

บทนำ

กรดน้ำดี (bile acids) เป็นส่วนประกอบของน้ำดี (bile) ทำหน้าที่ช่วยในการย่อยและดูดซึมอาหารจากพวกไขมันในลำไส้เล็ก และรวมทั้งการดูดซึม fat-soluble vitamins กรดน้ำดีถูกสร้างที่เซลล์ตับโดยมีคอเลสเตอรอล (cholesterol) เป็นสารตั้งต้น มีโครงสร้างเป็น c-24 steroids กรดน้ำดีส่วนใหญ่ที่พบในร่างกายคือ cholic acid, chenodeoxycholic acid และ deoxycholic acid ปกติจะไม่พบในรูปอิสระ ในคนจะพบในรูปที่ conjugated อยู่กับการต่อะมีน glycine หรือ taurine ในอัตราส่วน 3:1 กรดน้ำดีที่สร้างขึ้นจะเก็บสะสมไว้ในถุงน้ำดี (1)

เมื่ออาหารผ่านมาถึงลำไส้เล็กจะกระตุ้นให้ถุงน้ำดีหดตัว และกล้ามเนื้อหูรูดของถุงน้ำดีคลายตัวปล่อยน้ำดีเข้าสู่ลำไส้เล็กส่วนดูโอดินัม เพื่อช่วยในการย่อยและดูดซึมอาหารจากพวกไขมัน กรดน้ำดีจะถูกดูดกลับที่ลำไส้เล็กส่วนปลายและลำไส้ใหญ่ส่วนต้น โดยจะถูกดูดกลับที่ลำไส้เล็กส่วนปลาย (ileum) มากถึง 95% ของทั้งหมด (2,3) กลับเข้าสู่ตับโดยผ่านทางเส้นเลือด portal vein โดยจับกับอัลบูมิน กรดน้ำดีส่วนที่เหลือจะถูกขับออกทางอุจจาระวันละประมาณ 100-800 มิลลิกรัม ตับจะทำการสร้างกรดน้ำดีขึ้นมาเพื่อชดเชยส่วนที่เสียไป ในช่วงเวลา 24 ชั่วโมงระดับกรดน้ำดีในระบบไหลเวียนของโลหิตจะมีระดับแตกต่างกัน โดยพบว่าหลังรับประทานอาหารจะมีระดับสูงขึ้น 2-6 เท่าของภาวะปกติ (4)

เนื่องจากกรดน้ำดีถูกสร้างที่ตับและเก็บสะสมไว้ในถุงน้ำดี ดังนั้นเมื่อตับถูกทำลายหรือมีการอุดตันของท่อน้ำดีจะทำให้กรดน้ำดีออกมาในระบบหมุนเวียนของโลหิตมากกว่าปกติ การตรวจกรดน้ำดีรวมในซีรัมอาจจะใช้เป็นการทดสอบเบื้องต้นในผู้ป่วยที่สงสัยเป็นโรคตับ หรืออาจจะใช้ประเมินความรุนแรงของโรคตับได้ ซึ่งมีรายงานการศึกษาถึงระดับกรดน้ำดีรวมในซีรัมสามารถวินิจฉัยได้ว่าเป็นโรคตับ แต่อย่างไรก็ดียังไม่สามารถแยกชนิดของโรคตับต่าง ๆ ได้ (5)

วิธีการตรวจวัดกรดน้ำดีรวมสามารถตรวจวัดได้หลายวิธี เช่น วิธี gas chromatography (6,7) high-performance liquid chromatography (8,9), radioimmunoassay (10,11) และวิธี enzyme ซึ่งต้องใช้ใช้เครื่อง ultraviolet spectrophotometer (12) หรือ fluorometer (13,14) ในการวัด วิธีที่กล่าวมา (6-14) ต้องใช้เครื่องมือที่มีราคาแพงทำให้โรงพยาบาลระดับทั่วไปของประเทศไทยไม่สามารถทำการตรวจวัดระดับกรดน้ำดีรวมได้ แต่ Mashige และคณะ (15) ได้ทำการศึกษาวิธีการตรวจวัดระดับกรดน้ำดีรวมโดยวิธีเอนไซม์ที่สามารถใช้กับเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ใช้ทั่วไปในห้องปฏิบัติการได้ ซึ่งเป็นเครื่องมือที่มีความยาวคลื่นแสงในช่วง visible light โดยวิธีดังกล่าวจะวัดการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 540 nm. คณะผู้วิจัยจึงได้นำวิธีการของ Mashige และคณะมาทำการศึกษาในประชากรคนไทยว่าจะมีความเหมาะสมหรือไม่อย่างไร

วัตถุประสงค์ของการศึกษาวิจัย

เมื่อทำการศึกษาหาค่าอ้างอิงของกรดน้ำดีรวมในซีรัมของคนไทยที่มีสุขภาพดีเก็บไว้เป็นค่าอ้างอิงของคนไทยสำหรับเปรียบเทียบกับกรดน้ำดีรวมที่ตรวจวัดได้ในผู้ป่วยต่อไป โดยไม่ต้องใช้ค่าอ้างอิงของต่างประเทศและศึกษาถึงระดับของกรดน้ำดีรวมในซีรัมของผู้ป่วยโรคตับชนิดต่าง ๆ

วิธีการวิจัย

สารเคมี

1. Pyruvic acid (Sodium salt)
AR grade, Sigma
2. Tris-aminomethane
Pro analysis, assay 99.7%, MERCK
3. Polyoxyethylene olylether (brij-96)
AR grade, Sigma
4. NAD⁺
AR grade, General diagnostics
5. Nitrotetrazolium blue (NTB)
Fluka AG
6. Diaphorase 100 U/vial
AR grade, Sigma
7. 3 α -hydroxysteroid dehydrogenase (3 α -HSD) 5 U/vial
AR grade, Sigma
8. Phosphoric acid 85%
Analytical, Farmitalia Carlo erba
9. Potassium dihydrogenphosphate
Baker grade, J.T. Baker
10. Di-Sodium hydrogenphosphate dihydrate
Pro analysis, MERCK
11. Cholic acid (Sodium salt)
AR grade, Sigma
Assay 98% contain 2.0% H₂O

เครื่องมือ

1. Spectrophotometer, Secomam Model Prim-M
2. Analytical balance, Mettler Model H 54 AR
3. Top loading balance, Mettler Model P 1210
4. Water bath

5. pH meter, Beckman Model 3500

วิธีเตรียมสารเคมี

1. Tris HCl buffer 0.2 mol/L pH 7.5 contains brij-96 10 mg/L

เตรียมโดยละลาย tris-aminomethane 24.30 g ในน้ำกลั่น 950 mL. ปรับ pH ให้ได้ 7.5 โดยใช้ 1N HCl เติม brij-96 0.01 mL ปรับปริมาตรให้ครบ 1000 mL ด้วยน้ำกลั่น เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4°C.

2. Diaphorase, 25000 U/L

ละลาย diaphorase (100 U/vial) 1 vial ด้วย 0.01 M phosphate buffer pH 7.0 จำนวน 4 mL. แบ่งใส่หลอดเล็ก ๆ ให้ปริมาตรพอใช้ในแต่ละครั้ง เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20°C

เตรียม 0.01 M phosphate buffer pH 7.0

ใช้ $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1.0674 g, KH_2PO_4 0.54431 g

ละลายในน้ำกลั่นครบ 1000 mL.

3. Sodium pyruvate, 200 mmol/L

ชั่ง sodium pyruvate จำนวน 22 g ละลายด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1000 mL เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4°C

4. H_3PO_4 , 1.33 mol/L

ตวง H_3PO_4 85% จำนวน 22.62 mL เติมน้ำกลั่นให้ครบ 250 mL

5. 3 α -hydroxysteroid dehydrogenase (3 α -HSD)

ละลาย 3 α -HSD (5 U/vial) 1 vial ด้วย 0.01 M phosphate buffer pH 7.2 จำนวน 2 mL แบ่งใส่หลอดเล็ก ๆ ละ 0.2 mL (0.5 U) เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20°C

เตรียม 0.01 M phosphate buffer pH 7.2

ชั่ง KH_2PO_4 0.38 g และ Na_2HPO_4 1.28 g เติมน้ำกลั่นให้ครบ 1000 mL

6. S-I (standard I, 0 $\mu\text{mol/L}$)

เป็น pooled serum ที่รวบรวมจากห้องปฏิบัติการ

7. S-II (standard II, 50 $\mu\text{mol/L}$)

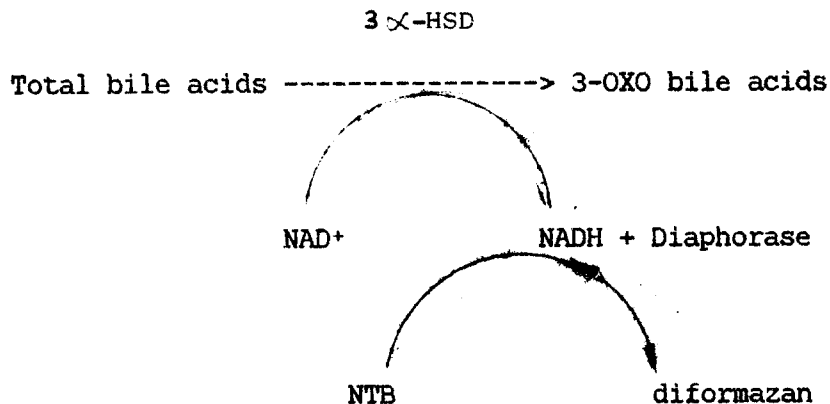
เตรียมโดยชั่ง cholic acid (sodium salt) จำนวน 0.00224 g ละลายด้วย pooled serum (S-I) ให้ครบ 100 mL แบ่งใส่หลอดเล็ก ๆ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20°C

วิธีการตรวจวัดการค่าน้ำดี

Enzymatic method ตามวิธีของ Mashige และคณะ (15)

หลักการ

Bile acids ทุกชนิดจะถูกเปลี่ยนให้เป็น 3-OXO bile acids โดยเอนไซม์ 3 α -hydroxysteroid dehydrogenase พร้อมกันนั้น NAD^+ จะถูกรีดิวซ์ไปเป็น NADH, เอนไซม์ diaphorase จะส่งผ่านไฮโดรเจนจาก NADH ไปให้ nitroterrazolium blue (NTB) ให้สารมีสีของ diformazan วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 nm. ปฏิกริยาที่เกิดขึ้นดังนี้



น้ำยา

R-1 : Sodium pyruvate 200 mmol/L

R-2a : ละลาย NAD^+ 100 μmol (66 mg) และ NTB 20 mg ใน 48 mL

Tris HCl buffer 0.2 mol/L pH 7.5 ที่มี brij-96 อยู่ 10 mg/L และก่อน
ใช้ให้เติม diaphorase 25000 U/L 2 mL และ 3 α -HSD 0.5 U

R-2b : เหมือน R-2a แต่ไม่เติม 3 α -HSD

R-3 : H_3PO_4 1.33 mol/L

หมายเหตุ

R-1 : ใช้เป็น inhibitor ต่อเอนไซม์ lactate dehydrogenase (LDH) ซึ่งสามารถ
เปลี่ยน NaD^+ ไปเป็น NADH ได้

R-3 : เป็นตัว stop reaction

วิธีทำ

ในแต่ละสิ่งส่งตรวจจะทำ blank tube และ reaction tube โดยเติมสารตามตาราง
โดยใช้หลอดแก้วขนาด 12X75 mm.

สาร (ml)	Blank		Test		S-I		S-II	
	a	b	a	b	a	b	a	b
น้ำกลั่น	0.2	0.2	-	-	-	-	-	-
ซีรัม	-	-	0.2	0.2	-	-	-	-
S-I	-	-	-	-	0.2	0.2	-	-
S-II	-	-	-	-	-	-	0.2	0.2
R-1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
R-2a	0.5	-	0.5	-	0.5	-	0.5	-
R-2b	-	0.5	-	0.5	-	0.5	-	0.5
ผสมให้เข้ากัน อุ่นที่อุณหภูมิ 37°C นาน 10 นาทีพอดี								
R-3	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1

ผสมให้เข้ากัน วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 nm. โดยใช้ blank a ปรับ "0" สำหรับหลอด a และใช้ blank b ปรับ "0" สำหรับหลอด b

การคำนวณ

$$\text{Serum total bile acids } (\mu\text{mol/L}) = \frac{\text{Aa} - \text{Ab}}{(\text{AIIa} - \text{AIIb}) - (\text{AIa} - \text{AIb})} \times 50$$

Aa = ค่าการดูดกลืนแสงของซีรัมส่งตรวจในหลอด a

Ab = ค่าการดูดกลืนแสงของซีรัมส่งตรวจในหลอด b

AIIa = ค่าการดูดกลืนแสงของ S-II ในหลอด a

AIIb = ค่าการดูดกลืนแสงของ S-II ในหลอด b

AIa = ค่าการดูดกลืนแสงของ S-I ในหลอด a

AIb = ค่าการดูดกลืนแสงของ S-I ในหลอด b

การศึกษาวิธีการตรวจวัด

1. ความเป็นเส้นตรง (linearity)

ได้ศึกษาความเป็นเส้นตรงของวิธีการตรวจวัด โดยเตรียม standard คือ cholic acids (sodium salt) ละลายใน pooled serum ให้ได้ความเข้มข้น 50, 100, 150, 200 และ 250 $\mu\text{mol/L}$ นำไปทำการตรวจวัดตามวิธีของ Mashige และหาค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้ มา plot ลงในกราฟกับค่าของ standard ดูความเป็นเส้นตรงของกราฟที่ได้

2. การศึกษา accuracy

ทำการศึกษา accuracy ของวิธีการตรวจวัดโดยการหา % recovery โดยใช้ pooled serum ที่ได้จากห้องปฏิบัติการเคมีคลินิกมาเติมกรดน้ำดี คือ cholic acid ลงไปให้ทราบค่าที่แน่นอน (โดยการคำนวณ) ทำการตรวจวัดและคำนวณหาค่าระดับกรดน้ำดีที่ตรวจวัดกลับคืนมาได้ นำผลที่ได้มาคำนวณหา % recovery จากสูตร

$$\% \text{ recovery} = \frac{\text{ปริมาณสารที่เติมลงไป}}{\text{ปริมาณสารที่ตรวจวัดได้}} \times 100$$

3. การศึกษา precision

3.1 Within run precision

ทำการศึกษาโดยนำ pooled serum มาเติมกรดน้ำดีที่มีความเข้มข้น 50 $\mu\text{mol/L}$ ลงไปแล้วนำมาหาค่ากรดน้ำดี โดยทำ 20 ครั้งพร้อมกันในเวลาเดียวกัน นำค่าที่ได้ทั้ง 20 ค่ามาคำนวณ % cv จากสูตร

$$\% \text{ cv} = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100$$

3.2 Between run precision

ทำการศึกษาเช่นเดียวกับแบบ within run precision แต่ทำวันละครั้งหรือหลายครั้งในสภาวะเดียวกัน รวม 13 ครั้ง นำค่าที่ได้มาคำนวณหา % cv จากสูตร

$$\% \text{ cv} = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100$$

4. การตรวจวัดระดับการนำความร้อนในคนปกติเพื่อเป็นค่าอ้างอิง

การศึกษาหาค่าอ้างอิงได้ทำการเก็บเลือดจากชาวบ้าน หมู่บ้านต่าง ๆ ในจังหวัดขอนแก่น จำนวน 218 คน เป็นชาย 103 คน และหญิง 115 คน ช่วงอายุ 15-72 ปี โดยกำหนดกลุ่มประชากรที่นำมาศึกษาคือมีลักษณะสุขภาพโดยทั่วไปดี ยกประวัติทางสุขภาพเจาะเก็บเลือดในตอนที่รับประทานอาหารเข้า ปั่นแยกซีรัมเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20°C จนกว่าจะตรวจวัด

5. การตรวจวัดระดับการนำความร้อนในผู้ป่วยโรคตับ

สำหรับผู้ป่วยโรคตับชนิดต่างๆ ได้ทำการศึกษาซีรัมที่ไม่นุ่นหรือมีเม็ดเลือดแดงแตกรวม 102 ราย ซึ่งแบ่งเป็นโรคต่าง ๆ ดังนี้คือ cholangiocarcinoma (CHCA) 33 ราย, hepatitis 28 ราย, cirrhosis 13 ราย, obstructive jaundice 15 ราย, hepatoma 6 ราย, hepatomegaly 2 ราย, liver abscess 3 ราย และ cholangitis 2 ราย เก็บซีรัมที่อุณหภูมิ -20°C จนกว่าจะทำการตรวจวัด

ผลการวิจัย

การประเมินคุณภาพของวิธีการตรวจวัดครีเอตินีนในซีรัมตามวิธีของ Mashige และคณะ (15) พบว่าความถูกต้องของวิธีการตรวจวัดมีค่า % recovery ระหว่าง 95.2-119.4 ($\bar{X}=109.6\%$) และในการศึกษาความแม่นยำทั้งแบบ within run precision และ between run precision พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (C.V.) เท่ากับ 4.68% และ 6.46% ตามลำดับ (ตารางที่ 1) สำหรับความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัดพบว่ากราฟให้ความเป็นเส้นตรงถึง 200 $\mu\text{mol/L}$ ดังแสดงในรูปที่ 1

จากการตรวจวัดระดับครีเอตินีนในซีรัมคนปกติ จำนวน 218 คน แยกเป็นเพศชาย 103 คน หญิง 115 คน แสดงข้อมูลของประชากรและระดับครีเอตินีนในซีรัม ดังตารางที่ 2-4 และรูปที่ 2-5

ตารางที่ 2 แสดงช่วงอายุของประชากรที่ศึกษา แบ่งเป็นเพศชายจำนวน 103 คน มีช่วงอายุระหว่าง 15-72 ปี เฉลี่ย 37 ปี เพศหญิง 115 คน มีช่วงอายุ 17-68 ปี เฉลี่ย 34 ปี และประชากรรวมทั้งเพศชายและเพศหญิง มีช่วงอายุ 15-72 ปี เฉลี่ย 35 ปี

รูปที่ 2 แสดงการกระจายของประชากร เป็นช่วงอายุรวมกันทั้งเพศชายและเพศหญิง ช่วงอายุ 10-20 ปี มี 29 คน อายุ 21-30 ปี มี 41 คน อายุ 31-40 ปี มี 55 คน อายุ 41-50 ปี มี 52 คน อายุ 51-60 ปี มี 32 คน และอายุมากกว่า 60 ปี มี 9 คน

ตารางที่ 3 แสดงระดับครีเอตินีนในซีรัมในเพศชายและเพศหญิง พบว่าในเพศชายมีค่าอยู่ระหว่าง 0-7.72 $\mu\text{mol/L}$ ค่าเฉลี่ย 2.62 $\mu\text{mol/L}$ ในเพศหญิงมีค่าอยู่ระหว่าง 0-6.50 $\mu\text{mol/L}$ ค่าเฉลี่ย 2.12 $\mu\text{mol/L}$ รวมเพศชายและเพศหญิงมีค่าระหว่าง 0-7.12 $\mu\text{mol/L}$ ค่าเฉลี่ย 2.36 $\mu\text{mol/L}$

ระดับครีเอตินีนในซีรัมในประชากรแยกตามช่วงอายุของแต่ละเพศและรวมทั้งสองเพศในแต่ละช่วงอายุ แสดงในตารางที่ 4 และรูปที่ 3-4

รูปที่ 5 แสดงจำนวนของคนปกติที่มีระดับครีเอตินีนในซีรัมในระดับต่าง ๆ กัน

ในการศึกษาผู้ป่วยโรคตับชนิดต่างๆ จำนวน 102 ราย ดังรูปที่ 6 พบว่าผู้ป่วย CHCA จำนวน 33 ราย มีระดับครีเอตินีนโดยเฉลี่ยและความแปรปรวน ($\bar{X} \pm \text{SD}$) เท่ากับ $50 \pm 43 \mu\text{mol/L}$ และมีผู้ป่วยที่มีระดับครีเอตินีนสูงกว่าค่าปกติ 82%, ผู้ป่วย hepatitis จำนวน 28 ราย มีระดับครีเอตินีนสูงถึง 183 $\mu\text{mol/L}$ มีค่า $\bar{X} \pm \text{SD}$ เท่ากับ $33 \pm 49 \mu\text{mol/L}$ และมีผู้ป่วยที่มีระดับครีเอตินีนสูงกว่าค่าปกติ 64% ผู้ป่วย cirrhosis จำนวน 13 ราย มีระดับครีเอตินีน ($\bar{X} \pm \text{SD}$) เท่ากับ $38 \pm 26 \mu\text{mol/L}$ และผู้ป่วยมีระดับครีเอตินีนสูงกว่าค่าปกติ 100%, ผู้ป่วย obstructive jaundice มีระดับครีเอตินีน ($\bar{X} \pm \text{SD}$) เท่ากับ $89 \pm 53 \mu\text{mol/L}$ ผู้ป่วยมีระดับครีเอตินีนสูงกว่าปกติถึง 100%, ผู้ป่วย hepatoma จำนวน 6 ราย มีระดับครีเอตินีน ($\bar{X} \pm \text{SD}$) เท่ากับ $21 \pm 17 \mu\text{mol/L}$ ผู้ป่วยมีระดับครีเอตินีนสูงกว่าปกติ 83%, ผู้ป่วย hepatomegaly จำนวน 2 ราย มีระดับครีเอตินีน ($\bar{X} \pm \text{SD}$) เท่ากับ $52 \pm 68 \mu\text{mol/L}$ ผู้ป่วยมีระดับครีเอตินีนมากกว่าค่าปกติ 50% และค่าเฉลี่ย ($\bar{X}$) คิดเป็น 16 เท่าของ

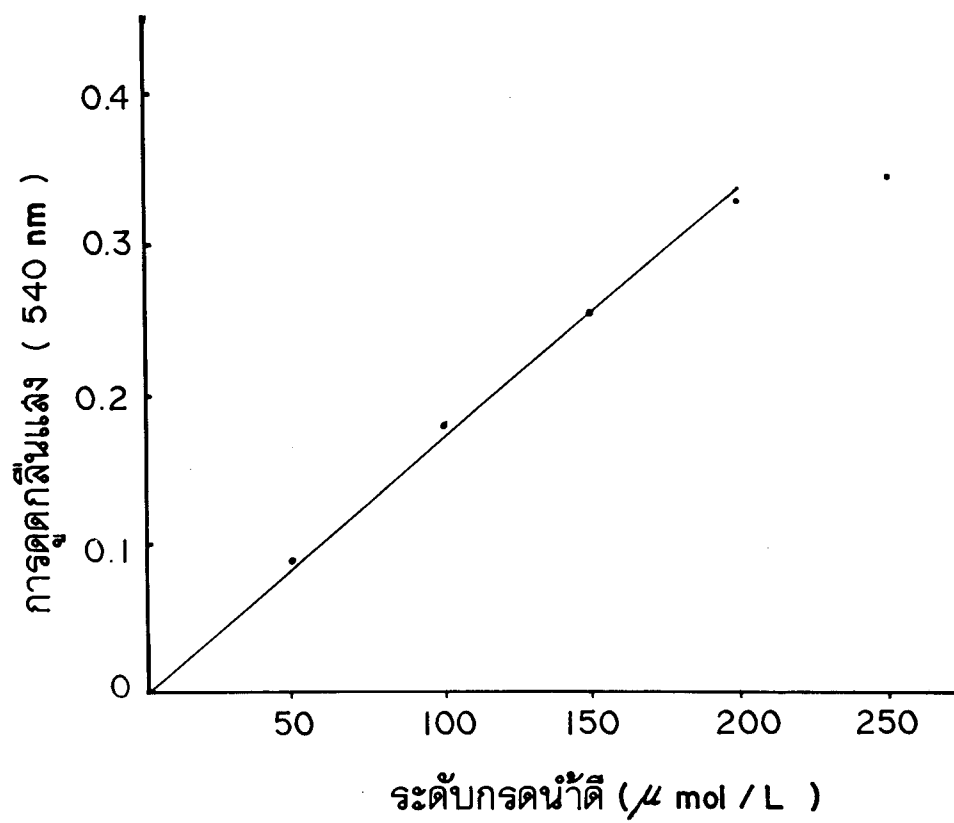
กลุ่มปกติ, ผู้ป่วย liver abscess จำนวน 3 ราย มีระดับกรดยูริก (X±SD) เท่ากับ 10±1.6 $\mu\text{mol/L}$ ผู้ป่วยมีระดับกรดยูริกสูงกว่าค่าปกติ 100% และค่าเฉลี่ยเป็น 3 เท่าของกลุ่มปกติ ผู้ป่วย cholangitis จำนวน 2 ราย มีระดับกรดยูริก (X±SD) เท่ากับ 11±0.1 $\mu\text{mol/L}$ ผู้ป่วยมีระดับกรดยูริกสูงกว่าค่าปกติ 100% และค่าเฉลี่ยเป็น 3 เท่าของกลุ่มปกติ

เมื่อพิจารณาค่าทางสถิติ ระดับกรดยูริกของผู้ป่วยโรคตับชนิดต่าง ๆ เมื่อเปรียบเทียบกับค่าปกติ ผู้ป่วย CHCA, hepatitis, cirrhosis, obstructive jaundice และ hepatoma จะมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ที่ความเชื่อมั่น 95% ดังแสดงในตารางที่ 5 แต่เมื่อพิจารณาจากภาพที่ 6 โดยรวมแล้วระดับกรดยูริกในผู้ป่วยโรคตับนั้นจะอยู่ในช่วงค่าที่สูง แต่ไม่สามารถที่จะจำแนกชนิดการวินิจฉัยโรคได้ถึงแม้ค่าทางสถิติจะบ่งว่า hepatoma แตกต่างจากโรคตับกลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญ และ obstructive jaundice แตกต่างกับ CHCA, cirrhosis, hepatoma อย่างมีนัยสำคัญก็ตาม ส่วน hepatomegaly, liver abscess และ cholangitis นั้นมีระดับกรดยูริกสูงกว่ากลุ่มปกติ 16 เท่า, 3 เท่า และ 3 เท่าตามลำดับ

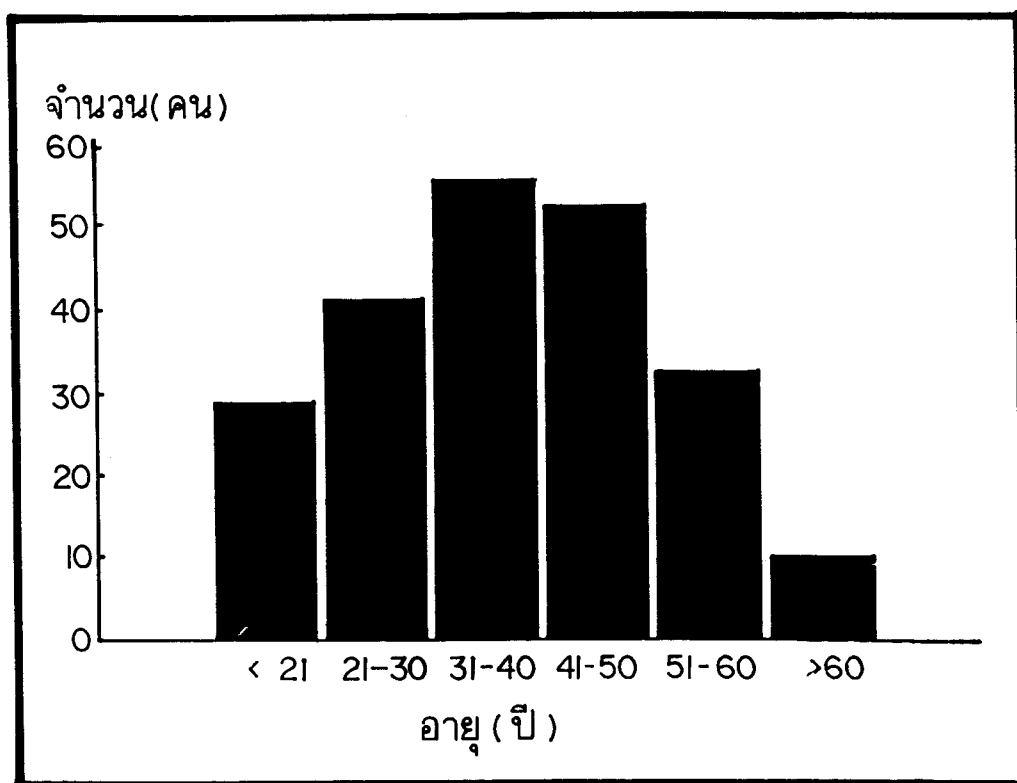
เมื่อเปรียบเทียบระดับกรดยูริกในซีรัมของผู้ป่วยโรคตับชนิดต่าง ๆ พบว่าผู้ป่วยที่มีระดับกรดยูริกสูงกว่าค่าปกติมีถึง 83% ซึ่งสูงกว่าระดับความผิดปกติใน liver function test อื่นๆ ดังรูปที่ 7

เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของระดับกรดยูริกและ liver function test อื่นๆ พบว่าระดับกรดยูริกจะมีความสัมพันธ์กับระดับ bilirubin มากที่สุด ($r=0.64$) อย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95% ดังตารางที่ 6

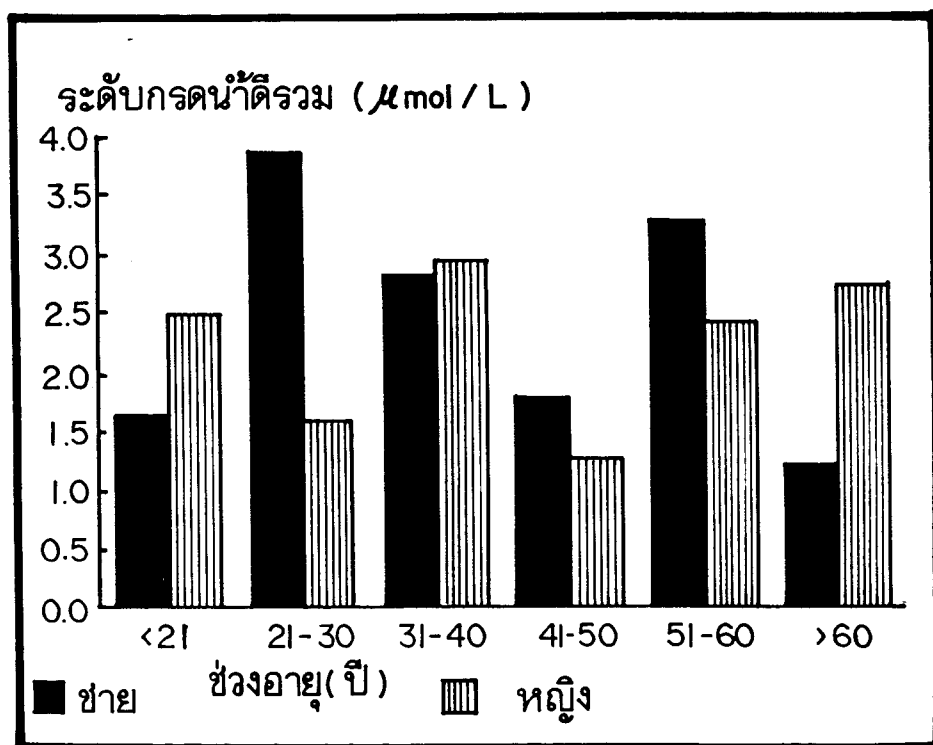
นอกจากนี้เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างระดับกรดยูริก กับระดับ bilirubin และ alkaline phosphatase แยกในแต่ละโรคก็พบว่ากรดยูริกมีความสัมพันธ์กับ total bilirubin มากกว่า ALP ในโรค CHCA, hepatitis, cirrhosis, obstructive jaundice ดังตารางที่ 7



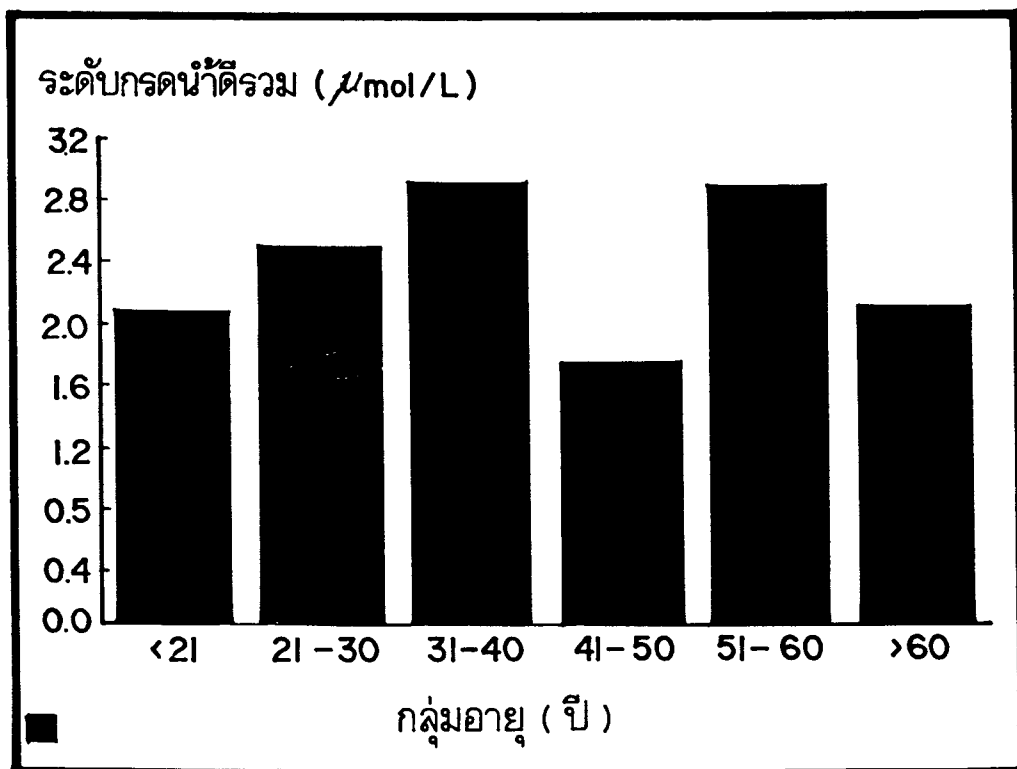
รูปที่ 1. แสดง linearity ของการตรวจวัดกรดน้ำดีรวม



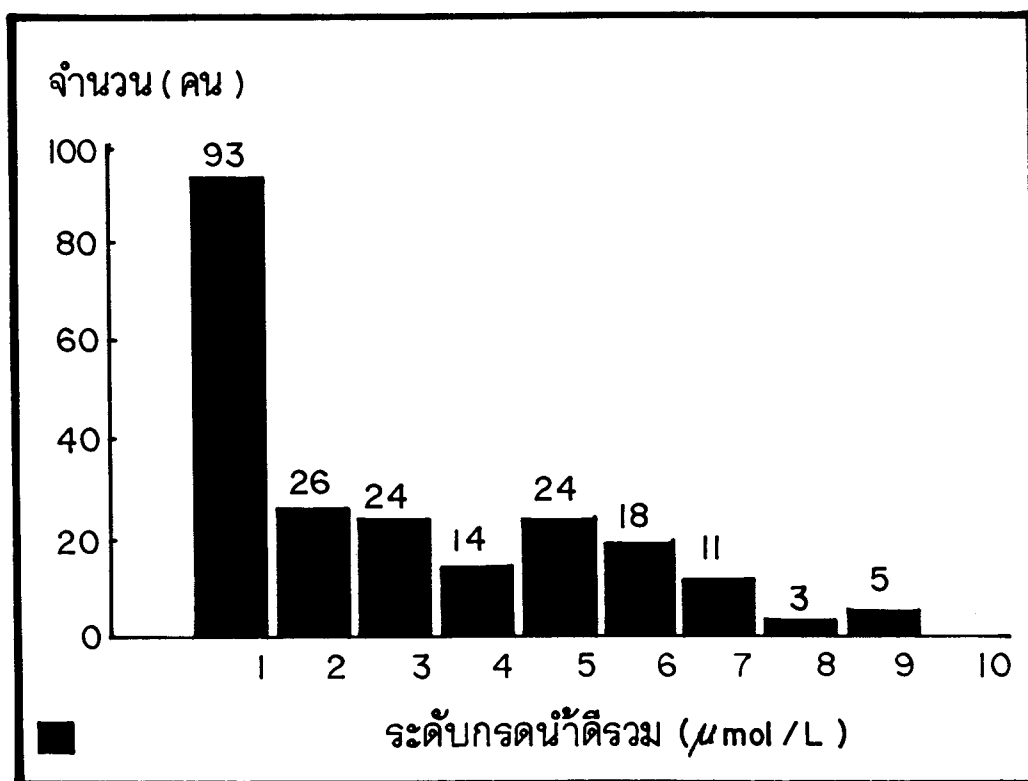
รูปที่ 2 .แสดงการกระจายของประชากรศึกษาหาค่าอ้างอิง
ของกรดน้ำดีรวม



รูปที่ 3. แสดงระดับเฉลี่ยของกรดน้ำดีรวมในซีรัม
แยกตามเพศ และอายุ

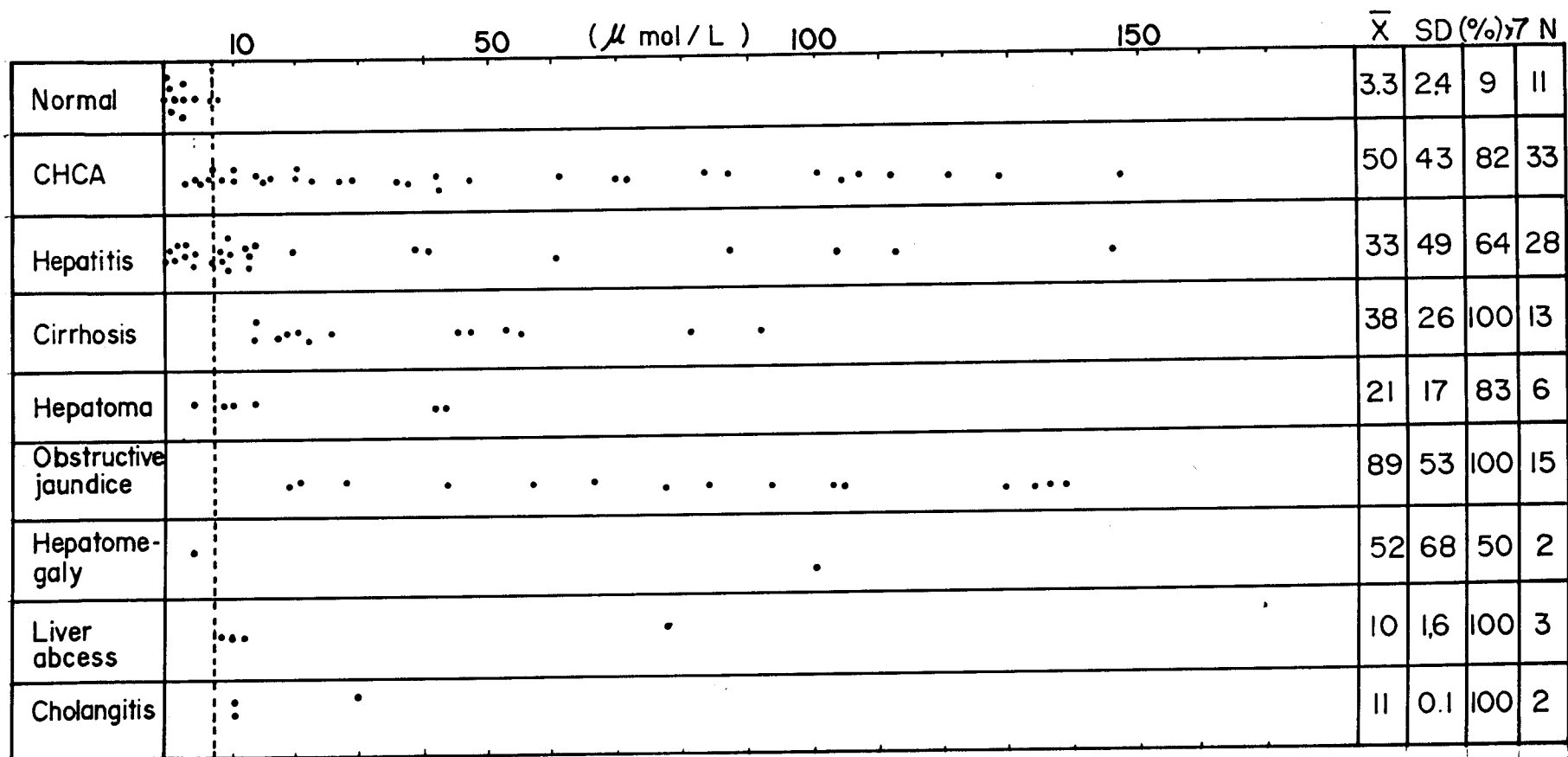


รูปที่ 4. แสดงระดับเฉลี่ยของกรดน้ำดีรวมในซีรัม แบ่งตามช่วงอายุ



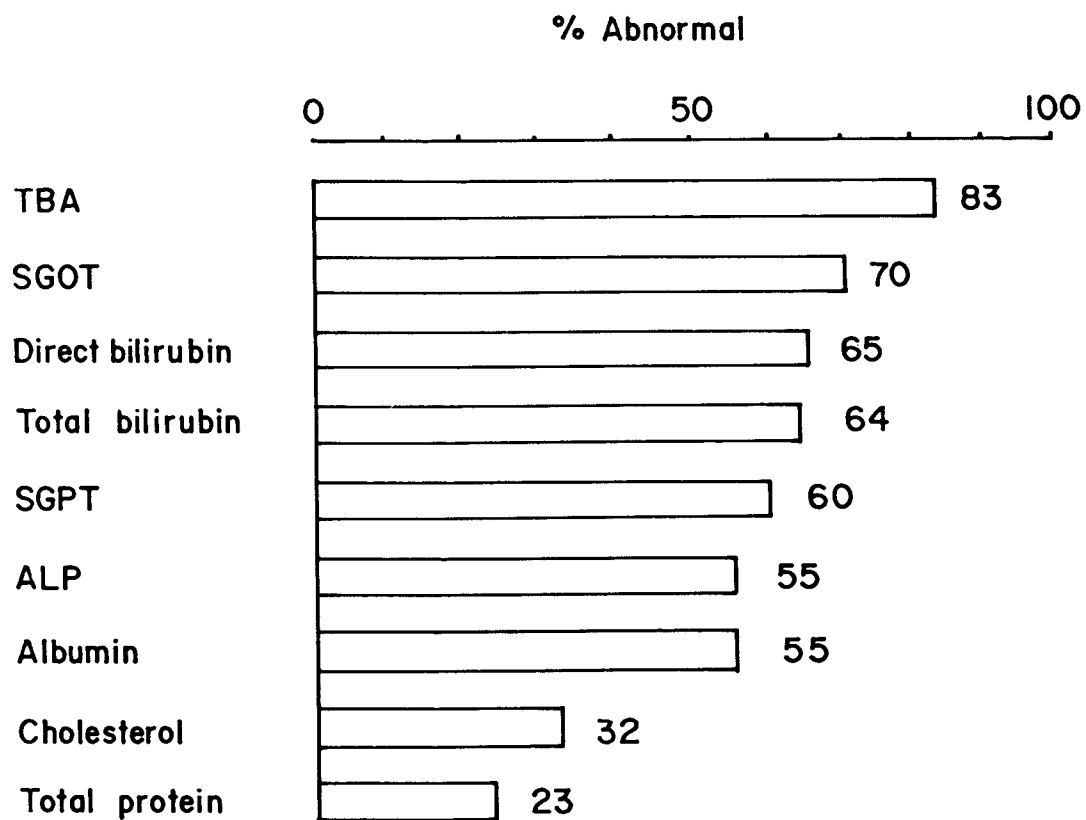
รูปที่ 5. แล่งจำนวนประชากรรวมทั้งเพศชายและเพศหญิง
ที่มีกรดน้ำดีรวมในซีรัม ในระดับต่าง ๆ กัน

ระดับกรดน้ำดีรวม



รูปที่ 6 ระดับกรดน้ำดีรวมในซีรัมผู้ป่วยโรคตับ

$\bar{X}$: mean ($\mu\text{mol/L}$), SD: standard deviation ($\mu\text{mol/L}$), (%) >7 : percentage of cases with elevated TBA (>7 $\mu\text{mol/L}$), Dotted lines represent upper reference limits.



รูปที่ 7. แสดงความถี่ของค่าความผิดปกติ ของการตรวจผลมรรณภาพของตับ
8 การทดสอบ ในปริมของผู้ป่วยโรคตับชนิดต่างๆ จำนวน 102 ราย

ตารางที่ 1 แสดง precision ของการตรวจวัดกรดน้ำดีรวม

	N	% cv
within run	20	4.68
between run	13	6.46

ตารางที่ 2 แสดงช่วงอายุและอายุเฉลี่ยของประชากรศึกษา

เพศ	จำนวน (คน)	ช่วงอายุและอายุเฉลี่ย (ปี)
ชาย	103	15-72 (37)
หญิง	115	17-68 (34)
รวม	218	15-72 (35)

ตารางที่ 3 แสดงระดับกรดน้ำดีในซีรัมในประชากรศึกษา

เพศ	จำนวน (คน)	$\bar{X} \pm 2SD (\mu\text{mol/L})$	ค่าอ้างอิง ($\mu\text{mol/L}$)
ชาย	103	2.62 ± 5.10	0 - 7.72
หญิง	115	2.12 ± 4.38	0 - 6.50
รวม	218	2.36 ± 4.76	0 - 7.12

ตารางที่ 4 แสดงค่าเฉลี่ยของระดับกรดน้ำดีรวม ($\mu\text{mol/L}$) ในซีรัมในแต่ละช่วงอายุ แยกตามเพศ และรวมทั้งสองเพศ

Age gr. (years)	<21		21-30		31-40		41-50		51-60		>60		Total	
SEX	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
N (คน)	14	15	18	23	27	28	24	28	16	16	4	5	103	115
MEAN	1.66	2.53	3.86	1.58	2.83	2.94	1.8	1.27	3.26	2.4	1.17	2.74	2.62	2.12
SD	2.56	2.37	2.53	1.52	2.64	2.46	2.03	1.65	2.49	2.37	0.93	2.25	2.55	2.19
GR-MEAN	2.11		2.58		2.88		1.52		2.83		2.04		2.36	
GR-SD	2.5		2.32		2.55		1.85		2.47		1.95		2.38	

M = Male

F = Female

ตารางที่ 5 แสดงการเปรียบเทียบระดับกรดยาตัวรวมในซีรัมคนปกติและซีรัมผู้ป่วยโรคตับชนิดต่าง ๆ

Diagnosis	ระดับกรดยาตัวรวม ($\mu\text{mol/L}$) $\bar{X} \pm \text{SD}$	N (คน)	P
Normal	3.3 ± 2.4	11	-
CHCA	50 ± 43	33	<0.05
Hepatitis	33 ± 49	28	<0.05
Cirrhosis	38 ± 26	13	<0.05
Hepatoma	21 ± 17	6	<0.05
Obstructive jaundice	89 ± 53	15	<0.05

ตารางที่ 6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างกรดยาตัวรวม และการทดสอบสมรรถภาพการทำงานของตับชนิดต่าง ๆ ในผู้ป่วยโรคตับ

Test	Correlation coefficients	P
Total bilirubin	0.64	<0.05
Direct bilirubin	0.63	<0.05
ALP	0.34	<0.05
Total protein	-0.32	<0.05
Albumin	-0.14	>0.05
Cholesterol	0.22	>0.05
SGPT	0.10	>0.05
SGOT	0.13	>0.05

N = 102

หมายเหตุ $p < 0.05$: ยอมรับว่ามีความสัมพันธ์กันแบบเส้นตรงอย่างมีนัยสำคัญ
ที่ความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 7 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับกรน้ำตาลีรวมกับบิลิรูบินรวม และระดับกรน้ำตาลีรวมกับ alkaline phosphatase ในซีรัมผู้ป่วยที่จำแนกชนิดของโรคตับ

Diagnosis	N	Total bilirubin (r)	Alkaline phosphatase (r)
CHCA	33	0.65	0.08
Hepatitis	28	0.84	0.77
Cirrhosis	13	0.73	0.11
Hepatoma	6	0.13	0.58
Obstructive jaundice	15	0.09	0.07

บทวิจารณ์

ผลการศึกษาวิธีการตรวจวัดตามวิธีของ Mashige และคณะ (15) ให้ความเป็นเส้นตรงถึง 200 $\mu\text{mol/L}$ แต่ Mashige และคณะรายงานไว้ 250 $\mu\text{mol/L}$ ดังนั้นในการตรวจวัดถ้าสิ่งส่งตรวจ มีระดับกรดน้ำดีรวมสูงเกิน 200 $\mu\text{mol/L}$ จะต้องทำการเจือจางก่อนทำการตรวจวัดเพื่อผลการตรวจวัดที่ถูกต้อง ความแม่นยำ (C.V.) ของการตรวจวัดให้ค่า within run precision และ between run precision เท่ากับ 4.68% และ 6.46% ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีความแม่นยำอยู่ในเกณฑ์ดี ซึ่งเมื่อเทียบกับ within run precision ของ Staver และคณะ (16) ได้ค่า C.V. เท่ากับ 2.2%, Kim (17) เท่ากับ 5.4% และ Chen และคณะ (18) เท่ากับ 2.6% ส่วน between run precision ที่รายงานโดย Mashige และคณะ (15) ได้ค่า C.V. เท่ากับ 4.3% และ Staver และคณะ (16) ได้ค่า C.V. เท่ากับ 9.2% ส่วนค่า recovery ของการตรวจวัดอยู่ในเกณฑ์ดีได้เท่ากับ 95.2-119.4% ($\bar{X}=109.6\%$) เมื่อเทียบกับ Mashige และคณะ (15) รายงานไว้คือ 88-106% ($\bar{X}=96.2\%$) สำหรับค่าอ้างอิงของระดับกรดน้ำดีรวมในซีรัมศึกษาได้เท่ากับ 0-7.12 $\mu\text{mol/L}$ ซึ่งใกล้เคียงกับรายงานของ Mashige และคณะ (15) รายงานไว้คือ 0-7 $\mu\text{mol/L}$ ดังนั้นค่าอ้างอิงที่ศึกษาได้นี้สามารถนำไปใช้ประกอบการวินิจฉัยผู้ป่วยที่สงสัยว่ามีพยาธิสภาพเกิดขึ้นที่ตับได้

สำหรับการศึกษาระดับกรดน้ำดีรวมในผู้ป่วยโรคตับต่าง ๆ ก็ได้ผลร้อยละความผิดปกติของระดับกรดน้ำดีรวมสูงกว่า liver function test อื่น ๆ ซึ่งใกล้เคียงกับการรายงานของ Mashige และคณะ (15) ส่วนความสัมพันธ์ของระดับกรดน้ำดีรวมกับ liver function test อื่นๆ พบว่าระดับกรดน้ำดีรวมจะสัมพันธ์กับ bilirubin มากที่สุด ($r=0.64$) อย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95% ซึ่งคล้ายกับที่ Chen และคณะได้ศึกษาไว้ (18) ระดับกรดน้ำดีรวมมีความสัมพันธ์กับ bilirubin มากที่สุดในโรค hepatitis แต่ใน hepatoma ระดับกรดน้ำดีรวมจะมีความสัมพันธ์กับ alkaline phosphatase มากกว่า จากการศึกษาครั้งนี้เนื่องจากกลุ่มโรคบางอย่างมีจำนวนตัวอย่างน้อย ไม่เหมาะที่จะเป็นตัวแทนประชากร เช่น hepatomegaly, cholangitis และ liver abscess จึงทำการเปรียบเทียบในกลุ่มปกติโดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย นอกจากนี้ในแง่ของการทดลองการตรวจวัดหาระดับกรดน้ำดีรวมในซีรัมผู้ป่วยโรคตับนี้จะเป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว วิธีการทำงาน ใช้เครื่องมือในห้องปฏิบัติการชั้นสูงทั่วไปได้ แต่มีข้อเสียคือสารเคมีราคาแพง แต่ก็น่าจะใช้เป็นวิธีการทดสอบในการประเมินสมรรถภาพการทำงานของตับได้