

ผลของการทดลอง

1. ผลของการแยกส่วนประกอบของอีพิรอยด์สอร์ไบน์จากเนื้อหอมขี้รอยด์:

1.1 ผลของการหา solvent system ที่เหมาะสมในการแยกอีพิรอยด์สอร์ไบน์-

ผลที่ได้

ตารางที่ 1 แสดง solvent system ที่เหมาะสมในการแยกอีพิรอยด์สอร์ไบน์มาตรฐาน และ R_f value โดย TLC.

Solvent system	DIT		MIT		T ₄		T ₅	
	range	Av.	range	Av.	range	Av.	range	Av.
(1) Chloroform:n-bulanol:28%NH ₃ 7 : 4 : 1 6 : 5 : 1	.03-.06	.045	.07-.09	.08	.39-.43	.41	.68-.78	.73
(2) t-Amyl alcohol:dioxane:6%NH ₄ OH 3 : 5 : 2	.095-.13	.11	.14-.18	.16	.24-.29	.27	.36-.40	.38
(3) Ethyl acetate:methanol:6%NH ₄ OH 5 : 2 : 3	.11-.18	.15	.17-.29	.26	.28-.44	.40	.57-.48	.40

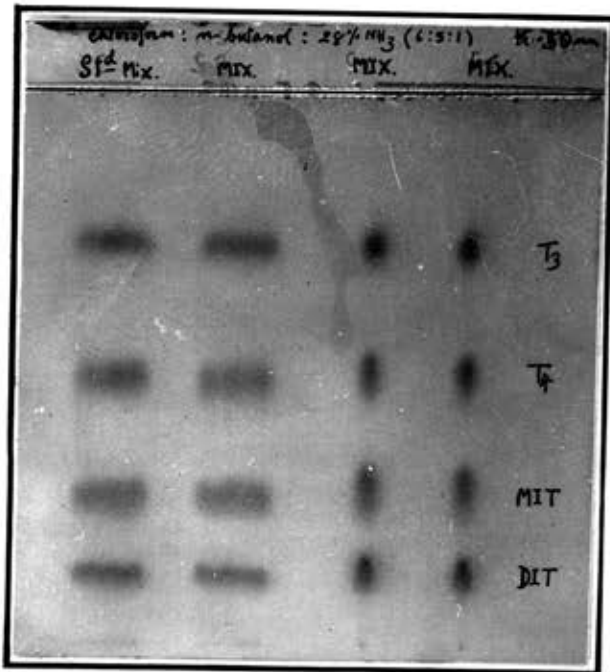
หมายเหตุ Av. = average (ค่าเฉลี่ย)

solvent system ที่ 1 ใช้ Kieselguhr G. หน้า 0.5 มิลลิเมตร

solvent system ที่ 2 และที่ 3 ใช้ Silicagel G. หน้า 0.5 มิลลิเมตร

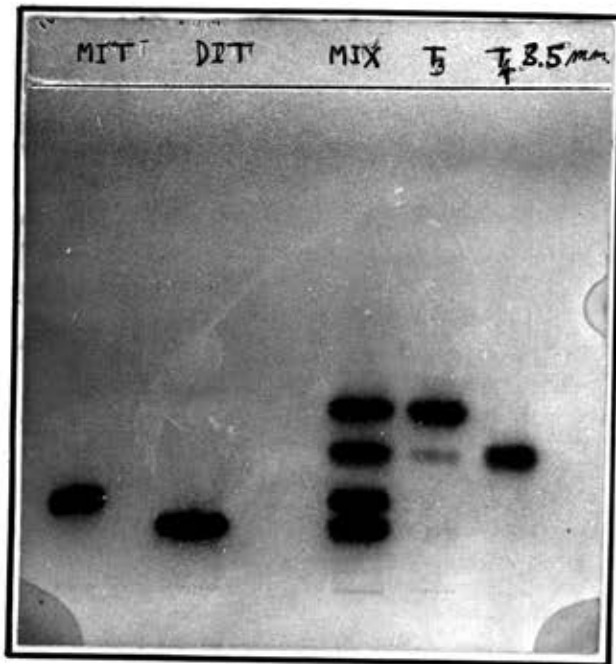


การแยกขั้วรอยฮอร์โมนมาตรฐานใน solvent system 3 ชนิด แสดงได้ดังรูปต่อไปนี้:-



รูปที่ 1 แสดงการแยกขั้วรอยฮอร์โมนมาตรฐานโดยใช้ solvent system ที่ 1
Chloroform:n-Butanol:28%NH₃
6 : 5 : 1
Kieselguhr G. หน้า 0.5 มิลลิเมตร

004752

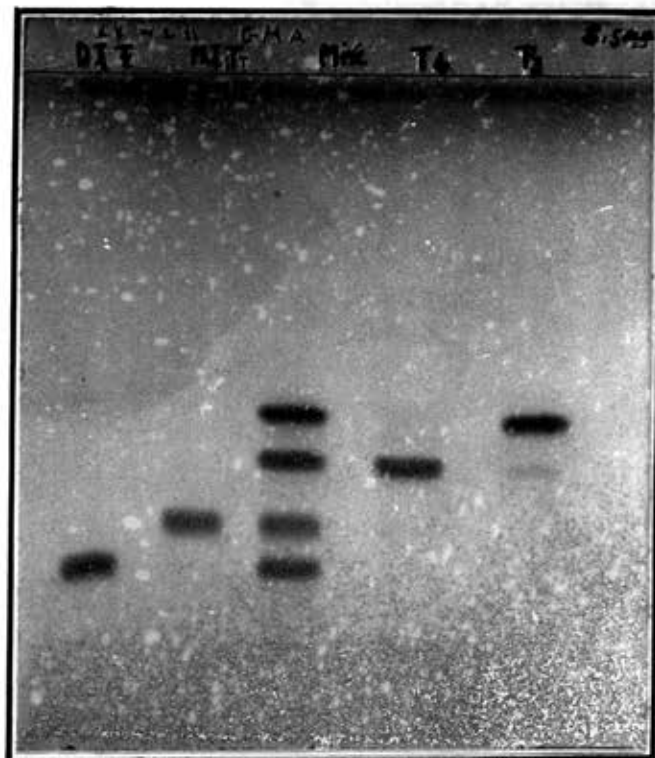


รูปที่ 2 แสดงการแยกขั้วรอยฮอร์โมนมาตรฐาน โดยใช้ solvent system ที่ 2
t-Amyl alc.:Dioxane:6%NH₄OH
3 : 5 : 2
Silica gel G. หน้า 0.5 มิลลิเมตร

หมายเหตุ : Mix = ส่วนผสมของขั้วรอยฮอร์โมนมาตรฐาน ซึ่งประกอบด้วย MIT, DIT, T₄ และ T₃ ในตัวทำละลาย methanol: ammonia (9:1)



รูปที่ 3 แสดงการแยกชั้นของสารโมโนมาทรูาน โดยใช้ solvent system ที่ 3



Ethyl acetate : Methanol : 6N NH_4OH
 5 : 2 : 3

Silica gel G.หนา 0.5 มิลลิเมตร

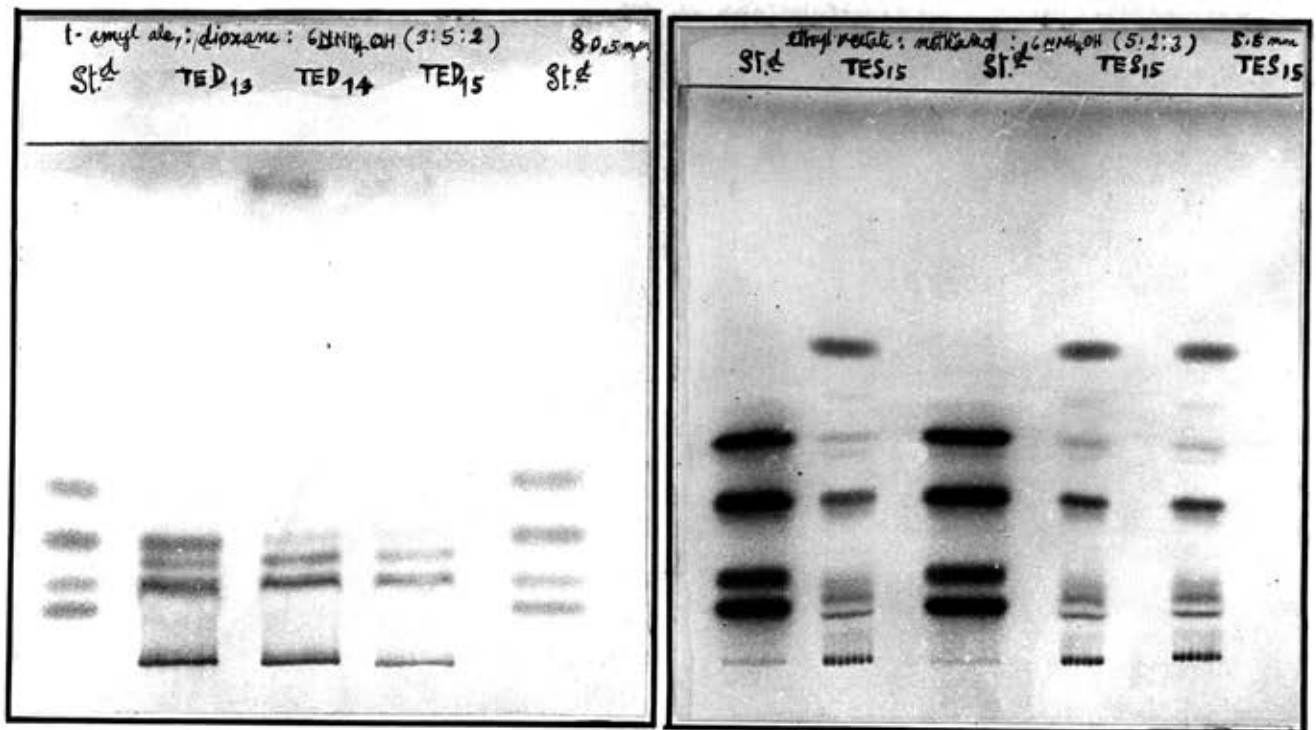
ตารางที่ 2 ผลของการศึกษาส่วนประกอบของซีรอยด์ฮอร์โมนที่สกัดได้จากเนื้อต่อมซีรอยด์ใน
 คนไข้คอปอกเป็นพิษ 16 ราย คอปอกชนิดเรื้อรัง 3 ราย คอปอกตะปุมตะป้า 3
 ราย และซีรอยด์ปกติจากศพที่เพิ่งถึงแก่กรรม 2 ราย ตามลำดับ โดยวิธีผ่าน
 Dowex resin และใช้ solvent system ที่ 2 (เทียบให้ซีรอยด์ฮอร์โมน
 มาตรฐานมีความเข้มข้นตัวละ 0.33 ไมโครกรัม = + + +)

เลขที่	คนไข้	อายุ	DIT	MIT	T ₄	T ₃
<u>คอปอกเป็นพิษ</u>						
1	FM	39	++	+++	++	0
2	F	20	+++	++++	+++	0
3	FM	40	0	+	+	0
4	M	35	0	++	+	0
5	F	22	++	+++	+	trace
6	FM	42	0	+++++	+	trace
7	F	32	0	+	+++	trace
8	FM	62	0	+++	+	trace
9	FM	29	0	++++	++++	0
10	FM	30	0	+++	++	0
11	FM	36	0	++++	+++	trace
12	FM	44	0	+++++	+++	+
13	FM	49	0	+++	+	0
14	FM	60	0	+++	++	0
15	F	16	0	+++	+	0
16	FM	39	trace	+++++	+	trace
<u>คอปอกธรรมดา</u>						
17	FM	30	+++++++	+++++++	+	0
18	FM	42	++++	++++	+	0
19	FM	33	+++++	+++++	++	trace
<u>คอปอกตะปุมตะป้า</u>						
20	FM	35	0	++	+	0
21	FM	40	0	++	+	0
22	FM	36	0	++	+	0
<u>ซีรอยด์ปกติจากศพ</u>						
23	G	12	+	++++	++++	+
24	M	52	+	+++++	+++++	+

หมายเหตุ :- F = female, single (นางสาว)
 M = male, single or married (นาย)
 FM = female-married (นาง)
 B = boy (เด็กชาย)
 G = girl (เด็กหญิง)

1.2 ผลของการศึกษาส่วนประกอบของซีรอยด์ฮอร์โมนของต่อมซีรอยด์ในคนไข้คอพอก
เป็นพิษ

รูปที่ 4 แสดงส่วนประกอบของซีรอยด์ฮอร์โมนของต่อมซีรอยด์ในคนไข้คอพอกเป็นพิษ



ก.

ข.

รูป ก. สกัดโดยวิธีผ่าน Dowex resin ใช้ solvent system ที่ 2

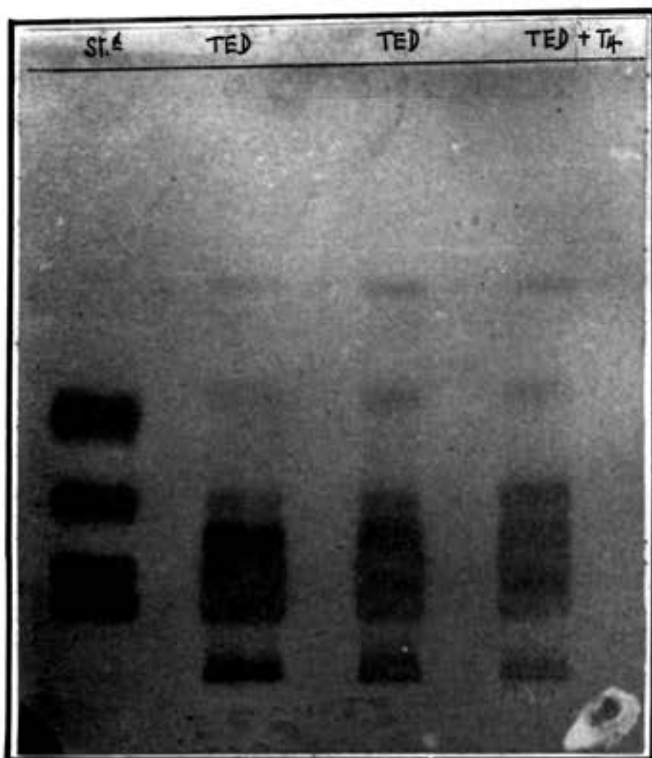
รูป ข. สกัดโดยวิธีผ่าน Sephadex LH-20 ใช้ solvent system ที่ 3

หมายเหตุ : st^d = ส่วนผสมของซีรอยด์ฮอร์โมนมาตรฐาน ซึ่งประกอบด้วย MIT, DIT, T_3 และ T_4 ในตัวทำละลาย methanol : ammonia (9 : 1) มีความเข้มข้นชนิดละ 0.33 ไมโครกรัม ต่อปริมาตร 5 ไมโครลิตร

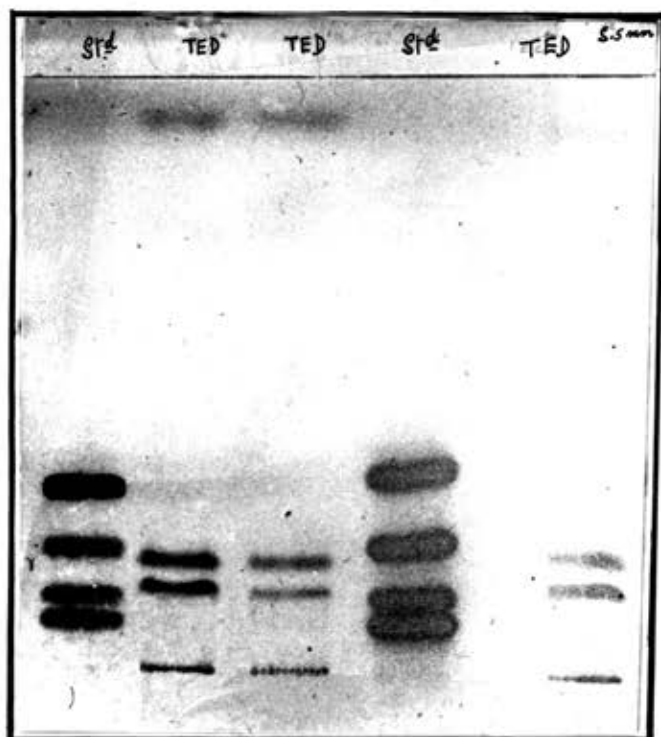
TED = ซีรอยด์ฮอร์โมนที่สกัดได้จากต่อมซีรอยด์โดยวิธีผ่าน Dowex resin

TES = ซีรอยด์ฮอร์โมนที่สกัดได้จากต่อมซีรอยด์โดยวิธีผ่าน Sephadex LH-20

1.3 ผลของการศึกษาส่วนประกอบของซีรอยด์ฮอร์โมนของเนื้อต่อมซีรอยด์ในคนไข้คอพอกไม่เป็นพิษ



รูปที่ 5 แสดงส่วนประกอบของซีรอยด์ฮอร์โมน
ในเนื้อต่อมซีรอยด์ของคนคอพอกธรรมดา
(Simple goitre) ใน solvent
system ที่ 2
t-Amyl alcohol : Dioxane : $6\text{NNH}_4\text{OH}$
3 : 5 : 2

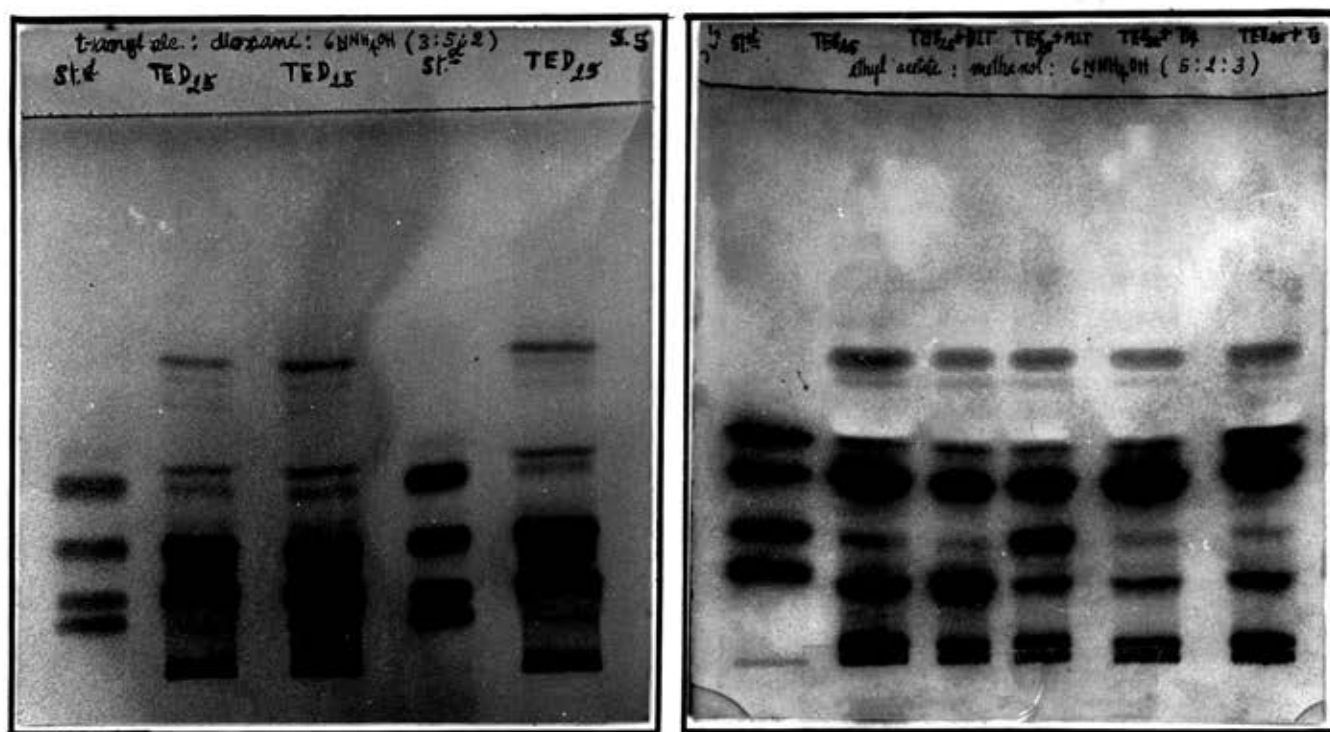


รูปที่ 6 แสดงส่วนประกอบของซีรอยด์ฮอร์โมนใน
เนื้อต่อมซีรอยด์ของคนคอพอกชนิดตะปุ่ม-
ตะป่ำ (Nodular goitre)
ใน solvent system ที่ 2
t-Amyl alcohol : Dioxane : $6\text{NNH}_4\text{OH}$
3 : 5 : 2

หมายเหตุ : TED = ซีรอยด์ฮอร์โมนที่สกัดได้ คายผ่าน Dowex resin

1.4 ผลของการศึกษาส่วนประกอบของรีयरอยด์ฮอร์โมนของต่อมธัยรอยด์จากศพที่มี
ต่อมธัยรอยด์ปกติ

รูปที่ 2 แสดงส่วนประกอบของรีयरอยด์ฮอร์โมนของต่อมธัยรอยด์ในคนที่ไม่มีโรคของต่อมธัยรอยด์
ของคนที่เพิ่งถึงแก่กรรมประมาณ 22 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 10° C ดังรูปต่อไปนี้:-



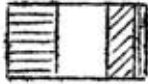



ก


ข


รูป ก. สกัดโดยวิธีผ่าน Dowex resin ใช้ solvent system ที่ 2
รูป ข. สกัดโดยผ่าน Sephadex LH-20 ใช้ solvent system ที่ 3


รูปที่ 8 แสดงแผนภูมิ (diagram) หยาบ ๆ แสดงผลเปรียบเทียบความแตกต่างของส่วนประกอบของซีรอยด์คอร์โมน จากเนื้อต่อมซีรอยด์ในคนปกติ คอพอกเป็นพิษ คอพอกธรรมดา และ คอพอกตะปุ่มตะป่ำ ที่ได้จากการศึกษานี้ (โปรดดูผลเปรียบเทียบในตารางที่ 2 หน้า 17)


คนไข้	ส่วนประกอบของซีรอยด์คอร์โมน ในเนื้อต่อมซีรอยด์	หมายเหตุ
ปกติ		มี DIT มากกว่าในคนคอพอกเป็นพิษ
คอพอกเป็นพิษ		DIT น้อยมากที่สุด
คอพอกธรรมดา		$\frac{MIT}{DIT} = 1$
คอพอกตะปุ่มตะป่ำ		ไม่พบ DIT

หมายเหตุ

 = MIT

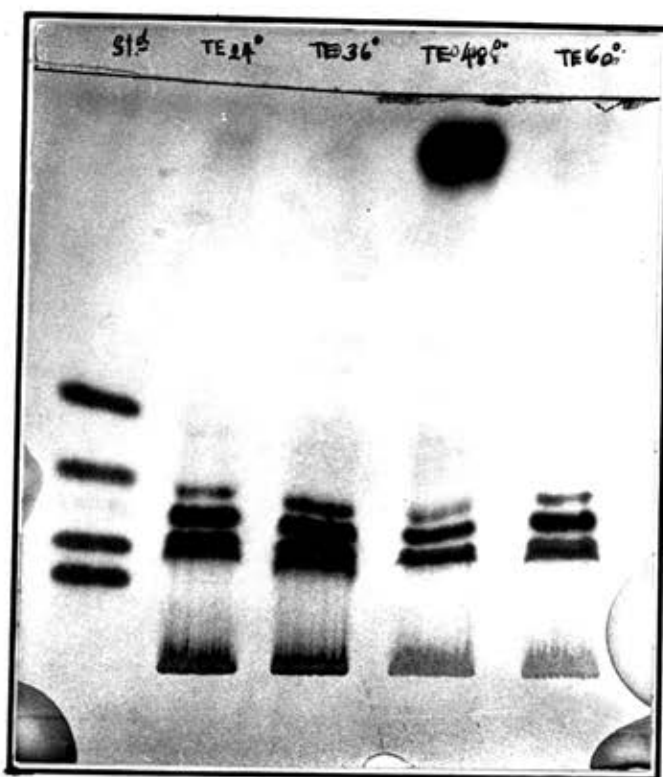
 = DIT

 = T₄

 = T₃

1.5 ผลของการหาเวลาที่เหมาะสมในการย่อยโปรตีนของเนื้อคอมซีรอยด์

รูปที่ 9 แสดงเวลาที่เหมาะที่สุด ในการย่อยโปรตีนของเนื้อคอมซีรอยด์ด้วย enzyme (Optimal time of incubation)



สกัดโดยวิธี Dowex resin ใช้ solvent system ที่ 2

t-Amyl alcohol : Dioxane : $6\text{NH}_4\text{OH}$

3 : 5 : 2

จากผลของการทดลองพบว่า optimal time of incubation อยู่ระหว่าง 24-36 ชั่วโมง และ incubate ที่ 36 ชั่วโมงได้ผลดีที่สุด

2. ผลการศึกษา TBG electrophoresis

ตารางที่ 3 แสดงผลของเปอร์เซ็นต์ TBG capacity โดย electrophoresis

เลขที่	คนไข้	%24 ช.ม. uptake	%ภายหลัง T ₃ suppression test	สภาพของโรค	ผล % TBG capacity
1	FM	80.10	80.18	H	66.07
2	B	76.10	75.50	H	64.39
3	M	66.30	61.80	H	54.18
4	FM	35.30	46.30	H	66.38
5	FM	84.60	76.80	H	53.63
6	F	88.10	86.80	H	66.74
7	M	83.90	79.25	H	68.52
8	FM	48.50	31.90	H	58.02
9	F	59.15	61.50	H	69.00
10	F	78.60	63.65	H	62.13
11	M	74.10	68.80	H	64.18
12	FM	91.90	92.12	H	58.78
13	FM	84.91	82.34	H	51.66
14	FM	65.11	86.49	H	47.72
15	FM	71.78	69.49	H	62.03
16	FM	52.20	54.20	H	69.59
17	F	89.90	94.10	H	48.14
18	FM	87.88	83.32	H	58.64
19	M	79.22	78.51	H	65.62
20	F	53.44	50.61	H	66.93
21	F	81.92	79.20	H	60.05
22	M	80.91	79.75	H	63.55
23	F	86.51	84.40	H	49.10
24	FM	90.10	93.35	H	60.90
25	FM	57.35	55.14	H	68.44
26	FM	89.66	87.05	H	49.50
					$\bar{X} = 60.53 \pm 7.05$
27	FM	49.91	12.10	E	74.55
28	FM	36.11	10.94	E	72.21
29	FM	37.25	12.66	E	71.27
30	FM	78.55	11.91	E	78.26
31	FM	27.85	4.50	E	73.41
32	F	40.99	5.47	E	71.44
33	M	74.33	45.00	E	73.95
34	FM	62.20	19.70	E	71.83
35	M	42.44	7.66	E	79.00
36	FM	50.30	11.15	E	77.82
37	G	73.35	29.14	E	69.74
38	FM	54.12	6.50	E	79.00
39	FM	37.30	20.80	E	77.31
40	F	47.22	19.25	E	77.06
41	FM	57.11	32.94	E	70.00
42	F	59.40	9.10	E	77.28
43	F	71.45	28.14	E	78.99
44	M	79.22	44.95	E	73.75
45	F	35.90	14.11	E	74.74
46	FM	54.66	12.45	E	79.88

47	FM	42.50	77.19	E	78.99
48	FM	64.91	10.20	E	75.40
49	F	65.70	17.50	E	77.99
50	FM	60.11	40.94	E	72.30
51	FM	43.10	17.54	E	71.80
52	FM	52.61	10.90	E	75.61
53	FM	73.33	47.90	E	
					$\bar{X} = 75.01 \pm 3.08$
54	G	-	-	M	85.88
55	G	-	-	M	82.62
56	FM	9.10	-	M	82.18
57	FM	13.50	-	M	80.01
					$\bar{X} = 82.28 \pm 2.35$
58	FM	1.50	-	มะเร็งในต่อมธัยรอยด์	82.01
59	FM	-	-	"	82.85
60	FM	-	-	กินยาคุมกำเนิด	83.30
61	FM	-	-	"	82.50
62	F	49.00	7.61	E	67.73=false positive
63	FM	79.91	75.60	H	75.66=false negative
64	FM	44.30	Fraser T index	M	78.25=false negative
			0.90		
65	F	52.30	10.50	E	65.22=false negative
66	FM	70.50	40.40	E	82.20=false positive

หมายเหตุ H = Hyperthyroid

E = Euthyroid

M = Hypothyroid

ดูเป็นในผู้ใหญ่เรียก

Myxedema

ดูเป็นในเด็ก เรียก

Cretinism

ผลจากตารางที่ 3 สรุปได้ดังนี้ :-

Hyperthyroid 26 คน มีค่าเปอร์เซ็นต์ TBG capacity = 60.53 ± 7.05

Euthyroid 27 คน มีค่าเปอร์เซ็นต์ TBG capacity = 75.01 ± 3.08

Hypothyroid 4 คน มีค่าเปอร์เซ็นต์ TBG capacity = 82.28 ± 2.35

มีข้อสังเกตความแข็งแรงของต่อมไทรอยด์ 2 คน แสดงค่าเปอร์เซ็นต์ TBG capacity สูง = 82.01 & 82.85

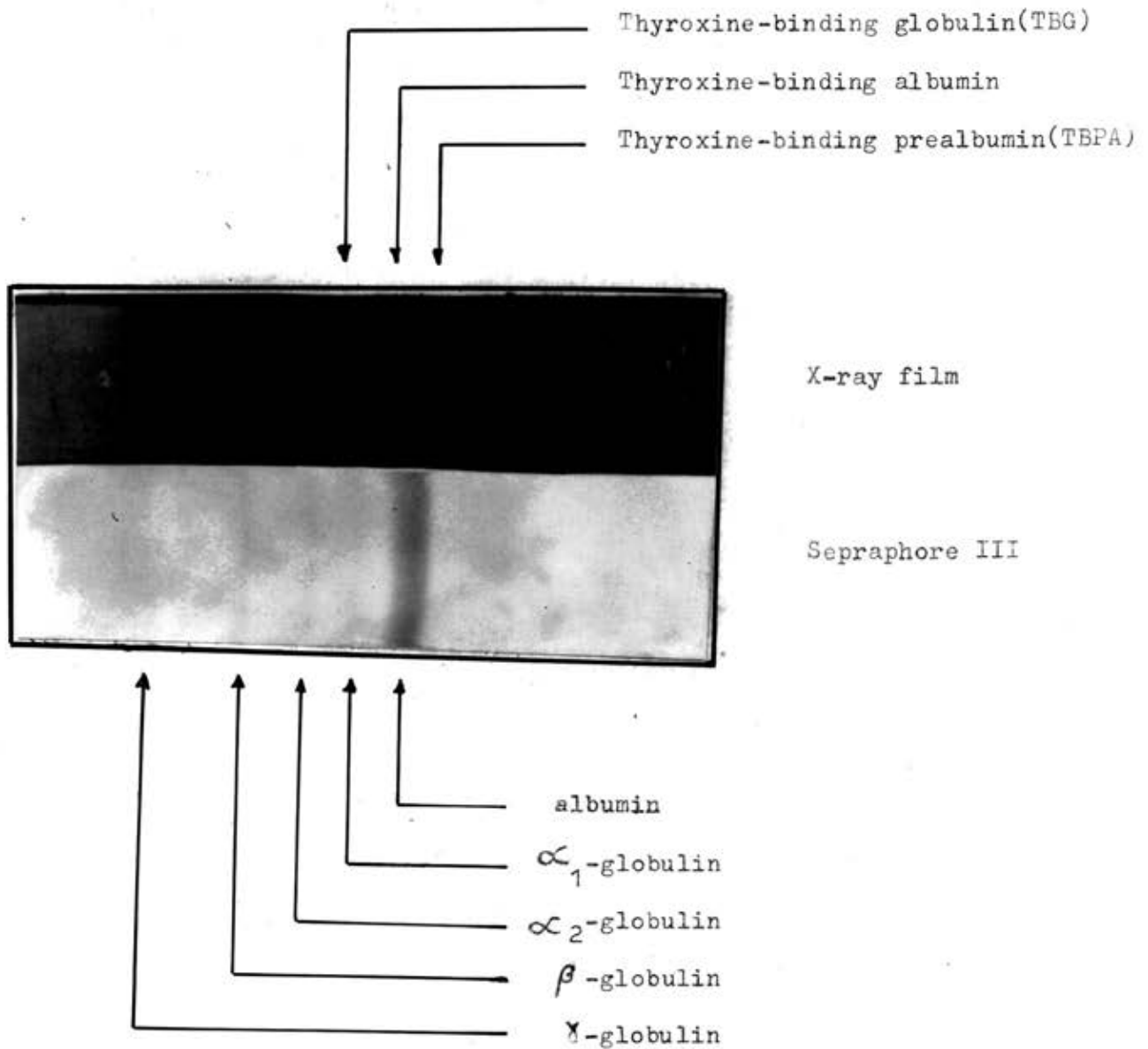
และคนที่รับประทานยาคุมกำเนิดนาน ๆ 2 คน พบว่าเปอร์เซ็นต์ TBG capacity สูง = 83.30 & 82.50

ตัวเลขเหล่านี้เปรียบเทียบได้อย่างดีกับตัวเลขของ Berger และคณะ, 1962 ซึ่งมีดังนี้ :-

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ TBG capacity ของ Berger และคณะ, 1962 กับ
ผลที่ได้จากการศึกษานี้

สภาพคนไข้	Method	%TBG capacity
H 30 คน	Berger และคณะ, 1962	57.3 ± 7.3
E 111 คน		76.4 ± 3.6
M 15 คน		84.1 ± 2.6
H 26 คน	จากผลการศึกษานี้	60.53 ± 7.05
E 27 คน		75.01 ± 3.08
M 4 คน		82.28 ± 2.35

รูปที่ 10 แสดงตัวอย่าง autoradiography ของ TBG electrophoresis ในราย
Hyperthyroid. (% TBG capacity = 49.50)



จับอยู่กับ $T_4-^{125}I$ (T_4^*) ที่เติมจากภายนอกต่อให้มีความเข้มข้น 0.1 ไมโครกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร
 กัมมันตภาพของ T_4^* จะไปปรากฏที่ Inter-alpha-globulin ซึ่งเป็น TBG มากและที่
 albumin น้อย แต่ถาเติม T_4^* ลงไปจนมีความเข้มข้น 0.48 ไมโครกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร
 กัมมันตภาพของ $T_4-^{125}I$ จะไปจับที่ albumin มากกว่าที่ α_1 และ α_2 -globulins
 แต่ถาเติม T_4^* ลงไปอีกจนมีความเข้มข้น 0.78 ไมโครกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร จะจับที่ albumin
 มากที่สุด และลงไปอยู่ที่ pre-albumin เรียก Thyroxine-binding pre-albumin
 (TBPA) (Berger และคณะ, 1962 ; Rich และ Bearn, 1958 Blumberg และ Robbins
 1958; Sakurada และคณะ, 1967) และถายังเติม T_4^* มากขึ้นอีก จะไปจับที่ pre-albumin
 มากขึ้นอีก ทั้งหมดนี้อาจแสดงให้เห็นได้โดย autoradiography (Sakurada และคณะ, 1967)

ตัวอย่างในรายของ Hyperthyroid ที่มีเปอร์เซ็นต์ TBG capacity ต่ำมาก ๆ แสดงว่ามี
 T_4 ในซีรัมสูง เมื่อเติม T_4^* จากภายนอกเข้าไป T_4^* จะไปยึดเกาะที่ α_1 และ α_2 -
 globulins และลงไปเกาะที่ albumin และ pre-albumin (รูปที่ 10 หน้า 25)
 ผลของการศึกษา TBG capacity นี้ มีค่าใกล้เคียงกับผลของ Berger และคณะ, 1962 ซึ่งอาจ
 เปรียบเทียบกันได้ในตารางที่ 4 หน้า 24

จะเห็นได้ว่า TBG เป็นเรื่องซับซ้อนและยุ่งยาก การตรวจการทำงานของต่อมธัยรอยด์ ได้วิธีหนึ่ง
 โดยจะเห็นว่า มี false positive และ false negative เพียงเล็กน้อย ซึ่งยอมเป็นขรรคมดา
 ของการตรวจทางห้องทดลองวิทยาศาสตร์โดยทั่ว ๆ ไป