การอภิปรายผลการวิจัย

การหาปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีนในเนื้อเยื่อเต้านม โดยวิธีดูดซับด้วยผงถ่านที่เคลือบด้วยเดกซแทรน เป็นวิธีที่ไม่ยุ่งยาก สะดวก รวดเร็ว สามารถทำได้เสร็จในวันเดียว นอกจากนี้ยังต้องการปริมาณเนื้อเยื่อตัวอย่างจำนวนน้อย คือ ประมาณ 200 – 1000 มิลลิกรัม และต้องการปริมาณสารรังสีเพียง 0.4 ไมโครคิวรีต่อ 1 ตัวอย่าง ข้อดีอีกประการหนึ่งก็คือผงถ่านที่ใช้สำหรับดูดซับ free compound ออกจาก bound compoundนั้น ราคาถูก เมื่อเทียบกับวิธีอื่น ๆ คือ วิธีใช้ Sephadex column, agar gel electrophoresis หรือการเซ็นตริฟิวจ์ในสารละลายซูโครสที่มีความหนาแน่นต่างกัน ความถูกต้องและความไวอยู่ในระดับที่นำมาใช้งานได้ดี

จากการวิจัยตัวอย่างของเนื้อเยื่อมะเร็งทั้งหมด 85 ตัวอย่าง มีรีเซพเตอร์บวก 51% (43/85) เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองนี้กับผู้ทดลองอื่น ๆ (ตารางที่ 9) ซึ่งทำการหาปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีน ด้วยวิธีดูดซับด้วยผงถ่าน วิธีตัดเนื้อเยื่อเป็นแผ่นบาง และวิธีเซนตริฟิวจ์ในน้ำตาลซูโครสที่มีความหนาแน่นต่างกัน Johansson และคณะ (1970), Hahnel และคณะ (1971) ใช้วิธีตัดเนื้อเยื่อเป็นแผ่นบาง พบจำนวนรีเซพเตอร์บวก 45% (14/31) และ 18% (13/71) ส่วนวิธีดูดซับด้วยผงถ่าน ตามการวิจัยในครั้งนี้พบจำนวนรีเซพเตอร์บวก 51% (43/85) ซึ่งใกล้เคียงกับ Korenman และ Dukes (1970) พบ 47% (7/15), Haass และคณะ (1972) พบ 41% (67/164) สูงกว่า McGuire และ DelaGarza (1973) พบเพียง 33% (14/43), ต่ำกว่า Leung และคณะ (1973) พบ 59% (34/58) Fohrty และคณะ(1971) พบจำนวนรีเซพเตอร์บวกถึง 70% ผู้รายงานกลุ่มนี้ได้อ้างว่าวิธีที่เขาใช้มีความไวสูง เนื่องจากการเติมสารพวก thiol ลงไปในสารที่ทำปฏิกริยาด้วย มีผู้วิจัยที่ทดลองและแสดงผลงานสนับสนุนความคิดข้างต้นนี้ก็คือ McGuire และ DelaGarza (1973) และ Leclercq และคณะ (1975) สารประเภท

ตารางที่ 9 แสดงการเปรียบเทียบเปอร์เซนต์ที่พบรีเซนเตอร์บวก (R_C+) ในเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมของคนจากผู้ทดลองต่าง ๆ

ผู้ทดลอง	วิธี	จำนวนตัวอย่างที่ทดลอง	จำนวนตัวอย่างที่มีรีเซพเตอร์	% R_C+
[illegible] และคณะ(1970)	tissue slice	31	14	45
Korenman & Dukes(1970)	DCC	15	7	47
Feherty และคณะ (1971)	DCC	53	37	70
Hahnel และคณะ (1971)	tissue slice	71	13	18
Maass และคณะ (1972)	DCC	164	67	41
Wittliff และคณะ (1972)	Sucrose gradient	245	142	58
Leclercq และคณะ (1973)	Sucrose gradient	77	43	56
McGuire and DeLaGarza (1973)	DCC	43	14	33
Leung และคณะ (1973)	DCC	58	34	59
Engelsman และคณะ(1973)	DCC	37	17	46
Savlov และคณะ (1974)	Sucrose gradient	130	73	56
Leclercq และคณะ (1975)	DCC	214	156	73
Rosen และคณะ (1975)	Sucrose gradient	147	80	55
การทดลองของผู้เขียน	DCC	85	43	51

thiol ที่ผู้รายงาน 2 กลุ่มนี้ใช้คือ dithiothreitol และ β - mercapto-ethanol ตามลำดับ สำหรับกลุ่มแรกนั้นได้แสดงว่าการใส่สารประเภท thiol ลงไปทำให้การวัดปริมาณรีเซพเตอร์ในไซโตซอล ซึ่งเดิมวัดได้ประมาณ 5 เฟมโตโมล/มก.โปรตีน มีค่าสูงขึ้นประมาณ 3 เท่า

จากการวิจัยหาสภาพการณ์ที่เหมาะสมต่าง ๆ ในการหาปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีน ผู้วิจัยได้เลือกอินคิวเบทให้รีเซพเตอร์จับตัวกับ 17-β ^{3}H - E_2 ที่ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง (รูปที่ 3 หน้า 42) ทั้งนี้เพราะปฏิกริยาการจับตัวถึงจุดสมดุลย์ที่อุณหภูมิและเวลาดังกล่าวและ bound complex ก็อยู่ตัว ผิดกับที่ 37 องศาเซลเซียสซึ่ง bound complex แตกตัวอย่างรวดเร็ว เมื่ออินคิวเบทนานขึ้น ส่วนที่อุณหภูมิต่ำคือ ที่ 4 องศาเซลเซียส แม้เวลาการอินคิวเบทจะผ่านไป 20 ชั่วโมง ปฏิกริยาก็ยังไม่ถึงภาวะสมดุลย์ ส่วนที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสนั้น ถึงแม้ปฏิกริยาจะภาวะสมดุลย์โดยใช้เวลาอินคิวเบทเพียง 1 ชั่วโมง แต่ bound complex ไม่คงอยู่ตัว มีการแตกตัวซึ่งสังเกตได้จาก Scatchard plot (รูปที่ 4 หน้า 43) เมื่อเปรียบเทียบการอินคิวเบทที่ 30 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง และที่ 20 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง พบว่าแม้ปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีนจะใกล้เคียงกัน แต่ค่า K_d ของ bound complex ที่ 30 องศาเซลเซียส (1.9×10^{-10} โมลา) มีค่าสูงกว่าที่ 20 องศาเซลเซียส (1.6×10^{-10} โมลา) ด้วยเหตุผลดังกล่าวและเพื่อความสะดวกของการทดลอง จึงเลือกทำที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสและใช้เวลาอินคิวเบท 2 ชั่วโมง ซึ่งเหมือนกับวิธีมาตรฐานที่บรรยายไว้ใน E.O.R.T.C., (1973)

สำหรับปริมาณสารมาตรฐาน 17-β ^{3}H - E_2 ที่ใช้ในการหาปริมาณรีเซพเตอร์นั้น ได้แสดงไว้ว่าปริมาณที่เหมาะสมจะอยู่ระหว่าง 3.68×10^{-14} - 147.2×10^{-14} โมล/0.1 มล. assay buffer แต่บางครั้ง ตัวอย่างของเนื้อเยื่อมะเร็งมีน้อย (ประมาณ 100 มิลลิกรัม) ไซโตซอลที่ได้มีน้อย จึงใช้ความเข้มข้นของสารมาตรฐานช่วง 3.68×10^{-14} - 36.8×10^{-14} โมล/0.1 มล.

assay buffer ซึ่งจะได้กราฟที่ชันเพียงพอที่จะหาปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีนได้ สำหรับปริมาณที่ผู้วิจัยกลุ่มอื่น ๆ ใช้นั้นมีความแตกต่างกันบ้าง กล่าวคือ Mester และคณะ (1970) หาปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์ในมดลูกหนู โดยใช้สารมาตรฐาน 17-β ^{3}H - E_2 ตั้งแต่ 1.84×10^{-14} – 36.8×10^{-14} โมล/0.1 มล. assay buffer McGuire (1973) ใช้ความเข้มข้นของสารมาตรฐานในช่วง 5×10^{-14} – 100×10^{-14} โมล/0.1 มล. assay buffer Leclercq และคณะ (1973) ใช้ความเข้มข้นของสารมาตรฐานตั้งแต่ 0.45×10^{-14} – 45×10^{-14} โมล/0.1 มล. assay buffer ในการหาปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีนของเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม ซึ่งอยู่ในพิกัดใกล้เคียงกัน

การแยกพวก unbound 17-β ^{3}H - E_2 หรือ free 17-β ^{3}H - E_2 ออกจากพวก bound complex นั้น จะเลือกวิธีใดแล้วแต่ความเหมาะสม แต่ควรจะเป็นวิธีที่แยกได้เร็วราคาถูกและทำได้ง่าย สิ่งที่สำคัญที่สุดคือ ต้องแยกพวก unbound 17-β ^{3}H - E_2 ออกจาก bound complex ได้สมบูรณ์ (Ratcliff, 1974) จากรูปการวิจัยที่ 6 หน้า 47 จะเห็นว่าปริมาณผงถ่านตั้งแต่ 0.2 กรัม % ขึ้นไป สามารถดูดซับพวก free 17-β ^{3}H - E_2 ออกจาก bound complex ได้เกือบ 90% ในรายงานนี้ผู้วิจัยเลือกใช้ความเข้มข้นของผงถ่าน 0.25 กรัม % และเดกซแทรน 0.0025 กรัม % ซึ่งเป็นจุดที่ใช้ผงถ่านน้อย แต่ประสิทธิภาพในการดูดซับพวก unbound 17-β ^{3}H - E_2 ได้ดี

อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการขจัดพวก low affinity binding complex ด้วยผงถ่านนั้นเลือกใช้อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที รูปที่ 7 หน้า 48 เพราะเป็นสภาวะที่มีผลต่อการแตกตัวของ bound complex ไม่มาก ส่วนที่ 4 องศาเซลเซียส แม้ไม่มีผลต่อการแตกตัวของ bound complex ก็ต้องใช้เวลาในการอินคิวเบทค่อนข้างนาน คือ ประมาณ 1 ชั่วโมง เมื่อเทียบกับที่ 20 องศาเซลเซียส และ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งใช้เวลาเพียง 10 – 15 นาที แต่เพื่อความสะดวก จึงใช้อุณหภูมิห้อง คือ 30 องศาเซลเซียส และใช้เวลาอินคิวเบท 15 นาที

ดังรูปที่ 8 หน้า 50 พบว่าการดูดซับของ unbound หรือ free 17-β ^{3}H - E_2 ที่อุณหภูมิดังกล่าวค่อนข้างเร็ว ผงถ่านสามารถดูดซับได้เกือบสมบูรณ์ เมื่อใช้เวลาเพียง 10 – 15 นาที และที่ช่วงเวลาดังกล่าว การแยกตัวของ high affinity binding complex มีไม่มาก ถึงแม้เวลาการอินคิวเบทจะผ่านไปถึง 2 ชั่วโมง แสดงว่าช่วงเวลา 10 – 15 นาที ของการอินคิวเบทเพียงพอต่อการกำจัดพวก low affinity binding complex หรือ free 17-β ^{3}H- E_2 ได้

จากการศึกษาอิทธิพลของความร้อนที่มีต่อ activity ของอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีนนั้น พบว่าการอุ่นไซโตซอลที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1, 5, 15 และ 30 นาที ทำให้การจับตัวของรีเซพเตอร์กับ 17-β ^{3}H - E_2 ลดลง และเมื่อเวลาในการอุ่นเพิ่มขึ้น ปฏิกริยาการจับตัวจะยิ่งลดลง รูปที่ 9 หน้า 52 กล่าวคือ ถ้าอุ่นเป็นเวลา 15 – 30 นาที ไม่พบการจับตัวของรีเซพเตอร์กับ 17-β ^{3}H - E_2 เลย แต่ถ้าอุ่นในช่วงเวลาสั้น ๆ คือ 1 – 5 นาที จะยังพบการจับตัวของรีเซพเตอร์โปรตีน และ 17-β ^{3}H-E_2 แต่น้อยลง เมื่อเทียบกับไซโตซอลที่ไม่ได้อุ่น Daehnfeldt (1974)พบว่าการอุ่นไซโตซอลจากมดลูกหนูที่ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที สามารถทำให้ปฏิกริยาการจับตัวของรีเซพเตอร์โปรตีนกับ 17-β ^{3}H - E_2 ลดลงถึง 50% และโดยที่รีเซพเตอร์เป็นโปรตีน (Jensen และ DeSombre, 1972)การอุ่นจึงอาจทำให้รีเซพเตอร์สูญเสียคุณสมบัติไม่สามารถจับกับ 17-β ^{3}H - E_2 ได้

โดยปกติแล้ว การวัดปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์จะทำในวันเดียวกับที่ได้รับเนื้อเยื่อ แต่ปรากฏว่ามีอยู่ 2 – 3 ตัวอย่าง ที่ได้รับชิ้นเนื้อในเวลาที่ไม่สะดวกกับการทำการทดลองต่อไป จึงจำเป็นต้องเก็บสารตัวอย่างไว้ และเก็บในรูปของไซโตซอลแทนการเก็บในรูปของชิ้นเนื้อ เพราะชิ้นเนื้ออาจเกิด autolysis รีเซพเตอร์อาจเสียคุณสมบัติ Hahnel และ Twaddle (1971)พบว่าการเก็บชิ้นเนื้อที่ –20 องศาเซลเซียส ทำให้ปฏิกริยาการจับตัวของรีเซพเตอร์กับ 17-β ^{3}H - E_2 ลดลง 49% – 85% แต่ถ้าเก็บเนื้อไว้ในถัง liquid nitrogen หรือที่ –70 องศาเซลเซียส ปฏิกริยาการจับตัวจะไม่เปลี่ยนแปลง

E.O.R.T.C. (1973) เสนอว่าหากทำ quick frozen และเก็บชิ้นเนื้อที่ −86 องศาเซลเซียส จะไม่พบการเปลี่ยนแปลงในปฏิกริยาการจับตัวของรีเซพเตอร์กับ 17-β ^{3}H - E$_{2}$ แต่เพราะห้องวิจัยไม่มี deep freezer −70 องศาเซลเซียส หรือถัง liquid nitrogen จึงต้องเก็บในรูปของไซโทซอลแทน Hahnel, (1971) รายงานว่าการเก็บไซโทซอลจากมดลูกหนูไว้ที่ −20 องศาเซลเซียส ไม่ทำให้สมบัติของรีเซพเตอร์เสียไป นอกจากนี้ Feherty และคณะ (1971) พบว่าการเก็บไซโทซอลไว้ที่ −10 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 เดือน ปฏิกริยาการจับตัวไม่เปลี่ยนแปลง สำหรับการวิจัยในครั้งนี้เก็บไซโทซอลไว้ที่ −20 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่าปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีนและค่า K_d ไม่เปลี่ยนแปลง (รูปที่ 10 หน้า 53) ตรงกันข้าม ถ้าเก็บแบบแช่แข็งและทำให้ละลายหลายครั้งคุณสมบัติการจับตัวจะเสียไป (รูปที่ 11 หน้า 54)

จากการทดลองหาปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีนและค่า K_d ของตัวอย่างจากก้อนเนื้อมะเร็งเต้านมก้อนเดียว (ตารางที่ 4 หน้า 56) พบว่าการจับตัวระหว่างรีเซพเตอร์และฮอร์โมนอีสโตรเจนเป็นชนิด (high affinity) ทั้งสังเกตได้จากค่า K_d ซึ่งมีค่าน้อยกว่า 10^{-9} โมลา แต่ปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์/มก.ไซโทซอลโปรตีนในบางตัวอย่างมีค่าแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด บางก้อนก็มีค่าใกล้เคียงกัน แสดงว่าก้อนเนื้อมะเร็งบางก้อนที่ทดลองอาจมีลักษณะ homogeniety หรือ heterogeniety ซึ่งหมายถึงว่า ภายในก้อนเนื้อมะเร็งเต้านมก้อนเดียวกันอาจมีปริมาณของเซลเยื่อบุต่างกันหรือบางก้อนมีเซลที่กำลังจะตายหรือกำลังเจริญเติบโตไม่เท่ากัน อย่างไรก็ตามการวิจัยในครั้งนี้เลือกปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีนที่มีค่าต่ำเป็นเกณฑ์ ทั้งนี้เพราะก้อนเนื้อมะเร็งเต้านมที่ถือว่าเป็นรีเซพเตอร์บวกนั้น ต้องมีปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีนมากกว่าหรือเท่ากับ 10 เฟมโตโมล/มก.ไซโทซอลโปรตีน (Leclercq และคณะ, 1973) ตามตารางที่ 4 หน้า 56 ปรากฏว่าก้อนเนื้อมะเร็งที่ทดลองมีปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีนต่ำสุดสูงกว่า 10 เฟมโตโมล/มก.ไซโทซอลโปรตีน จึงถือว่าก้อนเนื้อมะเร็งทุกก้อนในตารางที่ 4 เป็นรีเซพเตอร์บวกโดยมีปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีนต่ำสุดเป็นค่าของแต่ละตัวอย่าง

จากผลการทดลองจากเนื้อเยื่อเต้านมทั้งปกติ เนื้องอกธรรมดาและมะเร็งในรายงานนี้ ปรากฏว่าตรวจไม่พบอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีนในเนื้อเยื่อเต้านมปกติทั้ง 5 ตัวอย่าง ผลการทดลองนี้เหมือนกับผลของ Feherty และคณะ (1971) อย่างไรก็ดี มีรายงานที่พบอีสโตรเจนรีเซพเตอร์ในเนื้อเยื่อเต้านมปกติในหลายรายงาน แต่ก็พบในปริมาณน้อยมาก คือ Wittliff และคณะ (1972b) พบอีสโตรเจนรีเซพ-เตอร์เพียง 1 ใน 16 ตัวอย่าง และมีปริมาณเพียง 9.4 เฟมโตโมล/มก.ไซโตซอลโปรตีน Johansson และคณะ (1970) พบอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีนในเนื้อเยื่อเต้านมปกติจำนวน 2 ใน 26 ตัวอย่าง Block และคณะ (1976) เสนอเหตุผลในการพบรีเซพเตอร์ว่าเป็นเพราะเนื้อเยื่อเต้านมปกติมีเซลไขมันติดแนบกับพวกเนื้อเยื่อ glandular มากและมีเยื่อบุเซลน้อย ตรงข้ามกับเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมที่มีเซลไขมันน้อยและมีเซลเยื่อบุ ซึ่งเป็นเซลเป้าหมายของฮอร์โมนมาก นอกจานี้ Beers และ Wittliff (1973) รายงานว่าเนื้อเยื่อเต้านมปกติของหญิงในภาวะที่กำลังให้-น้ำนม (lactation) เท่านั้นจึงจะมีปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีนในระดับใกล้เคียงกับที่พบในเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม ดังนั้นการที่ตรวจพบรีเซพเตอร์โปรตีนในเนื้อเยื่อเต้านมปกติบางรายอาจเป็นเพราะเนื้อเยื่อเต้านมที่ทดลองนั้นมาจากหญิงกำลัง -เป็นอยู่ในภาวะให้น้ำนมก็ได้ สำหรับการวิจัยในครั้งนี้จำนวนตัวอย่างที่ทดลองมีน้อยคือเพียง 5 ตัวอย่างและไม่มีรายงานสภาพทางพยาธิและไม่มีข้อมูลว่าเป็นเนื้อเยื่อเต้านมจากหญิงปกติซึ่งกำลังอยู่ในภาวะการให้น้ำนม

สำหรับผลการทดลองในเนื้องอกชนิด gynaecomastia จากคนไข้ชาย จำนวน 5 ตัวอย่างปรากฏว่าไม่พบอีสโตรเจนรีเซพเตอร์เช่นเดียวกัน ผลการทดลองนี้ต่างจากรายงานของ Ieclercq และคณะ (1975) ซึ่งพบอีสโตรเจนรีเซพเตอร์ 3 ตัวอย่างในเนื้องอก gynaecomastia 6 ตัวอย่าง และเขาสรุปว่าอาจจะเป็นเพราะพวกเนื้องอก gynaecomastia เป็นพวกเนื้อเยื่อ hyperplastic คล้าย ๆ กับเนื้อเยื่อมะเร็ง อย่างไรก็ตามจำนวนตัวอย่างจากรายงานทั้ง 2 มีน้อยเกินกว่าที่จะสรุปผลได้แน่นอนลงได้

การทดลองโดยใช้เนื้องอกเต้านมธรรมดา benign ตรวจพบอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีนใน 2 ใน 15 ตัวอย่าง (ตารางที่ 6 หน้า 59) ทั้ง 2 ตัวอย่างเป็นเนื้องอกชนิด giant fibroadenoma และ cystosarcoma phylloides ซึ่งเป็นเนื้องอกที่ใหญ่กว่าเนื้องอกเต้านมทั่ว ๆ ไป กล่าวคือมีเปอร์เซนต์ของเนื้อเยื่อ hyperplastic มาก ส่วนเนื้องอกเต้านมธรรมดาอื่น ๆ เช่น fibroadenoma ธรรมดา เปอร์เซนต์ของเนื้อเยื่อ hyperplastic มีน้อย ผลการทดลองนี้สนับสนุนข้อสรุปของ Johansson และคณะ (1970) Feherty และคณะ (1971) ที่ว่ามีอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีนน้อยมากในเนื้องอกเต้านมธรรมดา ก็อ เขาตรวจพบรีเซพเตอร์เพียง 3 ใน 41 ตัวอย่างและปริมาณรีเซพเตอร์อยู่ในระดับต่ำ คือ 0.3 – 0.6 เฟมโตโมล/มก. เนื้อเยื่อ ส่วน Leclercq (1975) รายงานว่าพบอีสโตรเจนรีเซพเตอร์ในเนื้อเยื่อ hyperplastic พวก benign dysplasia papilloma และ fibroadenoma บางชนิดก็อพบถึง 9 ใน 19 ตัวอย่างและมีปริมาณรีเซพเตอร์ในช่วง 19 – 182 พิโคโมล/กรัมเนื้อเยื่อ สำหรับผลจากรายงานนี้ปรากฏว่า giant fibroadenoma 1 ตัวอย่างที่ได้รับมีอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีน 21.4 เฟมโตโมล/มก.ไซโตซอลโปรตีน (ตารางที่ 6 หน้า 59) ซึ่งน้อยกว่าระดับกาโดยเฉลี่ยที่พบในเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม 67.1 $\pm$ 40.4 เฟมโตโมล/มก.ไซโตซอลโปรตีน (ตารางที่ 7 หน้า60) กา K_d ของตัวอย่างนี้ก็อนข้างต่ำ คือ 0.4×10^{-10} โมลา แสดงว่าการจับตัวเป็นแบบที่จับแน่น ส่วนเนื้องอกชนิด cystosarcoma phylloides มีระดับอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีนเท่ากับ 50 เฟมโตโมล/มก.ไซโตซอลโปรตีน แต่กา K_d เท่ากับ 7.8×10^{-10} โมลา ซึ่งสูงกว่า K_d โดยเฉลี่ยที่พบในเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม ($2.4 \pm 2.4 \times 10^{-10}$ โมลา) ถ้าดูปริมาณไซโตซอลโปรตีนในตัวอย่าง cystosarcoma phylloides นี้ พบว่าสูงถึง 6.6 มก./มล. ซึ่งสูงมากเมื่อเทียบกับปริมาณโปรตีนโดยเฉลี่ยของเนื้องอกธรรมดาซึ่งเท่ากับ 2.6 $\pm$ 1.7 มก./มล. (ตารางที่ 11 ในภาคผนวก)

เนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมทั้ง 85 ตัวอย่างที่นำมาศึกษาเป็นมะเร็งชนิด Infiltrating ductal carcinoma (IDC) ถึง 81 ตัวอย่าง ส่วนอีก 2 ตัวอย่างเป็น Lobular carcinoma (LC) ที่เหลือเป็น Mucinous carcinoma (MC) และ Anaplastic squamous cells carcinoma (SC) แสดงว่าชนิดเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมที่พบมากในคนไข้เป็น ชนิด Infiltrating ductal carcinoma ข้อมูลนี้คล้ายคลึงกับที่มีรายงานในต่างประเทศ (Wittliff และคณะ 1972 b, Rosen และคณะ 1975)

การวัดอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีนว่าเป็นรีเซพเตอร์บวกหรือรีเซพเตอร์ลบ ใช้หลักของ Leclercq และคณะ (1973) ซึ่งกำหนดไว้ว่า ปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีนเท่ากับหรือมากกว่า 10 เฟมโตโมล/มก.ไซโตซอลโปรตีน จึงจะถือว่าเป็นรีเซพเตอร์บวก ต่ำกว่า 10 เฟมโตโมล/มก.ไซโตซอลโปรตีน ถือเป็นรีเซพเตอร์ลบ แต่รายงานกลุ่มอื่น ๆ เช่น Wittliff และคณะ (1972 b) ใช้วิธีเซ็นตริฟิวจ์ในสารละลายซูโครสที่มีความหนาแน่นต่างกัน และเลือกค่าอีสโตรเจนโปรตีนสูงกว่าหรือเท่ากับ 7 เฟมโตโมล/มก.ไซโตซอลโปรตีน ถือเป็นรีเซพเตอร์บวก ถ้าค่าอยู่ระหว่าง 1 – 7 เฟมโตโมล/มก.ไซโตซอลโปรตีน ถือเป็น border-line การวิจัยในครั้งนี้พบจำนวนรีเซพเตอร์บวกทั้งหมด 51% (43/85) และจำนวนรีเซพเตอร์ลบ 49% (42/85) การที่ไม่พบรีเซพเตอร์โปรตีนในเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมนั้นอาจมีสาเหตุได้หลายประการดังนี้

1. การหาปริมาณรีเซพเตอร์โปรตีนในเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมนั้นหาเพียงส่วนเดียวจากเนื้อเยื่อมะเร็งทั้งก้อน จึงอาจเป็นไปได้ว่าเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมส่วนที่นำมาทดลองนั้น ไม่มีเซลที่มีรีเซพเตอร์อยู่เลย ผู้เขียนคิดว่าถ้ามีทางพิสูจน์ตามพยาธิที่สามารถบอกเปอร์เซนต์ของเซลมะเร็งในตัวอย่างเนื้อเยื่อนั้นโดยตรงจะทำให้การแปลผลนั้นชัดเจนขึ้น เช่นการใช้วิธี Autoradiography

2. ในกรณีที่ปริมาณของไซโตซอลโปรตีนที่ทดลองค่อนข้างต่ำ กล่าวคือมีปริมาณโปรตีนในไซโตซอลของเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมโดยเฉลี่ยเท่ากับ 2.7 ± 1.3 มก./มล.

(ตารางที่ 11 ในภาคผนวก) ต่ำกว่าที่ผู้ทดลองอื่น ๆ รายงานไว้ เช่น Leclercq และคณะ (1971) พบปริมาณไซโตซอลโปรตีน โดยเฉลี่ย เท่ากับ 4 – 5 มก./มล. และ E.O.R.T.C. (1973) รายงานว่า โปรตีนในไซโตซอลมีปริมาณ เท่ากับ 4 มก./มล. สำหรับรายงานนี้ ถ้าปริมาณไซโตซอลโปรตีนน้อยกว่า 0.8 มก./มล. แล้ว จะตรวจไม่พบรีเซพเตอร์บวกเลย ตามตัวอย่างในตารางที่ 11 ในภาคผนวก พบว่า ตัวอย่างที่มี ไซโตซอลโปรตีน น้อยกว่า 0.8 มก./มล. มีถึง 19 ตัวอย่าง ซึ่งไม่พบรีเซพเตอร์ ฉะนั้นจึงเป็นไปได้ว่า ไซโตซอลตามการทดลองนี้ มีความเข้มข้นของโปรตีนต่ำ ปริมาณรีเซพเตอร์โปรตีนน้อยลง โอกาส พบรีเซพเตอร์โปรตีนจึงน้อยลงด้วย ผู้เขียนคิดว่าการศึกษาต่อไป ควรจะใช้ความเข้มข้นของโปรตีนในไซโตซอลสูงกว่าการทดลองนี้ เช่นอาจเติม assay buffer เพียง 2 – 3 ปริมาตร ต่อ น้ำหนักของเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม แทนที่จะเป็น 4 – 5 ปริมาตร ต่อ น้ำหนักของเนื้อเยื่อมะเร็ง ตามการทดลองในครั้งนี้

3. ภาวะการมีประจำเดือนของคนไข้อาจจะมีอิทธิพลต่อผลการวัดปริมาณรีเซพเตอร์ ดังข้อมูล ที่ Maass และคณะ (1972) รายงานว่า ระดับอีสโตรเจนในพลาสมาสูงกว่า 300 พิโคกรัม/มล. จะตรวจไม่พบรีเซพเตอร์โปรตีนในเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมเลย สำหรับการวิจัยในครั้งนี้ ไม่ได้ศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่าง อีสโตรเจนรีเซพเตอร์กับภาวะการมีประจำเดือน และระดับของอีสโตรเจนในพลาสมา จึงยังไม่สามารถวิจารณ์ความสัมพันธ์ข้อนี้ได้ จึงน่าจะได้มีการศึกษาต่อไป

4. ลักษณะ phenotype ของเนื้อเยื่อมะเร็ง อาจเป็นชนิด "estrogen independent" คือเป็นเซลมะเร็งที่ไม่มีสมบัติอีสโตรเจนรีเซพเตอร์ เนื่องจากความผิดปกติในระดับต่าง ๆ ทาง gene expression แต่เนื้อเยื่อมะเร็งเหล่านี้อาจสนองต่อฮอร์โมนอื่น ๆ นอกเหนือจากอีสโตรเจนก็ได้ ผู้เขียนจึงคิดว่าน่าจะมีการศึกษารีเซพเตอร์โปรตีน ของสเตรอยด์ฮอร์โมนตัวอื่น ๆ แอนโดรเจน โปรเจสเตอโรน คอร์ติโคสเตอรอยด์ และพวกเมมเบรนรีเซพเตอร์ (membrane receptor) ของโปรตีนฮอร์โมนต่าง ๆ เช่น โปรแลคติน อินซูลิน และ growth hormone รวมทั้งปริมาณฮอร์โมนเหล่านั้น ทั้งนี้ เพราะ McGuire และ Chamness (1974) ศึกษาพบว่าเซลมะเร็งของเต้านมรวมทั้งเซลที่ปกติของเต้านม ถูกควบคุมโดยฮอร์โมนหลายตัว โดยเฉพาะ ฮอร์โมนพวก

โปรแลคติน อีสโตรเจนและโปรเจสเตอโรน เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของมะเร็งเต้านม Meites (1972) พบว่าฮอร์โมนโปรแลคตินอย่างเดียวสามารถที่จะกระตุ้นให้เนื้องอกเต้านมของหนูเจริญเติบโตได้ แม้ว่ารังไข่ ต่อมหมวกไต และปิตุอิตารีของหนูจะถูกตัดออกไปก็ตาม นอกจากนี้ Nagasawa และคณะ (1970) รายงานว่า ขนาดของเนื้องอกเต้านมหนูที่ตัดรังไข่และต่อมหมวกไตจะเพิ่มขึ้น ถ้าหนูกินยาพวก perphenazine tranquilizer ซึ่งเป็นยาที่กระตุ้นให้สร้างโปรแลคติน Sasaki และคณะ (1976) พบว่ายาพวก L-dopa ซึ่งมีปฏิกริยาที่ต่อมใต้สมองและปิตุอิตารี ทำให้ระดับของโปรแลคตินลดลง และขนาดของเนื้องอกมะเร็งเต้านมก็ลดลงด้วย จึงอาจเป็นไปได้ว่าเนื้องอกมะเร็งเต้านมที่ไม่พบอีสโตรเจนรีเซพเตอร์อาจถูกควบคุมโดยกลไกที่ต่างออกไปและมีฮอร์โมนตัวอื่น ๆ เกี่ยวข้องด้วย

ถ้าดูความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนรีเซพเตอร์บวก ที่พบรีเซพเตอร์บวกทั้งหมด 51% (43/85) รูปที่ 12 หน้า 65 พบว่าในคนไข้อายุน้อย 20 – 30 ปี ซึ่งมี 7 ราย ตรวจไม่พบอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีนเลย ส่วนคนไข้ในช่วงอายุ 30 – 40 ปี พบ 37.5% (9/24) และพบ 74% (17/23) ในช่วงอายุ 40 – 50 ปี คนไข้ที่มีอายุระหว่าง 50 – 60 ปี พบ 50% (9/18) ส่วนคนไข้ที่มีอายุ 60 – 70 ปี พบ 70% (7/10) และคนไข้ที่สูงอายุคือระหว่าง 70 – 80 ปีพบประมาณ 33% (1/3) จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า ความถี่ในการพบรีเซพเตอร์จะมีมากในช่วงอายุ 40 – 60 ปี ซึ่งเป็นวัยที่โดยปกติจะมีการเปลี่ยนแปลงของภาวะประจำเดือน สิ่งที่น่าสนใจคือภาวะประจำเดือนของสตรีจะมีความสัมพันธ์กับความถี่ในการพบรีเซพเตอร์อย่างแท้จริงหรือไม่ สำหรับคนไข้ที่มีอายุน้อยคือระหว่าง 20 – 30 ปี และคนไข้ช่วงอายุ 70 – 80 ปี นั้น มีจำนวนตัวอย่างน้อยราย จึงยังไม่อาจสรุปได้ว่ามีจำนวนรีเซพเตอร์บวกมากน้อยประการใดได้

เมื่อดูตารางที่ 7 หน้า 60 จะเห็นว่าปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์ที่ตรวจพบมีค่ากระจัดกระจายมาก ตั้งแต่ 10 – 167.3 เฟมโตโมล/มก.ไซโตซอลโปรตีน คิดเป็นค่าเฉลี่ย เท่ากับ 67.1 ± 40.4 เฟมโตโมล/มก.ไซโตซอลโปรตีน ลักษณะการกระจัดกระจายนี้ตรงกับรายงานของ Jensen (1975) ซึ่งพบว่าในเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม 123 ตัวอย่าง มีปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์กระจายตั้งแต่ 0 – 3000 เฟมโตโมล/กรัมเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม

ในการเปรียบเทียบกับรายงานของผู้ทดลองอื่น ๆ ตารางที่ 10 หน้า 83 ปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีน (เฟมโตโมล/มก.ไซโตซอลโปรตีน) ของรายงานนี้มีค่าใกล้เคียงกับของ Wittliff และคณะ (1972) McGuire และ Chamness (1973) เว้นแต่ค่าเฉลี่ยจากการทดลองในครั้งนี้สูงกว่ารายงานดังกล่าวแต่ต่ำกว่าของ Leclercq (1973) ซึ่งมีค่าโดยเฉลี่ยสูงถึง 200.3 ± 234.4 เฟมโตโมล/มก.ไซโตซอลโปรตีน และรายงานทั้งหมดรวมทั้งของผู้ทดลองได้สูงกว่า Feherty และคณะ (1971) ซึ่งแสดงปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โดยเฉลี่ย 3.92 ± 4.71 เฟมโตโมล/มก.โปรตีน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะ Feherty และคณะคำนวณจากเนื้อเยื่อโปรตีนแทนที่จะใช้ไซโตซอลโปรตีน

ถ้าเปรียบเทียบปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์/มก.ไซโตซอลโปรตีน กับอายุของคนไข้ ตามรูปที่ 13 หน้า 63 จะเห็นว่าคนไข้ที่อายุสูงกว่า 50 ปี มีปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โดยเฉลี่ยเท่ากับ 80.3 ± 38.7 เฟมโตโมล/มก.ไซโตซอลโปรตีน ซึ่งสูงกว่าคนไข้ที่มีอายุต่ำกว่า 50 ปี ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเพียง 54.6 ± 38.8 เฟมโตโมล/มก.ไซโตซอลโปรตีน ซึ่งความแตกต่างนี้มีค่านัยยะสำคัญทางสถิติ (P น้อยกว่า 0.05) แต่เมื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์ต่อเซล กับอายุของคนไข้ตามรูปที่ 14 แล้วปรากฏว่าคนไข้ที่มีอายุสูงและต่ำกว่า 50 ปี แสดงค่าเฉลี่ยของไบน์ดิ้งไซท์ต่อเซลใกล้เคียงกัน คือ 7082 ± 8740 และ 5630 ± 6543 โมเลกุลต่อเซล ตามลำดับ การที่เกิดข้อแตกต่างในการเปรียบเทียบช่วงอายุของคนไข้ต่อปริมาณรีเซพเตอร์เป็นเฟมโตโมล/มก.ไซโตซอลโปรตีน และต่อปริมาณไบน์ดิ้งไซท์/เซลนี้ อาจจะเนื่องมาจากความเปลี่ยนแปลงระดับของโปรตีนในเซล เนื่องจากอายุมากขึ้นก็ได้ จึงทำให้การอนุมาณไบน์ดิ้งไซท์/เซลมีค่าเท่ากัน

Daehnfeldt และคณะ (1974) รายงานว่าการวัดปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีนนั้น เป็นการวัดรีเซพเตอร์ไซท์ที่ปรากฏอยู่ (apparent binding capacity) เท่านั้น กล่าวคือวัดจำนวนรีเซพเตอร์ไซท์ที่ว่างอยู่ เมื่อทำวิธีย้างที่จะนำปริมาณรีเซพเตอร์มาจากคนไข้ที่มีระดับอีสโตรเจนในพลาสม่าสูงอาจทำให้รีเซพเตอร์ไซท์ถูกรับโดยฮอร์โมนอีสโตรเจนมากขึ้น การวัดปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์จึงได้

ตารางที่ 10 การเปรียบเทียบปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีนในเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมของคนจากผู้ทดลองต่าง ๆ

ผู้ทดลอง	จำนวน R_c	ปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีน(ค่าเฉลี่ย ± SD) เฟมโตโมล/มก.ไซโตซอลโปรตีน	เฟมโตโมล/ไมโครกรัม$_{DNA}$	โบน์คิงไซท์/เซล	Kd x 10^{-10} M
Feherty และคณะ(1971)	37/53	3.92 ± 4.71* (0.3 - 22.6)	1.7 ± 2.0 (0.2 - 5.7)	6691±7909 (783-22304)	2.6 ±1.1 (1.0-5.2)
Wittliff และคณะ(1971)	29/75	4.29 ± 28.6 (10.3 - 137.6)	-	-	< 1 x10^{-9}
Leclercq และคณะ(1973)	43/77	200.3 ± 234.4 (5.0 - 1040)	-	-	11.4±19.5 (1.0-108)
McGuire และคณะ(1973)	24/43	45.4 ± 123.3 (0.6 - 612)	-	-	1.2 x10^{-10}
การทดลองของผู้เขียน	43/85	67.1 ± 167.3 (10 - 167.3)	1.6 ± 1.9 (0.2-10.0)	6339±7547 (783-39130)	2.4±2.4 (0.1-12)

ค่าในวงเล็บเป็นค่าพิกัด

* รายงานเป็น เฟมโตโมล/มก. เนื้อเยื่อ

ก้อนอยลง ฉะนั้นการที่พบปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์มากหรือน้อย อาจเป็นเพราะอิทธิพลของภาวะรอบเดือน จากผลการทดลองในคนไข้ที่หมดประจำเดือนแล้ว 5 ปี ปริมาณ . . . อีสโตรเจนโปรตีนก่อนข้างสูง ถ้าข้อคิดของ Daehnfeldt เป็นจริง ก็อาจจะเป็นเพราะคนไข้มีพลาสมาอีสโตรเจนต่ำ ผลจากการ วิจัยในครั้งนี้ ได้หาปริมาณฮอร์โมนอีสโตรเจนในน้ำเหลืองด้วยวิธี RIA พบว่าปริมาณอีสโตรเจนในน้ำเหลืองของคนไข้กลุ่มที่มีอีสโตรเจนรีเซพเตอร์บวก มีค่าโดยเฉลี่ย เท่ากับ 24.4 ± 14.4 พิโคกรัม/มล. ซึ่งไม่แตกต่างจากระดับฮอร์โมนอีสโตรเจนในน้ำเหลืองของผู้หญิงปกติที่หมดประจำเดือนแล้ว 5 ปี ที่มีค่าโดยเฉลี่ยเท่ากับ 22.7 ± 8.1 พิโคกรัม/มล. ข้อมูลเท่าที่แสดงในรายงานนี้สนับสนุนรายงานของ Daehnfeldt (1974) แต่การที่จะสรุปให้ แน่นอน จำเป็นต้องอาศัยข้อมูลที่ชัดเจนเกี่ยวกับระดับอีสโตรเจนในพลาสมาของคนไข้ทุกราย มาประกอบการพิจารณา

อีกประการหนึ่ง Daehnfeldt (1974) รายงานว่าในเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมของหนูประมาณ 60% ของรีเซพเตอร์ไซท์ถูกจับโดย endogeneous อีสโตรเจน ฉะนั้นจึงควรหาปริมาณ endogeneous อีสโตรเจนที่จับอยู่กับรีเซพเตอร์ก่อนที่จะทำการทดลอง แต่ทั้งนี้จะกระทำได้ต่อเมื่อได้รับเนื้อเยื่อมะเร็งก้อนใหญ่ จึงจะสามารถแบ่งมาหาปริมาณ endogeneous อีสโตรเจนได้ อย่างไรก็ตาม การหาพลาสมาอีสโตรเจนและ endogeneous อีสโตรเจนก็เป็นหนทางหนึ่งที่สามารถทำให้การวัดปริมาณรีเซพเตอร์ได้ถูกต้องยิ่งขึ้น

นอกจากระดับอีสโตรเจนในพลาสมาและเนื้อเยื่อของคนไข้ที่อาจเป็นเหตุให้ปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์มากน้อยต่างกันแล้ว อาจจะมีปัจจัยอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องอีก เช่น

1. ก้อนเนื้อมะเร็งเต้านมที่จะทำการทดลองนั้น มีทั้ง homogeneous และ heterogeneous cell type จากผลการทดลองที่แสดงในตารางที่ 4 หน้า 41 ปรากฏว่าแม้ภายในก้อนเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมก้อนเดียวกัน ถ้าแบ่งเนื้อเยื่อดังกล่าวเป็นส่วน ๆ ปริมาณของอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีนในแต่ละส่วนของตัวอย่างเดียวกันที่หาได้บางตัวอย่างก็มีค่าใกล้เคียงกัน บางตัวอย่างก็ต่างกัน McGuire (1975) ได้กล่าวไว้ว่าปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์เป็นสัดส่วนกับปริมาณเซลเยื่อบุ แต่ถึงแม้จะเป็นเซลเยื่อบุล้วน ๆ ปริมาณรีเซพเตอร์ก็อาจมีไม่เท่ากันในแต่ละเซล และเป็นที่น่าเสียดายที่ก้อนเนื้อมะเร็งเต้านมที่ได้มานั้น ส่วนมากได้ก้อนเล็ก ประมาณ 200 – 400 มก. ไม่สามารถ

แบงเป็นส่วน ๆ เพื่อทดสอบความ homogeniety ได้ การรวมมือกับพยาธิแพทย์ ในการคัดเลือกเนื้อเยื่อเต้านมที่ได้รับจากห้องผ่าตัด โดยการตัด ชิ้นเนื้อเป็นชิ้นย่อย ๆ ทำการตรวจหาสภาพทางพยาธิในแต่ละชิ้นย่อย เพื่อหาเปอร์เซนต์ของเซลมะเร็งในชิ้นเนื้อนั้น น่าจะทำให้การวัดปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์ได้ถูกต้องยิ่งขึ้น

2. พวก low affinity binding protein ต่าง ๆ เช่น albumin serum albumin ซึ่งสามารถจับกับฮอร์โมน $17\text{-}\beta\ ^{3}H\text{-}E_2$ ได้ อาจทำให้การวัดปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีนผิดจากความเป็นจริง ซึ่งการแก้ไขอันนี้ต้องพิจารณาจากค่า K_d จากตารางที่ 11 ในภาคผนวก ตัวอย่างของเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม CA 68, CA 112 และ CA 109 มีค่า K_d สูงคือเท่ากับ 6.6×10^{-10} โมลา 12×10^{-10} โมลา และ 10.5×10^{-10} โมลา ซึ่งสูงกว่าค่า K_d ทั่วไป ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 2.4×10^{-10} โมลา ถ้าพิจารณา Scatchard plot ของตัวอย่างดังกล่าวข้างต้น พบว่ากราฟไม่เป็นเส้นตรง แสดงว่ามีรีเซพเตอร์หลายกลุ่มที่ปะปนกัน ปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีนที่คำนวณได้เท่ากับ 103.4, 112.5, และ 106.3 เฟมโตโมล/มก.ไซโตซอลโปรตีน จึงอาจจะคลาดเคลื่อนจากความเป็นจริง Mester และคณะ (1971) ใช้วิธีซึ่งแสดงในภาคผนวก รูปที่ 21 ในการแก้ไขความคลาดเคลื่อนดังกล่าว

ส่วนตัวอย่างอื่น ๆ เช่น CA 101 , CA 102 , CA 76 , CA 87 เป็นต้น มีค่า K_d ต่ำ แสดงว่าการจับตัวเป็นแบบ high affinity และกราฟ Scatchard ที่ได้เป็นเส้นตรงค่อนข้างชัน มีผู้เสนอความเห็นเกี่ยวกับอิทธิพลของปริมาณโปรตีนต่อผลของปริมาณรีเซพเตอร์ที่น่าสนใจ คือ Leclercq และคณะ (1975) หาปริมาณ serum albumin ที่ปะปนในไซโตซอล และพบว่าบางครั้งมีถึง 15% – 50% แต่บางครั้งมีเพียง 0 – 8% และเขาสรุปว่าถ้าปริมาณไซโตซอลโปรตีนสูง อาจมีพวกโปรตีนอื่น เช่น albumin ปะปนกับรีเซพเตอร์โปรตีน และการจับตัวมีทั้ง high และ low affinity ปนกัน อันเป็นเหตุให้ ปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีน และค่า K_d สูงกว่าที่เป็นจริง

วิธีแก้อาจจะทำโดยหาปริมาณ serum albumin ที่ปะปนอยู่ในไซโตซอล โดยใช้วิธี radioimmuno-diffusion (Mancini และคณะ 1965 แล้วพยายามกำจัดพวก low affinity binding โปรตีนออกโดยการล้างชิ้นเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมด้วย buffer หรือ isotonic NaCl หลาย ๆ ครั้ง

สิ่งที่น่าสนใจอีกอย่างหนึ่งคือ ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไซโตซอลโปรตีนกับจำนวนคนไข้ที่เป็นรีเซพเตอร์บวก Leclercq และคณะ (1973) ได้ทดลองและแสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนคนไข้ที่เป็นรีเซพเตอร์บวก พบจำนวนรีเซพเตอร์บวกเพียง 8% (2/24) ถ้าปริมาณไซโตซอลโปรตีนน้อยกว่า 2 มก./มล. และไม่พบรีเซพเตอร์บวกเลย ถ้าปริมาณไซโตซอลโปรตีนน้อยกว่า 1 มก./มล. แต่จะพบจำนวนรีเซพเตอร์บวกถึง 51% (35/69) ในช่วงไซโตซอลโปรตีน 2 – 5 มก./มล. สำหรับในรายงานนี้ รูปที่ 15 หน้า 66 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนคนไข้ที่เป็นรีเซพเตอร์บวกแปรตามปริมาณของไซโตซอลโปรตีน จะเห็นว่ายิ่งไซโตซอลโปรตีนมีมาก โอกาสเป็นบวกก็มีมาก โดยเฉพาะในช่วงไซโตซอลโปรตีน 1 – 5 มก./มล. โอกาสเป็นรีเซพเตอร์บวกมีประมาณ 70% (37/54) ถ้าไซโตซอลโปรตีนน้อยกว่า 1มก./มล. โอกาสเป็นรีเซพเตอร์บวกน้อย คือมีเพียง 17% (4/24) ยิ่งปริมาณไซโตซอลโปรตีนตามการวิจัยนี้น้อยกว่า 0.8 มก./มล. จะไม่พบรีเซพเตอร์บวกเลย ส่วนปริมาณไซโตซอลโปรตีนสูง ๆ เช่น มากกว่า 5 มก./มล. เนื่องจากมีจำนวนตัวอย่างน้อย จึงไม่สามารถสรุปได้แน่นอนไปว่าถ้าปริมาณไซโตซอลโปรตีนสูง ๆ โอกาสเป็นรีเซพเตอร์บวกจะมากขึ้นหรือไม่

ได้กล่าวแล้วว่า ผู้เขียนยึดหลักของ Leclercq และคณะ (1973) ที่ถือว่าปริมาณอีสโตรเจนจับมากถึง 10 เฟมโตโมล/มก.ไซโตซอลโปรตีน แก่เมื่อดูปริมาณ DNA กับจำนวนรีเซพเตอร์บวก (รูปที่ 16 หน้า 67) พบจำนวนรีเซพเตอร์บวกเท่า ๆ กัน ในทุก ๆ ความเข้มข้นของ DNA ฉะนั้นจึงน่าจะมีการศึกษาว่าปริมาณไบน์ดิงไซท์/เซล จะต้องมีค่าเท่าใด จึงถือว่าเป็นรีเซพเตอร์บวก และทำการวิจัยต่อโดยการติดตามการตอบสนองต่อการรักษาด้วยฮอร์โมนของคนไข้ เพื่อดูว่าคนไข้ที่มีการตอบสนองต่อการรักษามีจำนวนไบน์ดิงไซท์/เซล ต่ำสุดเท่าใด บางทีอาจเป็นหนทางอันหนึ่งในการแยกคนไข้ที่เป็นรีเซพเตอร์บวกและลบได้แจ่มชัดขึ้น

ในแง่พยาธิสภาพของเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมที่มีต่อปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์ (ตารางที่ 11 ในภาคผนวก) พบว่าในเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมชนิด infiltrating ductal carcinoma ที่นำมาทดลองจำนวน 81 ตัวอย่าง มี 40 ตัวอย่างที่เป็นรีเซพเตอร์บวก และ 41 ตัวอย่างที่เป็นรีเซพเตอร์ลบ แสดงว่า ปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีนไม่ขึ้นกับชนิดของมะเร็ง คือแม้จะเป็นมะเร็งชนิดเดียวกันก็พบได้ทั้งรีเซพเตอร์บวกและลบ

ส่วนมะเร็งชนิดอื่น ๆ เนื่องจากมีจำนวนน้อย จึงไม่อาจสรุปได้ว่ามะเร็งชนิดใดที่มีหรือไม่มีรีเซพเตอร์

เนื่องจากเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมที่ได้จากห้องผ่าตัดนั้นโดยมากเป็นระยะที่ 1 และ 2 ซึ่งพอผ่าตัดได้ ส่วนระยะที่ 3 และ 4 โดยทั่วไปแพทย์จะไม่ทำการผ่าตัดทั้งนี้เพราะก้อนเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมโต และกระจายไปสู่ที่อื่น ๆ ของร่างกายแล้ว ผู้วิจัยจึงจึงได้รับเนื้อเยื่อมะเร็งในระยะที่ 3 และ 4 น้อยมาก จะได้รับก็ต่อเมื่อคนไข้ต้องได้รับผ่าตัดภายหลังการฉายแสงให้ก้อนมะเร็งยุบลง (post - radiation operation) หรือในกรณีที่เต้านมมีลักษณะ pendulum ซึ่งการฉายแสงรักษาทำได้ลำบากและจำเป็นต้องผ่าตัดก่อน อย่างไรก็ตามการที่พบว่าเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมในระยะ 1 และ 2 มีทั้งรีเซพเตอร์บวกและลบ ทำให้ผู้เขียนคิดว่า การพบอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีน ไม่มีความสัมพันธ์กับระยะของโรค และเมื่อดูเนื้อเยื่อที่มีการแพร่กระจายของเซลมะเร็งไปที่ต่อมน้ำเหลือง หรือไม่มีการแพร่ (ตารางที่ 11 ในภาคผนวก) ก็พบมีอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีนทั้ง 2 ชนิด ฉะนั้นการมีอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีนจึงไม่น่าขึ้นกับการแพร่กระจายของเซลมะเร็งไปที่ต่อมน้ำเหลือง