

ความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงบางอย่างทางชีวเคมีกับการเจริญของเนื้องอก



นางสาว อัญชลี มไหศรีโยกม

ศูนย์วิทยทรัพยากร

วิทยานิพนธ์นี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต

ภาควิชาชีวเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2526

ISBN 974-562-374-1

011275

118293057

Correlation of Certain Biochemical Changes with Tumour Growth

Miss Anchlee Mahaisiriyodom

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Department of Biochemistry

Graduate School

Chulalongkorn University

1983

ISBN 974-562-374-1

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงบางอย่างทางชีว เคี้ยว กับ การเจริญของเนื้องอก
โดย	นางสาว อัญชลี นิติศรี โยคุณ
ภาควิชา	ชีวเคมี
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ ดร.ปรีดา ชัยศรี



บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่ง ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....*นายสมชาย ชัยศรี*..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ ดร.อุประดิษฐ์ บุนนาค)

คณะกรรมการลอบวิทยานิพนธ์

.....*ดร.นราพร ทิพย์*..... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สรว.เสรีย ทวีพย์ไชยก)

.....*ดร. อุบลรัตน์*..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.จริยา บุญวัฒน์)

.....*ดร. พัชรินทร์ ภู่*..... กรรมการ

(ดร. เพชรินทร์ ศรีสวัสดิ์)

.....*ดร. น.ร.*..... กรรมการ

(อาจารย์ ดร.ปรีดา ชัยศรี)

ลักษณะของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงบางอย่างทางชีวเคมี กับการเจริญของเนื้องอก
ชื่อนิสิต	นางสาว อัญชลี มไหศิริโยคุ
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ ดร. ปรีดา ชัยศรี
ภาควิชา	ชีวเคมี
ปีการศึกษา	2525



บทตัดย่อ

ในการศึกษาเพื่อถือการเปลี่ยนแปลงแผลดิวิติของแลดและเต็คลดไฮโลรีสเนสรรวมทั้งรูปแบบของไอโซไซม์ในเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม เปรียบเทียบกับในเนื้อเยื่อเต้านมปกติและเนื้องอกเต้านม ปรากฏว่าแผลดิวิติของเอ็นไซม์นี้ในเนื้อเยื่อทั้งสามชนิดนี้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ต คำเฉลี่ยอัตราส่วนแผลดิวิติของ LDH-4/LDH-3 หรือ LDH-5/LDH-1 ในเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมสูงกว่าในเนื้อเยื่อเต้านมปกติและเนื้องอกเต้านม ซึ่งแม้ว่าจะไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ทำให้เห็นแนวโน้มว่ามีการเปลี่ยนแปลงรูปแบบของไอโซไซม์เกิดขึ้นในเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม

จากการเปรียบเทียบปริมาณโพลีเออมีนในปัสสาวะของผู้ป่วยมะเร็งและของคนปกติได้แสดงให้เห็นว่า ในปัสสาวะของผู้ป่วยมะเร็งชนิดต่าง ๆ เช่น มะเร็งเต้านม มะเร็งปอด มะเร็งต่อมลูกหมาก มะเร็งตับ มะเร็งหลอดอาหาร มะเร็งหลังโพรงจมูก มะเร็งรังไข่ มะเร็งลำไส้ใหญ่ มะเร็งต่อมน้ำเหลือง มะเร็งป้ามดลูก มะเร็งกระเพาะอาหาร มีปริมาณของโพลีเออมีนสูงกว่าของคนปกติอย่างมีนัยสำคัญ โดยเฉพาะผู้ป่วยมะเร็งตับ มะเร็งเต้านม มะเร็งปอด และมะเร็งต่อมลูกหมากทุกรายมีสเปอร์มิตินในปัสสาวะสูงกว่าระดับปกติ ซึ่งน่าจะใช้สเปอร์มิตินเป็นตัวบ่งชี้การเป็นมะเร็งเหล่านี้ในระยะแรกเริ่มได้ และการลดลงของปริมาณโพลีเออมีนในปัสสาวะของผู้ป่วยมะเร็งรังไข่ มะเร็งเต้านม มะเร็งหลอดอาหาร มะเร็งลำไส้ใหญ่ มะเร็งกระเพาะอาหาร และมะเร็งต่อมลูกหมาก หลังการผ่าตัด เอากระเพาะออกจากผู้ป่วยแล้วเป็นเครื่องแสดงให้เห็นว่า ปริมาณโพลีเออมีนที่เพิ่มขึ้นในปัสสาวะของผู้ป่วยมะเร็งนั้นมาจากการเซลล์มะเร็ง

ในการติดตามวัดปริมาณโพลีเอเมินในปัสสาวะของผู้ป่วยมะเร็งหลังโพรงจมูก มะเร็งเหงือก มะเร็งต่อมทอนซิล มะเร็งที่ลิ้น มะเร็งที่คอ มะเร็งเต้านม มะเร็งหลอดอาหาร มะเร็งรังไข่ และมะเร็งต่อมน้ำเหลือง ในระหว่างได้รับการรักษาโดยรังสีรักษาและเคมีบำบัด ปรากฏว่า ผู้ป่วยส่วนใหญ่ที่ตอบสนองต่อการรักษาชั้น complete response จะมีปริมาณโพลีเอเมินในปัสสาวะ สูงขึ้นหลังจากเริ่มการรักษา ๔ - ๖ สปีด้าห์ และในที่สุดจะลดลงจนใกล้เคียงปกติเมื่ออาการของโรคุหายเลาลง ส่วนคนไข้ที่ตอบสนองต่อการรักษาชั้น partial response จะมีปริมาณโพลีเอเมินในปัสสาวะเปลี่ยนแปลงไม่แน่นอนและแตกต่างกันในแต่ละราย ผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาส่วนใหญ่มีปริมาณโพลีเอเมินในปัสสาวะเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย ในการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า ขณะที่เซลล์มะเร็งถูกทำลายด้วยยาหรือรังสี ปริมาณโพลีเอเมินในปัสสาวะจะเพิ่มขึ้นภายหลังจากเริ่มการรักษาไม่นาน

ศูนย์วิทยทรัพยากร รุฟานกรณ์มหาวิทยาลัย



Abstract

Lactate dehydrogenase activity and its isozyme patterns in normal and breast tumour tissues were compared. There was no significantly different in the enzymic activity between these tissues. However, the mean value of LDH-4/LDH-3 or LDH-5/LDH-1 activity in breast cancer tissue was lower, though not significantly, than benign or normal breast tissue. It appears likely that different isozyme pattern was present in breast cancer tissue.

Urinary polyamine concentrations in cancer patients including carcinoma of the breast, lung, prostate, liver, esophagus, nosopharynx, ovary, colon, lymphoma, cervix and stomach were significantly higher than those of normal subjects. Every patient with cancer of the liver, breast, lung and prostate, in this study, had elevated urinary spermidine levels above 2 standard deviation of the normal mean value. This raises the hope that the urinary spermidine determination might be useful in detecting the presence of these malignancies at an early stage.

A decrease in urinary polyamine levels in patients with carcinoma of the ovary, breast, esophagus, colon, stomach and prostate after removing of tumour mass supports the hypothesis that the increments in

polyamines in extracellular fluids were derived mainly from tumour cells.

Follow-up measurement of urinary polyamine concentrations in patients with cancer of the nasopharynx, gum, tonsil, tongue, hypopharynx, breast, esophagus, ovary and lymphode during radiotherapy or chemotherapy revealed that the initial rise in urinary polyamine concentration was associated with a complete response to therapy, and the subsequent low levels were in a period of remission. Those patients with partial response showed variation in urinary polyamine concentrations during treatment and different pattern for each patient. Most of the non-responders had slightly change in urinary polyamine levels during therapy. This observation suggests that the increase in urinary polyamine level which occurs during tumour regression might be due to the release of polyamines from dead or dying tumour cells.

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



กิติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้จะไม่ส่งเรื่องอุ่่วงไปได้ถ้าไม่ได้รับความช่วยเหลือจากบุคคลต่าง ๆ ซึ่ง
ผู้เขียนขอขอบพระคุณมา ณ ที่นี่ คือ อาจารย์ ดร. ปรีดา ชัยศิริ ที่ได้กรุณาแนะนำและให้
คำปรึกษาในการทำวิจัยมาตั้งแต่ต้นจนจบ ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. จริยา บุญญวัฒน์
ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษาและเอื้อเทือเบ่งตัวอย่างเนื้อเยื่อ เด้านมชนิดต่าง ๆ ให้ส่วนหัวในการวิจัย
ครั้งนี้ ขอขอบคุณ อุณลลิตา บรินายโกศล ที่ได้ช่วยเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อเด้านมและช่วยวัด
ปริมาณอีสโคตร เจนรี เชพเตอร์ในเนื้อเยื่อ เด้านมให้ ขอกราบขอบพระคุณนายแพทย์สมชาย
สมบูรณ์เจริญ นายแพทย์ผู้อ่านวยการสถาบันมะเร็งแห่งชาติที่ได้กรุณาอนุญาตและให้ความสะดวก
ในการเก็บตัวอย่างปัสสาวะของผู้ป่วยมะเร็ง ขอกราบขอบพระคุณ ดร. เพชรินทร์ ศรีวัฒนกุล
ที่ได้กรุณาแนะนำและช่วยเหลือติดต่อการเก็บตัวอย่างจากผู้ป่วย และขอขอบคุณ อุณบุญนา
พันธุ์แย้มมาลี ที่ช่วยเหลือค้นหะเป็นประวัติผู้ป่วย ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่พยาบาลแผนกเคมีบำบัด
และศึกษาผู้ป่วย สถาบันมะเร็งแห่งชาติ และเจ้าหน้าที่พยาบาลโรงพยาบาลลงษ์ที่ช่วยเก็บตัวอย่าง
ในการวิจัย ขอขอบคุณ อุณลลิตา พริงล่าจุ ที่ช่วยเชื่อมต่อระบบการวิจัย ขอขอบคุณผู้ป่วย
มะเร็งและอาสาสมัครทุกคนที่กรุณาให้ตัวอย่างปัสสาวะส่วนหัวในการวิจัยครั้งนี้ สุดท้ายนี้ขอขอบคุณ
ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่อ่านนวยความสะดวกให้ใช้ห้อง
ปฏิบัติการรวมทั้งวัสดุและครุภัณฑ์ต่าง ๆ และขอขอบพระคุณบังชิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ที่กรุณาให้ทุนอุดหนุนการวิจัยครั้งนี้

ผู้ดูแลไทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



戢拉榜

หน้า

บทตัดย่อภาษาไทย	๗
บทตัดย่อภาษาอังกฤษ	๘
กิจกรรมประการ	๙
สารบัญตาราง	๑๖
สารบัญภาพ	๑๗
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	๑๘

۱۷۰

1.	บทนำ	1
2.	เคมีภัณฑ์และเครื่องมือ	11
2.1	เคมีภัณฑ์	11
2.2	เครื่องมือ	12
2.3	ตัวอย่างเนื้อเยื่อเต้านม	12
2.4	ตัวอย่างปัสสาวะ	13
2.5	การเก็บตัวอย่างปัสสาวะ	14
3.	วิธีทดลอง	
3.1	การเตรียมสารละลาย	15
3.2	การเตรียมโพลีอะครีลามิดเจล	18
3.3	การสะกัดเอ็นไซม์แลคเตต์โดยโกรชเนสจากเนื้อเยื่อเต้านม	18
3.4	วิธีรดแอดคิติวิตของเอ็นไซม์แลคเตต์โดยโกรชเนส	19
3.5	วิธีแยกเอ็นไซม์แลคเตต์โดยโกรชเนสโดยโพลีอะครีลามิดเจล อีเล็ก tro-ไฟฟ์ชิล	19
3.6	การเตรียมคอสัมป์ Dowex 50W-X8	20

หน้า	3.7 การวิเคราะห์โพลีเออมีน	20
	3.7.1 การไอโคลิสปัสสาวะ	20
	3.7.2 การแยกโพลีเออมีนโดยคอัลจ์ Dowex 50W-X8	21
	3.7.3 การวัดปริมาณโพลีเออมีนโดยวิธีคัลเลอวิเมทริก	21
	3.7.4 การทดสอบความเชื่อถือได้ของ การวัดโพลีเออมีนในปัสสาวะโดยวิธีคัลเลอวิเมทริก	22
4. ผลการทดลอง		
	4.1 ผลการวัดแอลกอติวิทีของ เอ็นไซม์แลค เดตติไอก็อโรจีนส์ในเนื้อเยื่อเต้านม	23
	4.2 รูปแบบของไอโไซไซม์แลค เดตติไอก็อโรจีนส์	23
	4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างแอลกอติวิทีของแลค เดตติไอก็อโรจีนส์กับระดับต่าง ๆ ของมะเร็งเต้านม	28
	4.4 แอลกอติวิทีของแลค เดตติไอก็อโรจีนส์ในเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมที่มีและไม่มีเซลล์ไครโนไซด์	30
	4.5 ผลการวัดปริมาณโพลีเออมีนโดยวิธีคัลเลอวิเมทริก	32
	4.6 ผลการแยกโพลีเออมีนด้วยคอัลจ์ Dowex 50W-X8	32
	4.7 ผลการทดสอบความเชื่อถือได้ของ การวัดปริมาณโพลีเออมีนในปัสสาวะ	32
	4.7.1 ผลการศึกษาความถูกต้องของ การวัดปริมาณโพลีเออมีน	32
	4.7.2 ผลการศึกษาความแม่นยำของ การวัดปริมาณโพลีเออมีน	38
	4.8 ความเข้มข้นของโพลีเออมีนในปัสสาวะของคนปกติและของผู้ป่วยมะเร็งชนิดต่าง ๆ ก่อนการรักษา	42
	4.9 ความเข้มข้นของโพลีเออมีนในปัสสาวะของผู้ป่วยมะเร็งก่อนและหลังรักษาด้วยการผ่าตัด	47

4.10 ความเข้มข้นของโพลีเออมีนในปัลสสาวะของผู้ป่วยมะเร็งชนิดต่าง ๆ ในระหว่างการรักษา	51
4.11 ความเข้มข้นของโพลีเออมีนในปัลสสาวะคนปกติในวันต่าง ๆ กัน	67
5. วิจารณ์ผลการทดลอง	70
เอกสารอ้างอิง	82
ภาคผนวก	94
ประวัติ	99

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. แอคติวิตีของไอโซไซด์แลค เคทีไอโตรสเนลในเนื้อเยื่อเต้านมปกติ เนื้องอกเต้านม และเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม	27
2. ความสัมพันธ์ระหว่างแอคติวิตีของแลค เคทีไอโตรสเนลกับระดับต่าง ๆ ของมะเร็งเต้านม	29
3. การแยกโพลีเออมีนโดยคอสัมบ์ Dowex 50W-X8	36
4. ความถูกต้องของการวัดปริมาณฟอลิโนไซด์วิชัล เลอวี เมตริก	37
5. ความถูกต้องของการวัดปริมาณฟอลิโนไซด์วิชัล เลอวี เมตริก	39
6. ความถูกต้องของการวัดปริมาณฟอลิโนไซด์วิชัล เลอวี เมตริก	40
7. ความแม่นยำของการวัดปริมาณโพลีเออมีนโดยวิชัล เลอวี เมตริก	41
8. ปริมาณของโพลีเออมีนในปัสสาวะของผู้ป่วยมะเร็งชนิดต่าง ๆ ก่อนได้รับการรักษา .	43

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ

ลำดับที่	หน้า
1. ขบวนการไก่โคล่าจิส	5
2. ขบวนการสร้างไฟสีเข้มในสีขาว	7
3. แอคติวิตี้ของ เอ็นไซม์แลค เทคต์ไฮโครซีเนสใน เนื้อ เยื่อ เด้านมปกติ เนื่องจาก เด้านมและ เนื้อ เยื่อมะ เริง เด้านมของแต่ละราย	24
4. รูปแบบของไฮไซม์แลค เทคต์ไฮโครซีเนสใน เนื้อ เยื่อ เด้านมปกติ เนื่องจาก เด้านมและ เนื้อ เยื่อมะ เริง เด้านมที่แยกโดยไฟลามไนท์ เจล อีเลคโตรไฟฟ์ชิลล์	25
5. รูปแบบของไฮไซม์แลค เทคต์ไฮโครซีเนสใน เนื้อ เยื่อ เด้านม	26
6. แอคติวิตี้ของแลค เทคต์ไฮโครซีเนสใน เนื้อ เยื่อมะ เริง เด้านมที่มีและไม่มี อีล็อกโตรเจนร์ เซพ เทอร์ของผู้ป่วยแต่ละราย	31
7. กราฟมาตรฐานของชุด เทเรสเซิน	33
8. กราฟมาตรฐานของสเปอร์มีติน	34
9. กราฟมาตรฐานของสเปอร์มีน	35
10. ความ เข้มข้นของชุด เทเรสเซินในปัสสาวะของผู้ป่วยมะ เริงชนิดต่าง ๆ ในแต่ละราย	44
11. ความ เข้มข้นของสเปอร์มีตินในปัสสาวะของผู้ป่วยมะ เริงชนิดต่าง ๆ ในแต่ละราย	45
12. ความ เข้มข้นของสเปอร์มีนในปัสสาวะของผู้ป่วยมะ เริงชนิดต่าง ๆ ในแต่ละราย	46
13. ความ เข้มข้นของชุด เทเรสเซินในปัสสาวะของผู้ป่วยมะ เริงก่อนและหลังรักษา ด้วยการผ่าตัด	48
14. ความ เข้มข้นของสเปอร์มีตินในปัสสาวะของผู้ป่วยมะ เริงก่อนและหลังรักษา ด้วยการผ่าตัด	49
15. ความ เข้มข้นของสเปอร์มีนในปัสสาวะของผู้ป่วยมะ เริงก่อนและหลังรักษา ด้วยการผ่าตัด	50
16. ความ เข้มข้นของไฟสีเข้มในปัสสาวะของผู้ป่วยมะ เริงที่คือในระหว่างการรักษา ซึ่งตอบสนองต่อรังสีรักษาชั้น complete response	53

รุ่นที่	หน้า
17. ความเข้มข้นของโพลีเออมีนในปัสสาวะของผู้ป่วยมี เริงหลังไพร์จูกในระหว่างการรักษาซึ่งตอบสนองต่อรังสีรักษาชั้น complete response	54
18. ความเข้มข้นของโพลีเออมีนในปัสสาวะของผู้ป่วยมี เริงหลังไพร์จูกในระหว่างการรักษาซึ่งตอบสนองต่อรังสีรักษาชั้น partial response	55
19. ความเข้มข้นของโพลีเออมีนในปัสสาวะของผู้ป่วยมี เริงเหจิอกในระหว่างการรักษาซึ่งตอบสนองต่อรังสีรักษาชั้น partial response	56
20. ความเข้มข้นของโพลีเออมีนในปัสสาวะของผู้ป่วยมี เริงต่อมทอนซิลในระหว่างการรักษาซึ่งตอบสนองต่อรังสีรักษาชั้น partial response	57
21. ความเข้มข้นของโพลีเออมีนในปัสสาวะของผู้ป่วยมี เริงที่ลิ้นในระหว่างการรักษาซึ่งไม่ตอบสนองต่อรังสีรักษา	58
22. ความเข้มข้นของโพลีเออมีนในปัสสาวะของผู้ป่วยมี เริงเด้านมในระหว่างการรักษาซึ่งไม่ตอบสนองต่อรังสีรักษา	59
23. ความเข้มข้นของโพลีเออมีนในปัสสาวะของผู้ป่วยมี เริงหลอดอาหารในระหว่างการรักษาซึ่งไม่ตอบสนองต่อรังสีรักษา	60
24. ความเข้มข้นของโพลีเออมีนในปัสสาวะของผู้ป่วยมี เริงรังไข่ในระหว่างการรักษาซึ่งตอบสนองต่อ เคเมบ์บัคชั้น complete response	61
25. ความเข้มข้นของโพลีเออมีนในปัสสาวะของผู้ป่วยมี เริงที่ลิ้นในระหว่างการรักษาซึ่งตอบสนองต่อ เคเมบ์บัคชั้น partial response	62
26. ความเข้มข้นของโพลีเออมีนในปัสสาวะของผู้ป่วยมี เริงต่อมทอนซิลในระหว่างการรักษาซึ่งตอบสนองต่อ เคเมบ์บัคชั้น partial response	64
27. ความเข้มข้นของโพลีเออมีนในปัสสาวะของผู้ป่วยมี เริงต่อมทอนซิลในระหว่างการรักษาซึ่งไม่ตอบสนองต่อ เคเมบ์บัค	65
28. ความเข้มข้นของโพลีเออมีนในปัสสาวะของผู้ป่วยมี เริงต่อมน้ำเหลืองในระหว่างการรักษาซึ่งไม่ตอบสนองต่อ เคเมบ์บัค	66
29. ความเข้มข้นของโพลีเออมีนในปัสสาวะของชายปกติในวันต่าง ๆ กัน	68

รูปที่	หน้า
30. ความเข้มข้นของโพลีเออมีนในปั๊สสาวะของสตอร์บกติในวันต่าง ๆ กัน	69
31. กราฟเม่าครฐานของโปรดีนมาครฐาน BSA	96
32. กราฟเม่าครฐานของเครื่องดินนิน	98





คำย่อ

LDH = แลค เมตต์ไอโคริก เนส

μmol = ไมโครโมล

μg = ไมโครกรัม

CV = สัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน

BSA = ใบใบวันซึ่งแลบลูมิน