

ผลการทดลอง

1. ผลการทดลอง การหาปริมาณ Fuller's earth ที่เหมาะสม เพื่อแยก free cortisol จาก bound cortisol

ทำการทดลองโดยใช้ Fuller's earth ปริมาณต่าง ๆ กับ ไนแยก free ^3H -cortisol จาก 0.04 $\mu\text{ci/ml}$ ของ ^3H -cortisol ในน้ำกลั่น และ 0.04 $\mu\text{ci/ml}$ ของ ^3H -cortisol ในพลาสมาความเข้มข้น 20 %

เขียนกราฟระหว่างปริมาณของ Fuller's earth กับ % ของ ^3H -cortisol ที่ถูกแยกโดย Fuller's earth ระยะห่างที่สุดของกราฟที่ใช้น้ำและพลาสมา 20 % จะเป็นปริมาณของ Fuller's earth ที่เลือกใช้ในการทดลองนี้ คือ 12 มิลลิกรัม

ผลการทดลองแสดงไว้ในรูปที่ 3 หน้า 16

2. ผลการทดลอง การเปลี่ยนแปลงปริมาณ Fuller's earth ที่มีผลต่อกราฟมาตรฐาน

ทำการทดลองตามวิธีข้อ 6 หน้า 11

Fuller's earth ที่ใช้ปริมาณต่าง ๆ กันคือ 5, 12, 20 และ 30 มิลลิกรัม

ผลการทดลองแสดงไว้ในรูปที่ 4 หน้า 17

กราฟมาตรฐานจะแบนเมื่อเพิ่มปริมาณของ Fuller's earth และจะชันเมื่อ

ปริมาณของ Fuller's earth ลดลง

การใช้ Fuller's earth ปริมาณ 20 และ 30 มิลลิกรัมแยก free cortisol จาก bound cortisol ให้กราฟที่แบนไม่เหมาะสมที่จะใช้เป็นกราฟมาตรฐาน

กราฟมาตรฐานที่ใช้ Fuller's earth 5 และ 12 มิลลิกรัมมีลักษณะคล้ายคลึงกัน

3. ผลการทดลองการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่มีผลต่อการแยก free cortisol จาก bound cortisol โดย Fuller's earth ปริมาณ 12 มิลลิกรัม

ทำการทดลองตามวิธีข้อ 6 หน้า 11

อุณหภูมิที่ใช้ คือ 0°C, 10°C, 37°C และ 45°C

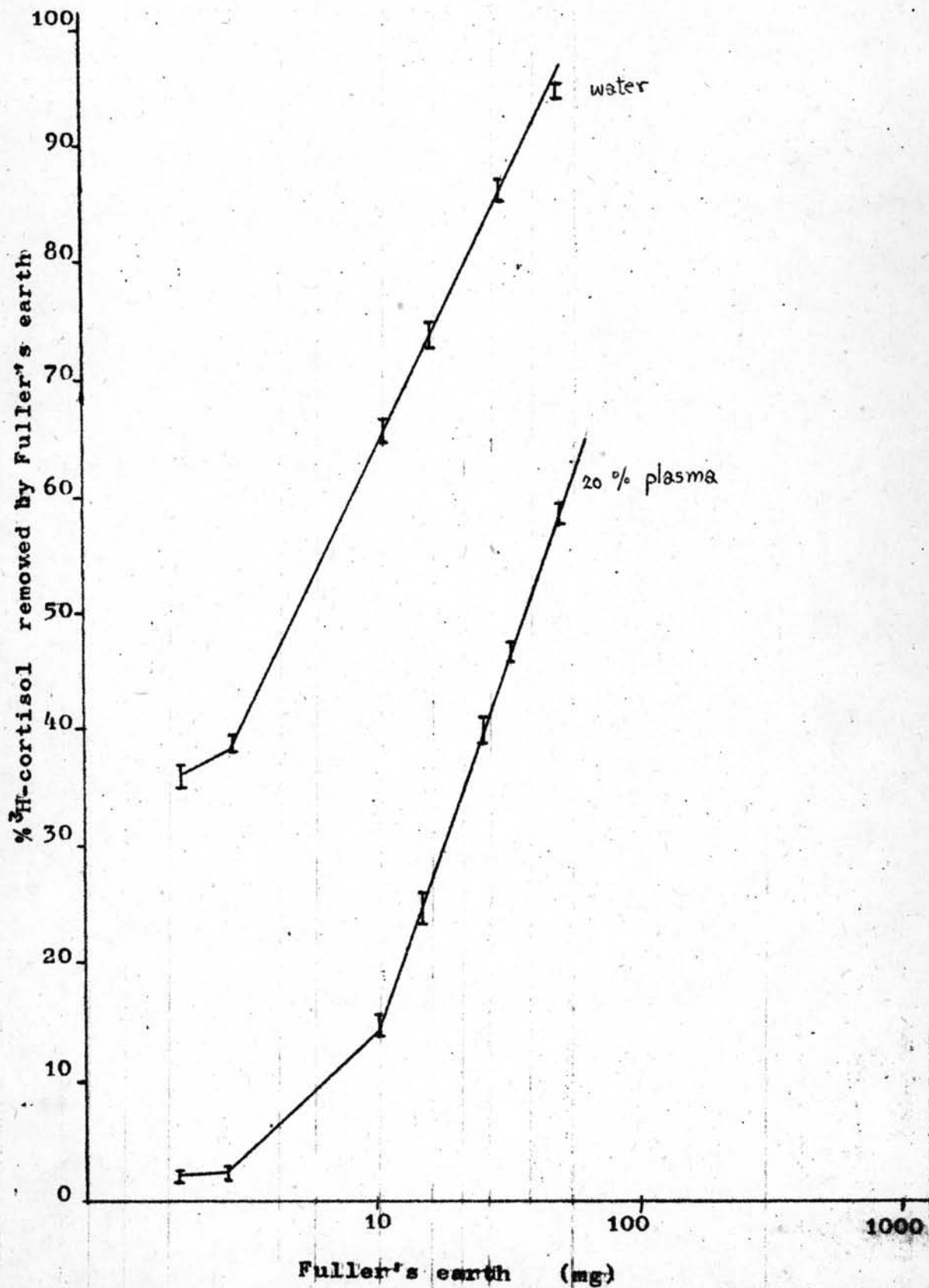
ผลการทดลองแสดงไว้ในรูปที่ 5 หน้า 18

กราฟมาตรฐานจะแบนเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น

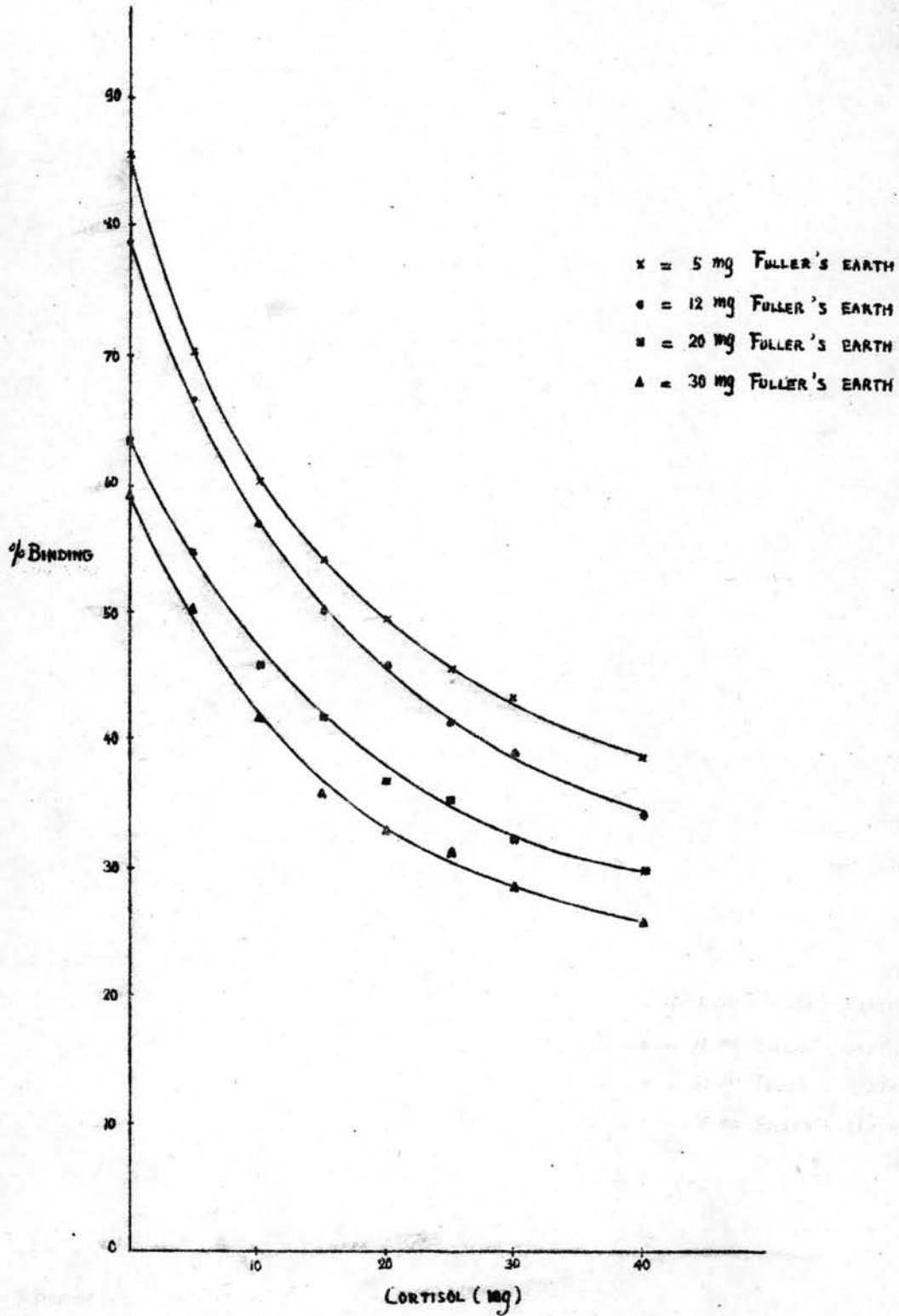
ที่อุณหภูมิ 37°C และ 45°C ให้กราฟที่แบนไม่เหมาะสมที่จะใช้เป็นกราฟมาตรฐาน

006005

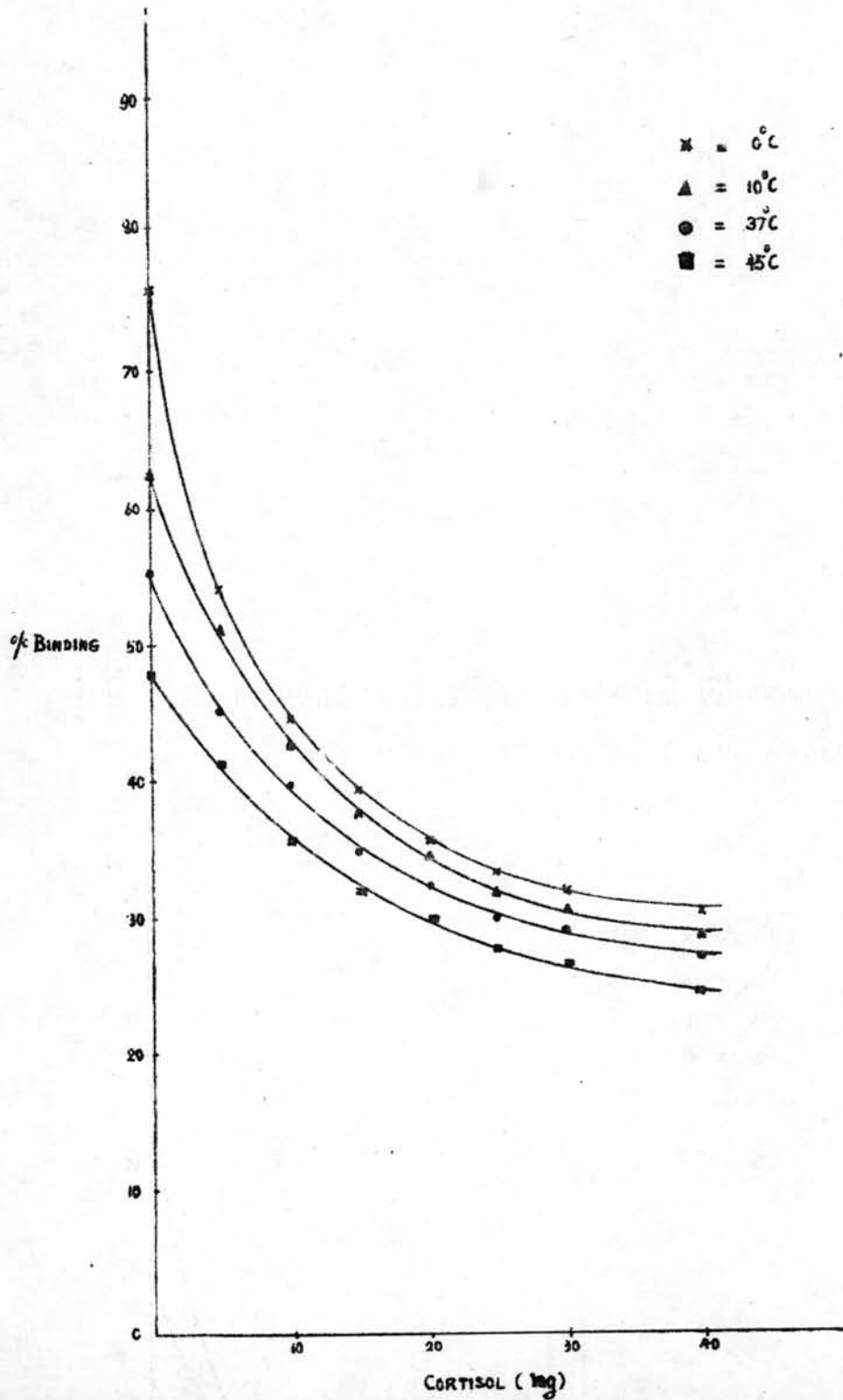
รูปที่ ผลการทดลอง การหาปริมาณ Fuller's earth ที่เหมาะสม เพื่อแยก free cortisol จาก bound cortisol



รูปที่ 4 ผลการทดลองการเปลี่ยนแปลงปริมาณ Fuller's earth ที่มีต่อ
กราฟมาตรฐาน



รูปที่ 5 ผลการทดลองการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ที่มีผลต่อการแยก free cortisol จาก bound cortisol โดย Fuller's earth 12 mg



ที่อุณหภูมิ 0°C และ 10°C ให้กราฟมาตรฐานที่มีลักษณะคล้ายคลึงกัน

4. ผลการทดลอง การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ CBG ที่มีผลต่อกราฟมาตรฐาน

ทำการทดลองตามวิธีข้อ 6 หน้า 11

CBG ที่ใช้ทำการทดลอง มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน คือมีผลาสมา 2.5%, 5%, 10%

และ 15 %

ผลการทดลองแสดงไว้ในรูปที่ 6 หน้า 20

กราฟมาตรฐานจะเบน เมื่อความเข้มข้นของผลาสมาสูงขึ้น

การใช้ CBG ที่มีความเข้มข้นของผลาสมา 10% และ 15% ให้กราฟที่เบนไม่เหมาะสมที่จะใช้เป็นกราฟมาตรฐาน

กราฟมาตรฐานที่ใช้ความเข้มข้นของผลาสมา 2.5% และ 5% มีลักษณะคล้ายคลึงกัน

5. ผลการทดลอง การเปลี่ยนแปลงเวลาในการอินคิวเบต ที่มีผลต่อกราฟมาตรฐาน

ทำการทดลองตามวิธีข้อ 6 หน้า 11

เวลาในการอินคิวเบตที่ใช้ในการทดลองนี้ คือ 10, 15, 20 และ 30 นาที

ผลการทดลองแสดงไว้ในรูปที่ 7 หน้า 21

กราฟไม่ได้แตกต่างกันมากเมื่อเปลี่ยนแปลงเวลาในการอินคิวเบต ในการทดลองนี้เลือกใช้เวลาที่สั้นที่สุด คือ 10 นาที

6. กราฟมาตรฐาน

ทำการทดลองตามวิธีข้อ 6 หน้า 11

ปริมาณ Fuller's earth ที่ใช้ คือ 12 มิลลิกรัม

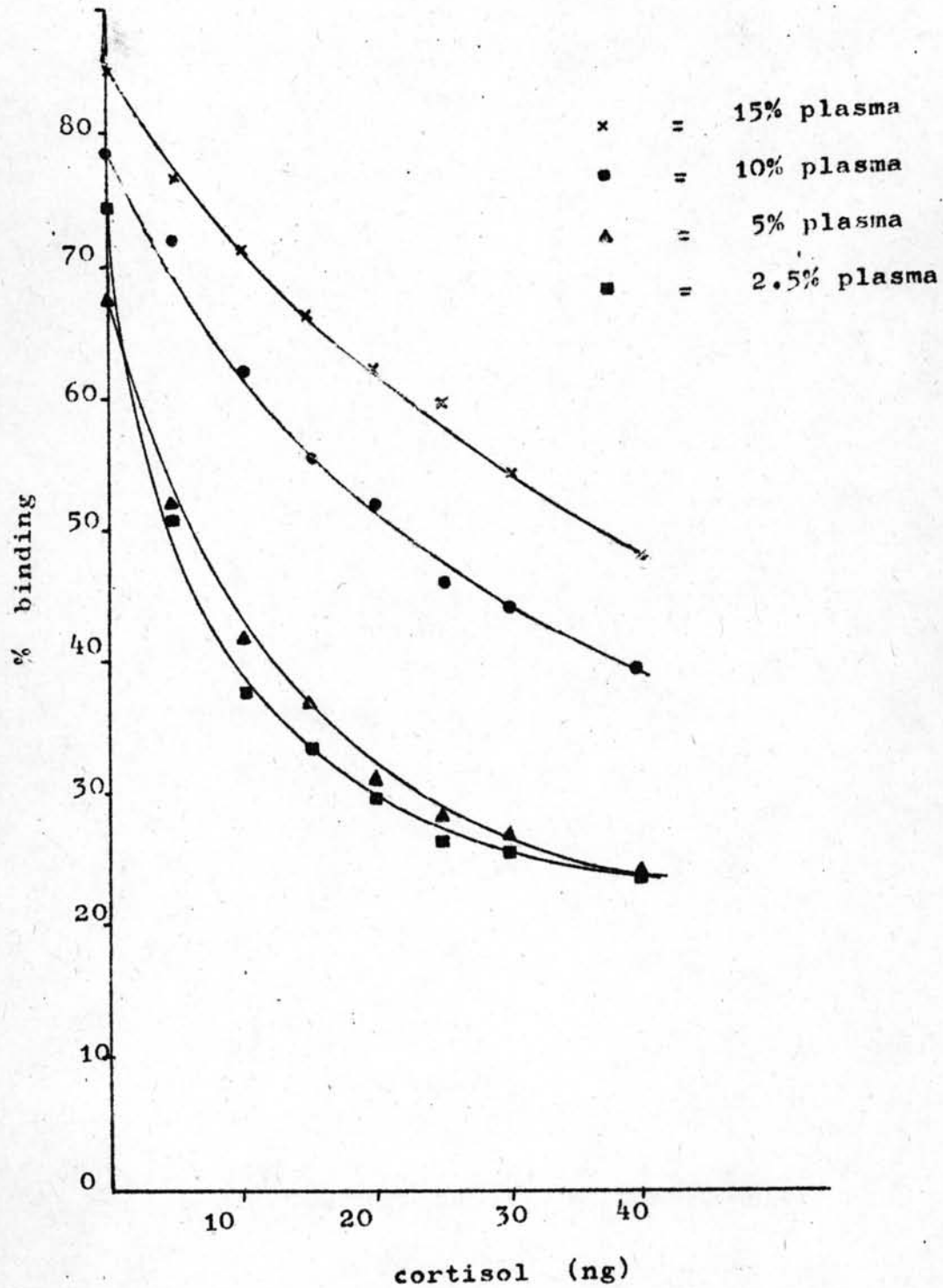
อุณหภูมิที่ใช้ในการอินคิวเบต คือ 10°C

เวลาที่ใช้ในการอินคิวเบต คือ 10 นาที

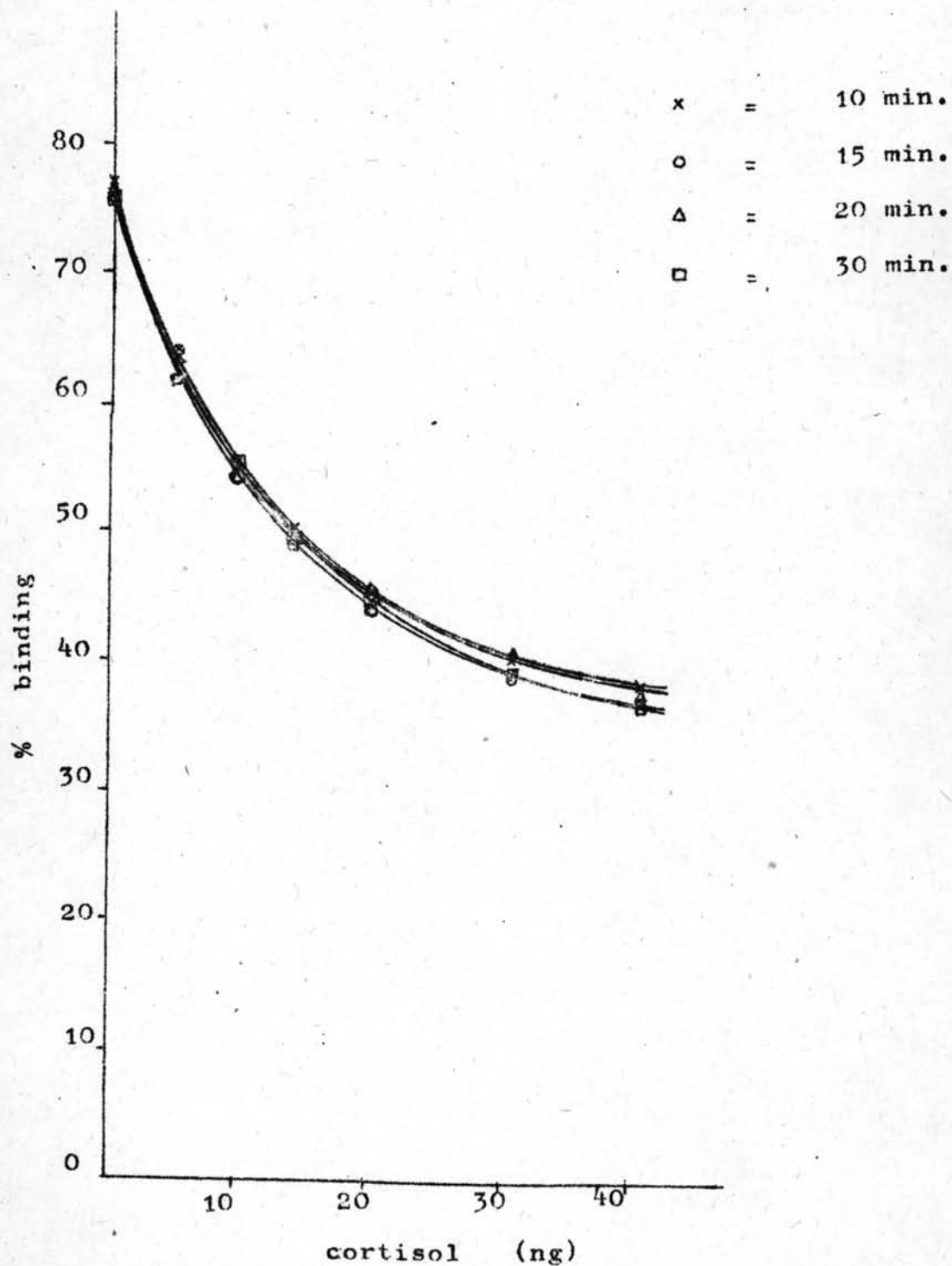
ความเข้มข้นของผลาสมาใน CBG คือ 5 %

ผลการทดลองแสดงไว้ในรูปที่ 8 หน้า 22

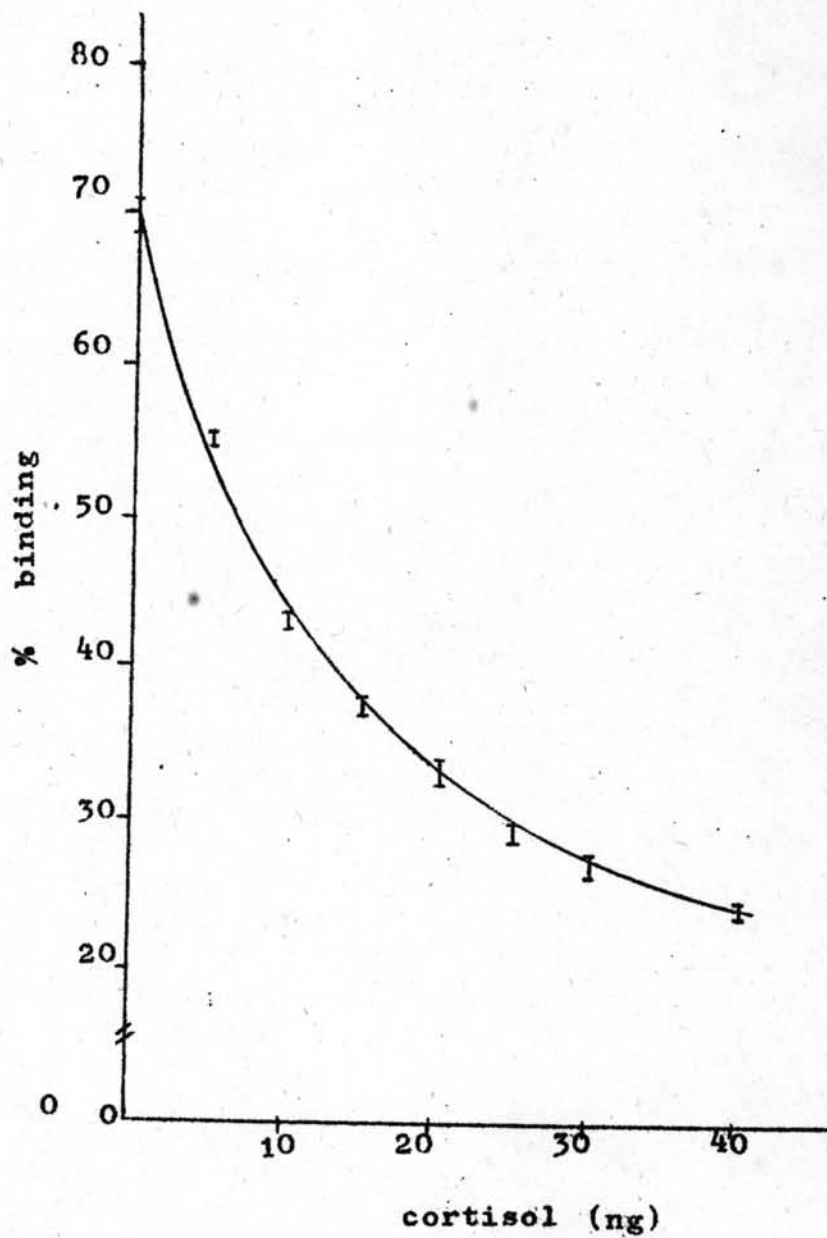
รูปที่ 6 ผลการทดลองการเปลี่ยนแปลง ความเข้มข้นของ CBG ที่มีต่อกราฟมาตรฐาน



รูปที่ 7 ผลการทดลอง การเปลี่ยนแปลงเวลาในการอินคิวเบต ที่มีผลต่อกราฟมาตรฐาน



รูปที่ 8 กราฟมาตรฐานสำหรับใช้หาปริมาณคอร์ติซอล



7. % Recovery เปรียบเทียบของกราฟมาตรฐานที่ทำในสถานะต่าง ๆ

7.1 กราฟมาตรฐานที่ใช้

- Fuller's earth 5 มิลลิกรัม
- อินคิวเบทที่ 10°C
- CBG ที่มีความเข้มข้นของพลาสมา 5 %

ปริมาณคอรัลที่เดิม (นาโนกรัม)	ปริมาณที่วัดได้ (นาโนกรัม)	% Recovery
5.00	4.50	90.00
10.00	7.50	75.00
15.00	9.75	65.00
20.00	10.50	52.50
30.00	14.50	48.33
40.00	15.50	38.75

7.2 กราฟมาตรฐานที่ใช้

- Fuller's earth 12 มิลลิกรัม
- อินคิวเบทที่ 0°C
- CBG ที่มีความเข้มข้นของพลาสมา 5 %

ปริมาณคอรัลที่เดิม (นาโนกรัม)	ปริมาณที่วัดได้ (นาโนกรัม)	% Recovery
5.00	4.50	90.00
10.00	8.00	80.00
15.00	11.00	73.33
20.00	13.00	65.00
30.00	18.50	61.67
40.00	25.50	63.87

7.3 กราฟมาตรฐานที่ใช้

- Fuller's earth 12 มิลลิกรัม
- อินคิวเบทที่ 10°C
- CBG ที่มีความเข้มข้นของพลาสมา 2.5 %

ปริมาณคอรัทีซอลที่เติม (นาโนกรัม)	ปริมาณที่วัดได้ (นาโนกรัม)	% Recovery
5.00	4.50	90.00
10.00	6.00	60.00
15.00	7.00	46.70
20.00	8.50	42.50
30.00	12.00	40.00
40.00	15.50	38.75

7.4 กราฟมาตรฐานที่ใช้

- Fuller's earth 12 มิลลิกรัม
- อินคิวเบทที่ 10°C
- CBG ที่มีความเข้มข้นของพลาสมา 5 %

ปริมาณคอรัทีซอลที่เติม (นาโนกรัม)	ปริมาณที่วัดได้ (นาโนกรัม)	% Recovery
5.00	5.50	110.00
10.00	9.50	95.00
15.00	12.10	80.67
20.00	14.50	72.50
30.00	22.00	73.33
40.00	26.50	66.25

จากผลการทดลอง พบว่ากราฟมาตรฐานที่ใช้ Fuller's earth มีลักษณะที่ดีกว่า กราฟมาตรฐานในสถานะอื่น
 ที่ใช้ในการอินคิวเมท 10°C และความเข้มข้นของพลาสมาใน CBG 5% มี % Recovery สูงใน
 ช่วงกว้างกว่า กราฟมาตรฐานในสถานะอื่น

8. Sensitivity

ตารางที่ 1 Sensitivity study

Cortisol (ng)	Free- Cortisol ³ H (cpm)	Bound Cortisol ³ H (cpm)	Free/Bound Ratio	Free/Bound Average	% Statistical Error
40	2061	6444	0.32	0.325	1.54
	2119	6389	0.33		
	2181	6324	0.35		2.78
30	2370	6165	0.37	0.405	3.70
	2427	6070	0.39		
25	2536	5969	0.42	0.495	3.09
	2734	5771	0.48		
20	2877	5628	0.51	0.595	2.52
	3224	5281	0.61		
15	3115	5390	0.58	0.76	1.35
	3636	4869	0.75		
10	3700	4805	0.77	1.22	0.82
	4692	3813	1.23		
5	4649	3856	1.21	2.32	6.04
	6049	2456	2.46		
0	5834	2671	2.18		
					Average=2.73

9. Reliability ของวิธีทดลอง

9.1 ความแม่นยำของวิธีทดลอง (Precision)

ก. ความแตกต่างของปริมาณคอร์ติซอลใน pooled plasma และปัสสาวะ เมื่อทำการทดลองพร้อมกันหลาย ๆ ตัวอย่าง (within assay)

ดำเนินการทดลองตามวิธีในข้อ 7 ก และ ข หน้า 11

แสดงปริมาณคอร์ติซอลที่วัดได้จาก pooled plasma และปัสสาวะ, ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ความแม่นยำของวิธีวัดปริมาณคอร์ติซอลใน pooled plasma และปัสสาวะหลายตัวอย่างในเวลาเดียวกัน (within assay)

ค่าสูง ตัวอย่างที่	pooled plasma ($\mu\text{g} \% $)		ปัสสาวะ ($\mu\text{g}/24\text{-hr. urine}$)			
		Mean	\pm S.D.		Mean	\pm S.D.
1	34.66			101.67		
2	30.00			98.33		
3	33.66			110.00		
4	32.34			106.67		
5	30.34	31.48	± 1.90	105.00	104.74	± 6.23
6	31.00			95.00		
7	30.00					
8	28.84			111.70		
9	33.34			115.00		
10	30.66			103.33		

คากลาง ตัวอย่างที่	pooled plasma ($\mu\text{g} \% $)			ปัสสาวะ ($\mu\text{g}/24 \text{ hr. urine}$)		
		Mean	\pm S.D.		Mean	\pm S.D.
1	11.34			60.00		
2	12.26			63.75		
3	11.66			60.00		
4	12.26			59.00		
5	11.34	12.49	± 0.94	60.34	60.68	± 2.74
6	12.66			59.50		
7	14.34			62.30		
8	13.34			60.00		
9	13.00			62.16		
10	12.66			58.65		
คากัว ตัวอย่างที่						
1	6.00			25.00		
2	5.20			21.67		
3	5.50			20.00		
4	4.85			25.00		
5	5.60	5.46	± 0.44	23.33	22.77	± 1.92
6	5.20			21.67		
7	5.30			23.33		
8	6.50			20.00		
9	5.24			22.67		
10	5.20			25.00		

ข. ความแตกต่างของปริมาณคอรัลใน pooled plasma และในปัสสาวะเมื่อทำการทดลองต่างวันกันเป็นเวลา 10 วัน (between assay)

ดำเนินการทดลองตามวิธีในข้อ 7 ก และ ข หน้า 11

แสดงปริมาณที่วัดได้จาก pooled plasma และปัสสาวะ, ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ความแม่นยำของวิธีวัดปริมาณคอรัลใน pooled plasma และปัสสาวะ เมื่อทำการทดลองต่างวันกันเป็นเวลา 10 วัน (between assay)

ค่าสูง	pooled plasma ($\mu\text{g} \% $)			ปัสสาวะ ($\mu\text{g}/24 \text{ hr.} - \text{urine}$)		
	ตัวอย่างที่	Mean	\pm S.D.	Mean	\pm S.D.	
1	20.66			150.00		
2	21.34			153.33		
3	21.00			166.67		
4	22.66			161.67		
5	18.66	21.07	± 1.47	141.70	153.33 ± 10.98	
6	23.34			135.00		
7	20.00			156.67		
8	19.34			165.00		
9	22.33			157.00		
10	21.34			146.30		

ลำดับ ตัวอย่างที่	pooled plasma ($\mu\text{g} \% $)			ปัสสาวะ ($\mu\text{g}/24 \text{ hr. urine } $)		
		Mean	\pm S.D.		Mean	\pm S.D.
1	8.66			54.25		
2	9.34			56.70		
3	8.60			50.00		
4	8.66			54.67		
5	7.66	8.41	± 0.54	53.35	52.89	± 4.69
6	8.00			50.80		
7	8.34			53.77		
8	9.00			53.30		
9	7.84			49.85		
10	8.00			52.30		
ลำดับ ตัวอย่างที่						
1	5.66			14.00		
2	5.34			12.33		
3	7.34			15.00		
4	5.00	5.74	± 0.77	13.00	13.77	± 1.49
5	5.66			15.67		
6	4.66			13.33		
7	6.00			15.80		
8	5.67			11.33		
9	6.60			12.67		
10	5.50			14.60		

9.2 Percentage recovery

การทำ percentage recovery เป็นการทดสอบความถูกต้องและประสิทธิภาพของวิธีทดลองนี้ แบ่งการทดลองออกเป็น 2 แบบคือ

ก. percentage recovery ของ extraction

ทำการทดลองโดยเติม ^3H - Cortisol 0.04 μci ลงในพลาสมาหรือปัสสาวะ extract ด้วย absolute ethanol และ dichloromethane ตามวิธีในข้อ 7 ก และ ข นำ extraction ที่ได้ไป count เปรียบเทียบกับปริมาณที่ได้เริ่มแรกคือเป็น %

ผลการทดลองพบว่า percentage recovery ของ plasma extraction และ urine extraction มีค่า = 98.74 ± 0.59 และ 98.60 ± 0.42 ตามลำดับ

ตารางที่ 4 แสดง percentage recovery ของ plasma และ urinary extraction

^3H - Cortisol ที่เติม (cpm)	^3H - Cortisol ที่วัดได้ (cpm)	% Recovery	
			Mean \pm S.D.
19094		<u>พลาสมา</u>	
	20058	100.05	
	18521	96.99	98.74 ± 0.59
	18139	99.51	
	18788	98.39	
		<u>ปัสสาวะ</u>	
	18712	98.41	
	19100	100.03	98.60 ± 0.42
	18540	97.99	
	18800	97.98	

ข. percentage recovery ของกราฟมาตรฐาน

ทำโดยการเพิ่มสารละลายมาตรฐานคอร์ติซอลปริมาณต่าง ๆ ลงใน pooled plasma และปัสสาวะ ซึ่งทราบปริมาณแน่นอน

ผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 5 ก และ ข
 ตารางที่ 5 ก percentage recovery ที่ได้จากการเพิ่มสารละลายมาตรฐานคอร์ติซอลปริมาณต่าง ๆ ลงใน pooled plasma

ปริมาณคอร์ติซอลที่เติม (นาโนกรัม)	5.00	10.00	15.00	25.00	30.00	40.00
ปริมาณคอร์ติซอลที่วัดได้ (นาโนกรัม)	6.33	10.67	13.67	21.00	19.33	25.00
% Recovery	126.35	106.91	91.20	84.00	64.44*	62.50*

ตารางที่ 5 ข percentage recovery ที่ได้จากการเพิ่มสารละลายมาตรฐานคอร์ติซอลปริมาณต่าง ๆ ลงในปัสสาวะ

ปริมาณคอร์ติซอลที่เติม (นาโนกรัม)	5.00	10.00	15.00	25.00	30.00	40.00
ปริมาณคอร์ติซอลที่วัดได้ (นาโนกรัม)	5.34	8.34	14.68	24.68	21.34	23.34
% Recovery	106.79	83.40	97.86	98.72	71.13*	58.35*

จากผลการทดลองในตารางที่ 5 ก และ ข แสดงให้เห็นว่า กราฟมาตรฐานที่ใช้ในการทดลองนี้มีประสิทธิภาพและความถูกต้องสูงในการวัดคอร์ติซอลที่มีปริมาณไม่มากกว่า 25 นาโนกรัม

* กราฟมาตรฐานในช่วง 30 ถึง 40 นาโนกรัม มี percentage recovery ต่ำ จึงไม่ใช่อาน

9.3 Specificity

เป็นการทดลองเพื่อทดสอบ specificity ของวิธีทดลองนี้ทดสอบได้แบ่งการทดลองออกเป็น 2 พวก คือพวก สเตียรอยด์คอร์โมเนสังเคราะห์ และคอร์โมเนที่หลังจากคอมพาวนด์คอร์เทกซ์

ผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 6 ก และ ข หน้า ,
 ตารางที่ 6 ก Specificity ของวิธีทดลองนี้ ทดสอบกับสเตียรอยด์คอร์โมเนสังเคราะห์

สเตียรอยด์คอร์โมเนสังเคราะห์	ความเข้มข้น (μg)	ผลเมื่อเปรียบเทียบกับคอร์ติซอลความเข้มข้นเท่ากัน (%)
Cortone acetate	0.01	0.00
	0.05	5.26
	0.10	6.52
	0.20	12.00
Dexamethasone	0.05	0.00
	0.25	0.00
	0.50	4.31
Diethylstilbestrol	0.05	0.00
	0.10	
	0.50	
	1.00	
	2.00	
Prednisone	0.01	6.25
	0.05	18.92

สเต็มรอยด์คอร์โมนสังเคราะห์	ความเข้มข้น (μg)	ผลเมื่อเปรียบเทียบกับคอร์ติซอลความ เข้มข้นเท่ากัน (%)
Prednisone	0.10	26.67
	0.20	37.00
Testosviron	0.05	0.00
	0.10	0.00
	0.25	0.75
	0.50	1.00
Prednisolone	0.01	
	0.05	100
	0.10	
	0.20	

ตารางที่ 6 ข Specificity ของวิธีทดลองนี้ ทดสอบกับฮอร์โมนที่หลังจากคอมหมวกโคชั้น
คอร์เทกซ

ฮอร์โมน	ความเข้มข้น ($\mu\text{g} \%$)	ผลเมื่อเปรียบเทียบกับคอร์เทกซอลความ เข้มข้นเท่ากัน (%)
Corticosterone	10	7.43
	20	7.20
Dehydroepiandrosterone	10	0.00
	20	
	40	
11 β -OH- Δ^4 -androsten- dione	10	0.00
	20	
	40	
Δ^4 -androsten-3- 17-dione (androstendione)	10	0.00
	20	
	40	
Estradiol	10	0.00
	20	
	40	

ฮอร์โมน	ความเข้มข้น ($\mu\text{g} \%$)	ผลเมื่อเปรียบเทียบกับคอรัทซอลความ เข้มข้นเท่ากัน (%)
Estriol	10	0.00
	20	
	40	
Oestrone	10	0.00
	20	
	40	
17 α -OH-Progesterone	10	9.03
	20	7.48
	40	7.58
Progesterone	10	2.40
	20	2.28
	40	2.35
Testosterone	10	22.10
	20	14.70
	40	19.90

10. ผลการทดลองหาปริมาณคอริซอลในพลาสมา เวลา 8 - 9 น. และ 15 - 16 น. และปัสสาวะซึ่งเก็บ 24 ชม. ในคนปกติช่วงอายุต่าง ๆ

ทำการทดลองตามวิธีในข้อ 7 ก การ test ความแตกต่างใช้ t - test
ทดลองกับคนปกติจำนวน 108 คน เป็นชาย 50 คน และหญิง 58 คน อายุระหว่าง
15 - 75 ปี โดยแบ่งเป็นช่วงอายุละ 10 ปี จากผลการทดลองพบว่า

1. ชายและหญิงที่อยู่ในช่วงอายุเดียวกัน ไม่มีความแตกต่างของปริมาณคอริซอลในพลาสมาและปัสสาวะ

2. เมื่อเปรียบเทียบปริมาณคอริซอลในคนหนุ่ม - สาว (อายุ 15 - 45 ปี) กับคนสูงอายุ (อายุ 56 - 75 ปี) พบว่าไม่มีความแตกต่างทั้งในชายและหญิง

ผลการทดลองแสดงปริมาณปกติของคอริซอลในพลาสมา เวลา 8 - 9 น. และ 15 - 16 น. และในปัสสาวะซึ่งเก็บ 24 ชม. ในคนปกติ ชายและหญิง ช่วงอายุต่าง ๆ ได้แสดงไว้ในตารางที่ 7 ก และ ข หน้า 37, 38 และการเปรียบเทียบความแตกต่างโดยใช้ t-test แสดงไว้ในตารางที่ 8 ก และ ข หน้า 39, 40

ตารางที่ 7 ก ผลการทดลองแสดงปริมาณฟกช้ำของคอรัทซอลในพลาสมา เวลา 8 - 9 น. และ
15 - 16 น. ($\mu\text{g} \%$)

อายุ (ปี)	เพศ	คอรัทซอลในพลาสมา เวลา 8 - 9 น.			คอรัทซอลในพลาสมา เวลา 15 - 16 น.		
		ช่วง		จำนวน	ช่วง		จำนวน
15-25	ชาย	3.30-16.08	8.44 \pm 4.90	10	0.00-4.80	1.87 \pm 1.62	10
	หญิง	6.36-15.96	10.56 \pm 3.54	11	1.20-6.54	2.54 \pm 1.70	11
26-35	ชาย	2.64-15.60	7.94 \pm 4.08	11	0.48-4.32	2.04 \pm 1.43	10
	หญิง	3.00-23.40	7.97 \pm 5.12	16	0.00-6.60	2.63 \pm 2.29	16
36-45	ชาย	2.79-19.68	9.36 \pm 5.20	10	0.00-7.50	3.23 \pm 2.12	10
	หญิง	1.92-14.64	6.65 \pm 3.74	11	0.00-6.24	2.05 \pm 2.02	11
46-55	ชาย	5.16-15.84	10.31 \pm 3.83	10	0.00-6.54	3.58 \pm 1.93	10
	หญิง	3.36-15.60	8.23 \pm 4.48	10	0.00-6.72	3.52 \pm 2.08	10
56-75	ชาย	2.10-16.32	9.77 \pm 4.75	9	0.00-7.20	3.52 \pm 1.91	9
	หญิง	1.92-18.30	9.46 \pm 5.15	10	0.48-7.80	3.16 \pm 2.26	10

ตารางที่ 7 ข ผลการทดลองแสดงปริมาณปกติของ คอร์ติซอลในปัสสาวะ 24 ชม.
($\mu\text{g}/24\text{-hr. urine}$)

อายุ (ปี)	เพศ	ปริมาณคอร์ติซอลในปัสสาวะ		
		ช่วง	Mean \pm S.D.	จำนวน
15-25	ชาย	24.30-141.75	89.46 \pm 43.80	10
	หญิง	27.00-135.00	69.35 \pm 41.89	11
26-35	ชาย	0.65-113.98	47.72 \pm 38.72	15
	หญิง	13.50-163.80	64.61 \pm 55.62	13
36-45	ชาย	10.58-135.23	75.89 \pm 57.82	7
	หญิง	9.00-135.00	44.90 \pm 42.70	11
46-55	ชาย	5.85-108.23	65.53 \pm 34.70	10
	หญิง	15.53-141.08	65.75 \pm 51.46	10
56-75	ชาย	9.00-135.00	73.30 \pm 51.73	9
	หญิง	9.00-135.00	68.06 \pm 48.93	10

ตารางที่ 8 ก การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณคอรัทีซอลในพลาสมา เวลา 8 - 9 น. และ 15 - 16 น. ในชายและหญิง ช่วงอายุต่าง ๆ โดยใช้ t - test

อายุ (ปี)	เพศ	คอรัทีซอลในพลาสมาเวลา 8 - 9 น. ($\mu\text{g} \%$)		คอรัทีซอลในพลาสมา เวลา 15 - 16 น. ($\mu\text{g} \%$)	
		Mean \pm S.D.	จำนวน	Mean \pm S.D.	จำนวน
15-25	ชาย	8.44 \pm 4.90	10	1.87 \pm 1.62	10
	หญิง	10.56 \pm 3.54	11	2.54 \pm 1.70	11
26-35	ชาย	7.94 \pm 4.08	11	2.04 \pm 1.43	10
	หญิง	7.97 \pm 5.12	16	2.63 \pm 2.29	16
36-45	ชาย	9.36 \pm 5.20	10	3.23 \pm 2.12	10
	หญิง	6.65 \pm 3.74	11	2.05 \pm 2.02	11
46-55	ชาย	10.31 \pm 3.83	10	3.58 \pm 1.93	10
	หญิง	8.23 \pm 4.48	10	3.52 \pm 2.08	10
56-75	ชาย	9.77 \pm 4.75	9	3.25 \pm 1.91	9
	หญิง	9.46 \pm 5.15	10	3.16 \pm 2.26	10
15-45	หญิง	8.33 \pm 4.48	38	2.72 \pm 1.73	38
56-75	หญิง	9.46 \pm 5.15	10	3.16 \pm 2.26	10
15-45	ชาย	8.56 \pm 4.61	31	2.38 \pm 1.63	30
56-75	ชาย	9.77 \pm 4.75	9	3.25 \pm 1.91	9
15-75	ชาย	8.51 \pm 4.55	50	2.94 \pm 2.10	49
	หญิง	9.03 \pm 4.46	58	2.78 \pm 1.88	58

ตารางที่ 8 ข การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณคอรัทีซอลในปัสสาวะ 24 ชม. ในชาย และหญิง ช่วงอายุต่าง ๆ โดยใช้ t-test

อายุ (ปี)	เพศ	ปริมาณคอรัทีซอลในปัสสาวะ ($\mu\text{g}/24\text{-hr. urine}$) Mean \pm S.D.	P	จำนวน
15-25	ชาย	89.46 \pm 43.80	0.3 > P > 0.2	10
	หญิง	69.35 \pm 41.89		11
26-35	ชาย	47.72 \pm 38.72	0.4 > P > 0.3	15
	หญิง	64.61 \pm 55.62		13
36-45	ชาย	75.89 \pm 57.82	0.3 > P > 0.2	7
	หญิง	44.90 \pm 42.70		11
46-55	ชาย	65.53 \pm 34.70	P > 0.9	10
	หญิง	65.75 \pm 51.46		10
56-75	ชาย	73.30 \pm 51.73	0.9 > P > 0.8	9
	หญิง	68.06 \pm 48.93		10
15-45	หญิง	59.91 \pm 47.48	0.7 > P > 0.6	35
56-75	หญิง	68.06 \pm 48.93		10
15-45	ชาย	69.93 \pm 47.35	0.9 > P > 0.8	32
56-75	ชาย	73.30 \pm 51.73		9
15-75	ชาย	62.49 \pm 46.73	P > 0.9	51
	หญิง	63.53 \pm 47.64		54

11. diurnal variation ของคอร์ติซอลในพลาสมา

เมื่อนำผลที่ได้มาพิจารณาใหม่ โดยเปรียบเทียบค่าระหว่างตอนเช้า (8-9 น.) และ เย็น (15-16 น.) แล้ว แสดงไว้ในรูปที่ 9 หน้า 42 และพบว่าปริมาณคอร์ติซอลในพลาสมา ตอนเช้าสูงกว่า และมีความแตกต่างจากปริมาณคอร์ติซอลในพลาสมาตอนเย็น ($P < 0.001$)

12. diurnal variation ของคอร์ติซอลในปัสสาวะ

ทำการทดลองตามวิธีในข้อ 7 ข หน้า 11

เก็บปัสสาวะจากผู้ชาย 2 คนและผู้หญิง 2 คน อายุ 25-30 ปี เก็บทุก ๆ 2 ชม. จนครบ 24 ชม. เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงระดับของคอร์ติซอลในปัสสาวะตลอด 24 ชม.

ผลการทดลองพบว่า คอร์ติซอลในพลาสมาปริมาณสูงสุดในตอนเช้า (6-9 น.) และต่ำสุดในเวลาเที่ยงคืน ได้แสดงผลไว้ในรูปที่ 10 ก และ ข หน้า 43

13. ACTH stimulation test

มีประโยชน์ในการตรวจสอบหน้าที่ของต่อมหมวกไตชั้นคอร์เทกซ์ในกรณีที่ทำหน้าที่น้อยเกินไป (hypofunction) คือ ถ้าการผิดปกตินี้เกิดเนื่องจากความผิดปกติของต่อมหมวกไตเอง (primary adrenocortical insufficiency) ปริมาณของคอร์ติซอลภายหลังการให้ ACTH จะไม่สูงขึ้น แต่ถาการผิดปกติเกิดเนื่องจากการหลั่งของ ACTH จากต่อมใต้สมองน้อย (secondary adrenocortical insufficiency) ปริมาณของคอร์ติซอลภายหลังการให้ ACTH จะสูงขึ้นเช่นเดียวกับในคนปกติ

การวัดปริมาณของคอร์ติซอลในการทดลองนี้ แบ่งออกเป็น 2 พวก คือ

1. คอร์ติซอลในพลาสมา

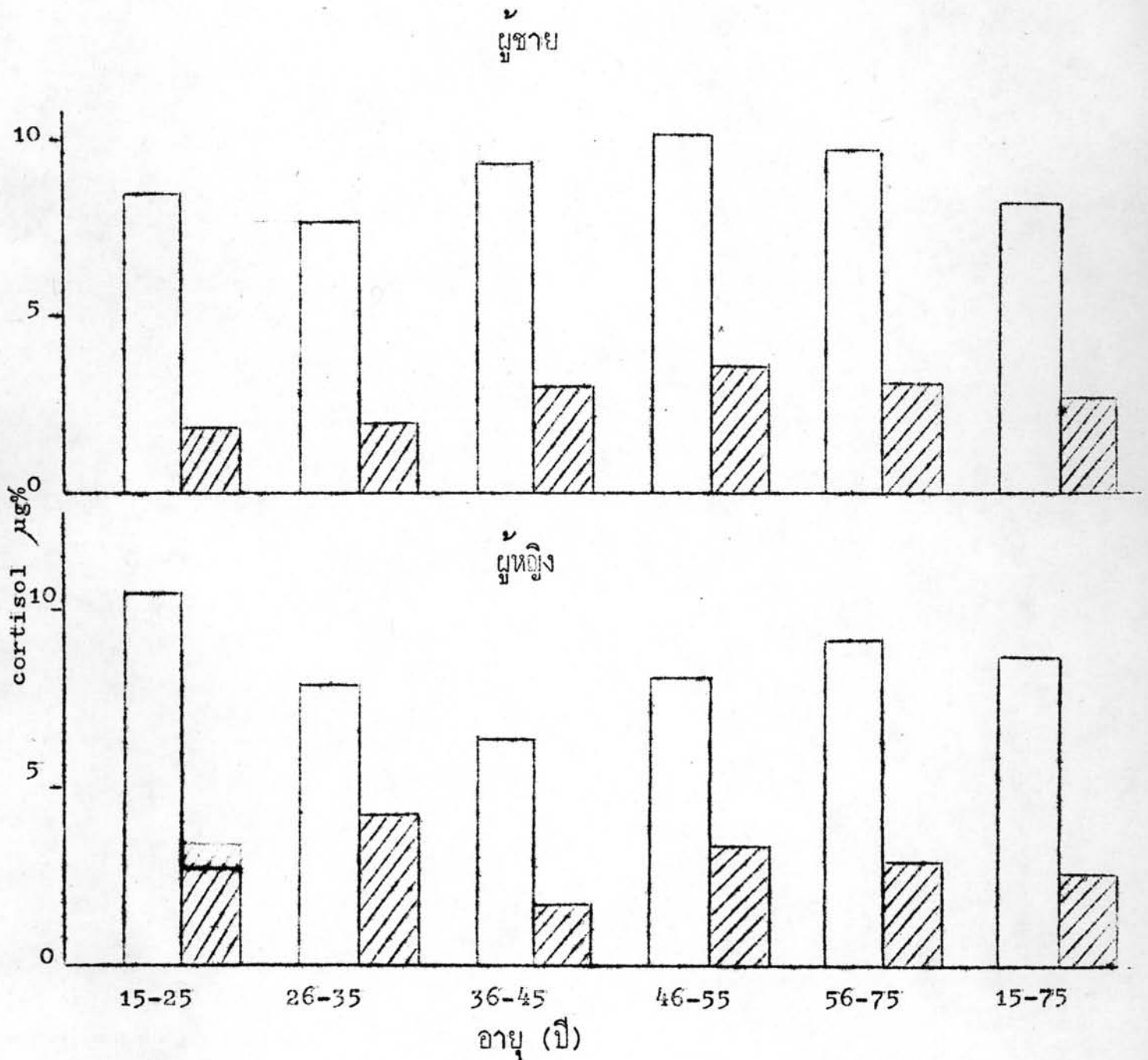
ทำการทดลองโดยฉีดยา ACTH 25 units ทางกล้ามเนื้อในคนปกติจำนวน 11 คน เป็นชาย 9 คน และหญิง 2 คน อายุ 22-52 ปี และแบ่งการทดลองเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มแรก ทำการทดลองในตอนเช้า (8-9 น.) ประกอบด้วยผู้หญิง 2 คน และผู้ชาย 5 คน กลุ่มที่ 2 ทำการทดลองในตอนบ่าย (14-16 น.) ประกอบด้วยผู้ชาย 4 คน

เจาะเลือดก่อนให้ ACTH และภายหลังให้ ACTH 1 ชม.

ผลการทดลองพบว่า

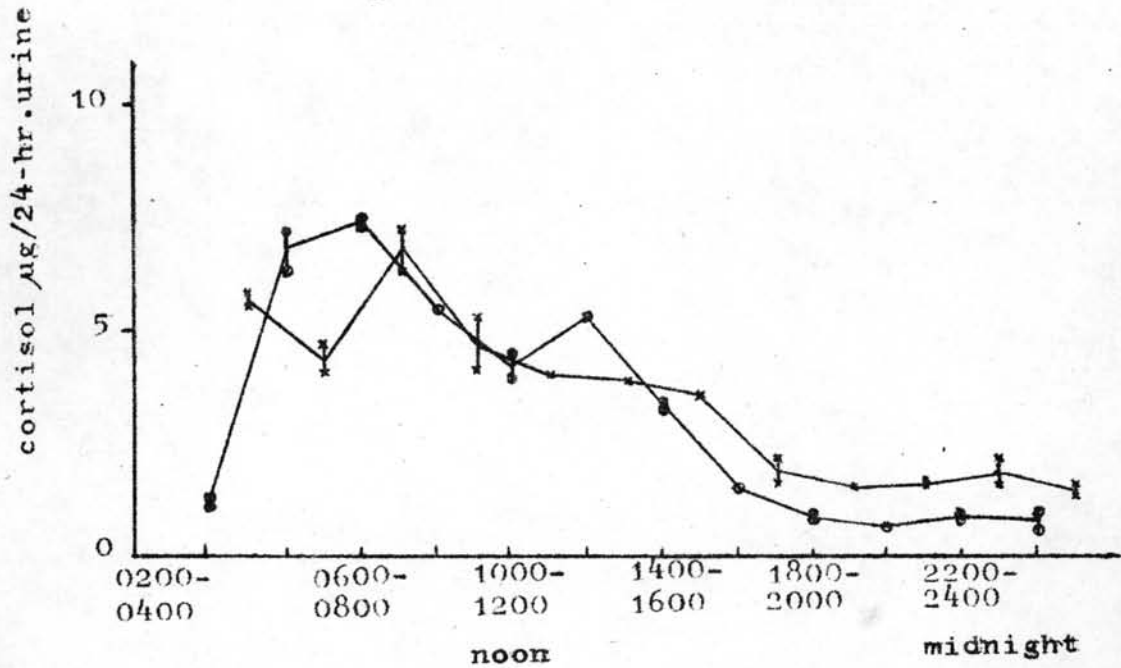
ก. การทดลองในตอนเช้า คอร์ติซอลในพลาสมา ก่อนให้ ACTH = 8.98 ± 2.15 (S.D.) $\mu\text{g} \%$ และภายหลังให้ ACTH 1 ชม. = 26.09 ± 1.68 (S.D.) $\mu\text{g} \%$

รูปที่ 9 แสดงปริมาณคอร์ติซอลในพลาสมา เวลา 8-9 น. และ 15-16 น. ในผู้ชายและผู้หญิงในวัยต่างๆ

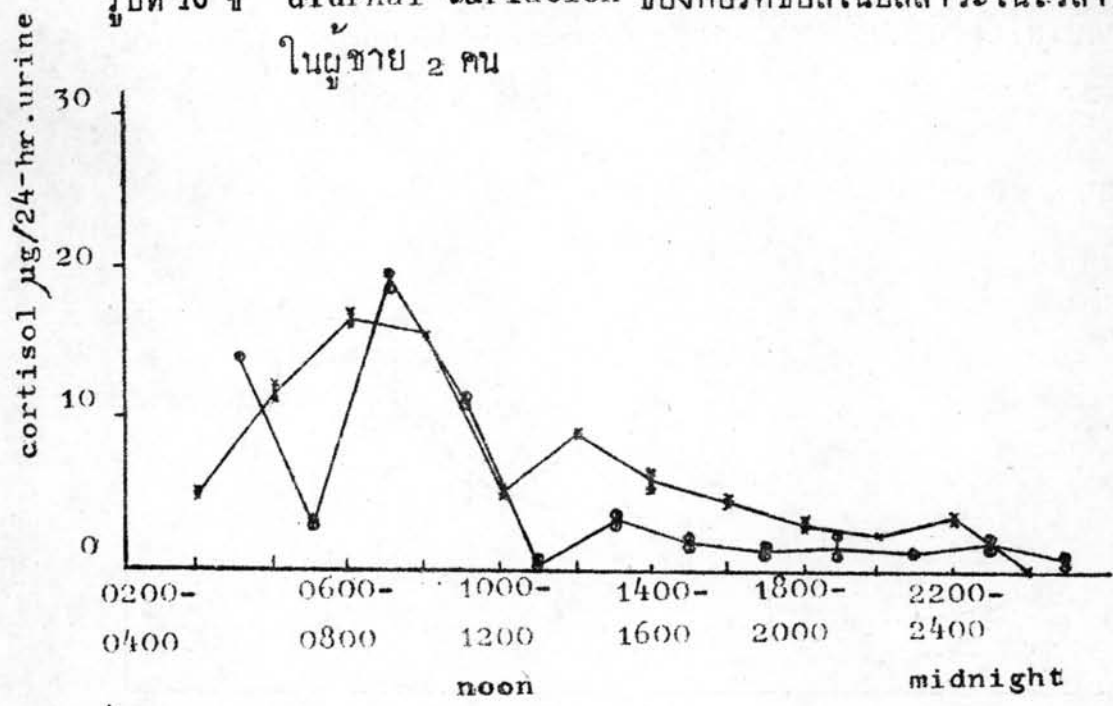


- ปริมาณคอร์ติซอลในพลาสมา เวลา 8-9 น.
- ▨ ปริมาณคอร์ติซอลในพลาสมา เวลา 15-16 น.

รูปที่ 10 ก diurnal variation ของคอร์ติซอลในปัสสาวะในเวลา 24 ช.ม.
ในผู้หญิง 2 คน



รูปที่ 10 ข diurnal variation ของคอร์ติซอลในปัสสาวะในเวลา 24 ช.ม.
ในผู้ชาย 2 คน



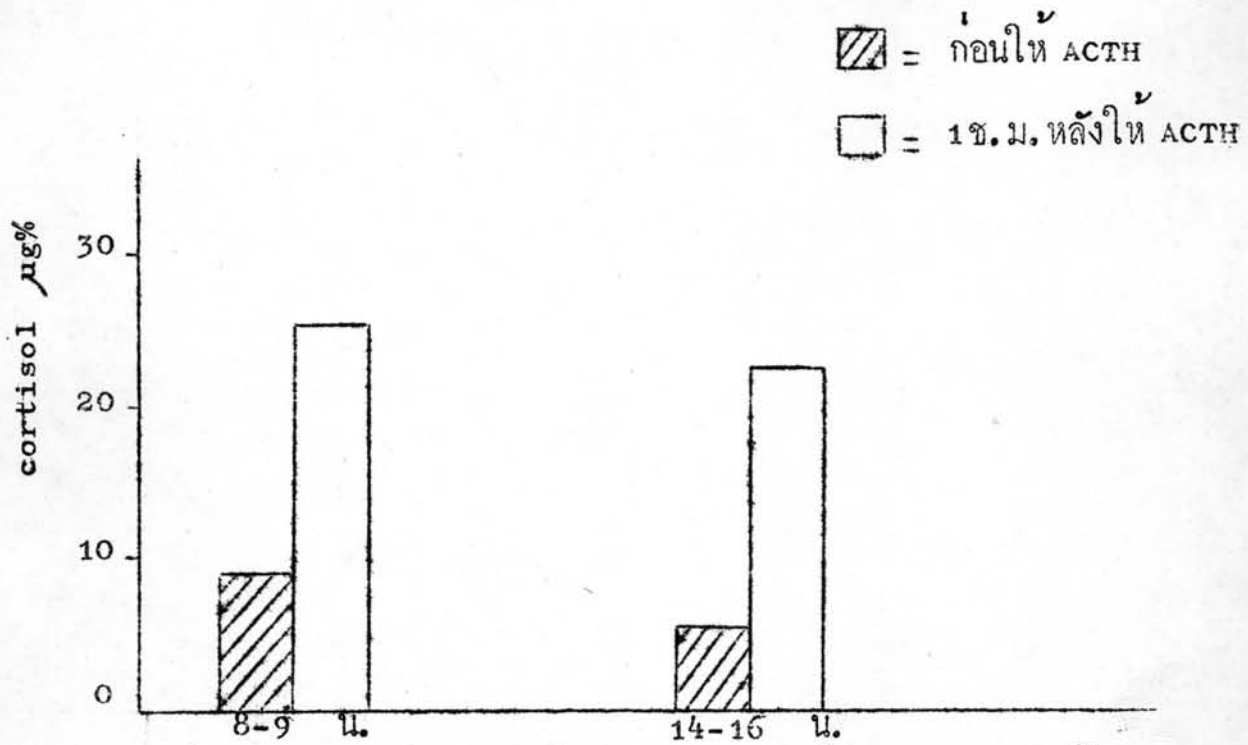
ข. การทดลองในทอนบาย คอร์ติซอลในพลาสมา ก่อนให้ ACTH = 5.54 ± 1.28
(S.D.) $\mu\text{g}\%$ และภายหลังให้ ACTH 1 ชม. = 22.60 ± 3.12 (S.D.) $\mu\text{g}\%$

ผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 9 ก และ ข และรูปที่ 11 ก หน้า 45

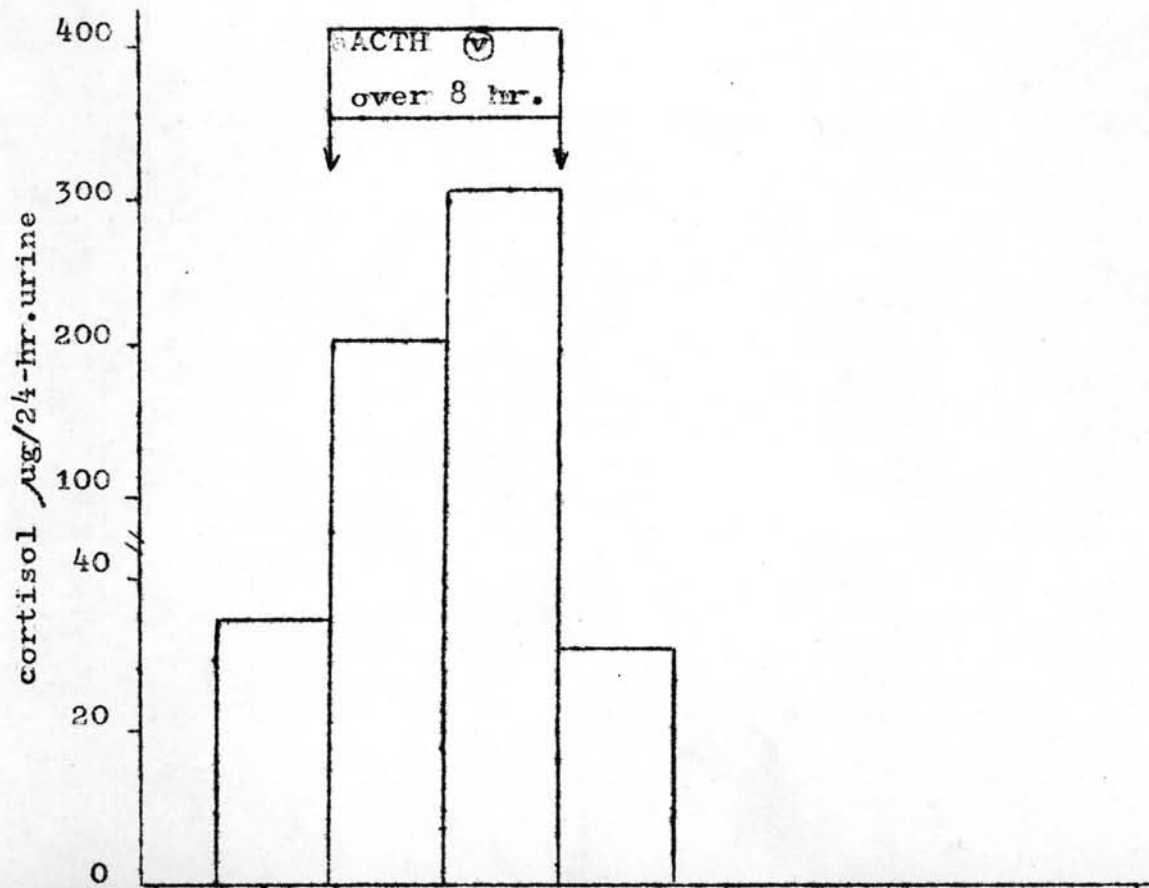
ตารางที่ 9 ก ปริมาณคอร์ติซอลในพลาสมา เวลา 8 - 9 น. ก่อนและภายหลังการให้ ACTH
25 units 1 ชม.

อายุ (ปี)	เพศ	น้ำหนัก (ก.ก.)	ส่วนสูง (ซ.ม.)	คอร์ติซอลในพลาสมา ($\mu\text{g}\%$)	
				ก่อนให้ ACTH	1 ชม. ภายหลังการให้ ACTH
22	หญิง	—	—	9.28	23.59
23	ชาย	45.50	—	10.60	30.60
27	ชาย	58.80	163.50	4.80	22.44
28	ชาย	53.80	171.50	6.80	24.84
35	หญิง	—	—	3.20	24.00
45	ชาย	57.70	162.00	8.79	23.59
52	ชาย	46.40	168.20	19.40	33.60

รูปที่ 11 ก. แสดงปริมาณคอร์ติซอลในพลาสมา ก่อนและภายหลังให้ ACTH 25 units



รูปที่ 11 ข. แสดงปริมาณคอร์ติซอลในปัสสาวะ ก่อนและภายหลังให้ ACTH 25 units



ตารางที่ 9 ข ปริมาณคอร์ติซอลในพลาสมา เวลา 14 - 16 น. ก่อนและภายหลังการให้ ACTH 25 units 1 ชม.

อายุ (ปี)	เพศ	น้ำหนัก (ก.ก.)	ส่วนสูง (ซ.ม.)	คอร์ติซอลในพลาสมา ($\mu\text{g} \%$)	
				ก่อนให้ ACTH	1 ชม. ภายหลังการให้ ACTH
28	ชาย	59.70	178.00	3.60	23.20
38	ชาย	71.00	160.50	8.56	29.20
39	ชาย	61.00	165.00	4.20	16.01
47	ชาย	58.00	164.00	5.80	22.00

2. คอร์ติซอลในปัสสาวะ

ทำการทดลองโดยละลาย ACTH 25 units ใน normal saline 500 ml. แล้วให้ทางเส้นเลือดดำ เป็นเวลาประมาณ 8 ชม. ผู้ถูกทดลองเป็นคนปกติจำนวน 10 คน เป็นชาย 7 คน และหญิง 3 คน อายุ 19 - 63 ปี

เก็บปัสสาวะ 24 ชม. ก่อนให้ ACTH ปัสสาวะ 24 ชม. ในวันที่ให้ ACTH และวันรุ่งขึ้น และเก็บปัสสาวะ 24 ชม. อีก 1 หรือ 2 วัน

ผลการทดลองพบว่า

คอร์ติซอลในปัสสาวะ 24 ชม. ก่อนให้ ACTH = 33.15 ± 8.83 (S.D.) $\mu\text{g}/24\text{-hr. urine}$
 ปริมาณคอร์ติซอลในวันที่ให้ ACTH = 217.45 ± 35.48 (S.D.) $\mu\text{g}/24\text{-hr. urine}$
 วันรุ่งขึ้น = 303.39 ± 44.69 $\mu\text{g}/24\text{-hr. urine}$ และภายหลังการให้ ACTH = 30.15 ± 5.18 (S.D.) $\mu\text{g}/24\text{-hr. urine}$

ปริมาณ Creatinine, 17-คีโตสเตียรอยด์และ 17-ไฮดรอกซีคอร์ติโคสเตียรอยด์ ไลจากห้องปฏิบัติการหน่วยต่อมไร้ท่อและเมตาบอลิซึม แผนกอายุรศาสตร์ รพ. จุฬาลงกรณ์ ซึ่งใช้วิธี Alkali-picrate หรือ Jaffe reaction ในการหาปริมาณ Creatinine (ค่าปกติ 1.2-1.7 $\text{gm}/24\text{-hr. urine}$), Zimmermann reaction ในการหาปริมาณ 17-คีโตสเตียรอยด์ (ค่าปกติในผู้ชาย 5-20 $\text{mg}/24\text{-hr. urine}$, ในผู้หญิง 5-15 $\text{mg}/24\text{-hr. urine}$) และ Porter-Silber reaction ในการหาปริมาณ 17 - ไฮดรอกซี -

คอร์ติโคสเตียรอยด์ (ค่าปกติ 3 - 13 mg/24-hr. urine)

ภายหลังการให้ ACTH 17 - คีโคสเตียรอยด์เพิ่มขึ้นเล็กน้อย ในขณะที่ 17 - ไฮดรอกซี-
คอร์ติโคสเตียรอยด์เพิ่มขึ้นประมาณ 2 - 3 เท่า และคอร์ติซอลเพิ่มขึ้นประมาณ 10 เท่า
ผลการทดลองได้แสดงไว้ในตารางที่ 10 รูปที่ 11 ข หน้า 45

ตารางที่ 10 ปริมาณ Creatinine ในปัสสาวะ, ปริมาณ 17 - คีโคสเตียรอยด์, 17 - ไฮดรอกซี
คอร์ติโคสเตียรอยด์ และ คอร์ติซอลในปัสสาวะก่อนให้ ACTH, ขณะให้ ACTH และ
ภายหลังจากการให้ ACTH 25 units

อายุ (ปี)	เพศ	น้ำหนัก (ก.ก.)	ส่วนสูง (ซ.ม.)	วันที่	Creatinine gm/24-hr. urine	17 - KS mg/24-hr. urine	17 - OHCS mg/24-hr. urine	Cortisol µg/24-hr. urine
19	ชาย	50.00	170.00	1	0.76	7.30	7.30	90.00
				2	0.80	7.85	11.32	299.88
				3	0.79	8.20	13.74	345.06
				4	0.76	6.48	7.56	52.47
24	ชาย	54.50	163.00	1	1.29	7.74	4.16	12.15
				2	1.22	13.30	11.25	111.06
				3	1.26	14.28	23.86	156.06
				4	1.33	9.34	9.26	15.75
				5	1.20	7.50	4.40	13.86
25	หญิง	42.50	152.00	1	0.77	10.00	8.26	38.93
				2	0.79	8.78	15.89	288.00
				3	0.52	8.40	21.29	384.12
				4	0.76	12.15	4.86	24.00
				5	0.74	7.96	6.25	28.50

อายุ (ปี)	เพศ	น้ำหนัก (ก.ก.)	ส่วนสูง (ซ.ม.)	วันที่	Creatinine gm/24-hr. urine	17-KS mg/24-hr. urine	17-OHCS mg/24-hr. urine	Cortisol µg/24-hr. urine
26	ชาย	63.00	170.00	1	1.41	11.88	4.69	14.99
				2	1.64	17.21	19.38	138.92
				3	1.49	13.64	11.55	135.00
28	ชาย	57.30	178.00	1	1.20	10.92	5.53	15.30
				2	1.30	14.59	27.71	159.75
				3	1.28	14.96	28.15	162.68
				4	1.22	12.83	8.83	16.52
				5	1.26	12.20	6.04	15.30
32	หญิง	49.00	160.00	1	0.60	4.68	8.06	61.47
				2	0.64	4.54	25.99	279.00
				3	0.77	8.05	39.23	360.00
				4	0.62	4.62	10.92	69.03
34	ชาย	71.50	175.00	1	1.21	6.97	10.83	48.74
				2	1.24	10.06	14.83	114.12
				3	1.16	7.20	15.39	456.12
				4	0.64	4.79	2.12	47.20
36	ชาย	41.50	155.00	1	0.81	5.98	7.20	10.17
				2	0.76	23.49	17.27	432.00
				3	0.87	5.99	26.31	443.88
				4	0.85	12.42	15.29	33.03

อายุ (ปี)	เพศ	น้ำหนัก (ก.ก.)	ส่วนสูง (ซ.ม.)	วันที่	Creatinine gm/24-hr. urine	17 - KS mg/24-hr. urine	17 - OHCS mg/24-hr. urine	Cortisol µg/24-hr. urine
44	ชาย	57.40	162.00	1	1.18	13.90	8.13	15.62
				2	0.86	18.13	22.90	123.75
				3	0.99	17.55	28.11	159.03
				4	1.05	14.99	8.01	17.24
				5	0.99	16.42	3.77	11.97
63	หญิง	40.00	150.00	1	0.31	2.32	6.45	24.12
				2	0.42	7.21	17.32	227.97
				3	0.48	7.17	45.25	432.00
				4	0.47	9.82	19.10	46.98