

ผลการทดลอง

1. ผลการ label GHG (iodination of GHG)

ทำการ label GHG โดยทำการทดลองตามวิธีข้อ 3.1 (หน้า 33) โดย label รวม 5 ครั้ง ภายหลังจากการ iodination ได้ทำการ I-¹²⁵GHG บริสุทธิ์โดยผ่าน sephadex G-50 โดยเก็บแยกส่วน (fraction) ส่วนละ 0.5 มล. ดังแสดงในรูป 3

จากการทดลองพบว่า peak ของ I-¹²⁵GHG จะออกมาในหลอดทดลองประมาณ หลอดที่ 4-9 และในการทดลองทำการ assay ให้นำ I-¹²⁵GHG ในหลอดทดลอง ที่เป็นส่วนยอด และส่วนหลังของ peak มาใช้ตลอดการทำรายงาน เพราะในส่วนนี้ I-¹²⁵GHG จะมีความบริสุทธิ์สูง (จากผลการหา homogeneity ดังแสดงในรูปที่ 4 และ 5) มีค่า non specific binding ต่ำ และมีเปอร์เซ็นต์การรวมตัวกับแอนติบอดีสูง (ดูผลจากการศึกษา characteristics หน้า 107) ซึ่งในการทำ RIA สิ่งเหล่านี้มีความจำเป็นมาก

จากนี้นำไปคำนวณหา specific activity และ percentage of iodination ตามวิธีการคำนวณข้อ 5.1 (หน้า 43) ผลการคำนวณแสดงไว้ในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงผลการคำนวณหา specific activity และ percentage of iodination ของ I-¹²⁵GHG

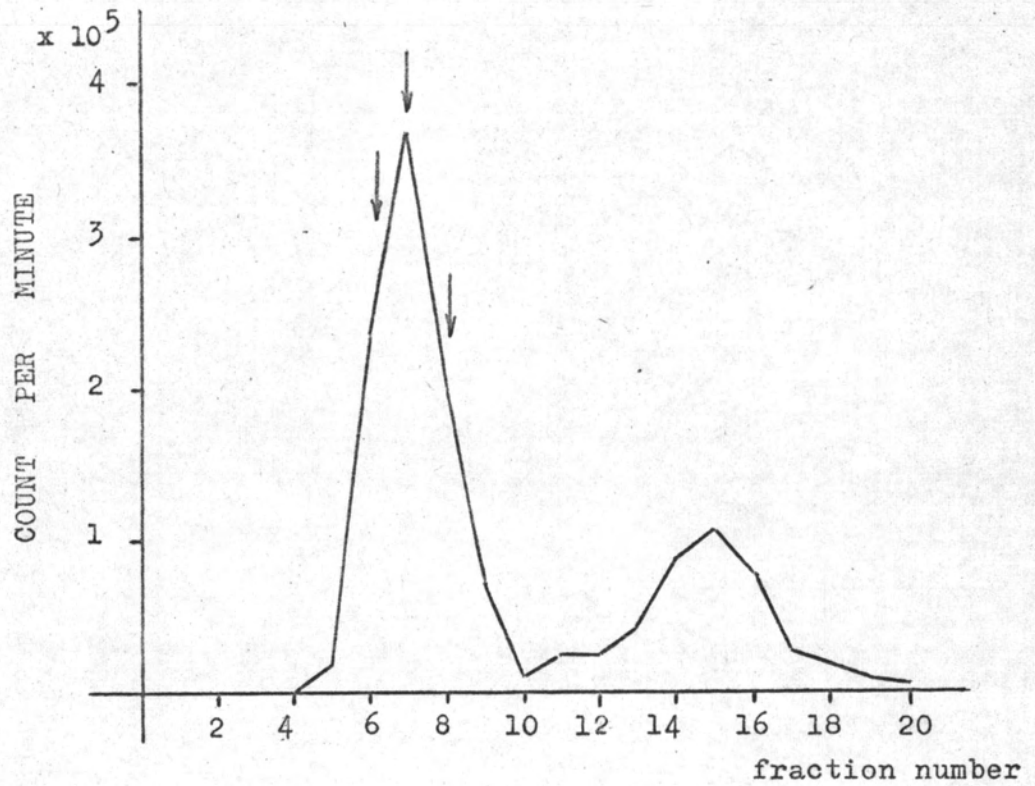
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ครั้งที่ 5
specific activity (ไมโครคิวรี/ไมโครกรัม)	124.024	147.94	141.87	156.262	109.8
% iodination	62.166	74.0	70.89	78.21	61.0

ฮอร์โมนที่ label แล้วนี้ นำไปเก็บไว้ที่ 4° ซ ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เก็บได้ดีที่สุดโดยมีการเกิด aggregation และ degradation น้อยที่สุด (Schwartz และ Batt, 1973) แต่ก่อนจะนำไปใช้ทุกครั้งต้องทำให้อยู่ในรูปที่บริสุทธิ์ (purification) เสียก่อน โดยนำมาผ่าน sephadex G-100 column เพื่อแยกเอา fraction ของฮอร์โมนบริสุทธิ์มาใช้ในการทดลอง

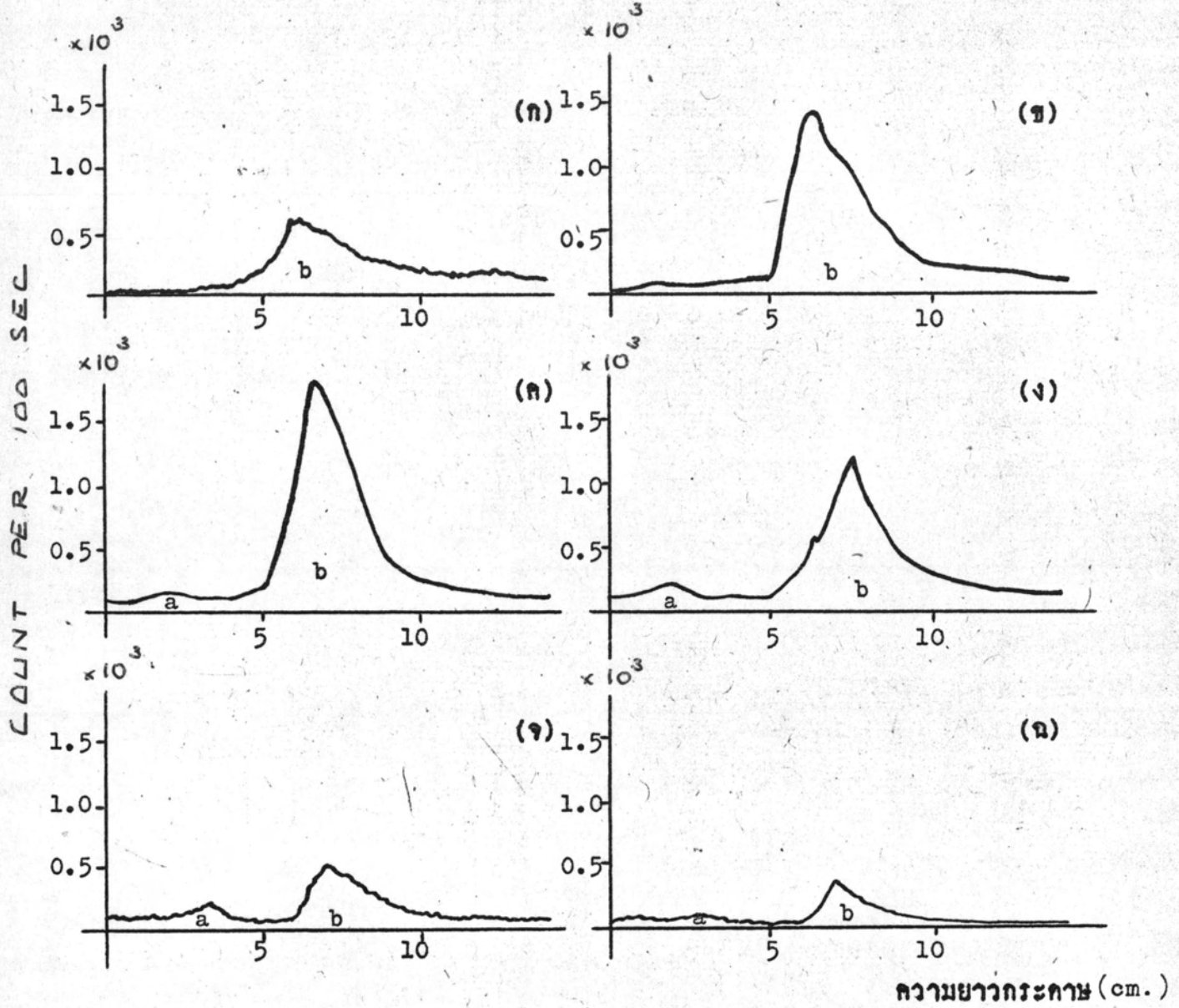
2. ผลการศึกษา homogeneity ของ I-HGH¹²⁵

หลังจากทำการ label HGH แล้ว นำส่วนที่เป็น protein peak มาหา homogeneity เพื่อความบริสุทธิ์ของ I-HGH¹²⁵ ทำการทดลองตามวิธีการข้อ 3.2 (หน้า 36) โดยทำการศึกษาคด้วย chromatography 2 แบบ คือ paper และ thin layer chromatography ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4 และ 5 ตามลำดับ





รูปที่ 3ก แสดงการ iodinate GHG ครั้งที่หนึ่ง และทำให้บริสุทธิ์
 ควบการบน sephadex G-50 column protein
 peak จะออกมาใน fraction ที่ 5-10 (นำไป
 ภู homogeneity ของ ¹²⁵I-HGH)
 และ salt peak จะออกมาใน fraction ที่ 10-20



รูปที่ 4 ก แสดงการศึกษา homogeneity ของ ^{125}I -HGH โดยการทำให้ paper chromatography ภายหลังจาก label ครึ่งหนึ่ง

(ก) ใช้ fraction 5 (ข) ใช้ fraction 6 (ค) ใช้ fraction 7
 (ง) ใช้ fraction 8 (จ) ใช้ fraction 9 (ฉ) ใช้ fraction 10

ในการ scan ใช้ ความเร็วกระดาษ 1 cm/min. voltage 1100 V
 gas flow rate 300 cc/min. time constant 100 sec

จากรูปที่ 4 ก เมื่อนำ fraction ที่ 5, 6, 7, 8 และ 9 ซึ่งอยู่ใน protein peak มาหา homogeneity โดยการทำ paper chromatography ทันที ภายหลังการ iodination ครั้งที่ 1 พบว่า

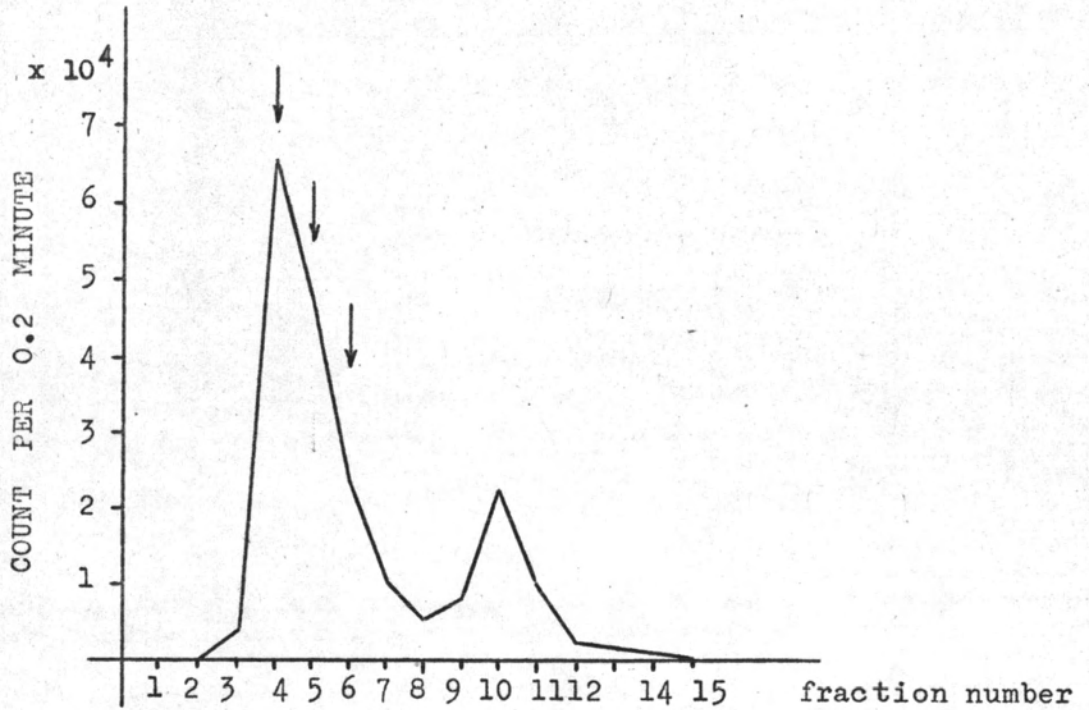
fraction 5 ซึ่งเป็น fraction ขาขึ้น (ส่วนแรก) ของ peak จะมี protein peak (b) ซึ่งมี radioactivity ต่ำ และเส้นที่ได้จากการ scan irregular ไม่มี salt peak (a) ปนเลย แต่แสดงถึงความไม่บริสุทธิ์ของ fraction นี้

fraction 6 ซึ่งเป็น fraction ขาขึ้น (ส่วนที่สอง) ของ peak จะมี protein peak (b) ซึ่งมี radioactivity สูงกว่าใน fraction 5 แม้จะไม่มี salt peak (a) ปนแต่ protein peak มี tailing และค่อนข้างจะ irregular แสดงว่ามี impurity ปนอยู่บ้าง

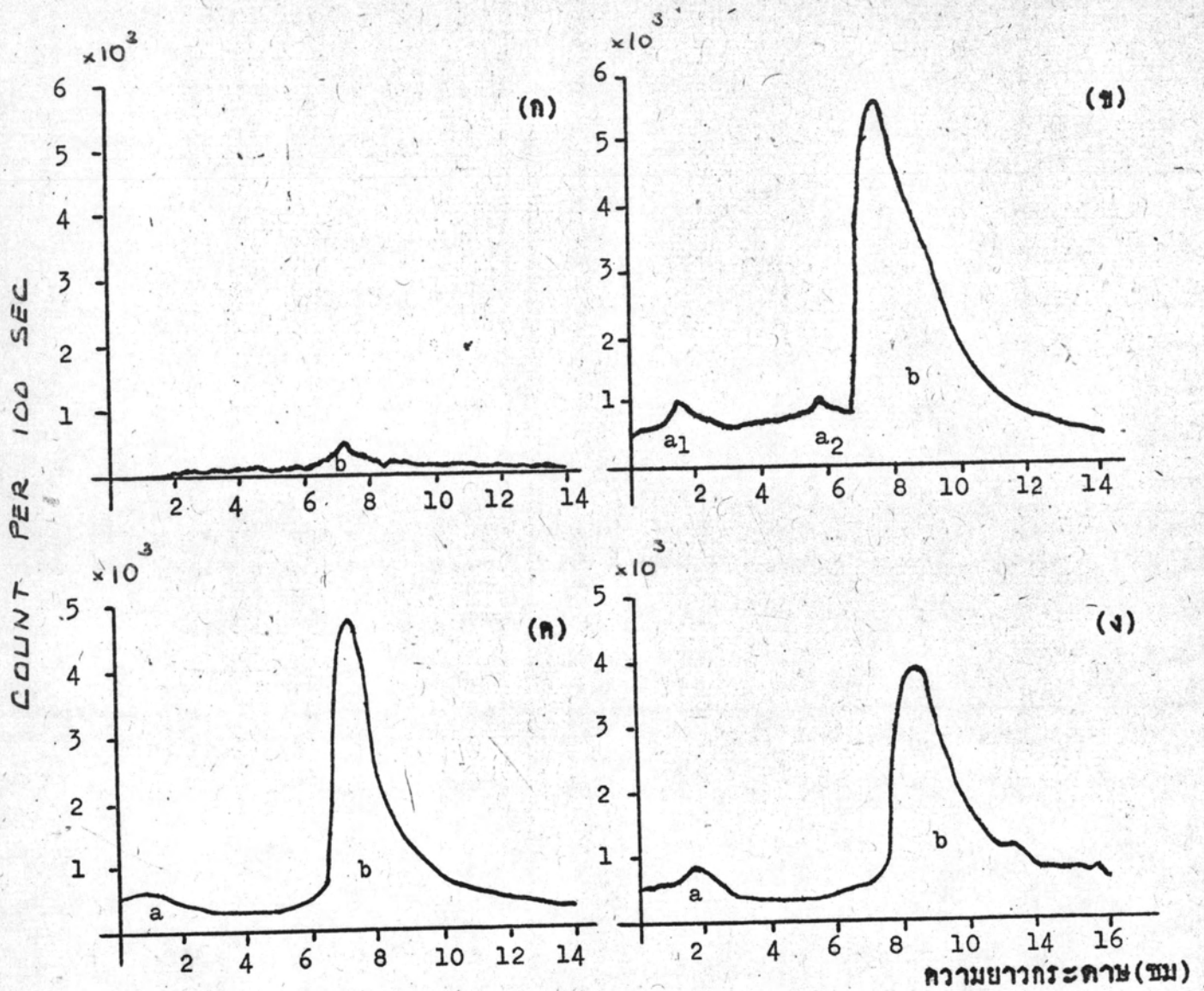
fraction 7 ซึ่งเป็น fraction ยอดของ peak จะมี protein peak (b) ลักษณะเป็น symmetrical curve มี radioactivity สูง เส้นที่ได้จากการ regular แต่มี salt peak (a) ปนเล็กน้อย แสดงว่า fraction นี้มีความบริสุทธิ์มาก

fraction 8 ซึ่งเป็น fraction ขาลง (ส่วนแรก) ของ peak จะพบว่ามี symmetrical protein peak (b) ซึ่งมี radioactivity ต่ำกว่าใน fraction 7 และเส้น scan regular แม้จะมี peak เล็กๆ แทรกอยู่ 1 peak ก็ตาม นอกจากนี้ ยังมี salt peak (a) เล็กน้อยด้วย แต่ก็มีวามไม่บริสุทธิ์มาก

fraction 9 และ fraction 10 ซึ่งเป็น fraction ขาลง ส่วน 2 และ 3 ของ peak ตามลำดับนั้น จะมี radioactivity ต่ำมาก protein peak (b) มีลักษณะ irregular และมี salt peak (a) สูงมาก เมื่อเทียบกับ protein peak แสดงถึงความไม่บริสุทธิ์



รูปที่ 3๑ แสดงการ iodinate HGH ครั้งที่สอง และทำให้บริสุทธิ์โดย
 การผ่าน sephadex G-50 column protein peak
 จะออกมาใน fraction ที่ 4-7 (นำไปหุ homogeneity
 ของ ¹²⁵I-HGH) และ salt peak จะออกมาใน
 fraction ที่ 10-20



รูปที่ 4 แสดงการศึกษา homogeneity ของ ^{125}I -HGH โดยการทำให้ paper chromatography ภายหลังจาก label ครั้งที่สอง

(ก) fraction 3

(ข) fraction 4

(ค) fraction 5

(ง) fraction 6

ในการ scan ใช้ ความเร็วกระดาษ 1 cm/min. voltage 1100 volt
gas flow rate 360 cc/min. time constant 100 sec

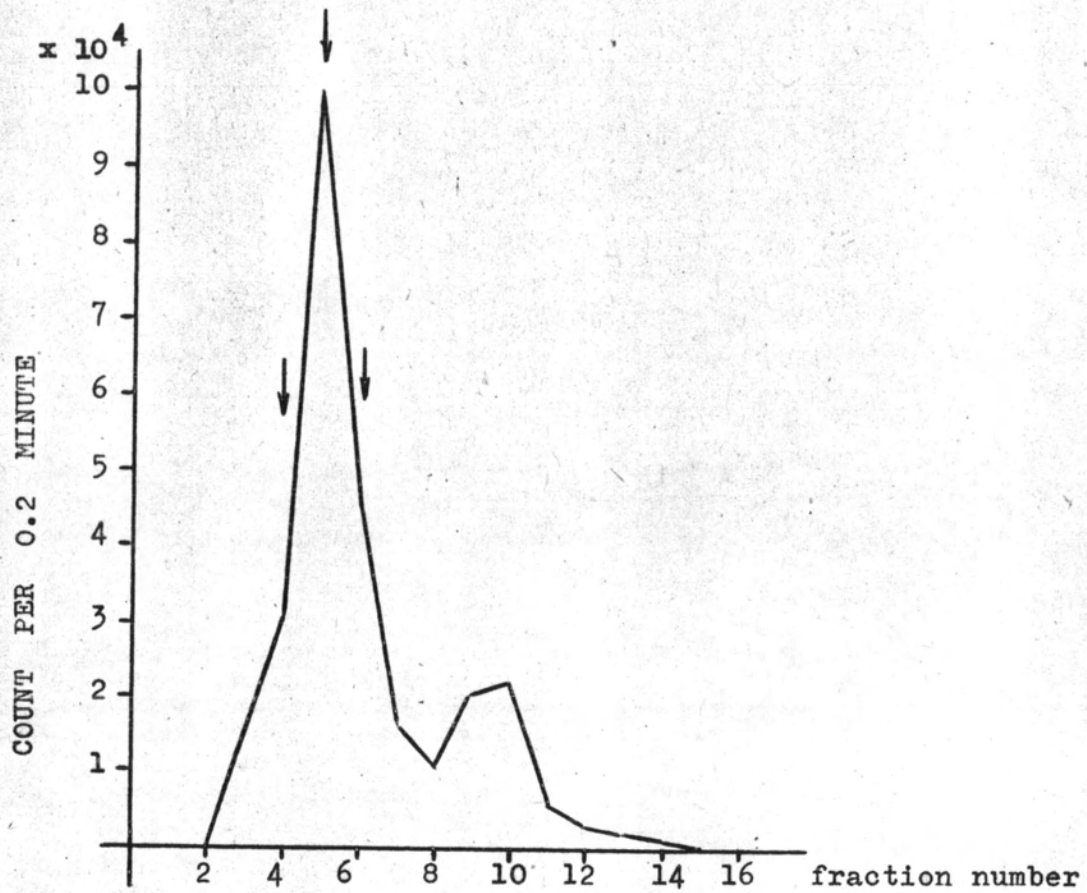
จากรูปที่ 4 ข เมื่อ นำ fraction 3, 4, 5 และ 6 ซึ่งอยู่ใน
protein peak มาหา homogeneity โดยการทำให้ paper chromatography
ทันทีภายหลังการ iodinate ครั้งที่ 2 พบว่า

fraction 3 ซึ่งเป็น fraction ขาขึ้นของ peak จะมี
radioactivity ต่ำมาก และ curve ที่ได้จากการ scan มีลักษณะ irregular
แสดงถึงความไม่บริสุทธิ์ของ fraction นี้

fraction 4 ซึ่งเป็น fraction ยอดของ peak จะมี radio-
activity สูงมาก แต่มี salt peak (a) มากเช่นกัน และ protein peak
(b) ที่ได้ curve จะไม่ symmetry และมี tailing แสดงว่ายังคง
มี impurity ปนอยู่บ้าง

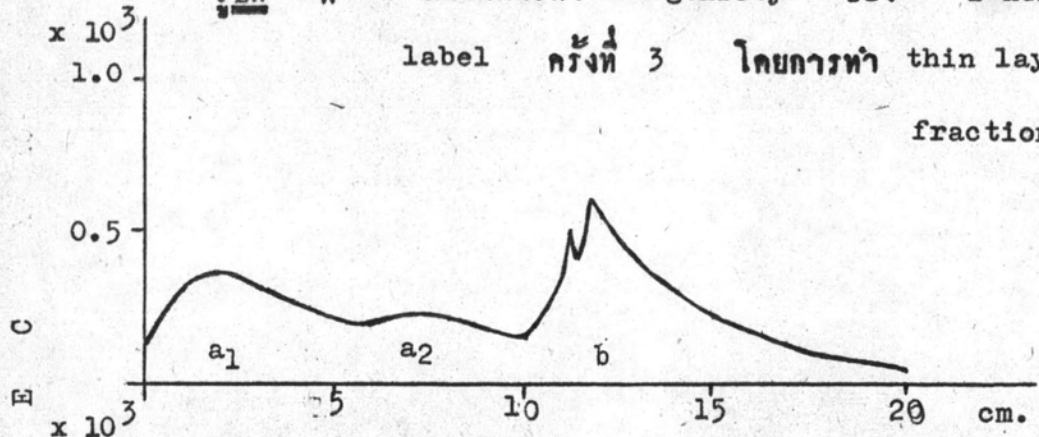
fraction 5 ซึ่งเป็น fraction ขาลง (ส่วนแรก) ของ peak
พบว่า protein peak (b) ยังคงมี radioactivity สูงอยู่ แต่ได้ curve
ที่ค่อนข้าง symmetry และมีลักษณะ regular นอกจากนี้ยังมี salt peak
(a) ปนอยู่น้อยมาก แสดงว่า fraction นี้มีความบริสุทธิ์มากกว่า

fraction 6 ซึ่งเป็น fraction ขาลง (ส่วนที่สอง) ของ peak
นั้นพบว่า protein peak (b) ที่ได้มี radioactivity ต่ำกว่า fraction 5, 6
เล็กน้อย และมีลักษณะ irregular เป็นบางครั้ง แต่มี salt peak (a)
สูงมากขึ้น แสดงว่า fraction นี้มีความบริสุทธิ์น้อยกว่า fraction 5

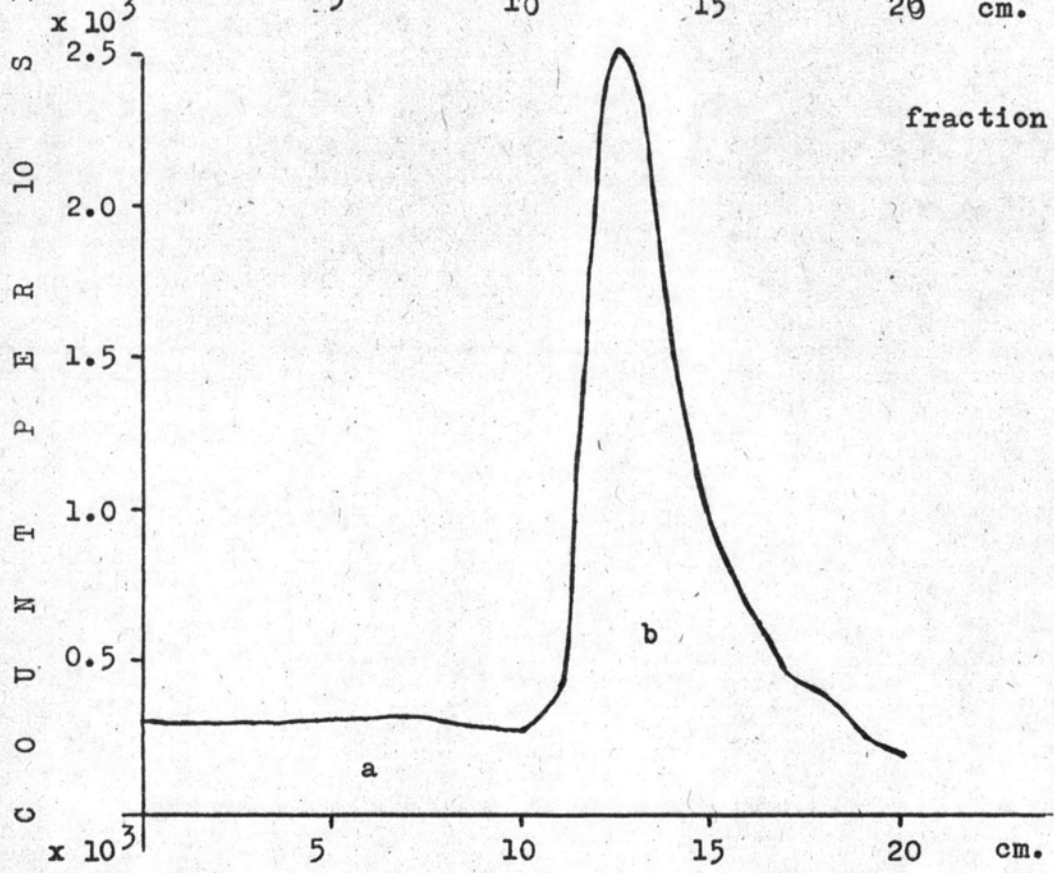


รูปที่ 3ค แสดงการ iodinate GHG ครั้งที่ 3 และทำให้บริสุทธิ์ โดยการผ่าน
 sephadex G-50 column protein peak จะออกมาใน
 fraction ที่ 4-7 (นำไปหุ homogeneity ของ ¹²⁵I-HGH)
 และ salt peak จะออกมาใน fraction ที่ 8-11

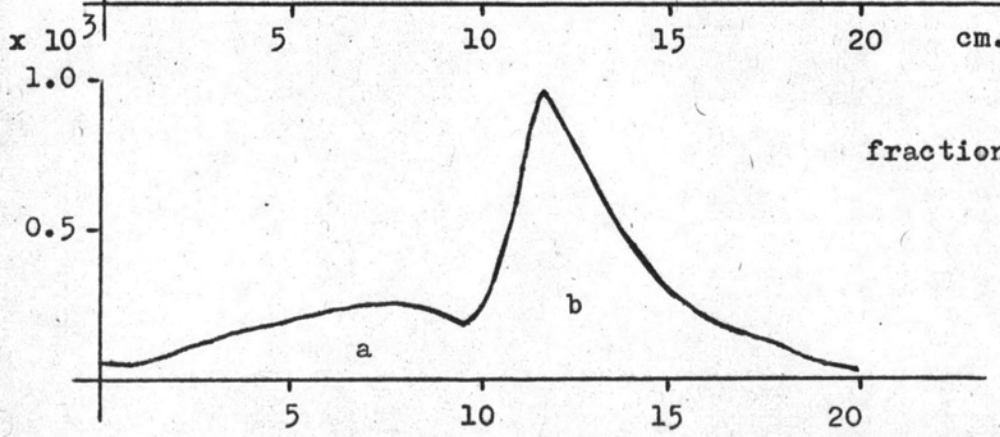
รูปที่ 5ก แสดงการทำ homogeneity ของ ^{125}I -HGH ภายหลังการ
 label ครั้งที่ 3 โดยการทำ thin layer chromatography



fraction 4



fraction 5



fraction 6

ความยาว plate (cm.)

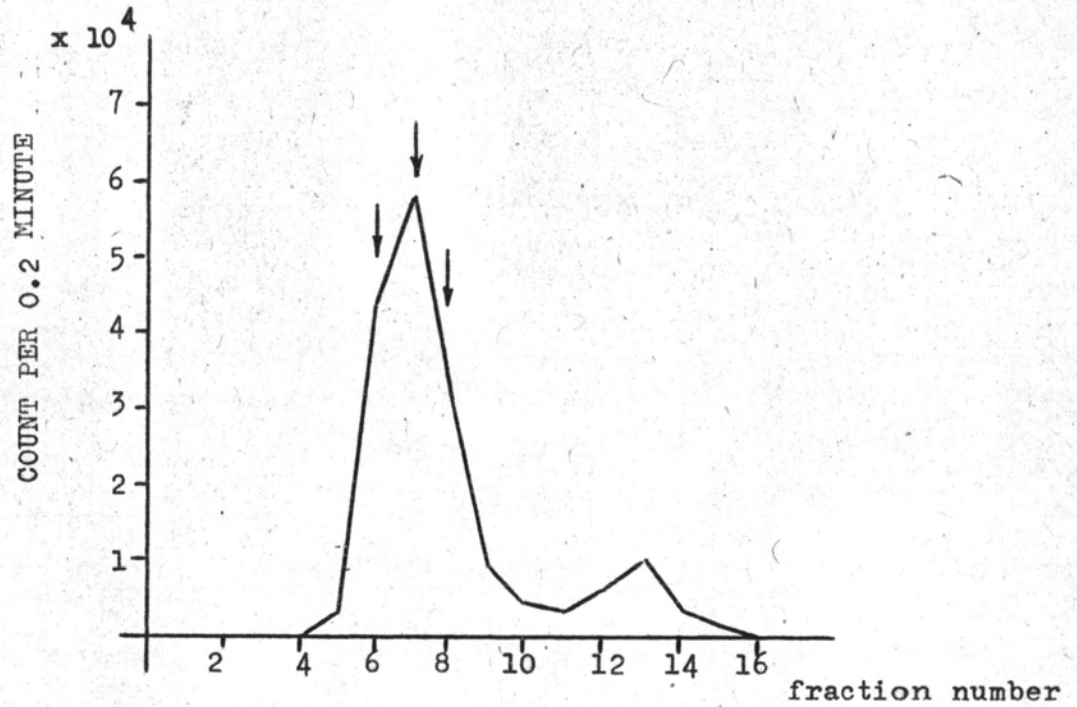
จากรูปที่ 5 ก. เมื่อนำ fraction ที่ 4, 5 และ 6 ซึ่งอยู่ใน protein peak มาหา homogeneity โดยการทำให้ thin layer chromatography ทันทีภายหลังการ iodination ครั้งที่สาม พบว่า

fraction 4 ซึ่งเป็น fraction ขาขึ้นของ peak จะมี protein peak ซึ่งมี radioactivity ค่ำ และมี peak เล็ก ๆ แทรกปนอยู่ด้วย นอกจากนี้ยังมี iodide salt peak (a_1 และ a_2) (ซึ่งอาจจะมี aggregated form ของ HGH ปนอยู่ด้วยก็ได้) ที่มี radioactivity ค่อนข้างสูงเกือบเท่า protein peak แสดงถึงความไม่บริสุทธิ์ และการมี impurity ปะปนอยู่มากของ fraction นี้

fraction 5 ซึ่งเป็น fraction ยอดของ peak จะมี protein peak (b) ซึ่งมี radioactivity สูงมาก และเส้นที่ได้จากการ scan regular และมี salt peak (a) ปนอยู่บ้าง และน้อยกว่าใน fraction 4 แสดงว่า fraction นี้มีความบริสุทธิ์ดี มี impurity ปะปนอยู่น้อย

fraction 6 ซึ่งเป็น fraction ปลายของ peak จะมี protein peak (b) ซึ่งมี radioactivity สูงปานกลาง (แต่มักต่ำกว่า fraction 5 มาก) ลักษณะเป็น symmetrical curve เส้น scan regular แต่มี salt peak (a) ปนอยู่น้อยกว่า fraction 4 และ 5 แสดงว่า fraction นี้มีความบริสุทธิ์มากกว่า fraction อื่น ๆ



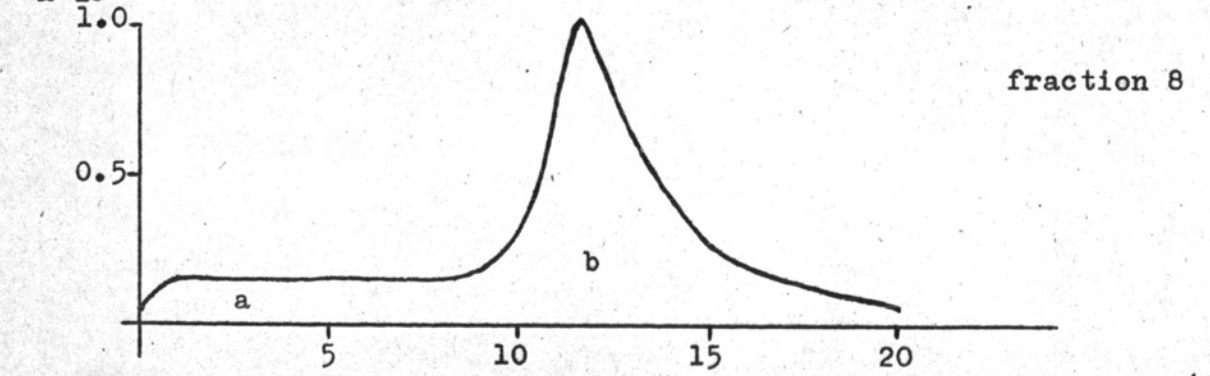
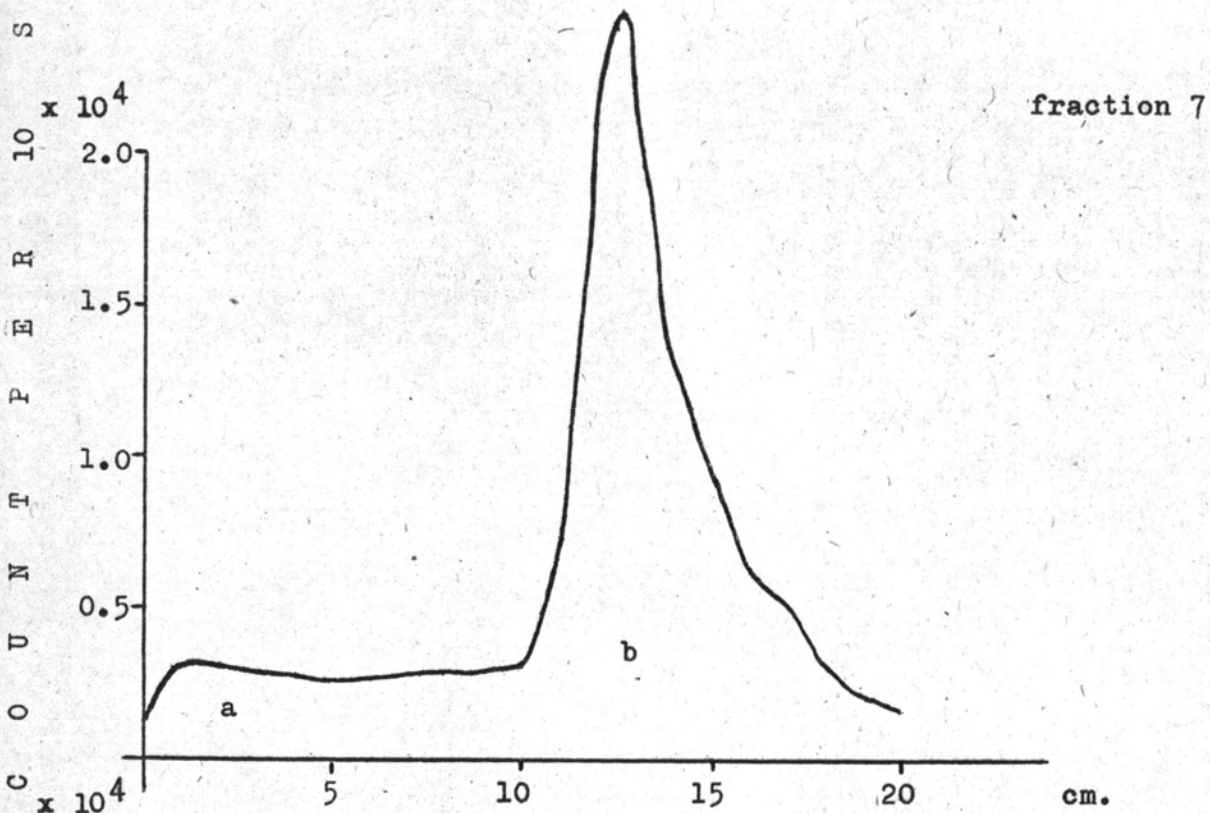
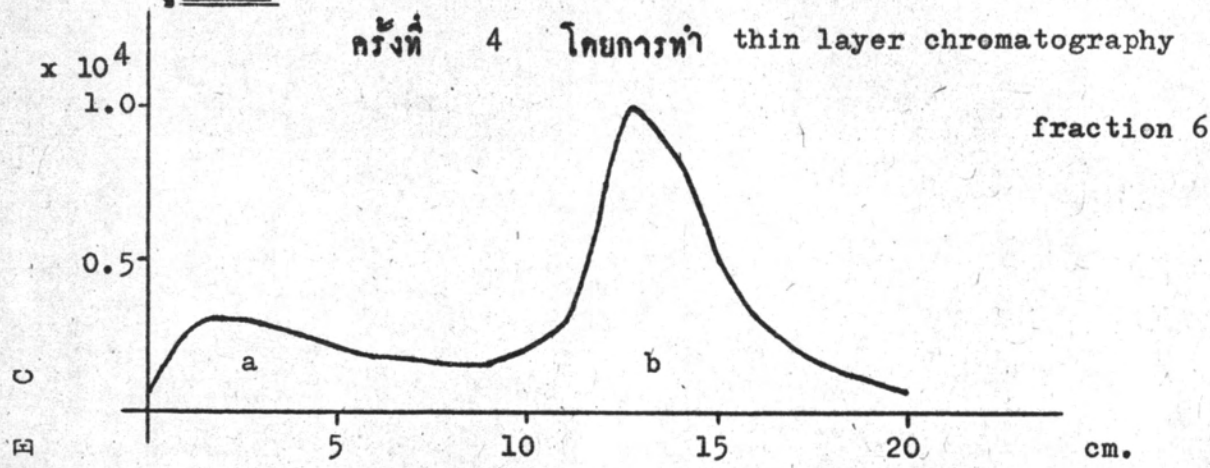


รูปที่ 3ง

แสดงการ iodinate GHG ครั้งที่ 4 และทำให้บริสุทธิ์
 โดยการผ่าน sephadex G-50 column protein peak
 จะออกมาใน fraction ที่ 5-10 (นำไปดู
 homogeneity ของ ¹²⁵I-HGH) salt peak จะออกมาใน
 fraction 11-15

รูปที่ 5 ข

แสดงการหา homogeneity ของ ¹²⁵I-HGH ภายใต้การ label
ครั้งที่ 4 โดยการทำให้ thin layer chromatography



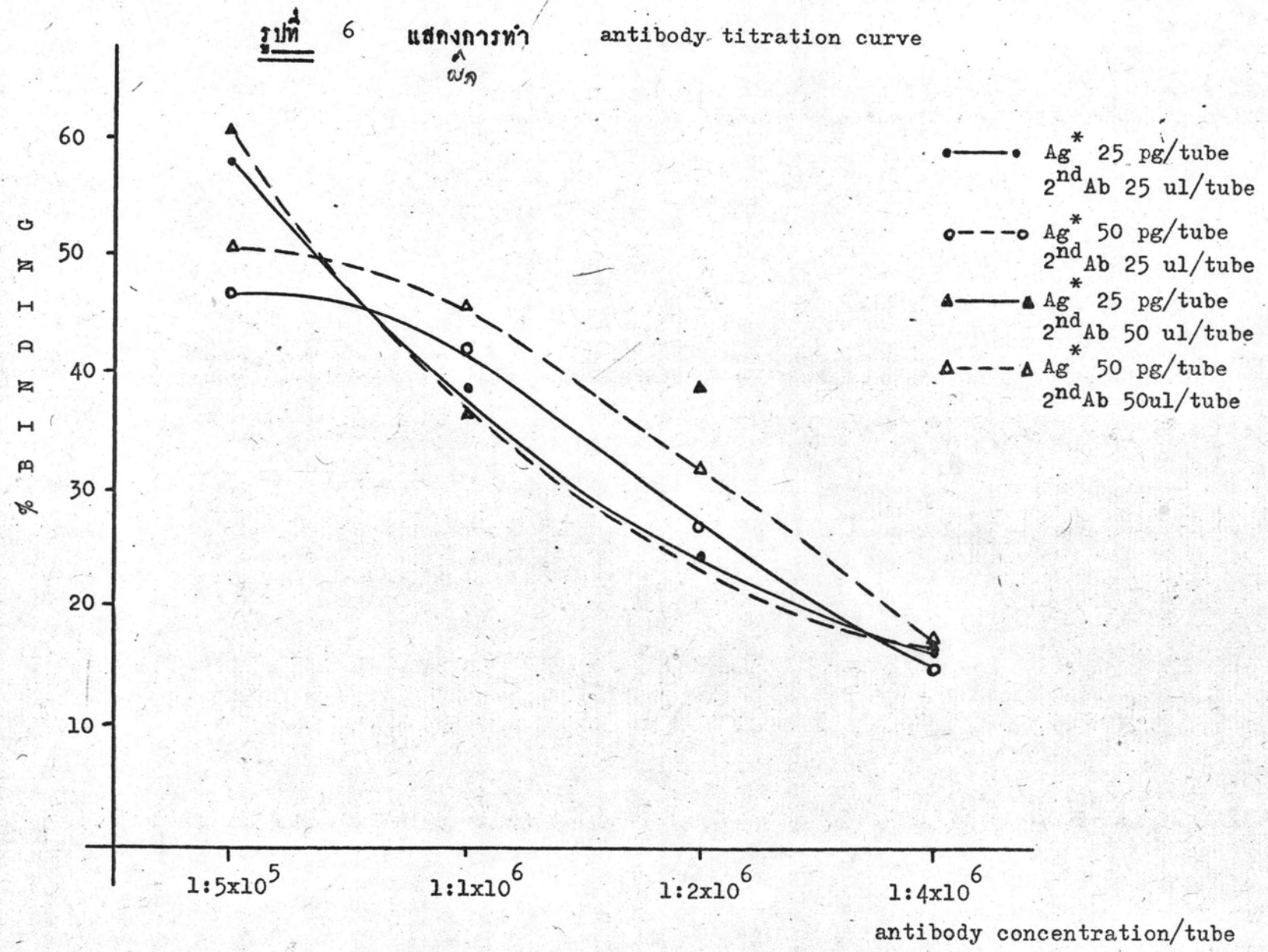
ความยาว plate (cm.)

จากรูป 5 ข. เมื่อนำ fraction 6, 7 และ 8 ซึ่งอยู่ใน protein peak มาหา homogeneity โดยการทำให้ thin layer chromatography ทันที ภายหลังการ iodination ครั้งที่ 4 พบว่า

fraction 6 ซึ่งเป็น fraction ขาค้นของ peak จะมี protein peak (b) ซึ่งมี radioactivity สูงปานกลาง และมีเส้น scan regular แต่มี salt peak (a) ปนอยู่มาก แสดงถึงความไม่บริสุทธิ์ของ fraction นี้

fraction 7 ซึ่งเป็น fraction ยอดของ peak จะมี protein peak (b) ซึ่งมี radioactivity สูงมาก และมีลักษณะ symmetry ก็พอควร และเส้น scan regular แต่มี salt peak (a) น้อยกว่าใน fraction 6 เมื่อเทียบกับใน protein peak

fraction 8 ซึ่งเป็น fraction ขาลงของ peak จะมี protein peak (b) ซึ่งมี radioactivity สูงปานกลาง และมีลักษณะ symmetry และเส้น scan regular ก็ แต่มี salt peak (a) ปนอยู่น้อยที่สุด เมื่อเทียบกับ fraction อื่น ๆ แสดงว่า fraction นี้มีความบริสุทธิ์มากที่สุด



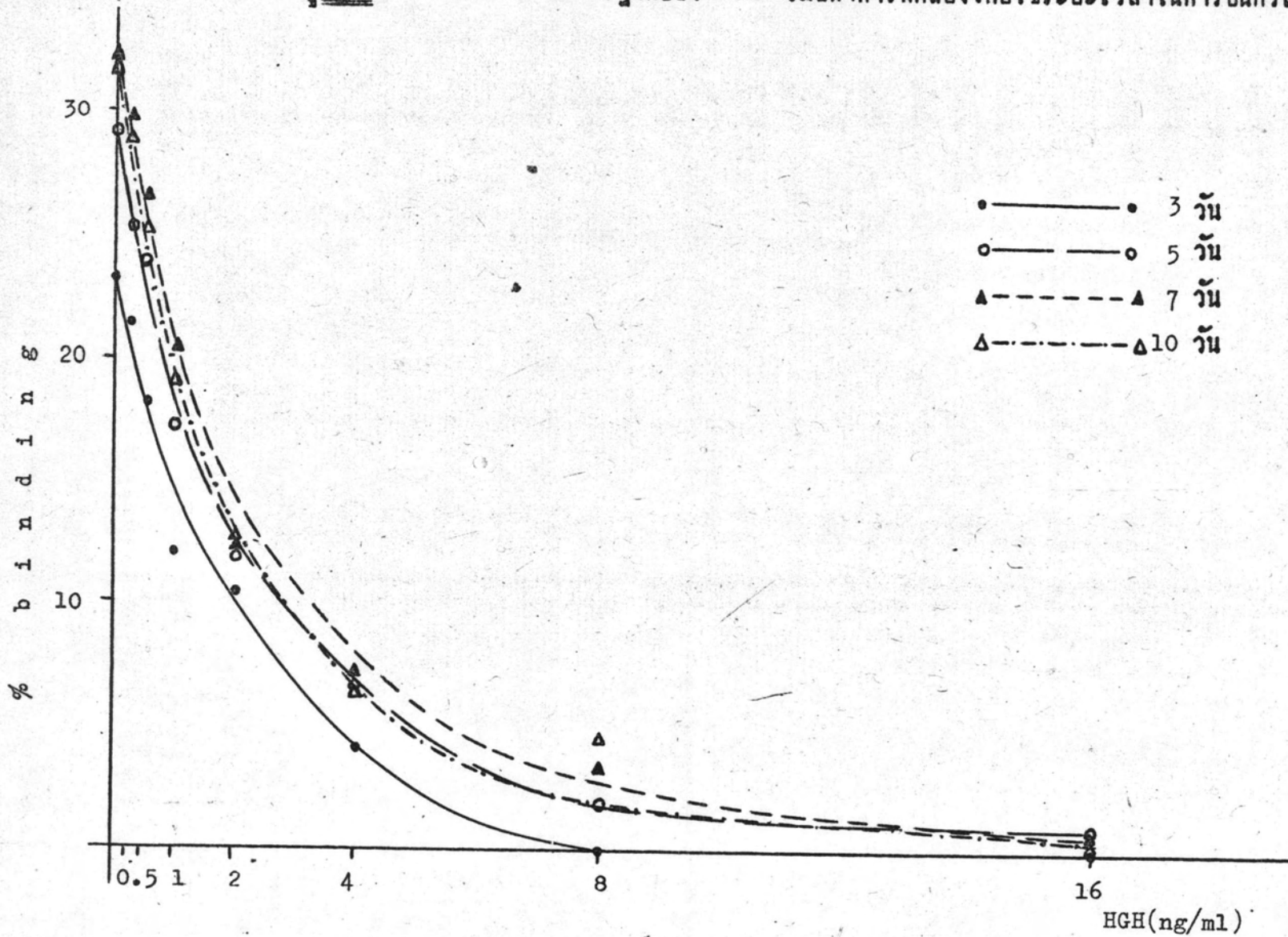
3. ผลการทำ antibody titration curve

ทำการทดลองตามวิธีการข้อที่ 3.3 (หน้า 36) โดยเลือกใช้ 125 I-HGH มีความเข้มข้น 25 และ 50 พิโคกรัม / 0.1 มล. (ตามกำหนดของ NIH ซึ่งให้แอนติบอดี) และใช้แอนติบอดีต่อ HGH ที่มีความเข้มข้นสุดท้ายต่างกัน 4 แบบ ผลการทดลองทั้งแสดงในรูปที่ 6 และตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงผลการทำ antibody titration curve

แอนติบอดี	125 I-HGH 25 พิโคกรัม/ 0.1 มล.				125 I-HGH 50 พิโคกรัม/ 0.1 มล.			
	nd 2 Ab 25 μ l		nd 2 Ab 50 μ l		nd 2 Ab 25 μ l		nd 2 Ab 50 μ l	
ความเข้มข้น	B/F	binding %	B/F	binding %	B/F	binding %	B/F	binding %
1:500,000	1.376	57.913	1.542	60.665	0.884	46.916	1.014	50.356
1:1,000,000	0.627	38.532	0.577	36.583	0.720	41.874	0.835	45.492
1:2,000,000	0.313	23.968	0.636	38.876	0.364	26.690	0.583	36.833
1:4,000,000	0.193	16.170	0.201	16.743	0.176	14.947	0.208	17.141

จากผลการทดลองจะเห็นว่าเมื่อกำหนดให้ความเข้มข้นของ 125 I-HGH คงที่คือ 25-50 พิโคกรัม/ 0.1 มล. เปรอเซ็นต์ของการรวมตัวจะสูงขึ้น เมื่อความเข้มข้นของแอนติบอดีสูงขึ้น แอนติบอดีที่ใช้จะต้องมีความเข้มข้นน้อยที่สุดที่จะให้เปอร์เซ็นต์ของการรวมตัวที่พอเหมาะ และให้กราฟมาตรฐานที่มีความไวสูง จึงเลือกใช้ 125 I-HGH มีความเข้มข้น 25 พิโคกรัม ต่อ 0.1 มิลลิลิตร ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ต่ำสุด และใช้แอนติบอดีที่มีความเข้มข้น 1:2,000,000 ส่วนแอนติบอดีที่สองนั้น ต้องการใช้น้อยที่สุดที่จะแยก B ออกจาก F form ได้อย่างสมบูรณ์ที่สุด เพื่อเป็นการประหยัดเนื่องจาก nd 2 Ab มีราคาแพงมาก จึงเลือกใช้แอนติบอดีที่สอง 50 ไมโครลิตรต่อหลอด ในการทดลองตลอดรายงานนี้



4. ผลการหาเวลาในการอินคิวเบท (time of incubation)

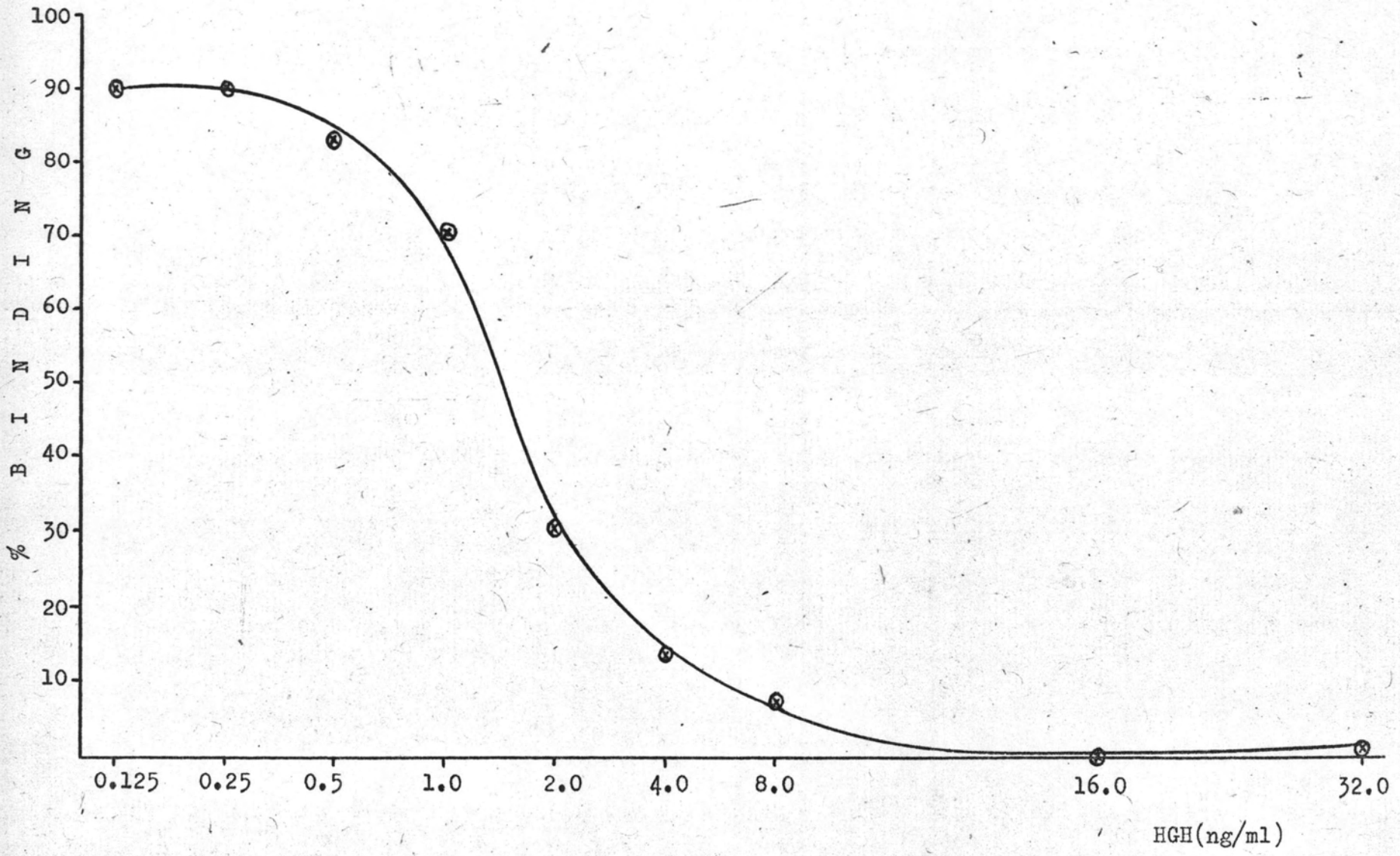
ทำการทดลองตามวิธีทดลองข้อ 3.5 (หน้า 37) โดยการทำการกราฟมาตรฐาน ซึ่งอินคิวเบท reaction mixture โดยใช้เวลาต่าง ๆ กัน โดยใช้แอนติบอดีที่มีความเข้มข้น 1:2,000,000 และใช้ I-HGH มีความเข้มข้น 25 พิโคกรัมต่อ 0.1 มิลลิลิตร และใช้แอนติบอดีที่สอง จำนวน 50 ไมโครลิตรต่อหลอดทดลอง ผลการทดลองแสดงไว้ใน รูปที่ 7 และตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงผลการทำการกราฟมาตรฐานที่ได้จากการอินคิวเบทในเวลาต่าง ๆ กัน

standard HGH : นก./มล.	competitive binding (%) ที่ได้จากกรอินคิวเบท 1 st Ab reaction ที่ 4 th เป็นเวลา			
	1(วัน)	5(วัน)	7(วัน)	10 (วัน)
0	23.117	29.027	32.077	31.77
0.25	21.47	25.23	29.7	28.86
0.5	18.37	23.97	26.61	25.21
1.0	12.16	17.39	20.41	19.24
2.0	10.52	11.77	12.34	12.87
4.0	4.11	6.66	7.09	6.68
8.0	0	2.09	3.47	4.60
16.0	0	1.06	0.91	0.24

จากผลการทดลองนี้จะเห็นว่าการอินคิวเบทต่างระยะเวลากันนั้น ถ้าเวลาในการอินคิวเบท 1st Ab reaction ยาวนานขึ้น คือ 7 และ 10 วัน เปอร์เซนต์ของ competitive binding ของกราฟมาตรฐานจะสูงสุด แต่ในการเลือกเวลาที่เหมาะสมนั้น ควรเลือกเวลาน้อยที่สุดที่จะทำให้เกิดเปอร์เซนต์ของ competitive binding ที่มากที่สุด สรุปแล้วจึงเลือกการอินคิวเบทที่ 4th เป็นเวลานาน 5 วัน (ซึ่งเป็นเวลาน้อยที่สุด ที่มีเปอร์เซนต์ของ competitive binding มากที่สุดหรือใกล้เคียงกับที่ได้ใน 7 และ 10 วัน) มาใช้ในการ assay ตรวจหาระดับ GH ต่อไป

รูปที่ 8 แสดงกราฟมาตรฐานสำหรับการทำ RIA ของ HGH



5. ผลการทำกราฟมาตรฐาน

ทำการทดลองตามวิธีทดลองข้อ 3.6 (หน้า 39) เพื่อหาช่วงของกราฟมาตรฐานที่จะนำมาใช้อ่านปริมาณฮอร์โมนในพลาสมาตัวอย่าง และดูความไวในการวัดของวิธีทดลองนี้ด้วย นำเปอร์เซ็นต์ของ competitive binding ที่ได้จากการทดลองมาเขียนกราฟกับ \log ของความเข้มข้นของ HGH จะได้กราฟมาตรฐานของ HGH เพื่อใช้ในการอ่านค่า GH (ดังแสดงในรูปที่ 8) วิธีนี้เมื่อดูจากกราฟมาตรฐานตลอดการทดลองพบว่าสามารถวัดค่า GH ได้ต่ำสุดถึง 0.175 นก./มล. (จากวิธีการคำนวณหาความไวในการวัดของวิธีทดลองตามวิธีการคำนวณข้อ 5.4 หน้า 44) นำกราฟมาตรฐานนี้ไปใช้อ่านระดับ GH ในพลาสมาได้ โดยค่า GH ที่อ่านได้จากช่วงที่มีความชันจะเป็นค่าที่มีความถูกต้องมากที่สุด

6. ผลการวัดหาปริมาณน้ำตาลในเลือด และปริมาณ โกรทฮอร์โมนในพลาสมาภายหลังการ
กระตุ้นด้วยอินซูลิน

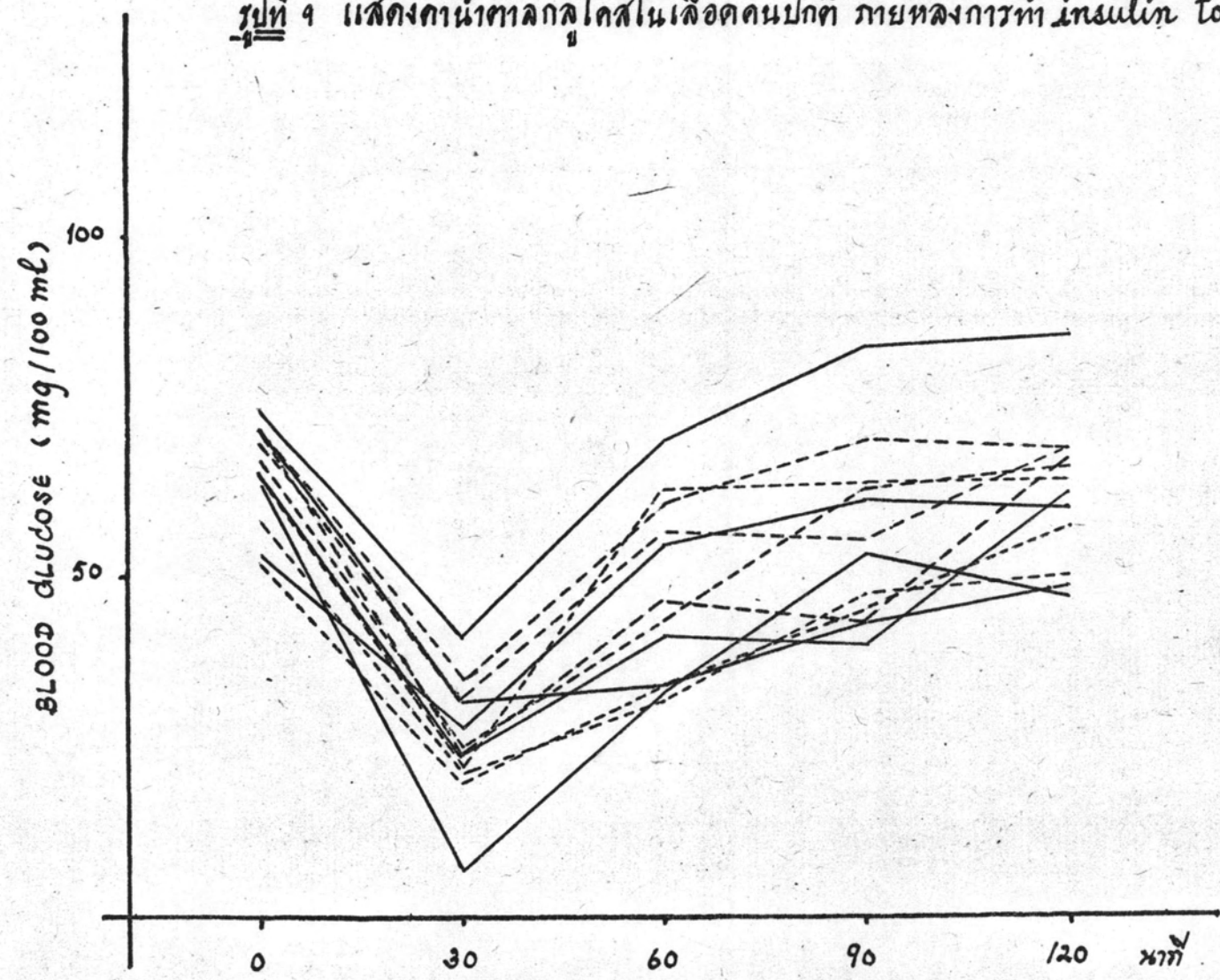
6.1. ผลการวัดหาปริมาณน้ำตาลในเลือด ทำการวัดหาปริมาณน้ำตาลในเลือด โดยทำการทดลองตามวิธีการทดลองข้อ 2 (หน้า 32) โดยหาระดับน้ำตาลในเลือดก่อนและภายหลังการฉีดอินซูลิน เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ในคนปกติ จำนวน 13 คน และคนป่วย 21 คน ผลปรากฏว่า

คนปกติ จำนวน 13 คน เมื่อได้รับการฉีดอินซูลิน 0.15 I.U. ต่อน้ำหนักตัวคิดเป็นกิโลกรัมแล้ว ระดับน้ำตาลลดลงคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยเท่ากับ 58.68 ± 14.3 เปอร์เซ็นต์ โดยมีระดับน้ำตาลสูงสุดก่อนฉีดอินซูลินมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 65.3 ± 7.63 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร และระดับน้ำตาลลดลงต่ำสุดมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 27.23 ± 9.12 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร

คนป่วย จำนวน 21 คน เมื่อได้รับการฉีดอินซูลิน 0.15 I.U. ต่อน้ำหนักตัวคิดเป็นกิโลกรัมแล้ว ระดับน้ำตาลลดลงคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยเท่ากับ 63.18 ± 12.69 เปอร์เซ็นต์ โดยมีระดับน้ำตาลสูงสุดก่อนฉีดอินซูลินมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 69.5 ± 11.8 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร และระดับน้ำตาลลดลงต่ำสุดมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 24.8 ± 9.1 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร

ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 5 ก และ ข และในรูปที่ 9 ถึง 11 ตามลำดับ

รูปที่ ๑ แสดงค่าน้ำตาลกลูโคสในเลือดคนปกติ ภายหลังการทำ insulin tolerance test

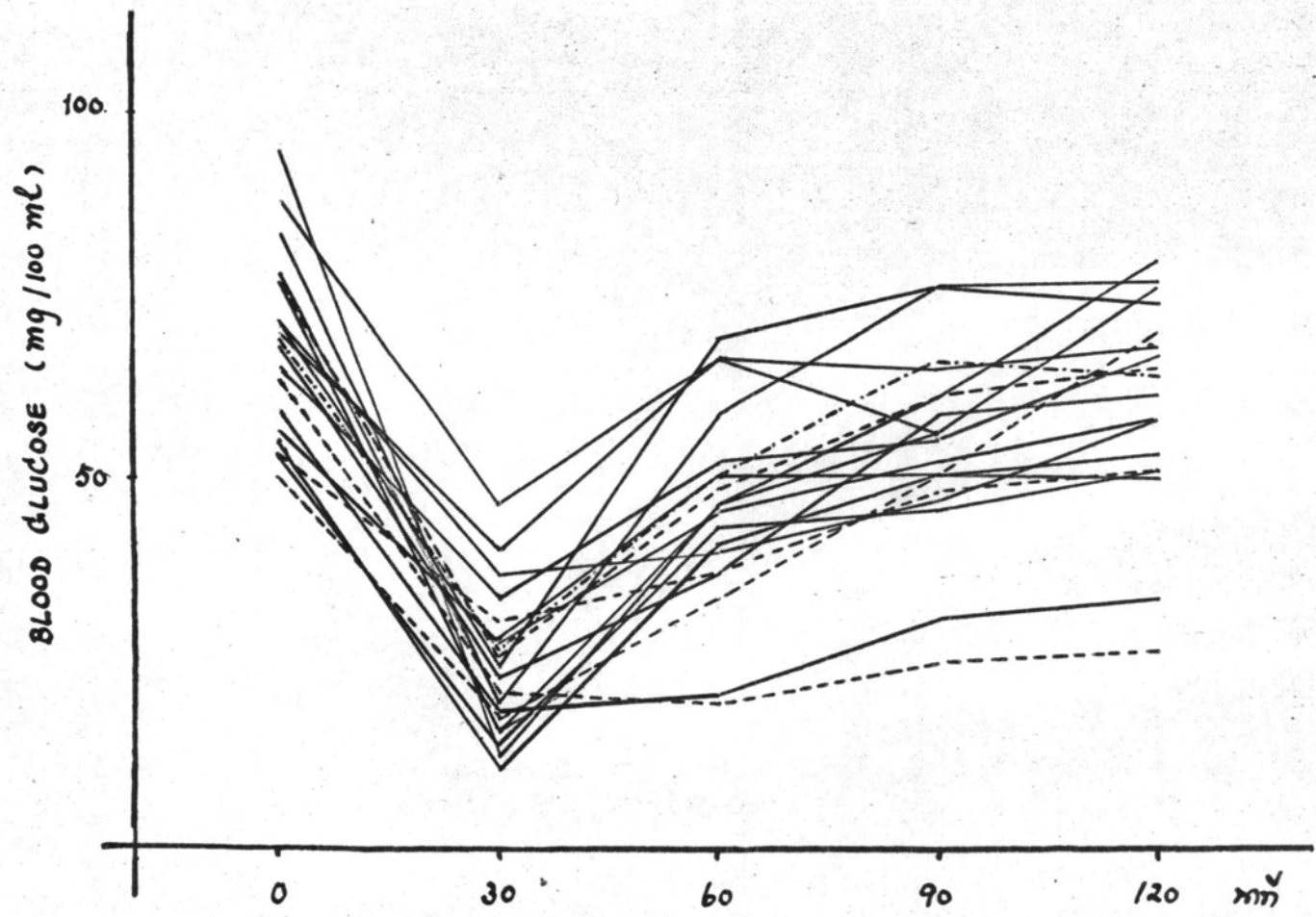


ตาราง 5 ก แสดงระดับน้ำตาลกลูโคสภายหลังจากการทำ insulin tolerance test
ในคนปกติจำนวน 13 คน

No	เพศ	อายุ (ปี)	น้ำตาล ลดลง (%)	น้ำตาลกลูโคสมิลลิกรัม/ 100 มิลลิลิตร ในเวลาภายหลังการฉีดอินซูลิน (นาที)				
				0	30	60	90	120
1	ช	14	45.3	75	41	70	84	86
2	ญ	16	62.48	65	24	41	40	62
3	ช	7	55.5	72	32	34	43	48
4	ช	10	66.6	72	24	46	43	67
5	ญ	14	54.3	70	32	56	55	69
6	ญ	9	63.8	58	21	32	47	50
7	ช	11	63.6	65	22	62	63	64
8	ช	13	28.3	53	38	54	61	60
9	ช	17	62.68	67	25	43	62	66
10	ช	12	51.3	72 *	35	60	70	69
11	ญ	14	-	-	33	45	56	61
12	ช	17	88.8	63	7	33	53	47
13	ญ	20	61.5	52	20	34	45	57
mean			58.68	65.3	27.23	46.92	55.5	62.0
S.D.			14.3	7.63	9.12	12.5	12.56	10.46
S.E.			4.1	2.3	2.63	3.61	3.67	3.02

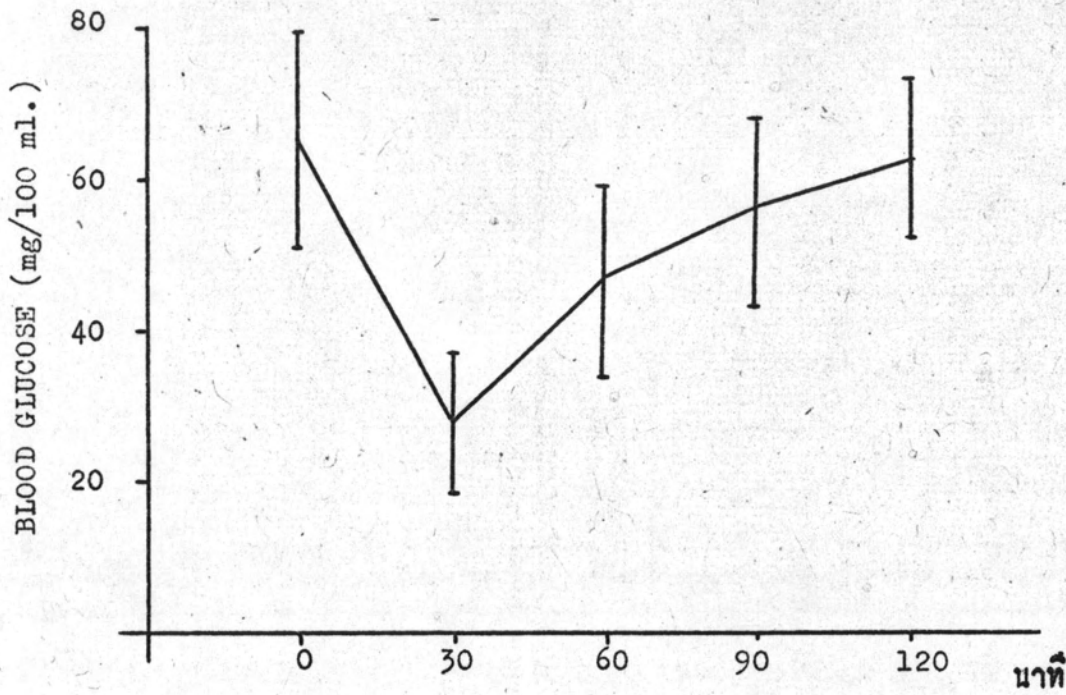
* technical error

รูปที่ 10 แสดงระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือด ภายหลังจากการทำ insulin tolerance test ในคนป่วย

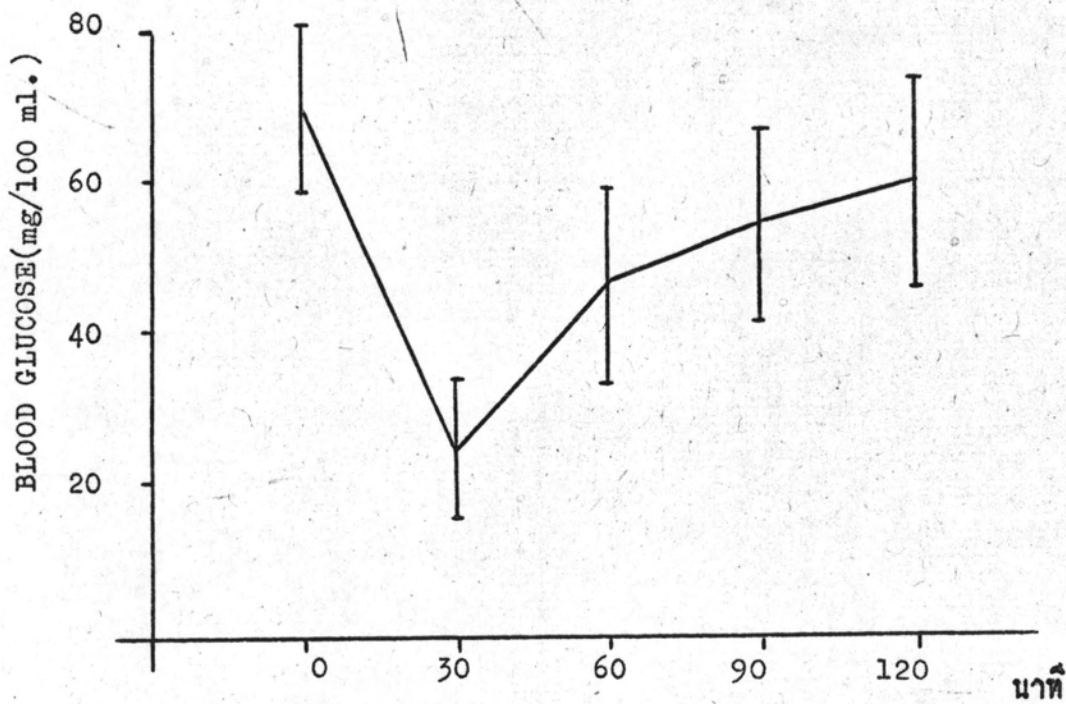


ตารางที่ 5 แสดงระดับน้ำตาลกลูโคสภายหลังการทำ insulin tolerance test
ในผู้ป่วยจำนวน 21 คน

No	เพศ	อายุ (ปี)	น้ำตาล ลดลง %	น้ำตาลกลูโคส (มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร) ในเวลาภายหลังการฉีดอินซูลิน (นาที)				
				0	30	60	90	120
1	ญ	12	77.38	84	19	21	31	34
2	ญ	17	68.0	72	23	37	58	61
3	ช	9	79.2	77	16	46	56	61
4	ญ	17	63.38	71	26	48	61	65
5	ช	14	64.4	55	11	41	50	51
6	ช	19	68.6	63	21	20	25	27
7	ช	15	72.69	73	19	50	58	65
8	ช	16	42.85	70	40	66	65	68
9	ญ	20	64.0	50	18	34	50	50
10	ญ	13	63.2	68	25	69	76	77
11	ช	13	41.51	53	31	37	48	51
12	ญ	8	48.6	72	37	40	47	58
13	ช	14	47.7	65	34	52	55	67
14	ช	12	77.3	78	20	58	76	74
15	ญ	18	50.0	56	28	50	50	53
16	ญ	20	86.3	95	13	46	61	80
17	ช	13	73.58	53	14	43	46	51
18	ญ	20	47.7	88	46	66	56	76
19	ช	14	60.86	69	27	50	66	64
20	ช	11	67.53	77	25	51	50	70
21	ช	15	61.97	71	27	45	52	58
Mean			63.18	69.5	24.8	46.2	54.1	60.0
S.D.			12.69	11.8	9.1	12.65	12.15	13.4
S.E.			2.83	2.6	2.0	2.8	2.7	2.9



รูปที่ 11 ก แสดงค่าเฉลี่ยของระดับน้ำตาลในเลือดของคนปกติ ภายหลังจากการฉีดอินซูลิน (mean \pm SD)



รูปที่ 11 ข แสดงค่าเฉลี่ยของระดับน้ำตาลในเลือดของคนป่วย ภายหลังจากการฉีดอินซูลิน (mean \pm SD)

6.2. ผลการหาปริมาณโกรซอร์โมนในพลาสมา ทำการวัดปริมาณ GH ในพลาสมาโดยทำตามวิธีทดลองข้อ 3.7 (หน้า 39) วัดปริมาณ GH ก่อนและหลังการกระตุ้นด้วยอินซูลินเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทำในคนปกติ 13 คน และคนป่วย 21 คน ผลปรากฏว่า

ในคนปกติ

Basal level ปริมาณ GH ก่อนได้รับการกระตุ้นแบ่งได้เป็น 2 ระดับ คือ

ก. ปริมาณ GH ที่มีค่า basal level ต่ำกว่า 6 นก./มล. โดยมีค่าเฉลี่ยของ GH เท่ากับ 2.72 ± 1.77 นก./มล. มีจำนวน 11 คน เป็นชาย 6 คน และหญิง 5 คน

ข. ปริมาณ GH ที่มีค่า basal level สูงกว่า 6 นก./มล. โดยมีค่าเฉลี่ยของ GH เท่ากับ 17.98 ± 2.16 นก./มล. มีจำนวน 2 คน เป็นชาย 1 คน และหญิง 1 คน

GH rise ผู้ถูกทดลองมีการสนองตอบต่อการกระตุ้นด้วยอินซูลินทั้ง 13 คน โดยมีความสามารถที่จะหลัง GH เพิ่มขึ้น (increment) จาก basal level ได้มากกว่า 6 นก./มล. แต่การสนองตอบที่เกิดขึ้นนี้จะแบ่งได้เป็น 2 ระดับ (โดยไม่เกี่ยวกับค่า basal ที่ต่ำหรือสูง) คือ

ก. มี quick response คือหลัง GH ใต้สูงสุดภายในช่วงเวลา 30-60 นาที ภายหลังการฉีดอินซูลิน มีจำนวน 9 คน

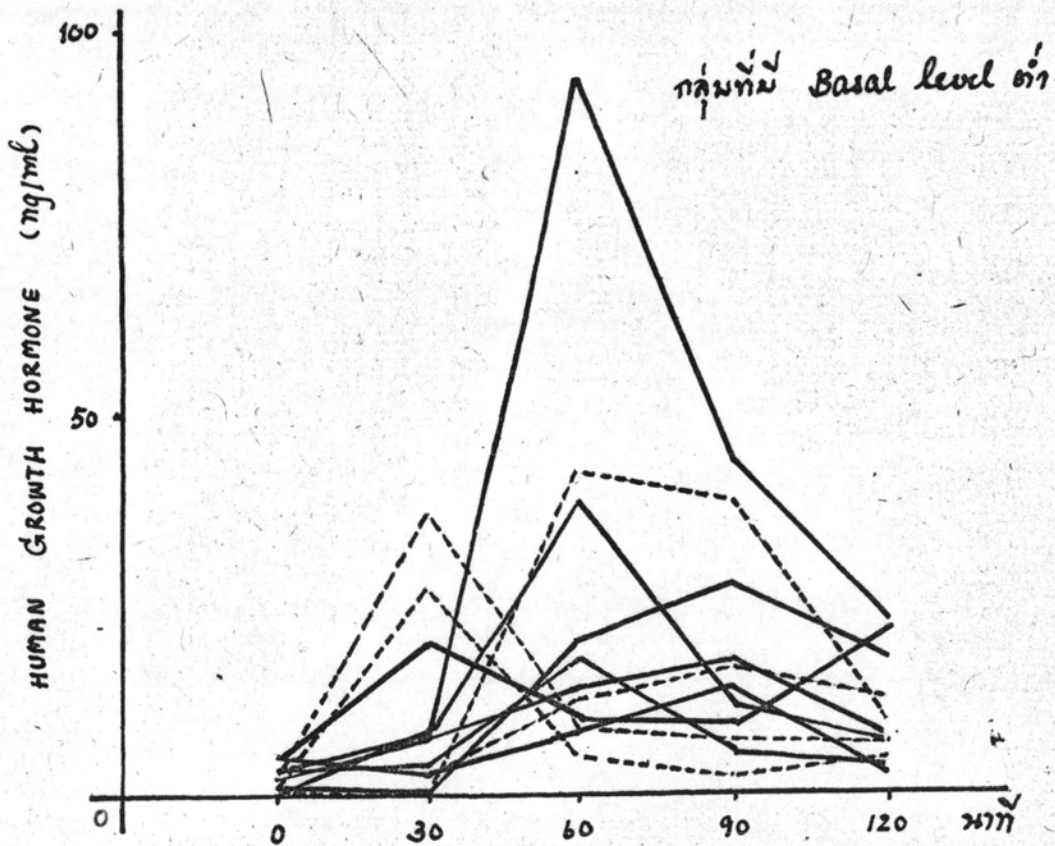
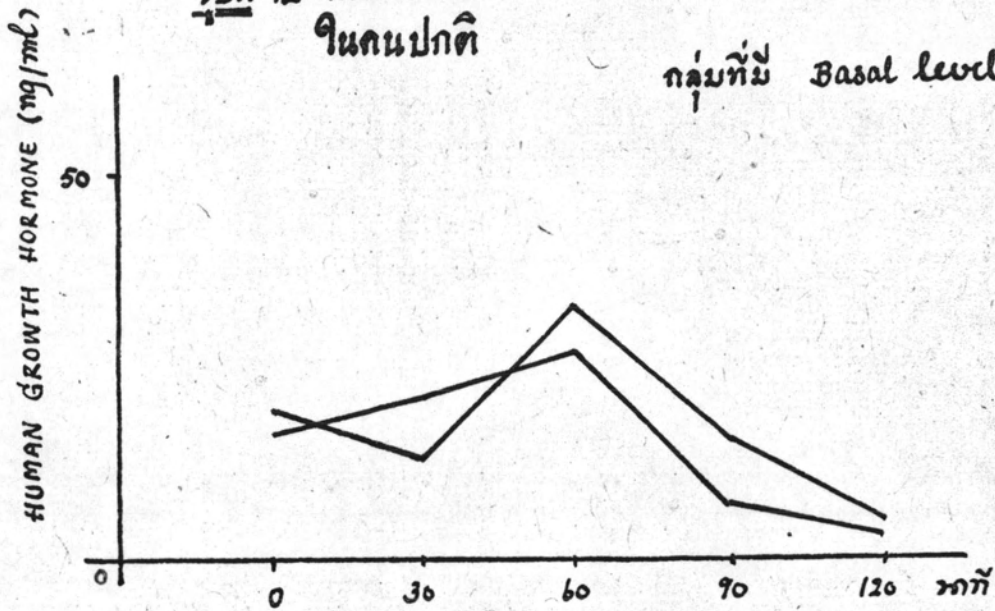
ข. มี delayed response คือหลัง GH ใต้สูงสุดภายในช่วงเวลา 90-120 นาที ภายหลังการฉีดอินซูลิน มีจำนวน 4 คน

สำหรับผู้ที่ มี basal level ต่ำ จำนวน 11 คน จะหลัง GH ใต้สูงสุดมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 32.45 ± 22.52 นก./มล.

และผู้ที่มี basal level สูง จำนวน 2 คน จะหลัง GH ใต้สูงสุดมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 30.0 ± 4.24 นก./มล.

ผลการทดลองทั้งแสดงในตารางที่ 6 และรูปที่ 12

รูปที่ 12 แสดงระดับ GH ภายหลังการทำ insulin tolerance test ในคนปกติ



ตารางที่ 6 แสดงระดับโกรทฮอร์โมนภายหลังการกระตุ้นด้วยการฉีดอินซูลินในคนปกติ

	เพศ	อายุ (ปี)	โกรทฮอร์โมนในพลาสมา (นาโนกรัม/มิลลิลิตร ในเวลาภายหลังการฉีดอินซูลิน (นาที))					เวลาที่ มีระดับ สูงสุด (นาที)
			0	30	60	90	120	
<u>High basal level</u>								
<u>Quick response</u>								
1 (ช.อ.)	ช	14	16.45	21.0	27.0	7.0	3.2	60
2 (ส.น.)	ญ	16	19.5	13.5	33.0	15.5	4.8	60
<u>Delayed response</u>								
ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
<u>Low basal level</u>								
<u>Quick response</u>								
1 (ว.น.)	ช	7	5.1	20.0	9.75	9.5	-	30
2 (น.ท.)	ช	10	0.8	27.5	5.3	2.8	4.8	30
3 (จ.พ.)	ญ	14	2.16	37.5	9.0	7.5	6.9	30
4 (ร.ค.)	ญ	9	1.1	0.525	43.0	39.0	10.0	60
5 (ส.ส.)	ช	11	3.4	8.35	39.0	12.25	7.25	60
6 (น.ก.)	ช	13	3.36	4.0	18.0	5.5	4.1	60
7 (ป.ค.)	ช	17	0.6	8.75	94.0	44.0	23.0	60
<u>Delayed response</u>								
1 (ส.จ.)	ช	12	4.7	2.8	8.5	15.5	3.2	90
2 (ว.)	ญ	14	5.4	3.0	12.5	17.0	13.0	90
3 (ช.อ.)	ช	17	1.1	0.7	20.6	28.0	18.0	90
4 (ส.ค.)	ญ	20	2.24	7.5	14.25	18.0	7.75	90

ในผู้ป่วย (thalassemic patients)

Basal level ปริมาณ GH ก่อนได้รับการกระตุ้นแบ่งได้เป็น 2 ระดับ คือ

ก. ปริมาณ GH ที่มีค่า basal level ต่ำกว่า 6 นก./มล. โดยมีค่า GH เฉลี่ย เท่ากับ 2.89 ± 1.24 นก./มล. จำนวน 14 คน โดยเป็นชาย 10 คน และหญิง 4 คน

ข. ปริมาณ GH ที่มีค่า basal level สูงกว่า 6 นก./มล. โดยมีค่า GH เฉลี่ย เท่ากับ 11.22 ± 5.5 นก./มล. จำนวน 7 คน โดยเป็นชาย 2 คน และหญิง 5 คน

GH rise ในผู้ป่วยจำนวน 21 คน พบว่ามีการสนองตอบต่อการกระตุ้น โดยมีความสามารถที่จะหลัง GH เพิ่มขึ้น (increment) จาก basal level ได้มากกว่า 6 นก./มล. มีจำนวน 14 คน (โดยมีระดับ basal level ต่ำ 10 คน และมีระดับ basal level สูง 4 คน) แต่การสนองตอบที่เกิดขึ้นนั้นแบ่งได้เป็น 2 แบบ เช่นเดียวกับในคนปกติ คือ

ก. มี quick response คือหลัง GH ใต้สูงสุดภายในช่วงเวลา 30-60 นาที ภายหลังการกระตุ้น มีจำนวน 6 คน

ข. มี delayed response คือหลัง GH ใต้สูงสุดภายในช่วงเวลา 90-120 นาที ภายหลังการกระตุ้น มีจำนวน 8 คน

สำหรับผู้ที่ มี basal level ต่ำ จำนวน 10 คน (ซึ่งมีการเจริญเติบโตปกติ 3 คน เติบโตช้า 7 คน) จะหลัง GH ใต้สูงสุดมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 16.39 ± 10.54 นก./มล.

และผู้ที่มี basal level สูง จำนวน 4 คน (ซึ่งมีการเจริญเติบโตปกติ 2 คน) จะหลัง GH ใต้สูงสุดมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 41.25 ± 12.24 นก./มล.

กลุ่มที่ไม่มีการสนองตอบต่อการกระตุ้น คือไม่สามารถหลัง GH ให้เพิ่มขึ้น (increment) จากระดับ basal ได้มากกว่า 6 นก./มล. มีจำนวน 7 คน

(โดยมีระดับ basal ต่ำ 4 คน และมีระดับ basal สูง 3 คน และมีการเจริญเติบโตช้า 5 คน, ปกติ 2 คน) ในพวกนี้มีค่า GH สูงสุด เฉลี่ยเท่ากับ 6.48 ± 2.46 นก./มล.

ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 7 ก และ 7 ข และรูปที่ 13-33

ตารางที่ 7ก แสดงระดับโกรธอร์โมนภายหลังการกระตุ้นด้วยการฉีดอินซูลินในผู้ป่วยที่มีการตอบสนองต่อการกระตุ้น

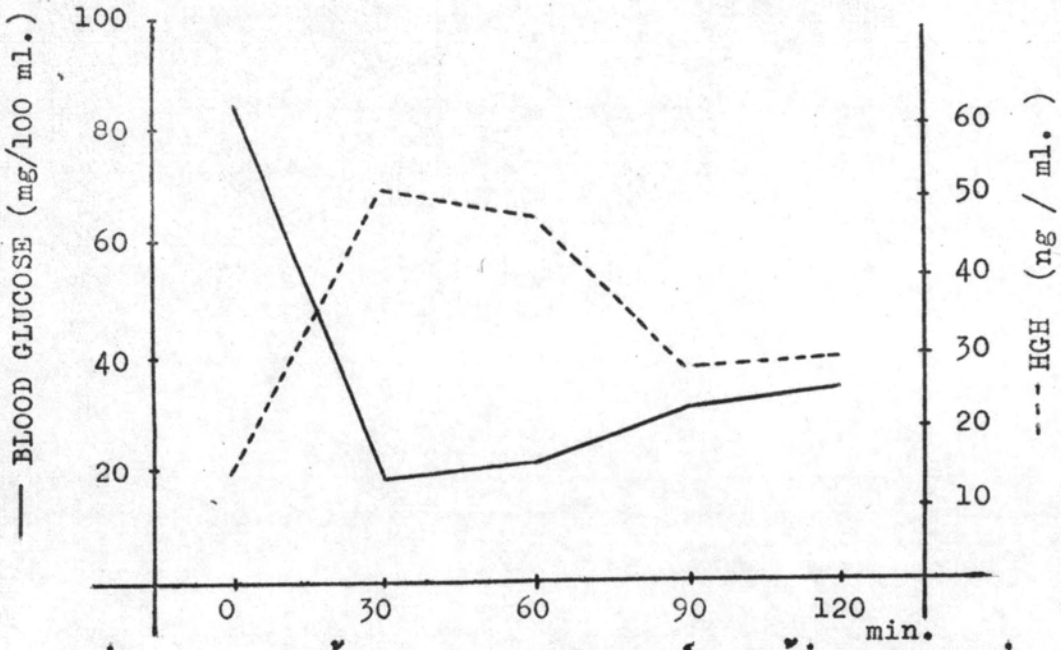
	เพศ	อายุ (ปี)	โกรธอร์โมนในพลาสมา (นาโนกรัม/มิลลิลิตร) ในเวลาภายหลังการฉีดอินซูลิน (นาที)					เวลาที่ มีระดับ สูงสุด (นาที)
			0	30	60	90	120	
<u>High basal level</u>								
<u>Quick response</u>								
1 (ช.ภ.)	ญ	12	14.5	52.0	48.0	28.0	29.0	30
2 (จ.ช.)	ญ	17	21.0	44.0	42.5	42.5	23.5	30
<u>Delayed response</u>								
1 (ส.ค.)	ช	9	7.0	18.0	21.5	24.0	13.75	90
2 (สค.ว.)	ญ	17	8.4	40.0	44.0	45.0	21.0	90
<u>Low basal level</u>								
<u>Quick response</u>								
1 (ส.พ.)	ช	14	1.0	11.7	16.75	4.8	2.6	60
2 (ช.ส.)	ช	19	3.3	3.5	43.7	16.0	20.0	60
3 (สพ.ค.)	ช	15	2.1	13.0	15.5	14.5	13.0	60
4 (ภ.ศ.)	ช	16	4.2	13.0	23.0	11.75	16.0	60
<u>Delayed response</u>								
1 (ส.ช.)	ญ	20	3.7	3.1	8.75	12.0	5.25	90
2 (ล.ห.)	ญ	13	2.2	5.03	8.13	9.0	4.3	90
3 (วช.ช.)	ช	13	1.76	3.1	6.75	9.0	6.25	90
4 (วล.ช.)	ญ	8	2.6	5.25	6.5	9.2	10.5	120
5 (ป.บ.)	ช	14	3.2	3.5	5.0	7.25	13.0	120
6 (ร.อ.)	ช	12	2.15	2.3	4.1	6.75	11.0	120

ตารางที่ 7 ข แสดงระดับโกรทฮอร์โมนภายหลังการกระตุ้นด้วยการฉีดอินซูลินในผู้ป่วย
ที่ไม่มีการตอบสนองต่อการกระตุ้น

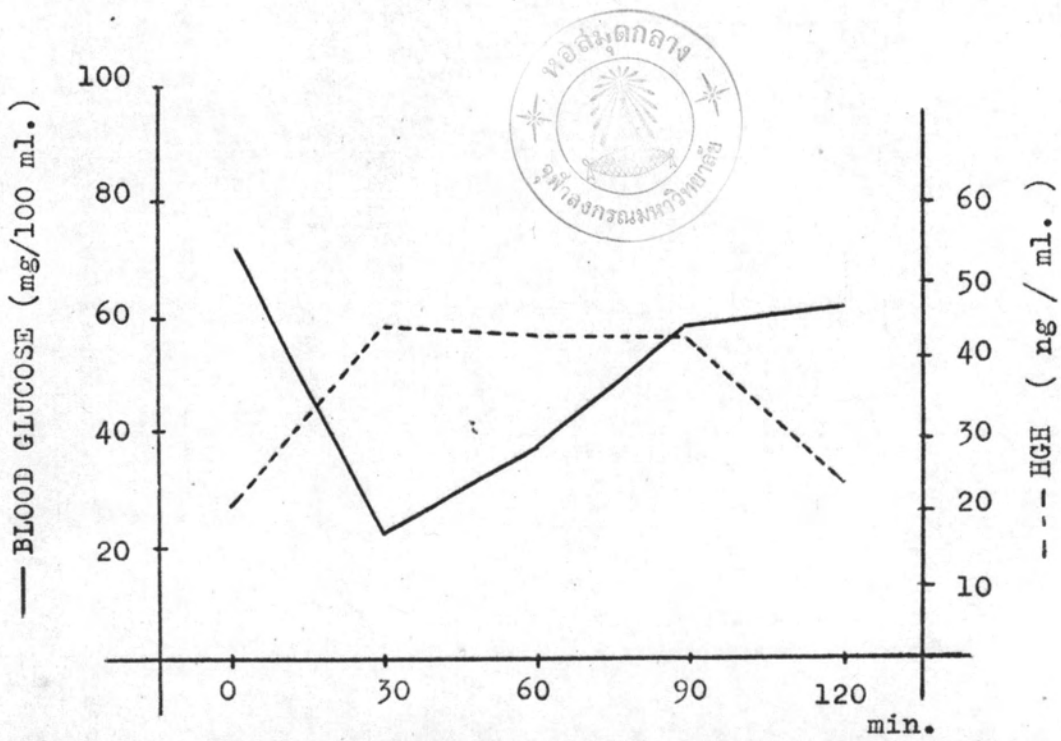
	เพศ	อายุ	โกรทฮอร์โมนในพลาสมา (นาโนกรัม/มิลลิลิตร)				
			ในเวลาภายหลังการฉีดอินซูลิน (นาที)				
			0	30	60	90	120
<u>High basal level</u>							
1 (ส.ว.)	ญ	18	14.5	6.75	6.0	8.25	10.0
2 (จ.ม.)	ญ	20	6.75	6.45	8.25	6.55	7.7
3 (ท.ค.)	ช	13	6.4	5.5	6.63	4.75	3.9
<u>Low basal level</u>							
1 (ม.พ.)	ญ	20	5.1	4.3	4.82	4.34	3.4
2 (วช.ช.)	ช	14	1.05	0.58	3.0	3.8	2.3
3 (วร.ช.)	ช	11	3.5	1.65	3.6	2.4	3.3
4 (สม.ว.)	ช	15	4.6	8.25	5.25	4.5	5.25

รูปที่ 13-14 แสดงระดับ GH ในกลุ่มที่มี basal level สูง และมี quick response

รูปที่ 13-14 แสดงระดับ GH ในกลุ่มที่มี basal level สูง และมี quick response



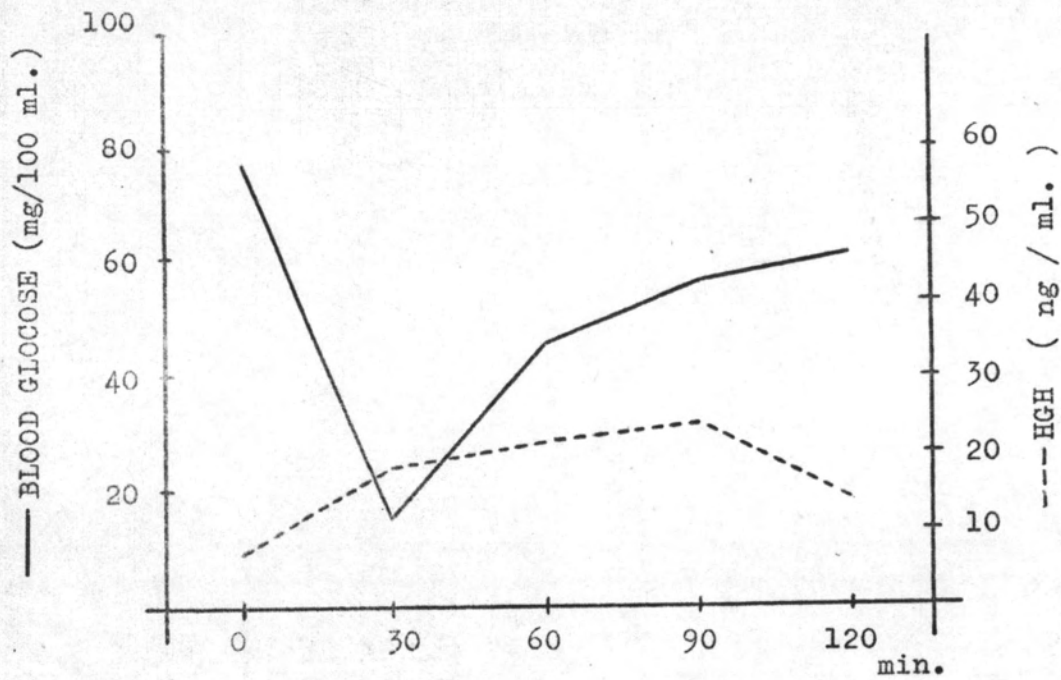
รูปที่ 13 แสดงระดับน้ำตาลกลูโคส และโกรทฮอร์โมนในผู้ป่วย(หญิง)รายที่ 1 (ช.ก.) อายุ 12 ปี ภายหลังจากการฉีดอินซูลิน



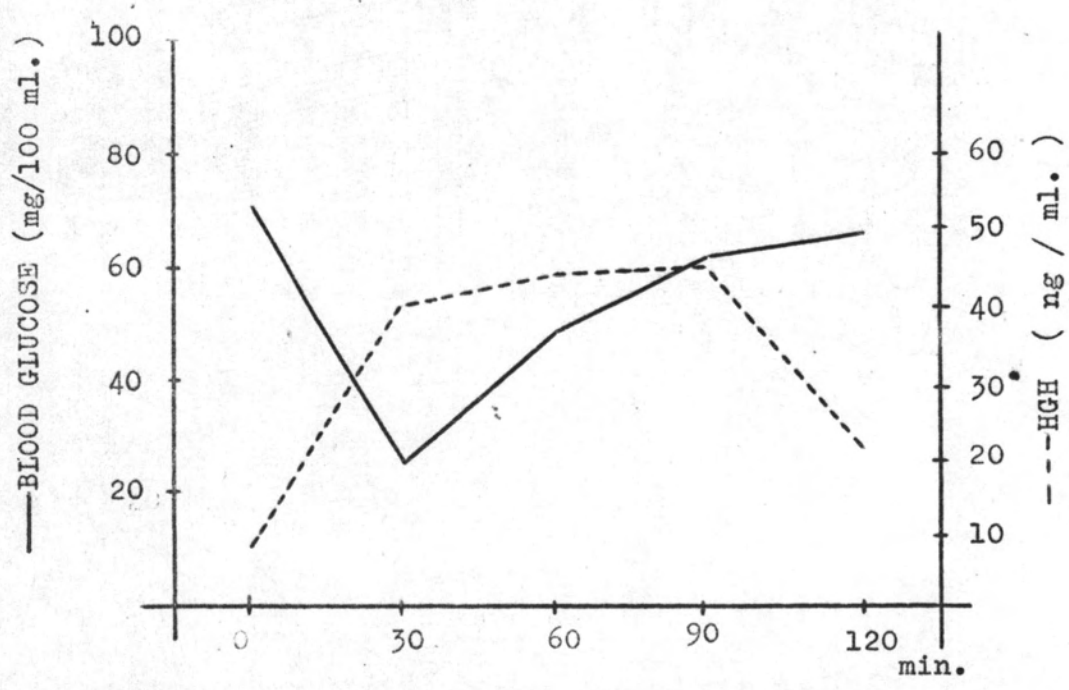
รูปที่ 14 แสดงระดับน้ำตาลกลูโคส และโกรทฮอร์โมนในผู้ป่วย(หญิง)รายที่ 2 (จ.ช.) อายุ 17 ปี ภายหลังจากการฉีดอินซูลิน



รูปที่ 15-16 แสดงระดับ GH ในกลุ่มที่มี basal level สูง และมี
delayed response

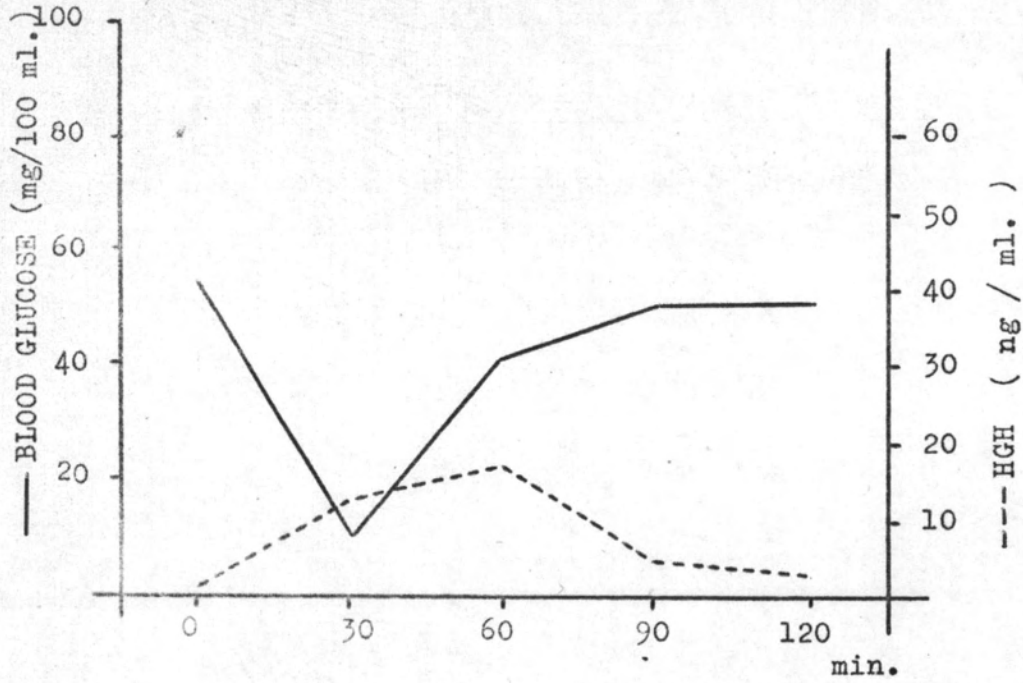


รูปที่ 15 แสดงระดับน้ำตาลกลูโคส และโกรทฮอร์โมนในผู้ป่วย(ชาย)รายที่ 3 (ส.ค.) อายุ 9 ปี ภายหลังจากการฉีกรินซูลิน

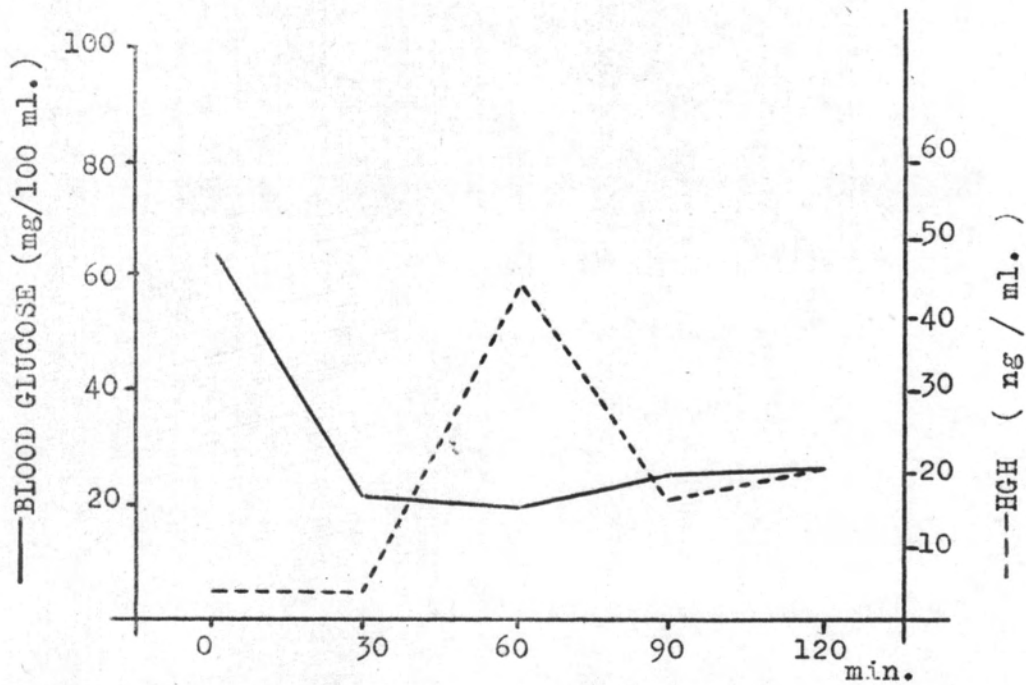


รูปที่ 16 แสดงระดับน้ำตาลกลูโคส และโกรทฮอร์โมนในผู้ป่วย(หญิง)รายที่ 4 (สค.ว) อายุ 17 ปี ภายหลังจากการฉีกรินซูลิน

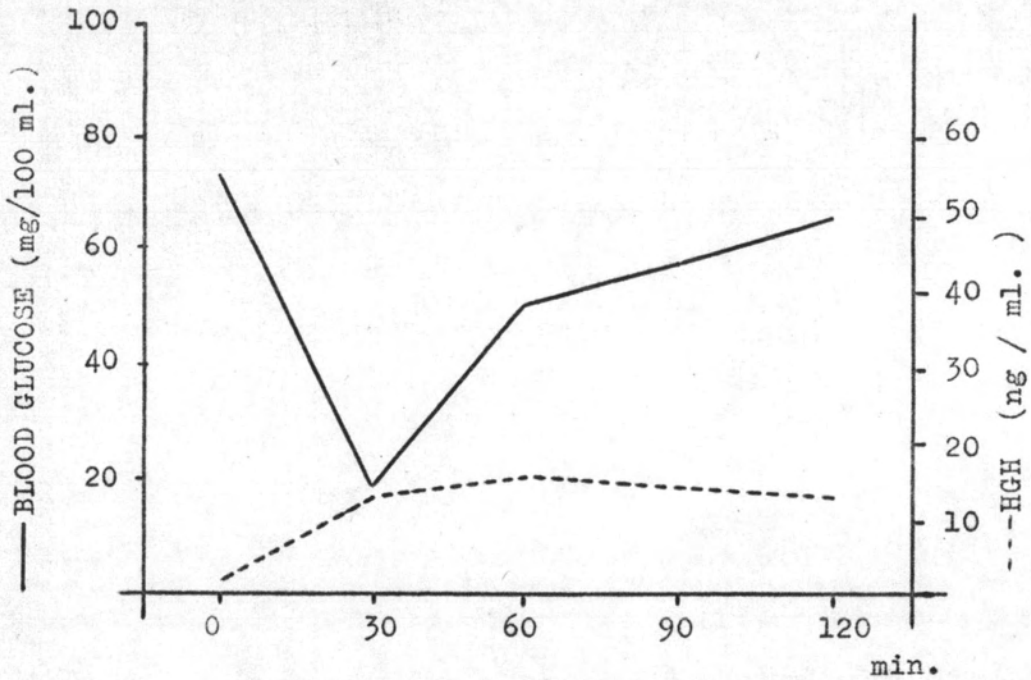
รูปที่ 17-20 แสดงระดับ GH ในกลุ่มที่มี basal level ต่ำ และมี quick response



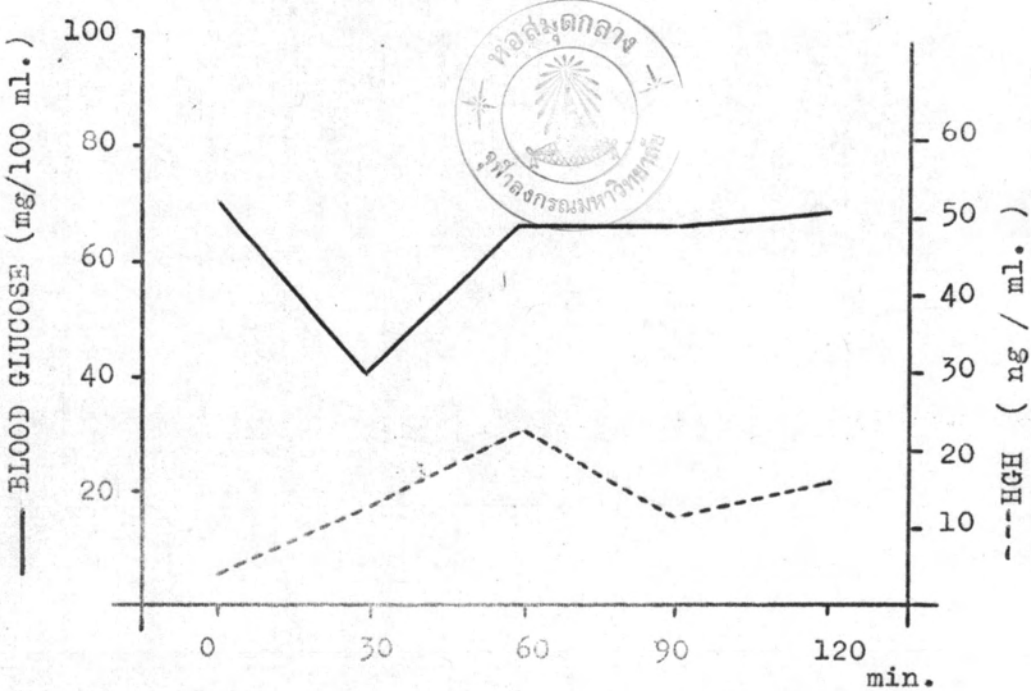
รูปที่ 17 แสดงระดับน้ำตาลกลูโคส และโกรทฮอร์โมนในผู้ป่วย(ชาย)รายที่ 5 (ส.ท.) อายุ 14 ปี ภายหลังจากการฉีดอินซูลิน



รูปที่ 18 แสดงระดับน้ำตาลกลูโคส และโกรทฮอร์โมนในผู้ป่วย(ชาย)รายที่ 6 (ช.ส.) อายุ 19 ปี ภายหลังจากการฉีดอินซูลิน

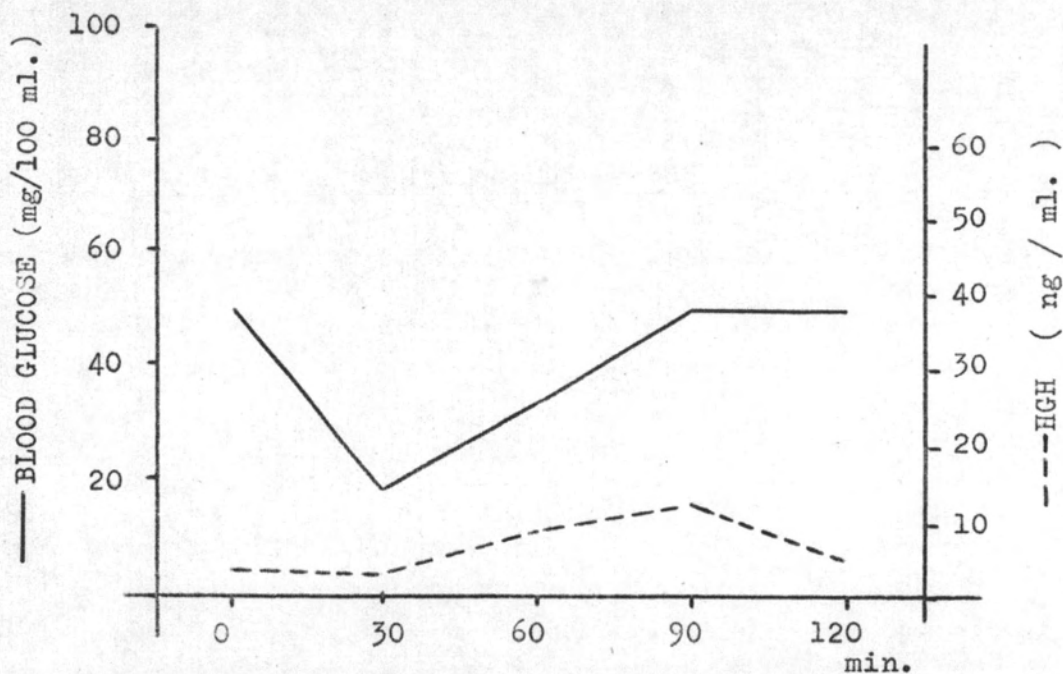


รูปที่ 19 แสดงระดับน้ำตาลกลูโคส และโกรทฮอร์โมนในผู้ป่วย(ชาย) รายที่ 7 (สบ.ก.) อายุ 15 ปี

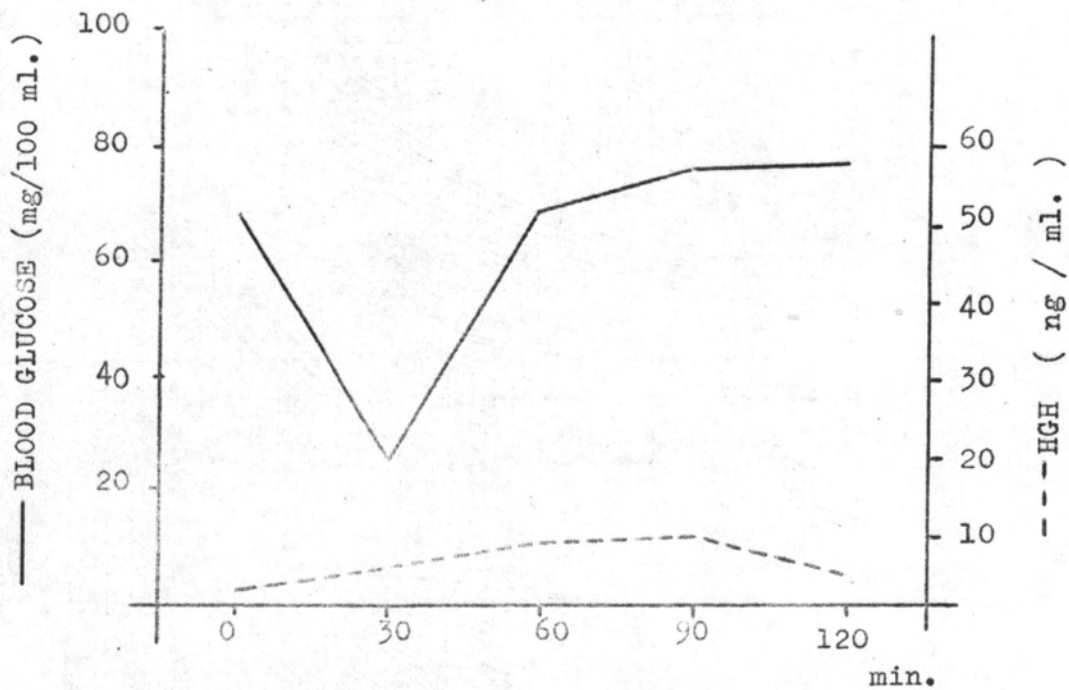


รูปที่ 20 แสดงระดับน้ำตาลกลูโคส และโกรทฮอร์โมนในผู้ป่วย(ชาย) รายที่ 8 (ด.ศ.) อายุ 16 ปี

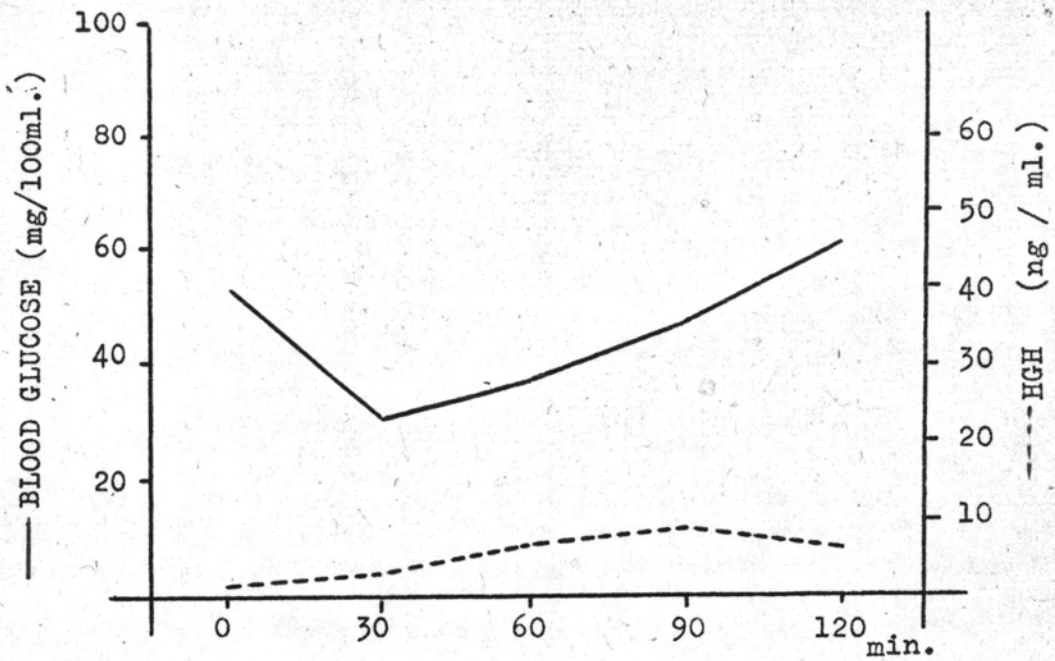
รูปที่ 21-26 แสดงระดับ GH ในกลุ่มที่มี basal level ต่ำ และมี
delayed response



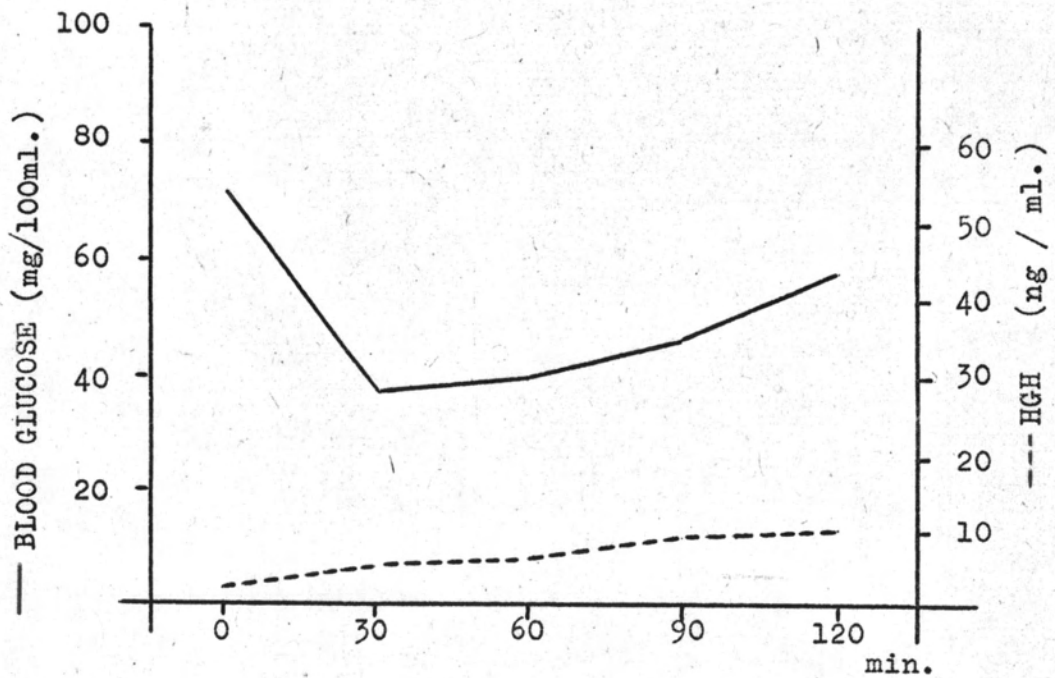
รูปที่ 21 แสดงระดับน้ำตาลกลูโคส และโกรทฮอร์โมนในผู้ป่วย(หญิง) รายที่ 9 (ต.ช.) อายุ 20 ปี ภายหลังจากการฉีดอินซูลิน



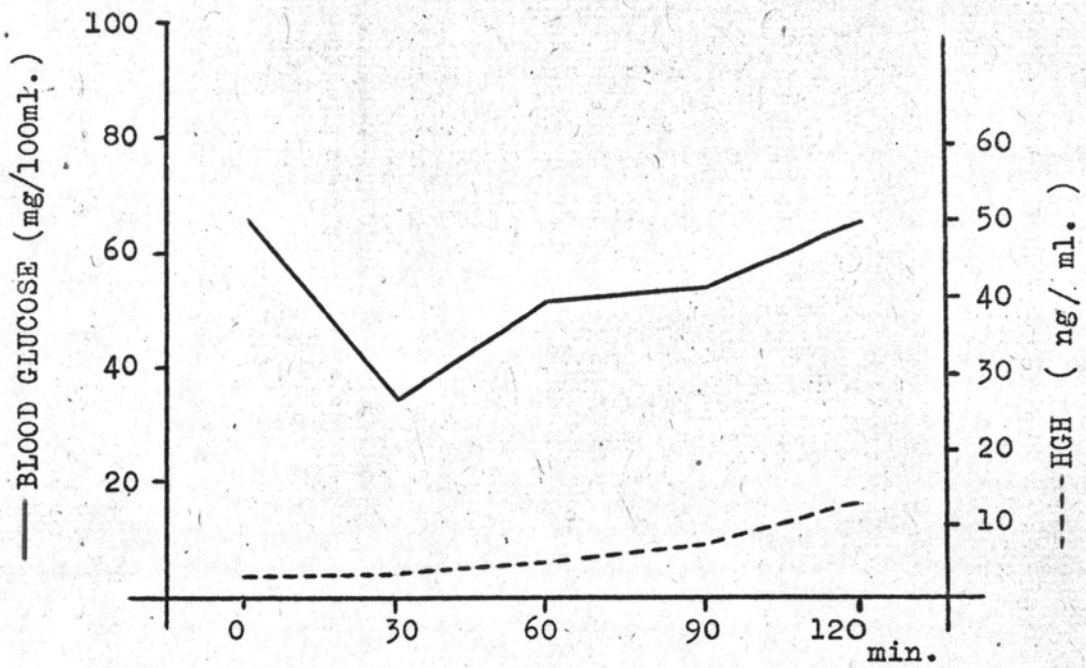
รูปที่ 22 แสดงระดับน้ำตาลกลูโคส และโกรทฮอร์โมนในผู้ป่วย(หญิง) รายที่ 10 (ล.ห.) อายุ 13 ปี ภายหลังจากการฉีดอินซูลิน



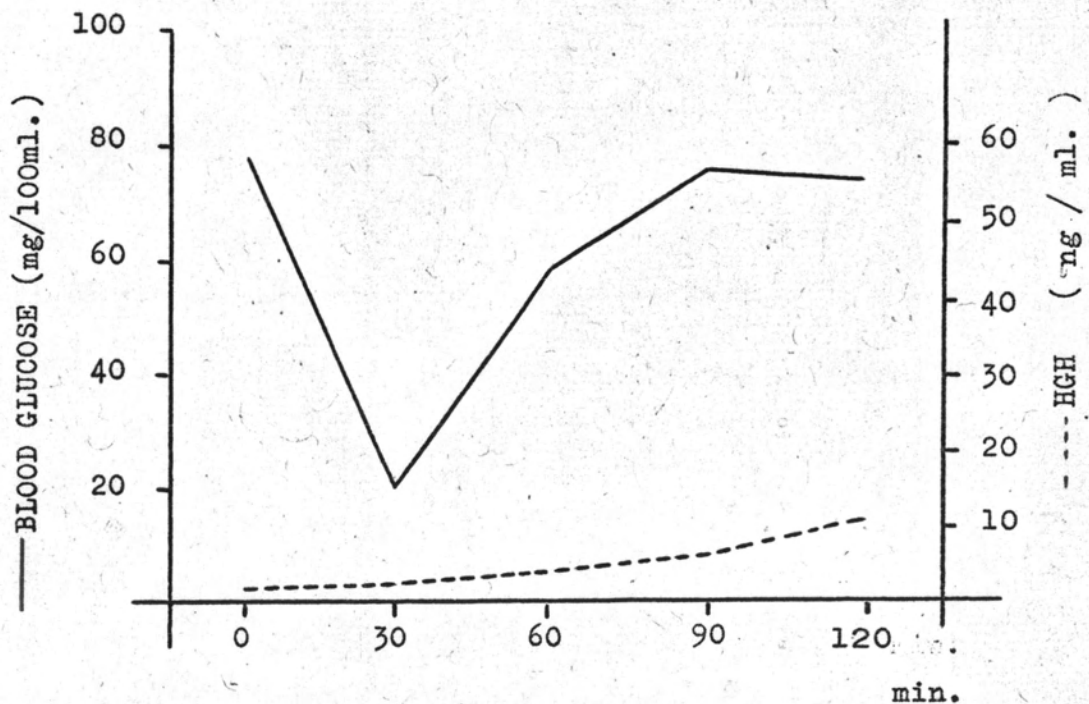
รูปที่ 23 แสดงระดับน้ำตาลกลูโคส และโกรทฮอร์โมนในผู้ป่วย (ชาย) รายที่ 11 (ว.ช.) อายุ 13 ปี ภายหลังการฉีดยูนิลิน



รูปที่ 24 แสดงระดับน้ำตาลกลูโคส และโกรทฮอร์โมนในผู้ป่วย (หญิง) รายที่ 12 (ว.ช.) อายุ 8 ปี ภายหลังการฉีดยูนิลิน

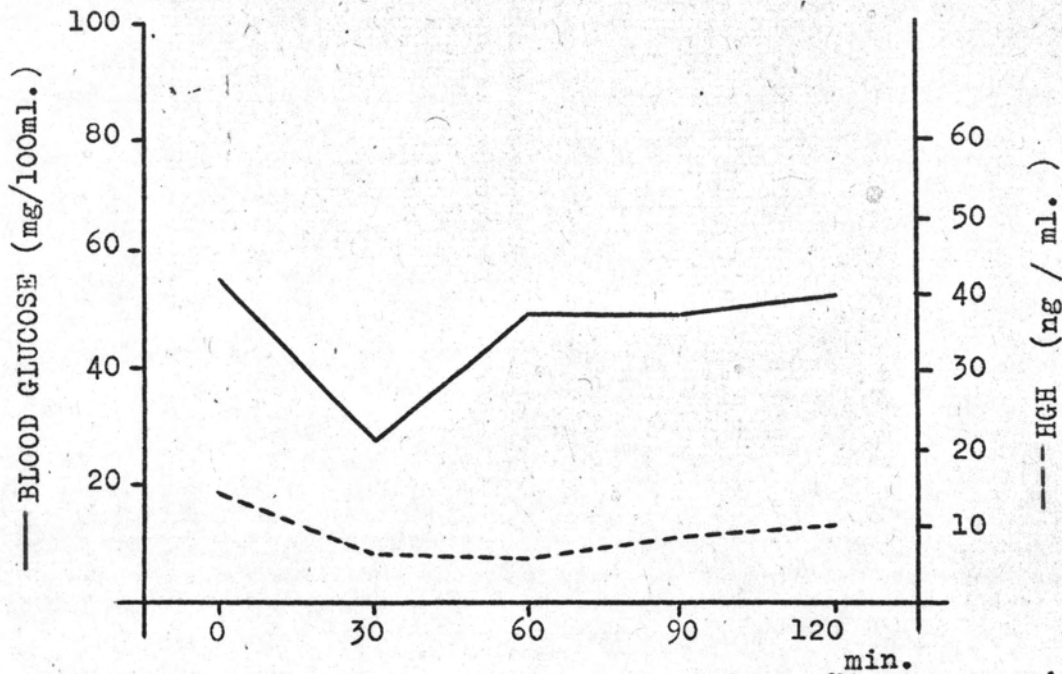


รูปที่ 25 แสดงระดับน้ำตาลกลูโคส และโกรทฮอร์โมนในผู้ป่วย(ชาย)รายที่ 13 (ป.บ.) อายุ 14 ปี ภายหลังจากการฉีดยาอินซูลิน

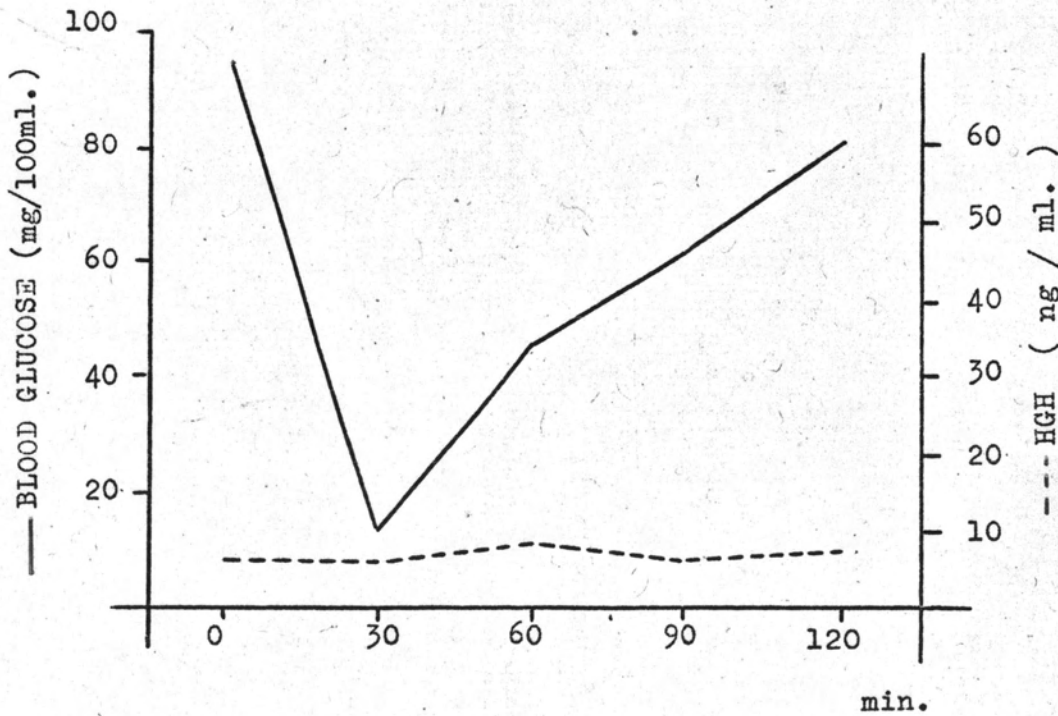


รูปที่ 26 แสดงระดับน้ำตาลกลูโคส และโกรทฮอร์โมนในผู้ป่วย(ชาย)รายที่ 14 (ร.อ.) อายุ 12 ปี ภายหลังจากการฉีดยาอินซูลิน

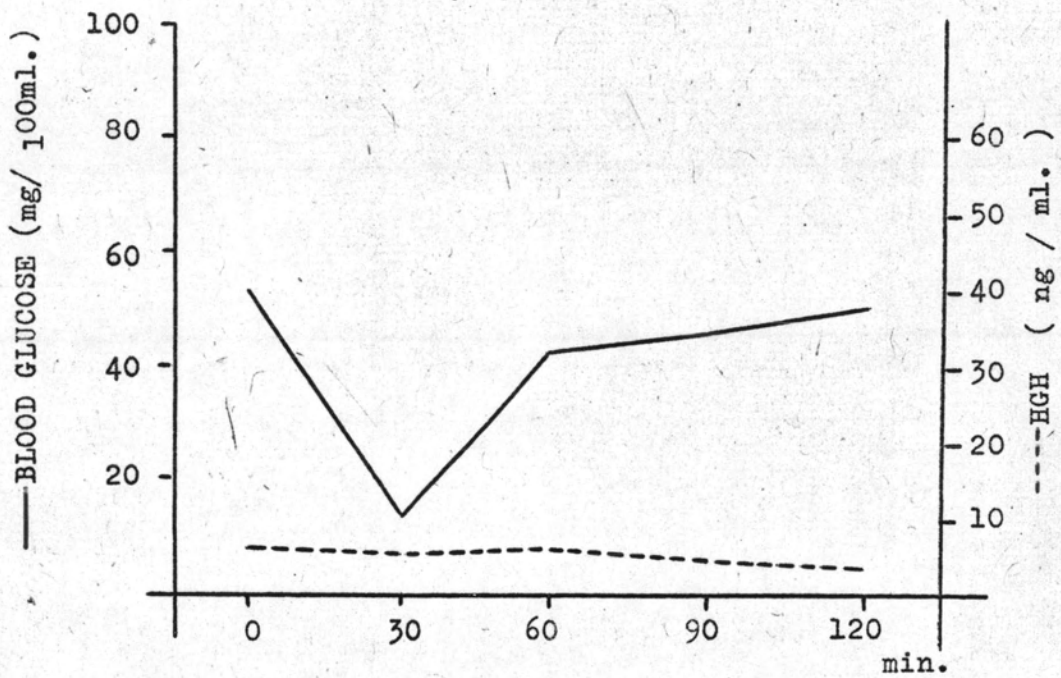
รูปที่ 27-29 แสดงระดับ GH ในกลุ่มที่ไม่มีการตอบสนองต่อการกระตุ้นซึ่งมี
basal level สูง



รูปที่ 27 แสดงระดับน้ำตาลกลูโคส และโกรทฮอร์โมนในผู้ป่วย(หญิง)รายที่ 15 (ส.ว.) อายุ 18 ปี ภายหลังการฉีดอินซูลิน

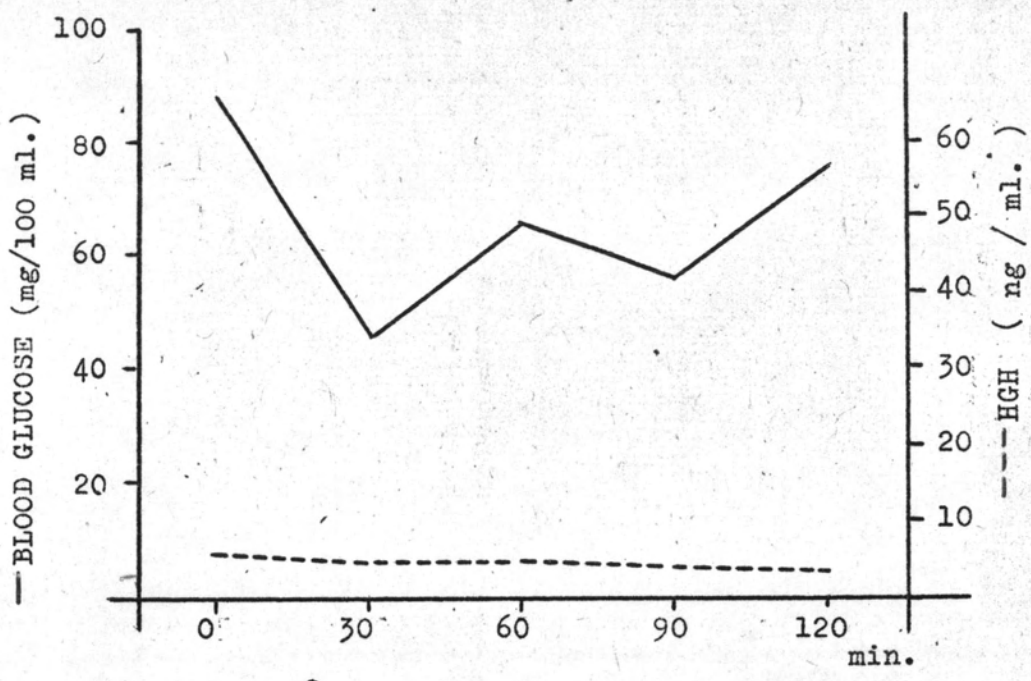


รูปที่ 28 แสดงระดับน้ำตาลกลูโคส และโกรทฮอร์โมนในผู้ป่วย(หญิง)รายที่ 16 (จ.ม.) อายุ 20 ปี ภายหลังการฉีดอินซูลิน

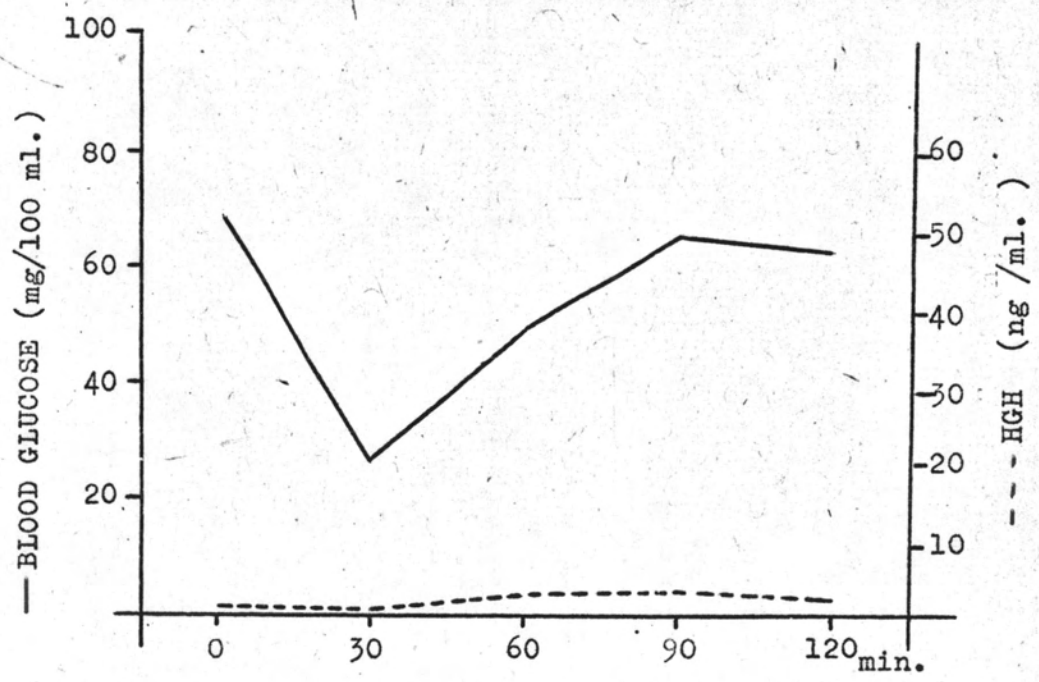


รูปที่ 29 แสดงระดับน้ำตาลกลูโคส และโกรทฮอร์โมนในผู้ป่วย (ชาย) รายที่ 17 (ท.ค.) อายุ 13 ปี ภายหลังจากการฉีดยินซูลิน

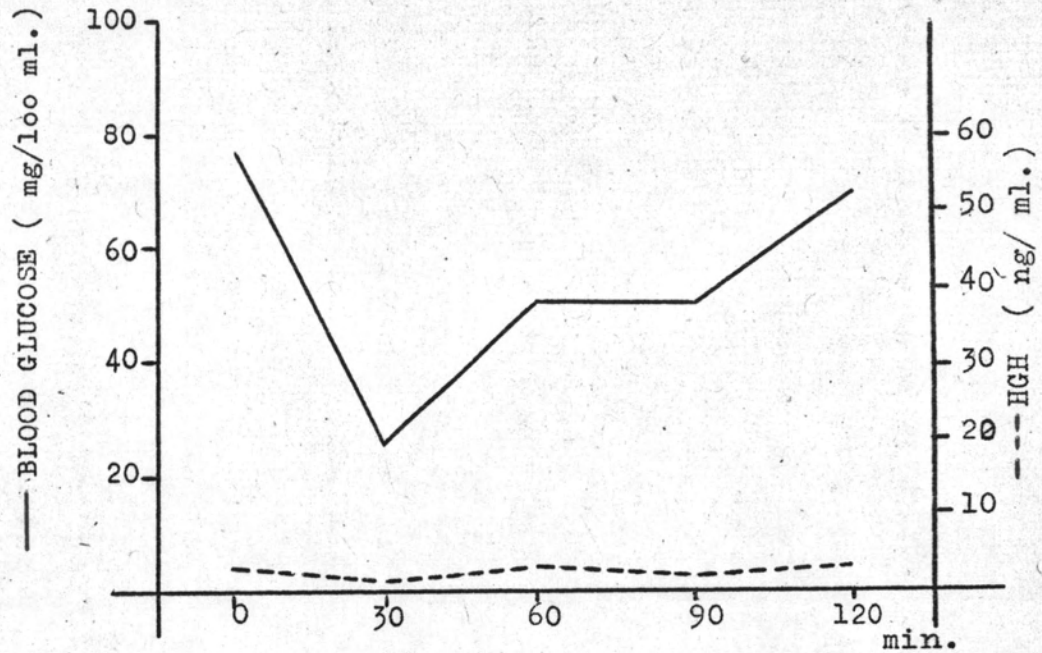
รูปที่ 30-33 แสดงระดับ GH ในกลุ่มที่ไม่มีการตอบสนองต่อการกระตุ้นซึ่งมี
basal level ต่ำ



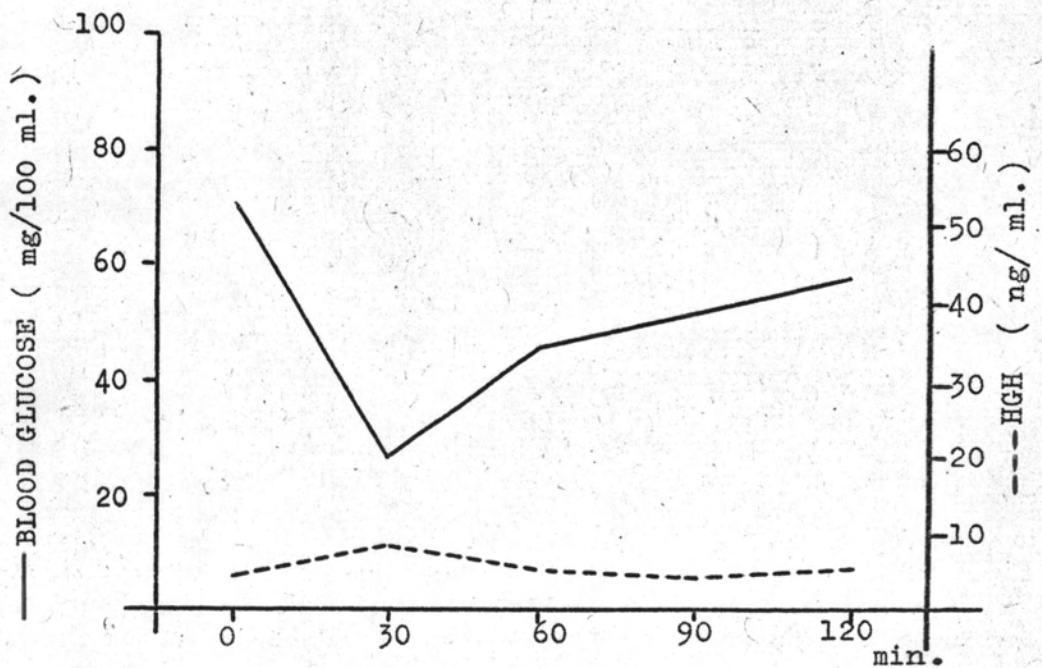
รูปที่ 30 แสดงระดับน้ำตาลกลูโคส และโกรทฮอร์โมนในผู้ป่วย (หญิง) รายที่ 18 (ม.พ.) อายุ 20 ปี ภายหลังจากการฉีดยาอินซูลิน



รูปที่ 31 แสดงระดับน้ำตาลกลูโคส และโกรทฮอร์โมนในผู้ป่วย (ชาย) รายที่ 19 (วช.ช.) อายุ 14 ปี ภายหลังจากการฉีดยาอินซูลิน



รูปที่ 32 แสดงระดับน้ำตาลกลูโคส และโกรทฮอร์โมนในผู้ป่วย (ชาย) รายที่ 20 (ว.ร.ช.) อายุ 11 ปี ภายหลังจากการฉีกรินซูลิน



รูปที่ 33 แสดงระดับน้ำตาลกลูโคส และโกรทฮอร์โมนในผู้ป่วย (ชาย) รายที่ 21 (ส.ม.ว.) อายุ 15 ปี ภายหลังจากการฉีกรินซูลิน

นำค่า GH ที่ได้จากการทดลองไปคำนวณหาความแตกต่างกันในแต่ละกลุ่มโดยใช้ student t test ผลการคำนวณดังแสดงในตารางที่ 8 ตารางที่ 8 ก แสดงผลการเปรียบเทียบเพื่อหาความแตกต่างทางสถิติระหว่างระดับ GH ในคนปกติ กับ คนปกติ

เปรียบเทียบระหว่าง	mean	S.D.	n	p
ค่า basal ต่ำ กับ ค่า basal สูง	$X_1 = 2.76$ $X_2 = 17.98$	$S_1 = 1.17$ $S_2 = 2.16$	$n_1 = 11$ $n_2 = 2$	$p < 0.05$
peak ของค่า basal ต่ำ กับค่า basal ต่ำ	$X_1 = 32.45$ $X_2 = 2.72$	$S_1 = 22.52$ $S_2 = 1.17$	$n_1 = 11$ $n_2 = 11$	$p < 0.05$
peak ของค่า basal สูง กับค่า basal สูง	$X_1 = 30.0$ $X_2 = 17.98$	$S_1 = 4.24$ $S_2 = 2.16$	$n_1 = 2$ $n_2 = 2$	$p < 0.05$

ตารางที่ 8 ข แสดงผลการเปรียบเทียบเพื่อหาความแตกต่างทางสถิติระหว่างระดับ GH ในคนป่วยกับคนป่วย

เปรียบเทียบระหว่าง	mean	S.D.	n	p
ค่า basal ต่ำกับ ค่า basal สูง	$X_1 = 2.89$ $X_2 = 11.22$	$S_1 = 1.24$ $S_2 = 5.56$	$n_1 = 14$ $n_2 = 7$	$p < 0.05$
peak ของค่า basal ต่ำกับค่า basal ต่ำ	$X_1 = 16.39$ $X_2 = 2.89$	$S_1 = 10.54$ $S_2 = 1.24$	$n_1 = 10$ $n_2 = 14$	$p < 0.05$
peak ของค่า basal สูงกับค่า basal สูง	$X_1 = 41.25$ $X_2 = 11.22$	$S_1 = 12.04$ $S_2 = 5.56$	$n_1 = 4$ $n_2 = 7$	$p < 0.05$

ตารางที่ 8 ค. แสดงผลการเปรียบเทียบเพื่อหาความแตกต่างทางสถิติระหว่างระดับ
ในคนปกติกับคนป่วย

เปรียบเทียบระหว่าง	mean	S.D.	n	p
ค่า basal ต่ำกว่า ค่า basal ต่ำ	$X_1 = 2.72$ $X_2 = 2.89$	$S_1 = 1.17$ $S_2 = 1.24$	$n_1 = 11$ $n_2 = 14$	$p > 0.4$ N.S.
ค่า basal สูงกับ ค่า basal สูง	$X_1 = 17.98$ $X_2 = 11.22$	$S_1 = 2.16$ $S_2 = 5.51$	$n_1 = 2$ $n_2 = 7$	$p > 0.1$ N.S.
peak ของค่า basal ต่ำ กับ peak ของค่า basal ต่ำ	$X_1 = 32.45$ $X_2 = 16.39$	$S_1 = 22.52$ $S_2 = 10.54$	$n_1 = 11$ $n_2 = 10$	$p < 0.05$
peak ของค่า basal สูง กับ peak ของค่า basal สูง	$X_1 = 30.0$ $X_2 = 41.25$	$S_1 = 4.24$ $S_2 = 5.56$	$n_1 = 2$ $n_2 = 4$	$p > 0.3$ N.S.

จากการเปรียบเทียบระดับ GH ของกลุ่มต่าง ๆ ในตารางที่ 8 สรุปผลได้
ดังนี้คือ

- ค่า basal level ของ GH ทั้งในคนปกติและคนป่วย พบว่า
 - ค่า basal ต่ำ } ทั้ง 2 กลุ่มนี้มีความแตกต่างกันทางสถิติ
 - ค่า basal สูง }
 - ค่า basal ต่ำในคนปกติไม่แตกต่างจากค่า basal ต่ำในคนป่วย
 - ค่า basal สูงในคนปกติไม่แตกต่างจากค่า basal สูงในคนป่วย
- peak ของ GH ภายหลังการกระตุ้นของค่า basal แต่ละแบบ มีความ
แตกต่างทางสถิติ กับ ค่า basal level ในแต่ละแบบ ทั้งในคนปกติและคนป่วย
- ในกลุ่มที่มีค่า basal ต่ำ peak ของ GH ในคนปกติจะมีค่าสูงกว่า peak
ของ GH ในคนป่วย
- ในกลุ่มที่มีค่า basal สูง peak ของ GH ในคนปกติไม่แตกต่างจาก peak
ของ GH ในคนป่วย

ผลการเปรียบเทียบค่า GH ของคนปกติที่ได้จากการทดลองนี้กับผู้ที่คลอกรายอื่น ๆ ดังแสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 9 แสดงการเปรียบเทียบค่า GH ในคนปกติจากผู้ทดลองอื่น ๆ และจากรายงานนี้ (วัดควยวิธี radioimmunoassay)

ผู้ทดลอง	ค่า GH นก./มล.
1. Greenwood และ Hunter (1964)	10.83 ± 11.6
2. Hunter และ คณะ (1964)	10.90 ± 10.1
3. Hunter และ Rigal (1966)	4.28 ± 7.14
4. Root และ คณะ (1967)	3.7
5. Frohman และ คณะ (1967)	5.3
6. Jackson และ คณะ (1968)	8.6
7. Kaplan และ คณะ (1968)	8.27
8. Morris และ คณะ (1968)	12.1
9. Toccafondi และ คณะ (1970)	2.10 ± 0.2 (S.E.)
10. Schroder และ คณะ (1973)	ค่าต่ำ 2.20 ± 0.1 (S.E.) ค่าสูง 18.70 ± 2.0 (S.E.)
11. ค่าที่ได้จากการทดลองของผู้เขียน	ค่าต่ำ 2.72 ± 1.77 ค่าสูง 17.98 ± 2.16

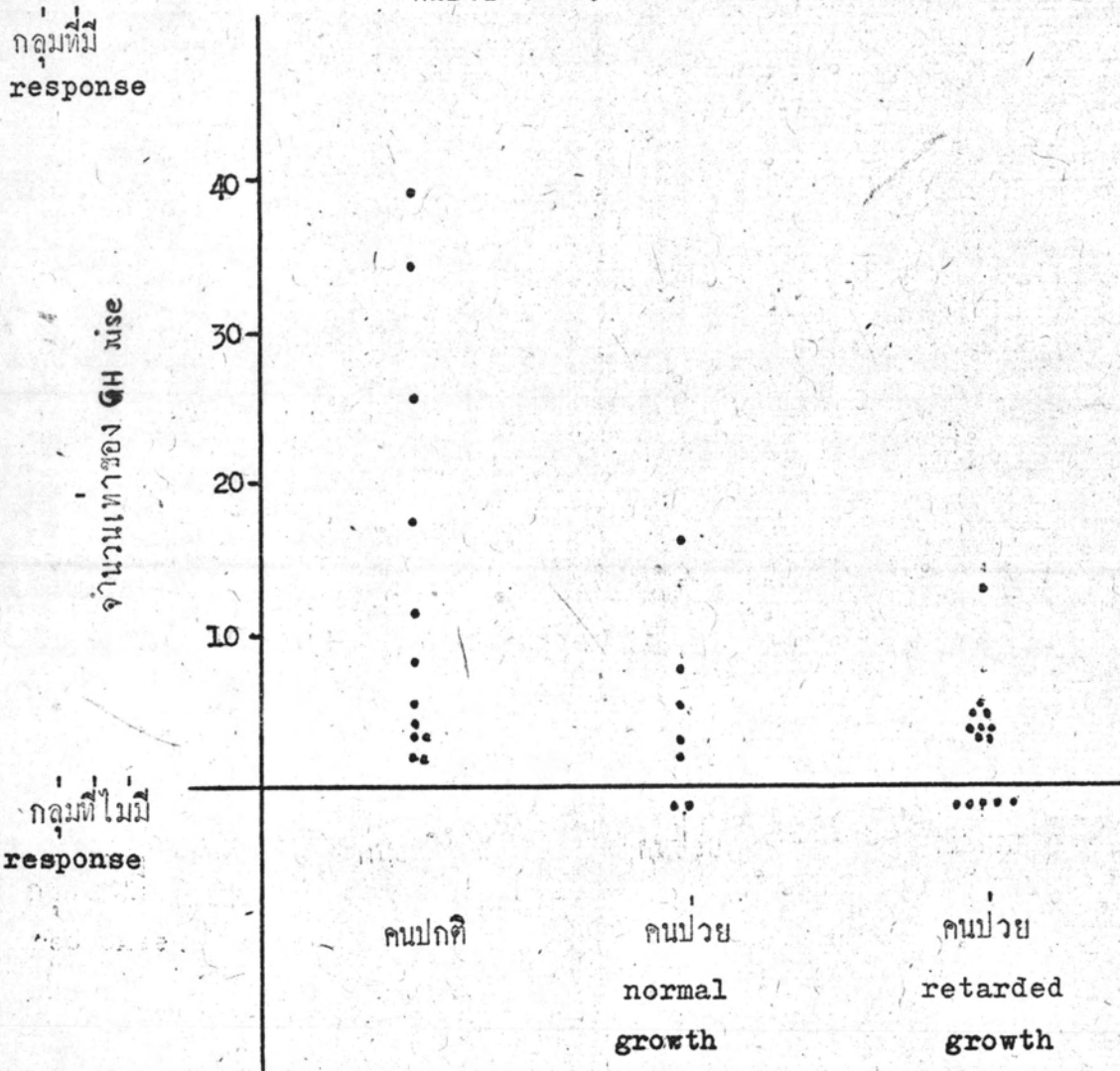
ผลการเปรียบเทียบความสามารถในการสนองในการสนองต่อการกระตุ้นในการหลั่ง GH ในคนปกติและคนป่วย แสดงในรูปที่ 34 และตารางที่ 10 ก และ ข. ตามลำดับ จะเห็นว่าคนปกติมีความสามารถที่จะสนองต่อการกระตุ้นทุกคน โดยมีความสามารถหลั่ง GH ได้สูงขึ้นจากระดับ basal ตั้งแต่ 1.6-39.09 เท่า แต่คนป่วย 21 คน มี 14 คน ที่มีความสามารถสนองตอบได้ โดยสามารถหลั่ง GH ได้สูงขึ้นจากระดับ basal ตั้งแต่ 3.43-13.24 เท่า ในคนป่วยที่มีการเจริญเติบโตช้า และตั้งแต่ 2.1-16.75 เท่า ในคนป่วยที่มีการเจริญเติบโตเป็นปกติ

แสดงว่า คนป่วยทั้งใน 2 กลุ่ม มีความสามารถในการสนองตอบที่มีความโน้มเอียงว่าต่ำกว่าคนปกติ

ตารางที่ 10 ก แสดงการเปรียบเทียบความสามารถในการสนองตอบของการหลั่งโกรทฮอร์โมน ต่อการกระตุ้นด้วยอินซูลินในคนปกติ

ผู้ถูกทดลองรายที่	basal level ของ GH ng/ml	GH rise (peak) ng/ml	จำนวนเท่า (folds)
1.	5.1	20.0	3.92
2.	0.8	27.5	34.4
3.	2.16	37.5	17.3
4.	1.1	43.0	39.09
5.	3.4	39.0	11.4
6.	3.36	18.0	5.35
7.	4.7	15.5	3.08
8.	5.4	17.0	3.14
9.	2.24	18.0	8.03
10.	1.1	28.0	25.5
11.	16.45	27.0	1.6
12.	19.5	33.0	1.6

รูปที่ 34 แสดงการเปรียบเทียบความสามารถในการสนองตอบของการหลัง
 โกรทฮอร์โมนต่อการกระตุ้นด้วยการฉีดอินซูลิน ในคนปกติ และ
 คนป่วยธาลัสซีเมีย



ตารางที่ 10 ข แสดงการ เปรียบเทียบความสามารถในการสนองตอบของการหลั่ง โกรธฮอร์โมน ต่อการกระตุ้นด้วยอินซูลินในคนป่วยชาดัสซีเมียที่มีการสนองตอบ

ผู้ป่วยรายที่	basal level ของ GH (ng/ml)	GH rise (peak) GH (ng/ml)	จำนวนเท่า (folds)
<u>retarded group</u>			
1. (ช.ส.)	3.3	43.7	13.4
2. (ถ.ศ.)	4.2	23.0	5.47
3. (ล.ท.)	2.2	9.0	4.09
4. (ว.ช.)	1.76	9.0	5.10
5. (ว.ล.ช.)	2.6	10.5	4.04
6. (ป.บ.)	3.2	13.0	4.06
7. (ร.อ.)	2.15	11.0	5.11
8. (ช.ก.)	14.5	52.0	3.58
9. (ส.ค.)	7.0	24.0	3.43
<u>normal group</u>			
1. (ส.พ.)	1.0	16.75	16.75
2. (ส.บ.ค.)	2.1	15.5	7.4
3. (ส.ช.)	3.7	12.0	3.24
4. (จ.ช.)	21.0	44.0	2.1
5. (ส.ค.ว.)	8.4	45.0	5.35

ผลการตรวจร่างกาย และผลการตรวจทางห้องทดลองในผู้ป่วย แสดงในตารางที่ 11 และ 12 ตามลำดับ

ตารางที่ 11 แสดงผลการตรวจร่างกายในผู้ป่วยจำนวน 21 คน

ผู้ป่วย รายที่	อายุ (ปี)	เพศ	ชนิดของ ธาลัสซีเมีย	การเจริญเติบโตของร่างกาย			
				น้ำหนัก(กก.) /สูง (ซม.)	อายุกระดูก (ปี)	sex character	สรุปผล
1.(ช.ก.)	12	หญิง	β Thal major	20 / 119	10	hypo(1)	undernormal
2.(จ.ช.)	17	หญิง	α thalHbH	48 / 160	17	normal	normal
3.(ส.ค.)	9	ชาย	β E Thal	23 / 124	8	-	undernormal
4.(สค.ว)	17	หญิง	α thalHbH	45 / 158	17	normal	normal
5.(ส.พ.)	14	ชาย	β E Thal	39 / 153.5	14	hypo(3)	normal
6.(ช.ส.)	19	ชาย	β E Thal	20 / 128	11	hypo(1)	undernormal
7.(ส.บ.ค)	15	ชาย	α Thal HbH	24 / 142	15	hypo(1)	normal
8.(ถ.ศ.)	16	ชาย	β E Thal	37 / 154	13	hypo(3)	undernormal
9.(ส.ช.)	20	หญิง	β E Thal	40 / 158	20	normal	normal
10.(ล.ห.)	13	หญิง	β E Thal	22 / 115	10	hypo(1)	undernormal
11.(ว.ย.ช)	13	ชาย	β E Thal	31 / 134	10	hypo(1)	undernormal
12.(ว.ล.ช)	8	หญิง	β E Thal	20 / 120	7	-	undernormal
13.(ป.บ.)	14	ชาย	β E Thal	25 / 136	11	hypo(1)	undernormal
14.(ร.อ.)	12	ชาย	β E Thal	20 / 120	7	hypo(1)	undernormal
15.(ส.ว.)	18	หญิง	β E Thal	36 / 153	10	hypo(2)	undernormal
16.(จ.ม.)	20	หญิง	β E Thal	44 / 159	20	normal	normal
17.(ท.ค.)	13	ชาย	β E Thal	20 / 115	7	hypo(1)	undernormal
18.(ม.พ.)	20	หญิง	α thalHbH	58 / 155	20	normal	normal
19.(ว.ช.ช)	14	ชาย	β E Thal	35 / 147	12	hypo(1)	undernormal
20.(ว.ร.ช)	11	ชาย	β E Thal	29 / 136	9	hypo(1)	undernormal
21.(สม.ว)	15	ชาย	β E Thal	23 / 126	10	hypo(1)	undernormal

bone age: เทียบจาก Greulich, W.W. และ Pyle, S.I. (1959)

sexual character: male เทียบจาก Tanner, J.M. (1969)

female เทียบจาก Reynolds, E.L. และ Wines, J.V.
(1948)

ตารางที่ 12 แสดงผลการตรวจทางห้องทดลองในผู้ป่วย จำนวน 21 คน

ผู้ป่วย รายที่	serum Fe / UIBC	degree of hemochromatosis					degree of anemia Hb level gm %
		hyperpig- mentation	อายุ (ปี) ที่ ค้น พบ	ภาวะ โลหิต เหล็ก	B.S.P. (%)	diabetes mellitus	
1.(ช.ภ.)	547 / 0	severe	1 ปี	บ่อย	10.0	abnormal	4-5
2.(จ.ช.)	64 / 204	no	6 ปี	ไม่	4.0	-	6.5
3.(ส.ค.)	118 / 86	no	-	บ่อย	-	-	4.0
4.(ส.ค.ว)	160 / 84	no	5 ปี	ไม่	3.0	normal	9.0
5.(ส.พ.)	194 / 84	no	10 ปี	ไม่	3.0	normal	6.0
6.(ช.ส.)	556 / 202	severe	4 ปี	ไม่	10.4	normal	6.0
7.(ส.บ.ค)	136 / 190	no	-	ไม่เลย	2.5	-	6.0
8.(ถ.ศ.)	119 / 111	no	-	ไม่เลย	5.0	normal	7.6
9.(ส.ช.)	284 / 165	no	16 ปี	ไม่	2.0	normal	5.0
10.(ล.ห.)	184 / 109	moderate	-	ไม่เลย	-	normal	5.0
11.(ว.ช)	102 / 192	no	6 ปี	ไม่	3.0	normal	6.5
12.(ว.ล.ช)	190 / 162	moderate	3 ปี	ไม่บ่อย	-	-	7.0
13.(ป.บ.)	42 / 251	no	-	ไม่เลย	1.8	normal	4-5
14.(ร.อ.)	127 / 218	no	-	ไม่เลย	4.0	normal	4.0
15.(ส.ว.)	220 / 90	moderate	5 ปี	ไม่	17.3	normal	6.8
16.(จ.ม.)	140 / 74	no	-	ไม่เลย	-	-	6.0
17.(ท.ค.)	150 / 91	no	-	ไม่เลย	4.0	normal	6.0
18.(ม.พ.)	123 / 97	no	-	ไม่เลย	5.0	normal	9.7
19.(ว.ช.ช)	42 / 188	no	-	ไม่เลย	-	normal	4-5
20.(ว.ร.ช)	112 / 159	no	-	ไม่เลย	2.5	normal	5.5
21.(สม.ว)	86 / 163	no	3 ปี	ไม่	2.3	-	5.0

หมายเหตุ ค่า serum Fe ค่าปกติในชาย $118 \pm 35(83-153) \mu\text{g}/100 \text{ ml}$
หญิง $103 \pm 35(68-138) \mu\text{g}/100 \text{ ml}$

ผลของหน่วยโลหิตวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ รพ.ศิริราช

ค่า UIBC (unsaturated iron binding capacity)

ค่าปกติในชาย 220-260 ในหญิง 235-275

ผลของหน่วยโลหิตวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ รพ.ศิริราช

นำผลที่ได้จากการทดลองมาหาความสัมพันธ์กับผลจากการตรวจร่างกายผู้ป่วย
 ผลดังแสดงในตารางที่ 13ก และ 13ข ตามลำดับ
 ตารางที่ 13ก แสดงความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของโรคธาลัสซีเมีย, ปริมาณ GH rise
 (เทา) และ degree of anemia กับการเจริญเติบโตของผู้ป่วย

ผู้ป่วยรายที่	ชนิดของthal	GH rise (เทา)	hemochromato- sis (serum iron and hy- perpigmen- tation	degree of anemia
<u>normal</u> <u>development</u>				
1. (ส.พ.)	β E	16.75	no	severe
2. (ส.บ.ค)	α HbH	7.4	no	severe
3. (ส.ช.)	β E	3.24	no	severe
4. (จ.ช.)	α HbH	2.1	no	severe
5. (สค.ว)	α HbH	5.35	no	mild
6. (จ.ม.)	β E	N.R.	no	severe
7. (ม.พ.)	α HbH	N.R.	no	mild
<u>retarded</u> <u>growth</u>				
1. (ข.ส.)	β E	13.24	severe	severe
2. (ถ.ศ.)	β E	5.47	no	severe
3. (ล.ห.)	β E	4.09	moderate	severe
4. (ว.ช.ช)	β E	5.1	no	severe
5. (วล.ช)	β E	4.04	moderate	severe
6. (ป.ล.)	β E	4.06	no	severe
7. (ร.อ.)	β E	5.11	no	severe
8. (ช.ก.)	β thal major	3.58	severe	severe
9. (ส.ค.)	β E	3.43	no	severe
10. (ส.ว.)	β E	N.R.	moderate	severe
11. (ท.ค.)	β E	N.R.	no	severe
12. (ว.ช.ช)	β E	N.R.	no	severe
13. (ว.ร.ช)	β E	N.R.	no	severe
14. (สม.ว)	β E	N.R.	no	severe

N.R. (no response)

ตารางที่ 13 ข สรุปผลการหาความสัมพันธ์จากตารางที่ 13 ก

ผู้ป่วย 21 คน	GH rise		ชนิดของ .thal		hemochromatosis		anemia		
	response	no response	β .thal major	δ .thal HbH	severe	moderate	no severe	mild	
normal development 7 คน	5	2	3	4	0	0	7	5	2
(%)	71.43	28.57	42.86	57.14	-	-	100	71.43	28.57
retarded growth 14 คน	9	5	14	0	2	3	9	14	0
(%)	64.3	35.7	100	-	14.3	21.4	64.3	100	-

7. การหา percentage recovery

ทำการหา percentage recovery เพื่อดูประสิทธิภาพของวิธีการทดลองว่า มีความถูกต้องสูงเพียงใด ทำการทดลองตามวิธีทดลองใน ข้อ 3.8 (หน้า 40) โดยเติมสารละลายมาตรฐานของ GH ปริมาณต่าง ๆ ลงใน pooled serum ซึ่งทราบ ปริมาณ GH ที่แน่นอน ผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 14

ตารางที่ 14 แสดง percentage recovery ของการทดลอง

ปริมาณ GH เติม หรือที่เติมลงไป นก./มล.	ปริมาณที่ วัดได้ นก./มล.	ปริมาณที่ recover นก./มล.	% recovery	% recovery เฉลี่ย	± S.D.	± S.E.
pooled serum	2.18					
เติม 0.5	2.65	0.47	94	92.0	11.1	5.55
	2.60	0.42	84			
	2.70	0.52	104			
	2.55	0.37	74			
	2.70	0.52	104			
เติม 1.0	3.20	1.12	112	101.0	20.7	10.35
	3.10	1.02	102			
	3.45	1.27	127			
	2.90	0.72	72			
	3.1	0.92	92			
เติม 2.0	3.90	1.72	86	104.0	22.4	11.2
	4.80	2.62	131			
	4.60	2.42	121			
	3.80	1.62	81			
	4.20	2.02	101			



8. ผลการศึกษาลักษณะและคุณสมบัติของโกรธอร์โมน ภายหลังจาก label ด้วย iodine แล้วเป็นเวลาต่างๆกัน

ทำการทดลองตามวิธีทดลองข้อ 4 (หน้า 41) โดยแบ่งการศึกษาเป็น 2 ขั้นตอน คือ

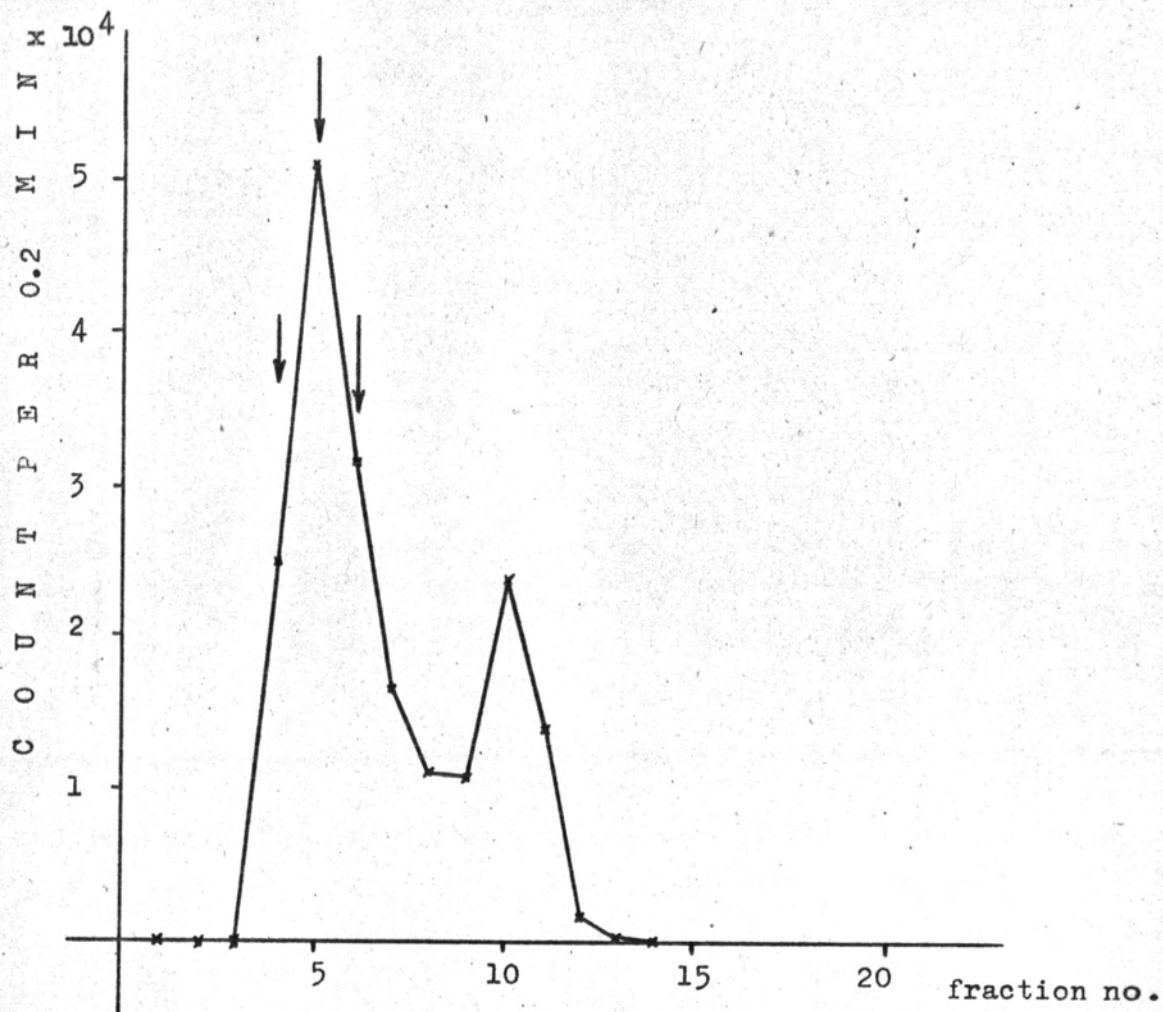
- ก. ศึกษาความบริสุทธิ์ของ 125 I-HGH ด้วย chromatography 3แบบ คือ column ; paper และ thin layer chromatography โดยการศึกษาอาทิตย์ละครั้ง เริ่มตั้งแต่หลัง label ได้ 1 อาทิตย์ จนถึง 6 อาทิตย์
- ข. หาเปอร์เซ็นต์ของการรวมตัวระหว่างแอนติบอดีกับ 125 I-HGH โดยเอา protein (125 I-HGH) fraction ต่างๆที่เก็บแยกส่วนได้จากการผ่าน sephadex G - 50 column (ตามรูปที่ 35) มาทำการศึกษาเพื่อเปรียบเทียบผลระหว่างพวกที่ไม่ได้ทำให้บริสุทธิ์ก่อน กับพวกที่ทำให้บริสุทธิ์ด้วยการผ่าน sephadex G-100 column อีกครั้งหนึ่ง เพื่อจะดูความเปลี่ยนแปลงของ 125 I-HGH ซึ่งเก็บไว้ที่ 4 ชั่วโมง เป็นเวลานาน โดยทำการศึกษาอาทิตย์ละครั้งเริ่มตั้งแต่หลัง label ได้ 1 อาทิตย์ จนถึง 6 อาทิตย์

ผลการทำ column chromatography ดังแสดงในรูปที่ 36 ถึง 41

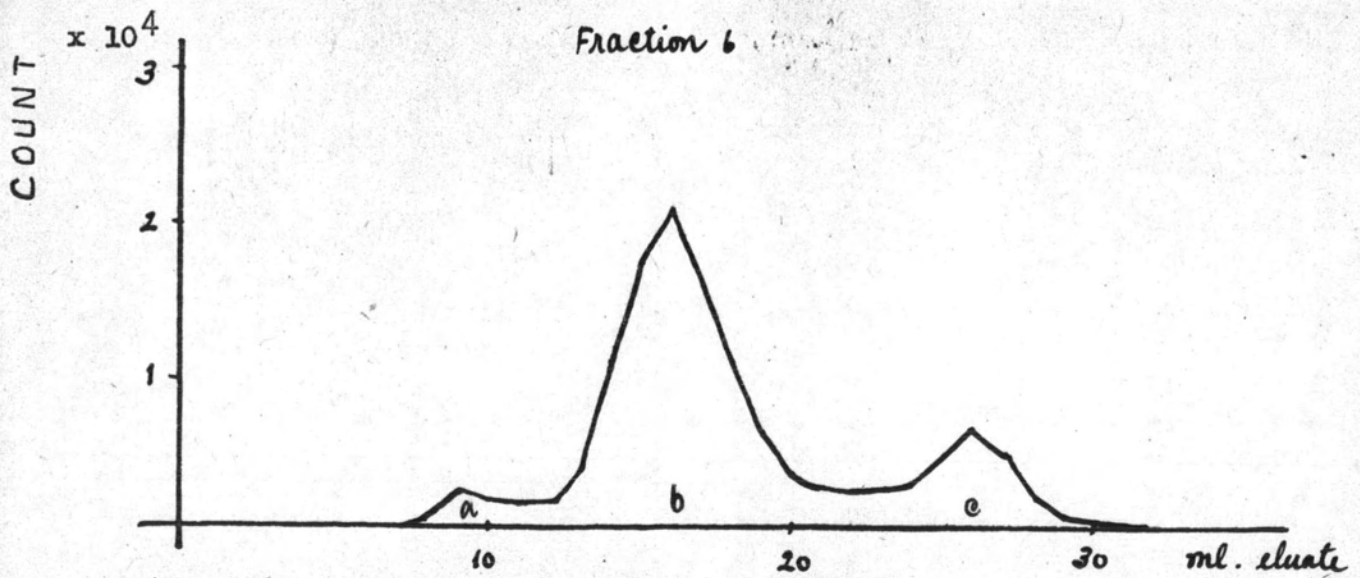
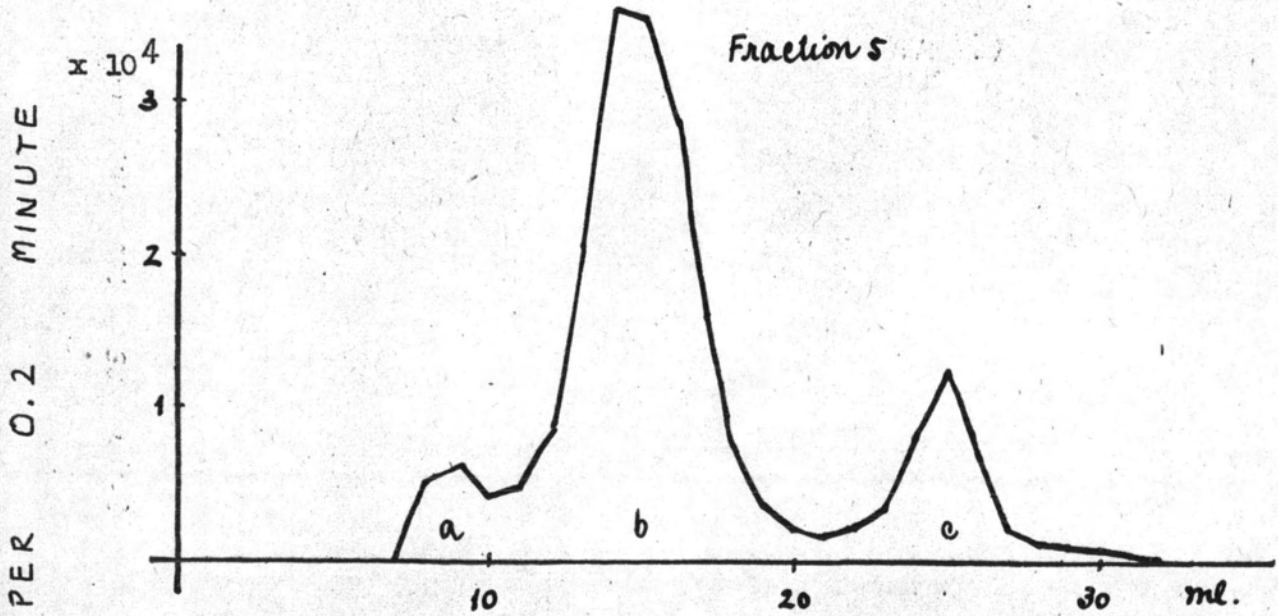
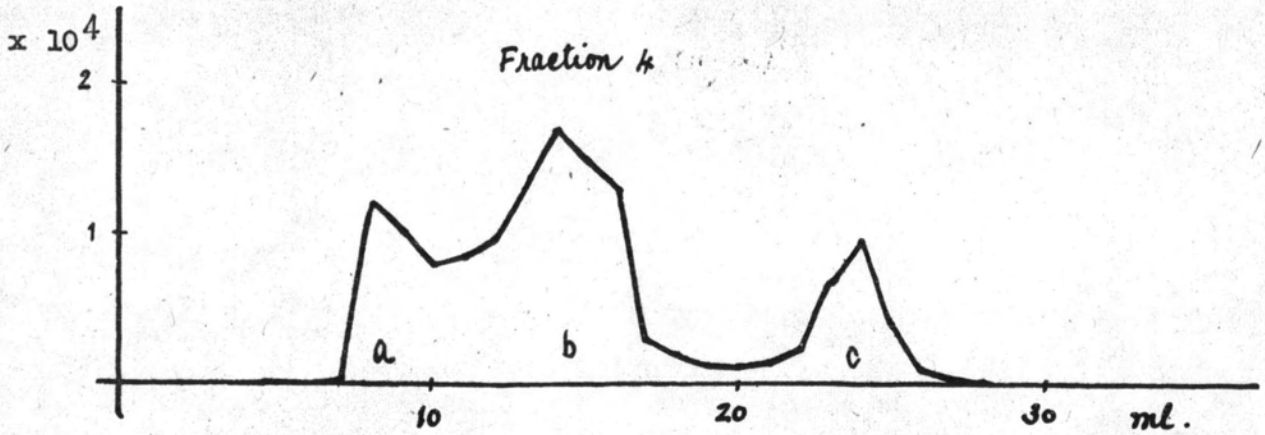
paper chromatography ดังแสดงในรูปที่ 42 ถึง 47

thin layer chromatography ดังแสดงในรูปที่ 48 ถึง 49

ผลการหาเปอร์เซ็นต์การรวมตัว ดังแสดงในตารางที่ 15

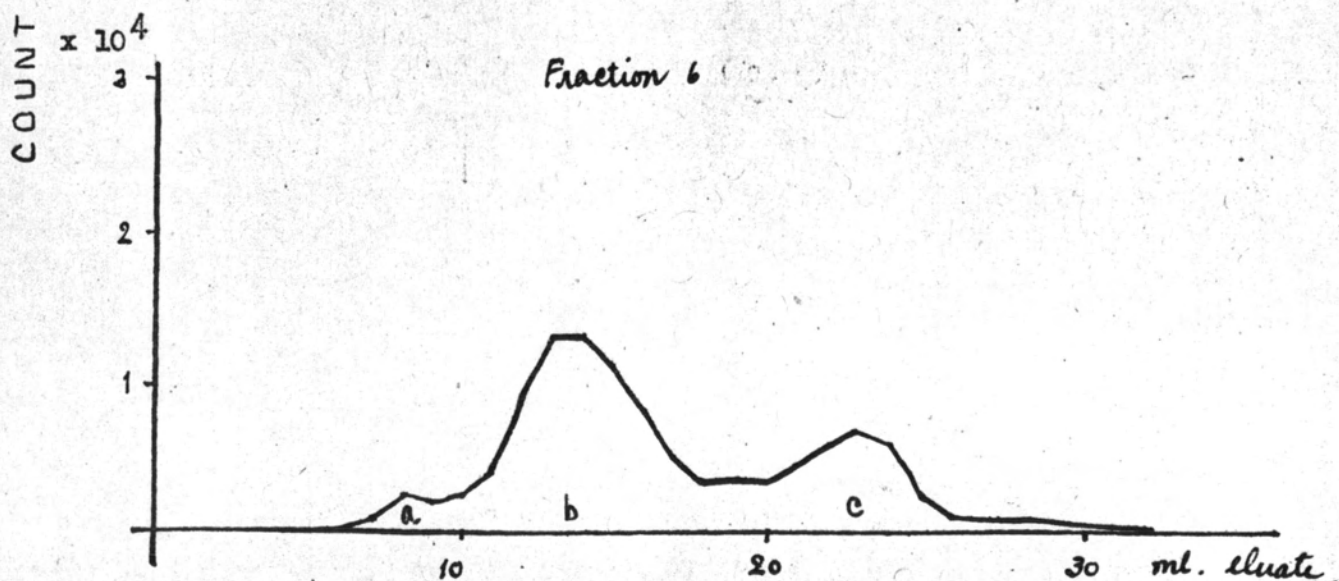
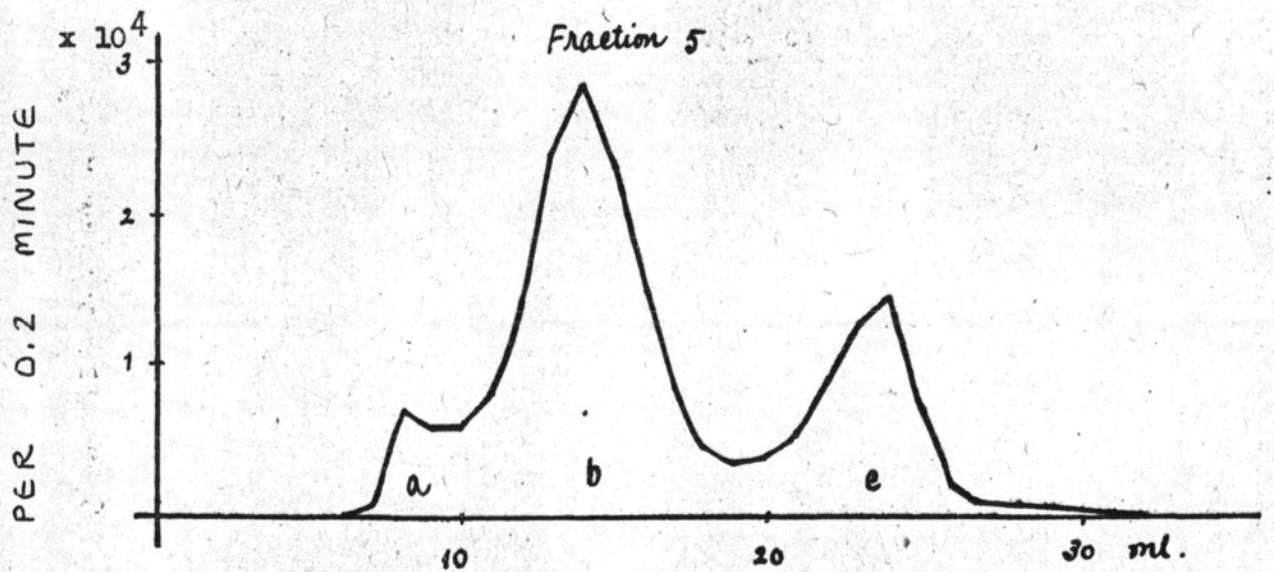
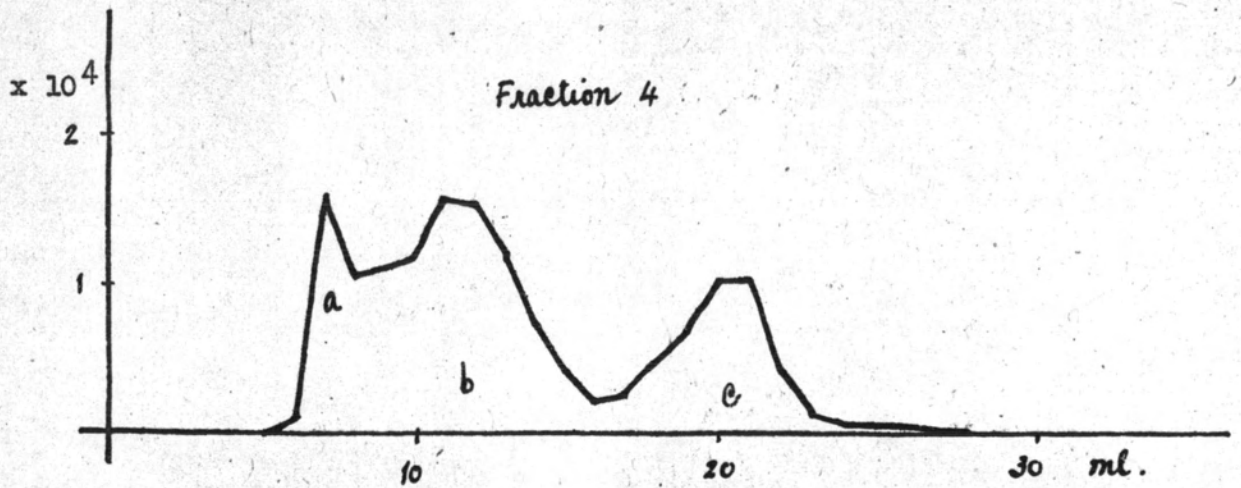


รูปที่ 35 แสดงการ iodinate GHG ครั้งที่ 5 และทำให้บริสุทธิ์ด้วย โดยการผ่าน sephadex G-50 column protein(¹²⁵I-HGH) peak จะออกมาใน fraction 4-7 ส่วน salt (iodide) peak จะออกมาใน fraction ที่ 9-11



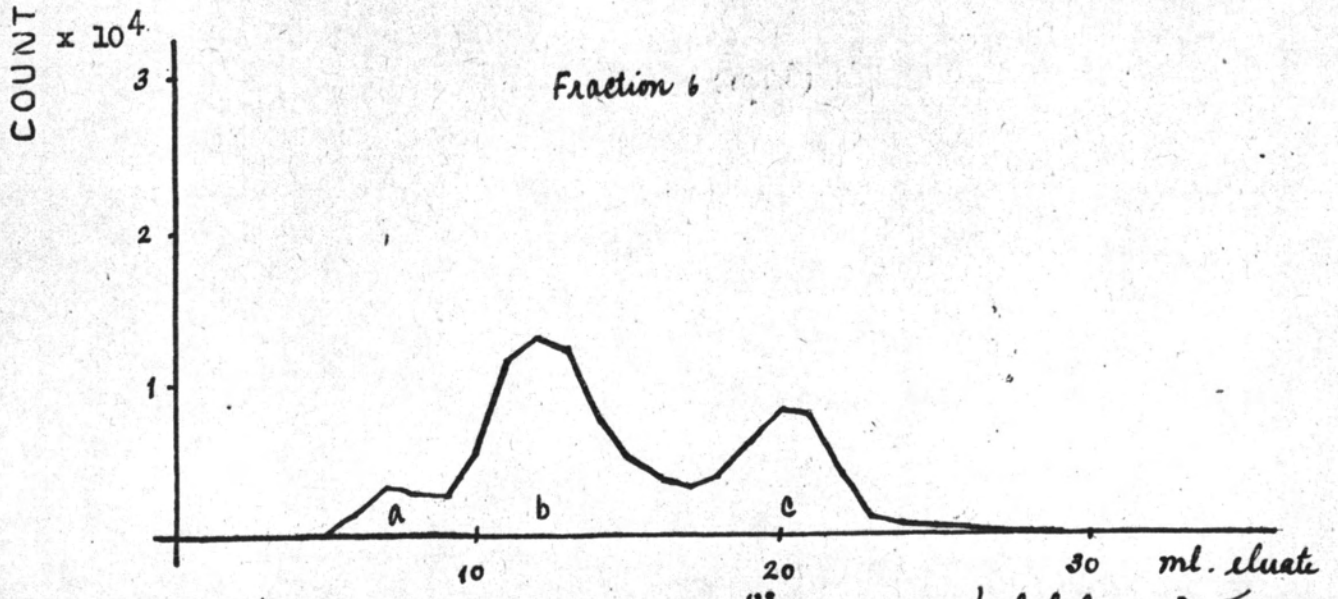
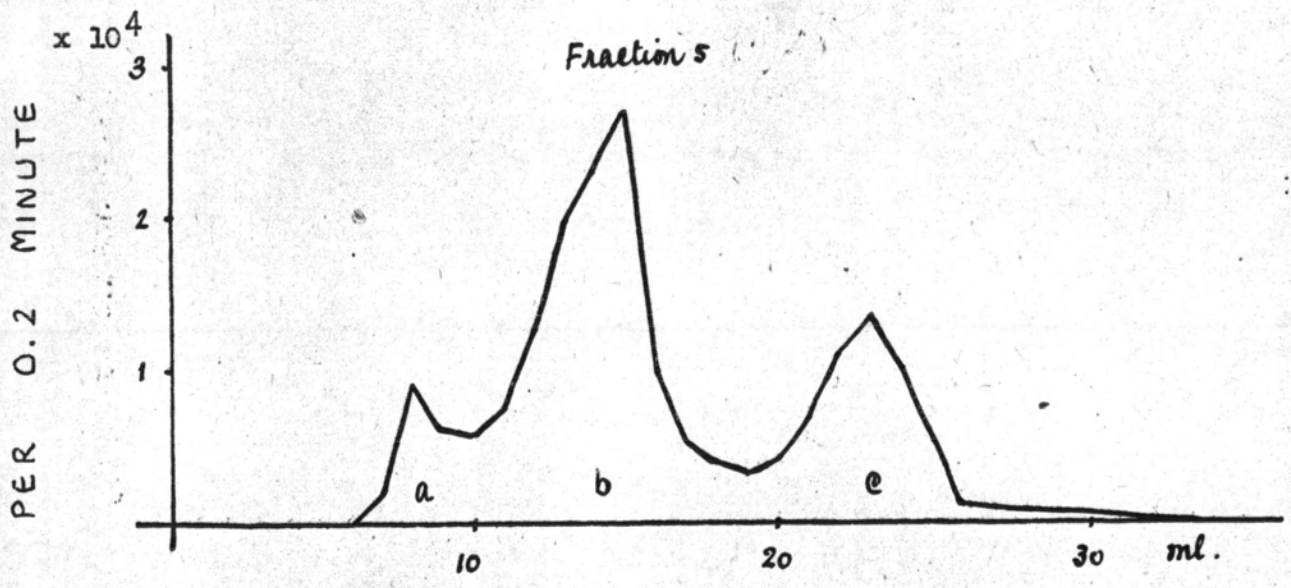
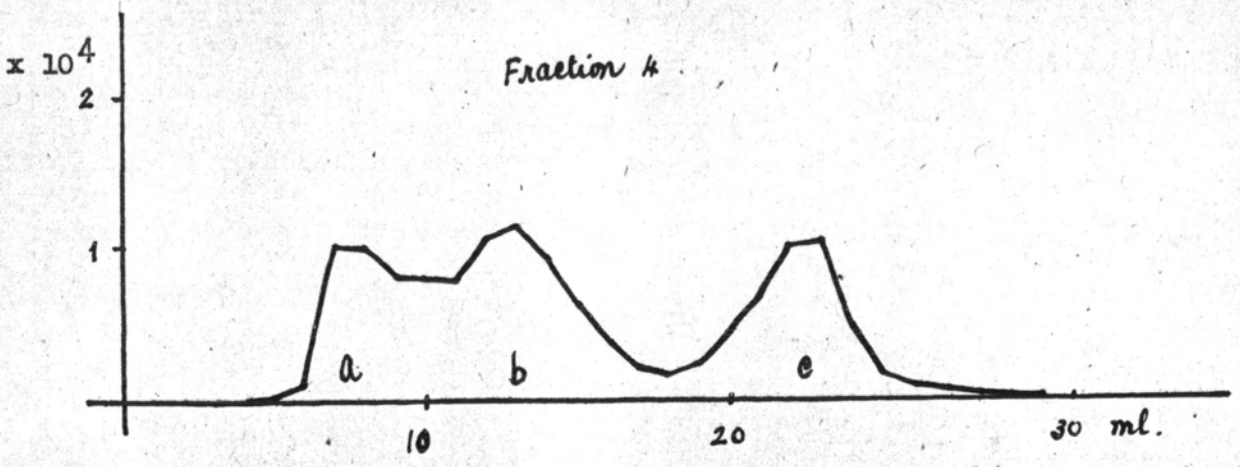
รูปที่ 36 แสดงการวัดความ Column Chromatography ของ ^{125}I -HGH. หมายเหตุ label 1 อยู่นอก

รูปที่ 36 แสดงความบริสุทธิ์ของ $I - \text{HGH}$ fraction ต่างๆ
 ภายหลังจากการ label ได้ 1 อาทิตย์ จะเห็นว่า แต่ละ fraction เมื่อนำมาผ่าน
 column ของ sephadex G-100 จะแยกออกเป็น 3 peak คือ peak a เป็น
 peak ของ aggregated form ของ $I - \text{HGH}$ (Schwartz และ Batt,
 1973) ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่า $I - \text{HGH}$ จึงออกมาจากคอลัมน์ก่อน peak b
 ซึ่งก็คือ peak ของ $I - \text{HGH}$ และ peak c เป็น salt (iodide) peak
fraction 4 ซึ่งเป็นส่วนหน้าของ protein peak จะมี
 peak a และ peak c มากที่สุด เมื่อเทียบกับ peak b ส่วน fraction 5
 ซึ่งเป็นยอดของ protein peak จะได้ peak b ซึ่งมี radioactivity
 สูงสุด ส่วน peak a และ peak c มีน้อยกว่า fraction 4 เมื่อเทียบกับ
 peak b fraction 6 ซึ่งเป็นส่วนหลังของ protein peak จะได้ peak b
 มี radioactivity ต่ำกว่า fraction 5 เล็กน้อย ขนาดของ peak a และ
 c ก็ใกล้เคียงกับของ fraction 5 เมื่อเทียบกับ peak b



รูปที่ 37 แสดงการวิเคราะห์ Column Chromatography ของ ^{125}I -HGH ภายหลัง label 2 อาทิตย์

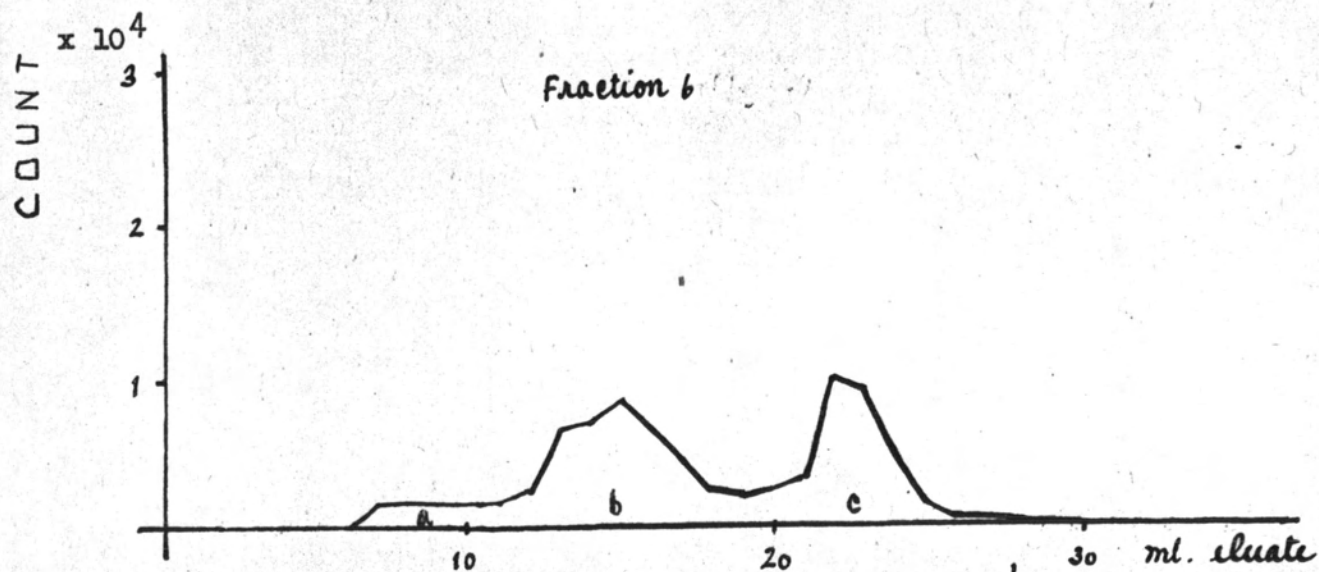
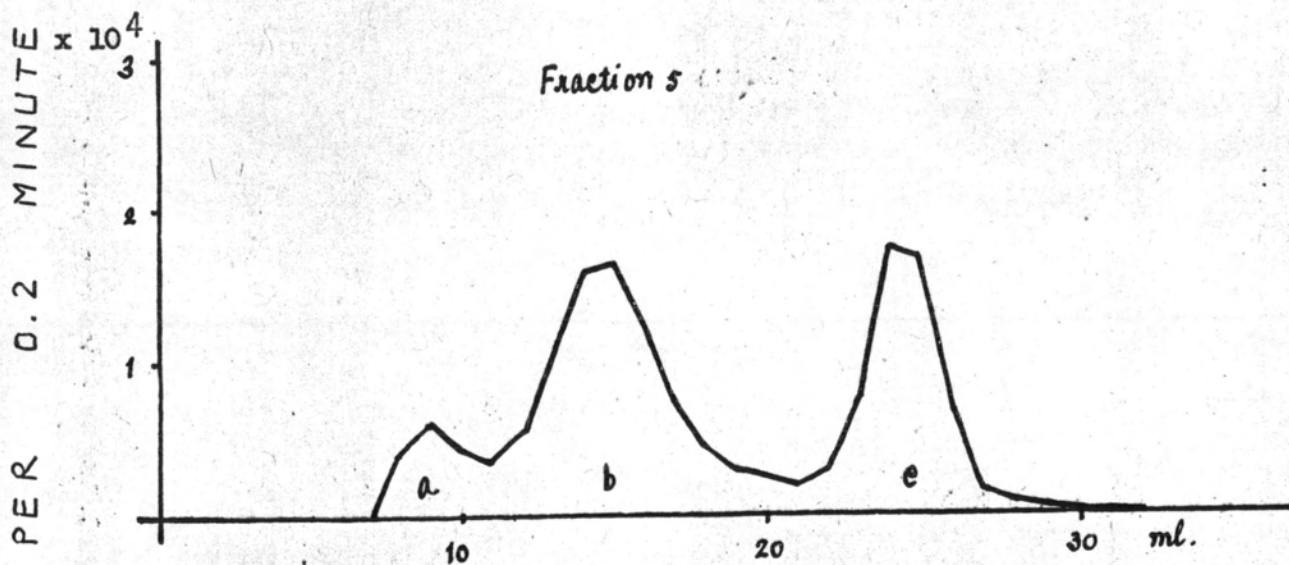
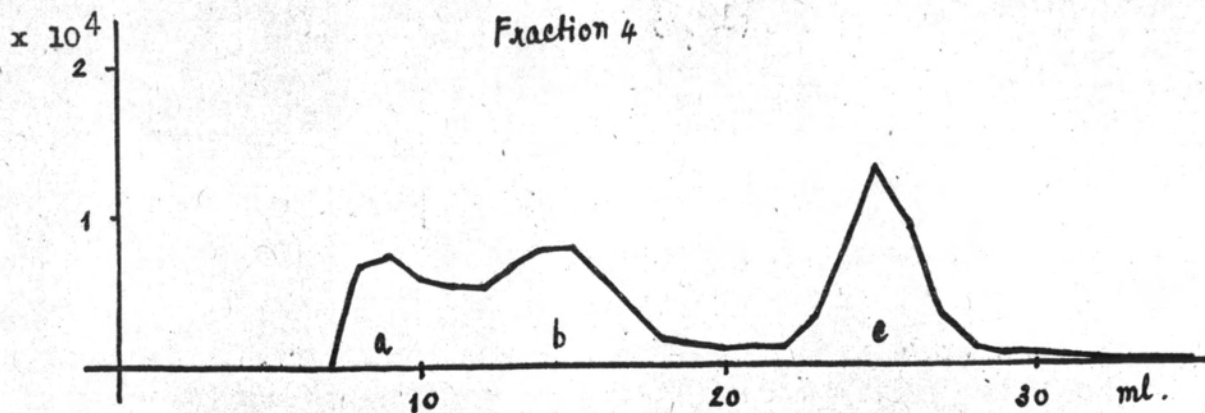
รูปที่ 37 แสดงความบริสุทธิ์ของ ^{125}I -HGH fraction ต่างๆ
 ภายหลังจากการ label ได้ 2 อาทิตย์ จะเห็นว่า radioactivity ของ protein
 peak (b) ของทั้ง 3 fractions จะต่ำกว่าเดิม (1 อาทิตย์) แต่ fraction 4
 ซึ่งเป็น fraction ขาขึ้น และ fraction 5 ซึ่งเป็นยอด peak ของ
 protein peak จะมี aggregated protein peak (a) และ iodide
 peak (c) สูงขึ้น fraction 6 ซึ่งเป็น fraction ขาลงของ protein
 peak มี peak a และ peak c ขนาดคงเดิม แต่เมื่อเทียบกับ protein
 peak (b) แล้ว ความบริสุทธิ์ของ fraction นี้ ก็ลดลงเช่นกัน แต่น้อยกว่า
 fraction 4 และ 5



รูปที่ 38 แสดงการวิเคราะห์ Column Chromatography ของ ^{125}I -HGH. มวลหลัก label ๑ จากตัวอย่าง

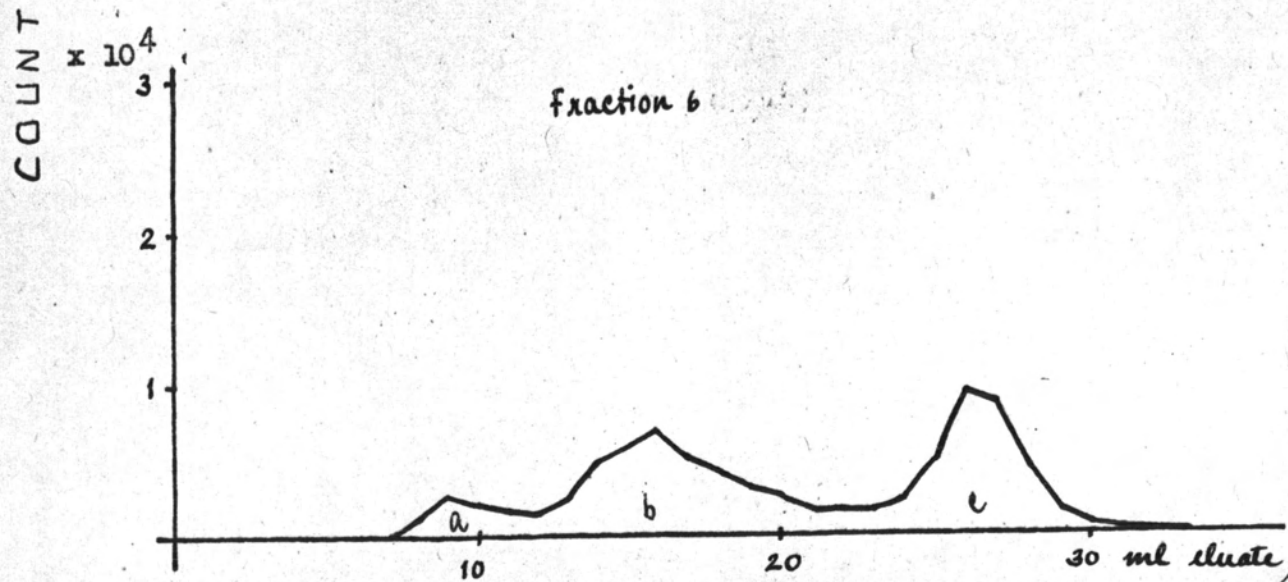
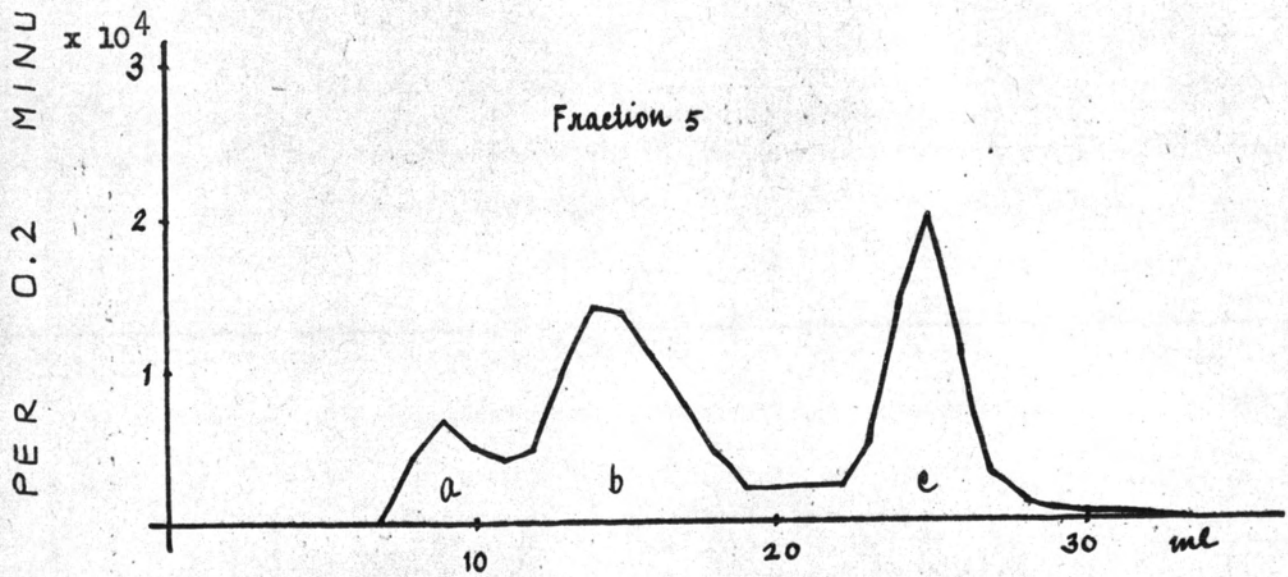
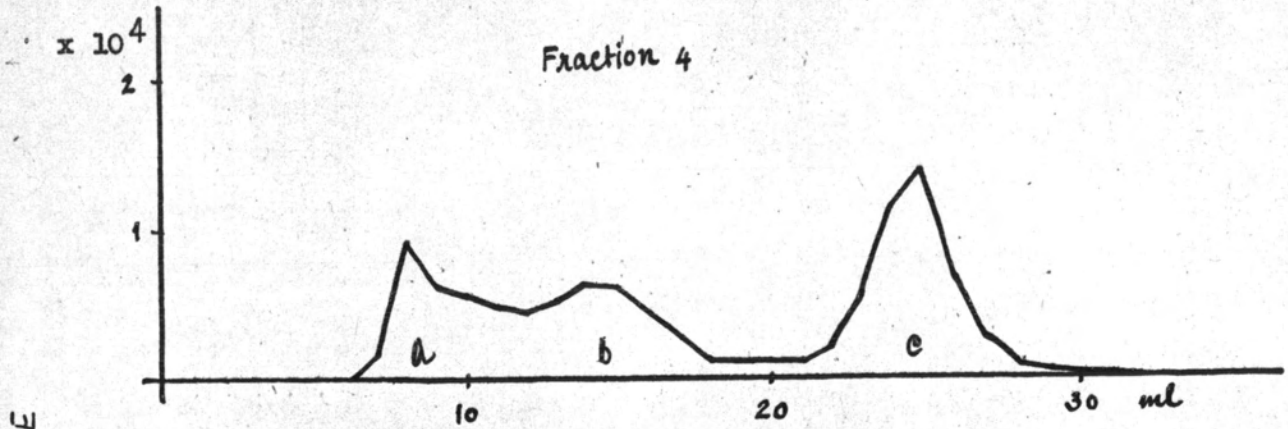
รูปที่ 38 แสดงความบริสุทธิ์ของ ^{125}I -HGH fraction ต่างๆ
 ภายหลังการ label ได้ 3 อาทิตย์ จะเห็นว่า radioactivity ของ
 protein peak (b) ของทั้ง 3 fraction จะมีค่าต่ำกว่าเดิม (2 อาทิตย์)
 นอกจากนี้ iodide peak (c) ของทั้ง 3 fraction ยังมีค่าสูงกว่าเดิมน้อย
 แสดงว่า มีการสลายตัวมากขึ้น และ ความบริสุทธิ์ และ homogeneity ลดลงเรื่อยๆ





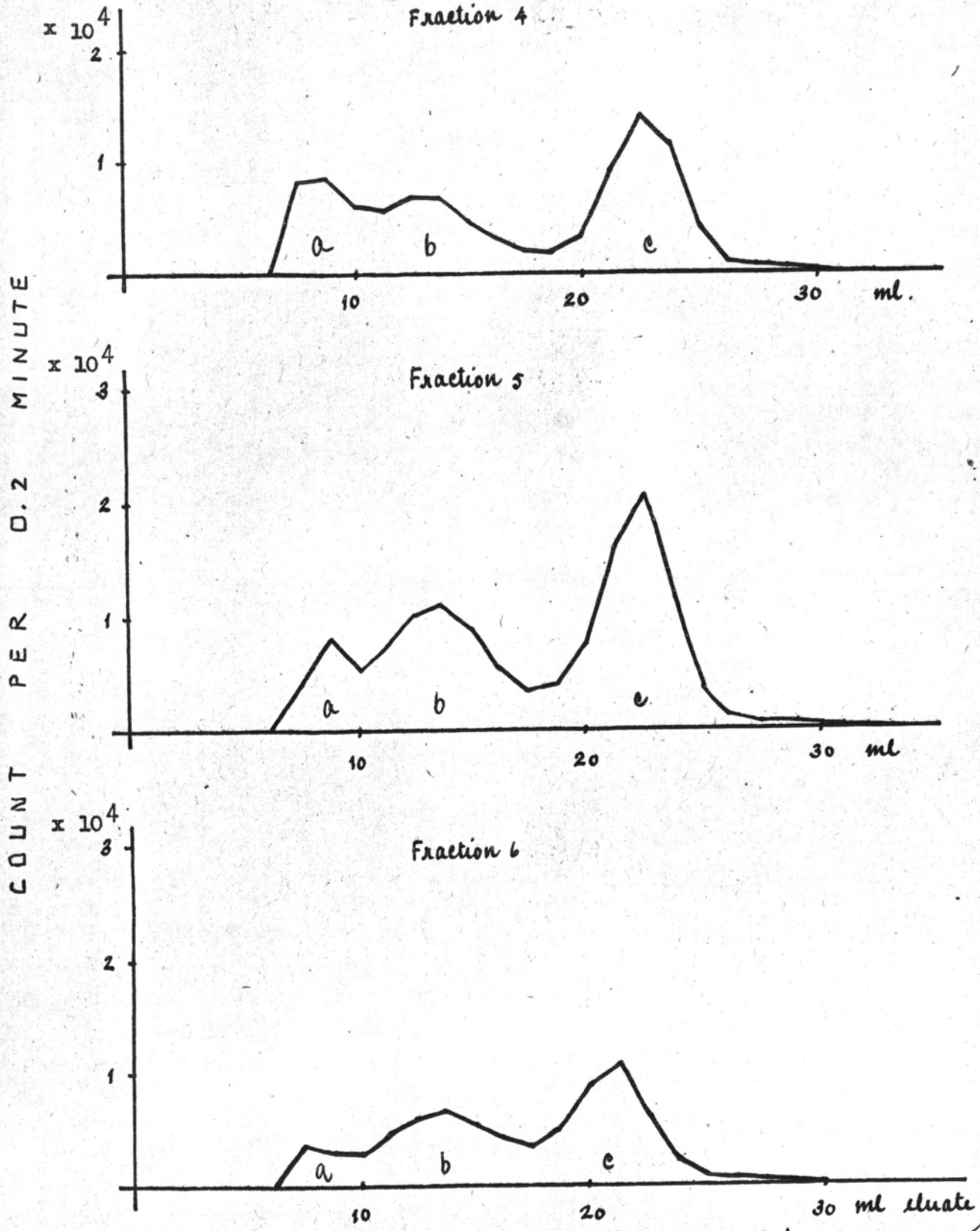
รูปที่ 39 แสดงการตีความ Column Chromatography ของ ¹²⁵I-HGH ที่มี label 4 อนุกรม

รูปที่ 39 แสดงความบริสุทธิ์ของ ^{125}I - HGH fraction ต่างๆ
 ภายหลังจากการ label ได้ 4 อาทิตย์ จะเห็นว่า ค่า radioactivity ของ
 protein peak (b) ของทั้ง 3 fraction จะมีค่าต่ำกว่าเดิม (3 อาทิตย์)
 ลงไปอีก นอกจากนี้ iodide peak (c) ของทั้ง 3 fraction ยังมีค่าสูงขึ้น
 กว่าเดิมด้วย เนื่องจากการสลายตัว เพิ่มมากขึ้น



รูปที่ 40 แสดงการศึกษารูปแบบ Column Chromatography ของ ^{125}I -HGH. ภาพหลัง label 5 นาที

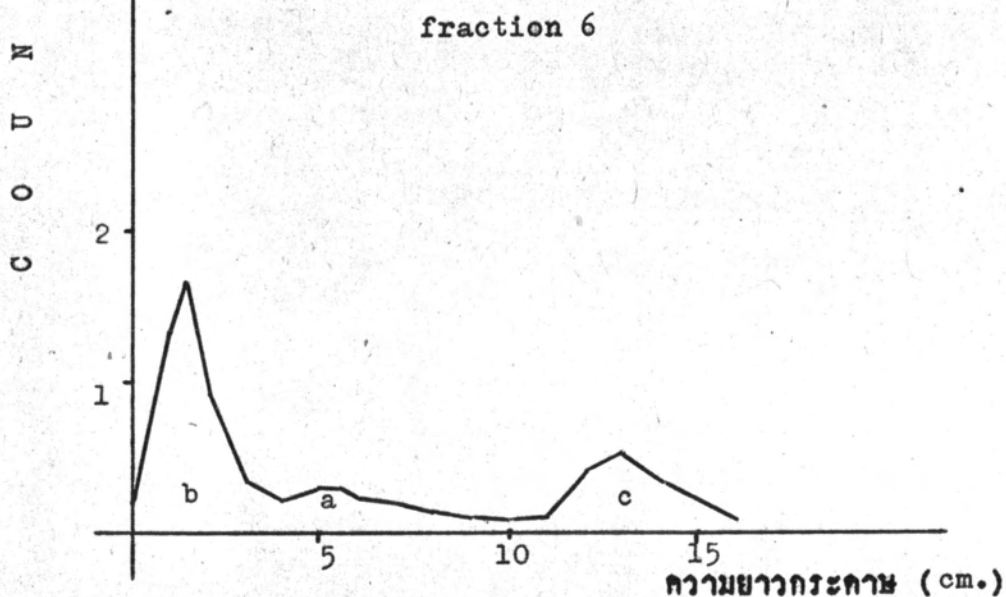
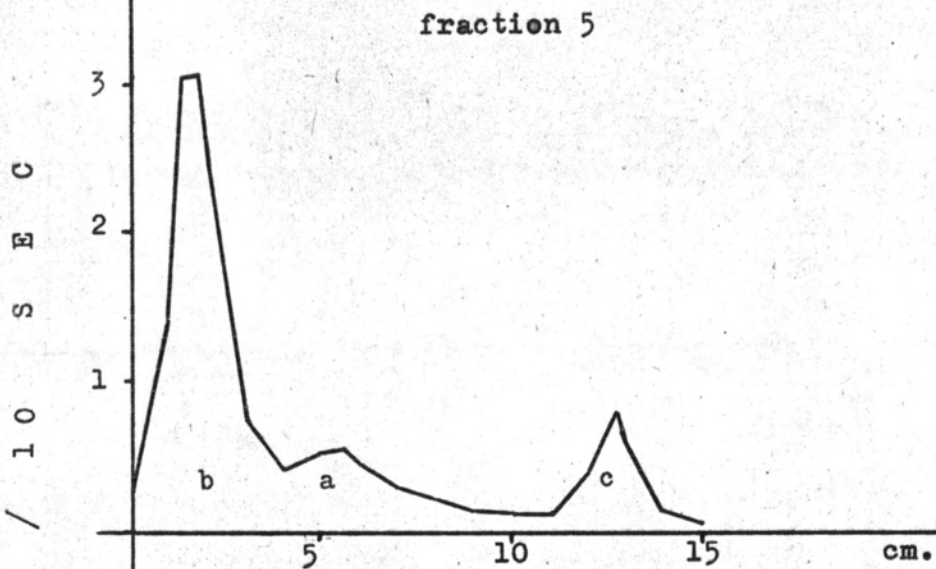
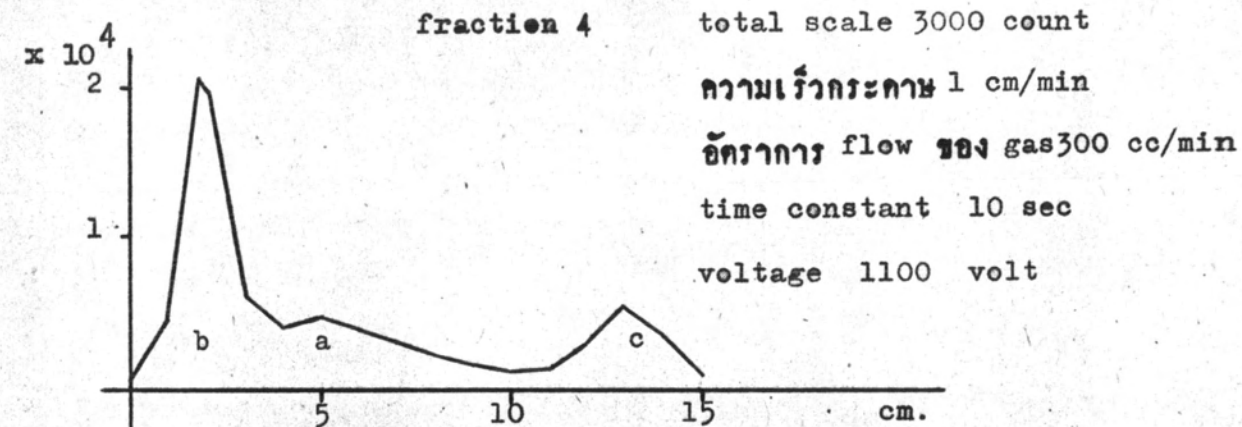
รูปที่ 40 แสดงความบริสุทธิ์ของ ^{125}I -HGH fraction ต่างๆ
 ภายหลังจาก label ได้ 5 อาทิตย์ จะพบว่า ค่า radioactivity ของ
 protein peak (b) ของทั้ง 3 fraction จะมีค่าต่ำกว่า เมื่อมีอายุ 4 อาทิตย์
 นอกจากนี้ iodide peak (c) ของทั้ง 3 fraction จะมีค่าสูงกว่าเดิม
 (4 อาทิตย์) ค่ะ เนื่องจากมี การสลายตัวเพิ่มมากขึ้น



รูปที่ 41 แสดงการวัดกัมมันตภาพ Column Chromatography ของ ¹²⁵I-HGH ภายหลัง label 6 ๓ นาที

รูปที่ 41 แสดงความบริสุทธิ์ของ ^{125}I - HGH fraction ต่างๆ
 ภายหลังจาก label ได้ 6 อาทิตย์ พบว่า protein peak (b) ของทั้ง
 3 fraction มี radioactivity ต่ำลงกว่าเดิม เมื่อมีอายุ 5 อาทิตย์ และต่ำลง
 กว่าเมื่อมีอายุ 1 อาทิตย์ อย่างชัดเจน และในทำนองเดียวกัน iodide peak (c)
 ของทั้ง 3 fraction มีค่าสูงกว่าเมื่อมีอายุ 5 อาทิตย์ และสูงกว่าเมื่อมีอายุ 1 อาทิตย์
 อย่างมาก เนื่องจากการสลายตัวเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ



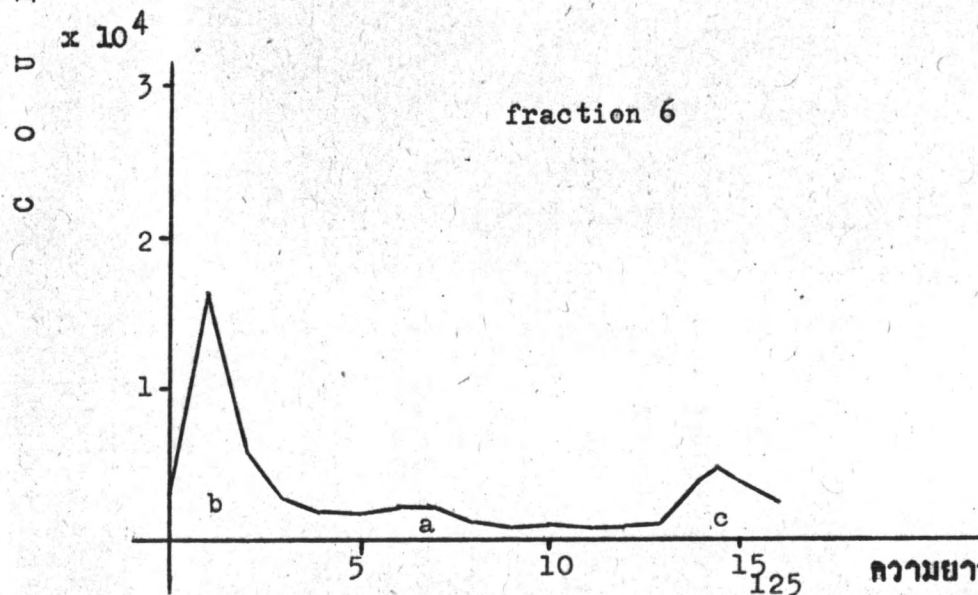
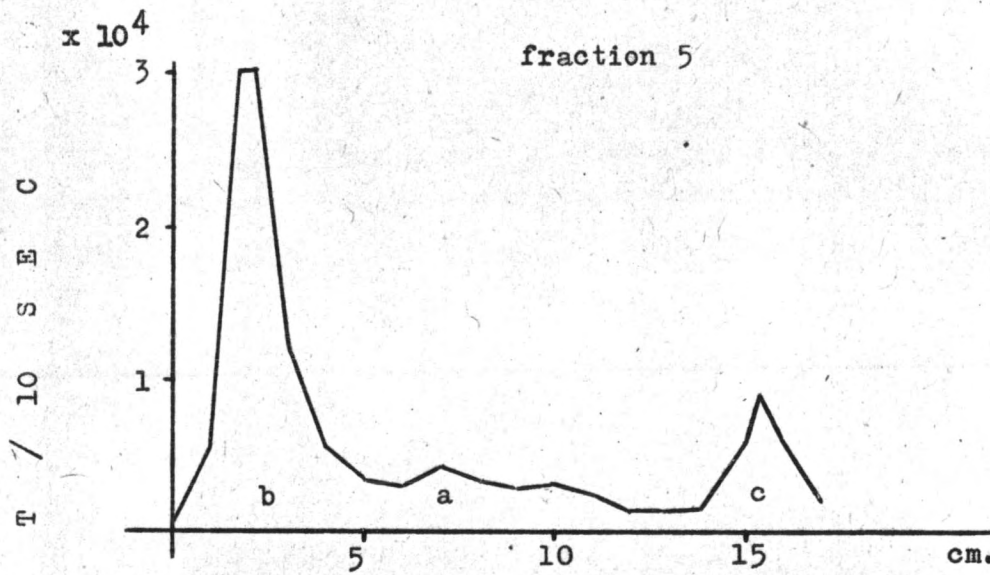
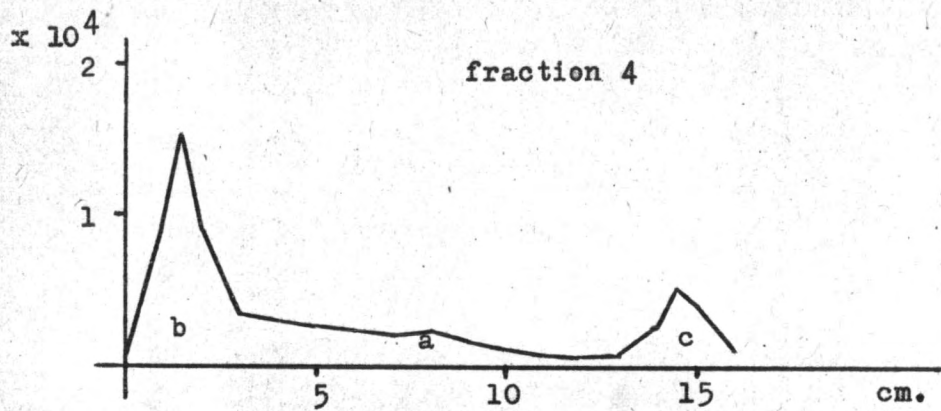


รูปที่ 42 แสดงความบริสุทธิ์ ¹²⁵I-HGH fraction ต่าง ๆ ภายหลังจาก label ได้ 1 อาทิตย์ จะเห็นว่าทั้ง 3 fraction เมื่อนำมาทำ paper chromatography แล้วนำมา scan ด้วยเครื่อง radiochromatogram จะแยกออกได้เป็น 3 peak คือ peak a เป็น peak ของ aggregated form ของ ¹²⁵I-HGH peak b ซึ่งเป็น peak ของ ¹²⁵I-HGH และ peak c เป็น salt (iodide) peak โดยเห็น peak ทั้ง 3 นี้ อยู่ในตำแหน่งที่แตกต่างไปจาก column chromatography เนื่องจากมี Rf value แตกต่างกัน

peak a ของ fraction ทั้ง 3 มีขนาดใกล้เคียงกัน และมี จำนวนน้อย เมื่อเทียบกับ protein peak b

protein peak b ของ fraction 5 มี radioactivity สูงกว่า fraction 4 และ 6

iodide peak (c) ของ fraction ทั้ง 3 มีค่าใกล้เคียงกันเมื่อเทียบกับ protein peak (b)



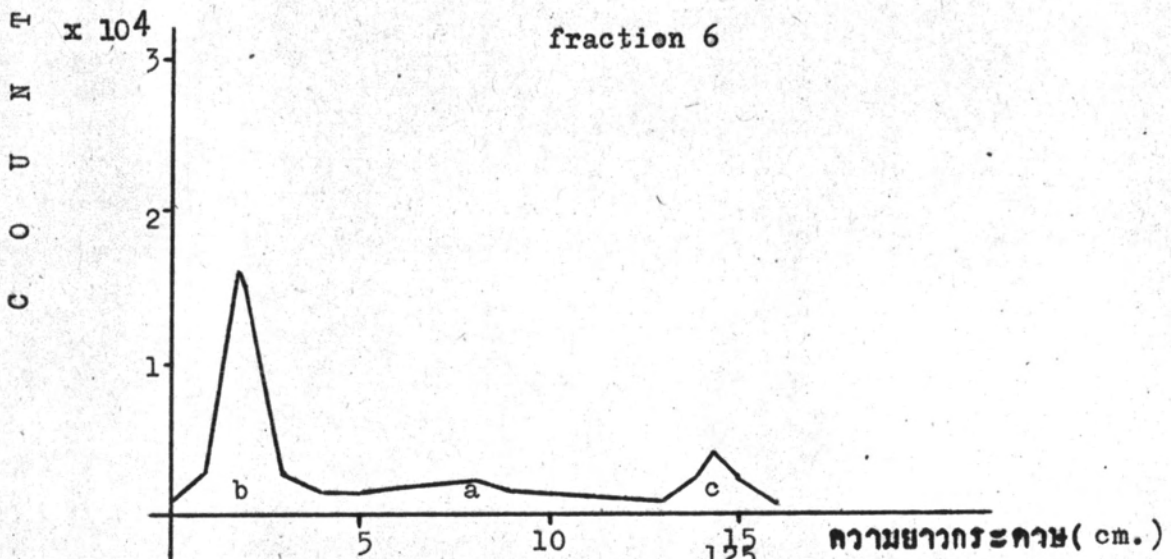
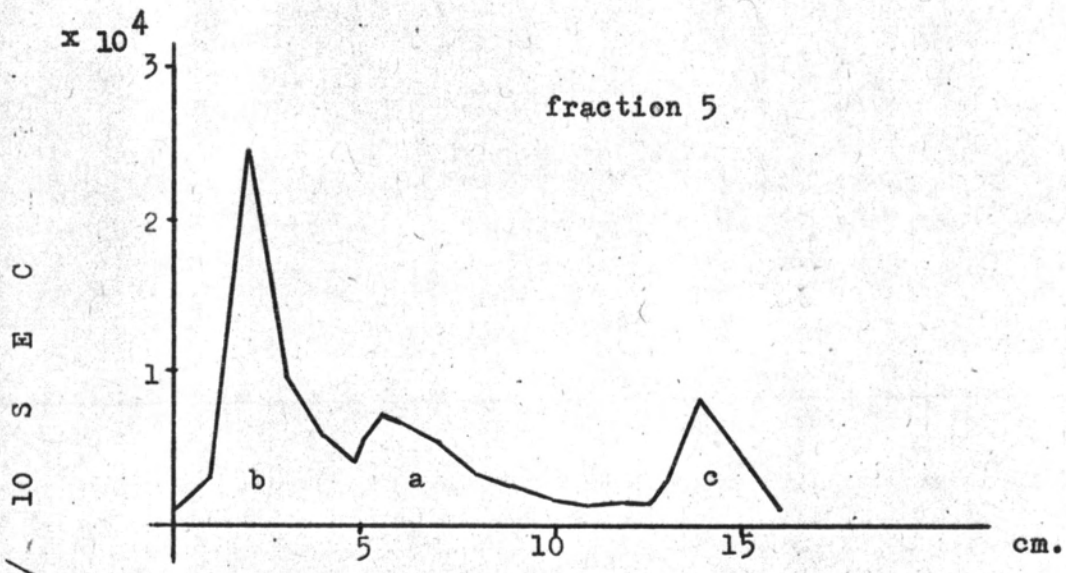
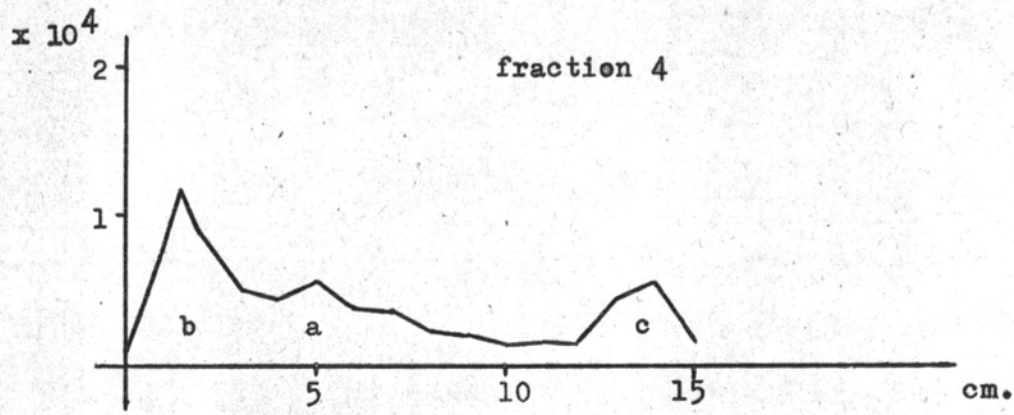
รูปที่ 43

แสดงการทำ paper chromatography

ของ I-HGH ภายหลัง label 2 อาทิตย์ ความยาวกระดาษ 15/125 cm.

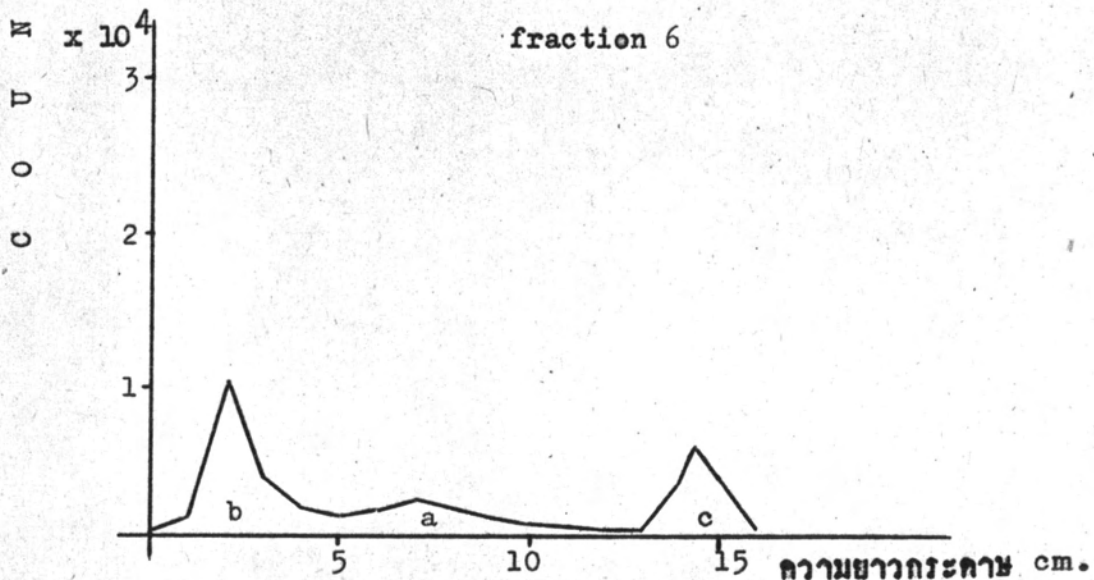
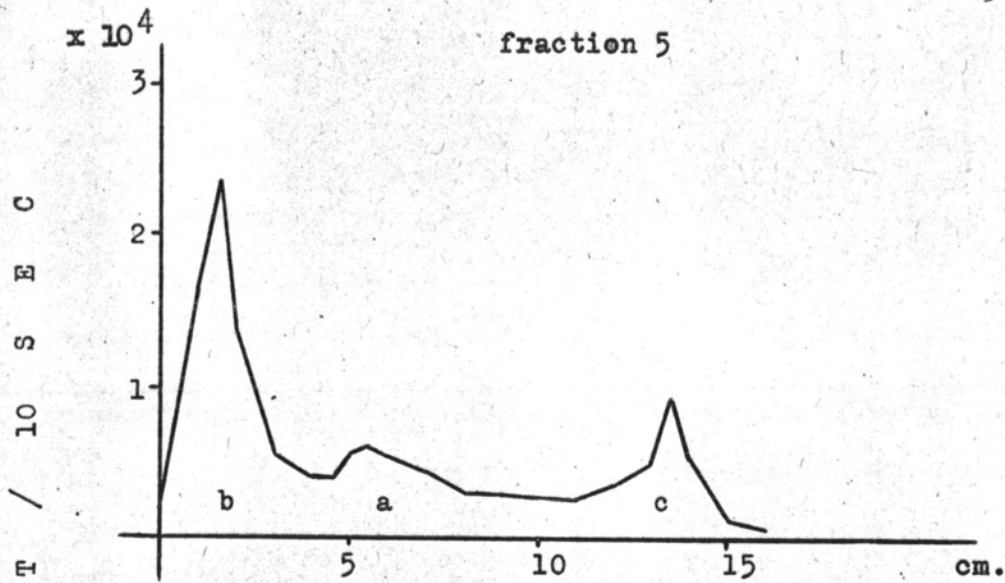
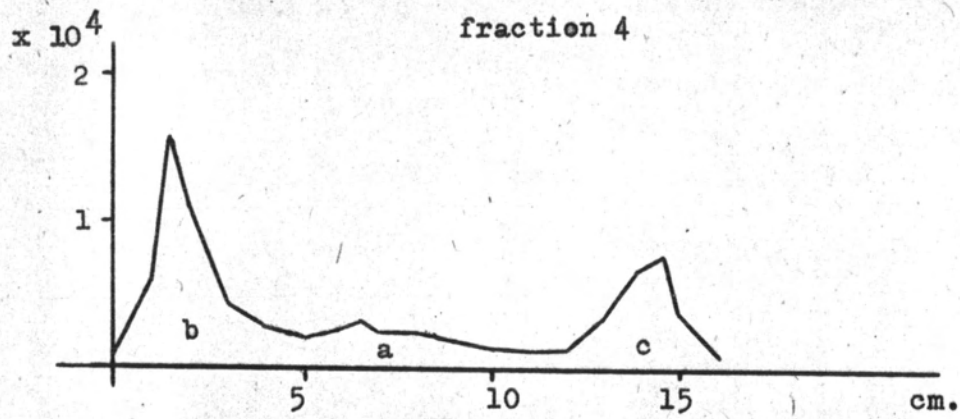
รูปที่ 43 แสดงความบริสุทธิ์ของ ^{125}I - HGH fraction ต่างๆ
 ภายหลังการ label ได้ 2 อาทิตย์ จะเห็นว่า radioactivity ของ
 protein peak (b) ของทุก fraction มีค่าต่ำกว่าเดิม (1 อาทิตย์) และ
 aggregated protein peak (a) ของทุก fraction มีค่าต่ำมาก เกือบมอง
 ไม่เห็นส่วน iodide peak (c) ของทุก fraction ไม่มีการเปลี่ยนแปลง





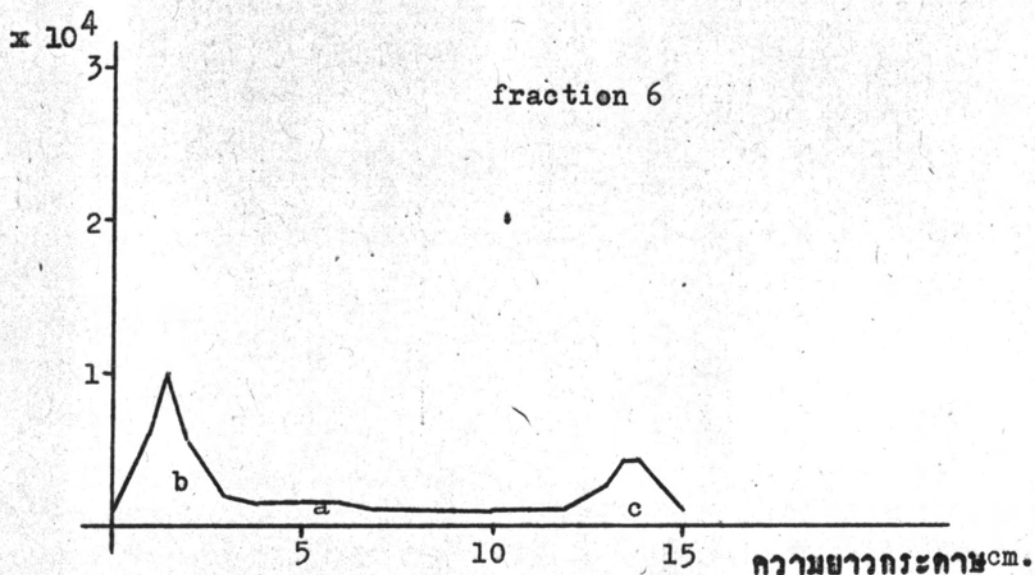
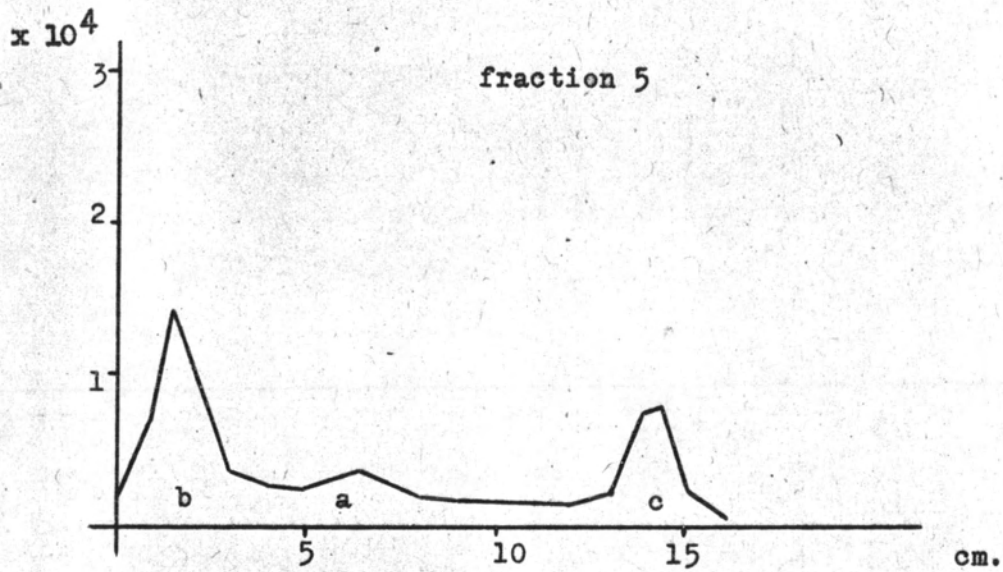
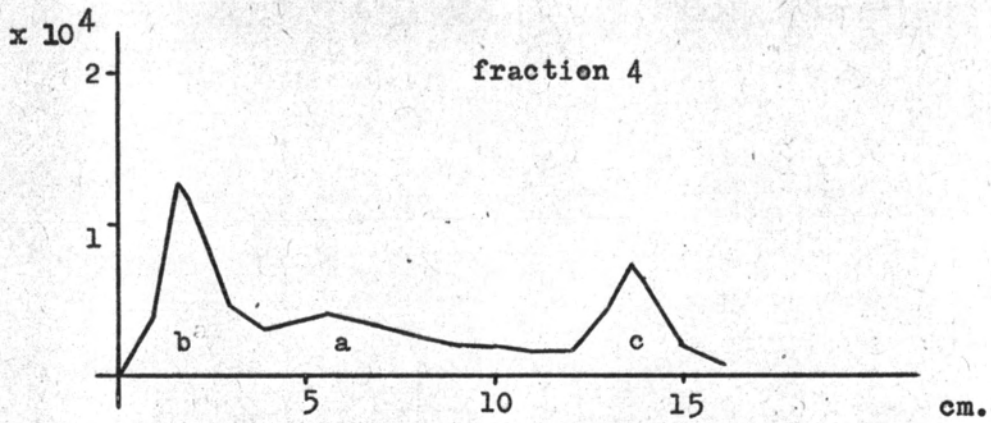
รูปที่ 44 แสดงการทำ Paper chromatography ของ I-HGH ภายหลังจาก label 3 ชาติคย

รูปที่ 44 แสดงความบริสุทธิ์ของ ^{125}I - HGH fraction ต่างๆ ภายหลังจาก
 การ label ได้ 3 อาทิตย์ จะเห็นว่า radioactivity ของ protein
 peak (b) ของทุก fraction มีค่าต่ำกว่าเดิม (2 อาทิตย์) ในขณะที่
 aggregated protein peak (a) และ iodide peak (c) ของทั้ง 3
 fraction มีค่าสูงขึ้นกว่าเดิม (2 อาทิตย์) เนื่องจากการรวมตัว และการ
 สลายตัวเพิ่มมากขึ้น



รูปที่ 45 แสดงความบริสุทธิ์ของ ^{125}I -HGH fraction ต่างๆ
 ภายหลังจาก label ได้ 4 อาทิตย์ จะพบว่า protein peak (b) ของทุก
 fraction มี radioactivity ต่ำลงกว่าเดิม (3 อาทิตย์) ลงไปอีก ในขณะที่
 iodide peak (c) ของทุกๆ fraction มี radioactivity สูงขึ้นกว่าเดิม
 (3 อาทิตย์) เนื่องจากการสลายตัวของ iodinated HGH เพิ่มมากขึ้น





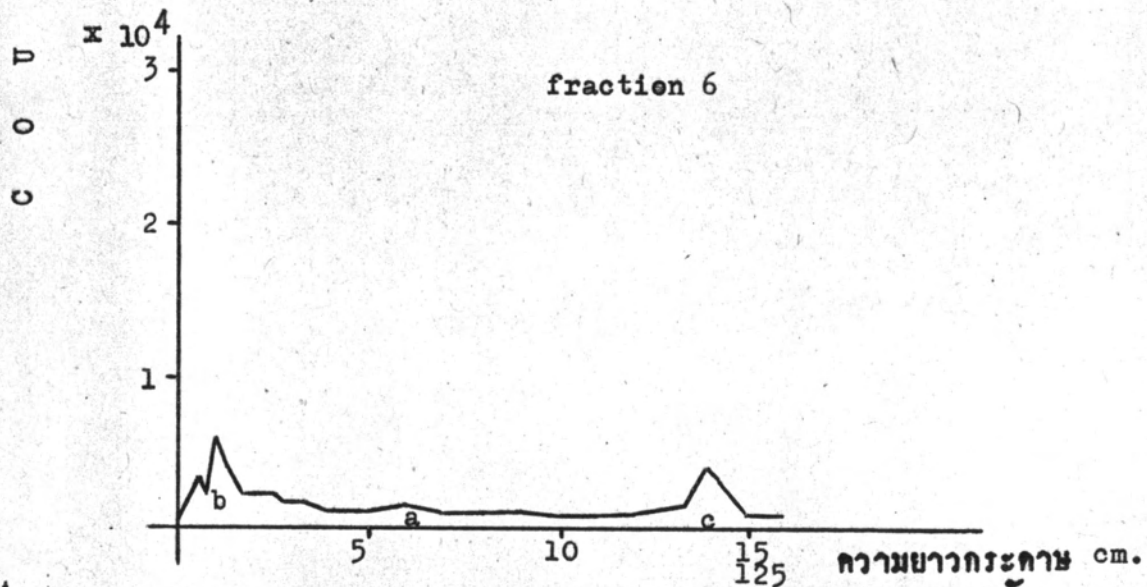
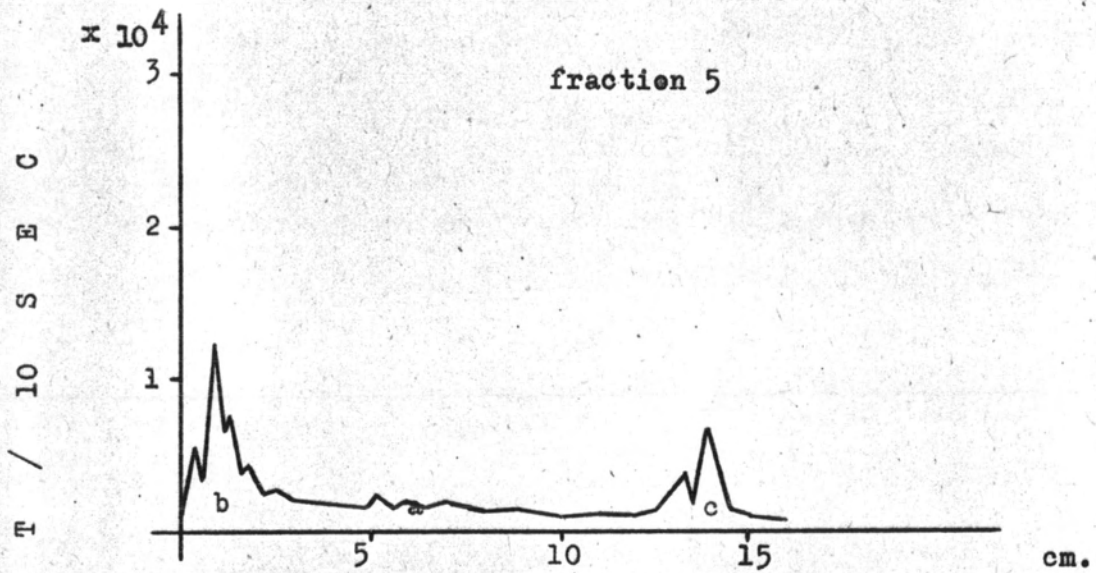
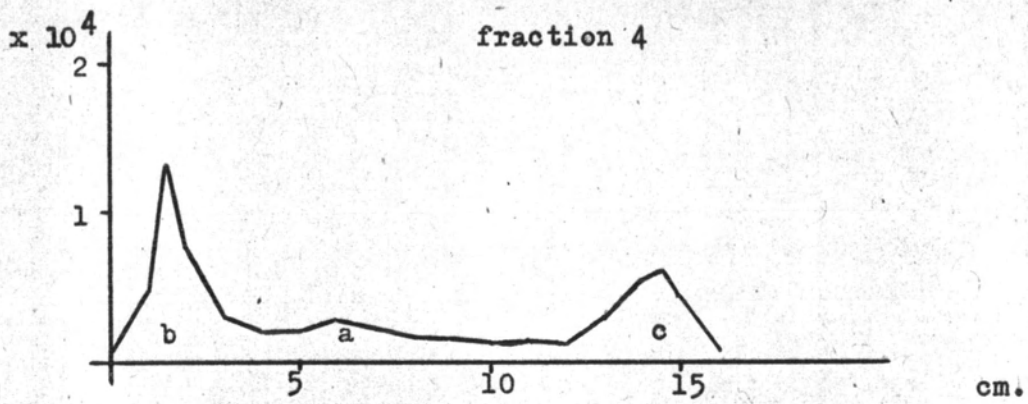
C O U N T I N G / 10 S E C

รูปที่ 46

แสดงการทำ paper chromatography ของ ¹²⁵I-HGH ภายหลังจาก label 5 อาทิตย์

ความยาวกระดาษ cm.

รูปที่ 46 แสดงความบริสุทธิ์ของ ^{125}I - HGH fraction ต่างๆ
 ภายหลังจาก label ได้ 5 อาทิตย์ จะพบว่า radioactivity ของ protein
 peak (b) ของทุก fraction มีค่าต่ำกว่าเดิม (4 อาทิตย์) ลงเรื่อยๆ
 ส่วน radioactivity ของ salt peak (c) นั้น เมื่อเทียบกับ protein
 peak (b) จะเห็นว่า มีค่าสูงขึ้นทุก fraction



รูปที่ 47

แสดงการทำ paper chromatography

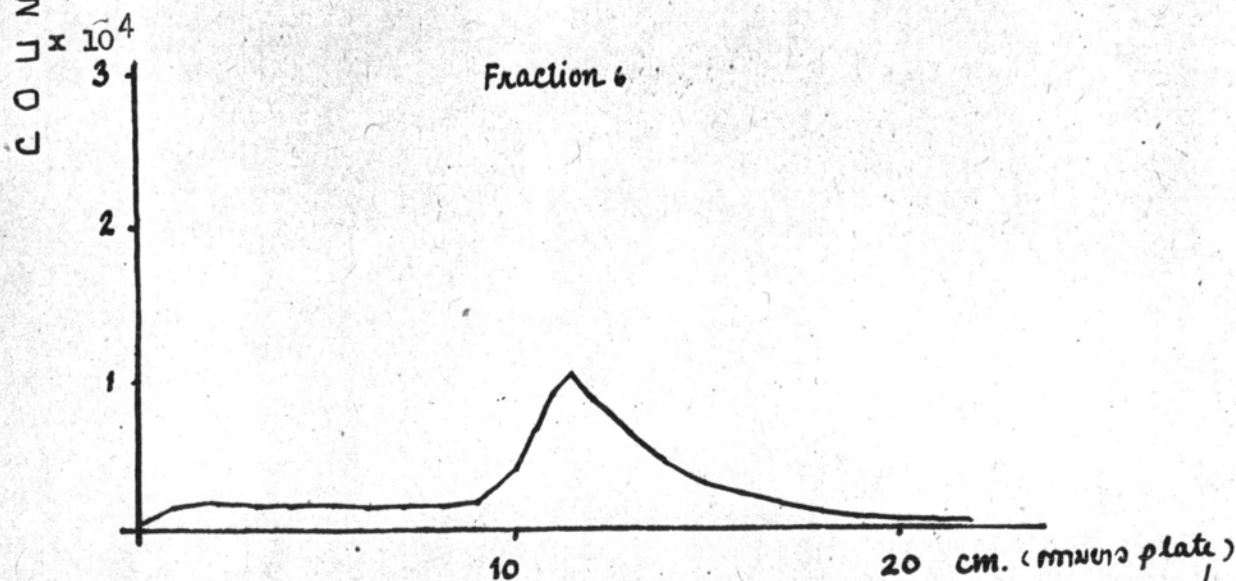
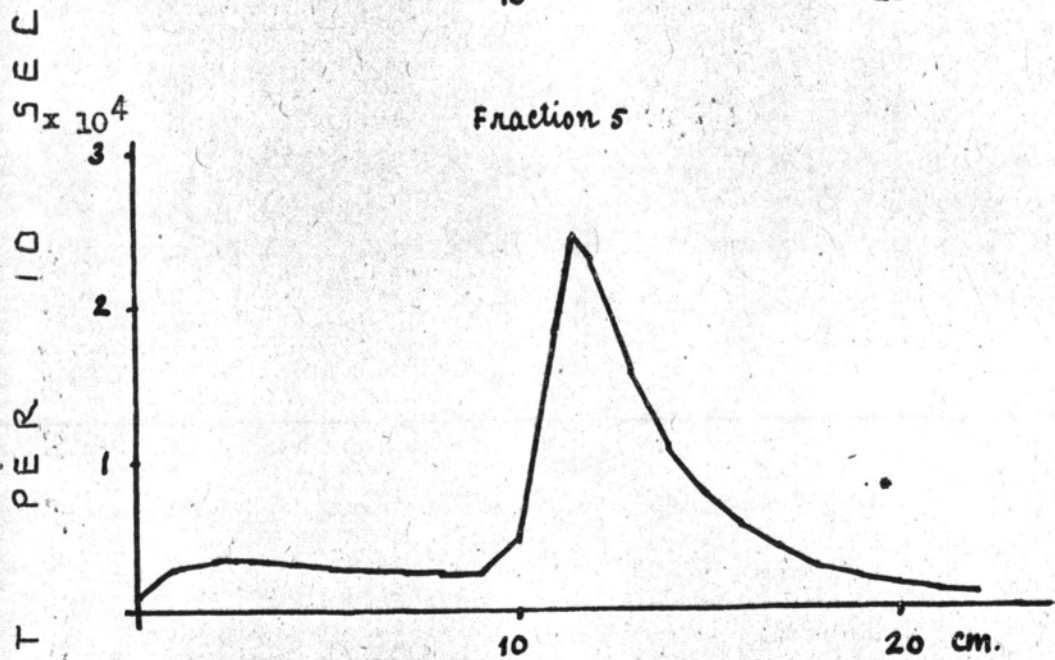
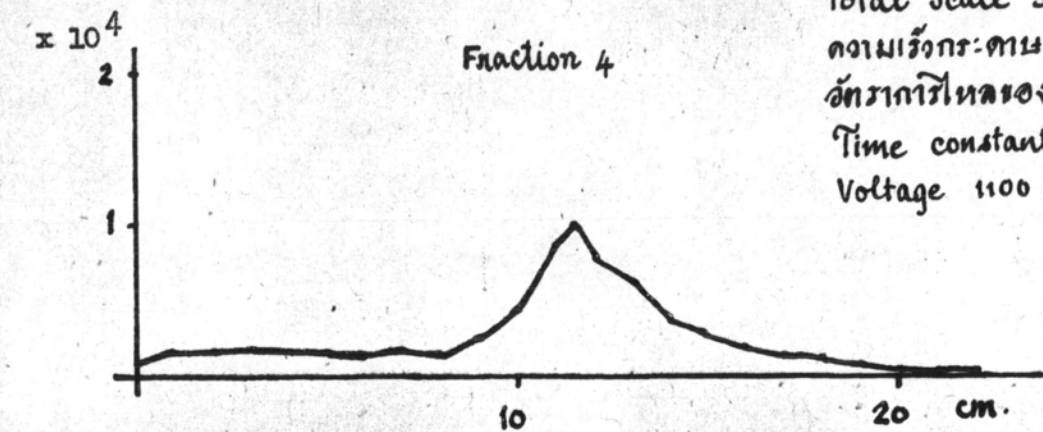
ของ I-HGH ภายหลังจาก label 6 อัจฉริยะ

ความยาวกระดาษ cm.

รูปที่ 47 แสดงความบริสุทธิ์ของ ^{125}I - HGH fraction ต่างๆ
 ภายหลังจาก label ได้ 6 อาทิตย์ จะพบว่า radioactivity ของ
 protein peak (b) ของทุก fraction มีค่าต่ำกว่าเดิม (5 อาทิตย์) และ
 เส้น scan มีลักษณะ irregular
 radioactivity ของ iodide peak (c) ในทุก fraction
 เมื่อเทียบกับ protein peak (b) จะมีค่าสูงมากขึ้น เนื่องจาก มีการสลายตัวมากขึ้น



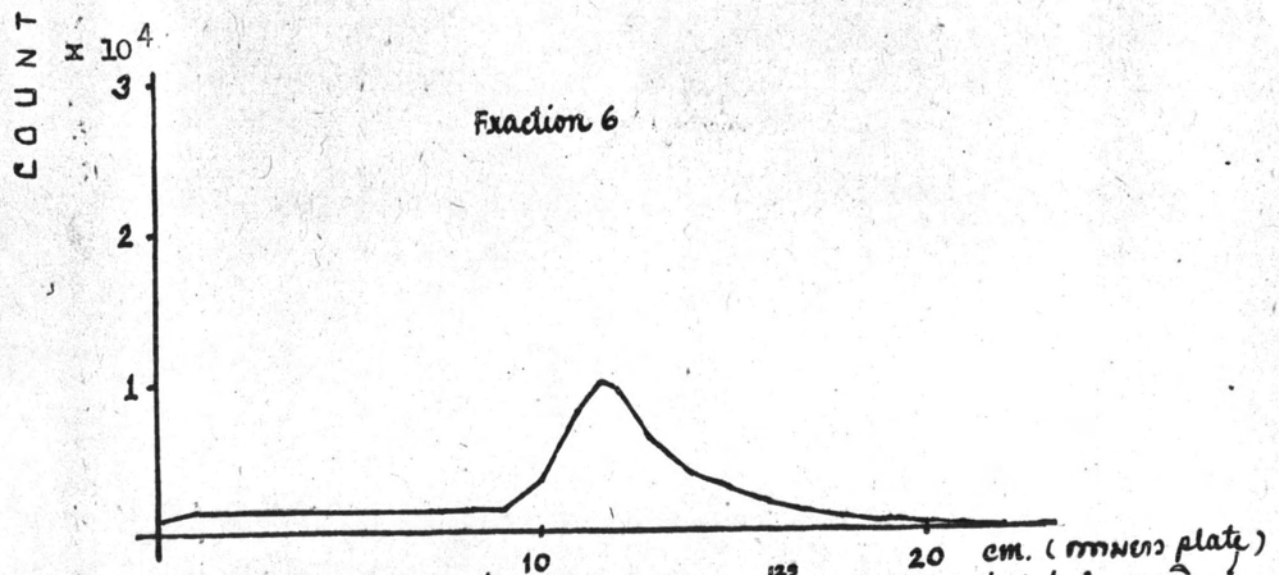
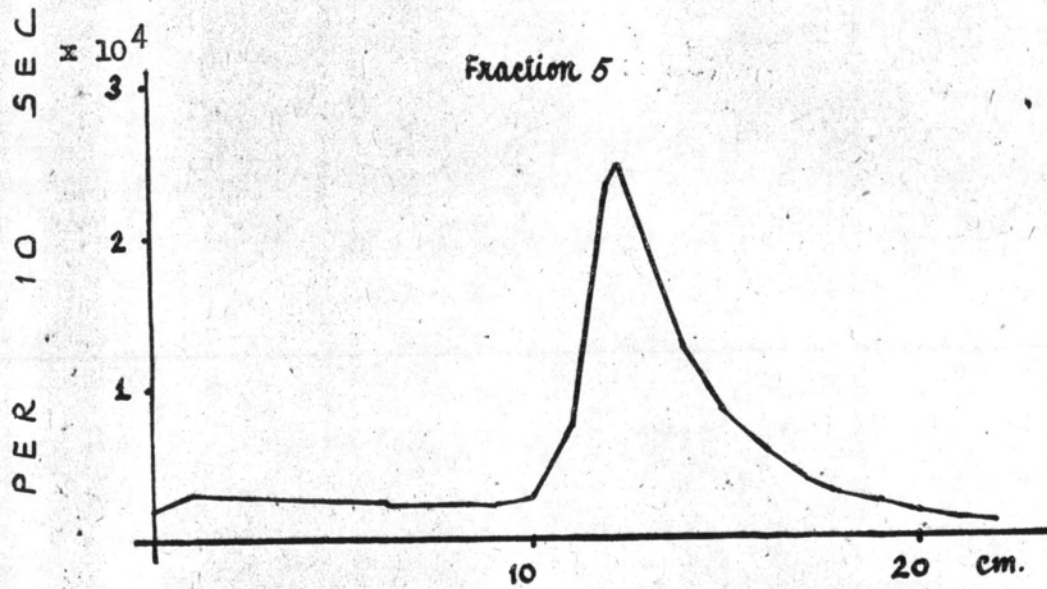
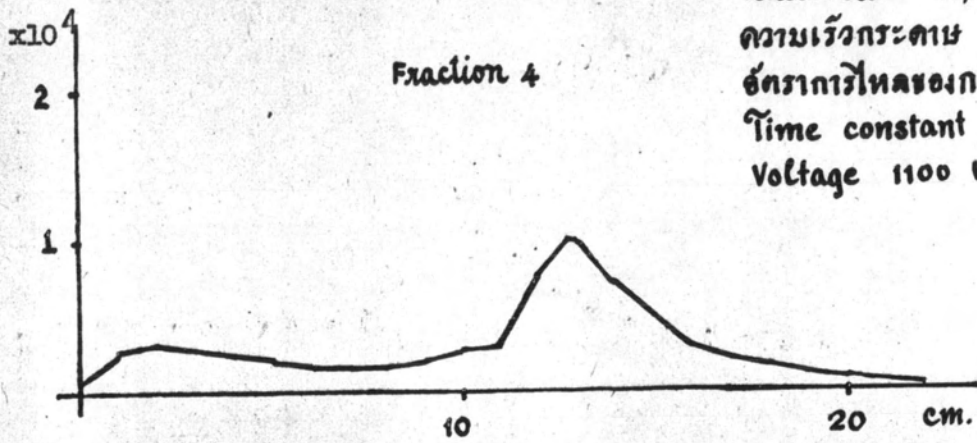
Total Scale 30,000 count
 ความเร็วการเคลื่อนที่ 1 cm/min
 อัตราการไหลของน้ำ 300 cc/min
 Time constant 10 sec.
 Voltage 1100 volt



รูปที่ 4.8 แสดงการวัด Thin Layer Chromatography ของ ^{25}I -HGH ภายหลัง label 1 อาทิตย์

รูปที่ 48 แสดงความบริสุทธิ์ของ ^{125}I -HGH fraction ต่างๆ
 ภายหลังจาก label ได้ 1 อาทิตย์ จะเห็นว่า แต่ละ fraction เมื่อนำมาทำ
 thin layer chromatography แล้วนำมา scan ด้วยเครื่อง radio-
 chromatogram จะแยกออกได้เป็น 2 peak คือ peak a (อยู่ที่บริเวณที่
 apply ^{125}I -HGH) เป็น salt (iodide) peak ซึ่งอาจจะมี aggregated
 form ของ ^{125}I -HGH ปนอยู่ด้วยก็ได้ เนื่องจากวิธีนี้ ไม่สามารถแยกออกจากกัน
 ได้ชัด และ protein peak (b) ซึ่งเป็น peak ของ ^{125}I -HGH ส่วน
 fraction 5 มี radioactivity ของ protein peak (b) สูงสุด และ
 ทุกๆ fraction มี radioactivity ของ iodide peak (a) เท่าๆกัน
 เมื่อเทียบกับ protein peak (b)

Total Scale 30000 count
 ความเร็วกระดาษ 1 cm/min
 อัตราการไหลของก๊าซ 300 cc/min.
 Time constant 10 sec.
 Voltage 1100 volt.



รูปที่ 4.9 แสดงการศึกษา Thin Layer Chromatography ของ ¹²⁵I-HGH ภายหลัง label 2 สัปดาห์.

รูปที่ 49 แสดงความบริสุทธิ์ของ ^{125}I - HGH fraction ต่างๆ
ภายหลังการ label ได้ 2 อาทิตย์ พบว่า radioactivity ของทั้ง
protein peak (b) และ iodide peak a ของทั้ง 3 fraction ใกล้เคียง
กัน (1 อาทิตย์) เลย

ตารางที่ 15 แสดงเปอร์เซ็นต์การรวมตัวของ 125 I-HGH fraction ต่างๆ กับแอนติบอดี ภายหลังจากการ label แล้ว เป็นระยะเวลาต่างๆ กัน

อายุของ 125 I-HGH	fraction 4 (ส่วนหน้าของ peak)			fraction 5 (ส่วนยอดของ peak)			fraction 6 (ส่วนหลังของ peak)					
	unpu- rified	purified			unpu- rified	purified			unpu- rified	purified		
		peak a	peak b	peak c		peak a	peak b	peak c		peak a	peak b	peak c
1 st week	37.22	40.28	42.26	7.04	41.15	26.93	42.35	8.34	38.13	22.94	36.44	6.75
2 nd week	34.52	34.91	46.36	5.17	36.85	26.93	35.79	6.75	33.65	17.45	25.86	3.23
3 rd week	29.41	34.25	40.42	8.98	29.41	27.38	42.53	9.76	26.52	18.94	30.78	8.4
4 th week	34.87	26.81	46.21	6.31	32.85	35.22	39.67	6.78	30.28	20.53	31.48	6.78
5 th week	24.83	-	37.85	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ

peak a เป็น peak ของ aggregated form ของ 125 I-HGH
 peak b เป็น peak ของ 125 I-HGH ซึ่งเป็น peak ที่นำไปใช้ในการทดลองทุกครั้ง ภายหลังจากการทำให้บริสุทธิ์ โดยการผ่านคอลัมน์ของ sephadex G-100
 peak c เป็น salt (iodide) peak
 peak a, b, c ในที่นี้หมายถึง peak ที่ได้จากการทำ column chromatography เท่านั้น

เนื่องจาก salt peak c ไม่ควรมีความสามารถในการรวมตัวกับ Ab ได้ ดังนั้นค่าเปอร์เซ็นต์การรวมตัวที่ได้จึงค่อนข้างคงที่เสมอ ดังแสดงตามตาราง ที่ 15 ข และควรถือเป็นค่า blank ได้ (assumed blank)

ตารางที่ 15 ข แสดงค่า assumed blank ของ ^{125}I -HGH fraction ต่างๆ

อายุของ ^{125}I -HGH	assumed blank			
	fraction 4	fraction 5	fraction 6	average
1 st week	7.04	8.34	6.75	7.34
2 nd week	5.17	6.75	3.23	5.05
3 rd week	8.98	9.76	8.43	9.06
4 th week	6.31	6.78	6.78	6.62

เมื่อเอาค่าเฉลี่ยของ peak c (assumed blank) มาหักออกจากเปอร์เซ็นต์การรวมตัวของ unpurified fraction, peak a และ b ของ purified fraction เพื่อจะเปรียบเทียบผลของเปอร์เซ็นต์การรวมตัวให้ชัดเจนยิ่งขึ้น ผลดังแสดงใน ตารางที่ 15 ค

ตารางที่ 15 ค แสดงผลการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การรวมตัวของ ^{125}I -HGH fraction ต่างๆ กับ แอนติบอดี ภายหลังจากการหัก assumed blank ออกแล้ว

อายุของ ^{125}I -HGH	fraction 4			fraction 5			fraction 6		
	purified		unpu- rified	purified		unpu- rified	purified		unpu- rified
	peak a	peak b		peak a	peak b		peak a	peak b	
1 st week	32.94	34.92	29.88	20.59	35.01	33.81	15.64	29.10	30.79
2 nd week	29.86	41.31	29.47	21.88	30.74	31.80	12.4	20.81	28.6
3 rd week	25.19	31.36	20.35	18.32	33.47	20.35	9.88	21.72	17.46
4 th week	20.19	39.59	28.25	28.6	33.05	26.23	13.91	24.86	23.66

จากตารางที่ 15 ค ผลปรากฏว่า

fraction 4 ภายใน 4 อาทิตย์ unpurified fraction นี้ มีเปอร์เซ็นต์การรวมตัวที่มีแนวโน้มที่ต่ำลงเล็กน้อย และลดลงอย่างเห็นได้ชัดในอาทิตย์ที่ 5 และเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับ fraction ที่เอามาทำให้บริสุทธิ์ก่อน จะพบว่า protein peak (b) มีเปอร์เซ็นต์การรวมตัวสูงขึ้น และค่อนข้างคงที่ ภายใน 4 อาทิตย์ แต่จะลดลงในอาทิตย์ที่ 5 ส่วน aggregated protein peak (a) มีเปอร์เซ็นต์การรวมตัวต่ำกว่า peak b และการรวมตัวจะค่อยๆลดลงเรื่อยๆ ตลอด 4 อาทิตย์

fraction 5 unpurified fraction นี้มีเปอร์เซ็นต์การรวมตัวสูงกว่า fraction 4 ในอาทิตย์แรก แต่มีความโน้มเอียงที่จะลดต่ำลงเรื่อยๆ และเมื่อนำมาทำให้บริสุทธิ์ขึ้น จะพบว่า protein peak (b) จะมีเปอร์เซ็นต์การรวมตัวสูงขึ้นกว่า fraction ที่ไม่ได้ทำให้บริสุทธิ์ก่อน และค่าที่โคคค่อนข้างคงที่ ตลอด 4 อาทิตย์ ส่วน aggregated protein peak (a) จะมีเปอร์เซ็นต์การรวมตัวต่ำกว่า peak (b) และต่ำกว่า peak (a) ของ fraction 4 ด้วย แต่มีค่าค่อนข้างคงที่ ตลอด 4 อาทิตย์

fraction 6 unpurified fraction นี้มีเปอร์เซ็นต์การรวมตัวต่ำกว่า fraction 5 และมีความโน้มเอียงที่จะลดต่ำลงเล็กน้อย เมื่อนำมาทำให้บริสุทธิ์ขึ้น พบว่า protein peak (b) มีเปอร์เซ็นต์การรวมตัวใกล้เคียงกับ unpurified fraction และมีความโน้มเอียงที่จะลดต่ำลงไปเล็กน้อย เมื่อเวลานานขึ้น ส่วน aggregated protein peak (a) มีเปอร์เซ็นต์การรวมตัวต่ำกว่า peak (a) ของ fraction อื่นๆมาก