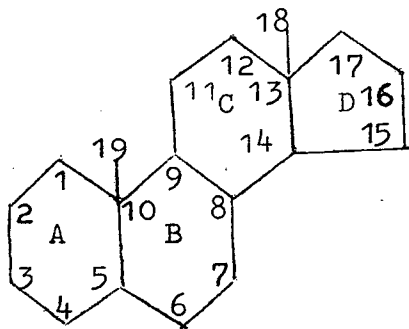
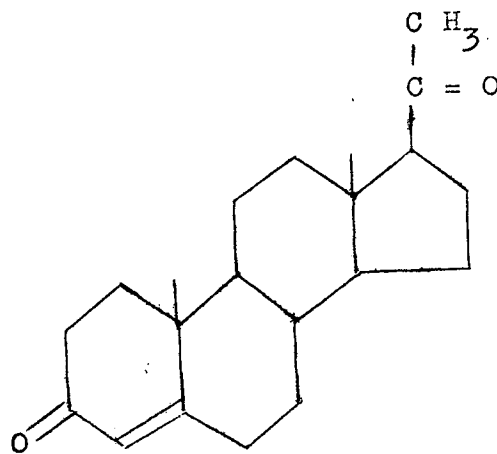


## I บทนำ

โปรเจสเตอโรน (progesterone) เป็นฮอร์โมนที่มีความสำคัญต่อระบบการสืบพันธุ์ (reproductive process) ในสตรีเพศมากตัวหนึ่ง Corner and Allen (1929) เป็นผู้พบครั้งแรกที่คอร์ปัสลูเทียม (corpus luteum) ในรังไข่ (ovary) สามารถที่จะหลั่งฮอร์โมนชนิดหนึ่ง ซึ่งทำให้เยื่อโพรงมดลูก (endometrium) เจริญได้ ต่อมา Butenandt et al (1934) เป็นผู้พิสูจน์ได้ว่า ฮอร์โมนตัวนี้ คือ โปรเจสเตอโรน การแยกโปรเจสเตอโรน จากรังไข่สุกรได้เป็นผลสำเร็จนั้น ดำเนินโดยนักค้นคว้า 4 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ได้แก่ Butenandt et al (1934) กลุ่มที่ 2 Slotta et al (1934) กลุ่มที่ 3 Allen and Wintersteiner (1934) และกลุ่มที่ 4 คือ Hartmann and Wettstein (1934) นับเป็นจุดแรกเริ่มที่จะมีผู้ค้นคว้ารายละเอียดเกี่ยวกับโปรเจสเตอโรน ในมนุษยสืบมา Butenandt and Schmidt (1934) และ Ferholz (1934) เป็นผู้พิสูจน์ว่า โปรเจสเตอโรน มีสูตรโครงสร้างเป็นสารพวก สเตียรอยด์ ซึ่งมีคาร์บอนอยู่ 21 อะตอม



Steroid nucleus



Progesterone

ในร่างกายนมนุษย์โปรเจสเทอโรน เป็นฮอร์โมนที่หลั่งออกมาเป็นจำนวนมากในสตรี (ทั้งในสตรีไม่ตั้งครรภ์ และยังมีมากขึ้นหลายเท่าในสตรีที่ตั้งครรภ์) และจำนวนเล็กน้อยในสตรี หลังหมดระดู ผู้ชายและในเด็ก ปรากฏว่าโปรเจสเทอโรนออกฤทธิ์ต่อร่างกายสตรีเป็นระยะ ๆ ดังนี้

สตรีในภาวะไม่ตั้งครรภ์ ระยะเวลาหลังรอบเดือน (luteal phase) โปรเจสเทอโรนซึ่งถูกหลั่งออกมาจากคอร์ปัสลูเทียม เป็นจำนวนมากจะไปออกฤทธิ์ต่อมดลูก ที่ได้รับการกระตุ้นจากเอสโตรเจน ไข่แล้ว ตั้งแต่ในระยะครึ่งแรกรอบเดือน (proliferative phase) โดยโปรเจสเทอโรนจะกระตุ้น estrogen-primed endometrium ให้มีการเจริญของ secretory gland ในเยื่อโพรงมดลูก เยื่อนี้จะหนาขึ้นและเต็มไปด้วยน้ำ คอมเหล่านี้จะเจริญขึ้น glycogen ก็จะมีอย่างมากมายในตอนนี้ mucosa จะเป็นที่ยึดตัว (nidation) และทำให้อาหารที่จำเป็นสำหรับไข่ที่ถูกผสมแล้ว (blastocyst) เส้นเลือดจะขยายและขยายใหญ่ขึ้น เยื่อโพรงมดลูกจะเพิ่มพื้นที่อย่างมากมายเพื่อเตรียมพร้อมในการหลั่งและการดูดซึมของสารต่าง ๆ และเพื่อให้มีเลือดมาเลี้ยงไข่ที่ถูกผสมแล้ว เพียงพอสำหรับการเจริญขึ้นทุกวัน แต่ถ้าไม่มีการผสม (fertilization) เกิดขึ้น โภนาโคโทรฟิน จากต่อมใต้สมอง (pituitary gonadotrophin) จะน้อยลงจนไม่สามารถจะกระตุ้นให้คอร์ปัสลูเทียมหลั่งโปรเจสเทอโรนต่อไปได้ ทำให้ระดับของโปรเจสเทอโรนและเอสโตรเจนลดลง การที่ระดับของสเตียรอยด์ฮอร์โมนทั้งสองต่ำ ก็เหมือนกับเป็นการลดตัวกระตุ้นต่อการเจริญของเยื่อโพรงมดลูก ดังนั้น เยื่อโพรงมดลูกจะหลุดลอกมากมายเป็นระดู (menstruation)

สตรีในภาวะตั้งครรภ์ ถ้าเกิดการผสมและฝังตัวของไข่ที่ถูกผสมแล้ว คอร์ปัสลูเทียม ภายใต้การกระตุ้นของ โภนาโคโทรฟิน จะเจริญเติบโตต่อไป และหลั่งโปรเจสเทอโรนกับเอสโตรเจน เพื่อคงสภาพให้เยื่อโพรงมดลูกอยู่ในสภาวะที่เหมาะสมกับการตั้งครรภ์ (gestation) คอร์ปัสลูเทียม จะค้างจนการตั้งครรภ์ประมาณ 3 เดือน เมื่อรก (placenta) เจริญเต็มที่ จะทำหน้าที่ในการหลั่งโปรเจสเทอโรน เอสโตรเจน จนเพียงพอแล้ว คอร์ปัสลูเทียมก็จะหยุดทำหน้าที่ ให้รกทำหน้าที่แทนต่อไป

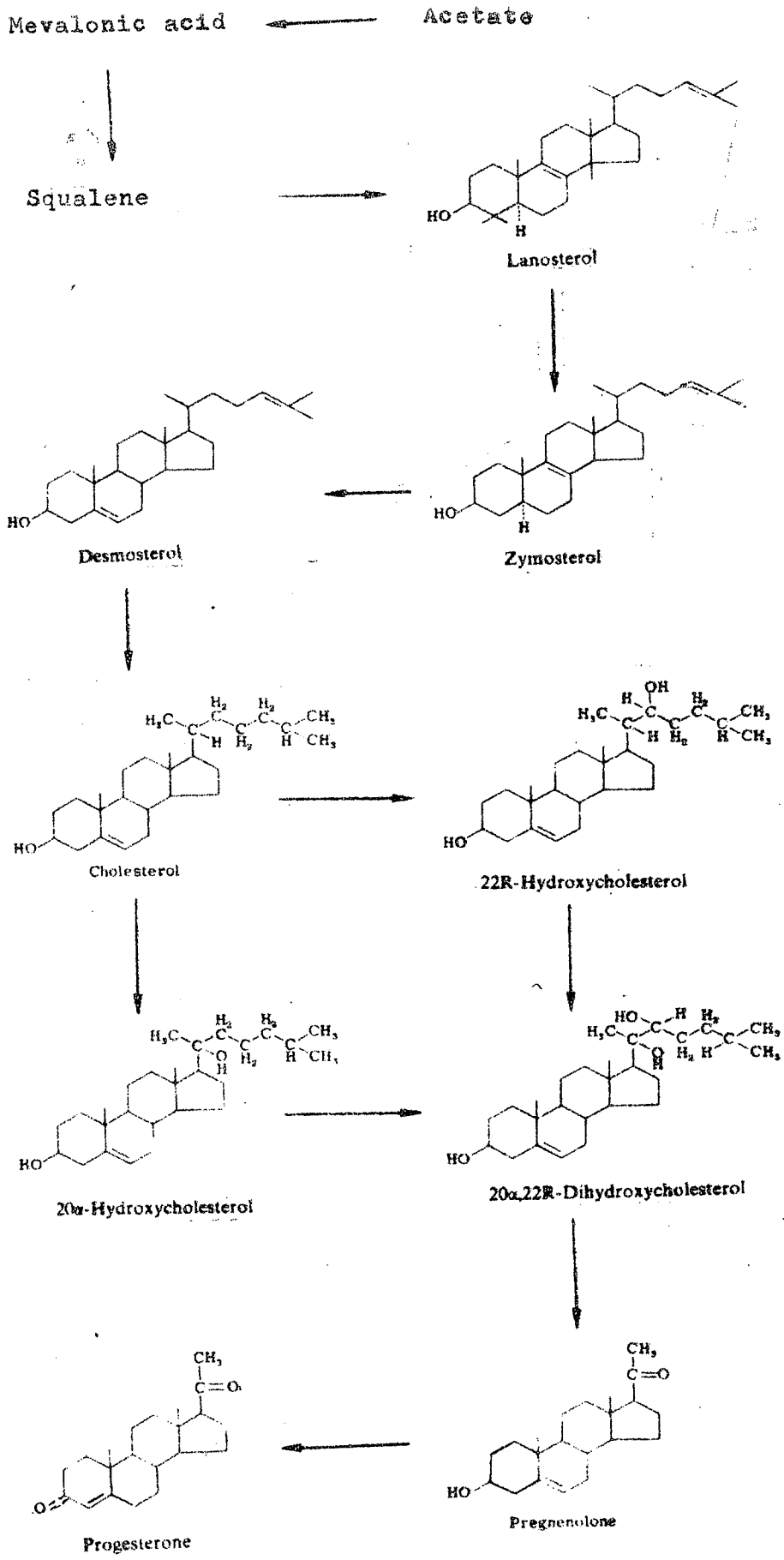
โปรเจสเทอโรนยังมีฤทธิ์ต่อกล้ามเนื้อมดลูก (myometrium) โดยไปห้ามการ

หกตัวของกล้ามเนื้อคลุก เพื่อช่วยป้องกันการขับ (expulsion) ทารกออกมาก่อนเวลา (Csapo', 1959, Goto, 1959) นอกจากนี้กล้ามเนื้อคลุกที่ถูกฤทธิ์โปรเจสเทอโรนยังมีปฏิกิริยาต่อยากระตุ้น (pharmacologic activity) น้อยลง

โปรเจสเทอโรนมีส่วนทำให้ รังไข่ไม่มีไข่สุก (ovulation) ในระหว่างตั้งครรภ์ เพื่อป้องกันการตั้งครรภ์ซ้อน ท่อรังไข่ (uterine tubes) เมื่อถูกฤทธิ์โปรเจสเทอโรนจะลดความไวของกล้ามเนื้อบริเวณนั้น โปรเจสเทอโรนทำให้น้ำเมือกปากมดลูก (cervical mucus) ลดปริมาณลง แต่เพิ่มความหนืดทำให้เชื้ออสุจิผ่านไปได้ยากหรือไม่ได้เลย สำหรับต่อมน้ำนม (mammary gland) นั้น เมื่อได้รับการกระตุ้นจากเอสโตรเจนแล้ว โปรเจสเทอโรนจะไปช่วยกระตุ้นให้ lobulo alveoli ของต่อมน้ำนมเจริญเติบโตเพื่อเตรียมพร้อมที่จะสร้างน้ำนมต่อไป

นอกจากนี้โปรเจสเทอโรน ยังมีฤทธิ์กระตุ้นให้ร่างกายมีการสร้างความร้อนเพิ่มขึ้น (thermogenic effect) อุณหภูมิร่างกายจะสูงขึ้น ซึ่งเป็นประโยชน์ในการชั่งชั่งถึงการตกไข่ในรอบเดือน การเพิ่มอุณหภูมิร่างกายในระยะครึ่งหลังรอบเดือนเกิดเนื่องจากการเพิ่มปริมาณโปรเจสเทอโรน หรือสารเมตาโบไลต์ (metabolites) ของโปรเจสเทอโรน ซึ่งถูกหลั่งออกมาเป็นจำนวนมาก ในระยะนี้ Van de Velde (1940) ได้กล่าวว่า การตกไข่จะเกิดขึ้น ณ จุดที่อุณหภูมิในร่างกายต่ำกว่าปกติ หลังจากจุดนี้ อุณหภูมิจะเริ่มสูงขึ้นทันที ในครึ่งหลังของรอบเดือน Southam and Gonzaga (1965) ก็ได้ยืนยันว่าลักษณะการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิร่างกายเป็นลักษณะเฉพาะเกี่ยวกับการชั่งชั่งจะมีการตกไข่ได้ ซึ่งการวัดอุณหภูมิจะทำได้ทั้งทางปาก ทวารหนัก หรือช่องคลอด ถือว่ามีผลเท่ากัน ที่จำเป็นอย่างยิ่ง ก็คือต้องวัดอุณหภูมิในขณะที่ร่างกายพักจริง ๆ เป็นภาวะที่ไม่มีการออกกำลังกาย เช่น ตอนตื่นนอน และยังไม่ลุกจากที่นอน ไม่มีการออกกำลังกายแม้แต่อย่างเรียกว่า Basal Body Temperature (BBT)

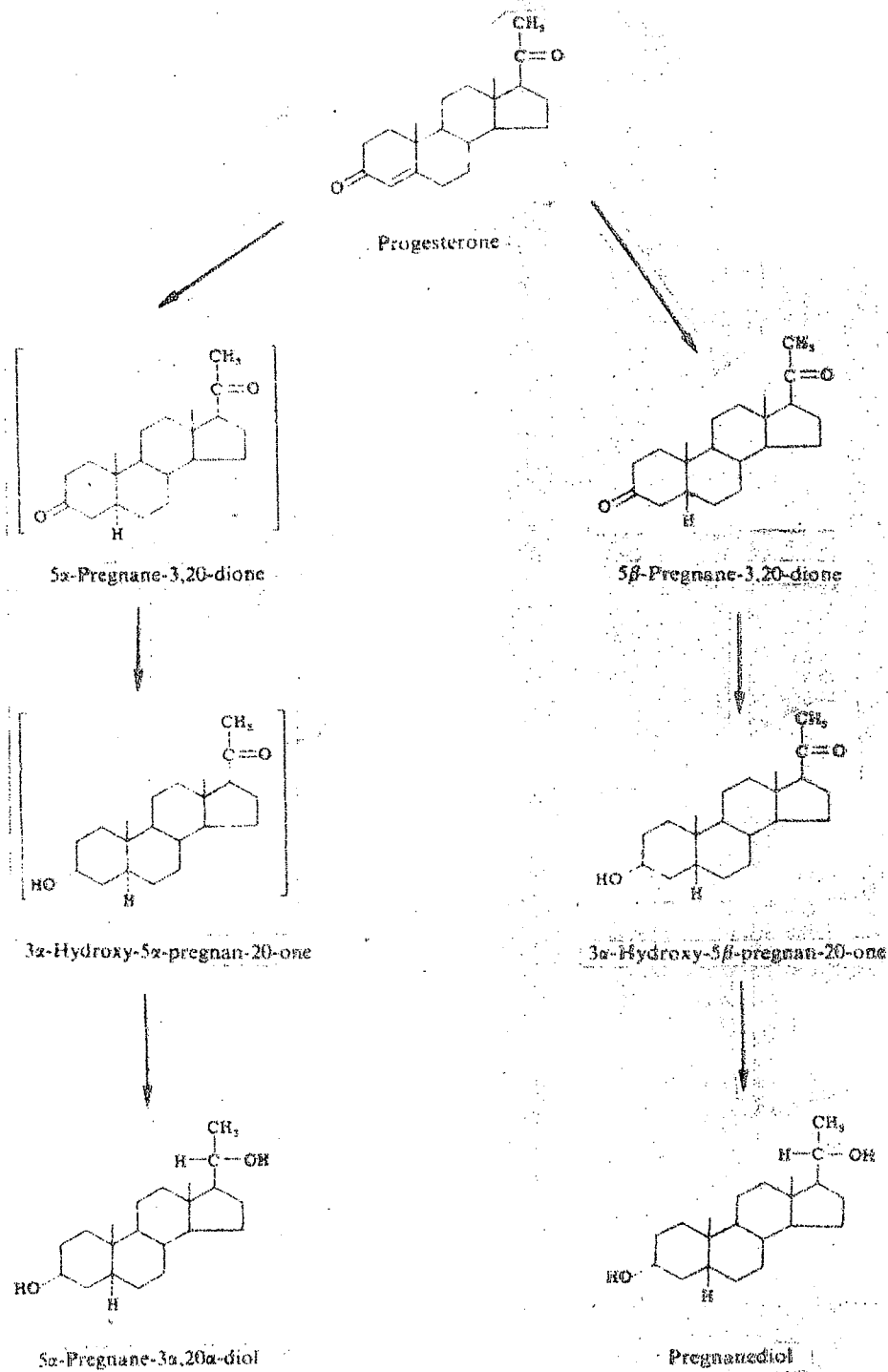
ถึงที่กล่าวมาแล้วจะเห็นว่าแหล่งสำคัญในการสังเคราะห์โปรเจสเทอโรนในร่างกายมนุษย์ได้แก่ รังไข่ และ รก มีจำนวนเล็กน้อยที่สังเคราะห์จากอวัยวะต่อมไร้ท่อ (adrenal cortex) การสังเคราะห์โปรเจสเทอโรน ในรังไข่นั้นอยู่ภายใต้อิทธิพลของระบบประสาทกลาง (Harris, 1964) โดยต่อมใต้สมองจะหลั่งฮอร์โมน Lutenizing Hormone (LH) มา



รูปที่ 1 Biosynthetic pathway of progesterone  
(คัดแปลลงจาก Dorfman, 1956, 1965)

กระตุ้นให้ granulosa lutein cells และ theca interna cells ในคอร์ปัสลูเทียม  
 สังเคราะห์โปรเจสเตอโรนจากอะซีเตต ดังแสดงในรูปที่ 1 Werbin et al (1960) พบว่า  
 จาก acetate ก่อนที่จะให้ cholesterol จะผ่านชั้นกลาง ๆ คือ lanosterol, zymosterol  
 และ desmosterol ต่อจากนี้ cholesterol จะถูก hydroxylate ที่ตำแหน่ง 20 $\alpha$   
 ได้ monohydroxy derivative และถูก hydroxylate ต่อที่ตำแหน่ง 22 R ให้ 20 $\alpha$   
 22 R -dihydroxy cholesterol หรืออาจเกิด hydroxylation ที่ตำแหน่งที่ 22 R  
 ก่อน 20 $\alpha$  ก็ได้ 20 $\alpha$ , 22 R-dihydroxy cholesterol เช่นเดียวกัน (Solomon  
et al, 1956-1957) ต่อมา 20 $\alpha$ , 22 R dihydroxy cholesterol จะถูกเอนไซม์  
 20, 22 desmolase เปลี่ยนเป็น pregnenolone (Shimizu et al, 1960 Chaudhuri  
et al, 1962, Constantopoulos and Tchen, 1961) ซึ่งเอนไซม์นี้จะไปทำให้ C-C bond  
 ที่ตำแหน่ง 20-22 แตกออกได้ pregnenolone (Hayano, 1962) สิ่งนี้จำเป็นสำหรับปฏิกิริยา  
 นี้ก็คือ NADPH<sub>2</sub> (reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate  
 และออกซิเจนในอากาศ เอนไซม์นี้มีมากใน mitochondria (Shimizu et al 1961,  
 Tamaoki and Pincus, 1961) การที่ pregnenolone เปลี่ยนเป็น โปรเจสเตอโรนเกิด  
 จากเอนไซม์  $\Delta^5$  - 3 $\beta$ - hydroxy dehydrogenase ซึ่งมี cofactor เป็น NAD  
 จะเปลี่ยน double bond จากตำแหน่ง 5-6 มาอยู่ที่ 4-5 และ OH group ที่ตำแหน่ง  
 3 เป็น keto group ผลที่ได้ก็คือ โปรเจสเตอโรน (Beyer and Samuels, 1956)

ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่หลั่งออกมาและไหลวนเวียนอยู่ในระบบไหลเวียนของเลือด  
 นั้นจะถูกขับกำจัดออกไปโดยเร็ว โดยการเปลี่ยน โปรเจสเตอโรนให้เป็นสารเมตาโบไลต์ที่ไม่  
 มีคุณสมบัติของโปรเจสเตอโรน สารเมตาโบไลต์ ส่วนใหญ่เป็นผลที่ได้จากการ reduction  
 ที่ double bond และ keto groups ของโปรเจสเตอโรน ดังแสดงในรูปที่ 2  
 เมตาโบไลต์อาจจะแบ่งออกได้ 4 พวกใหญ่ ๆ คือ 1 เปรกเนนไดโอน (pregnenediones)  
 2 เปรกนาโนโลน (pregnanolones) 3 เปรกเนนไดออล (pregnenediol) และพวกสุด  
 ท้ายเป็นสารประกอบอื่น ๆ ที่มี polarity มากกว่า เปรกเนนไดออล ในทั้ง 4 จำพวกนี้  
 พบว่า เปรกเนนไดออล (5 $\beta$ -pregnane - 3 $\alpha$ , 20 $\alpha$  diol) เป็นเมตาโบไลต์ที่



รูป 2 Metabolic pathway of progesterone

(คัดแปลงจาก Dorfman, 1965)



สำคัญที่สุด และมีปริมาณมากกว่าทุกตัว Marrian ในปี 1929 ได้แยกเปรกเนนไดโอด จากปัสสาวะ และพบว่ามีส่วนโครงสร้างใกล้เคียงกับโปรเจสเตอโรนเอง แต่ไม่มีฤทธิ์ของ โปรเจสเตอโรนเหลืออยู่เลย ถูกขับออกมาพร้อมกับปัสสาวะในรูปที่ conjugate กับ glucuronic acid เป็น sodium pregnanediol glucuronide ( NaPG ) เปรกเนนไดโอดอิสระ (free form) ก็มีออกมาบ้างเล็กน้อย นอกจากนี้ยังมี stereo-isomer ของเปรกเนนไดโอดอีก 2 ตัว คือ อัลโลเปรกเนนไดโอด ( 5 $\alpha$  - pregnane 3 $\alpha$  , 20 $\alpha$  diol, 5 $\alpha$  -pregnane 3 $\beta$ , 20 $\alpha$  diol) แต่มีปริมาณน้อยกว่า 5 $\beta$ -isomer มาก (Venning and Brown, 1936)

Fotherby (1964) ได้ชี้ให้เห็นว่า pathways ที่สำคัญสำหรับการขับเมตาโบไลต์ ของโปรเจสเตอโรน ออกจากร่างกายมี 4 ทางด้วยกัน คือ ทางปัสสาวะ ทางน้ำดี (ซึ่งออกจากร่างกายทางอุจจาระ) ทางลมหายใจและทางผิวหนัง จากการศึกษาด้วยสารกัมมันตภาพรังสี โดยใช้ <sup>3</sup>H-labelled progesterone พบว่าเปรกเนนไดโอด ถูกขับออกมา 6-27 % เป็นสารอื่น ๆ ดังนี้ เปรกเนนโนโลน 1.6-5 % และเปรกเนนไดโอด 0.5 - 2 % แต่เป็นตัวของโปรเจสเตอโรนเอง เพียง 0.01 % เท่านั้น (Pearlman, 1957; contractor and Pearlman, 1960; Drosowsky et al, 1965)

งานของ Woolever and Goldfien (1963); Klopper et al (1957) ได้ค้นพบว่าระดับเปรกเนนไดโอดในปัสสาวะ เป็นสัดส่วน โดยตรงกับระดับโปรเจสเตอโรนในเลือด จึงเป็นประโยชน์ในการที่จะทราบสภาพฮอร์โมนตัวนี้ ในทางปฏิบัติ การตรวจหาโปรเจสเตอโรนในเลือดโดยตรง เป็นเรื่องยุ่งยากมาก เพราะว่าระดับโปรเจสเตอโรนในเลือดมีอยู่น้อย และเราไม่สามารถจะเจาะเลือดมาทดลองเป็นจำนวนมาก ๆ ได้ ดังนั้น จึงนิยมใช้วัดระดับเปรกเนนไดโอดในปัสสาวะแทน เพื่อใช้เป็นเครื่องชี้บ่ง ถึงการเปลี่ยนแปลงระดับโปรเจสเตอโรนในเลือด ซึ่งมีความสำคัญสะท้อนให้เห็นประสิทธิภาพในการหลั่งฮอร์โมนนี้ โดยรังไข่หรือรก

Marrian (1929), Klopper et al (1957) พบว่าระดับเปรกเนนไดโอด ในสตรีไม่ตั้งครรภ์ในครั้งแรกรอบเดือน ปริมาณจะค่าประมาณ 0.5 มก.ต่อปัสสาวะ 24 ชม.

และไม่มี peak ส่วนครึ่งหลัง รอบเดือน เปรกเนนไคออล จะทวีจำนวนมากขึ้น มีค่าระหว่าง 2-5 มก. คอปัสสาวะ 24 ชม. มี peak สูงสุดในระยะ 7 วันหลังไขตก และจะลดระดับลง 2-4 วันก่อนมีประจำเดือน เคือนถัดไป สำหรับระดับเปรกเนนไคออลในระยะตั้งครรภ์จะค่อย ๆ สูงขึ้น จนถึงสัปดาห์ที่ 38 จะสูงสุด และเริ่มลดลงเล็กน้อย จนถึงระยะคลอด (Russel et al., 1960) ปริมาณโดยเฉลี่ยในสัปดาห์ที่ 20 ประมาณ 20 มก. คอปัสสาวะ 24 ชม. จนสูงสุด ประมาณ 48 มก. คอปัสสาวะ 24 ชม.

ในด้านการแพทย์ ก็ได้ใช้ประโยชน์จากการวัดเปรกเนนไคออลในปัสสาวะเพราะว่า ระดับเปรกเนนไคออล ที่เพิ่มขึ้นในระยะครึ่งหลังรอบเดือนจะบอกได้ว่าการตกไข่หรือไม่ ซึ่งเป็นประโยชน์เกี่ยวกับ การควบคุมการดอกำเนิด และการคุมกำเนิด (Fertility Control) นอกจากนี้ระดับเปรกเนนไคออลในภาวะตั้งครรภ์ ยังเป็นเครื่องบอกถึงประสิทธิภาพของรกว่า ทำหน้าที่ได้ดีเป็นปกติหรือไม่ (Klopper and Billewicz, 1963) การวัดระดับเปรกเนนไคออลจึงนับว่าเป็นประโยชน์มากควรจะได้นำมาศึกษาในสตรีไทยด้วยเนื่องจากเรายังไม่มีค่าระดับปกติ (normal value) ของเปรกเนนไคออลในปัสสาวะสตรีตั้งครรภ์และไม่ตั้งครรภ์เลย

สำหรับวิธีตรวจหาระดับเปรกเนนไคออลในปัสสาวะทำได้ 3 วิธีใหญ่ ๆ คือ

1. Colorimetric Methods
2. Gas Chromatographic Methods (GLC)
3. Isotopic Methods

วิธี Colorimetric Methods นั้นได้มีผู้ทำการทดลองมาก่อนหลายท่าน อาทิเช่น Borth (1952), Klopper et al. (1955), Eberlein and Bongiovanni (1958) Lipp (1960), Goldzieher and Nakamura (1952), Oertel and Groot (1965) จะยกตัวอย่างเฉพาะของบางท่าน เพื่อแสดงหลักการและวิธีตรวจหาเปรกเนนไคออลโดยสังเขป เท่านั้น เช่น วิธีของ Klopper et al. (1955) ทำการทดลองเป็นขั้น ๆ ดังต่อไปนี้

- ก. ทำการไฮโดรไลส (hydrolysis) ด้วยกรด
- ข. สกัดด้วยโทลูอีน (toluene)



- ค. ซักสิ่งเจือปน (impurity) ด้วยสารละลายต่างกันในทาง
- ง. ทำโครมาโตกราฟี (Chromatography) ด้วยอลูมินา (standardized alumina)
- จ. ทำอะเซทิลเลชัน (acetylation)
- ฉ. ทำโครมาโตกราฟีอีกครั้งหนึ่งด้วยอลูมินา
- ช. วัสดุโดยทำให้เกิดสีด้วยกรดกำมะถันเข้มข้น

ซึ่งตามวิธีของ Kloppe et al (1955) ใช้เวลาทดลองถึงวันครึ่ง และขาดความสะดวกในการทดลอง เพราะว่า อลูมินาที่ใช้จะต้องผ่านการ standardize ซึ่งซื้อได้ในวางแคบ มักจะขาดตลาดทำให้งานต้องชงัก แต่ผลการทดลองถือว่า มี % recovery สูงสุด (94%) Sulimovici, Lunenfeld and Shelesnyak (1965) จึงได้ดัดแปลงวิธีการทดลองโดยใช้เทคนิคของ thinlayer chromatography (TLC) มาช่วยให้ได้วิธีที่สะดวกและรวดเร็วขึ้นมาก เหมาะแก่การทำให้เป็นงานประจำวัน โดยใช้ผู้ทดลอง 1 คน สามารถทำการทดลอง 6 ตัวอย่างในเวลา 1 วัน (8 ชั่วโมงการทดลอง) เทียบกับวิธีของ Kloppe และคณะจะใช้เวลา 1 1/2 วัน ต่อ 4 ตัวอย่าง ต่อผู้ทดลอง 1 คน

วิธี GLC นั้น มีผู้ค้นคว้าทางนี้คือ Cooper et al (1962), Patti et al (1963), Turner et al (1963), Wotiz (1963), Lau and Jones (1964) Panicucci and Taponeco (1965), Chatteraj and Scommegna (1967)

ตามวิธี ของ Lau and Jones (1964) มีหลักการและวิธีการย่อ ๆ ดังนี้

- ก. ทำการไฮโดรไลสด้วยกรด
- ข. สกัดด้วยโทลูอีน
- ค. ทำโครมาโตกราฟี ด้วย silica gel
- ง. elute ด้วย แอลกอฮอล์ (ethyl alcohol)
- จ. วัดด้วย GLC

วิธีนี้ก็ใช้เวลาค่อนข้างนาน และยุ่งยากแก่การวัดเป็นประจำ Brush, Taylor and Maxwell(1966) จึงได้ดัดแปลงวิธีนี้ให้เหมาะกับการใช้ ตรวจหาเปรกเนนไดออล ประจำวันโดยข้ามขั้นโครมาโตกราฟี ปรากฏว่าใช้เวลาการทดลองน้อยลง ผู้ทดลอง 1 คน สามารถทำได้ 6 ตัวอย่างต่อวัน วิธี GLC นี้จำเป็นจะต้องใช้เครื่องมือ Gas Chromatograph ซึ่งราคาค่อนข้างแพง แต่สำหรับในห้องปฏิบัติการที่มีเครื่องมือนี้แล้วก็นับว่าไม่เป็นปัญหาอย่างไร

วิธี Isotopic method, Ehrlich (1965) ได้ทดลองโดยทำเป็นขั้น ๆ  
คือ

- ก. ใช้ tritium -labelled pregnanediol เป็น internal standard
- ข. ทำการไฮโดรไลสด้วย  $\beta$  - glucuronidase
- ค. สกัดด้วย เบนซีน (benzene)
- ง. ทำโครมาโตกราฟี ด้วย silica gel
- จ. elute และทำอะเซททีลเลชั่นด้วย C-14
- ฉ. ทำโครมาโตกราฟีอีกครั้งหนึ่ง
- ช. วัดกัมมันตภาพรังสีของ C-14 และ tritium

ซึ่งวิธีนี้มีข้อดีในแง่ที่ใช้ปัสสาวะเพื่อการทดลอง จำนวนเพียง 1 มล. เท่านั้น สะดวกแก่การปฏิบัติ แต่ยุ่งยากในขบวนการทดลอง ต้องใช้เครื่องมือและสารที่แพงมาก จึงไม่เหมาะสำหรับการวิเคราะห์ประจำวัน

จากความสำคัญของโปรเจสเทอโรน ดังกล่าวแล้ว การทราบระดับเปรกเนนไดออล ในปัสสาวะสตรีไทย ในภาวะต่าง ๆ ย่อมเป็นประโยชน์เกี่ยวกับการแพทย์ด้วย ในการวิจัยครั้งนี้จึงได้ศึกษาระดับเปรกเนนไดออลในสตรีไทย ในขั้นแรกก็เป็นการศึกษาวิธีวัดเปรกเนนไดออล ที่ได้ผลและทำได้ง่ายเหมาะที่จะใช้วิเคราะห์เป็นประจำ คือ จะเลือกศึกษาวิธี TLC (colorimetric method) ของ Sulimovici et al (1965) และ วิธี GLC ของ Brush et al (1966) ซึ่งวิธีการไม่ยุ่งยากจนเกินไป เมื่อได้ศึกษาเปรียบเทียบวิธีทั้ง 2 ตลอดจน

อาจจะปรับปรุงแก้ไขให้ดีขึ้น เหมาะแก่สภาพการทดลองในเมืองไทยแล้วก็นำวิธีนี้ไปใช้วัดระดับของ เปรกเนนโคออลในสตรีไทย ที่ไม่มีครรภ์ มีครรภ์ปกติ และมีครรภ์ผิดปกติต่อไป.