

การศึกษาระดับแอนติเจนที่จำเพาะต่อ ต่อมลูกหมากในน้ำอสุจิของผู้ใหญ่ชายไทย

สุภาวรรณ เศรษฐบรรจง พ.บ.¹, ปริมล เบ็ดเสร็จ วท.บ.¹

สุวิทย์ สิมวงษ์ปราณี ปรด.², ปัทมา เอกโพธิ์ ปรด.³

¹ ภาควิชานิติเวชศาสตร์, ² ภาควิชาปรสิตวิทยา, ³ ภาควิชาวิทยาภูมิคุ้มกัน คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: เพื่อศึกษาปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากในน้ำอสุจิของผู้ใหญ่ชายไทยในการใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงของประเทศไทย เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากในน้ำอสุจิกับอายุประชากร และเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากในน้ำอสุจิกับปริมาณน้ำอสุจิที่หลังออกมาในแต่ละครั้ง

วิธีการศึกษา: เป็นการวิจัยเชิงทดลอง โดยใช้ตัวอย่างน้ำอสุจิที่ได้รับบริจาคจากอาสาสมัครที่ลงนามในหนังสือให้ความยินยอมในการเข้าร่วมการวิจัยที่ผ่านการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล อาสาสมัครทุกรายเป็นเพศชาย สัญชาติไทย มีอายุ 20-60 ปี มีสุขภาพดี ไม่มีไข้ภายใน 5 วันก่อนและขณะเก็บตัวอย่าง และได้รับการร้องขอให้ปฏิบัติตามเกณฑ์คัดเข้าอย่างเคร่งครัด คือ งดเพศสัมพันธ์หรือการสำเร็จความใคร่ด้วยตนเองอย่างน้อย 5 วันก่อนเก็บตัวอย่าง ตัวอย่างน้ำอสุจิทั้งหมดถูกเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80 °ซ ก่อนนำไปตรวจหาปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากด้วยวิธี enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) ตามวิธีที่ผู้วิจัยได้รายงานไว้แล้ว

ผลการศึกษา: ตัวอย่างน้ำอสุจิที่ใช้ในการศึกษาได้จากอาสาสมัครชายไทย จำนวน 17 คน อายุเฉลี่ย 32.9 ± 10.2 ปี (22-55 ปี) ปริมาณน้ำอสุจิเฉลี่ย 2.5 ± 0.6 มิลลิลิตร (1.5-3.5 มิลลิลิตร) จากการศึกษานี้พบว่าระดับแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากในน้ำอสุจิมีค่าอยู่ระหว่าง 503,636-519,090 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีค่าเฉลี่ย $513,502 \pm 4,211$ นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และพบว่าปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากในน้ำอสุจิมีความสัมพันธ์อย่างผกผันกับอายุของประชากร ($r = -0.547$, $p < 0.05$) และมีความสัมพันธ์อย่างแปรผันโดยตรงกับปริมาณน้ำอสุจิที่หลังออกมาในแต่ละครั้ง ($r = 0.854$, $p < 0.01$)

สรุป: จากการศึกษานี้ผู้วิจัยได้รายงานปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากในน้ำอสุจิของผู้ใหญ่ชายไทย และพบว่าแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากในน้ำอสุจิมีปริมาณน้อยลงเมื่อประชากรตัวอย่มีอายุมากขึ้นและมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณน้ำอสุจิที่หลังออกมาในแต่ละครั้งมากขึ้น อย่างไรก็ตามอาจมีความจำเป็นในการศึกษาเพิ่มเติมด้วยจำนวนตัวอย่างที่มากขึ้นเพื่อยืนยันผลการศึกษานี้

คำสำคัญ: อายุ Enzyme-linked immunosorbent assay แอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมาก น้ำอสุจิ คนไทย

Corresponding Author: สุภาวรรณ เศรษฐบรรจง, พ.บ., น.บ., วท.ม.

ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพฯ 10700

โทรศัพท์ 02-419-6547 โทรสาร 02-411-3426 อีเมล supawon.sre@mahidol.ac.th



บทนำ

แอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากเป็นเอนไซม์ชนิดหนึ่ง ผลิตจากต่อมลูกหมาก มีหน้าที่ทำให้น้ำอสุจิที่เพิ่งหลั่งออกมาอ่อนกร่างกายอยู่ในสภาพเหลว ประกอบด้วยกรดอะมิโนร้อยละ 93 และคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 17 มีน้ำหนักโมเลกุล 33 กิโลดาลตัน ถูกค้นพบและตั้งชื่อต่าง ๆ กัน เช่น prostate specific antigen (PSA)⁽¹⁾ ซึ่งเป็นชื่อที่นิยมใช้เรียกมากที่สุด gamma-seminoprotein⁽²⁾ semen E1 antigen⁽³⁾ และ p30⁽⁴⁾ และมีคุณลักษณะทางอุดมคติที่เหมาะสมต่อการใช้เป็นเครื่องหมายในการตรวจพิสูจน์น้ำอสุจิ เช่น มีความจำเพาะต่อน้ำอสุจิมนุษย์ มีความเสถียรในสภาวะที่แห้งหรือแช่แข็ง สามารถตรวจพบได้แม้มีปริมาณเพียงเล็กน้อย และอยู่ภายใต้การควบคุมของสารพันธุกรรมโดยตรง ปัจจุบันจึงใช้การตรวจหาแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากในการบ่งชี้ว่าเป็นน้ำอสุจิเพื่อใช้เป็นพยานหลักฐานในคดีข่มขืนกระทำชำเรา โดยเฉพาะในกรณีที่ชายไม่ผลิตเซลล์อสุจิหรือผ่านการทำหมันมาแล้ว⁽⁵⁻¹⁰⁾ การตรวจพบแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากในวัตถุพยานที่อยู่ภายในร่างกายหรือภายนอกของเหยื่อหรือในสถานที่เกิดเหตุจะเชื่อมโยงผู้ถูกกล่าวหากับการกระทำความผิดในคดีข่มขืนกระทำชำเราได้⁽¹¹⁾ การตรวจพบแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากในวัตถุพยานดังกล่าวจึงมีนัยสำคัญทางคดีอย่างมาก⁽¹⁰⁾

อย่างไรก็ตามปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากในน้ำอสุจิแปรผันตามเชื้อชาติ การใช้ค่าอ้างอิงปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากในน้ำอสุจิที่ได้จากการตรวจวิเคราะห์น้ำอสุจิของประชากรเชื้อชาติใดเชื้อชาติหนึ่งที่ไม่ใช่ประชากรของประเทศนั้นเองจึงอาจไม่เหมาะสม แต่ละประเทศจึงควรมีค่าอ้างอิงที่ได้จากการตรวจวิเคราะห์น้ำอสุจิของประชากรของประเทศนั้นเอง และเท่าที่ผู้วิจัยทราบยังไม่พบค่าอ้างอิงดังกล่าวสำหรับประเทศไทยมาก่อน ผู้วิจัยจึงทำการศึกษากำหนดปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากในน้ำอสุจิของผู้ใหญ่ชายไทยเพื่อใช้เป็นค่าอ้างอิงสำหรับประชากรชายไทย ตลอดจนศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากในน้ำอสุจิกับอายุประชากร และศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากในน้ำอสุจิกับปริมาณน้ำอสุจิที่หลั่งออกมาในแต่ละครั้งด้วย

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมาก

ในน้ำอสุจิของผู้ใหญ่ชายไทยที่มีสุขภาพดี ตลอดจนศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากในน้ำอสุจิกับอายุประชากรและศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากในน้ำอสุจิกับปริมาณน้ำอสุจิที่หลั่งออกมาในแต่ละครั้ง

วิธีดำเนินงานวิจัย

1. ตัวอย่างและการเก็บตัวอย่าง

การวิจัยนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลอง

1.1 กลุ่มตัวอย่าง

ตัวอย่างน้ำอสุจิที่ใช้ในการศึกษานี้ได้รับบริจาคจากอาสาสมัครเพศชาย สัญชาติไทย อายุ 20-60 ปี มีสุขภาพดี ไม่มีไข้ภายใน 5 วันก่อนและขณะเก็บตัวอย่าง และลงนามในหนังสือให้ความยินยอมในการเข้าร่วมการวิจัยที่ผ่านการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล โดยอาสาสมัครทุกรายได้รับการร้องขอให้ปฏิบัติตามเกณฑ์คัดเข้าอย่างเคร่งครัด คืองดเพศสัมพันธ์หรือการสำเร็จความใคร่ด้วยตนเองอย่างน้อย 5 วันก่อนเก็บตัวอย่างน้ำอสุจิ

1.2 วิธีเก็บตัวอย่าง

ทำการเก็บตัวอย่างน้ำอสุจิโดยวิธีสำเร็จความใคร่ด้วยตนเองที่ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล โดยขอให้อาสาสมัครแต่ละรายหลั่งน้ำอสุจิในภาชนะที่จัดเตรียมไว้ให้ที่ติดสลากหมายเลข 1, 2, 3, ... เรียงต่อเนื่องกันไปตามลำดับ บันทึกคุณลักษณะต่าง ๆ ของตัวอย่างน้ำอสุจิ เช่น ปริมาณ สี ความขุ่น เป็นต้น แล้วเก็บรักษาตัวอย่างน้ำอสุจิไว้ที่อุณหภูมิ -80 °ซ ภายใน 5 นาทีหลังจากการหลั่งน้ำอสุจิจนกระทั่งนำมาใช้ในการตรวจวิเคราะห์

2. การตรวจหาปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากโดยวิธี ELISA

ทำการตรวจหาปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากในน้ำอสุจิ ด้วยวิธี ELISA ที่ผู้วิจัยได้รายงานไว้แล้ว⁽¹⁰⁾ โดยการเคลือบภาชนะด้วย polyclonal rabbit anti-human prostate-specific antigen (Dako®, A0562, Denmark) ที่เจือจาง 1:1,000 ด้วย 0.05 M carbonate buffer (pH 9.6) ทิ้งไว้ค้างคืนที่อุณหภูมิ 4 °ซ ล้าง 3 ครั้ง เติม blocking buffer 200 ไมโครลิตรต่อหลุม ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 40 นาที แล้วทำให้แห้ง จากนั้นเติมตัวอย่างน้ำอสุจิที่เจือจางในอัตราส่วน

1:1x10⁶ ด้วย phosphate buffered saline 100 ไมโครลิตร ต่อหลุม เติมห่วงอย่างควบคุมบวก (แอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 20 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร) 100 ไมโครลิตรต่อหลุม และเติมห่วงอย่างควบคุมลบ 100 ไมโครลิตรต่อหลุม ทั้งไว้ที่อุณหภูมิ 37 °ซ นาน 1 ชั่วโมง ล้าง 3 ครั้ง แล้วเติม monoclonal mouse anti-human prostate-specific antigen (Dako®, MO750-29, Denmark) ที่เจือจาง 1:1,000 ใน blocking buffer 100 ไมโครลิตรต่อหลุม ทั้งไว้ที่อุณหภูมิ 37 °ซ นาน 1 ชั่วโมง ล้าง 3 ครั้ง เติม goat anti-mouse IgG peroxidase conjugate (MERCK®, 401207, Germany) ที่เจือจาง 1:2,000 ใน blocking buffer 100 ไมโครลิตรต่อหลุม ทั้งไว้ที่อุณหภูมิ 37 °ซ นาน 1 ชั่วโมง ล้าง 3 ครั้ง เติมสารละลายตั้งต้นที่มีส่วนประกอบของ O-phenylenediamine (Dako®, S2045, Denmark) 100 ไมโครลิตรต่อหลุม ทั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่ปราศจากแสงนาน 30 นาที เติม 4.2 M H₂SO₄ 100 ไมโครลิตรต่อหลุม แล้วอ่านค่าการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 610 และ 490 นาโนเมตร โดยใช้เครื่องอ่านอัตโนมัติ (SUNRISE®, TECAN, Austria) แล้วแปลผลการตรวจ โดยแต่ละตัวอย่างทำการตรวจซ้ำสองครั้งในภาตเดียวกัน ทำการล้างในแต่ละครั้งด้วย washing buffer 200 ไมโครลิตรต่อหลุม ซึ่งการล้างและการทำให้แห้งกระทำโดยการใช้เครื่องล้างอัตโนมัติ (BioTek®, ELx50, USA)

3. การวิเคราะห์ทางสถิติ

ในการวิเคราะห์ทางสถิติใช้สถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ ค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ในการวิเคราะห์ข้อมูลใช้สถิติ independent t-test ที่ p-value < 0.05 ถือว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในการตรวจสอบกราฟมาตรฐานสำหรับการตรวจภายในวันเดียวกันใช้สถิติค่าสหสัมพันธ์ Spearman's rho ที่ p-value < 0.05 ถือว่ามีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในการตรวจสอบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากในน้ำอสุจิกับอายุของประชากร และใช้สถิติค่าสหสัมพันธ์ Pearson ที่ p-value < 0.05 ถือว่ามีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในการตรวจสอบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากในน้ำอสุจิกับปริมาณน้ำอสุจิที่หลังออกมาในแต่ละครั้ง ซึ่งการวิเคราะห์ทางสถิติและการประมวลผลกระทำโดยใช้โปรแกรม SPSS Statistics version 18.0 (SPSS Inc., IBM Company,

Chicago, Illinois, USA)

ผลการวิจัย

ตัวอย่างน้ำอสุจิจากอาสาสมัครผู้ใหญ่ชายไทยที่มีสุขภาพดี จำนวน 17 ราย มีอายุเฉลี่ย 32.9±10.2 ปี (22-55 ปี) และมีปริมาณน้ำอสุจิเฉลี่ย 2.5±0.6 มิลลิลิตร (1.5-3.5 มิลลิลิตร)

ผลการศึกษาปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากในน้ำอสุจิของผู้ใหญ่ชายไทยพบว่ามีความอยู่ระหว่าง 503,636-519,090 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีค่าเฉลี่ย 513,502±4,211 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ 1

ส่วนการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากในน้ำอสุจิกับอายุประชากรพบว่ามีความสัมพันธ์อย่างผกผันกัน (ค่าสหสัมพันธ์ Spearman's rho, r = -0.547) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p < 0.05) และ

ตารางที่ 1 ปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากในน้ำอสุจิของผู้ใหญ่ชายไทย

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นเฉลี่ย (นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร)
1	514,090.90
2	517,272.72
3	513,636.36
4	508,636.36
5	514,545.45
6	515,454.54
7	509,545.45
8	510,454.54
9	518,181.81
10	509,090.90
11	513,181.81
12	503,636.36
13	517,272.72
14	511,818.18
15	518,636.36
16	515,000.00
17	519,090.90
ค่าเฉลี่ย (mean)	513,502.67
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)	4,211.49



การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากในน้ำอสุจิกับปริมาณน้ำอสุจิที่หลังออกมาในแต่ละครั้งพบว่ามีความสัมพันธ์อย่างแปรผันกัน (ค่าสหสัมพันธ์ Pearson, $r = 0.854$) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$)

อภิปรายผลการศึกษา

จากการศึกษานี้พบว่าปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากในน้ำอสุจิของผู้ใหญ่ชายไทยที่มีสุขภาพดีมีค่าอยู่ระหว่าง 503,636 - 519,090 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร (ค่าเฉลี่ย $513,502 \pm 4,211$ นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร) ซึ่งค่าดังกล่าวนอกจากจะมีความผันแปรตามปัจจัยทางชีวภาพของแต่ละบุคคลแล้วยังมีความผันแปรตามอายุ ภาวะสุขภาพ และระยะเวลาที่งดเพศสัมพันธ์หรือการสำเร็จความใคร่ด้วยตนเอง ซึ่งปัจจัยทั้งหมดได้ถูกกำหนดให้เป็นส่วนหนึ่งของเกณฑ์คัดประชากรเข้ามาในการศึกษานี้ด้วย จึงอาจทำให้ได้ค่าที่มีช่วงแคบกว่าหลายการศึกษาที่ผ่านมา^(3,12-15) ดังแสดงเปรียบเทียบไว้ในตารางที่ 2 ซึ่งผลการศึกษานี้สนับสนุนว่าชายไทยมีปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากในน้ำอสุจิแตกต่างจากชายชาติอื่น ทั้งนี้เนื่องจากความผันแปรทางเชื้อชาติ พันธุกรรม อายุ ภูมิอากาศ ภาวะโภชนาการ ภาวะสุขภาพ และความถี่ในการหลั่งน้ำอสุจิ เป็นต้น

ซึ่งจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อ

ต่อมลูกหมากในน้ำอสุจิของชายที่ผ่านการทำหมันและที่ไม่ผ่านการทำหมัน^(11,13) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากในน้ำอสุจิของชายที่ไม่มีการสร้างเซลล์อสุจิ ที่มีการสร้างเซลล์อสุจิน้อย และที่มีการสร้างเซลล์อสุจิปกติ⁽¹⁶⁾ และไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากในน้ำอสุจิที่ขึ้นกับในน้ำอสุจิที่ไม่ขึ้น^(13,14) นอกจากนี้ยังพบว่าหากระยะเวลาที่ชายงดการมีเพศสัมพันธ์นานขึ้นปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากในน้ำอสุจิมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นด้วย⁽¹³⁾

อย่างไรก็ตามความแตกต่างของปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากในน้ำอสุจิของชายเชื้อชาติต่าง ๆ ในการศึกษาที่ผ่านมา รวมทั้งในการศึกษานี้ด้วย ส่วนหนึ่งอาจเนื่องมาจากความแตกต่างในวิธีการเก็บตัวอย่าง ตลอดจนเกณฑ์ที่ใช้ในการคัดประชากรเข้ามาในการศึกษา ระยะเวลาในการงดเพศสัมพันธ์/การสำเร็จความใคร่ด้วยตนเองก่อนทำการเก็บตัวอย่าง อุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษาตัวอย่างก่อนทำการตรวจวิเคราะห์ และวิธีการตรวจวิเคราะห์ด้วย โดยพบว่าในบางการศึกษา^(13,15) เก็บรักษาตัวอย่างน้ำอสุจิที่อุณหภูมิ -20°C ก่อนนำมาตรวจวิเคราะห์ ซึ่งอาจทำให้ตรวจพบปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากน้อยกว่าที่เป็นจริง เนื่องจากที่อุณหภูมิดังกล่าวแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากยังคงสลายตัวตามระยะเวลา⁽¹⁷⁾ บางการศึกษา^(3,14) ไม่ได้ระบุอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษาตัวอย่างไว้ นอกจากนี้หลาย

ตารางที่ 2 ปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากในน้ำอสุจิของประชากรเชื้อชาติต่างๆ

ผู้วิจัย	เชื้อชาติ ประชากร	จำนวน ตัวอย่าง	ความเข้มข้น (มก./มล.)	ความเข้มข้น เฉลี่ย (มก./มล.)	เทคนิคที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์
Sensabaugh ⁽³⁾	อเมริกัน	17	0.24-5.5	1.92	Radial immunodiffusion assay
Wang และคณะ ⁽¹²⁾	อเมริกัน	22	0.39-3.00	1.29 ± 0.68	Hybritech Tan-dem [®] -MP PSA assay
Schieferstein ⁽¹³⁾	เยอรมัน	113	0-1.8	0.4 ± 0.3	SR 1 PSA manual (Biochem Immunossystems, D-79100 Freiburg)
Dube และคณะ ⁽¹⁴⁾	แคนาดา	28	-	0.3 ± 0.04	Radioimmunoassay
Lovgren และคณะ ⁽¹⁵⁾	สวีเดน	67	0.07-2.16	-	Delfia Prostatu assay (Wallac, Turku, Finland)
Srettabunjong และคณะ ^(a)	ไทย	17	0.50 - 0.52	0.51 ± 0.004	ELISA

^(a) การศึกษานี้

การศึกษา⁽¹²⁻¹⁴⁾ กำหนดระยะเวลาในการงดเพศสัมพันธ์ อย่างน้อย 2-3 วัน บางการศึกษา^(3,15) ไม่ได้กำหนด และในแต่ละการศึกษาใช้วิธีการตรวจวิเคราะห์ปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากที่แตกต่างกันด้วยดังแสดงในตารางที่ 2

ในการศึกษานี้พบว่าปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากในน้ำอสุจิมีความสัมพันธ์อย่างผกผันกับอายุของประชากรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งต่างจากการศึกษาของ Schieferstein⁽¹³⁾ ที่ทำการศึกษาในชายชาวเยอรมันอายุเฉลี่ย 33.5 ± 5.5 ปี (23-57 ปี) จำนวน 113 คน พบว่าปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากในน้ำอสุจิมีความสัมพันธ์อย่างแปรผันกับอายุของประชากร ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากมีปัจจัยบางอย่างที่อาจมีผลต่อปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากในน้ำอสุจิ เช่น ระยะเวลาในการงดเพศสัมพันธ์ก่อนเก็บตัวอย่างซึ่งในการศึกษาดังกล่าวอยู่ในช่วง 2-8 วัน (เฉลี่ย 4.3 ± 1.1 วัน) และพบว่าปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากในน้ำอสุจิมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการงดเพศสัมพันธ์นานขึ้นด้วย แต่ในการศึกษานี้ได้กำหนดให้งดการมีเพศสัมพันธ์รวมทั้งการสำเร็จความใคร่ด้วยตนเองอย่างน้อย 5 วันก่อนเก็บตัวอย่างเป็นส่วนหนึ่งของเกณฑ์คัดเข้า ซึ่งเป็นระยะเวลาที่มากพอต่อการที่ร่างกายจะผลิตแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากได้อย่างเต็มที่ ทั้งยังได้กำหนดให้อาสาสมัครนอกจากเป็นผู้มีสุขภาพดีแล้วยังต้องไม่มีไข้ก่อนหรือขณะเก็บตัวอย่างอย่างน้อย 5 วันด้วย แต่ในการศึกษาดังกล่าวไม่ได้กล่าวถึง นอกจากนี้ในการศึกษาดังกล่าวยังเก็บรักษาตัวอย่างน้ำอสุจิไว้ที่อุณหภูมิ -20°C ซึ่งเป็นสภาวะที่พบว่ายังคงมีการลดลงของแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากอยู่⁽¹⁷⁾ หากระยะเวลาในการเก็บน้ำอสุจีก่อนทำการตรวจวิเคราะห์นานขึ้นย่อมทำให้ปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากน้อยลงกว่าที่เป็นจริง จึงอาจทำให้ได้ผลการตรวจที่คลาดเคลื่อนจากความเป็นจริงได้ แต่ในการศึกษานี้ได้เก็บรักษาตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ -80°C ซึ่งเป็นสภาวะที่ไม่พบว่ามีผลต่อการลดลงของแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมาก

ในการศึกษานี้ยังพบว่าปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากในน้ำอสุจิมีความสัมพันธ์อย่างแปรผันโดยตรงกับปริมาณน้ำอสุจิที่หลังออกมาในแต่ละครั้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษานี้ไม่มีตัวอย่างใดเลยที่มีปริมาณน้ำอสุจิน้อย ซึ่งต่างจากการศึกษาของ Schiefer-

stein⁽¹³⁾ ที่ไม่พบความสัมพันธ์ดังกล่าว ทั้งนี้ส่วนหนึ่งอาจเนื่องมาจากเหตุผลที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น และไม่พบว่าปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากในน้ำอสุจิสูงในตัวอย่างที่มีปริมาณน้อยด้วย และต่างจากการศึกษาของ Dube และคณะ⁽¹⁴⁾ ที่ทำการศึกษาในชายชาวแคนาดาจำนวน 79 ราย ไม่พบความสัมพันธ์ดังกล่าวในกลุ่มที่มีปริมาณน้ำอสุจิปกติจำนวน 28 ราย (3.5 ± 0.2 มิลลิลิตร) และกลุ่มที่มีปริมาณน้ำอสุจิน้อยจำนวน 14 ราย (8.1 ± 0.3 มิลลิลิตร) แต่พบว่าปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากสูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในกลุ่มที่มีปริมาณน้ำอสุจิน้อยจำนวน 19 ราย (0.79 ± 0.02 มิลลิลิตร) ซึ่งเชื่อว่าเป็นผลจากการทำหน้าที่ของต่อมน้ำอสุจิที่เปลี่ยนไป โดยไม่ได้รับรายละเอียดอื่นๆ ที่อาจเป็นปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมาก เช่น อายุของประชากร อุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษาตัวอย่าง และระยะเวลาในการงดเพศสัมพันธ์/การสำเร็จความใคร่ด้วยตนเอง เป็นต้น

อย่างไรก็ตามผลที่ได้จากการศึกษานี้อาจมีข้อจำกัดด้านขนาดของตัวอย่างที่มีจำนวนไม่มากนัก เนื่องจากการศึกษาเบื้องต้น หากได้ทำการศึกษาในจำนวนตัวอย่างที่มากขึ้นด้วยเกณฑ์คัดเข้าแบบเดียวกันอาจทำให้ได้ผลการศึกษาที่ชัดเจนและแม่นยำขึ้น

สรุป

ผู้วิจัยได้รายงานปริมาณแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากในน้ำอสุจิของผู้ใหญ่ชายไทยที่มีสุขภาพดี ไม่มีไข้ก่อนหรือขณะเก็บตัวอย่างอย่างน้อย 5 วัน และงดการมีเพศสัมพันธ์หรือการสำเร็จความใคร่ด้วยตนเองอย่างน้อย 5 วันก่อนเก็บตัวอย่างน้ำอสุจิ และพบว่าแอนติเจนที่จำเพาะต่อต่อมลูกหมากในน้ำอสุจิมีปริมาณน้อยลงเมื่อชายมีอายุมากขึ้นและมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณของน้ำอสุจิที่หลังออกมาในแต่ละครั้งเพิ่มขึ้นด้วย อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้เป็นเพียงการศึกษาเบื้องต้นเท่านั้น จึงควรทำการศึกษาซ้ำด้วยขนาดตัวอย่างที่มากขึ้นเพื่อยืนยันผลการวิจัยนี้ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณคณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล ที่สนับสนุนงานวิจัยนี้จนสำเร็จด้วยดี และขอขอบคุณอาสาสมัครทุกท่านที่บริจาคน้ำอสุจิเพื่อใช้ในการงานวิจัยนี้



เอกสารอ้างอิง

1. Hara M, Inorre T, Fukuyama T. Some physico-chemical characteristics of gamma-seminoprotein, an antigenic component specific for human seminal plasma. *Jap J Legal Med* 1971;25:322-6.
2. Li TS, Beling CG. Isolation and characterization of two specific antigens of human seminal plasma. *Fertil Steril* 1973;24:134-44.
3. Sensabaugh GF. Isolation and characterization of a semen-specific protein from human seminal plasma: a potential new marker for semen identification. *J Forensic Sci* 1978;23:106-15.
4. Ablin RJ, Bronson P, Soanes WA, Witebsky E. Tissue- and species-specific antigens of normal human prostatic tissue. *J Immunol* 1970; 104: 1329-39.
5. Mauck CK. Biomarkers of semen exposure. *Sex Transm Dis* 2009;36:S81-3.
6. Virkler K, Lednev IK. Analysis of body fluids for forensic purposes: from laboratory testing to non-destructive rapid confirmatory identification at a crime scene. *Forensic Sci Int* 2009;188:1-17.
7. Talthip J, Chirachariyavej T, Peonim V, Atamasirikul K, Teerakamchai S. An autopsy report case of rape victim by the application of PSA test kit as a new innovation for sexual assault investigation in Thailand. *J Med Assoc Thai* 2007;90:348-51.
8. Levine B, Titus JM, Moore K, Fowler D. Use of prostate specific antigen in the identification of semen in postmortem cases. *Am J Forensic Med Pathol* 2004;25:288-90.
9. Healy DA, Hayes CJ, Leonard P, McKenna L, O'Kennedy R. Biosensor developments: application to prostate-specific antigen detection. *Trends Biotechnol* 2007;25:125-31.
10. Betset P, Srettabunjong S, Limawongpanee S, Ekpo P. The sensitivity of the detection of prostate specific antigen in semen by ELISA. *Rama Med J* 2012;35:70-8.
11. Graves HCB, Sensabaugh GF, Blake ET. Postcoital detection of a male-specific semen protein. Application to the investigation of rape. *N Engl J Med*. 1985;312:338-43.
12. Wang TJ, Rittenhouse HG, Wolfert RL, Lynne CM, Brackett NL. PSA concentrations in seminal plasma. *Clin Chem* 1998;44:895-6.
13. Schieferstein G. Prostate-specific antigen (PSA) in human seminal plasma. *Arch Androl* 1999;42:193-7.
14. Dube JY, Gaudreault D, Tremblay RR. The concentration of immunoreactive prostate specific antigen is not decreased in viscous semen samples. *Andrologia* 1989;21:136-9.
15. Lovgren J, Valtonen-Andre C, Marsal K, Lilja H, Lundwall A. Measurement of prostate-specific antigen and human glandular kallikrein 2 in different body fluids. *J Androl* 1999;20:348-55.
16. Kamenev L, Leclercq M, Francosis-Gerard C. An enzyme immunoassay for prostate-specific antigen detection in the postcoital vaginal tract. *J Forensic Sci Soc* 1989;29:233-41.
17. Piironen T, Lovgren J, Karp M, Eerola R, Lundwall A, Dowell B, et al. Immunofluorometric assay for sensitive and specific measurement of human prostatic glandular kallikrein (hK2) in serum. *Clin Chem* 1996;42:1034-41.

Prostate Specific Antigen Level in Thai Male Adults' Semen

Srettabunjong S, M.D.¹, Betset P, B.Sc.¹,
Limawongpanee S, Ph.D.², Ekpo P, Ph.D.³

¹ Department of Forensic Medicine, ² Department of Parasitology, ³ Department of Immunology,
Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University.

Abstract

Objectives: The purposes of this study were to determine the seminal PSA level in Thai male adults and to determine its association with the age of subjects and with the quantity of ejaculates.

Materials and Method: This study was an experimental research. Semen samples were obtained from the volunteers who signed an informed consent document approved by the Institution Review Board at the Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University. All volunteers were Thai healthy male adults aged 20-60 years without any recent acute illness/fever and were strictly asked not to have sexual intercourse/self-masturbation at least 5 days prior to semen collection. All samples were stored at -80 °C shortly after being secreted from the volunteers' body until analyzed. The earlier reported ELISA protocol was used to perform the study.

Results: The semen samples were obtained from 17 volunteers with mean age 32.9 ± 10.2 years (22-55 years) and mean semen volume 2.5 ± 0.6 ml (1.5-3.5 ml). The seminal PSA concentrations were in the range of 503,636 - 519,090 ng/ml with the mean value of $513,502 \pm 4,211$ ng/ml. The seminal PSA level was associated with the subject's age in negative correlation ($r = -0.547$, $p < 0.05$), whereas its association with the quantity of ejaculated semen was in positive correlation ($r = 0.854$, $p < 0.01$).

Conclusions: The mean seminal PSA concentration in Thai male adults was reported here. From the study, it was found that the PSA levels were decreased when the subject's age were increased, and the PSA levels were increased when the quantities of ejaculated semen were increased. However, further studies with a larger sample size may be needed to confirm these results as to a preliminary study.

Keywords: Age, Enzyme-linked immunosorbent assay, Prostate specific antigen, Semen, Thai

Corresponding Author: Supawon Srettabunjong, M.D., LL.B., M.Sc., M.Tox.

Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok, 10700, Thailand. Tel. 02-419-6547 Fax. 02-411-3426 email : supawon.sre@mahidol.ac.th