

วัสดุและวิธีการศึกษา

การคัดเลือกกลุ่มประชากร

คัดเลือกกลุ่มประชากรจากผู้ที่มีการตรวจรักษาโรคปริทันต์ ในคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ไม่จำกัดเพศและอายุ โดยการศึกษาผ่านการอนุมัติให้ทำการศึกษาวิจัยในมนุษย์จากคณะกรรมการพิทักษ์สิทธิฯ ของคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่แล้ว อาสาสมัครทุกคนให้ความยินยอมโดยการลงลายมือชื่อในเอกสาร แบ่งอาสาสมัครออกเป็น 4 กลุ่ม ตามเกณฑ์การวินิจฉัยโรคของ The American Academy of Periodontology (AAP) 1999 คือ กลุ่มที่มีสุขภาพเหงือกดี กลุ่มที่เป็นโรคเหงือกอักเสบ กลุ่มที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบชนิดก้าวหน้า และกลุ่มที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบชนิดเรื้อรัง กลุ่มละ 10 คน รวมมีผู้เข้าร่วมในการศึกษาทั้งสิ้น 40 คน โดยมีหลักเกณฑ์ในการคัดเลือกกลุ่มประชากรดังนี้

1. กลุ่มที่มีสุขภาพเหงือกดี มีลักษณะดังนี้
 - เป็นผู้ที่มีสุขภาพร่างกายที่แข็งแรง
 - ลักษณะทางคลินิก เหงือกมีสีชมพู ขอบเหงือกมีลักษณะบาง เหงือกกระหว่างซอกฟันมีลักษณะเป็นยอดแหลม
 - ไม่มีเลือดออกภายหลังหยั่งร่องเหงือกด้วยเครื่องมือปริทันต์
 - ไม่มีการทำลายระดับการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์
2. โรคเหงือกอักเสบ มีลักษณะดังนี้
 - เป็นผู้ที่มีสุขภาพร่างกายที่แข็งแรง
 - ขอบเหงือกมีลักษณะอักเสบบวม น้ำและมีสีแดง กดนิ่ม แต่ในกรณีที่เป็นเหงือกอักเสบเรื้อรัง อาจพบลักษณะเหงือกที่แข็งและแน่น
 - มีเลือดออกภายหลังการหยั่งร่องเหงือกด้วยเครื่องมือตรวจปริทันต์ (bleeding on probing)
 - ไม่มีการทำลายระดับการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์
3. โรคปริทันต์อักเสบชนิดก้าวหน้า มีลักษณะดังนี้
 - เป็นผู้ที่มีสุขภาพร่างกายที่แข็งแรง
 - มักพบในผู้ป่วยอายุน้อย แต่อาจพบในได้วัยผู้ใหญ่ได้
 - มีการอักเสบของเหงือกพร้อมกับมีการทำลายระดับการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์อย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะในฟันกรามแท้ซี่แรกและฟันหน้า
 - ระดับของการทำลายอวัยวะปริทันต์หรือความรุนแรงของโรคอาจไม่สัมพันธ์กับปัจจัยเฉพาะที่



- อาจพบการถ่ายทอดทางพันธุกรรม โดยการชักประวัติอาจพบว่ามีคนในครอบครัวสูญเสียฟันหรือมีประวัติใส่ฟันเทียมเมื่ออายุน้อยได้
4. โรคปริทันต์อักเสบชนิดเรื้อรัง มีลักษณะดังนี้
- เป็นผู้มีสุขภาพร่างกายที่แข็งแรง
 - มักพบในผู้ป่วยที่อยู่ในวัยผู้ใหญ่ แต่อาจพบในผู้ที่มีอายุน้อยได้
 - มีการอักเสบของเหงือกร่วมกับการทำลายระดับการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์อย่างเรื้อรัง
 - ระดับของการทำลายอวัยวะปริทันต์มักสัมพันธ์กับปัจจัยเฉพาะที่ เช่น หินน้ำลาย
 - มีการดำเนินโรคแบบช้าๆ แต่อาจพบว่ามีอาการดำเนินโรคแบบรวดเร็วกลับได้
5. ผู้ป่วยที่ไม่นำมาศึกษา ได้แก่
- ผู้ป่วยที่เป็นโรคเกี่ยวกับการอักเสบและทำลายกระดูก เช่น โรคข้อเสื่อม โรคข้ออักเสบรูห์มาตอยด์ และโรคกระดูกพรุน เป็นต้น
 - ผู้ป่วยที่ต้องได้รับยาปฏิชีวนะหรือต้องหยุดยาที่เกี่ยวข้องกับการแข็งตัวของเลือดก่อนตรวจโดยใช้เครื่องมือตรวจปริทันต์
 - ผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาทางปริทันต์หรือรักษาด้วยยาภายใน 3 เดือนที่ผ่านมา ทั้งยาสแตียรอยด์ ยาปฏิชีวนะ และยากดภูมิคุ้มกัน
 - ผู้ป่วยที่เป็นโรคทางระบบและมีภาวะที่เป็นปัจจัยเสี่ยงของโรคปริทันต์อักเสบ ได้แก่ โรคเบาหวานที่ไม่ได้รับการควบคุมและการสูบบุหรี่
 - ผู้ป่วยที่เป็นสตรีมีครรภ์
 - ผู้ป่วยที่มีอายุน้อยกว่า 18 ปี

การคัดเลือกบริเวณที่ศึกษา

ทำการคัดเลือกบริเวณที่ศึกษาโดยอาศัยลักษณะทางคลินิกและภาพรังสี ในผู้ป่วย 4 กลุ่มดังนี้

1. กลุ่มผู้มีสุขภาพเหงือกดี บริเวณที่เก็บตัวอย่าง
 - มีความลึกของร่องลึกปริทันต์น้อยกว่าหรือเท่ากับ 3 มิลลิเมตร
 - ไม่มีเลือดออกภายหลังการหยั่งร่องเหงือกด้วยเครื่องมือตรวจปริทันต์
 - ไม่มีการสูญเสียระดับการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์จากลักษณะทางคลินิกและภาพถ่ายรังสี
 - ทำการเก็บตัวอย่างในผู้ป่วยโรคเหงือกอักเสบ 10 คน คนละ 5 ตำแหน่ง รวมมีบริเวณที่ศึกษา 50 ตำแหน่ง
2. กลุ่มผู้ป่วยโรคเหงือกอักเสบ บริเวณที่เก็บตัวอย่าง

- เหงือกมีลักษณะอักเสบบวมแดง
- มีความลึกของร่องลึกปริทันต์น้อยกว่าหรือเท่ากับ 3 มิลลิเมตร
- มีเลือดออกภายหลังการหยั่งร่องเหงือกด้วยเครื่องมือตรวจปริทันต์
- ไม่มีการสูญเสียการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์จากลักษณะทางคลินิกและภาพถ่ายรังสี
- ทำการเก็บตัวอย่างในผู้ป่วยโรคเหงือกอักเสบ 10 คน คนละ 5 ตำแหน่ง รวมมีบริเวณที่ศึกษา 50 ตำแหน่ง

3. โรคปริทันต์อักเสบชนิดก้าวหน้า บริเวณที่เก็บตัวอย่าง คือ

- ตำแหน่งที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบที่มีร่องลึกปริทันต์น้อย (shallow pocket) เป็นตำแหน่งที่มีการสูญเสียอวัยวะปริทันต์โดยตรวจทางคลินิกและภาพรังสี โดยมีความลึกของร่องลึกปริทันต์น้อยกว่าหรือเท่ากับ 4 มิลลิเมตร กลุ่มละ 10 คน คนละ 5 ตำแหน่ง รวมมีบริเวณที่ศึกษา 50 ตำแหน่ง
- ตำแหน่งที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบที่มีร่องลึกปริทันต์มาก (deep pocket) เป็นตำแหน่งที่มีการสูญเสียอวัยวะปริทันต์โดยตรวจทางคลินิกและภาพรังสี โดยมีความลึกของร่องลึกปริทันต์มากกว่าหรือเท่ากับ 6 มิลลิเมตร กลุ่มละ 10 คน คนละ 5 ตำแหน่ง รวมมีบริเวณที่ศึกษา 50 ตำแหน่ง

4. โรคปริทันต์อักเสบชนิดเรื้อรัง บริเวณที่เก็บตัวอย่าง คือ

- ตำแหน่งที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบที่มีร่องลึกปริทันต์น้อย (shallow pocket) เป็นตำแหน่งที่มีการสูญเสียอวัยวะปริทันต์โดยตรวจทางคลินิกและภาพรังสี โดยมีความลึกของร่องลึกปริทันต์น้อยกว่าหรือเท่ากับ 4 มิลลิเมตร กลุ่มละ 10 คน คนละ 5 ตำแหน่ง รวมมีบริเวณที่ศึกษา 50 ตำแหน่ง
- ตำแหน่งที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบที่มีร่องลึกปริทันต์มาก (deep pocket) เป็นตำแหน่งที่มีการสูญเสียอวัยวะปริทันต์โดยตรวจทางคลินิกและภาพรังสี โดยมีความลึกของร่องลึกปริทันต์มากกว่าหรือเท่ากับ 6 มิลลิเมตร กลุ่มละ 10 คน คนละ 5 ตำแหน่ง รวมมีบริเวณที่ศึกษา 50 ตำแหน่ง

การวัดพารามิเตอร์ทางคลินิก

ทำการวัดพารามิเตอร์ทางคลินิกด้วยอุปกรณ์ตรวจปริทันต์ที่มีขีดแบ่งทุก 1 มิลลิเมตร (PCP-UNC15 probe, Hu-Friedy, Chicago, USA) 6 ตำแหน่งรอบตัวฟัน (ด้านใกล้กลางทางด้านแก้ม ด้านใกล้กลางด้านแก้ม ด้านไกลกลางทางด้านแก้ม ด้านใกล้กลางทางด้านลิ้น ด้านใกล้กลางด้านลิ้น และด้านไกลกลางทางด้านลิ้น) ลักษณะทางคลินิكدังกล่าว ได้แก่

1. ระดับเหงือกร่น (recession) วัดจากจุดอ้างอิง คือรอยต่อระหว่างเคลือบฟันกับเคลือบรากฟันถึงขอบเหงือก

2. ร่องลึกปริทันต์ (probing pocket depth; PPD) วัดจากขอบเหงือกถึงจุดลึกสุดของร่องลึกปริทันต์
3. ระดับการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์ (clinical attachment level; CAL) วัดจากจุดอ้างอิง คือ รอยต่อระหว่างเคลือบฟันกับเคลือบรากฟันถึงจุดลึกสุดของร่องลึกปริทันต์
4. ดัชนีเหงือกอักเสบ (Gingival index) แบ่งออกเป็น 0-3 ระดับ (Löe และ Silness, 1963) โดย

0 หมายถึง ไม่มีการอักเสบของเหงือก ไม่มีเลือดออกเมื่อใช้อุปกรณ์ตรวจปริทันต์หยั่งร่องเหงือก

1 หมายถึง มีการอักเสบของเหงือกเล็กน้อย มีการบวมและเปลี่ยนสีของเหงือกเล็กน้อย ไม่มีเลือดออกเมื่อใช้อุปกรณ์ตรวจปริทันต์หยั่งร่องเหงือก

2 หมายถึง มีการอักเสบของเหงือกปานกลาง มีการบวมแดงของเหงือก มีเลือดออกเมื่อใช้อุปกรณ์ตรวจปริทันต์หยั่งร่องเหงือก

3 หมายถึง มีการอักเสบของเหงือกมาก มีการบวมแดงของเหงือก มีเลือดออกเมื่ออุปกรณ์ตรวจปริทันต์หยั่งร่องเหงือกหรือมีเลือดออกได้เอง

5. ดัชนีคราบจุลินทรีย์ (Plaque index) แบ่งออกเป็น 0-3 ระดับ (Silness และ Löe, 1964)

0 หมายถึง ไม่มีคราบจุลินทรีย์

1 หมายถึง มีคราบจุลินทรีย์เล็กน้อยบนผิวฟันใกล้เคียงขอบเหงือก อาจเห็นคราบจุลินทรีย์ได้เมื่อย้อมด้วยสีย้อมคราบจุลินทรีย์หรือใช้อุปกรณ์ตรวจปริทันต์ครูด

2 หมายถึง มีคราบจุลินทรีย์สะสมระดับปานกลางในร่องเหงือกหรือผิวฟันใกล้เคียงขอบเหงือก โดยสามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

3 หมายถึง มีคราบจุลินทรีย์สะสมระดับมากในร่องเหงือกและ/หรือผิวฟันใกล้เคียงขอบเหงือก

การปรับมาตรฐานการตรวจทางคลินิกของผู้ตรวจ

การตรวจลักษณะทางคลินิกกระทำโดยผู้ตรวจคนเดียว โดยการทดสอบความเที่ยงในตัวของผู้ตรวจ (intra-examiner calibration) จะยอมให้ค่าที่วัดมีความคลาดเคลื่อนภายใน 1 มิลลิเมตรและให้ค่า weight kappa มีค่าตั้งแต่ 0.9 ขึ้นไป

วิธีการเก็บตัวอย่าง

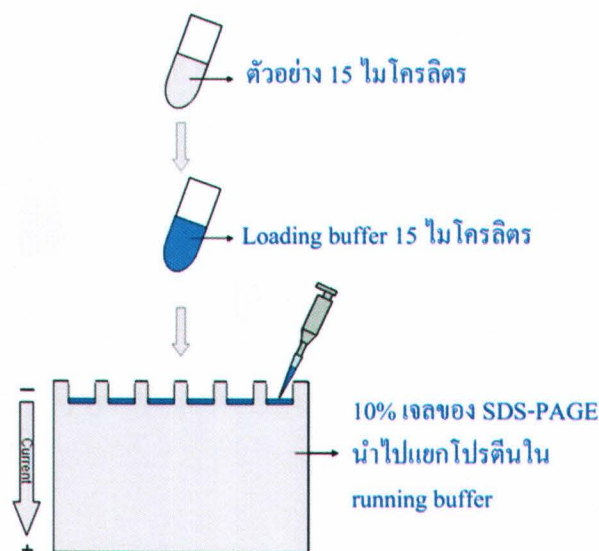
เบื้องต้นตรวจลักษณะทางคลินิกเพื่อวินิจฉัยโรคและคัดเลือกตำแหน่งเพื่อเก็บตัวอย่าง หลังจากนั้น 7-10 วัน ทำการเก็บตัวอย่างในน้ำเหลืองเหงือก เริ่มต้นจากการกั้นน้ำลายรอบบริเวณที่เก็บตัวอย่างด้วยผ้าก๊อช จากนั้นเป่าลมเบาๆ ให้แห้ง แล้วนำ periopaper strip (Periopaper, ProFlow,

จากนั้นนำ periopaper strip มาวัดค่าที่ได้ด้วยเครื่อง Periotron อีกครั้งหนึ่งเพื่อนำค่านี้ไปคำนวณเพื่อหาปริมาตรของน้ำเหลืองเหงือกที่เก็บได้ โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานที่เคยทำไว้ใน การศึกษาก่อนหน้านี้ (Khongkhunthian และคณะ, 2008) จากนั้นเก็บกระดาษ periopaper strip ไว้ ในหลอดเก็บตัวอย่างแล้วนำไปเก็บไว้ในอุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปตรวจวัด ADAM 8 ด้วยวิธี western blot และ ELISA ต่อไป

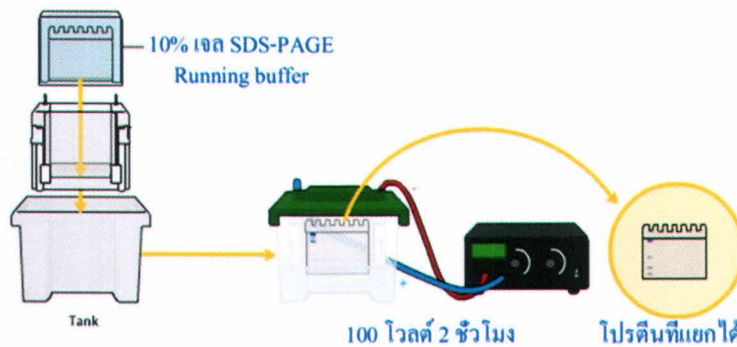
การตรวจวัดค่า ADAM 8 ในน้ำเหลืองเหงือก

ในการตรวจวัด ADAM 8 เบื้องต้นด้วยวิธี western blot ได้ทำตามวิธีการของ Krisanaprakornkit และคณะ (2008) โดยมีขั้นตอนโดยย่อดังนี้

- เติมนสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ปริมาตร 50 ไมโครลิตรลงในหลอดทดลองและเขย่าด้วย เครื่องวอร์เทกซ์ (vortex) เป็นเวลา 30 นาที
- เติมนบัฟเฟอร์ที่มี 0.2 M Tris-HCl ที่มีความเป็นกรด-ด่าง 6.8 และมีกลีเซอรอลร้อยละ 25 SDS ร้อยละ 2 และโบรมีนฟีโนล บลูร้อยละ 0.04 ปริมาตร 15 ไมโครลิตร ลงไปในหลอด ทดลองที่มีตัวอย่างปริมาตร 15 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปต้มนาน 5 นาที
- นำตัวอย่างไปใส่ใน SDS-PAGE ที่มีเจลร้อยละ 10 (ภาพ 18) เพื่อแยกโปรตีนตามน้ำหนัก โมเลกุลในรันนิ่งบัฟเฟอร์ที่มีความเข้มข้นเป็น 1 เท่า (1x running buffer) ด้วยกระแสไฟฟ้า 100 โวลต์เป็นเวลา 2 ชั่วโมง (ภาพ 19)



ภาพ 18 ใส่ตัวอย่างใน SDS-PAGE ที่มีเจลร้อยละ 10
(แหล่งที่มา ดัดแปลงจาก ptglab.com)



ภาพ 19 แยกโปรตีนใน SDS-PAGE ที่มีเจลร้อยละ 10 ด้วยกระแสไฟฟ้า

(แหล่งที่มา ดัดแปลงจาก wikipedia.org)

- จากนั้นย้ายโปรตีนมาใส่ในแผ่นไนโตรเซลลูโลส (nitrocellulose membrane) (ภาพ 20) ด้วยกระแสไฟฟ้า 100 มิลลิแอมแปร์เป็นเวลา 12 ชั่วโมงในบล็อกตึงบัฟเฟอร์ที่เย็น (cold blotting buffer) โดยใช้เครื่อง Transblot apparatus (Bio-Rad, CA, USA)
- นำแผ่นไนโตรเซลลูโลสที่ได้ไปแช่ในน้ำนมวัวไขมันในสารละลายทริส บัฟเฟอร์ (TBS) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 ที่มีทวิน-20 (Tween-20) ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
- แล้วใส่แอนติบอดีปฐมภูมิ (primary antibody) ต่อโปรเปปไทด์โดเมนของ ADAM 8 (Abcam, MA, USA) ที่งัวข้ามคืนในบล็อกกิงบัฟเฟอร์ (blocking buffer)
- จากนั้นนำมาล้างใน Tween-20 ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 ในสารละลายทริส บัฟเฟอร์ เป็นเวลา 10 นาที ทำซ้ำ 3 รอบ แล้วจึงนำไปทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีทุติยภูมิที่ติดฉลากกับฮอรัส แรดดิกซ์ เปอร์ออกซิเดส (HRP-conjugated secondary antibody) ในทวิน-สารละลายทริส บัฟเฟอร์ (Tween-TBS) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
- ล้างอีกครั้งด้วยทวิน-20 ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 ในสารละลายทริส บัฟเฟอร์ เป็นเวลา 10 นาที ทำซ้ำ 3 รอบ ก่อนนำไปทำปฏิกิริยาเคมีลูมิเนสเซนซ์ (chemiluminescent) โดยใช้ LumiGLO Reserve Chemiluminescence (KPL, Maryland, USA)
- ถ่ายรูปด้วยกล้อง CCD ที่ติดอยู่กับเครื่อง ChemiDoc XRS (Bio-Rad, CA, USA)

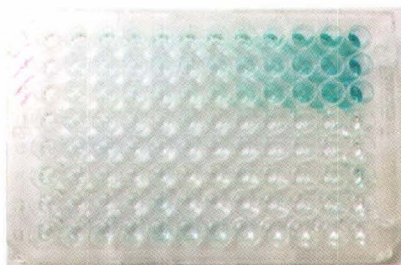


ภาพ 20 ย้ายโปรตีนมาใส่ในแผ่นไนโตรเซลลูโลส

(แหล่งที่มาจาก mit.edu)

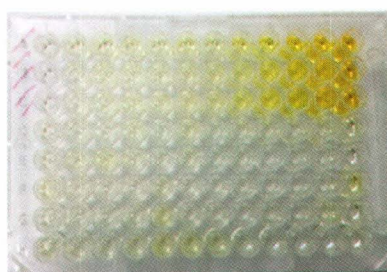
สำหรับการทำ ELISA ได้ทำตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิต (R&D Systems, MN, USA) โดยมีขั้นตอนโดยย่อดังนี้

- เตรียมสารละลายแคปเจอร์ แอนติบอดี (capture antibody) โดยการละลายด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ให้ได้ความเข้มข้น 2.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ใส่ลงในหลุมของถาด ELISA หลุมละ 100 ไมโครลิตร ปิดถาด ELISA ด้วยแผ่นพลาสติกเหนียว แล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- ดูดแคปเจอร์ แอนติบอดีทิ้ง แล้วล้างถาด ELISA ด้วยวอชบัฟเฟอร์ (wash buffer) หลุมละ 400 ไมโครลิตร ล้างทั้งหมด 3 รอบ แล้วเช็ดถาด ELISA ให้แห้ง
- เติมนล็อกกิง บัฟเฟอร์ ปริมาตร 300 ไมโครลิตรเพื่อทำการป้องกันการจับอย่างไม่จำเพาะของโปรตีนและ/หรือแอนติบอดีเข้ากับถาด ELISA จากนั้นบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องอย่างน้อย 1 ชั่วโมง
- ดูดบล็อกกิง บัฟเฟอร์ทิ้ง แล้วล้างถาด ELISA ด้วยวอชบัฟเฟอร์ หลุมละ 400 ไมโครลิตร ล้างทั้งหมด 3 รอบ แล้วเช็ดถาด ELISA ให้แห้ง
- ละลายตัวอย่างออกจาก peripaper strip ด้วยตัวละลายรีเอเจนต์ (reagent diluents) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และเตรียมสารมาตรฐานของ recombinant human ADAM 8 ที่ความเข้มข้น 0-4,000 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร โดยทำการละลายแบบครึ่งละ 2 เท่า (2-fold dilution) ด้วยตัวละลายรีเอเจนต์ จากนั้นเติมนสารมาตรฐานปริมาตร 100 ไมโครลิตรลงในหลุม 3 แถวแรกของถาด ELISA ส่วนแถวที่เหลือเติมตัวอย่างในปริมาตรที่เท่ากัน จากนั้นปิดถาด ELISA ด้วยแผ่นพลาสติกเหนียว นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง
- ดูดสารตัวอย่างและสารมาตรฐานทิ้งแล้วล้างถาด ELISA ด้วยวอชบัฟเฟอร์
- เติมดีเทคชัน แอนติบอดี (detection antibody) ที่ละลายด้วยตัวละลายรีเอเจนต์ ลงในแต่ละหลุมของถาด ELISA หลุมละ 100 ไมโครลิตร จากนั้นปิดถาด ELISA ด้วยแผ่นพลาสติกเหนียว บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง
- ดูดดีเทคชัน แอนติบอดี ทิ้งแล้วล้างถาด ELISA ด้วยวอชบัฟเฟอร์
- เติมนเตรปตาวิดิน-ฮอรัส แรดดิช เปอร์ออกซิเดส (Streptavidin-HRP) ที่ละลายด้วยตัวละลายรีเอเจนต์อัตราส่วน 1:200 ปริมาตรหลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องแบบไร้แสงเป็นเวลา 20 นาที
- ดูด Streptavidin-HRP ทิ้งแล้วล้างถาด ELISA ด้วยวอชบัฟเฟอร์
- เติมนสารละลายซับสเตรท (substrate solution) ปริมาตรหลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิแบบไร้แสงเป็นเวลา 20 นาที (ภาพ 21) จะเห็นของเหลวเปลี่ยนเป็นสีฟ้าในตำแหน่งที่มี ADAM 8



ภาพ 21 การตรวจวัดโปรตีนที่แสดงให้เห็นว่าสารละลายเปลี่ยนเป็นสีฟ้า
(แหล่งที่มา จัดทำขึ้นเอง)

- หยุดปฏิกิริยาด้วยการเติมตัวหยุดปฏิกิริยา จะเห็นของเหลวในหลุมจากสีฟ้าเปลี่ยนเป็นสีเหลือง (ภาพ 22)



ภาพ 22 สีของสารละลายเปลี่ยนไปเป็นสีเหลืองเมื่อถูกหยุดปฏิกิริยา (แหล่งที่มา จัดทำขึ้นเอง)

- นำไปอ่านผลด้วย ELISA plate reader (Tecan, Männedorf, Switzerland) ที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร (ภาพ 23)



ภาพ 23 การอ่านผลด้วย ELISA plate reader
(แหล่งที่มา จัดทำขึ้นเอง)

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ตรวจวัดการมี ADAM 8 เบื้องต้นจากการทำ western blot โดยจะปรากฏเห็นเป็นแถบสีดำบนแผ่นไนโตรเซลลูโลส จากนั้นวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นของ ADAM 8 ที่วัดได้จากการทำ ELISA ระหว่างกลุ่มผู้ที่มีสุขภาพแข็งแรง กลุ่มผู้ป่วยโรคเรื้อรัง กลุ่มผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบชนิดก้าวร้าว และกลุ่มผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบชนิดเรื้อรัง ด้วยสถิติ Non-parametric statistical analyses โดยใช้ Mann-Whitney U test และหาความสัมพันธ์ระหว่างระดับของ ADAM 8 กับพารามิเตอร์ทางคลินิกต่างๆ ด้วย Spearman rank order correlation ด้วยโปรแกรมสถิติสำเร็จรูป SPSS v.16