

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

1. การวัดปริมาณ LH จากซีรัมในรอบเดือนของสตรีปกติโดยวิธีแอนติบอดีสองชนิด ได้ผลดังนี้

	LH $\pm$ SD (นาโนกรัม/มล.)
Follicular phase	29.35 $\pm$ 16.94
LH peak (ตอนกลางของรอบเดือน)	334.80 $\pm$ 43.02
Luteal phase	22.66 $\pm$ 13.25

2. การศึกษาผลของการหาปริมาณ LH จากซีรัมโดยวิธีแยกด้วยผงถ่าน

2.1 จากการศึกษาการทดลองวัดปริมาณ LH ในซีรัมด้วยวิธี radioimmuno-assay ใช้เทคนิคการแยกด้วยผงถ่าน ได้ดัดแปลงจากวิธีการของ Sand และ Torjesen (1973) ให้เหมาะสมและสะดวกมากขึ้นแก่การปฏิบัติงานในห้องทดลองดังนี้

- ก. ไม้ใส่ NaCl ใน buffer และเพิ่มปริมาณ BSA ใน buffer จาก 0.2% (w/v) เป็น 0.5%
- ข. เพิ่มปริมาณ LH มาตรฐาน จาก 0 - 12 นาโนกรัม เป็น 0 - 50 นาโนกรัม
- ค. เปลี่ยนความเข้มข้นของแอนติบอดีจาก 1:20,000 เป็น 1:40,000
- ง. ใช้ HFS แทนซีรัมของคนปกติ
- จ. ลด ปริมาตรลงจาก 1.0 มล. เป็น 0.5 มล.
- ฉ. ลดจำนวนถ่านในหลอดทดลองจาก 105 มก. เป็น 15 มก.
- ช. ใช้ผงถ่านอย่างเดียวกันในการแยก เนื่องจากการทดลองพบว่าการใช้เค้กแตรนไม่มีความจำเป็น

2.2 แพคเกจบางอย่างที่มีผลต่อการวัดปริมาณ LH โดยวิธีที่ดัดแปลงแล้วได้แก่

- ก. อุณหภูมิ พบว่าถ้าอุณหภูมิเปลี่ยนจะทำให้การทดลองเปลี่ยนไป ดังนั้นการทดลองทุกครั้งจึงใช้อุณหภูมิ 4 °C คงที่

ข. เวลา ปฏิกริยาจะเกิดถึงสมดุลในวันที่ 4 เมื่อ อินคิวเบทที่ 4°ซ. ปฏิกริยาจะถึงสมดุลเร็วขึ้นเมื่อแบ่งการอินคิวเบท 2 ระยะ คือ ที่ 18°ซ. 1 วัน หรือ 37°ซ. 3 ชม. เป็นระยะที่หนึ่ง และนำไปอินคิวเบทต่ออีก 2 วันที่ 4°ซ. เป็นระยะที่สอง

2.3 ผลเปรียบเทียบระหว่างวิธีแยกด้วยผงถ่าน และแอนติบอดีชนิดที่สอง พบว่าวิธีแยกด้วยผงถ่านใช้ได้ก็เท่ากับวิธีแยกด้วยแอนติบอดีชนิดที่สอง โดยดูจาก percentage recovery, ความแม่นยำ และความไว ดังตารางต่อไปนี้

	วิธีแยกด้วยผงถ่าน	วิธีแยกด้วยแอนติบอดีชนิดที่สอง
percentage recovery(+SD%)	98.3 ± 2.19	106.78 ± 4.09
ความไวในการวัด (พิโคกรัม/มล.)	11 - 24	18 - 20
ความแม่นยำ (นาโนกรัม/มล.)		
1. วัดในวันเดียวกัน		
ค่าสูง	264.5 (CV = 10.07)	301.6 (CV = 5.27)
ค่ากลาง	83.9 (CV = 7.65)	109.0 (CV = 11.45)
ค่าต่ำ	14.2 (CV = 24.78)	20.1 (CV = 28.28)
2. วัดต่างวันกัน		
ค่าสูง	268.1 (CV = 2.42)	291.5 (CV = 3.14)
ค่ากลาง	82.3 (CV = 4.65)	111.4 (CV = 11.60)
ค่าต่ำ	13.3 (CV = 6.50)	18.6 (CV = 13.84)

### 3 ข้อเสนอแนะ

3.1 ควรพิจารณาใช้วิธีแยกด้วยผงถ่านวัด IH เพราะได้ผลไม่แตกต่างจากวิธีแยกด้วยแอนติบอดีชนิดที่สอง ซึ่งเป็นที่นิยมกัน และยังเป็นวิธีที่ประหยัดกว่า



3.2 ผู้ที่จะปฏิบัติงานทางด้าน Radioimmunoassay ควรจะมีพื้นฐานความรู้เพียงพอเพื่อจะได้สามารถวางแผนในการทดลองปรับปรุง และเปลี่ยนแปลงเทคนิคบางอย่าง เพื่อให้เหมาะสมกับสภาพแวดล้อม ชนิดของเครื่องมือ และจุดประสงค์ของงานที่ทำ

### 3.3 สิ่งที่ต้องทำเพิ่มเติมคือ

ก. ปรับปรุงวิธีการอินทิวเบทสารเพื่อให้ปฏิกิริยาถึงสมดุลอย่างสมบูรณ์เร็วขึ้น โดยการอินทิวเบทในระยะแรกที่  $37^{\circ}\text{C}$  ต่อมาที่อุณหภูมิห้อง และที่  $4^{\circ}\text{C}$  ซึ่งอาจจะสามารถย่นระยะเวลาให้เสร็จเร็วขึ้น

ข. ควรจะศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเนื่องจากการใช้ buffer ชนิดต่าง ๆ ถึงแม้ผลที่ได้ในรายงานนี้ไม่อาจสรุปได้ว่า buffer ชนิดใดดีกว่าข้อมูลที่ได้ก็ยังไม่ชัดเจนว่า ปฏิกิริยาอาจจะเปลี่ยนแปลงได้ ทั้งนี้ ถ้าได้ศึกษาให้กว้างขวางและละเอียดกว่านี้ อาจจะได้ buffer พิเศษซึ่งช่วยให้ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นคือวิธีการที่เสนอในรายงานนี้ วิธีที่ใช้ในการคัดเลือคุณสมบัติของวิธีวัด ควรจะทดสอบทั้ง ความชันของกราฟมาตรฐาน และความไวในการวัด ประกอบกับความแม่นยำ และความถูกต้องของการวัดค่า pooled serum ด้วย

ค. ศึกษาวิธีทำ  $^{125}\text{I}$  - IH ให้บริสุทธิ์อื่น ๆ อีก เช่น ทดลองใช้คอลัมน์เซลลูโลส เป็นต้น มีรายงานหลายฉบับ (Hunter, 1969 และ Jeffcoate, 1971) ที่เสนอวิธีนี้ ทั้งนี้เพราะปฏิกิริยาจะเกิดได้ดีขึ้น ถ้าสามารถเตรียม  $^{125}\text{I}$  - IH ให้บริสุทธิ์ได้จริง ๆ

ง. ศึกษาวิธีแยก F ออกจาก B โดยใช้สารชนิดอื่น เช่น เรซิน เป็นต้น ทั้งนี้เพราะการแยกด้วยถ่านยังไม่ใช่วิธีที่ดีที่สุด แม้ว่าผลลัพท์จากการทดลองจะก็ไม่ได้ต่างจากวิธีแยกด้วยแอนติบอดีสองชนิด

จ. วัคซีนปริมาณ IH ในสตรีปกติระยะหมกประจำเดือน ผู้ชาย และเด็ก เพื่อใช้เป็นมาตรฐานสำหรับศึกษาเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในพยาธิสภาพต่าง ๆ