พื้นฐานการวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ ของฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับระบบต่อมไร้ท่อ

นพ. ทศพล มีน่วม

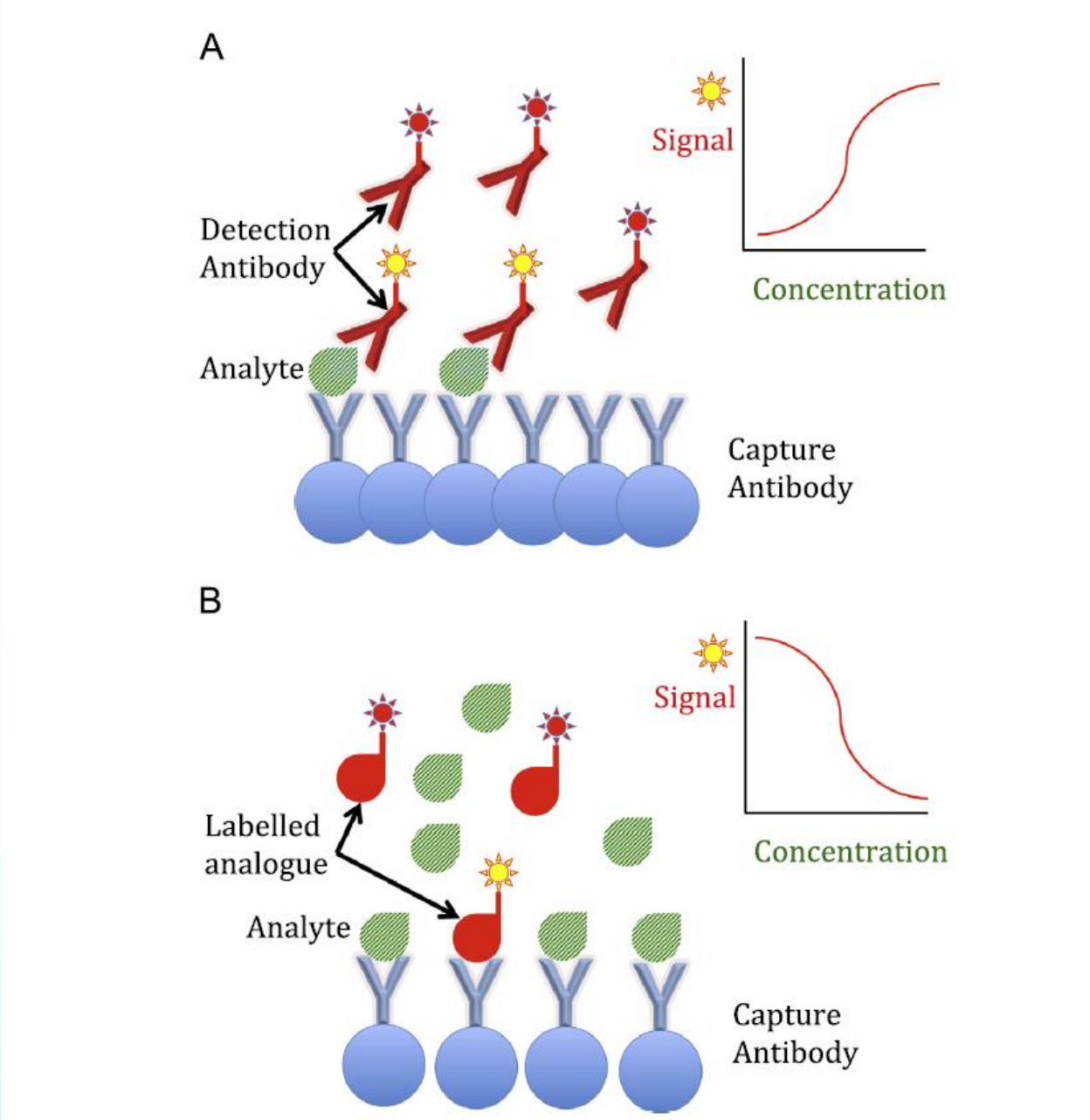
ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

การวิเคราะห์ฮอร์โมนและสารเคมีในเลือด และสารคัดหลั่งที่เกี่ยวข้องกับระบบต่อมไร้ท่อ สามารถกระทำได้หลายหลักการ หลักการที่นิยมใช้มักจะใช้หลักการปฏิกิริยาทางภูมิคุ้มกัน (Immunoassay) โดยหลักการ Radioimmunoassay (RIA) เป็นหลักการที่ติดตามผลการเกิดปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจน และแอนติบอดี โดยทำการวัดสารรังสีซึ่งถูกทำให้เกาะติดกับสารในปฏิกิริยานั้น เพื่อแสดงถึงปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นและนำไปแปรผลเพื่อบ่งบอกปริมาณสารได้ เป็นการวัดเชิงปริมาณ (Quantitative method) หรือหลักการ Enzyme immunoassay (EIA) หลักการที่ติดตามผลการเกิดปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจน และแอนติบอดีโดยทำการวัดผลิตภัณฑ์ในปฏิกิริยา เช่นการเปลี่ยนแปลงของสารเคมีที่ถูกใส่ลงไปในปฏิกิริยา โดยถูกทำให้เกิดสีหรือเกิดการเรืองแสง โดยการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวเกิดขึ้นโดยเอนไซม์ซึ่งเกาะติดกับแอนติเจนหรือแอนติบอดีในปฏิกิริยานั้น โดยการเปลี่ยนแปลงของสารเคมีนี้นสามารถนำไปแปรผลเพื่อบ่งบอกปริมาณสารได้เป็นการวัดเชิงปริมาณ (Quantitative method) ได้เช่นเดียวกัน

โดยสามารถแบ่งรูปแบบของปฏิกิริยาของการเกิด antigen-antibody complex ได้อีกเป็นแบบ competitive และ uncompetitive assay

Competitive Immunoassay ปฏิกิริยาเกิดขึ้นโดยสารที่ต้องการวิเคราะห์ โดยมากมักเป็นแอนติเจน จะทำปฏิกิริยาแข่งขันกับ สารชนิดเดียวกันที่ถูกติดด้วยเอนไซม์หรือสารรังสี (labeled analyte) โดยสารที่ต้องการวิเคราะห์ซึ่งไม่มีสารรังสีจะลดหรือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาแอนติเจนแอนติบอดีกับแอนติบอดีที่อยู่ในปฏิกิริยา ซึ่งมีความจำเพาะกับสารที่ต้องการวัดและสารที่ถูกติดด้วยเอนไซม์หรือสารรังสี โดยรังสีที่วัดได้หรือปฏิกิริยาที่วัดได้จะแปรผกผันกับปริมาณสารที่ต้องการวัด

Noncompetitive Immunoassay หรือ sandwich immunoassay ปฏิกิริยาเกิดโดยสารที่ต้องการวัดจะถูกจับอยู่กับสารในปฏิกิริยาตัวที่หนึ่ง ซึ่งถ้าสารที่ต้องการวัดเป็นแอนติเจน สารในปฏิกิริยาตัวที่หนึ่งจะเป็นแอนติบอดี โดยทำหน้าที่ตรึงสารที่ต้องการวัดให้อยู่ในปฏิกิริยา และใช้แอนติบอดีตัวที่สองซึ่งสามารถจับกับสารที่ต้องการวัด (เช่นถ้าสารที่ต้องการวัดเป็นแอนติบอดีมนุษย์ มักจะใช้ anti-human globulin) ที่ติดกับสารรังสีหรือเอนไซม์ โดยรังสีที่วัดได้หรือปฏิกิริยาที่วัดได้จะแปรผันตรงกับปริมาณสารที่ต้องการวัด



Examples of immunoassay formats. (A) Sandwich immunoassay: the reaction kit includes both capture and labelled detection antibodies that bind different epitopes of the analyte. The higher the amount of analyte, the greater the signal developed. (B) Competitive immunoassay: the reaction kit includes a capture antibody and a labelled analogue of the analyte that competes for the capture antibody. The higher the amount of analyte, the lesser the signal developed. From: E. García-González et al.

PMID: 31367466

ข้อสังเกตและข้อพึงระวังในการการตรวจสืบค้นทางห้องปฏิบัติการของระบบต่อมไร้ท่อ

ฮอร์โมนและสารบางชนิดในร่ายกายมีความเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาตลอดเวลา โดยไม่จำเป็นต้องมีระดับความเข้มข้นระดับเดียวกันในทุกช่วงเวลาหรือช่วงอายุ สารบางชนิดในร่างกายมีระดับแตกต่างกันระหว่างเพศ รวมถึงกิจกรรมหรือภาวะบางอย่างของร่างกาย เช่น การตั้งครรภ์ การรับประทานยาหรืออาหารบางชนิดก็สามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมนหรือสารบางชนิดในร่างกาย ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวอาจไม่ได้ทำให้เกิดโรคทางต่อมไรท่อแต่ชักนำไปสู่การแปลผลทางห้องปฏิบัติการ
ผิดพลาดหรือคลาดเคลื่อนจากความเป็นจริง เช่น

การหลั่งฮอร์โมนแบบเป็นระยะ (Pulsatile secretion) โดยการหลั่งฮอร์โมนจะหลั่งเป็นระยะสั้นๆ สลับมากน้อยต่างกันในแต่ละช่วงเวลา เช่น Growth hormone โดยจะหลังมากที่สุดในช่วงเวลาประมาณเที่ยงคืน รวมทั้งหลั่งมากในเวลาที่มีการออกกำลังกายอย่างหนัก

ระดับฮอร์โมนมีความแตกต่างกันระหว่างวัน (Diurnal variation) เช่น ฮอร์โมนคอร์ติซอล (Cortisol) มีค่าสูงสุดในช่วงเช้าประมาณแปดนาฬิกาแล้วลดลงตามลำดับในช่วงเวลาอื่น

การหลั่งฮอร์โมนแบบเป็นวงรอบ (Cyclic variation) เช่น ฮอร์โมนเอสโตรเจน (estrogen) ซึ่งสัมพันธ์กับการมีประจำเดือน

ความสัมพันธ์กับอายุ เช่น ฮอร์โมนเพศบางชนิด และ ฮอร์โมนไทรอยด์ซึ่งมีระดับลดลงในผู้สูงอายุ

การเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของฮอร์โมนดังกล่าวทำให้ต้องมีการเลือกเวลาการเจาะเก็บตัวอย่างให้เหมาะสมหรือทำ dynamic testing โดยการใช้สารหรือยาบางชนิดเพื่อกระตุ้นหรือยับยั้งการหลั่งฮอร์โมนเพื่อเพิ่มความไวและความแม่นยำในการตรวจ

สารบางชนิดที่มีผลต่อระดับฮอร์โมน เช่น Thyroid-binding globulin หรือ Cortisol-binding globulin มีระดับสูงขึ้น จากยาหรือภาวะบางอย่าง เช่น เอสโตรเจน ยาคุมกำเนิด การตั้งครรภ์ หรือโรคตับ เป็นต้น ทำให้การวัดค่าฮอร์โมนในรูปรวมหรือ Total form สูงขึ้น แต่อาจพบในรูปอิสระ หรือ free form ซึ่งเป็นส่วนที่ออกฤทธิ์ต่อร่างกายอยู่ในเกณฑ์ปกติ

เอกสารอ้างอิง

Mcpherson RA, Pincus MR, editors. Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods. 24th ed. Burlington, Massachusetts: Elsevier,2021:226-242.

ภาควิชาเวชศาสตร์ชันสูตร คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. พยาธิวิทยาคลินิก, พิมพ์ครั้งที่ 3. โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพมหานคร: 2552.

สมาคมพยาธิวิทยาคลินิกไทย. พยาธิวิทยาคลินิก Clinical Pathology. กรุงเทพมหานคร, 2545.