บทนำ

การมีระดู เป็นการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา พบในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม เช่น คนและลิง โดยเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของเยื่อบุมดลูก ซึ่งขึ้นกับระดับฮอร์โมนของรังไข่ ทำให้มีเลือดออกมาทางปากมดลูกเป็นเวลาประมาณ 3–7 วัน หลังจากมีการตกไข่แล้วประมาณ 2 สัปดาห์ ระยะเวลาการมีระดูห่างกันประมาณ 28 ± 7 วัน

ฮอร์โมนที่ควบคุมการมีระดูและการตกไข่ ฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองส่วนหน้าที่มีความสัมพันธ์ต่อการเจริญเติบโตของรังไข่ การตกไข่ และการมีระดู มี 2 ชนิดคือ

ก. Follicle stimulating hormone (FSH)

ข. Luteinizing hormone (LH)

FSH จะกระตุ้นรังไข่โดยเฉพาะที่ follicle ซึ่งอยู่ในระยะที่มี antral fluid ให้เจริญขึ้น(Jones และ Krohn , 1961) และทำงานร่วมกับ LH ทำให้เซลล์ theca externa และ theca interna ของรังไข่สังเคราะห์ฮอร์โมนเอสโตรเจน(estrogens) ปริมาณเอสโตรเจนที่เพิ่มขึ้นถึงระดับหนึ่งจะมีผลกระตุ้นให้ต่อมใต้สมองส่วนหน้าหลั่ง LH (Döcke และ Dörner, 1965 และ Labhsetwar , 1970) จากการทดลองพบว่าระดับเอสโตรเจนจะเพิ่มขึ้นในซีรัมก่อนมี LH peak ทั้งในคนและสัตว์ทดลอง(Burger และคณะ, 1968 ; Goebelsmann และคณะ, 1969 ; Brown – Grantและคณะ,1970 และ Hotchkiss และคณะ, 1971) ปัจจุบันเชื่อกันว่าเอสโตรเจนที่มีผลต่อการเกิด LH peak คือเอสตราไดออล(17 β – estradiol) (Wiele และคณะ, 1970) และพบว่าต้องมีระดับในพลาสมาสูงถึง 400 พิโคกรัม/มล. จึงจะทำให้เกิด LH peak ได้(Wiele และคณะ, 1970)

ขณะมีการตกไข่ระดับ LH จะสูงมากที่สุด สูงอยู่ประมาณ 30–36 ชม. (Stevens , 1969) Yussman และ Taymor (1970) พบว่าปริมาณ LH ที่เพิ่มสูงสุดเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดการตกไข่

LH จะทำงานร่วมกับ FSH กระตุ้นให้ follicle เจริญถึงขั้นสุดท้าย จนเกิดการตกไข่ LH จะทำหน้าที่ต่อไปทำให้ follicle ที่ตกไข่แล้วเปลี่ยนไปเป็น corpus luteum ซึ่งจะทำหน้าที่สร้างฮอร์โมนเอสโตรเจนและโปรเจสเตอโรน(progesterone)

ต่อมใต้สมองส่วนหน้าสร้าง FSH และ LH อยู่ตลอดเวลา แต่การที่จะหลั่งออกมาได้ต้องอาศัยการกระตุ้นโดยฮอร์โมนจาก Hypothalamus ก่อนคือ releasing hormone ของ FSH (FSH-RH) และ LH (LH-RH) (McCann และคณะ, 1968 และ McCann , 1970) ซึ่งสะสมอยู่บริเวณ median eminence (Watanabe และ McCann , 1968) และบริเวณ optic chiasma (Crighton และคณะ, 1970) ตามลำดับ releasing hormone จะเข้ามาสู่ต่อมใต้สมองโดยทางหลอดเลือด portal system (Nikitovitch-Winer และ Everett , 1958 และ Harris , 1969)

จากที่กล่าวมาแล้วจะเห็นว่า LH มีความสำคัญกับการตกไข่ซึ่งกำลังเป็นที่สนใจกันมากในปัจจุบัน Taymor (1959) และ Midgley (1966) ได้ทดลองหาปริมาณ LH ควบคู่ไปกับการตรวจโดยตัดชิ้นเนื้อจาก corpus luteum และเยื่อบุมดลูก การวัด Basal body temperature (BBT) และการตรวจเซลล์ในช่องคลอด(Vaginal cytology) พบว่า

ก. LH peak เกิดก่อนการตกไข่

ข. BBT ต่ำสุดอาจเกิดก่อน เกิดหลัง หรือเกิดพร้อมกับ LH peak

ปัจจุบันในวงการแพทย์โดยเฉพาะทางด้านการวางแผนครอบครัวได้นำความรู้เรื่องกลไกของการตกไข่ไปใช้ประโยชน์ในการควบคุมและส่งเสริมการมีบุตรโดยวิธีธรรมชาติ การหาปริมาณ LH ในรอบเดือนได้ก็จะเป็นประโยชน์ทางอ้อมที่จะช่วยให้วินิจฉัยได้ว่าผู้ที่มารับการตรวจรักษานั้นมีไข่ตกหรือไม่ และสามารถจะบอกได้ว่าการตกไข่เกิดขึ้นประมาณวันที่เท่าไรของรอบเดือน

การหาปริมาณ LH

1. Bioassay เริ่มแรกการหาปริมาณ LH ต้องทำในสัตว์ทดลองส่วนมากใช้หนูขาว เรียกวิธีนี้ว่า bioassay หลักการของวิธีนี้คือนำสารที่จะทดลองหาปริมาณ LH ซึ่งสกัดแยกได้จากปัสสาวะ ซีรัม หรือต่อมใต้สมอง ฉีดเข้าไปในหนู และดูผลที่เกิดขึ้นซึ่งจะมีความจำเพาะต่อฮอร์โมนที่จะวัดเท่านั้น วิธีที่มีความจำเพาะต่อ LH มี 2 วิธี

ก. The ventral prostate weight of hypophysectomized male rat (Greep และคณะ, 1941)

ข. Depletion of ovarian ascorbic acid in pseudopregnant female rat (Parlow, 1958)

2. Immunoassay เมื่อความรู้ทาง Immunology เริ่มมีบทบาทสำคัญ การหาปริมาณ LH จึงนำเอาความรู้ทางด้านนี้มาใช้ เรียกวิธีนี้ว่า Immunoassay อาศัยหลักที่ว่า ในสัตว์ชั้นสูงเมื่อมีสิ่งแปลกปลอม(antigen)เข้าไปในร่างกายจะเกิด immune response สร้างแอนตีบอดี(antibody)ขึ้น เมื่อฉีด LH เข้าร่างกายสัตว์ทดลอง ก็จะเกิด anti-LH ขึ้นในซีรัม อาจใช้ Human Chorionic gonadotrophin (HCG)แทน LH ได้เพราะ HCG มีคุณสมบัติทางชีวภาพเช่นเดียวกับ LH และมีสูตรโครงสร้างของโมเลกุลคล้ายกับ LH(Goss และ Taymor , 1962)

วิธี immunoassay มีหลายวิธี

ก. Haemagglutination inhibition test (Wide และคณะ, 1961)

ข. Complement fixation test (Trenkle และคณะ, 1961)

ค. Precipitin test (McKean และคณะ, 1960)

3. Radioimmunoassay เป็นวิธีหนึ่งของ Immunoassay แต่นำสารรังสีมาร่วมใช้ในปฏิกริยาด้วย วิธีนี้เป็นที่นิยมใช้กันแพร่หลายในปัจจุบัน

Ekins และคณะ(1968) ให้ชื่อรวมของวิธีนี้ว่า saturation analysis หลักการโดยทั่วไปของวิธี radioimmunoassay มีดังนี้

ถ้า P เป็นสารที่จะวัด อาจเป็นสารแอนติเจน เสถียรอยด์ เอนไซม์ ฯลฯ ส่วนใหญ่มีในร่างกาย เช่น เลือดและปัสสาวะ

Q เป็น specific substance ที่มีความสัมพันธ์(affinity) กับสาร P เช่น แอนติบอดี, specific โปรตีนในพลาสมา, substrate ฯลฯ

เมื่อให้ P ทำปฏิกริยากับ Q ความเข้มข้นของ Q คงที่ อัตราส่วนระหว่างส่วนที่ P และ Q ทำปฏิกริยา(Bound , B)แทนด้วย [PQ] และส่วนที่ไม่ทำปฏิกริยา(Free , F) จะเป็นอัตราส่วนกับความเข้มข้นของ P ก่อนทำปฏิกริยา ซึ่งเป็นไปตาม Law of mass action

$$P + Q \rightleftharpoons PQ$$

$$K = \frac{[PQ]}{[P][Q]}$$

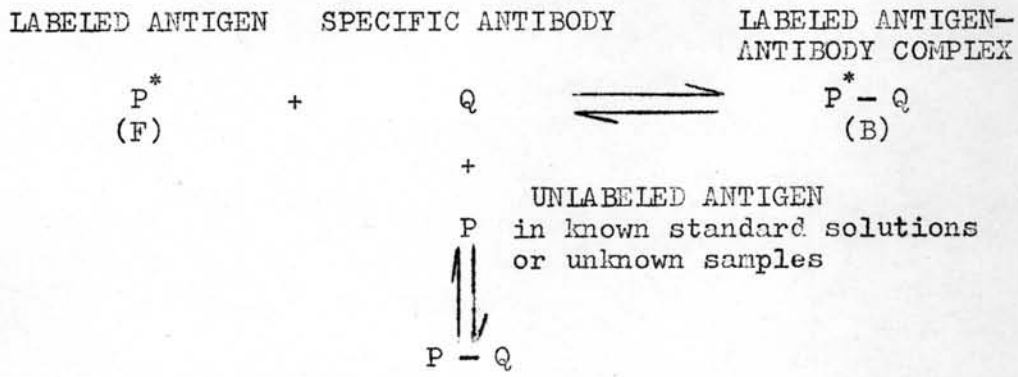
เมื่อ [Q] คงที่ ดังนั้นค่า K (equilibrium constant) จึงขึ้นอยู่กับแฟกเตอร์ $\frac{[PQ]}{[P]}$

สิ่งที่สำคัญในการทดลองขึ้นอยู่กับค่าของ K การเลือกความเข้มข้นที่พอเหมาะของ P และ Q จะทำให้ได้ความไวตามต้องการ

ในการทดลองต้องเลือกสภาวะที่เหมาะสมที่จะสามารถวัดปริมาณของ P ในสารตัวอย่าง โดยเปรียบเทียบอัตราส่วนการกระจายของ P ระหว่าง F และ B ในสารที่ต้องการจะวัดกับสารมาตรฐาน

อัตราการกระจายของ F และ B ของสารมาตรฐาน จะทำเป็นกราฟมาตรฐาน โดยทั่วไปจะเขียนกราฟระหว่างอัตราส่วน B ต่อ F หรือ F ต่อ B กับความเข้มข้นของ P ค่า F และ B ได้จากการวัดกัมมันตภาพรังสีของสารP (P^*) ใน F และ B ซึ่งใส่ลงไปตอนเริ่มต้นของปฏิกริยา วัดเป็น count /นาที

ปฏิกริยาที่สมบูรณ์เบื้องต้นของวิธีนี้มีดังนี้



ถ้าจำนวน P เพิ่มมากขึ้นจะไปแย่งที่ในการจับกับ binding sites ของ Q จาก P^* ซึ่งมีจำนวนคงที่ free P^* จะเพิ่มมากขึ้นตามจำนวน P ที่มากขึ้น จากนี้สามารถจะเอาค่า P^* (free) หรือ P^*– Q(bound)มาเขียนเป็นกราฟมาตรฐานเพื่อหาปริมาณของสารตัวอย่างได้

วิธีแยก B และ F ออกจากกันมีหลายวิธี

ก. Chromatography มี paper, cellulose column, sephadex column

ข. การตกตะกอน B ใช้พวก เกลือ,อัลกอฮอล์,dioxane และแอนตีบอดีชนิดที่สอง(second antibody)

ค. การตกตะกอน F ใช้ solid adsorbents มีหลายชนิด เช่น ถ่าน, ion–exchange resin , Floresil , Fuller's earth และ sephadex

วิธีการที่พบในรายงานต่างๆแตกต่างกันในวิธีการแยก F และ B ออกจากกัน วิธีที่นิยมใช้มากคือ การแยกโดยใช้แอนตีบอดีชนิดที่สองตกตะกอน B เป็นการแยกที่ได้ผลดีที่สุด ได้แก่รายงานของ Midgley (1966), Midgley และ Jaffe (1966), Odell และคณะ(1966), Faiman และ Ryan (1967), Odell และคณะ(1967) และ Aono และคณะ(1967) ข้อเสียของวิธีนี้คือสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายสูงเพราะ แอนตีบอดีชนิดที่สองมีราคาแพง ดังนั้นจึงมีผู้คิดวิธีตกตะกอน B ด้วยวิธีต่างๆกันออกไป เพื่อประหยัดค่าใช้จ่าย และพยายามให้ได้ผลดีเช่นกัน

Wide และ Porath (1966) และ Said และ Wide (1973) ตกตะกอน B โดยให้แอนตีบอดีจับกับ insoluble polysaccharide (sephadex)

Wilson และ Hunter (1966), Tomoda และ Hreshchyshyn (1968), Thomas และ Ferin (1968) และ Kazeto และคณะ (1971) ตกตะกอน B ด้วยเกลือ หรือสารละลายอินทรีย์ เช่น อัลกอฮอล์, dioxane ฯลฯ

Burger และคณะ (1968) และ Saxena และคณะ (1968) แยก F และ B ด้วยวิธี chromato -- electrophoresis

การแยก F และ B ด้วยการตกตะกอน F พบว่า Lazarus และ Young (1968) ตกตะกอน F ด้วย ion-exchange resin

Neill และคณะ (1967), Binoux และ Odell (1973) และ Sand และ Torjesen (1973) ตกตะกอน F ด้วยถ่าน (activated charcoal)

งานที่ได้ศึกษาเป็นการหาปริมาณ LH ในซีรัม โดยวิธี radioimmuno-assay แบ่งการศึกษาเป็นหัวข้อดังนี้

ก. หาปริมาณของ LH ในซีรัมในรอบเดือนของสตรีปกติ โดยเทคนิคการแยกด้วยแอนตีบอดีชนิดที่สอง ดัดแปลงจากวิธีของ Aono และคณะ (1967)

ข. ศึกษาเทคนิคการตกตะกอนฮอร์โมนส่วนที่ไม่ได้ทำปฏิกริยา (free) โดยใช้ถ่าน ดัดแปลงจากวิธีของ Sand และ Torjesen (1973)

ค. เปรียบเทียบผลการทดลองหาปริมาณ LH โดยเทคนิคการแยกด้วยถ่านและแอนตีบอดีชนิดที่สอง โดยดูจากปริมาณ LH ใน pooled serum ที่หาได้จากทั้งสองวิธี

แบบต่างๆ ของ ' saturation analysis ' และการใช้