ระดับซีรัมแฮบโตกลอบบินในคนไข้ที่ได้รับการฉายรังสีแกมมาจากโคบอลต์-60

นางสาว สุกัญญา เมฆอรียะ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
ภาควิชานิวเคลียร์เทคโนโลยี
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ.2536

ISBN 974-582-512-3

ลิขสิทธิของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

019694
1178908628

SERUM HAPTOGLOBIN LEVELS IN PATIENTS EXPOSED TO GAMMA RADIATION FROM Co-60

Miss Sukanya Mekariya

A Thesis Submitted in Partial Fulfilllment of The Requirements

for the Degree of Master of Engineering

Department of Nuclear Technology

Graduate School

Chulalongkorn University

1993

ISBN 974-582-512-3

หัวข้อวิทยานิพนธ์ ระดับซีรัมแฮบโตกลอบบินในคนไข้ที่ได้รับการฉายรังสีแกมมาจากโคบอลต์-60

โดย นางสาว สุกัญญา เมฆอรียะ

ภาควิชา นิวเคลียร์เทคโนโลยี

อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ชยากริต ศิริอุปถัมภ์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ศาสตราจารย์ ดร. ถาวร วัชราภัย)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ศิริวัฒนา บัญชรเทวกุล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ชยากริต ศิริอุปถัมภ์)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สมยศ ศรีสถิตย์)

..... กรรมการ

(อาจารย์ อรรถพร ภัทรสุมันต์)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

สุกัญญา เมฆอรียะ : ระดับซีรัมแฮปโตกลอบินในคนไข้ที่ได้รับการฉายรังสีแกมมาจากโคบอลต์-60 (SERUM HAPTOGLOBIN LEVELS IN PATIENTS EXPOSED TO GAMMA RADIATION FROM Co-60) อ.ที่ปรึกษา : ผศ.ชยากริต ศิริอุปถัมภ์, 92 หน้า ISBN974-582-512-3

ได้ทำการศึกษาระดับซีรัมแฮปโตกลอบินในคนปกติ คนไข้ที่อยู่ในระหว่างการฉายรังสีเพื่อรักษาโรคมะเร็ง และคนไข้หลังการฉายรังสี จุดประสงค์เพื่อเป็นการได้สวนว่า ระดับแฮปโตกลอบินอาจเป็นตัวชี้บอกถึงการได้รับรังสีระดับสูงในคน และกลไกการตอบสนองของร่างกายต่อรังสีโดยการสร้างซีรัมแฮปโตกลอบิน รวมถึงการพยายามที่จะได้สวนว่า แฮปโตกลอบินเป็นสารกำจัดอนุมูลอิสระตัวหนึ่ง ที่ร่างกายสร้างขึ้น

การวิเคราะห์ปริมาณซีรัมแฮปโตกลอบินโดยวิธี Immunoturbidimetry ได้ผลดังนี้ ในคนปกติเพศหญิงจำนวน 17 คน มีปริมาณซีรัมแฮปโตกลอบินอยู่ในช่วง 98-247 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ในคนไข้โรคมะเร็งปากมดลูกที่มาเริ่มการรักษาโดยรับการฉายรังสีจำนวน 39 คน มีปริมาณซีรัมแฮปโตกลอบินอยู่ในช่วง 104-478 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ปริมาณซีรัมแฮปโตกลอบินที่เปลี่ยนแปลงในคนไข้โรคมะเร็งปากมดลูกขณะได้รับการฉายรังสีภายนอกจากโคบอลต์-60 ปริมาณรังสี 200 แรดต่อวัน เป็นจำนวนคนไข้ 22 คน โดยระดับซีรัมแฮปโตกลอบินจะเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นสูงสุดในวันที่ 6-8 หลังจากได้รับรังสีครั้งแรก เมื่อวัดความแปรปรวนแบบ Two-way ANOVA ค่าเฉลี่ยจะมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P<.0001$) ในหญิงปกติจำนวน 6 คนระยะเวลา 27 วัน เมื่อวัดความแปรปรวนแบบ One-way ANOVA ค่าเฉลี่ยในช่วงระยะดังกล่าวของซีรัมแฮปโตกลอบินไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ระดับซีรัมแฮปโตกลอบิน 3 วันติดต่อกันในคนไข้ 3 คน ก่อนที่คนไข้จะเริ่มรับการฉายรังสีไม่มีความแตกต่างทางสถิติโดยวัดความแปรปรวนแบบ One-way ANOVA คนไข้จำนวน 9 คน หลังจากได้รับการฉายรังสีแกมมาทั้งภายนอกและภายในแล้ว นาน 6 เดือน เมื่อวัดความแปรปรวนแบบ Two-way ANOVA ของระดับซีรัมแฮปโตกลอบินของแต่ละคนไข้มีความเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ

โปรตีนที่มีไมเลกุลขนาดเล็ก เช่น อัลบูมิน กลอบบูลินของกระต่าย และกลอบบูลินของคน เมื่อทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระที่เกิดจากสารเคมีทำปฏิกิริยากัน และวัดปริมาณความเข้มฟลูออเรสเซนต์สัมพัทธ์ที่เปลี่ยนไปได้ผลว่า สารไธโอยูเรียความเข้มข้น 1.5 มิลลิโมลาร์ มีการยับยั้ง 85, 72 และ 82 เปอร์เซนต์ในโปรตีนทั้งสามชนิดตามลำดับ สารแมนนิทอลความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์มีการยับยั้ง 20, 15 และ 18 เปอร์เซนต์ในโปรตีนทั้งสามชนิดตามลำดับ มีคุณสมบัติเป็นสารกำจัดอนุมูลอิสระ $OH^{\cdot}$ ต่อเมื่อความเข้มข้น 1 โมลาร์ ส่วนแฮปโตกลอบินความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ให้ผลการยับยั้ง 17, 11 และ 16 เปอร์เซนต์ในโปรตีนทั้งสามชนิดตามลำดับ

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา นิวเคลียร์เทคโนโลยี ลายมือชื่อนิสิต สุกัญญา เมฆอรียะ

สาขาวิชา นิวเคลียร์เทคโนโลยี ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

ปีการศึกษา 2535 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

C216939 : MAJOR NUCLEAR TECHNOLOGY
KEY WORD: HAPTOGLOBIN/ ALPHA-2 MACROGLOBULIN/ FREE RADICALS/ FREE RADICAL SCAVENGER
SUKANYA MEKARIYA : SERUM HAPTOGLOBIN LEVELS IN PATIENTS EXPOSED TO GAMMA RADIATION FROM Co-60 THESIS ADVISOR : ASST. PROF. CHYAGRIT SIRI-UPATHUM, M.Eng. 92 pp. ISBN 974-582-512-3

A study on serum haptoglobin was conducted in carcinoma patients exposed to gamma radiation both during and after exposure. The purpose of the study were to investigate whether serum haptoglobin may be an indicator for accidental exposure of radiation in man, to elucidate the response of human body by secretion of serum haptoglobin after radiation exposure and to investigate the free radical scavenger property of serum haptoglobin.

Serum haptoglobin levels were measured by immunoturbimetry in a Turbitimer. Haptoglobin concentrations of 17 normal women had a range of 98-247 mg/dl. In 39 invasive cervical carcinoma patients had serum haptoglobin concentrations from 100-478 mg/dl. The increasing changes of serum haptoglobin concentrations in 22 cervical carcinoma patients during exposed to external gamma radiation from Co-60 were significant ($P<.0001$) using Two-way ANOVA. The maximum rises were at day 6-8 in most of the patients. There were no significant differences of serum haptoglobin concentrations in 6 normal women throughout 30 days by One-way ANOVA. There were significant differences of individual 9 patients after exposed to external and internal gamma radiation by Two-way ANOVA. These changes prolonged up to 6 months.

Small molecule proteins such as albumin, rabbit globulin and human globulin react with free radicals generated by Cu^{+2} and H_2O_2 and lose their fluorescent properties. Measurement of relative fluorescence intensity changes in term of percent inhibition showed free radical scavenger property of substances. It was found that 1.5 mM thiourea had 85, 72 and 84 percent inhibition in the three proteins respectively, 10mM mannitol had 20, 15 and 18 percent inhibition and 50 mg/dl haptoglobin had 17, 11 and 16 percent inhibition in the three proteins respectively. Mannitol showed $OH^{\cdot}$ radical scavenger when the concentration was 1 molar.

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา นิวเคลียร์เทคโนโลยี ลายมือชื่อนิสิต _____

สาขาวิชา นิวเคลียร์เทคโนโลยี ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา _____

ปีการศึกษา 2535 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม _____

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี เนื่องจากได้รับความอนุเคราะห์จากอาจารย์ และบุคคลต่างๆ ผู้ศึกษาขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ชยากริต ศิริอุปถัมภ์ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ให้ความรู้และคำแนะนำต่างๆในระหว่างการทำวิทยานิพนธ์ รวมทั้งความกรุณาตรวจสอบและแก้ไขวิทยานิพนธ์ จนสำเร็จลุล่วงไปอย่างสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณคณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์ ประกอบด้วย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ศิริวัฒนา บัญชรเทวกุล ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สมยศ ศรีสถิตย์ และอาจารย์อรรถพร ภัทรสุมันต์ที่ได้ให้คำแนะนำอันเป็นประโยชน์ต่อการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ตึกโคบอลต์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือในการเก็บมูลเกี่ยวกับผู้ป่วยโรคมะเร็งปากมดลูก

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ชั้นสี่ตึกภปร. โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ที่ให้ความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างเลือด

ขอขอบคุณ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนอุดหนุนในการทำวิทยานิพนธ์นี้

ท้ายสุดนี้ คุณประโยชน์อันพึงจะได้รับจากวิทยานิพนธ์นี้ ผู้ศึกษาขอมอบให้แก่ บิดา–มารดา และครูบาอาจารย์ทุกท่าน เพื่อน้อมรำลึกถึงพระคุณในการอบรมให้การศึกษา ตลอดมา

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ

กิตติกรรมประกาศ..... ฉ

สารบัญ..... ช

สารบัญตาราง..... ญ

สารบัญภาพ..... ฎ

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ความเป็นมาของปัญหา..... 1

1.2 การศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 7

1.3 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย..... 9

1.4 ขอบเขตของงานวิจัย..... 10

1.5 สถานที่ทำการวิจัย..... 10

1.6 วิธีดำเนินการวิจัย..... 10

1.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 10

บทที่ 2 เรื่องทั่วไปเกี่ยวกับแฮปโตกลอบบินและวิธีวิเคราะห์

2.1 แฮปโตกลอบบิน..... 12

2.2 วิธีวิเคราะห์ปริมาณแฮปโตกลอบบินที่ใช้ในปัจจุบัน..... 14

2.3 หลักการของวิธีวิเคราะห์ปริมาณแฮปโตกลอบบินโดยวิธี Immunoturbidimetry และใช้เครื่อง Turbitimer 15

2.4 วิธีการทดสอบคุณสมบัติของสาร Free Radical Scavenger..... 19

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

2.5 หลักการวิเคราะห์ปริมาณฟลูออเรสเซนต์ ที่ใช้ในการทดสอบคุณสมบัติ Free Radical Scavenger..... 21

2.6 การเก็บซีรัมตัวอย่างเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณแฮบโตกลอบบิน..... 24

บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์ สารเคมี และวิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ซีรัมแฮบโตกลอบบิน..... 25

3.2 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวัดปริมาณฟลูออเรสเซนต์..... 26

3.3 วิธีวิเคราะห์ปริมาณแฮบโตกลอบบิน..... 30

3.4 วิธีวิเคราะห์ปริมาณฟลูออเรสเซนต์..... 30

3.5 การคำนวณค่าความเข้มฟลูออเรสเซนต์สัมพัทธ์(Relative Fluorescence Intensity)34

บทที่ 4 ผลการวิจัย

4.1 ผลของระดับซีรัมแฮบโตกลอบบิน..... 35

4.2 ผลของการทดสอบคุณสมบัติ Free Radical Scavenger..... 36

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย..... 57

5.2 ข้อเสนอแนะ..... 58

บรรณานุกรม..... 59

ภาคผนวก ก. Free Radical Scavenger ชนิดต่างๆ และคุณสมบัติ..... 66

ข. การวิเคราะห์ความแปรปรวน(Analysis of variance,ANOVA)..... 67

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

ประวัติผู้เขียน..... 80

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

3.1 แสดงปริมาตรของสารละลายในการวิเคราะห์ปริมาณฟลูออเรสเซนต์..... 32

4.1 แสดงระดับซีรัมแฮบโตกลอบบินในคนไข้กลุ่มที่1ขณะ ได้รับการฉายรังสี..... 37

4.2 แสดงระดับซีรัมแฮบโตกลอบบินในคนไข้กลุ่มที่2ขณะ ได้รับการฉายรังสี..... 37

4.3 แสดงระดับซีรัมแฮบโตกลอบบินในคนไข้กลุ่มที่3ขณะ ได้รับการฉายรังสี..... 42

4.4 แสดงระดับซีรัมแฮบโตกลอบบินในคนไข้กลุ่มที่4ขณะ ได้รับการฉายรังสี..... 47

4.5 แสดงระดับซีรัมแฮบโตกลอบบินในคนปกติที่ไม่ได้รับการฉายรังสี..... 47

4.6 แสดงระดับซีรัมแฮบโตกลอบบินในคนไข้ก่อน ได้รับการฉายรังสี..... 52

4.7 แสดงระดับซีรัมแฮบโตกลอบบินในคนไข้หลังจาก ได้รับการฉายรังสี..... 52

4.8 แสดงความเข้มฟลูออเรสเซนต์สัมพัทธ์ที่ได้จากการทดลอง..... 56

ก.1 แสดง Free radical scavenger ชนิดต่างๆ และคุณสมบัติ..... 66

ข.1 แสดงตารางค่า F-distribution..... 79

สารบัญภาพ

รูปที่ หน้า

1.1 แสดงการเปลี่ยนแปลงของกรดไขมัน เมื่อทำปฏิกิริยากับ free radical. 4

2.1 แสดงลักษณะปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี..... 16

2.2 แสดงการคำนวณ V_{max}และ t_{vmax}..... 17

2.3 แสดงพารามิเตอร์ V_{max} กับความเข้มข้น..... 18

2.4 แสดงพารามิเตอร์ t_{vmax} กับความเข้มข้น..... 18

2.5 แสดงพารามิเตอร์คู่ V_{max} และ t_{vmax} กับความเข้มข้น..... 19

2.6 แสดงโครงสร้างโมเลกุลของกรดอะมิโน Tryptophan และ N-Formylkyunrnine..... 22

2.7 แสดง Excitation spectrum และ Emission spectrum..... 23

3.1 แสดงเครื่อง Turbitimer..... 26

3.2 แสดงเครื่อง Shimadzu Spectrophotometer R520..... 27

3.3 แสดงลักษณะการทำงานของเครื่อง Spectrofluorimeter..... 27

4.1 แสดงระดับซีรัมแฮปโตกลอบบินในคนไข้กลุ่มที่1ขณะ ได้รับการฉายรังสี..... 38

4.2 แสดงการเปลี่ยนแปลงของแฮปโตกลอบบินในคนไข้กลุ่มที่1ขณะ ได้รับการฉายรังสี..... 39

4.3 แสดงระดับซีรัมแฮปโตกลอบบินในคนไข้กลุ่มที่2ขณะ ได้รับการฉายรังสี..... 40

4.4 แสดงการเปลี่ยนแปลงของแฮปโตกลอบบินในคนไข้กลุ่มที่2ขณะ ได้รับการฉายรังสี..... 41

4.5 แสดงระดับซีรัมแฮปโตกลอบบินในคนไข้กลุ่มที่3ขณะ ได้รับการฉายรังสี..... 43

4.6 แสดงการเปลี่ยนแปลงของแฮปโตกลอบบินในคนไข้กลุ่มที่3ขณะ ได้รับการฉายรังสี..... 44

4.7 แสดงระดับซีรัมแฮปโตกลอบบินในคนไข้กลุ่มที่3(ต่อ)ขณะ ได้รับการฉายรังสี. 45

4.8 แสดงการเปลี่ยนแปลงของแฮบโตกลอบบิน ในคนไข้กลุ่มที่3(ต่อ)ขณะ ได้รับการฉายรังสี..... 46

4.9 แสดงระดับซีรัมแฮบโตกลอบบิน ในคนไข้กลุ่มที่4ขณะ ได้รับการฉายรังสี..... 48

4.10 แสดงการเปลี่ยนแปลงของแฮบโตกลอบบิน ในคนไข้กลุ่มที่4ขณะ ได้รับการฉายรังสี..... 49

4.11 แสดงระดับซีรัมแฮบโตกลอบบิน ในคนไข้กลุ่มที่1,2,3และ4ขณะ ได้รับการฉายรังสี..... 50

4.12 แสดงระดับซีรัมแฮบโตกลอบบิน ในคนปกติที่ไม่ได้รับการฉายรังสี..... 51

4.13 แสดงระดับซีรัมแฮบโตกลอบบิน ในคนไข้ก่อน ได้รับการฉายรังสี..... 53

4.14 แสดงระดับซีรัมแฮบโตกลอบบิน ในคนไข้หลังจาก ได้รับการฉายรังสี..... 54

4.15 แสดงการเปลี่ยนแปลงของแฮบโตกลอบบิน ในคนไข้หลังจาก ได้รับการฉายรังสี..... 55