# บทที่ 3

# วัสดุอุปกรณ์ และวิธีการศึกษา

## 3.1 ประชากรที่ทำการศึกษา

**กลุ่มที่ 1 ผู้ที่รอดชีวิตจากกลุ่มอาการใหลตาย ( N – SUDS )**

1. ต้องมีภูมิลำเนาในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
2. เคยมีอาการคล้ายกลุ่มอาการของโรคใหลตาย คือมีอาการหมดสติ (syncopal attack) ในตอนนอนหลับหรือพักผ่อนมีผู้เห็นเหตุการณ์เป็นภรรยาหรือญาติ โดยมีอาการเริ่มต้น คือ อึดอัด หายใจไม่สะดวก มีเสียงครางในลำคอ มีอาการเกร็งของลำตัว ผู้เห็นเหตุการณ์พยายามปลุกผู้ป่วยให้ตื่น โดยการนวดหัวใจ ทุบ ทำให้ช่วยเหลือผู้ป่วยได้ทัน หรือนำส่งโรงพยาบาล ทำให้รอดชีวิตจากกลุ่มอาการดังกล่าวได้
3. มีสุขภาพแข็งแรงดีมาตลอดก่อนเกิดอาการ ไม่มีโรคประจำตัว เช่น โรคลมชัก โรคความดันโลหิตสูง และโรคเบาหวาน เป็นต้น และเมื่อตรวจปัสสาวะไม่พบความผิดปกติ
4. ไม่มีความผิดปกติของสมองเมื่อตรวจด้วยเครื่อง magnetic resonance immage ( MRI )
5. ไม่มีประวัติรับประทานยาเป็นประจำ

**กลุ่มที่ 2 ชายไทยชนบทที่มีสุขภาพแข็งแรงและมีภูมิลำเนาอยู่ในเขตเดียวกันกับประชากร กลุ่มที่ 1 ( V – NE )**

1. ต้องมีภูมิลำเนาในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
2. มีสุขภาพแข็งแรงไม่มีประวัติว่ามีโรคประจำตัว เช่นโรคลมชัก โรคความดันโลหิตสูง และโรคเบาหวาน เป็นต้น และเมื่อตรวจปัสสาวะไม่พบความผิดปกติ
3. ไม่มีประวัติรับประทานยาเป็นประจำ

**กลุ่มที่ 3 คนงานก่อสร้าง ( M – NE )**

1. คนงานก่อสร้างที่มีภูมิลำเนาเดิมในภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่มาอยู่กรุงเทพ ฯ นานกว่า 12 เดือน

2. มีสุขภาพแข็งแรงไม่มีประวัติว่ามีโรคประจำตัว เช่น โรคลมชัก โรคความดันโลหิตสูง และโรคเบาหวาน เป็นต้น และเมื่อตรวจปัสสาวะไม่พบความผิดปกติ

3. ไม่มีประวัติรับประทานยาเป็นประจำ

**กลุ่มที่ 4 ชายไทยในกรุงเทพ ฯ ที่มีสุขภาพแข็งแรง ( BKK)**

1. เป็นกลุ่มควบคุมที่มีสุขภาพแข็งแรงที่มีภูมิลำเนาเดิมและปัจจุบันเป็นชาวกรุงเทพ ฯ และมาบริจาคโลหิตที่ศูนย์บริการโลหิต สภากาชาดไทย

2. ตรวจปัสสาวะไม่พบสารผิดปกติ

3. ไม่มีประวัติรับประทานยาเป็นประจำ

**3.2 การเก็บตัวอย่างเลือด**

เก็บเลือด ( fasting blood ) จากกลุ่มประชากรศึกษา คนละประมาณ 25 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มี เฮปาริน ( heparin ) ซึ่งเป็นสารกันเลือดแข็งไว้แล้วในอัตราส่วน 8 – 10 ยูนิตต่อเลือด 1 มิลลิลิตร เขย่าหลอดทดลองเล็กน้อย แล้วนำมาทำการทดลองทันที

**3.3 สารเคมีที่ใช้ในการศึกษา** มีดังนี้

| บริษัทที่ผลิต | ชื่อสารเคมี |
|---|---|
| **Sigma Chemical** | 1. Adenosine triphosphate ( ATP ) |
| | 2. Ethylene glycol – bis ( aminoethylether ) NNN – tetra acetic acid ( EGTA ) |
| | 3. N - Z – hydroxy ethyl piperazine – N – Z - ethane sulfonic acid ( HEPES ) |
| | 4. Histidine |
| | 5. Sodium dodecyl sulfate ( SDS ) |
| | 6. Triton – X – 100 |
| | 7. Bovine serum albumin |
| | 8. Trizma base |
| | 9. fura 2 |

| | |
|---|---|
| E Merch | 1. Trichloroacetic acid (TCA ) |
| | 2. Sodium chloride |
| | 3. Sodium bicarbornate |
| | 4. Magnesium chloride |
| | 5. Potassium chloride |
| | 6. Stanous chloride |
| | 7. Hydrazine sulfate |
| | 8. Ammonium molybdate |
| | 9. D – glucose |
| | 10. Ammonium hydroxide |
| | 11. Hydrochloric acid |
| | 12. Sulfuric acid |
| | 13. Percholic acid (PCA) |

**3.4 อุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษามีดังนี้**

| ชื่ออุปกรณ์ | บริษัทที่ผลิต |
|---|---|
| 1. Spectrophotometer | Shimadzu , Japan |
| 2. Spectrophotofluorometer | Shimadzu , Japan |
| 3. Water bath | Gelman Science , USA |
| 4. Refrigerated centrifuge | Tomy , Japan |
| 5. Refrigerated centrifuge | Sorvoll , USA |
| 6. Balance | Shimadzu , Japan |
| 7. Vortex mixer | Mode Genie II , USA |
| 8. pH meter | Orion pH meter |
| 9. light microscope | Olympus , Japan |
| 10. pipette ขนาดต่าง ๆ | |
| 11. tubes และ centrifuge tube | |

**3.5 วิธีการศึกษา**

เลือด ( fasting blood ) จะถูกนำมาวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการทันที ดังแสดงไว้ในรูปที่ 8

**3.5.1 การวิเคราะห์ความเข้มข้นของแคลเซียมในเซลล์เม็ดเลือดแดง**

หลักการวิเคราะห์ความเข้มข้นของแคลเซียมในเซลล์เม็ดเลือดแดง คือใช้ fura 2 ซึ่งเป็น ฟลูออเรสเซนส์ เตตราคาร์บอกซิเลต อินดิเคเตอร์(fluorescent tetracarboxylate indicators ) [32] ถูกสร้างขึ้นมาให้มีโครงสร้างของโมเลกุลเหมือนกับ Ethylene glycol – bis ( aminoethylether ) NNN – tetra acetic acid ( EGTA ) คือจะมีหมู่ คาร์บอกซิลิก ( carboxylate group ) 4 หมู่ ที่สร้างพันธะกับแคลเซียมไอออน และทำให้ ความยาวคลื่นเปลี่ยนแปลง

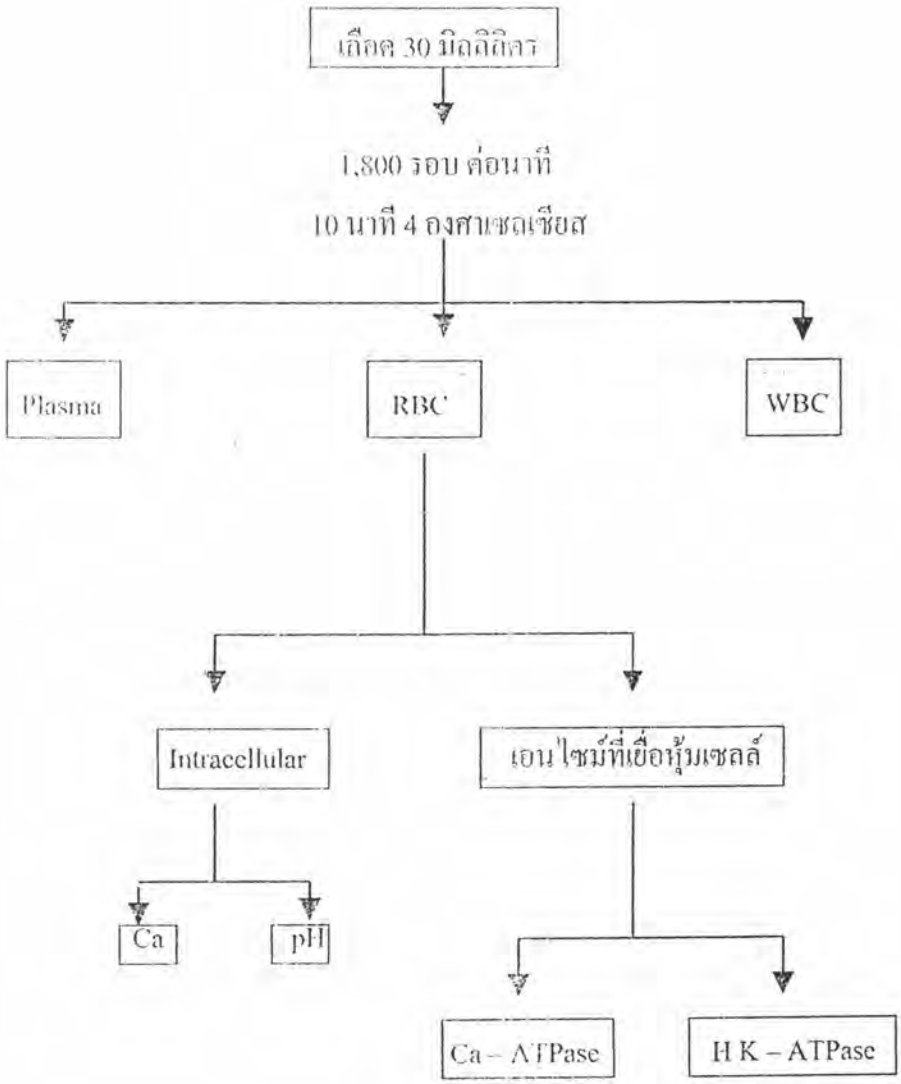
**วิธีการวิเคราะห์ความเข้มข้นของแคลเซียมในเซลล์เม็ดเลือดแดง[28]**

นำเม็ดเลือดแดงที่ได้จากการปั่นแยกพลาสมาแล้วมาตรวจสอบรูปร่าง โดยเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ใช้ในการวิเคราะห์จะต้องมีรูปร่างปกติ ไม่บวม หลังจากนั้นนำเซลล์เม็ดเลือดแดงมา 1 มิลลิลิตร ปั่นล้างใน Modify triode buffer ( MTB buffer ) 2 ครั้ง โดยปั่นที่ 3,000 รอบ ต่อ นาที เวลา 10 นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ดูดน้ำใสทิ้งให้หมด เจือจางเม็ดเลือดแดงด้วย MTB บัฟเฟอร์ ให้มี hematocrit เท่ากับ1 % ( รูปที่ 9 )

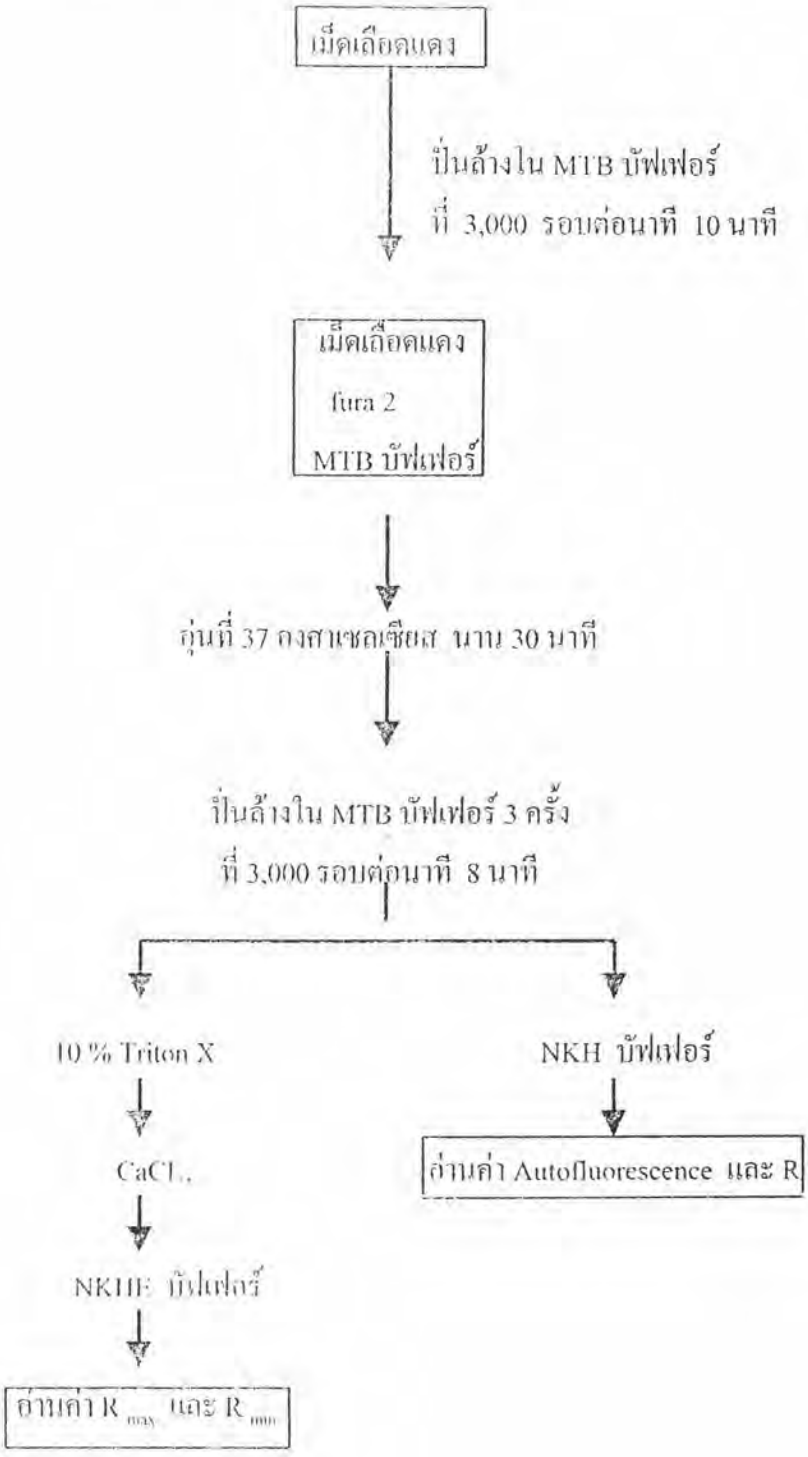
เตรียมหลอดทดลอง 8หลอด โดยแบ่งเป็นหลอดสำหรับวิเคราะห์ Autofluorescence 2 หลอด สำหรับวิเคราะห์ $R_{min}$ 2 หลอด สำหรับ $R_{max}$ 2 หลอด และสำหรับ R 2 หลอด เติม MTB บัฟเฟอร์ หลอดละ 0.595 มิลลิลิตร และเติม fura 2 ที่ความเข้มข้น 4 μM ในหลอดทดลองสำหรับวิเคราะห์ $R_{min}$ , $R_{max}$ และ R หลอดละ 0.02 มิลลิลิตร

นำเม็ดเลือดแดงที่เตรียมไว้แล้วแบ่งใส่ในหลอดทดลองทั้ง 8 หลอด หลอดละ 0.005 มิลลิลิตร แล้วอุ่นที่ 37 องศาเซลเซียส 30 นาที ปั่นล้าง fura 2 ส่วนที่ไม่จับกับ แคลเซียมออกด้วย MTB บัฟเฟอร์ นำไปปั่นที่ 3,000 รอบ ต่อ นาที 8 นาที ที่ 4 องศาเซลเซียส 3 ครั้ง เติม 10 % Triton x 0.005 มิลลิลิตร ในหลอดสำหรับวิเคราะห์ R min และ R max เติม 3 mM $CaCl_2$ ในหลอดสำหรับวิเคราะห์ R min 0.005 มิลลิลิตร และ หลอดสำหรับวิเคราะห์ R max 0.2 มิลลิลิตร เติมNKH บัฟเฟอร์ ในหลอด สำหรับวิเคราะห์ Autoflluorescence และ R min 3 มิลลิลิตร และบัฟเฟอร์ NKHE ในหลอดที่เหลือ 3 มิลลิลิตร แล้วนำไปอ่านค่าด้วยเครื่อง

รูปที่ 3 แสดงขั้นตอนการวิเคราะห์ตัวอย่างเลือด



รูปที่ 9 แสดงขั้นตอนการวิเคราะห์ความเข้มข้นของแคลเซียมในเซลล์เม็ดเลือดแดง



Spectrophotofluorometer ภายใน 30 นาที นำค่าที่อ่านได้ไปคำนวณ หาความเข้มข้นของแคลเซียมในเซลล์ แล้ว คำนวณหาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

**3.5.2 การศึกษาความเที่ยงตรงของวิธีการวิเคราะห์ความเข้มข้นของแคลเซียมในเซลล์เม็ดเลือดแดง**

เตรียมเม็ดเลือดแดงจากสารตัวอย่าง ซึ่งเป็นผู้มาบริจาคโลหิตที่สภากาชาดไทย จำนวน 2 คน และจากผู้ป่วยโรคไต 2 คน ทำการวิเคราะห์ดังวิธีการดังกล่าวข้างต้น จำนวน10ชุด ทำการทดลอง ภายใน วันเดียวกันคำนวณหาค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของแคลเซียมภายในเซลล์ และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน แล้วนำมาหาค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน ( % coefficient of variation : % CV )

**3.5.3 การวิเคราะห์ ค่าความเป็นกรด – ด่าง ภายในเซลล์เม็ดเลือดแดง**[57]

นำเซลล์เม็ดเลือดแดง 1 มิลลิลิตร แบ่งใส่หลอดทดลองเก็บไว้ที่ – 20 องศาเซลเซียส เพื่อส่งวิเคราะห์ pH ด้วยวิธี nuclear magnetic resonance ( NMR ) ทันที

**3.5.4 การวิเคราะห์ค่ากัมมันตภาพ เอนไซม์ แคลเซียม เอทีพี เอส และ เอนไซม์ ไฮโดรเจน โพแพสเซียม เอทีพีเอส**

**3.5.4.1 การเตรียมเยื่อหุ้มเซลล์เม็ดเลือดแดง**

นำเซลล์เม็ดเลือดแดงที่เหลือจากการวิเคราะห์ เก็บที่ –20 องศาเซลเซียส เพื่อ ทำการวิเคราะห์ขั้นต่อไปภายใน 3 วัน โดยนำเซลล์เม็ดเลือดแดงที่เก็บไว้ออกมาไว้ที่อุณหภูมิห้องให้ละลาย แล้วนำไปปั่นล้างด้วย sodium chloride histidine (SCH ) บัฟเฟอร์ pH 7.5 โดยปั่นที่ 11,000 รอบ ต่อนาที เวลา 20 นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 3 ครั้ง แล้วแบ่งเยื่อหุ้มเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ได้เป็น 2 หลอด

หลอดที่ 1 ปั่นล้างด้วย TRIS - EDTA บัฟเฟอร์ pH 7.4

หลอดที่ 2 ปั่นล้างด้วย TRIS – HCL บัฟเฟอร์ pH 6.8

ทั้ง 2 หลอด ปั่นที่ 11,000 รอบ ต่อ นาที เวลา 20 นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และในหลอดที่ 1 ปั่นล้างครั้งสุดท้ายด้วย SCH บัฟเฟอร์ จน ได้เยื่อหุ้มเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ขาว จากนั้นนำไปวิเคราะห์ ค่ากัมมันตภาพ เอนไซม์ แคลเซียม - เอทีพี เอส และ เอนไซม์ ไฮโดรเจน โพแพสเซียม เอทีพีเอส ทันที ถ้ายังไม่สามารถวิเคราะห์ได้ทันที เก็บไว้ที่ – 20 องศาเซลเซียส ภายใน 48 ชั่วโมง

**3.5.4.2 การวิเคราะห์ ค่ากัมมันตภาพ เอนไซม์ แคลเซียม เอทีพีเอส และ เอนไซม์ ไฮโดรเจน โพแพสเซียม เอทีพีเอส**

หลักการวิเคราะห์ค่ากัมมันตภาพ เอนไซม์ ทั้ง 2 ชนิด คือ เอนไซม์ เอทีพีเอส ( ATPase) จะย่อย สับเสตรท ( substrate ) คือ ATP ในภาวะที่มีบัฟเฟอร์ และตัวกระตุ้นที่ อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสม โดยเอนไซม์ เอทีพีเอส 1 โมเลกุลจะย่อยสลาย ATP 1 โมเลกุลได้ ฟอสฟอรัสอิสระออกมา 1 โมเลกุล ปริมาณฟอสฟอรัสอิสระที่เกิดขึ้นเป็นเครื่องแสดง ความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ เอทีพีเอสตัวนั้น

- **3.5.4.2.1 วิธีการวิเคราะห์ค่ากัมมันตภาพเอนไซม์แคลเซียม เอทีพีเอส ในเยื่อหุ้มเซลล์เม็ดเลือดแดง** [45](ได้แสดงวิธีการทดลองไว้ในตารางที่ 6 โดยมีรายละเอียดดังนี้ )

นำเยื่อหุ้มเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ได้ตามข้อ 5.4.1 หลอดที่ 1 มาแบ่งใส่หลอดทดลอง หลอดละ 0.05 มิลลิลิตร จำนวน 5 หลอด จำนวน 3 หลอด เติม medium 1 จำนวน 0.45 มิลลิลิตร incubate ที่ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 90 นาที เติม 20 % Perchloric acid ( PCA ) จำนวน 0.02 มิลลิลิตร เพื่อหยุดการทำงานของเอนไซม์ แคลเซียม เอทีพีเอส ในเยื่อหุ้มเซลล์เม็ดเลือดแดง

เยื่อหุ้มเซลล์ที่เหลือ 2 หลอด เก็บไว้วิเคราะห์โปรตีนต่อไป

**3.5.4.2.2วิธีการวิเคราะห์ค่ากัมมันตภาพเอนไซม์ ไฮโดรเจน โพแทสเซียม เอทีพีเอส ในเยื่อหุ้มเซลล์เม็ดเลือดแดง** [66] ( ได้แสดงวิธีการทดลองไว้ในตารางที่ 7 โดยมี รายละเอียดดังนี้ )

นำเยื่อหุ้มเซลล์ที่ได้ตามข้อ 5.4.1 หลอดที่ 2 มาแบ่งใส่หลอดทดลอง หลอดละ 0.1 มิลลิลิตร 5 หลอด จำนวน 3 หลอด เติม medium 2 จำนวน 0.4 มิลลิลิตร incubate ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เติม 10 % TCA จำนวน 0.02 มิลลิลิตร เพื่อหยุดการทำงานของ เอนไซม์ ไฮโดรเจน โพแทสเซียม เอทีพีเอส

**5.4.3 การศึกษาความเที่ยงตรงของวิธีการวิเคราะห์ ค่ากัมมันตภาพเอนไซม์ เอทีพีเอส**

ศึกษาความเที่ยงตรง ( precision ) ของวิธีการวิเคราะห์เอนไซม์ เอทีพีเอส โดย การวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวน ( variation ) ทั้ง intraassy และ interassy variation

ตารางที่ 6 แสดงวิธีการวิเคราะห์ค่าภูมิคุ้มกันเสภาพเอนไซม์ แคลเซียม เอทีพีเอส

| น้ำยา | หลอด | | |
|---|---|---|---|
| | Blank | 1 | 2 |
| 1. เยื่อหุ้มเซลล์เม็ดเลือดแดง | 0.05 | 0.05 | 0.05 |
| 2. 20 % PCA | 0.02 | - | - |
| 3. medium | 0.45 | 0.45 | 0.45 |
| | อุ่นที่ 37 องศาเซลเซียส 90 นาที | | |
| 4. 20 % PCA | - | 0.02 | 0.02 |
| | ปั่นที่ 3,000 รอบ ต่อนาที 10นาที<br>นำน้ำใสวิเคราะห์ ฟอสฟอรัส | | |

ตารางที่ 7 แสดงวิธีการวิเคราะห์ค่ากัมมันตภาพเอนไซม์ไฮโดรเจน โพแทสเซียม เอทีพีเอส

| น้ำยา | หลอด | | |
|---|---|---|---|
| | Blank | 1 | 2 |
| 1. เยื่อหุ้มเซลล์เม็ดเลือดแดง | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| 2. 10 %TCA | 0.02 | - | - |
| 3. medium | 0.4 | 0.4 | 0.4 |
| | ตู้บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 20 นาที | | |
| 4. 10 %TCA | - | 0.02 | 0.02 |
| | ปั่นที่ 3,000 รอบต่อนาที 8 นาที<br>นำน้ำใสวิเคราะห์ฟอสฟอรัส | | |

ศึกษา intraassay variation โดยการนำเยื่อหุ้มเซลล์เม็ดเลือดแดงคนเดียว กันที่เตรียมไว้สำหรับวิเคราะห์ เอนไซม์ ทั้ง 2ชนิด มาแบ่งเป็นชนิดละ 5 ส่วน นำทุกส่วน มาวิเคราะห์ค่ากัมมันตภาพเอนไซม์ แคลเซียม เอทีพีเอส และ เอนไซม์ ไฮโดรเจน โพแทสเซียม เอทีพีเอส ภายในวันเดียวกัน นำค่าที่ ได้มาคำนวณ หาค่าเฉลี่ย และสัมประสิทธ์ความ แปรปรวน ( % coefficient of variation , %CV )

ศึกษา interassay variation โดยการนำเซลล์เม็ดเลือดแดงของคนเดียวกัน แบ่งเป็น 3 ส่วน เก็บใน –20 องศาเซลเซียส นำมาเตรียมเยื่อหุ้มเซลล์เม็ดเลือดแดงวันละ1 ส่วน เพื่อวิเคราะห์หาค่ากัมมันตภาพเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด เป็นเวลา 3 วัน ติดต่อกัน นำ ค่าที่ได้มาคำนวณค่า % CV

**3.5.4.4 การวิเคราะห์ฟอสฟอรัส หรือ ฟอสเฟต**

วิเคราะห์ความเข้มข้นฟอสฟอรัสอิสระที่เกิดขึ้น โดยดัดแปลงจากหลักการทำปฏิกิริยาทำให้เกิดสี ( colorimetry ) [67] โดยใช้ stanous chloride – hydrazine sulfate ( SnCl2 – hydrazine ) เป็น reducing agent ทำปฏิกิริยากับสารละลาย acid molybdate ได้สารประกอบ molybdium blue วัดการดูดแสง ( absorbance ) ด้วย ครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 640 nm เทียบความเข้มข้นกับสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัสที่ทราบความเข้มข้น แสดงค่ากัมมันตภาพเอนไซม์ เอทีพีเอส เป็นปริมาณความเข้มข้นของฟอสฟอรัส ต่อหน่วยเวลา ต่อหน่วยความเข้มข้นของโปรตีน ของเยื่อหุ้มเซลล์ ได้แสดงวิธีการทดลองไว้ในตารางที่ 8

**3.5.4.5การวิเคราะห์โปรตีนของเยื่อหุ้มเซลล์เม็ดเลือดแดง**

วิเคราะห์ความเข้มข้นโปรตีนของเยื่อหุ้มเซลล์เม็ดเลือดแดงโดยวิธีทำปฏิกิริยากับสี Comassie brilliant blue G250[68] ในสารละลายกรดทำให้เกิดสารเชิงซ้อนของโปรตีนกับสีน้ำเงิน วัดค่าการดูดแสงที่ 595 nm เทียบความเข้มข้นกับสารละลายโปรตีนมาตรฐาน BSA ที่ทราบความเข้มข้นแล้ว ได้แสดงวิธีการทดลองไว้ในตารางที่ 9 โดยมีรายละเอียดดังนี้

นำเยื่อหุ้มเซลล์เม็ดเลือดแดงที่เตรียมได้ จากข้อ 5.4.1 ทั้ง 3 ส่วน ส่วนละ 2 หลอดเติม color reagent 3 มิลลิลิตร และ acid buffer 2 มิลลิลิตร ผสมให้เป็นเนื้อเดียว ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที วัดความเข้มข้นของโปรตีนเป็นหน่วยมิลลิกรัม ( mg )

ตารางที่ 8 แสดงวิธีการวิเคราะห์ฟอสฟอรัส

| | Blank | Test | Standard | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | 1.6 mg % | 3.2 mg % | 4.8 mg % |
| 1. ส่วนของน้ำใส | - | 0.05 | - | - | - |
| 2. น้ำกลั่น | 0.05 | - | - | - | - |
| 3. สารละลายมาตรฐานฟอสเฟต | - | - | 0.05 | 0.05 | 0.05 |
| 4. 1 % SDS | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 5. 2.5 M acid molybdate | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 6. $SnCl_2$ – hydrazine sulfate | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | ผสมแต่ละหลอดตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที อ่านค่าการดูดแสงที่ 640 nm โดยใช้หลอด Blank เซ็ท เครื่อง spectrophotometer ให้เป็นศูนย์ | | | | |

ตารางที่ 9 แสดงวิธีการวิเคราะห์โปรตีนของเยื่อหุ้มเซลล์เม็ดเลือดแดง

| หลอด | Blank | Test | Standard | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | 10 mg% | 20 mg% | 30 mg% |
| 1. color reagent | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| 2. acid buffer | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 3. น้ำกลั่น | 0.1 | – | – | – | – |
| 4. เยื่อหุ้มเซลล์ | – | 0.1 | – | – | – |
| 5. สารละลายมาตรฐาน | – | – | 0.1 | 0.1 | 0.1 |

ผสมแต่ละหลอด ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที

อ่านค่าการดูดแสงที่ 595 nm โดยใช้หลอด blank เช็ก

เครื่อง spectrophotometer ให้เป็นศูนย์

**5.5 การวิเคราะห์ข้อมูล**

แสดงค่าข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย ( mean ) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน( standard deviation ) และส่วนเบี่ยงเบนของค่าเฉลี่ย ( standard error of mean ) ทดสอบความแตกต่าง ของค่าตัวแปรต่างๆ ระหว่างกลุ่มศึกษา กับกลุ่มควบคุม โดยใช้ unpaired t – test และเปรียบเทียบค่าความสัมพันธ์ ( linear correlation )ระหว่างค่าความเข้มข้นของแคลเซียมภายในเซลล์เม็ดเลือดแดง กับค่ากัมมันตภาพเอนไซม์ แคลเซียม – เอทีพีเอส และค่าความเป็นกรด – ด่าง ภายในเซลล์ กับค่ากัมมันตภาพเอนไซม์ ไฮโดรเจน โพแทสเซียม – เอทีพีเอส โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ SPSS / PC [69]