บทความพิเศษ

การตรวจทางห้องปฏิบัติการ เพื่อช่วยการวินิจฉัยแยกโรคตับอ่อนอักเสบ

สมพงษ์ จินายน*

Chinayon S. Laboratory role in the diagnosis of inflammatory pancreatic diseases. Chula Med J Oct; 33(10): 721-730

Laboratory tests in the diagnosis of pancreatic diseases presently use serum enzyme measurements such as total amylase, pancreatic-amylase isoenzymes and lipases. Physicians should consider all these enzyme data, since they indicate different clinical entities. At present, the methodologies and reagents fulfill the quality requirements for routine use in clinical laboratory. Analytical technics are simple, rapid, inexpensive and giving good performance. The determination of other serum pancreatic enzymes such as, phospholipase A, immunoreactive trypsin and alpha-glucosidases are being evaluated for clinical diagnostic values and for the improvement of standard analyticals performances.

Reprint request : Chinayon S, Department of Medical Technology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand.

Received for publication. November 24, 1988.

*ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การวินิจฉัยโรคตับอ่อนอักเสบด้วยการตรวจทางห้องปฏิบัติการ เป็นวิธีการที่ปลอดภัยต่อผู้ป่วย เทคนิคทำได้ง่าย รวดเร็วและราคาถูก ทั้งยังมีการพัฒนาขั้นตอนและชนิดของการทดสอบจนเพิ่มประโยชน์ในการวินิจฉัยโรคขึ้น (diagnostic value) ในแง่ของความไวและความจำเพาะทางคลินิก (clinical sensitivity และ specificity) ทำให้การรักษาโรคและการพยาบาลผู้ป่วยเป็นไปอย่างเหมาะสม สาเหตุของตับอ่อนอักเสบเกิดจากพยาธิสภาพที่ตับอ่อนเอง (primary pancreatic diseases) และพยาธิสภาพที่อวัยวะอื่นในร่างกาย (non pancreatic diseases) ที่ทำให้เกิดภาวะตับอ่อนอักเสบได้ นอกจากนั้นการมีระดับซีรั่มอะมีย์เลสสูง (hyperamylasemia) ยังพบได้ทั้งโรคตับอ่อนอักเสบและโรคอื่น เพราะว่าเอนไซม์ alpha amylase (EC 3.2.1.1) นี้พบได้ในเซลล์ของเนื้อเยื่อหลายชนิดในร่างกายคน ในปริมาณที่มากน้อยต่างกัน อวัยวะที่มีแอคทิวิตีย์ของเอนไซม์สูงได้แก่ ต่อมน้ำลายและตับอ่อน[1] ส่วนอวัยวะอื่นที่พบอะมีย์เลสปริมาณต่ำตามลำดับลงมา ได้แก่ ลำไส้เล็ก ปอด หลอดมดลูก (fallopian tube) ต่อมธัยรอยด์ กระเพาะอาหาร รังไข่ หัวใจ ถุงน้ำดี ไต มดลูก กระเพาะปัสสาวะ ตับ รก ลูกอัณฑะ กล้ามเนื้อลาย และ ม้าม[1] ดังนั้นนอกจากพบระดับซีรั่มอะมีย์เลสรวม (total serum amylase) เพิ่มขึ้นในโรคตับอ่อนอักเสบและต่อมน้ำลายอักเสบแล้ว ยังพบได้ในอีกหลายสภาวะ เช่น แผลกระเพาะอาหารทะลุ ลำไส้อุดตัน การตั้งครรภ์นอกมดลูก ปีกมดลูกอักเสบ ภาวะไตวาย มะเร็งที่ปอด ที่รังไข่และที่ลำไส้ใหญ่ diabetic ketoacidosis, macroamylasemia และการให้ยาพวก opiates [2] หลังการผ่าตัดบริเวณช่องท้อง[3] และการผ่าตัดหัวใจ[4] เป็นต้น

การตรวจซีรั่มอะมีย์เลสรวมเป็นการตรวจขั้นแรกทางห้องปฏิบัติการในผู้ป่วยที่มาโรงพยาบาล ด้วยอาการปวดท้องอย่างฉับพลัน มีประวัติและการตรวจร่างกายบ่งชี้ถึงการมีตับอ่อนอักเสบ ดังนั้นจึงต้องพิจารณาวิเคราะห์แยกโรคโดยใช้การทดสอบอย่างอื่นมาช่วยยืนยันด้วย Ziegenhorn[5] ได้แนะนำการใช้ซีรั่มอะมีย์เลสไอโซเอนไซม์ (amylase isoenazyme) ซีรั่มไลเปส (lipase, EC 3.1.1.3) ซีรั่มฟอสฟอไลเปส เอ (phospholipase A) Tietz และคณะ[6] ได้แนะนำให้ใช้การตรวจซีรั่มไลเปสและทริฟซิน (immunoreactive trypsin, EC 3.4.21.4) เพื่อช่วยในการวิเคราะห์แยกสาเหตุภาวะที่มีซีรัมอะมีย์เลสรวมสูง (hyperamylasemia) บทความนี้กล่าวถึงประโยชน์ทางคลินิกของการตรวจซีรั่มอะมีย์เลสรวมสูง (hyperamylasemia) บทความนี้กล่าวถึงประโยชน์ทางคลินิกของการตรวจซีรั่มเอนไซม์ข้างต้น รวมทั้งการปรับปรุงวิธีวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการเพื่อการที่แพทย์และนักวิเคราะห์จะร่วมกันพิจารณาหาการทดสอบที่เหมาะสมและสามารถตรวจได้ในห้องปฏิบัติการพื้นฐานของโรงพยาบาลที่ให้บริการด้านรักษาผู้ป่วย

1. ซีรั่มอะมีย์เลสรวมและไอโซเอนไซม์ (alpha-1, 4-glucanohydrolase; EC 3.2.1.1)

การตรวจซีรั่มอะมีย์เลสรวมและแยกชนิดเอนไซม์มีประโยชน์ในการบอกถึงแหล่งเนื้อเยื่อที่สร้างเอนไซม์อะมีย์เลสแต่ละชนิด แม้ว่าจะไม่มีความจำเพาะเจาะจงอย่างสมบูรณ์แต่ใช้ช่วยยืนยันและแยกพยาธิสภาพได้ ระดับซีรั่มอะมีย์เลสรวมเพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง ภายหลังเริ่มมีอาการของตับอ่อนอักเสบ และลดลงสู่ระดับปกติภายใน 10 วัน[7] ข้อจำกัดของการตรวจซีรั่มอะมีย์เลส ได้แก่ระดับที่เพิ่มขึ้นไม่มีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรค การเพิ่มระดับเพียงเล็กน้อยอาจแสดงถึงระยะสุดท้ายของโรคหรือการอักเสบที่ไม่รุนแรงได้ นอกจากนั้นการเพิ่มระดับซีรั่มอะมีย์เลสรวมไม่สามารถแยกพยาธิสภาพที่ตับอ่อนจากสาเหตุอื่นได้ การใช้อะมีย์เลสไอโซเอนไซม์ช่วยให้แยก extrapancreatic diseases ที่อวัยวะอื่นซึ่งอยู่นอกบริเวณช่องท้องออกไปได้[7] ดังรายงานการศึกษาของ Kameya และคณะ[3] ได้ศึกษาหาสาเหตุที่ผู้ป่วยในหอผู้ป่วยฉุกเฉินมีระดับซีรั่มอะมีย์เลสรวมสูง จำนวน 27 ราย โดยการตรวจชนิดซีรั่มไอโซอะมีย์เลส ด้วยวิธีใช้สารโปรตีนยับยั้ง (selective inhibitor) ซึ่งสะกัดแยกจากเมล็ดข้าวสาลี (wheat - germ protein)[8] สารชนิดนี้มีความจำเพาะเจาะจงในการยับยั้งแอคทิวิตีย์ของ salivary-type isoamylase (S - type) ได้เป็น 100 เท่าของ pancreatic - type isoamylase (P - type)[8] เมื่อถูกนำมาใช้สำหรับแยกชนิดซีรั่มอะมีย์เลสรวม มีความสามารถยับยั้งแอคทิวิตีย์ของ S - type ได้ 90% และของ P - type ได้ 20% จึงมีประโยชน์ช่วยบ่งชี้พยาธิสภาพได้ถึงแม้ว่าหลักการจะขาดความจำเพาะบ้าง[3,9,10] และเมื่อวัดระดับ P - type ที่เหลือในซีรั่ม แล้วหาอัตราส่วน p/s พบว่ามีผู้ป่วย 6 ราย (22%) ที่มีทั้งการเพิ่มระดับซีรั่มอะมีย์เลสรวมและอะมีย์เลสชนิด P - type จึงทำให้อัตราส่วน p/s สูงขึ้นด้วย (ค่าอ้างอิงถึง 100 - 370, 50 - 258 U/L และ 0.3-3.0 ตามลำดับ)[3] ผู้ป่วยเหล่านี้มีพยาธิสภาพเกี่ยวกับตับอ่อนโดยมีตับอ่อนอักเสบชนิดเฉียบพลัน 4 ราย ส่วนผู้ป่วยที่มีการ

เพิ่มทั้งซีรั่มอะมีย์เลสรวมและไอโซอะมีย์เลส S - type ทำให้อัตราส่วน p/s ต่ำมีจำนวน 17 ราย (63%) เป็นผู้ป่วยซึ่งเป็นโรคที่ไม่เกี่ยวกับตับอ่อน ได้แก่ โรคหัวใจ โรคปอด และหลังการผ่าตัดใหญ่ ส่วนในผู้ป่วยโรคไตวาย (renal failure) จำนวน 4 ราย มีระดับซีรั่มอะมีย์เลสรวมสูง และมีทั้งไอโซเอนไซม์ชนิด P - type และ S - type สูงพร้อมกัน จึงทำให้อัตราส่วน p/s ปกติ ทั้งนี้เนื่องจากเกิดการคั่งของเอนไซม์อะมีย์เลสในเลือดเพราะลดการขับถ่ายจากไต[3] ผลการศึกษาแสดงว่าการวัดซีรั่มอะมีย์เลสรวมอย่างเดียวไม่ได้บ่งชี้ถึงพยาธิสภาพที่ตับอ่อน และต่อมน้ำลายเท่านั้น เพราะมีอวัยวะอื่นอีกหลายชนิดที่สร้างเอนไซม์ได้อีก และทำให้เกิดภาวะซีรั่มอะมีย์เลสรวมสูงได้มากกว่า การวิเคราะห์หาชนิดไอโซเอนไซม์โดยวิธีการใช้โปรตีนยับยั้งทำได้ง่ายรวดเร็ว และมีราคาถูก อนึ่งการพิสูจน์ว่าสาเหตุของซีรั่มอะมีย์เลสสูง (hyperamylasemia) นั้นเกิดขึ้นจากโรคหรือพยาธิสภาพที่เกี่ยวข้องกับตับอ่อน โดยพิจารณาร่วมกับเหตุผลทางคลินิกแล้ว ทำให้ช่วยในการวินิจฉัยแยกโรคหรืองดการทดสอบอื่นที่ไม่จำเป็นได้ และสามารถให้การรักษาโรคได้อย่างรวดเร็ว[3]

เทคนิคการวิเคราะห์เอนไซม์ในห้องปฏิบัติการมีหลายวิธี alpha - amylase เป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลาย alpha - linkage ของ 1, 4 - maltopolysaccharides การตรวจแอคทิวิตีย์ของเอนไซม์ใช้หลักการวัดปฏิกิริยาการย่อยสลายสารแป้งโดยคุณสมบัติที่เรียกว่า saccharogenic และ amyloclastic properties ของเอนไซม์ซึ่งได้มีการพัฒนาเตรียม substrates ที่เหมาะสมขึ้นใช้ และวงการอุตสาหกรรมได้เตรียมเป็นชุดน้ำยาสำเร็จรูปขึ้นหลายชนิดเพื่อจำหน่าย โดยการวัดปฏิกิริยาไคเนติคของ enzyme coupled หรือวัดผลิตผลขั้นสุดท้ายที่เป็นสารมีสี[3,9 - 12] ซึ่งเป็นเทคนิควิเคราะห์ที่ง่ายมีความเที่ยงตรงดี (good precision) ห้องปฏิบัติการเคมีคลินิกทั่วไปสามารถวิเคราะห์ได้ สาร substrates ได้รับการพัฒนาเป็นระยะโดยให้ polysaccharides รวมตัวกับสีที่เป็น indicator ของผลิตผลขั้นสุดท้ายตลอดจนการสังเคราะห์ substrates พวกสาร oligosaccharides ซึ่งกำหนดจำนวนโมเลกุลของกลูโคสได้ (defined chain length)[9-14] และได้มีการปรับปรุงโดยการสังเคราะห์ oligosaccharides ให้มีบริเวณที่เกิดปฏิกิริยา reduction (reducing end) เชื่อมตัวกับกลุ่ม 4 -nitropheny1 (4NP) และวัดปริมาณของ 4NP ที่เกิดขึ้นโดยการทำงานของอัลฟา อะมีย์เลส[14 - 16] ที่ความยาวคลื่นแสง 405 nm พร้อมทั้งเร่งปฏิกิริยาให้เร็วขึ้นและกำจัดการขัดขวางจากสารกลูโคสและไพรูเวทในเลือด โดยการเติมเอนไซม์ช่วย (auxillary enzyme, alpha -glucosidase)[14,16] เนื่องจากอะมีย์เลสไอโซเอนไซม์มีความจำเพาะเจาะจงต่อ substrates ต่างกันตามจำนวนโมเลกุลของกลูโคสที่ถูกสังเคราะห์ขึ้น[16] จึงได้มีการประเมินผล คุณสมบัติทางด้านการปฏิบัติ (performance characteristics) ของวิธีวิเคราะห์ และพบว่าการใช้ 1,4α, D-4-nitropheny 1 maltoheptaosid (4 NP-G7) เป็น substrates ที่เหมาะสำหรับวัดระดับซีรั่มอะมีย์เลสรวม[14] คือเทคนิควิเคราะห์ให้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรง (linear range) ถึงระดับ 2000 U/L ที่อุณหภูมิ 25°C มีความไม่เที่ยงตรง (impreision) น้อย วัดโดยค่า coefficient of variation (%, CV) ของการวิเคราะห์ตัวอย่างซ้ำในการทดลองครั้งเดียวกัน (within series, n = 10) ที่ค่าอะมีย์เลสรวมระดับต่ำ ปกติ และสูงได้ 2.6, 2.3 และ 0.9% ตามลำดับ ส่วน %, CV ของการวิเคราะห์ซ้ำที่ต่างการทดลอง (day to day, n = 10) ได้ 6.0, 3.8 และ 1.6% ตามลำดับ ซึ่งการทดลองดังกล่าวมีความแปรปรวนของวิธีวิเคราะห์อยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ คุณสมบัติแง่ความแม่นยำ (accuracy) ซึ่งศึกษาโดยการวิเคราะห์ซีรั่มตัวอย่างเดียวกัน จำนวน 65 ตัวอย่าง เปรียบเทียบกับการวัดอะมีย์เลส แอคทิวิตีย์โดยวิธี ultraviolet assay และมี maltoheptaoside เป็น substrates ระดับซีรั่มอะมีย์เลสรวมอยู่ในช่วงระหว่าง 50 - 1400 U/L ค่าสมการถดถอยเชิงเส้นตรง (least squares linear regression equation) Y = 8.9 + 0.98 X ซึ่งแสดงว่าเทคนิควิเคราะห์ทั้งสองมีค่าใกล้เคียงกัน ค่า coefficient of correlation (r) 0.994 ซึ่งสนับสนุนว่ามีความไม่เที่ยงตรงน้อย การศึกษาสารขัดขวางปฏิกิริยาซึ่งมีผลกระทบต่อความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์อะมีย์เลสโดยใช้ 4 NP - G7 เป็น substrates พบว่าภาวะที่ไม่ทำให้แอคทิวิตีย์เปลี่ยนแปลงได้แก่ ไขมันในเลือด (< 11.4 mmol/L) ฮีโมโกลบิน (< 35 μmol/L), บิลิรูบิน (<170 μmol/L), กลูโคส (< 100 mmol/L) และไวตามินซี (< 1 mmol/L) ส่วน EDTA มีฤทธิ์ยับยั้งแอคทิวิตีย์ของอะมีย์เลส และสารซิเตรท ออกซาเลท หรือ ฟลูออร์ไรด์ สามารถลดแอคทิวิตีย์ประมาณ 5 - 15% ส่วนสารเฮปาริน (heparin 750 mg/L) ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง จึงแนะนำให้ใช้เพื่อเป็นสารป้องกันเลือดแข็งตัว เมื่อวัดระดับอะมีย์เลสในพลาสมา[14]

ปัจจุบันได้มีการพัฒนา substrates ชนิด 4 NP- G7 โดยเชื่อมสารเคมีที่ปลาย non - reducing ได้แก่ benzylidine

(Nycotest, α - amylase PNP, Nycomed AS, Pharma Division,. Diagnostica, Norway) หรือ ethylidene (EPS, Boehringer Mannheim GmbH, W. Germany) ทั้งนี้เพื่อป้องกันการย่อยสลายที่ไม่จำเพาะของ PNP - maltoheptaoside ซึ่งเกิดจากเอนไซม์ glucoamylase และ alphaglucosidase ทำให้น้ำยาเคมีคงสภาพระหว่างการเก็บรักษา

Klein และคณะ[17] ได้รายงานการประเมินผลวิธีวัดซีรั่มอะมีย์เลสรวม โดยห้องปฏิบัติการ 5 แห่ง และใช้เครื่องมือวิเคราะห์อัตโนมัติต่างชนิดกัน ได้ใช้ ethylidene-protected 4 - nitrophenylmaltoheptaoside (EPS) เป็น substrates ได้ทดสอบความคงสภาพของน้ำยา (reagent stability) พบว่าวิธี EPS มีความคงที่เป็น 5 เท่า และ 9 เท่า เมื่อเก็บน้ำยาที่อุณหภูมิ 2° - 8°C และ 25°C ตามลำดับ ทั้งนี้โดยเปรียบเทียบกับวิธี PNP เดิม อีกประการหนึ่งวิธี EPS มีความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานสูงกว่าวิธี PNP จึงหลีกเลี่ยงการเจือจางวัตถุวิเคราะห์ที่มีระดับอะมีย์เลสที่มีระดับซีรั่มอะมีย์เลสสูง ทำให้เพิ่มความแม่นยำของเทคนิคขึ้น ส่วนความไม่เที่ยงที่ระดับอะมีย์เลสปกติ ทดลองโดย within run มี %, CVs ระหว่าง 0.6 ถึง 2.7 และ between day 1.7 ถึง 4.1 การศึกษาเปรียบเทียบค่าวิเคราะห์ระหว่างวิธี EPS และ PNP ในซีรั่มตัวอย่างเดียวกันที่อุณหภูมิวิเคราะห์ 37°C โดยการวิเคราะห์ความถดถอยเชิงเส้นตรง $Y = 15.365 + 0.965 X$ จึงไม่แสดงความแตกต่างระหว่างค่าวิเคราะห์ ทั้งนี้โดยการใช้ค่าคงที่ (factor) 2.5 คูณค่าวิเคราะห์ของวิธี EPS เพราะว่าอัตราการแบ่งตัวของ protected substrate (EPS) โดยเอนไซม์อะมีย์เลสแตกต่างจากของ PNP substrates อีกประการหนึ่งค่าการศึกษาวิเคราะห์กลับคืน (recovery studies) ได้ค่าภายในขอบเขต ± 5% ของค่าเป้าหมายบ่งชี้ถึงความแม่นยำดี และสนับสนุนโดยค่าอ้างอิง (reference values) มีค่าใกล้เคียงกับวิธี PNP ดังนั้นวิธีวัดอัลฟาอะมีย์เลสรวมโดยใช้ EPS substrate เป็นวิธีการใหม่ ซึ่งได้พัฒนาความคงสภาพของน้ำยาและความเที่ยงตรงให้ดีขึ้น สามารถปฏิบัติได้ทั้งการวิเคราะห์ด้วยมือหรือเครื่องมืออัตโนมัติ[17]

ได้มีการวัดระดับอะมีย์เลสรวมในพลาสมาและเลือดครบส่วน (heparinized whole blood) โดยใช้แถบสารเคมีสำเร็จรูปและเครื่องมือ Reflotron (Boehringer Mannheim GmbH)[18] ซึ่งเป็นเทคนิคของdry chemistry เป็นวิธีที่รวดเร็วและง่ายใช้ปริมาตรตัวอย่างน้อยเพียง 30 microliters ซึ่งอาจเป็นซีรั่มพลาสมา เลือดผสมกับสารกันแข็งตัว หรือเลือดจากเส้นเลือดฝอย (capillary blood) หลักการของ Reflotrona mylase นั้นใช้ปฏิกิริยา catalytic activity ของเอนไซม์อะมีย์เลสในการแยก chromogenic substrate คือ indolyl- α -D-maltoheptaoside และโดยปฏิกิริยาร่วมของเอนไซม์ α-glucosidase ได้เป็น indoxyl รูปอิสระ ซึ่งสามารถรวมตัวกับ diazonium salt ได้เป็นสารสีม่วง วัดโดยเครื่อง Reflotron ที่ความยาวคลื่นแสง 576 mn อุณหภูมิ 37°C วิธีนี้มีความไม่เที่ยงตรงน้อย การทดลองหาค่า %CV ชนิดการวิเคราะห์ซ้ำในการทดลองเดียวกัน (within - run imprecision) ที่ระดับอะมีย์เลส 70, 191, 366 และ 1031 U/L (อุณหภูมิ 37°C) ได้ 2.7, 2.6, 3.1, และ 4.2 ตามลำดับ ความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตราฐานวัดได้ในช่วง 60 ถึง 1,800 U/L (linear range) การศึกษาเปรียบเทียบค่าอะมีย์เลสรวมกับวิธี PNP ได้สมการถดถอยเชิงเส้นตรง $Y = 4.99 + 1.00 X$, $r = 0.996$ จำนวนซีรั่มตัวอย่าง 137 ตัวอย่าง แสดงว่าผลได้ใกล้เคียงกับวิธีเปรียบเทียบมาตรฐาน การศึกษาสารขัดขวางไม่พบว่ามีผลต่อระบบการทดสอบ

ดังได้กล่าวแล้วว่าการวัดระดับซีรั่มอะมีย์เลสไอโซเอนไซม์ชนิด pancreatic (P) type และ salivary (S) type พร้อมกับซีรั่มอะมีย์เลสรวมช่วยทำให้การวินิจฉัยโรคที่ตับอ่อนได้ถูกต้องขึ้น โดยเฉพาะโรคตับอ่อนอักเสบเฉียบพลัน หรือ ตับอ่อนอักเสบเรื้อรังจนมีการทำหน้าที่ลดลง ในกรณีหลังนี้ผู้ป่วยมีซีรั่มอะมีย์เลสรวมปกติแต่ไอโซเอนไซม์ชนิด P - type ลดลง[19] การแยกชนิดหรือวัดระดับไอโซอะมีย์เลสนั้นทำได้หลายวิธี เช่น เทคนิคอีเลคโตรโฟรีซีส โดยใช้ cellulose acetate[20] หรือ polyacrylamide gel[21] เทคนิค electrofocusing[6, 22] อย่างไรก็ตามวิธีเหล่านี้ใช้เวลานานและต้องมีเครื่องมือพิเศษจึงเหมาะที่เป็นเทคนิคมาตรฐานเพื่อการเปรียบเทียบค่าเท่านั้น ส่วนเทคนิคการใช้สารโปรตีนที่สกัดแยกจาก wheat - germ ซึ่งยับยั้งแอคทิวีตีย์ของอะมีย์เลสชนิด S-type[8,23] มีข้อจำกัดอยู่บ้าง ในแง่ของความจำเพาะเจาะจง (specificty) เพราะสารโปรตีนยับยั้งมีฤทธิ์ลดแอคทิวีตีย์ของ wheat-germ ซึ่งยับยั้ง S-type ได้ 80-90% และของ P-typeได้ 20%[9,10,12] เนื่องจากว่าลักษณะโมเลกุลของ P-type และ S-type อะมีย์เลสไอโซเอนไซม์นั้นแตกต่างกันเล็กน้อยที่ส่วน glycosylated part[24] และมีลำดับการเรียงตัวกรดอะมิโนใน c DNA ของยีน (gene) ต่างกัน 7%[25] ดังนั้นจึงสามารถสร้างแอนติบอดีย์ที่จำเพาะต่อไอโซเอนไซม์ทั้งสองได้ และนำมาใช้ในการวัดแอคทิวีตีย์โดย

วิธี radioimmunoassay (RIA) ได้[26,27] ถึงแม้ว่า วิธี RIA นี้มีความจำเพาะเจาะจงและความไวมากกว่าเทคนิคอื่นที่ใช้ทดสอบไอโซอะมีย์เลสก็ตาม การใช้ RIA มีข้อจำกัดสำหรับห้องปฏิบัติการทั่วไปเพราะต้องใช้สารกัมมันตภาพรังสี(^{125}I) และเครื่องมือวัดซึ่งมีราคาแพง ทั้งใช้เวลาวิเคราะห์นานถึง 20 ชั่วโมง จึงไม่เหมาะสำหรับการช่วยวินิจฉัยโรคในภาวะฉุกเฉิน จึงได้มีการนำเทคนิคอิมมูโนเคมี (immunochemistry) มาใช้แยกชนิดอะมีย์เลสไอโซเอนไซม์[21,28-31] ทั้งนี้โดยการผลิต monoclonal antibodies (MAB) ต่ออะมีย์เลสชนิด salivary - type ขึ้นและวัดแอคทิวิตีย์ของอะมีย์เลสโดยวิธีทางเคมี โดยใช้ PNP-maltoheptaoside (substrate)[21,28] หรือโดยใช้ coupled-enzyme method มี maltotetraose เป็น substrate การผลิต MAB (66C7) ซึ่งมีความจำเพาะเจาะจงสูงในการรวมตัวกับ S-type อะมีย์เลสของคนทำให้ห้องปฏิบัติการทั่วไปสามารถแยกชนิดไอโซเอนไซม์ได้อย่างรวดเร็ว และมีค่าวิเคราะห์ที่ถูกต้อง เพราะ MAB ทำปฏิกิริยาข้ามกลุ่มกับ P - type อะมีย์เลสได้น้อยกว่า 1%[21] การหาแอคทิวิตีย์ของ P - amylase ในซีรั่มทำได้โดยทางอ้อมด้วยใช้หลักการ enzyme immunoassay ให้ MAB ที่ฉาบติดกับ microtiter plate รวมตัวกับ S - type อะมีย์เลสแล้วล้างน้ำยาที่เหลือออกพร้อมกับ P - type อะมีย์เลส และวัด S - type ที่ติดอยู่โดยเติมน้ำยา substrate ได้ผลิตผลเป็นสารสีเหลือง ซึ่งวัดปริมาณได้โดยเครื่องมือ Dynatech microplate reader ส่วน P - type คำนวณโดยลบค่า S - type ออกจากอะมีย์เลสรวม (total amylase)[21] ขั้นตอนใช้เวลาประมาณ 3 ชั่วโมง หลังจากที่ฉาบเพลทไว้เรียบร้อยก่อนแล้ว ส่วนอีกวิธีหนึ่งทำโดยทางตรงใช้หลักการ immunoprecipitation โดยตกตะกอน MAB ของ S-type อะมีย์เลสด้วยแอนติบอดี้ชนิดที่สองก่อน (polyclonal sheep anti - mouse antibody) ปั่นแยกเอาตะกอนและล้าง เพื่อนำมาใช้เติมลงในซีรั่มที่ต้องการวัดไอโซเอนไซม์ และปั่นแยกส่วนน้ำใสข้างบน นำมาวัดระดับอะมีย์เลสซึ่งประกอบด้วย 91% ของ P - type และ 5% ของS - type แอคทิวิตีย์ในซีรั่ม และคำนวณ P - type อะมีย์เลสได้จากสูตร โดยทราบค่าอะมีย์เลสรวม วิธีนี้เป็นการวัดP - type โดยตรงใช้เวลาในการวิเคราะห์ 2 ชั่วโมง ผลที่ได้มีค่าใกล้เคียงกับวิธี enzyme immunoassay โดยมีค่าสมการถดถอยเชิงเส้นตรง $Y = -8.4 + 1.00\,X$ ($r = 0.99$, $n = 14$) ช่วงค่าอยู่ระหว่าง 97 ถึง 1132 U/L ที่ 37°C[21] วิธีหลังนี้เหมาะสำหรับใช้ในงานประจำของห้องปฏิบัติการ

ได้มีการเพิ่มความจำเพาะเจาะจงของ MAB ในการรวมตัวกับ S - type อะมีย์เลสโดยใช้ MAB 2 ชนิด คือ 66C7 และ 88E8 ซึ่งทั้งสองมีปฏิกิริยาร่วมในการยับยั้งแอคทิวิตีย์ของ S-type ได้ 98% ในเวลา 3 นาที (เหลือเพียง 2%) โดยไม่รวมตัวกับ P-type เลย ทำให้วัดระดับของ P - isoenzyme ได้โดยตรง ด้วยการใช้ pNP - maltoheptaose เป็น substrate ค่าที่ได้มีความเที่ยงตรงเช่นเดียวกับการใช้สารโปรตีนยับยั้ง ($r = 0.989$, $N = 45$)[28] วิธีนี้สามารถนำมาใช้กับเครื่องมืออัตโนมัติได้ด้วย[30] โดยมีความเป็นเส้นของกราฟมาตรฐานของ P - amylase สูงถึงระดับ 2000 U/L ที่อุณหภูมิ 25°C หรือ 37°C สำหรับความไม่เที่ยงตรงมีน้อย ค่า %CV ของการวิเคราะห์ซ้ำในชุดทดลองเดียวกันตั้งแต่ 0.6 ถึง 5.4 และของการวิเคราะห์ซ้ำต่างชุดทดลอง 2.5 ถึง 10.4 ซึ่งขึ้นอยู่กับระดับแอคทิวิตีย์ของ P - amylase เมื่อเปรียบเทียบค่าวิเคราะห์ของ P - amylase เมื่อ MAB กับใช้สารโปรตีนยับยั้ง (wheatgerm inhibitor) ที่อุณหภูมิ 37°C พบว่ามีค่าสมการถดถอยเชิงเส้นตรง $Y = -1.00 + 1.00X$ ($n = 76$) และเมื่อวิเคราะห์ค่า P-amylase 3 ระดับ ด้วยวิธี MAB โดยห้องปฏิบัติการ 3 แห่ง ซึ่งใช้เครื่องอัตโนมัติต่างบริษัทกัน ได้ผลสอดคล้องกัน ซึ่งแสดงถึงความแม่นยำของเทคนิค จึงสรุปว่าวิธีใหม่ที่ใช้สำหรับแยกชนิดไอโซอะมีย์เลสนี้มีคุณสมบัติด้านการปฏิบัติ (performance characteristics) ดีมากเหมาะสำหรับงานประจำของห้องปฏิบัติการในแง่ของความง่าย รวดเร็ว และเชื่อถือได้[30]

อนึ่ง Junge และคณะ[31] ได้นำเทคนิคดังกล่าวมาใช้หาค่าอ้างอิง (reference values) ของ P-amylase ในซีรั่มและปัสสาวะ ของหญิงและชายจำนวนอย่างละ 200 คน ไม่พบความแตกต่างระหว่างเพศหรืออายุในซีรั่มค่าเปอร์เซ็นไทล์ที่ 2.5 ถึง 97.5 ที่อุณหภูมิ 25°, 30°และ 37°C ได้ 13-64, 10-83 และ 17-115 U/L ตามลำดับ และค่า S-amylase ในซีรั่มสูงกว่า P-amylase เล็กน้อยสนับสนุนโดยค่า P/T น้อยกว่า 0.5 (S-amylase คำนวณจากความแตกต่างระหว่างอะมีย์เลสรวมคือ T และ P-amylase แอคทิวิตีย์) คือมีค่าเปอร์เซ็นไทล์ที่ 2.5 ถึง 97.5 เป็น 19 ถึง 91 U/L ที่อุณหภูมิ 25°C ในปัสสาวะค่าที่ 95 percentile ที่อุณหภูมิ 37°C ของ P-amylase 570 U/L และของ S-amylase 300 U/L หรือ 480 U/g ครีอะตินินและ 290 U/g ครีอะตินิน ซึ่งแสดงว่าในปัสสาวะมี P-type อะมีเลสมากกว่าเล็กน้อยสนับสนุนโดยค่า P/T ประมาณ 0.6 เนื่องจากไตขับถ่ายไม่ได้เท่ากัน

การปรับปรุงเทคนิคการหาอะมีย์เลสไอโซเอนไซม์โดยใช้ MAB ให้มีประสิทธิภาพดีขึ้นอีกวิธีหนึ่ง ได้แก่การเชื่อม (conjugated) MAB ด้วยอนุภาคของ polyvinylidene fluoride[29] เพื่อให้เป็นโมเลกุลใหญ่ขึ้นตกตะกอนได้ง่าย (immobilized monoclonal antibody, IMAB) ทำให้ลดขั้นตอนการวิเคราะห์ลง คือ เมื่อผสม IMAB กับ ซีรั่มแล้วปั่นแยก นำน้ำใสส่วนบนมาหาค่า P - amylase ได้โดยตรง ทราบผลภายในเวลา 40 นาที ได้ทำการทดลองประเมินผลคุณสมบัติด้านการปฏิบัติ พบว่าค่าวิเคราะห์ถูกต้อง โดยมี%, CV 1.3% (within - run), 6 - 8% (day to day) บ่งชี้ถึงความเที่ยงตรงของเทคนิคดี ความแม่นยำ ซึ่งทดลองโดยศึกษาความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานได้ถึง 1300 U/L ค่าเฉลี่ยการวิเคราะห์กลับคืน 101 + 2% (ปริมาณ S - amylase ที่เติมลงไปในหลอดทดลองและถูกยับยั้งโดย IMAB) การศึกษาเปรียบเทียบระดับ P - amylase กับวิธี electrophoresis โดยใช้แผ่น agarose มีค่าไม่แตกต่างกัน ($Y = 0.48 + 0.97 X$, $r = 0.946$, $n = 51$) นอกจากนั้นยังได้หาค่าอ้างอิงและศึกษาประโยชน์ในการใช้ทางคลินิกด้วยในคนไข้ตับอ่อนอักเสบเฉียบพลัน มี P-amylaes ในซีรั่มสูง 80 - 90% ของอะมีย์เลสรวม[29]

ปัจจุบันนี้นักเคมีคลินิกจึงสามารถเลือกวิธีการทดสอบซีรั่มอะมีย์รวมและ P - amylase ที่เหมาะสมกับภาวะแวดล้อมของห้องปฏิบัติการเพื่อช่วยการวินิจฉัยโรคในภาวะฉุกเฉินได้อย่างประสิทธิภาพ

2. ซีรั่มไลเปส (Triacylglycerol acyl - hydrolase ; EC 3.1.1.3)

การตรวจแอคทิวิตีย์ของซีรั่มไลเปสช่วยทำให้การวินิจฉัยภาวะการเพิ่มระดับซีรั่มอะมีย์เลสถูกต้องยิ่งขึ้น[4,6,32,33,34] ถ้าระดับซีรั่มไลเปสปกติแสดงว่าสาเหตุของการมีซีรั่มอะมีย์เลสสูงน่าจะไม่ใช่พยาธิสภาพที่ตับอ่อน[32] เพราะว่าตับอ่อนเป็นแหล่งสำคัญที่สร้างซีรั่มไลเปส และเฉพาะเอนไซม์นี้จากตับอ่อนที่สามารถย่อยสลาย ไตรกลีเซอรไรด์ substrate ชนิดที่โครงสร้างประกอบด้วยกรดไขมัน C_{14} หรือ C_{16} หรือ C_{18} ได้อย่างรวดเร็วกว่าเอนไซม์ไลเปสที่มาจากลำไส้เล็กส่วนต้น (duodenum) และตับ[35] อีกประการหนึ่งการเพิ่มระดับซีรั่มไลเปสมีความจำเพาะกว่าเป็น 2 เท่าของอะมีย์เลสในโรคตับอ่อนอักเสบ[33] อย่างไรก็ตาม แต่เดิมเทคนิคการวัดไลเปสมีข้อจำกัด คือทำยากใช้เวลานาน มีความไม่เที่ยงตรงสูง (imprecision) วิธีที่ใช้เป็นเทคนิคมาตรฐานคือ titrimetric methods[6,36] ใช้เวลาในการปฏิบัตินานเป็นวัน จึงไม่เหมาะที่นำมาใช้สำหรับงานประจำ จึงได้มีการพัฒนาเทคนิควิเคราะห์แอคทิวิตีย์ของไลเปสให้รวดเร็วและง่ายขึ้น โดยการวัด catalytic activity ของเอนไซม์ไลเปส ในการย่อยสลาย substrate (triolein emulsion : C_{16}) โดยการวัดความขุ่นที่ลดลงด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (turbidimetry) อย่างไรก็ตามเทคนิคนี้มีข้อจำกัดในแง่ของความถูกต้องเพราะไม่อาจวัดแอคทิวิตีย์ได้โดยตรงต้องเปรียบเทียบกับซีรั่มตัวอย่างที่ทราบค่าของไลเปสแล้ว[34] อนึ่งขนาดของอนุภาคไขมันใน emulsified substrate รวมทั้งการกระจายตัวมีผลกระทบต่อการวัดเอนไซม์แอคทิวิตีย์[5] มีการเตรียม triglyceride substrates ที่มีความคงสภาพ อนุภาคไขมันมีขนาดเท่ากันมีการกระจายตัวสม่ำเสมอและเติม colipase เพื่อช่วยให้มีปฏิกิริยาย่อยสลายของไลเปสเร็วขึ้นเป็นการเพิ่มความจำเพาะเจาะจงของเอนไซม์และความไวของเทคนิคด้วย[5] และผลิตเป็นน้ำยาสำเร็จรูปออกจำหน่าย จึงทำให้เป็นที่นิยมใช้อย่างกว้างขวางในงานประจำของห้องปฏิบัติการ อนึ่ง Hoffmann และคณะ[34] ได้ปรับปรุงวิธีการวัดระดับไลเปสโดยวิธี turbidimetric assay โดยนำการวิเคราะห์ด้วยการใช้ระบบเอนไซม์มาใช้วัดปริมาณของกรดไขมัน (oleic acid) ที่เกิดขึ้นโดยการทำหน้าที่ของไลเปสได้โดยตรงและได้ประเมินผลคุณสมบัติด้านการปฏิบัติพบว่ามีความเที่ยงตรงดี %, CV ของการวิเคราะห์ซ้ำในการทดลองชุดเดียวกันและต่างชุดการทดลองที่ระดับไลเปสสูงและปกติเท่ากับ 5 และ 10 ตามลำดับ สำหรับความแม่นยำวิธีวิเคราะห์นี้ (enzymatic lipase method) มีความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานถึงระดับ 400 U/L[34] จึงให้ค่าวิเคราะห์ที่เชื่อถือได้และขั้นตอนการวิเคราะห์ง่าย อย่างไรก็ตามค่าไลเปสที่ได้จะต่ำกว่าวิธี titrimetric หรือ turbidimetric assay ประมาณ 2 เท่า[34]

นอกจากนี้ได้มีบริษัทผลิตน้ำยาสำเร็จรูป และเครื่องมืออัตโนมัติพร้อมน้ำยาสำเร็จรูปเพื่อใช้ในการหาแอคทิวิตีย์ของซีรั่มไลเปส เช่น Boehringer Mannheim Diagnostics (BMD)[33], Du Pont aca[37] และ Kodak Ektachem (EK)[38] เทคนิคเหล่านี้สามารถวัดไลเปสได้ในเวลาสั้น วิธี BMD และ aca นั้นใช้หลักการของ turbidimetry ส่วนวิธี EK นั้นใช้แผ่นฟิล์มบางประกอบด้วยสารเคมี

Lott และคณะ[33] ได้ประเมินผลคุณสมบัติด้านการปฏิบัติของเทคนิคทั้งสาม และศึกษาคุณค่าในการวินิจฉัยโรค (diagnostic efficiency) ได้รายงานว่าวิธี BMD และ EK แสดงค่าวิเคราะห์ที่มีความสัมพันธ์ดีเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน (titrimetric method) เพราะว่ามี colipase ผสมอยู่ในน้ำยา จึงทำให้เทคนิควิเคราะห์มีความไวในการวัด (analytical sensitivity) สำหรับประโยชน์ทางคลินิกของการวัดซีรั่มไลเปสนั้นพบว่ามีความไวในการวินิจฉัยโรค (clinical sensitivity) ตับอ่อนอักเสบเฉียบพลัน 80% มีความจำเพาะ (clinical specificity) สำหรับการวินิจฉัยที่แยกว่าถ้าผลปกติแล้วไม่ใช่พยาธิสภาพที่ตับอ่อน 60% และถ้าระดับไลเปสสูงขึ้นเกิน 10 เท่าของระดับปกติ น่าจะบ่งชี้ถึงการมีตับอ่อนอักเสบหรือการอักเสบที่อวัยวะในช่องท้องที่ใกล้เคียงกับการตับอ่อน[33] การตรวจระดับซีรั่มไลเปสจึงใช้สำหรับการวินิจฉัยภาวะตับอ่อนอักเสบได้เช่นเดียวกับการวัดอะมีย์เลสไอโซเอนไซม์ และการเลือกวิธีการวัดที่ใช้ colipase เป็นส่วนประกอบของน้ำยาช่วยในการวัดระดับไลเปสได้ถูกต้องขึ้นด้วย นอกจากนั้น Junge[32] ได้เสนอแนะว่าผลการตรวจซีรั่มไลเปสมีความไวในการวินิจฉัยภาวะผิดปกติที่ตับอ่อน (pancreatic disorder) มากกว่า P - amylase ดังนั้นจึงควรตรวจระดับเอนไซม์ทั้งสองร่วมกันเพื่อเป็นสิ่งสนับสนุนกันในการวินิจฉัยภาวะพยาธิสภาพที่ตับอ่อนหรือในรายผู้ป่วยที่มี hyperamylasemia

3. ซีรั่มฟอสฟอไลเปสเอ (Phospholipase A, PLA)

PLA เป็นกลุ่มเอนไซม์ซึ่งย่อยสลายสารฟอสฟอไลปิดให้เป็นกรดไขมันอิสระ (FFA) และแบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้แก่ PLA - 1 (EC 3.1.1.32) และ PLA - 2 (EC 3.1.1.4) ตามตำแหน่ง fatty acids ที่เอนไซม์ออกฤทธิ์ ในอนาคตการวัดระดับ PLA เป็น parameter ที่ช่วยการวินิจฉัยโรคตับอ่อนอักเสบ[5,39] และสามารถตรวจเป็นงานประจำของห้องปฏิบัติการเคมีคลินิกได้ การตรวจใช้หลักการ คือ ขั้นแรก

$$\text{Lecithin} \xrightarrow{\text{PLA}} \text{Lysolecithin} + \text{free fatty acids (FFA)}\ (\text{emulsion}) + H_2O$$

และขั้นต่อไปวัดปริมาณ FFA ที่เกิดขึ้นโดยใช้การวิเคราะห์ด้วยเอนไซม์ (enzymatic determination)[5,39,40] โดยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์

ระดับซีรั่ม PLA มีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรคตับอ่อนอักเสบ เพราะมีทฤษฎีกล่าวว่า PLA เป็นปัจจัยที่ชักนำให้เกิด necrotizing pancreatitis ในภาวะปกติ PLA ในรูปแบบของ inactive proenzymes อยู่ใน secretory granules ของเซลล์ตับอ่อน เมื่อผ่านมาสู่ลำไส้เล็กส่วนต้นถูกกระตุ้นให้อยู่ในภาวะทำงานได้ ในกรณีที่เกิดการอักเสบที่เซลล์ตับอ่อนโดยเฉพาะใน necrotizing pancreatitis การกระตุ้น PLA เกิดในตับอ่อนเองทำให้เกิดการทำลายเซลล์ นอกจากนั้น PLA ยังเข้าสู่กระแสโลหิตทำให้เกิดการย่อยสลายสารฟอสฟอไลปิดในอวัยวะอื่น เช่น ที่ surfactant ของปอดหรือ cerebrovascular - barrier อนึ่งในเนื้อเยื่อของอวัยวะอื่นทุกแห่งในร่างกายพบ PLA ด้วย และพบอยู่ในรูปแบบของการรวมตัวกับเยื่อหุ้มเซลล์ (membrane - bound form) อีก[41] นอกจากโรคที่ตับอ่อน (ตับอ่อนอักเสบและมะเร็ง) แล้วการเพิ่มระดับ PLA พบในโรคที่อวัยวะอื่นด้วย (extrapancreatic diseases) เช่น ภาวะโลหิตเป็นพิษ (septicemia), autoimmunological syndromes, Hodgkin's lymphoma หรือโรคเนื้องอกชนิดร้ายแรงบางชนิด[39,41,42] ดังนั้นการตรวจซีรั่ม PLA จึงไม่มีความจำเพาะเจาะจงต่อการชี้บอกพยาธิสภาพที่ตับอ่อน อย่างไรก็ตาม Schmidt และ Hoffmann[39] ได้ศึกษาในผู้ป่วย 58 ราย ซึ่งมีพยาธิสภาพที่ตับอ่อน (pancreatitis และ pancreatic carcinoma) พบว่าซีรั่ม PLA แอคทิวิตีย์ไม่มีความสัมพันธ์กับระดับไลเปสและอัลฟาอะมีย์เลส แต่แสดงการพยากรณ์ความรุนแรงของโรคได้ (prognostic marker) เช่น ระดับPLA ปกติ (0 - 10 U/L) พบในตับอ่อนอักเสบชนิดเฉียบพลันที่ไม่มีอาการแทรกซ้อน ส่วนใน necrotizing pancreatitis และในภาวะโลหิตเป็นพิษมีระดับซีรั่ม PLA สูง ระหว่าง 50-137 U/L ผลที่ได้คล้ายคลึงกับรายงานอื่นซึ่งใช้วิธีวิเคราะห์ที่แตกต่างกัน[43,44] PLA ที่วัดในการศึกษาเหล่านี้เป็นระดับรวมในซีรั่ม อนึ่ง Nevalainen[45] ได้ใช้เทคนิคอิมมูโนเคมีพบว่าระดับ PLA_2 มีความสัมพันธ์กับอะมีย์เลส แอคทิวิตีย์ในซีรั่ม และไม่บ่งชี้ถึงความรุนแรงของโรค ดังนั้นการแปลผลจึงขึ้นอยู่กับหลักการของเทคนิควิเคราะห์ด้วย ในปัจจุบันนี้ยังขาดวิธีที่จะบ่งชี้ถึงแหล่งเฉพาะของไอโซเอนไซม์ของ PLA จึงต้องการวิวัฒนาการในการหาเทคนิคดังกล่าวและศึกษาหาความสัมพันธ์กับประโยชน์ทางคลินิกต่อไป

4. Immunoreactive trypsin (EC 3.4.21.4)

การวัดแอคทิวิตีย์ของซีรั่มทริฟซิน (trypsin) พร้อมกับอะมีย์เลสไอโซเอนไซม์และไลเปส ช่วยให้มีความแม่นยำในการวินิจฉัยโรคตับอ่อนอักเสบเฉียบพลันเพิ่มขึ้น[6,46,47,48] โดยเฉพาะการตรวจซีรั่ม immunoreactive trypsin อย่างเดียวมีความไวทางคลินิกสูง สำหรับการตรวจหาพยาธิสภาพที่ตับอ่อน และถ้าผลปกติมีประโยชน์ใช้แยกโรคที่ตับอ่อนออกไปได้ อย่างไรก็ตามการเพิ่มระดับเอนไซม์ชนิดนี้ในเลือดพบได้ในโรคอื่นที่เกิดในช่องท้องบริเวณใกล้เคียงกับตับอ่อนด้วย เช่นทางเดินระบบน้ำดีและลำไส้เล็กส่วนต้น[6] โรคตับและโรคไตวาย[49] วิธีวัดระดับในซีรั่ม ทำได้โดยใช้ชุดน้ำยาสำเร็จรูป ซึ่งมีจำหน่าย (Trypsik, Damon Diagnostics, MA U.S.A.) และใช้หลักการ radioimmunoassay Tietz และ Huang[6] พบว่า immounoreactive trypsin ในซีรั่มส่วนใหญ่เพิ่มขึ้น (83.3 - 96.5% ของจำนวนผู้ป่วย) ในโรคตับอ่อนอักเสบเฉียบพลันและเรื้อรัง โรคตับและท่อน้ำดีและโรคทางเดินอาหาร ส่วนในโรคอื่นบริเวณช่องท้องพบเพิ่มขึ้นเป็นส่วนน้อย (41.7%) อย่างไรก็ตามการตรวจระดับ immunoreactive trypsin ร่วมกับไลเปสจะช่วยสนับสนุนการบ่งชี้ภาวะตับอ่อนอักเสบเฉียบพลันในรายที่ผู้ป่วยมีระดับไอโซเอนไซม์ P - amylase เพิ่ม

5. Alpha - glucosidase activity

ถึงแม้ว่าระดับซีรั่ม alpha - glucosidase (non - lysosomal enzyme) เพิ่มในโรคหลายชนิด แต่ระดับสูงที่สุด (> 60 U/L) พบในระยะสุดท้ายของโรค cystic fibrosis ของตับอ่อน และตับอ่อนอักเสบที่มีภาวะแทรกซ้อน (necrotic or traumatic pancreatitis)[50] ควรมีการศึกษาประโยชน์ทางคลินิกของระดับซีรั่มเอนไซม์ชนิดนี้เพิ่มขึ้นอีก เพื่อนำมาช่วยวินิจฉัยภาวะแทรกซ้อนของตับอ่อนอักเสบ ซึ่งต้องการวิธีรักษาพยาบาลที่ถูกต้อง Porter และคณะ[50] เสนอว่าการเพิ่มซีรั่ม alpha glucosidase แอคทิวิตีย์ในผู้ป่วย น่าจะมีแหล่งกำเนิดจากการทำลายเซลล์ตับอ่อนโดยตรง สำหรับวิธีการวัดทำโดยเตรียมน้ำยาทั้งหมดเอง มีสาร 4 - methylumbelliferyl - α - glucopyranoside เป็น substrate และวัดผลิตผลขั้นสุดท้าย (4 - methylumbelliferone) ด้วยเครื่องมือ spectrofluorometer มีค่าอ้างอิงปกติ 7 $\pm$2 U/L คุณสมบัติของวิธีการตรวจมีความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานถึง 80 U/L.

สรุป

การตรวจทางห้องปฏิบัติเพื่อช่วยการวินิจฉัยโรคตับอ่อนอักเสบนั้น เป็นการวัดแอคทิวิตีย์ของซีรั่มเอนไซม์หลายชนิด ได้แก่ อะมีย์เลสรวม อะมีย์เลสไอโซเอนไซม์ชนิด pancreatic type และไลเปส แพทย์ควรนำผลการตรวจทั้ง 3 อย่างมาพิจารณาร่วมกัน ปัจจุบันได้มีการปรับปรุงเทคนิควิเคราะห์จนมีคุณสมบัติเหมาะสมกับการตรวจในภาวะฉุกเฉิน คือ มีขั้นตอนการวิเคราะห์ง่าย มีความรวดเร็ว มีผลการวิเคราะห์ถูกต้อง และมีราคาถูก ห้องปฏิบัติการทุกแห่งควรทำเป็นงานประจำได้ ส่วนการวัดระดับฟอสฟอไลเปส เอ immunoreactive trypsin และ alpha - glucosidase ในซีรั่มยังอยู่ในขั้นที่ต้องศึกษาวิจัยเกี่ยวกับคุณประโยชน์ในการวินิจฉัยโรค และการปรับปรุงเทคนิคอีกต่อไป

อ้างอิง

1. Whitten RO, Chandler WL. Thomas MGE, Clayson KJ, Fine JS. Survey of α -amylase activity and isoamylases in autopsy tissue. Clin Chem 1988 Aug; 34(8) : 1552-5
2. Walmsley RN, Watkinson LR, Koay ESC. Cases in Chemical Pathology: A Diagnostic Approach. 2nd ed, Singapore: PG Publishing, 1988. 213-8
3. Kameya S, Hayakawa T, Kameta A, Watanabe T. Hyperamylasemia in patients at an intensive care unit. J Clin Gastroenterol 1986 Aug; 8(4) : 438-42
4. Kazmierczak SC, Lente FV. Incidence and source of hyperamylasemia after cardiac surgery. Clin Chem 1988 May; 34(5) : 916-9
5. Ziegenhorn J. Milestones in the development of new specific test for the diagnosis of pancreatic diseases. In : Hubbuch A, ed. Recent Advances in Pancreas Diagnostics. XIII International Congress of Clinical Chemistry. Hague, NL (June 28-July 3, 1987). Mannheim : Diagnostics evaluation Dept. Boehringer Mennheim GmbH 1988. 9-13
6. Tietz NW, Huang WY, Rauh DF, Shuey DF. Laboratory tests in the differential diagnosis of hyperamylasemia. Clin Chem 1986 Feb; 32(2) : 301-7

7. Lott JA, Wolf PL. Diagnostic Enzymology : Pre Congress Workshop at 4th Asian-Pacific Congress of Clinical Biochemistry. Hong Kong. Aug 28-Sep 2, 1988.
8. O'Donnell MD, McGeeney KF. Purification and properties of an α -amylase inhibitor from wheat. Biochim Biophys Acta 1976; 422 : 159-69
9. O'Donnell MD, FitzGerald O, McGeeney KF. Differential serum amylase determination by use of an inhibitor, and design of a routine procedure. Clin Chem 1977 Mar; 23(3) : 560-6
10. Huang WY, Tietz NW. Determinations of amylase isoenzymes in serum by use of a selective inhibitor. Clin Chem 1982 Jul; 28(7) : 1525-7
11. Dalal FR, Winsten S. Laboratory evaluation of a chromogenic amylase method. Clin Chim Acta 1971 Mar-May; 32 : 327-32
12. Tietz NW, Shuey DF. A commercially available S-type amylase inhibitor evaluated for determination of amylase isoenzymes in serum. Clin Chem 1984 Jul;30(7) : 1227-8
13. Lalégerie P, Pourci ML, Bailly M. Hydrolysis of maltotetraose by human pancreatic α-amylase, with liquid-chromatographic determination of the products. Clin Chem 1982 Aug; 28(8) : 1791-3
14. Rauscher E, Neumann U, Schaich E, von Bülow S, Wahlefeld AW. Optimized conditions for determining activity concentration of -amylase in serum, with 1, 4- α -D-4-nitrophenylmaltoheptaoside as substrate. Clin Chem 1985 Jan; 31(1) : 14-9
15. McCroskey R, Chang T, David H, Winn E. p-Nitrophenylglycosides as substrates for measurement of amylase in serum and urine. Clin Chem 1982 Aug; 28(8) : 1787-91
16. Hägele EO, Schaich E, Rauscher E, Lehmann P, Bürk H, Wahlefeld AW. Mechanism of action of human pancreatic and salivary α-amylase on α -4-nitrophenyl maltoheptasoside substrate. Clin Chem 1982 Nov; 28(11) : 2201-5
17. Klein G, Poppe W, Rauscher E. Poster number 376, 39th National meeting of the American Association for Clinical Chemistry, San Francisco. California: July 19-24, 1987.
18. Rothe A, Mücke K, Leinberger R, Wilk H-E. A new test for Reflotron system : α-amylase. Poster number 568, 39th National meeting of the American Association for Clinical Chemistry, San Francisco, California: July 19-24, 1987.
19. Fahrenkrug J, Magid E. Concentration of immunoreactive trypsin and activity of pancreatic isoamylase in serum compared with pancreatic diseases. Clin Chem 1980 Oct; 26(11) : 1573-6
20. Skude G. Electrophoretic separation, detection and variation of amylase isoenzymes. Scand J Clin Lab Invest 1975 Jan; 35(1) : 41-7
21. Garber M, Naujoks K, Lenz H, Gerhardt W, Wulff K. Specific immunoassay of α-amylase isoenzymes in human serum. Clin Chem 1985 Aug; 31(8) : 1331-4
22. Royse LV, Jensen DM. Development of an agarose gel electrophoresis technique for determining α-amylase isoenzymes. Clin Chem 1984 Mar; 30(3) : 387-90
23. O'Connor CM, McGeeny KF. Isolation and characterization of four inhibitors from wheat flour which display differential inhibition specificities for human salivary and human pancreatic - amylases. Biochim Biophys Acta 1981 Apr; 658(2) : 387-96
24. Omichi K, Ikenaka T. Difference in transglycosylation between human pancreatic and salivary α-amylases. J Biochem (Tokyo) 1983 Dec; 94(6) : 1797-802
25. Nakamura Y, Ogawa M, Nishide T, Emi M, Kosaki G, Himeno S, Matsubara K. Sequences of cDNAs for human salivary and pancreatic α-amylase. Gene 1984 May; 28(2) : 263-70
26. Jalali MT, Laing I, Gowenlock AH, Braganza JM. Specific radioimmunoassays for human pancreatic and salivary isoamylases. Clin Chem Acta 1985 Aug; 150(3) : 237-46
27. Takatsuka Y, Kitahara T, Matsuura K, Ogawa M, Azukizawa M, Miyai K, Kosaki G. Radioimmunoassay for human pancreatic amylase : comparision of human serum amylase by measurement of enzymatic activity and by radioimmunoassay. Clin Chem Acta 1979 Oct; 97(2-3) : 261-8
28. Gerber M, Wulff K. A new pancreas-specific alpha-amylase assay using the synergistic action of two different monoclonal antibodies. Clin Chem 1987 Jun; 33(6) : 997-8
29. Mifflin TE, Benjamin DC, Bruns DE. Rapid quantitative, specific measurement of pancreatic amylase in serum with use of a monoclonal antibody. Clin Chem 1985 Aug; 31(8) : 1283-8
30. Junge W, Troge B, Klein G, Poppe W, Gerber M. Evaluation of a New Assay for Pancreatic α-Amylase. Poster number A/6, 6th International Congress on Clinical Enzymology. Hannover : September 16-19, 1987.

31. Junge W, Troge B, Stein W. Determination of reference values for pancreatic and salivary α -amylase in serum and urine using a new immunological assay. Poster number D/4, 6th International Congress on Clinical Enzymology. Hannover : September 16-19, 1987.
32. Junge W. Initial clinical experience with a new specific assay for pancreatic amylase. In : Hubbuch A, ed. Recent Advances in Pancreas Diagnostics. XIII, International Congress of Clinical Chemistry, Hague, NL (June 28-July 3, 1987). Manneheim : Diagnostics Evaluation Dept Boehringer Mannheim GmbH 1988. 14-21.
33. Lott JA, Patel ST, Sawhney AK, Kazmierczak SC, Love JE, Jr. Assays of serum lipase : analytical and clinical considerations. Clin Chem 1986 Jul; 32(7) : 1290-302
34. Hoffmann GE, Neumann U, Hoffmann S, Kaspar P, Weiss L. An enzymatic method for calibration of serum lipase assays. Clin Chem 1986 Mar; 32(3) : 545-7
35. Dinella R, Meng HC, Park CR. Properties of intestinal lipase. J Biol Chem 1960 Nov; 235(11) : 3076-81
36. Tietz NW, Repique EV. Proposed standard method for measuring lipase activity in serum by a continuous sampling technique. Clin Chem 1973 Nov; 19(11) : 1268-75
37. Shihabi ZK, Bishop C. Simplified turbidimetric assay for lipase activity. Clin Chem 1971 Dec; 17(12) : 1150-3
38. Mauck JC, Weaver MS, Stanton C. Development of a Kodak Ektachem clinical chemistry slide for serum lipase. Clin Chem 1984 Jun; 30(6) : 1058-9
39. Schmidt D, Hoffmann GE, Serum activities of phospholipase in pancreatic and non pancreatic diseases. Clin Chem 1987 Apr; 33(4) : 594-6
40. Hoffmann GE, Kozumplik V, Beck R, Kellermann W. Rapid determination of phospholipase A in human serum and plasma. Clin Chem 1987 Apr; 33(7) : 1259
41. Hoffmann GE. Phospholipase A-a diagnostic aid in acute pancreatitis. In : Hubbuch A, ed. Recent Advances in Pancreas Diagnostics. XIII. International Congress of Clinical Chemistry. Hague, NL (June 28-July 3, 1987). Mannheim : Diagnostic evaluation Dept. Boehringer Mannheim GmbH 1988. 22-23
42. Vadas P. Elevated plasma phospholipase A-2 levels: correlation with the hemodynamic and pulmonary changes in gram-negative septic shock. J Lab Clin Med 1984 Dec; 104(6) : 873-81
43. Thuren T, Virtanen JA, Lalla M, Kinnunen PKJ. Fluorometric assay for phospholipase A_2 in serum. Clin Chem 1985. May; 31(5) : 714-7
44. Schröder T, Kivilaakso E. Kinnunen PK, Lempinen M. Serum phospholipase A_2 in human acute pancreatitis. Scand J Gastroenterol 1980; 15(5) : 633-6
45. Nevalainen TJ, Eskola JU, Aho AJ, Havia VT, Lövgren T N-E, Näntö V. Immunoreactive phospholipase A_2 in serum in acute pancreatitis and pancreatic cancer. Clin Chem 1985 Jul;31(7): 1116-20
46. Steinberg WM, Goldstein SS, David ND, Shamma'a J, Anderson K. Diagnostic assays in acute pancreatitis: a study of sensitivity and specificity. Ann Intern Med 1985 May; 102(5) : 576-80
47. Elias E, Wood T, Redshaw M. Diagnostic importance of changes in circulating concentrations of immunoreactive trypsin. Lancet 1977 July; 2(8028) : 66-8
48. Rey F, Felber JP. Clinical usefulness and methodology of immunological assay of pancreatic enzymes. Clin Biochem 1983. Feb; 16(1) : 23-5
49. Fahrenkrug J, Staun-Olsen P, Magid E. Immunoreactive trypsin and pancreatic isoamylase activity in serum of patients with chronic renal failure or hepatic cirrhosis. Clin Chem 1981 Oct; 27(10) : 1655-57
50. Porter WH, Jennings CD, Jr., Wilson HD. Measurement of α -glucosidase activity in serum from patients with cystic fibrosis or pancreatitis. Clin Chem 1986 Apr; 32(4) : 652-6