เพราะว่าสดวกในทางปฏิบัติ

การแยก F ออกจาก B ซึ่งมีหลายวิธี การที่จะเลือกวิธีใดต้องแล้วแต่ความเหมาะสม คือต้องแยกได้เร็ว ราคาถูก ทำได้โดยง่าย และข้อสำคัญอีกประการหนึ่งต้องแยก F ออกจาก B ได้เกือบสมบูรณ์ (Ratcliffe 1974) ในการแยกนี้จึงใช้ผงถ่าน 0.625% เคลือบด้วย 0.0625% Dextran T.70 ซึ่งสามารถดูดซับ F ได้ถึง 98% โดยเฉลี่ย ราคาผงถ่านก็ถูกเมื่อเปรียบเทียบกับสารเคมีชนิดอื่น และทำได้โดยง่าย ไม่สิ้นเปลืองเวลาด้วย แต่ต้องเติมผงถ่านในขณะที่หลอดซึ่งทำปฏิกิริยาแช่อยู่ในอ่างน้ำแข็ง Abraham (1974) ได้กล่าวไว้ว่าการแตกตัว (dissociation) ของ bound complex ขึ้นกับความเข้มข้นของผงถ่าน affinity constant ของแอนติบอดี polarity ของสเตอรอยด์ฮอร์โมน เวลาและอุณหภูมิในการเติมผงถ่าน และพบว่าถ้าเติมผงถ่านลงในหลอดซึ่งทำปฏิกิริยาที่มีอุณหภูมิ 0 – 4°ซ เป็นเวลา 1 ชม. จะมีผลต่อการแตกตัวของ bound complex ไม่มากนัก และการวิจัยนี้พบว่าถ้า

แยก F ออกจาก B ที่ 0°ซ จะทำให้ percentage bound ลดลงไม่มากนักในด้านสถิติ ตรงข้ามกับเมื่อแยก F ที่ 30°ซ และ 37°ซ (รูปที่ 10 หน้า 37) แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิเพิ่มขึ้น การแตกตัวของ bound complex เพิ่มขึ้น จึงทำให้ปฏิกิริยาการจับตัวลดลง หรืออาจเนื่องจากอุณหภูมิสูงขึ้นความสามารถในการดูดซับของผงถ่านเพิ่มขึ้น จึงทำให้ bound complex ถูกทำให้แตกตะกอนลงมาด้วย percentage bound ในส่วนที่เป็นน้ำใสจึงลดลง ในการวิจัยนี้ จึงเลือกอุณหภูมิ 0°ซ (แช่ในอ่างน้ำแข็ง) สำหรับการแยก F ออกจาก B ด้วยผงถ่านปริมาณของผงถ่านที่ใช้จากการทดลองพบว่าสารละลายผงถ่าน 0.4% ปริมาตร 0.2 มล. (0.8 มก.) เพียงพอสำหรับแยก F ออกจาก B แม้จะเพิ่มผงถ่านขึ้นเป็น 1% (2 มก.) ก็ไม่ทำให้ปฏิกิริยาการจับตัวแตกต่างกันในทางสถิติ การหาปริมาณ E_2 นี้ อาศัยวิธีการของ Abraham (1971) ซึ่งเลือกใช้ผงถ่านที่มีความเข้มข้น 0.625% เคลือบด้วย 0.0625% Dextran T.70 ซึ่งสอดคล้องตามผลของการทดลอง 4 (หน้า 31) และนอกจากนี้ การวิจัยยังพบว่าผงถ่านต่างบริษัท ก็มีคุณสมบัติในการดูดซับไม่แตกต่างกัน (รูปที่ 9 หน้า 35) นี้คือข้อดีของผงถ่านอีกประการหนึ่ง

เสถียรภาพของสารติดสลากรังสี Abraham และ Odell (1970) ได้เสนอให้เปลี่ยนสารติดสลากกัมมันตรังสีทุก ๆ 3 เดือน เนื่องจากสารติดสลากกัมมันตรังสีมีราคาแพง การวิจัยนี้จึงทดลองใช้ 6, 7 - ^3H - E_2 ซึ่งเก็บไว้นานถึง 1 ปี ที่ −10°ซ กับ 6, 7 - ^3H - E_2 ซึ่งสั่งซื้อมาใหม่ ทำปฏิกิริยากับแอนติบอดี ผลปรากฏว่ามีปฏิกิริยาเหมือนกัน (รูปที่ 12 หน้า 41) นั่นคือสารติดสลากกัมมันตรังสีที่ใช้นี้มีเสถียรภาพดี สามารถเก็บไว้ได้นานถึง 1 ปี

วิธีการที่ใช้วัดปริมาณจะเป็นที่ยอมรับว่าเชื่อถือได้ จะต้องประกอบด้วย (Ekins 1970 และ Abraham 1974)

1. ความจำเพาะในการวัด คือวัดจำเพาะสารที่ต้องการวัดปริมาณเท่านั้น

2. ความแม่นยำในการวัด คือสามารถวัดได้ใกล้เคียงกันทุกครั้งที่มีการวัด (Reproducibility)

3. ความถูกต้องในการวัด คือวัดได้ใกล้เคียงกับค่าที่เป็นจริง

4. ความไวในการวัด คือความสามารถที่จะวัดได้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ ๆ

นอกจากนี้ยังต้องคำนึงถึงด้านการปฏิบัติงานด้วย คือขั้นตอนในการทำยุ่งยากแค่ไหน ใช้เวลาและงบประมาณเท่าไร เป็นต้น

ความจำเพาะในการวัดปริมาณ E_2 โดยวิธี RIA นี้ จะสูงเพราะว่า อาศัยคุณสมบัติเฉพาะของแอนติบอดี (Ekins 1970) ในการวิจัยนี้ใช้แอนติบอดีที่ได้จากการฉีด Estradiol - 17β - monohemisuccinate - human - serum - albumin เข้าไปในแกะตัวเมีย แอนติบอดีที่ได้นี้มีความจำเพาะต่ำกว่าแอนติบอดีที่ได้จากแอนติเจน conjugate โปรตีนที่ตำแหน่งคาร์บอน 6 และ 11 (Doerr และคณะ 1973 และ England กับคณะ 1974) แต่ก็มีความจำเพาะสูงกว่าแอนติบอดีที่ได้จากแอนติเจน conjugate โปรตีนที่ตำแหน่งคาร์บอน 3 (Thorneycroft และคณะ 1970) แอนติบอดีที่ใช้ในการวิจัยนี้มี cross reaction กับ E_1 35% สเตอรอยด์ฮอร์โมนอื่น ๆ และ contraceptive steroids จะมีปฏิกิริยากับแอนติบอดีเพียงเล็กน้อย (Abraham, 1969 และ Kharma กับคณะ 1972) ดังนั้นในการวิจัยนี้จึงต้องทำ chromatography ก่อนวัดปริมาณ Chromatographic technique มีหลายแบบ เช่น Thin layer chromatography (Corker และคณะ 1970, และ Hawkin กับคณะ 1972) ใช้ Sephadex LH 20 (Carr และคณะ 1971, Wu และคณะ 1971 และ Wright กับคณะ 1973) ใช้ partition chromatography โดยใช้ Celite เป็นตัวยึด Ethylene glycol ซึ่งทำหน้าที่เป็น stationary phase (Korenman และคณะ, 1969,1970 Abraham และคณะ 1970a, Robertson และคณะ 1972) ในการวิจัยนี้ใช้ Celite microcolumn แยก E_1 ออกจาก E_2 ก่อนวัดปริมาณ

เหตุผลที่ใช้ Celite microcolumn เพราะว่า

1. เตรียม column ง่าย และใช้ได้ทันทีเมื่อเตรียม column เสร็จ จึงสดวกกว่าใช้ Sephadex LH 20 ซึ่งต้องรอให้ gel ถึงสมดุลย์ก่อนโดยการแช่ gel ไว้ค้างคืน (Wu และคณะ,1971)

2. หลังจากใช้แล้ว นำกลับมาเผาที่อุณหภูมิ 550 °ซ แล้วนำกลับมาใช้ได้อีก (Tulchinsky และ Abraham 1971) ในการวิจัยนี้ก็นำกลับมาใช้เช่นกัน ผลที่ได้เหมือนกับใช้ Celite ใหม่ จึงเป็นการประหยัด

3. ใช้เวลาทำไม่นานเพียง $1\frac{1}{2}$ ช.ม. เท่านั้น ในขณะที่ใช้ Sephadex LH 20แยกต้องใช้เวลามากกว่า 2 ชั่วโมงขึ้นไป (Mikhail และคณะ 1970 และ Wu และคณะ,1971)

4. มีความสามารถในการแยกสูง (high power of resolution) คือ สามารถแยก E_1 ออกจาก E_2 ได้อย่างสมบูรณ์ (ตารางที่ 3 หน้า 49) และค่า percent recovery อยู่ในช่วง 60-81% Robertson และคณะ (1972) ใช้วิธีเหมือนกันแยกได้ percent recovery เฉลี่ย 70 ส่วน Mikhail และคณะ (1970) แยกโดยใช้ Sephadex LH 20 ได้ percent recovery 70-90 ส่วน Corker และ Exley (1970) ใช้ T.L.C. แยก percent recovery เฉลี่ย 56% แสดงให้เห็นว่าการวิจัยนี้ได้ percent recovery อยู่ในขั้นที่พอใจ

5. ใช้ตัวทำละลาย (Solvent) ในการ elute น้อยกว่าเมื่อเทียบกับใช้ Sephadex LH 20 Mikhail และคณะ (1970) ใช้ตัวทำละลายล้าง column 300-400 มล. เพื่อไล่สิ่งแปลกปลอมที่อยู่ใน column ก่อนการทำ chromatography นอกจากนี้ Celite ยังให้ค่า blank ต่ำ ไม่เกิน 10 ไมโครกรัม (ตารางที่ 4 A หน้า 55)

การวัดจะเชื่อถือได้เมื่อสารที่สกัดได้จากน้ำเหลืองมีปฏิกิริยาต่อแอนติบอดีเหมือนกับสารมาตรฐาน (Yalow และ Berson 1968 และ Albano กับ Ekins 1970) ในการวิจัยนี้ใช้น้ำเหลืองของสตรีตั้งครรภ์ 5 เดือน เพราะว่ามีปริมาณ E_2 มากกว่าในสตรีปกติ ผลปรากฏว่าหลังการทำ Celite microcolumn dilution curve จะขนานกับ

กราฟมาตรฐาน E_2 (รูปที่ 15 หน้า 51) นั่นคือสารที่สกัดจากน้ำเหลืองแล้วทำให้บริสุทธิ์ด้วย celite microcolumn มี immunological properties เหมือนกับสารมาตรฐาน E_2 แต่เมื่อลองทำ dilution curve ของ E_2 ซึ่งได้จากการสกัดจากน้ำเหลืองของสตรีมีครรภ์ แต่ใช้แอนติบอดี A# 0012 ซึ่งมีความจำเพาะสูงกว่า S-52#5 แทน (รูปที่ 13 และ 14 หน้า 43 และ 44) ผลปรากฏว่ากราฟที่ได้ไม่ขนานกัน (รูปที่ 16 หน้า 52) คือจะแยกห่างจากกราฟมาตรฐานที่ความเข้มข้นของ E_2 ต่ำ แต่ถ้าความเข้มข้น E_2 สูงขึ้นจะเบนเข้าใกล้ชิดกัน นั่นคือความเข้มข้นสูงจะสามารถใช้แอนติบอดี A# 0012 วัดได้โดยไม่ต้องผ่าน chromatography การทดลองนี้จึงเป็นข้อสนับสนุนว่า แอนติบอดีแม้จะมีความจำเพาะสูงเพียงใดก็ตาม ก็ยังจำเป็นต้องทำ chromatography เมื่อต้องการจะวัดให้ได้ค่าถูกต้องมากขึ้น (Cameron และคณะ, 1972)

ความแม่นยำในการวัด ได้จากการทดลองวัด pool serum 2 ครั้ง ๆ ละ 10 ตัวอย่าง (การทดลองที่ 12 หน้า 53) ผลปรากฏว่า pool B ซึ่งมีความเข้มข้นของ E_2 มาตรฐาน 100 พิโคกรัม/มล. วัดได้ใกล้เคียงกัน (137 กับ 106 พิโคกรัม/มล.) ค่า C.V. ในการวัดแบบ intraassay เฉลี่ย 16% และเมื่อวัดค่า pool C ซึ่งมีความเข้มข้นของ E_2 มาตรฐาน 500 พิโคกรัม/มล. ค่าที่วัดได้ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ (495 และ 496 พิโคกรัม/มล.) ค่า C.V. ในการวัดแบบ intraassay เฉลี่ย 8.6% และเมื่อหาค่า C.V. ของ interassay เฉลี่ย 17% ค่า C.V. ในการวัดแบบ intraassay ของ Abraham (1974) 9.2% และค่า C.V. ในการวัดแบบ interassay เฉลี่ย 16.8% ส่วน Mikhail และคณะ (1970) ใช้ RIA หา E_2 เช่นกัน ค่า C.V. จากการวัด 100 พิโคกรัม/มล. เท่ากับ 14% และ 17% เมื่อวัดค่า E_2 ที่มีความเข้มข้น 1 แนนโนกรัม/มล. แสดงให้เห็นว่าวิธีการวัด E_2 ของการวิจัยนี้มีผลเชื่อถือได้

ความถูกต้องในการวัด มีผลมาจากความแม่นยำในการวัดและความจำเพาะในการวัด (Ekins 1970) เพราะฉะนั้น ความถูกต้องในการวัดจึงเป็นข้อสนับสนุนว่า วิธีการที่ใช้วิจัยนี้ มีความจำเพาะในการวัด และความแม่นยำในการวัด ในการวิจัยนี้จึงวัด E_2 จากน้ำเหลืองผู้ชาย แล้วเติมสารละลายมาตรฐาน E_2 50 พิโคกรัม, 100 พิโคกรัม

จนกระทั่งถึง 1000 พิโคกรัม ตารางที่ 5 (หน้า 59) แล้วทำการวัดตามวิธีการที่กล่าวมาแล้ว ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่า วิธีการที่ใช้นี้เชื่อถือได้ % recovery เฉลี่ย 84 และค่า C.V. ไม่เกิน 11% และเมื่อใช้น้ำเหลืองนี้วัดปริมาณ E_2 โดยไม่ผ่านวิธี chromatography แต่ใช้แอนตีบอดี $A^{\#}$ 0012 ผลสอดคล้องกับการทดลอง 11 (หน้า 50) คือความเข้มข้นของ E_2 ในน้ำเหลืองผู้ชายวัดได้ 99 พิโคกรัมต่อ 1 มล. ซึ่งสูงกว่าค่าที่วัดได้หลังจากผ่าน Celite microcolumn นั่นแสดงว่าแอนตีบอดี $A^{\#}$0012 ซึ่งเป็นแอนตีบอดีที่ได้จากแอนตีเจน conjugate โปรตีนตำแหน่งคาร์บอน 6 มีความจำเพาะไม่สูงพอสำหรับจะวัดปริมาณ E_2 โดยไม่ทำ chromatography ค่าที่วัดได้สูงกว่า อาจเนื่องจากในน้ำเหลือง มี 6-substituted E_2 derivative แย่งทำปฏิกิริยากับแอนตีบอดี (England และคณะ, 1974) และในการวิจัยนี้ยังได้ทดสอบความจำเพาะของแอนตีบอดี $A^{\#}$0012 และพบว่ามี cross reaction กับ 16-Epiestriol ถึง 12.5% แม้จะมี cross reaction กับ E_1 ต่ำเพียง 1.23% ก็ตาม จึงอาจสรุปได้ว่า ถ้าใช้แอนตีบอดีที่ได้จาก 6 conjugate แอนตีเจน จะต้องทำ chromatography ก่อนการวัดปริมาณ การทดลองนี้สอดคล้องกับผลของ England และคณะ (1974)

ความไวในการวัด แบ่งออกเป็น 2 แบบ คือ

1. ความไวในการวัดของกราฟมาตรฐาน หมายถึงการหาค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานที่จุดไม่มีความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน แล้วหาค่า 95% confidence limit ที่จุดนี้ว่ามีความเข้มข้นเท่าไร ความเข้มข้นที่ได้นี้จะเป็นความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่อ่านได้จากกราฟมาตรฐาน (Abraham 1969, 1974, Vermeulen และ Verdonck 1970, Wilson และคณะ 1971) ความไวในการวัดแบบนี้ จึงขึ้นกับความแม่นยำในการวัด แต่ Ekins (1970) ได้เสนอว่า ความไวในการวัดขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารรังสีและแอนตีบอดีซึ่งต้องมีสัดส่วนพอเหมาะกับสารที่ต้องการวัดปริมาณ specific activity ของสารติดสลากรังสี และค่า K ของปฏิกิริยาระหว่างแอนตีบอดีกับแอนตีเจน และยังได้เสนอสูตรการคำนวณความไวในการวัดไว้ด้วย (Albano และ Ekins 1970)

2. ความไวในการวัดฮอร์โมนจากน้ำเหลืองขึ้นอยู่กับ

2.1 ความไวในการวัดของกราฟมาตรฐาน

2.2 recovery ของฮอร์โมนหลังจากผ่านขบวนการทำให้บริสุทธิ์

2.3 blank

ถ้า blank ต่ำ และค่า recovery สูง ความไวในการวัดก็จะเพิ่มขึ้นคือสามารถวัดได้ที่มีความเข้มข้นน้อย ๆ (Abraham 1974)

ในการวิจัยนี้ ถ้าดูจากกราฟมาตรฐาน (รูปที่ 12 หน้า 41) แล้วคำนวณโดยอาศัยการหาค่า 95% confidence limit ที่จุดไม่มีความเข้มข้นของ E_2 จะได้ว่าความไวในการวัดของกราฟมาตรฐาน 5 – 10 พิโคกรัม และความไวในการวัด E_2 จากน้ำเหลืองอาจดูได้จากการวัดปริมาณ E_2 จากน้ำเหลืองของผู้ชาย ซึ่งปรากฏว่าวัดได้ต่ำกว่า 10 พิโคกรัม หรือเทียบเท่ากับ 27 พิโคกรัม/มล. แสดงให้เห็นว่าความไวในการวัดของวิธี RIA นี้สูงกว่าวิธีทางเคมี

การหาปริมาณ E_2 ในน้ำเหลืองโดยวิธีนี้ นอกจากจะให้ผลดีดังกล่าวข้างต้นแล้ว ยังสามารถทำได้โดยง่าย ไม่มีขั้นตอนยุ่งยาก เพียงแต่ต้องมีความระมัดระวังในเรื่องการ pipette เท่านั้นก็พอ เวลาในการอินคิวเบทสามารถลดลงได้โดยการเพิ่มอุณหภูมิจาก 4°ซ ไปเป็น 37°ซ จะเหลือเวลาในการอินคิวเบทเพียง 30 นาที แล้วเก็บไว้ในตู้เย็น 4°ซ อีก 20 นาทีก่อนเติมผงถ่านแยก F ออกจาก B (ทำแล้วในโครงการวิจัย WHO จุฬาฯ)

ข้อเสียของวิธีนี้คือ

1. สารเคมีที่ใช้ทำ scintillator มีราคาค่อนข้างแพง ทำให้การวัดปริมาณ E_2 ของ 1 ตัวอย่าง มีราคาประมาณ 50 บาท (ต้องทำมากกว่า 30 ตัวอย่าง)

2. เครื่องมือราคาค่อนข้างแพง แต่ถ้าเปรียบเทียบกับวิธีอื่น ๆ เช่นวิธีทางเคมี ก็ใช้เครื่องมือราคาไม่ถูกกว่ามากนัก แต่ถ้าคิดถึงความไวในการวัด ความถูกต้องและความแม่นยำในการวัดแล้ว ราคาของเครื่องมือจะไม่แพงเลย

3. ต้องใช้เวลาในการสร้างภูมิคุ้มกัน (immunization) ขึ้นในสัตว์ทดลองเพื่อจะได้แอนติบอดีเป็น specific binding protein

การหาปริมาณ E_2 ในน้ำเหลืองสตรีไทยที่มีรอบเดือนปกตินี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อจะหาวิธีการที่มีความเชื่อถือได้ และมีความไวในการวัดสูง สามารถวัดปริมาณ E_2 ในน้ำเหลืองของสตรีที่ไม่ตั้งครรภ์ได้ และเพื่อที่จะหาระดับความเข้มข้นของ E_2 ในสตรีไทยที่มีรอบเดือนปกติ ผลที่ได้นี้จะเป็นข้อมูลสำหรับสูติแพทย์ในการวินิจฉัยโรคที่ผิดปกติทางระบบสืบพันธุ์

ระดับความเข้มข้นของ E_2 สูงขึ้นถึงระดับหนึ่ง จะกระตุ้นให้ LH หลั่งเพิ่มขึ้นเป็น peak กลางรอบเดือน การศึกษาระดับ E_2 อาจทำให้เข้าใจถึงกลไกการตกไข่ (Baird และ Guevara 1969 และ Korenman กับคณะ, 1969) Burger, Catt และ Brown (1968) พบว่าเอสโตรเจนในปัสสาวะจะสูงขึ้นเป็น peak ก่อนหรือพร้อมกับ LH peak ในน้ำเหลือง แต่ความเข้มข้นของ E_2 ในน้ำเหลืองจะสูงขึ้นก่อนเอสโตรเจนในปัสสาวะ ต่อมามีรายงานสนับสนุนว่า E_2 peak ขึ้นก่อน LH peak 48 ชม. และโดยทั่ว ๆ ไปเกิดขึ้นก่อน 24 ชม. (Corker, Naftolin และ Exley 1969, Korenman และ Sherman 1973) ในการวิจัยนี้พบว่าในสตรีที่มีรอบเดือนปกติจะมี E_2 peak ขึ้นก่อน 1 วัน หรือขึ้นพร้อมกับ LH peak ปริมาณ E_2 เริ่มขึ้นตั้งแต่วันที่ 8 หลังจากเริ่มมีประจำเดือนมา และสูงขึ้นเป็น peak ในวันที่ 12 – 15 ของรอบเดือน แล้วจะลดต่ำลง หลังจากนั้นจะเริ่มสูงขึ้นอีกในวันที่ 20 – 24 ของรอบเดือน ระดับความเข้มข้นของ E_2 ในช่วงต้นของรอบเดือน (วันที่ 2 และ 8 ของรอบเดือน) มีค่า 25 – 226 พิโคกรัม/มล. เฉลี่ย 87 พิโคกรัม/มล. E_2 peak กลางรอบเดือนมีค่า 177 – 552 พิโคกรัม/มล. เฉลี่ย 431 พิโคกรัม/มล. และ peak ใน midluteal phase มีค่า 77 – 326 พิโคกรัม/มล. เฉลี่ย 254 พิโคกรัม/มล. Saxena และคณะ (1974) สรุปว่าลักษณะการเปลี่ยนแปลงของระดับ E_2 และความเข้มข้นของ E_2 ในสตรีไทยที่มีรอบเดือนปกติ ไม่แตกต่างกับสตรีชาวตะวันตกที่เคยมีรายงานมาแล้ว

การศึกษาในทางการแพทย์ที่อาศัยข้อมูลของ E_2 นั้น ควรจะพิจารณาจากรูปลักษณะการเปลี่ยนแปลงระดับ E_2 เป็นสำคัญมากกว่าที่จะดูระดับความเข้มข้น (absolute value) ของ E_2 ที่ระยะเวลาใดเวลาหนึ่ง