

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

การศึกษาแอกติวิตีของออกซิเดสของเซอร์โคปาลาสมินเพื่อใช้เป็นตัวบ่งชี้ปริมาณตะกั่วในเลือดได้ผลสรุปดังต่อไปนี้

1 สภาวะที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์แอกติวิตีของออกซิเดสของเซอร์โคปาลาสมินในซีรัมคน คือ ใช้ซีรัม 0.02 มิลลิลิตร วิเคราะห์แอกติวิตีในสารผสมปริมาตรสุดท้าย 1.04 มิลลิลิตร โดยใช้สับเซกตรความเข้มข้นสุดท้าย 1.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และใช้โซเดียมเฮไซด 0.1 โมลาร์ยับยั้งปฏิกิริยาในหลอดควบคุม บ่มปฏิกิริยาที่ 38 องศาเซลเซียสนาน 10 นาที พีเอช 6.0 ทั้งนี้สามารถใช้ซีรัมจากเลือดที่เก็บในเฮปารินได้โดยไม่ทำให้แอกติวิตีลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่ 95 เปอร์เซ็นต์ ควรเก็บซีรัมที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสซึ่งคงความเสถียรได้นานกว่า 2 สัปดาห์ และนานกว่าแอกติวิตีของอะมิโนเลวูกลินิกแอกซิด ดีไฮดรอะเอสที่เก็บที่อุณหภูมิที่ดีที่สุด (-70 องศาเซลเซียส) ถึง 40 เปอร์เซ็นต์ จึงเป็นข้อดีในทางปฏิบัติเมื่อใช้เซอร์โคปาลาสมินเป็นตัวบ่งชี้ชีวภาพเพราะสามารถเก็บตัวอย่างได้นานโดยไม่มีการลดแอกติวิตี ควรระมัดระวังความเที่ยงตรงเกี่ยวกับเวลาและปริมาณสารที่ใช้ในการวิเคราะห์แอกติวิตีของออกซิเดสเป็นพิเศษเพราะปฏิกิริยามีการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็ว

2 สภาวะที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์แอกติวิตีของอะมิโนเลวูกลินิกแอกซิด ดีไฮดรอะเอสในเลือดคน คือ วิเคราะห์โดยใช้เลือดปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร และความเข้มข้นของสับเซกตร 0.68 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร บ่มที่ 38 องศาเซลเซียสนาน 1 ชั่วโมง พีเอช 6.65 แล้วทำสีกับเออร์ซีเอเจนด์เป็นเวลา 13 นาที ทั้งนี้ควรเก็บเลือดที่ -70 องศาเซลเซียสและวิเคราะห์ภายใน 1 วัน เพราะแอกติวิตีจะลดลงวันละประมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ โดยต้องวัดเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดแดงอัดแน่นก่อนเก็บ เพราะอุณหภูมิที่ต่ำกว่า 4 องศาเซลเซียส จะทำให้เม็ดเลือดแดงแตก

3 ตะกั่วทำให้แอกติวิตีของออกซิเดสของเซอร์โคปาลาสมิน บริสุทธิ์ ลดลงเป็นแบบ Geometric curve คือลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงแรกที่ปริมาณตะกั่วไม่เกิน 20 ไมโครกรัมต่อ 100 มิลลิลิตรซึ่งอัตราการลดลงใกล้เคียงแอกติวิตีของอะมิโนเลวูกลินิกแอกซิด ดีไฮดรอะเอสบริสุทธิ์ (65 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งมีแนวโน้มลดลงแบบเอกซ์โปเนนเชียล เมื่อตะกั่วเข้มข้นมากขึ้นแอกติวิตีของออกซิเดสค่อนข้างคงตัวขณะที่แอกติวิตีของอะมิโนเลวูกลินิกแอกซิดดีไฮดรอะเอสยังมีแนวโน้มลดลงเรื่อยๆ (ต่างกันประมาณ 15 เปอร์เซ็นต์) ดังนั้น

ควรแยกวิเคราะห์ความสัมพันธ์ที่ปริมาณตะกั่วไม่เกิน 20 ไมโครกรัมต่อ 100 มิลลิลิตรด้วย จากผลการลด แอคติวิตีโดยตะกั่วดังกล่าวแสดงว่าแอคติวิตีของออกซิเดสของเซอร์โคโลพลาสตินน่าจะเป็นตัวบ่งชี้ชีวภาพ ของปริมาณตะกั่วในเลือดได้เช่นเดียวกับแอคติวิตีของอะมิโนเลกูลินิกแอซิด ดีไฮดรอะเตส เมื่อนำผลการ ลดลงของแอคติวิตีของเอนไซม์บริสุทธิ์ทั้งสองเปรียบเทียบกับเอนไซม์จากซีรัมและเลือดคนตามลำดับพบว่า แนวโน้มการลดลงเหมือนกัน แต่เอนไซม์จากซีรัมและเลือดคนมีอัตราการลดลงมากกว่าเอนไซม์บริสุทธิ์ ซึ่งอาจเกิดจากในซีรัมและเลือดคนมีปัจจัยอื่นที่ทำให้แอคติวิตีลดลงมากขึ้น หรืออาจเกิดจากระยะเวลาใน การสัมผัสตะกั่วในคนจริงๆ ยาวนานกว่าในหลอดทดลอง ดังนั้นตะกั่วไม่เพียงลดแอคติวิตีของเอนไซม์ เท่านั้นแต่อาจลดปริมาณเอนไซม์ด้วยก็ได้

4 เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณตะกั่วในเลือดกับแอคติวิตีของออกซิเดส ของ เซอร์โคโลพลาสติน และแอคติวิตีของอะมิโนเลกูลินิกแอซิด ดีไฮดรอะเตส จากตัวอย่างทั้งหมด 53 ตัวอย่าง พบว่าตะกั่วในเลือดมีความสัมพันธ์กับแอคติวิตีของอะมิโนเลกูลินิกแอซิด ดีไฮดรอะเตส ( $r = -0.8643$ ) มากกว่าแอคติวิตีของออกซิเดสของเซอร์โคโลพลาสติน ( $r = -0.6785$ ) โดยเอนไซม์ทั้งสองประมาณค่าตะกั่ว ในเลือดได้ถูกต้อง 74.7 และ 46.0 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อพิจารณาเฉพาะตัวอย่างที่มีตะกั่วในเลือดไม่เกิน 20 ไมโครกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร พบว่าแอคติวิตีของออกซิเดสของเซอร์โคโลพลาสตินมีระดับความสัมพันธ์ ดีกว่าคือ  $r = -0.6963$  และ  $-0.5785$  ตามลำดับ โดยเอนไซม์ทั้งสองประมาณค่าตะกั่วในเลือดถูกต้อง 48.5 และ 33.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนี้แอคติวิตีของออกซิเดสมีความไว (Threshold) ต่อตะกั่วใกล้เคียง กับแอคติวิตีของอะมิโนเลกูลินิกแอซิด ดีไฮดรอะเตส โดยจะถูกยับยั้งแอคติวิตีลง 50 เปอร์เซ็นต์ด้วยตะกั่ว ในเลือด 12.5 และ 10 ไมโครกรัมต่อ 100 มิลลิลิตรตามลำดับ สรุปได้ว่าแอคติวิตีของออกซิเดสของ เซอร์โคโลพลาสตินสามารถเป็นตัวบ่งชี้ชีวภาพของปริมาณตะกั่วในเลือดได้ดีกว่าแอคติวิตีของอะมิโนเลกูลินิก แอซิด ดีไฮดรอะเตส ที่ความเข้มข้นของตะกั่วต่ำกว่า 20 ไมโครกรัมต่อ 100 มิลลิลิตรซึ่งยังไม่ปรากฏอาการ พิษตะกั่วให้เห็นภายนอก

5 ความแตกต่างระหว่างปริมาณตะกั่วในเลือด แอคติวิตีของออกซิเดสของเซอร์โคโลพลาสติน และ แอคติวิตีของอะมิโนเลกูลินิกแอซิด ดีไฮดรอะเตส จากตัวอย่างเลือดคนปกติ คนงานโรงพิมพ์ และคนงาน โรงงานแบตเตอรี่ พบว่าปริมาณตะกั่วในเลือดของคนปกติ และคนงานโรงพิมพ์ น้อยกว่าคนงานโรงงาน แบตเตอรี่ ( $\bar{x} = 30.14$  ไมโครกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร) อย่างมีนัยสำคัญที่ 95 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่พบความ แตกต่างกันในคนปกติกับคนงานโรงพิมพ์ ผลสรุปดังกล่าวเหมือนกับแอคติวิตีของอะมิโนเลกูลินิกแอซิด ดีไฮดรอะเตส ในขณะที่แอคติวิตีของออกซิเดสของเซอร์โคโลพลาสตินมีค่าเฉลี่ยแตกต่างกันในทุกกลุ่มตัวอย่าง

ซึ่งอาจจะเป็นข้อดีในการเป็นตัวบ่งชี้ชีวภาพของพิษตะกั่วของเซอรูโลพลาสมินที่สามารถแยกแยะกลุ่มตัวอย่างได้มากกว่าอีก 2 พารามิเตอร์ก็เป็นได้

6 ราคาวิเคราะห์ต่อหน่วย (ต่อ 1 ตัวอย่าง) ของแอกติวิตีของออกซิเดสของเซอรูโลพลาสมินมีราคาถูกกว่าการวิเคราะห์แอกติวิตีของอะมิโนเลวูลินิกแอซิดดีไฮดรอกซีเลส และปริมาณตะกั่วในเลือด คือราคา 8.6 71.8 และ 150 บาทต่อตัวอย่างตามลำดับ (วิธีคำนวณแสดงในภาคผนวก จ)