การศึกษาการทำงานของเอนไซม์โซเดียม-โพแทสเซียม อะดีโนซีน ไตรฟอสฟาเทส ในเม็ดเลือดแดงของชายไทยในจังหวัดขอนแก่น

นางสาวจุฬาลักษณ์ โชติกสถิตย์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สหสาขาวิชาสรีรวิทยา
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ.2534

ISBN 974-579-301-9

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

017231
1172642236

A STUDY OF THE ACTIVITY OF ERYTHROCYTE SODIUM-POTASSIUM ADENOSINE TRIPHOSPHATASE (Na-K ATPase) OF THAI MEN IN KHON KAEN PROVINCE

MISS CHULALAG CHOTIGASATIT

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement

for the Degree of Master of Science

Interdepartment of Physiology

Graduate School

Chulalongkorn University

1991

ISBN 974-579-301-9

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาการทำงานของเอนไซม์ โซเดียม-โพแทสเซียม อะดีโนซีน ไตรฟอสฟาเทส ในเม็ดเลือดแดงของชายไทย ในจังหวัดขอนแก่น
โดย	นางสาว จุฬาลักษณ์ โชศิกสถิตย์
สหสาขา	สรีรวิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร.ราตรี สุดทรวง
	รองศาสตราจารย์ ปิยะรัตน์ โตสุโขวงศ์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ศาสตราจารย์ ดร.ถาวร วัชราภัย)

คณะกรรมการการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ประภา ลอยเพ็ชร)

.....อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ ดร.ราตรี สุดทรวง)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ปิยะรัตน์ โตสุโขวงศ์)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์เกรียง ตั้งสง่า)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ศานติ เศชาภิประณัย)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

จุฬาลักษณ์ โชติกสถิตย์ : การศึกษาการทำงานของเอนไซม์ โซเดียม โพแทสเซียม อะดีโนซีน ไตรฟอสฟาเทส ในเม็ดเลือดแดงของชายไทย ในจังหวัดขอนแก่น (A STUDY OF THE ACTIVITY OF ERYTHROCYTE SODIUM POTASSIUM ADENOSINE TRIPHOSPHATASE (Na-K ATPase) OF THAI MEN IN KHON KAEN PROVINCE) อ.ที่ปรึกษา : รศ.ดร.ราตรี สุดทรวง, รศ.บิยะรัตน์ โตสุโขวงศ์ 75 หน้า ISBN 974-579-301-9

การวิจัยครั้งนี้มีจุดประสงค์เพื่อหาระดับเอนไซม์ โซเดียม-โพแทสเซียม อะดีโนซีน ไตรฟอสฟาเทส (Na-K ATPase) หรือโซเดียมปั๊มจากเยื่อหุ้มเซลล์ของเม็ดเลือดแดง รวมทั้งหาความเข้มข้นของโซเดียม โพแทสเซียมในเม็ดเลือดแดงและพลาสมาของชายไทยชนบทที่มีสุขภาพดี และมีภูมิลำเนาอยู่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งเป็นกลุ่มเสี่ยงต่อการเกิดโรคไหลตายและโรคนิ่วไต โดยศึกษาเปรียบเทียบกับชายไทยที่มีสุขภาพดีที่อยู่ในกรุงเทพมหานคร

ผลการวิจัยพบว่ามีความผิดปกติของระดับเอนไซม์ Na-K ATPase ในกลุ่มศึกษากลุ่มที่ 2 (เป็นคนที่มาบริจาคโลหิต จังหวัดขอนแก่น) จำนวน 25 คน อายุเฉลี่ย 30 ปี มีค่าเฉลี่ยของระดับเอนไซม์ Na-K ATPase 52 ± 4 nmolPi/mg.hr และกลุ่มศึกษากลุ่มที่ 3 (เป็นคนชนบทรอบ ๆ เมืองขอนแก่นและเป็นญาติสายตรงของคนไหลตาย) จำนวน 30 คน อายุเฉลี่ย 31 ปี มีค่าเฉลี่ยของระดับเอนไซม์นี้ 63 ± 3 nmolPi/mg.hr ซึ่งต่ำกว่ากลุ่มควบคุมกลุ่มที่ 1 (เป็นคนที่มาบริจาคโลหิตที่กรุงเทพมหานคร) จำนวน 32 คน อายุเฉลี่ย 34 ปี มีค่าเฉลี่ยของเอนไซม์ 98 ± 5 nmolPi/mg.hr อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P<0.001$ และ $P<0.05$ ตามลำดับ ค่าความเข้มข้นของโซเดียมในเม็ดเลือดแดง (Na_i) ของกลุ่มศึกษาทั้งกลุ่มที่ 2 และ 3 (Na_i = 13.6 ± 0.6 และ 10.5 + 0.5 mEq/L ตามลำดับ) สูงกว่ากลุ่มที่ 1 (Na_i = 8.1 ± 0.3 mEq/L) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P<0.001$ และ $P<0.05$ ตามลำดับ ค่าความเข้มข้นของโพแทสเซียมในเม็ดเลือดแดง (K_i) ของกลุ่มที่ 2 และกลุ่มที่ 3 (99 ± 2 และ 103 ± 2 mEq/L ตามลำดับ) สูงกว่ากลุ่มที่ 1 (92 ± 2 mEq/L) เช่นกัน สำหรับค่าความเข้มข้นของโซเดียมในพลาสมาของกลุ่มที่ 3 สูงกว่าของกลุ่มที่ 1 และ 2 แต่ไม่พบความแตกต่างของระดับโพแทสเซียมในพลาสมาของประชากรทั้ง 3 กลุ่มนี้ นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์เชิงผกผันระหว่างความเข้มข้นของ Na_i กับระดับเอนไซม์ Na-K ATPase และค่าร้อยละเอนไซม์ Na-K ATPase ของประชากรทั้ง 3 กลุ่ม (r = -0.416 $P<0.001$)

โดยสรุปจากผลการวิจัยนี้พบว่ามีความผิดปกติของการทำงานของโซเดียมปั๊มในเยื่อหุ้มเซลล์ของเม็ดเลือดแดงของประชากรที่มีสุขภาพปกติ ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือซึ่งอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้พบว่ามีค่าความเข้มข้นของโซเดียมในเม็ดเลือดแดงสูงผิดปกติ และอาจเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการเกิดโรคไหลตายและโรคนิ่วไต ของประชากรในเขตภูมิภาคนี้

ภาควิชา สรีรวิทยา
สาขาวิชา สรีรวิทยา
ปีการศึกษา 2533

ลายมือชื่อนิสิต .....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

CHULALAG CHOTIGASATIT : A STUDY OF THE ACTIVITY OF ERYTHROCYTE SODIUM-POTASSIUM ADENOSINE TRIPHOSPHATASE (Na-K ATPase) OF THAI MEN IN KHON KAEN PROVINCE THISIS ADVISOR : ASSO. PROF. DR. RATREE SUDSUANG, ASSO. PROF. PIYARATANA TOSUKHOWONG, Ed. D. 75 pp. ISBN 974-579-301-9

The objective of this study was to compare the erythrocyte sodium-potassium adenosine triphosphatase (Na-K ATPase) activity from the normal male subjects who live in the Northeastern rural area of Thailand (High incidence of SUND and RSD) with the normal controls in Bangkok and we also measured Na and K content in the erythrocyte and plasma of these subjects.

Many abnormalities were found in erythrocyte of Northeastern group from these studies. Ouabain sensitive ATPase activity (Na-K ATPase) was found significantly lower in group II (25 healthy male blood donors of Khon Kaen, 52 ± 4 nmol Pi/mg.hr) and group III (30 healthy male villagers of Khon Kaen, 63 + 3 nmol Pi/mg.hr) than in the group I (20 healthy male blood donors of Bangkok, 98 ± 5 nmol Pi/mg.hr) P>.001 and P>.05 compared to control group I. Intracellular Na concentration was higher in both group II and III (13.6 ± 0.6 and 10.5 ± 0.5 mEa/L, respectively) than group I (8 ± 0.3 mEq/L); P>0.001 and P>0.05 respectively. Intracellular K concentration was higher in group II and group III (99 ± 2 and 103 ± 2 mEq/L respectively) than group I (92 ± 2 mEq/L). Plasma Na in group III (145 ± 1 mEq/L) is higher than group II and group I (139 ± 1 and 139 ± 1 mEq/L respectively. Whereas no significant different in plasma K was observed. These was a strong negative correlation between erythrocyte Na-K ATPase activity or percent of Na-K ATPase as total ATPase and Na among 3 groups (r = -0.416 P<0.0001).

In conclusion, the erythrocytes from native residents of Northeast Thailand exhibit low Na-K ATPase activity. This might lead to a higher intracellular sodium content among Northeastern Thais. These abnormalities may be the major cause of SUND and RSD.

ภาควิชา สรีรวิทยา ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา สรีรวิทยา

ปีการศึกษา ๒๕๓๓ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ได้สำเร็จลุล่วงไปได้ ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งของ รองศาสตราจารย์ปิยะรัตน์ ไตสุโขวงศ์ และรองศาสตราจารย์ ดร.ราตรี สุดทรวง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และทุนการวิจัยครั้งนี้บางส่วนได้รับจากทุนอุดหนุนการวิจัยของบัณฑิตวิทยาลัย จึงขอขอบพระคุณไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่แผนกเจาะเก็บโลหิต ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย กรุงเทพฯ และเจ้าหน้าที่คลังเลือดกลาง โรงพยาบาลศรีนครินทร์ จังหวัดขอนแก่น ที่ให้ความอนุเคราะห์เก็บตัวอย่างเลือดให้ ขอขอบคุณ คุณพงศ์ศักดิ์ พันธุ์สิน หน่วยโรคไต ภาควิชาอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ที่ช่วยกรุณาวิเคราะห์เกลือแร่ให้ในการวิจัยนี้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ฆ
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... ง
กิตติกรรมประกาศ..... จ
สารบัญตาราง..... ฌ
สารบัญรูป..... ญ
คำอธิบายคำย่อ..... ฐ
บทที่
1. บทนำ 1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... 1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย..... 4
2. บริทัศน์วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง 5
ความสำคัญของโพแทสเซียมและโซเดียม..... 5
โพแทสเซียมในร่างกาย..... 6
โซเดียมในร่างกาย..... 13
โซเดียมปั๊มหรือเอนไซม์ Na-K ATPase..... 17
3. อุปกรณ์และวิธีการศึกษา..... 23
ประชากรที่ใช้ศึกษา..... 23
เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์..... 24
สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์..... 24
บัฟเฟอร์และสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์..... 25
วิธีการศึกษาน้ำร่อง..... 26
การวิเคราะห์โซเดียมและโพแทสเซียมในพลาสมา..... 26
การวิเคราะห์โซเดียมและโพแทสเซียมในเม็ดเลือดแดง..... 28

หน้า

การเตรียมเยื่อหุ้มเซลล์ของเม็ดเลือดแดงสำหรับวิเคราะห์
เอนไซม์ Na-K ATPase..... 29
การศึกษาความเที่ยงตรงของวิธีการวิเคราะห์ ATPase..... 34
การวิเคราะห์ข้อมูล..... 34
4. ผลการศึกษา..... 36
รายละเอียดของประชากรที่ใช้ศึกษา..... 36
ผลการวิเคราะห์โซเดียมและโพแทสเซียมในพลาสมา..... 37
ผลการวิเคราะห์โซเดียมและโพแทสเซียมในเม็ดเลือดแดง..... 37
ผลการเปรียบเทียบการกระจายของโซเดียมในเม็ดเลือดแดง
ของประชากรทั้ง 3 กลุ่ม..... 40
ผลการเปรียบเทียบการกระจายของความเข้มข้นโพแทสเซียม
ในเม็ดเลือดแดงของประชากรทั้ง 3 กลุ่ม..... 40
ผลการวิเคราะห์สารละลายโปรตีนมาตรฐานที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ... 43
ผลการวิเคราะห์สารละลายอินทรีย์ฟอสฟอรัสมาตรฐานที่มี
ความเข้มข้นต่าง ๆ..... 43
ผลการศึกษาคุณสมบัติด้านความเที่ยงตรงของการวิเคราะห์
เอนไซม์ ATPase จากเยื่อหุ้มเซลล์..... 43
ผลการวิเคราะห์ระดับเอนไซม์ Na-K ATPase..... 47
ผลการวิเคราะห์ระดับเอนไซม์ ATPase ทั้งหมด..... 47
ผลการศึกษาการกระจายของค่าร้อยละ Na-K ATPase
ต่อ ATPase ทั้งหมด..... 50
ผลการศึกษาความสัมพันธ์ (correlation) ของความเข้มข้นของ
โซเดียม ในเม็ดเลือดแดงกับเอนไซม์ Na-K ATPase ของประชากร
ทั้ง 3 กลุ่ม..... 50

5. อภิปรายและสรุปผลการศึกษา..... 54
เอกสารอ้างอิง..... 65
ภาคผนวก..... 73
ประวัติผู้เขียน..... 76

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่

1. แสดงปริมาณการกระจายของโพแทสเซียมในเซลล์และของเหลวในร่างกาย.. 8
2. แสดงปริมาณการกระจายของโซเดียมในเซลล์และของเหลวในร่างกาย..... 13
3. แสดงโรคต่าง ๆ ที่พบระดับเอนไซม์ Na-K ATPase ในเม็ดเลือดแดง มีค่าลดลงและสูงขึ้น..... 22
4. แสดงค่ามัชฌิมเลขคณิต ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของมัชฌิมของความเข้มข้นของโซเดียม โพแทสเซียม ในพลาสมา เปรียบเทียบระหว่างประชากรทั้ง 3 กลุ่ม..... 38
5. แสดงค่ามัชฌิมเลขคณิต ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของมัชฌิมของความเข้มข้นของโซเดียม โพแทสเซียม ในเม็ดเลือดแดง เปรียบเทียบระหว่างประชากรทั้ง 3 กลุ่ม..... 39
6. แสดงค่าความเที่ยงตรงของการวิเคราะห์ในวันเดียวกันและระหว่างวัน..... 46
7. แสดงค่ามัชฌิมเลขคณิต ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของมัชฌิมของเอนไซม์ ATPase ชนิดต่าง ๆ 49
8. แสดงระดับเอนไซม์ Na-K ATPase และค่าร้อยละของเอนไซม์ Na-K ATPase ต่อ ATPase ทั้งหมด ในกลุ่มคนปกติ เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มวิจัยต่าง ๆ..... 55
9. แสดงค่ามัชฌิมเลขคณิต ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าความเข้มข้นของโซเดียม และโพแทสเซียม ในเม็ดเลือดแดง เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มวิจัย..... 57

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่

1. แสดงสมมติฐานความสัมพันธ์ของโพแทสเซียม โซเดียม และเอนไซม์ โพแทสเซียม อะดีโนซีน ไตรฟอสฟาเทส (Na-K ATPase) กับโรคที่มีความผิดปกติทางเมแทบอลิซึม..... 3

2. แสดงความสัมพันธ์ของปริมาณโพแทสเซียมในอวัยวะต่าง ๆ ของร่างกายกับปริมาณที่ได้รับ..... 7

3. แสดงสาเหตุและอาการแสดงของการขาดโพแทสเซียม..... 11

4. แสดงสมดุลและเมแทบอลิซึมของโซเดียมในคนปกติเมื่อได้รับอาหารที่มีโซเดียม..... 15

5. แสดงกลไกการทำงานของเอนไซม์ Na-K ATPase..... 19

6. แสดงสูตรโครงสร้างของ Ouabain..... 20

7. แสดงการยับยั้งโซเดียมปั๊มของ Ouabain..... 20

8. แสดงแผนผังการวิเคราะห์การศึกษาตัวอย่างเลือด..... 27

9. หลักการแยกและทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ของเม็ดเลือดแดงบริสุทธิ์..... 30

10. แสดงแผนผังการวิเคราะห์หาระดับเอนไซม์ ATPase ทั้งหมด เอนไซม์ ouabain insensitive ATPase และเอนไซม์ Ouabain sensitive ATPase..... 33

11. แสดงการกระจายของค่าความเข้มข้นของโซเดียมในเม็ดเลือดแดงเปรียบเทียบระหว่างประชากรทั้ง 3 กลุ่ม..... 41

12. แสดงการกระจายของค่าความเข้มข้นของโพแทสเซียมในเม็ดเลือดแดงเปรียบเทียบระหว่างประชากรทั้ง 3 กลุ่ม..... 42

13. แสดงกราฟมาตรฐานที่ได้จากการวิเคราะห์สารละลายโปรตีนมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ..... 44

รูปที่ หน้า

14. แสดงกราฟที่ได้จากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐาน
อนินทรีย์ฟอสฟอรัส ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ..... 45
15. แสดงค่ามัชฌิมเลขคณิต±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของระดับเอนไซม์
Na-K ATPase เปรียบเทียบระหว่างประชากรทั้ง 3 กลุ่ม..... 48
16. แสดงการกระจายของค่าร้อยละของเอนไซม์ โซเดียม โพแทสเซียม
อะดีโนซีน ไตรฟอสฟาเทส ต่อ ATPase ทั้งหมด เปรียบเทียบ
ระหว่างประชากรทั้ง 3 กลุ่ม..... 51
17. แสดงความสัมพันธ์ (correlation) ระหว่างความเข้มข้นของโซเดียม
ในเม็ดเลือดแดง กับ เอนไซม์ ouabain sensitive ATPase
ของประชากรทั้ง 3 กลุ่ม..... 52
18. แสดงความสัมพันธ์ (correlation) ระหว่างความเข้มข้นของโซเดียม
ในเม็ดเลือดแดง กับ ค่าร้อยละของเอนไซม์ Na-K ATPase ต่อ
ATPase ทั้งหมด ของประชากรทั้ง 3 กลุ่ม..... 53

อธิบายคำย่อ

ATP	Adenosine triphosphate
ATPase	Adenosine triphosphatase
%CV	Coefficient of variation
dRTA	Distal renal tubular acidosis
ECF	Extracellular fluid
HPP	Hypokalemia periodic paralysis
hr	hour
ICF	Intracellular fluid
ISF	Interstitial fluid
K	Potassium
K_i	Intracellular potassium
L	liter
mEq	milliequivalent
mg	milligram
Mg-ATPase	Magnesium adenosine triphosphatase
nm	nanometer
nmol	nanomol
PCM	Protein catories malnutrition
Pi	Inorganic phosphate
RDA	Recommended dietary allowance
RSD	Renal stone disease
SCH buffer	Sodium chloride-histidine buffer
SDS	Sodium dodesyl sulphate

SEM	Standard error of mean
SUND	Sudden unexpected nocturnal death
TCA	Trichloroacetic acid