# บทที่ 3

# ระเบียบวิธีการวิจัย

## วัตถุประสงค์ของการวิจัย (Research objective)

ต้องการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง ภาวะ potassium depletion ในคนภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และ การเปลี่ยนแปลงในส่วน tubulointersitium ของเนื้อไต

## คำถามของการวิจัย (Research question)

ปริมาณของ potassium ในกล้ามเนื้อซึ่งมีระดับต่ำ จะมีความสัมพันธ์กับการอักเสบชนิดเรื้อรังในบริเวณ tubulointerstitium ของเนื้อไตหรือไม่ ศึกษาในผู้ป่วยที่เสียชีวิตจากอุบัติเหตุ ในโรงพยาบาลศรีนครินทร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เปรียบเทียบกับ ผู้ป่วยที่เสียชีวิตในโรงพยาบาลจุฬาฯ และ โรงพยาบาลตำรวจ

## สมมติฐาน (Hypothesis)

ภาวะ potassium depletion ในคนภาคตะวันออกเฉียงเหนือ**อาจจะ**มีความเกี่ยวข้องกับการเกิดการเปลี่ยนแปลงในส่วน tubulo-interstitium ของ เนื้อไต

## รูปแบบการวิจัย (Research design)

Design ที่จะใช้พิสูจน์ว่า ภาวะ potassium depletion ในคน จะทำให้เกิด Chronic tubulointerstitial nephritis คือการทำ experimental study, prospective-retrospective analytic study, หรือ crossectional analytic study ซึ่งในทางปฏิบัติคงทำไม่ได้ เนื่องจากการ

พิสูจน์ว่ามี Chronic tubulointerstitial nephritis ต้องเจาะเนื้อไตของตัวอย่างมาทำการตรวจ ซึ่งยังไม่เป็นที่ยอมรับของผู้ถูกเจาะ และ ผิดหลักจริยะธรรมทางแพทย์ (ethic) จึงทำการศึกษาแบบ crossectional analytic study ในผู้ที่เสียชีวิตจากอุบัติเหตุ โดยอนุมานว่าเป็นผู้ที่แข็งแรงดีก่อนการเสียชีวิต เพื่อลด ตัวกวน (confounding factor) ที่จะเกิดขึ้น

## ระเบียบวิธีวิจัย ( Research methodology)

**ก. แบบแผนการวิจัย (Design)** Crossectional analytic study

**ข. ประชากรเป้าหมาย (Target population)** ประชากรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย เทียบกับประชากรในกรุงเทพมหานครและปริมณฑล

**ค. ประชากรตัวอย่าง (Population sampled)** มี 2 กลุ่ม ได้แก่

1. กลุ่มศึกษา (case) หรือ กลุ่มขอนแก่น ได้แก่ผู้ป่วยในจังหวัดขอนแก่นที่เสียชีวิตจากอุบัติเหตุและได้รับการชันสูตรพลิกศพ ในโรงพยาบาลศรีนครินทร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

2. กลุ่มควบคุม (control) ได้แก่ ผู้ป่วยในกรุงเทพฯ หรือ ปริมณฑลที่เสียชีวิตเช่นเดียวกับข้างต้น แต่มีภูมิลำเนาอยู่ กรุงเทพฯ หรือ ปริมณฑล และ ได้รับการชันสูตรพลิกศพ ในโรงพยาบาลจุฬา หรือ ในโรงพยาบาลตำรวจ

**ง. ตัวอย่าง (Sample)**

1. วิธีการเลือกตัวอย่าง (Sample techniques) ใช้ประชากรตัวอย่างทั้งหมดในลักษณะเรียงลำดับ จนได้จำนวนตัวอย่างในแต่ละกลุ่มครบจำนวน

2. เกณฑ์การคัดเลือกตัวอย่าง (Inclusion criteria)

ก. เพศทั้งชายและหญิง อายุ 15-55 ปี ภูมิลำเนาอยู่ จังหวัดขอนแก่น(เชื้อสายไทยลาว) หรือ ในเขตกรุงเทพฯ และ ปริมณฑล โดยมีข้อกำหนดว่าจะต้องพักอาศัยอยู่ภายในภูมิลำเนา ดังกล่าวอย่างน้อย 10 ปี และถ้ามีการเดินทางไปพำนักยังภูมิลำเนาอื่น ระยะเวลาที่พักอาศัยในภูมิลำเนาอื่น ไม่ควรเกิน 3 เดือนต่อ 1 ปี

ข. เสียชีวิตจากอุบัติเหตุ ลักษณะของอุบัติเหตุอาจเกิดจาก รถชน ตกจากที่สูง ถูกยิง แทง หรือ ถูกทำร้ายร่างกายด้วยวิธีอื่นๆ ไม่รวมกรณีที่เสียชีวิตจากอุบัติเหตุ ไฟไหม้ น้ำร้อนลวก จมน้ำ และ การแขวนคอ

พยอม ผลกล้า สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ค. ผู้ป่วยแข็งแรงดี ไม่มีโรคประจำตัวอะไรอยู่เดิม ประวัติในส่วนนี้ได้รับจาก ญาติผู้ใกล้ชิด และจากการชันสูตรพลิกศพ กล่าวคือ ผลการตรวจทางพยาธิวิทยาจากภายนอก และ ภายใน (ได้แก่ หัวใจ ปอด ตับ เป็นต้น) ไม่พบความผิดปกติที่ชี้บ่งว่าน่าจะมีโรคประจำตัวอยู่เดิม

ง. ระยะเวลานับแต่เกิดอุบัติเหตุจนเสียชีวิตไม่เกิน 24 ชั่วโมง ระยะเวลานับแต่เสียชีวิตจนถึงห้องเย็นไม่เกิน 12 ชั่วโมง และ ระยะเวลาในการแช่เย็นไม่เกิน 72 ชั่วโมง ตามลำดับ กรณีไม่ทราบระยะเวลาที่เริ่มเกิดอุบัติเหตุ หรือ เสียชีวิต ที่แน่นอน (กรณีนี้ต้องเป็นกรณีเสียชีวิตนอกโรงพยาบาล) สภาพของศพจากการตรวจจะต้องเสียชีวิตน้อยกว่า 12 ชั่วโมง และสภาพของศพไม่เน่า ทั้งนี้ให้เป็นความเห็นของแพทย์ทางนิติเวช กรณีไม่มีตู้แช่เย็นสำหรับเก็บพักศพ ระยะเวลาที่เสียชีวิต จนกระทั่งตรวจศพ ไม่ควรเกิน 12 ชั่วโมง

3. เกณฑ์การคัดตัวอย่างออก (Exclusion criteria)

ก. ชนิดของอุบัติเหตุที่ได้รับไม่ชัดเจนว่าเกิดจากอะไร หรือ บริเวณของร่างกายที่ได้รับอุบัติเหตุอยู่ใกล้เคียง กับ specimen (กล้ามเนื้อ pectoralis major และ ไต) ที่จะนำไปตรวจ เป็นผลทำให้ไม่มี specimen ปกติที่จะนำไปตรวจได้

ข. พยาธิแพทย์มีความเห็นว่าเสียชีวิตมานานกว่า 12 ชั่วโมง หรือสภาพศพเน่า

4. จำนวนตัวอย่าง (Sample size)

เนื่องจากไม่ทราบความชุกของประชากรดังกล่าว จึงคาดว่าน่าจะใช้จำนวนตัวอย่างประมาณ กลุ่มละ 30 ราย โดยคาดหวังว่าจะมีตัวอย่าง 5 ตัวอย่างซึ่งมีความผิดปกติสามารถนำมาศึกษาและวิเคราะห์ผลได้

**จ. วิธีดำเนินการ (Methods)**

การเก็บชิ้นเนื้อ (specimen):

<u>กล้ามเนื้อ</u> คัดเลือกจาก Pectoralis major muscle (เนื่องจากการชำแหละพลิกศพจะต้องผ่าเปิดผนังหน้าอก ดังนั้นการเลือกกล้ามเนื้อชุดนี้จึงมีความสะดวกและเหมาะสม) จะเลือกกล้ามเนื้อ จำนวนหนึ่งชิ้น ขนาด 0.5 x 1.0 นิ้ว โดยไม่ให้มีไขมัน เส้นเอ็น หรือเนื้อเยื่ออื่นๆ ปะปน ทำการซับเลือดที่ปรากฏบนผิวของกล้ามเนื้อ จากนั้นจะนำมาแช่เย็นในอุณหภูมิ -20°C เพื่อรอทำการหาค่า electrolyte ในขั้นตอนต่อไป (ดูรูป 3.1)

<u>ไต</u> คัดเลือกมาหนึ่งข้าง เลาะเนื้อเยื่อที่หุ้มโดยรอบ แบ่งเนื้อไตเป็นแว่น ตามแนวยาว มีความหนาประมาณ 0.5 ซม. จำนวน 2 ชิ้น ชิ้นแรกเมื่อทำการซับเลือดที่

ปรากฏอยู่ในบริเวณผิวเนื้อไตแล้วจึงนำไปแช่เย็นในอุณหภูมิ -20°C เพื่อรอทำการหาค่า electrolyte (ดูรูป 3.1) ชิ้นที่สอง นำไปแช่ในน้ำยา neutral buffer formalin (NBF) เพื่อรอตรวจทางพยาธิวิทยา ในขั้นตอนต่อไป (ดูรูป 3.2)

ชิ้นเนื้อที่รวบรวมได้ที่ ร.พ. ศรีนครินทร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จะทยอยส่งมายังผู้ทำการวิจัย ชิ้นเนื้อที่ต้องแช่เย็นก็ยังคงได้รับความเย็นอยู่ตลอดในระหว่างการขนส่ง ส่วนชิ้นเนื้อที่รวบรวมได้จาก ร.พ.จุฬาฯ และ ร.พ.ตำรวจ จะถูกส่งมายังผู้วิจัยภายในวันเดียวกันกับที่ได้รับชิ้นเนื้อ ชิ้นเนื้อทั้งหมดจะถูกเก็บในห้องปฏิบัติการของหน่วยไต ร.พ.จุฬาฯ และทยอยทำการตรวจเป็นระยะๆ

**ฉ. วิธีการวัดผล (Outcome measurement)**

การวัดค่า electrolyte ในกล้ามเนื้อ และ เนื้อไต ทำการวัดด้วยวิธี acid digestion technique (ดูรูป 3.3) ดังนี้

1. แบ่งชิ้นเนื้อจากกล้ามเนื้อจำนวน 3 ชิ้น โดยเลือกส่วนของกล้ามเนื้อที่อยู่ลึกลงไปจากผิว (เพื่อลดการปนเปื้อนของเลือดที่อาจมีอยู่) ให้ได้ชิ้นละประมาณ 100 mg กรณีที่เป็นเนื้อไต จะเลือกจาก middle pole ยาวตั้งแต่ cortex จนถึง medulla จำนวน 2 ชิ้น หนักชิ้นละประมาณ 100 mg เช่นเดียวกัน

2. นำชิ้นเนื้อไปทำให้แห้งใน hot air oven (Electronic hot pack) ด้วยอุณหภูมิประมาณ 80°C นานประมาณ 24 ชั่วโมง เมื่อชิ้นเนื้อแห้งดีแล้ว จะนำมาทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้องเพื่อทำให้เย็นลง หลังจากนั้นจะนำมาชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่ง (Electronic balance) น้ำหนักที่วัดได้เรียกว่าน้ำหนักแห้ง( Dry weight: dW) โดยจะทำการตัดแบ่งชิ้นเนื้อให้ได้น้ำหนักชิ้นละประมาณ 15 -30 mg

3. นำชิ้นเนื้อในข้อ 2. มาใส่ใน test tube ที่แห้งและสะอาดขนาด 10 ซี.ซี. ใส่กรด conc.HCL ปริมาณ 1.5 cc. และ กรด conc.$HNO_3$: $N_2SO_4$ (2:1) ปริมาณ 0.1 cc. จากนั้นนำไป incubate ในทรายที่มีอุณหภูมิ ประมาณ มากกว่า 100 °C จนกระทั่งชิ้นเนื้อละลายหมด โดยปกติจะใช้เวลาประมาณ 12-24 ชั่วโมง จากนั้นจะนำมาทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้องเพื่อทำให้เย็นลงอีกครั้งหนึ่ง

4. เติมน้ำกลั่น (distilled water) เพื่อทำให้ปริมาณโดยรวมเท่ากับ 1.5 cc. (test tube ได้ถูก calibrate ด้วยน้ำกลั่นปริมาณ 1.5 cc. ในก่อนหน้านี้แล้ว)

5. นำ test tube ซึ่งบรรจุชิ้นเนื้อที่ย่อยละลายแล้ว พร้อมกับ control ไปหา ค่า electrolyte : sodium (Na) potassium (K) ด้วยเครื่อง atomic absorption spectrophotometer วัดค่าที่ได้เป็น mmol/L

6. นำค่า electrolyte (ที่ได้รับการแก้ไขค่าตาม control ) น้ำหนักแห้ง และ ปริมาตรของชิ้นเนื้อ (1.5 cc.) มาหาค่า electrolyte content มีหน่วยเป็น mmol/kg. dryweight ตามสูตรดังนี้ Electrolyte content (mmol/kg.dw.) = Electrolyte concentration (mmol/L) x 1.5 (cc.) x 1000 / dry weight (ม.ก.)

กล้ามเนื้อและเนื้อไตจำนวน 3 และ 2 ชิ้นตามลำดับ จะถูกวัดและนำมาหาเป็นค่าเฉลี่ยสำหรับชิ้นเนื้อนั้นๆ

ในขั้นตอนนี้ทำโดยผู้วิจัย เฉพาะการตรวจ electrolyte ในชิ้นเนื้อที่ย่อยเรียบร้อยแล้วจะทำโดยเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ซึ่งไม่ทราบว่า ชิ้นเนื้อใด เป็นของกลุ่มใด

การวัดการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาของเนื้อไต

1. ทำการเลือกส่วนของเนื้อไตจาก upper, middle, และ lower pole รวมทั้งบริเวณที่เห็นว่ามีความผิดปกติ อย่างละ 1 ชิ้น มาดำเนินตามขั้นตอนเพื่อตรวจวินิจฉัยทาง light microscope

2. พยาธิแพทย์จะทำการตรวจการเปลี่ยนแปลงทาง light microscope จะดูการเปลี่ยนแปลงของ glomerulus, tubule. interstitium ดูการเปลี่ยนแปลงในลักษณะทั้ง focal และ diffuse จะเน้นการตรวจหาเม็ดเลือดขาว fibroblast และ การเพิ่มขึ้นของ extracellular matrix ในบริเวณ interstitium โดยจะวัดเป็น semiquatitative ด้วยการ grading ให้คะแนน 0-3 ตามความรุนแรงของการพบพยาธิสภาพ grade 0 คือ ไม่พบการเปลี่ยนแปลง grade 3 คือพบการเปลี่ยนแปลงอย่างมาก และ grade 1-2 คือพบการเปลี่ยนแปลงในระหว่าง grade 0 ถึง 3

ในขั้นตอนนี้ ทำโดยพยาธิแพทย์ โดยไม่ทราบว่า ชิ้นเนื้อใดอยู่ในกลุ่มใด

**ช. การรวบรวมข้อมูล (Data collection)**

ข้อมูลในส่วนของประวัติและรายละเอียดของผู้เสียชีวิตจะถูกแยกบันทึกโดยแพทย์ผู้ร่วมงานวิจัยหรือผู้ช่วยในแผนกนิติเวช แล้วส่งกลับมายังผู้วิจัยเพื่อตรวจสอบว่าเข้า criteria ทั้ง inclusion และ exclusion criteria หรือไม่ ก่อนที่จะดำเนินการวัดผลของชิ้นเนื้อดังในหัวข้อ จ.

และ ฉ. เมื่อผ่านการวัดผลตามข้อ ฉ. แล้ว ผลของข้อมูลทั้งหมดจะรวบรวมไว้ใน computer เพื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลในขั้นตอนต่อไป

**ช.การวิเคราะห์ข้อมูล (Data analysis)**

วัดค่าทางสถิติ เป็น Mean และ SEM. (standard error of mean) วัดความแตกต่างระหว่างกลุ่มด้วย unpaired t-test และ ANOVA (analysis of variance), วัด simple linear correlation ด้วยค่า correlation coefficient (r), การพิสูจน์สมมติฐานระหว่าง potassium depletion และ tubulointerstitial nephritis พิสูจน์ด้วยสถิติ fisher's exact test และ chi-square test กำหนดความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (statistical significant) ด้วยค่า P value น้อยกว่า หรือ เท่ากับ 0.05

## ข้อจำกัดในการวิจัย และแนวทางแก้ไข

เนื่องจากงานวิจัยนี้ทำในผู้ที่เสียชีวิต ดังนั้นจึงมีข้อจำกัดหลายอย่างเกิดขึ้น แต่สามารถอธิบายและดำเนินการแก้ไขได้ดังต่อไปนี้

ก. ประชากรตัวอย่างจากผู้เสียชีวิตมีร่างกายปกติแข็งแรง (healthy) และเป็นตัวแทนที่ดีของประชากรในภูมิภาคนั้น จริงหรือไม่ ? (ดูรูป 3.4)

การเสียชีวิตมีได้หลายสาเหตุ เนื่องจากต้องการเฉพาะผู้ที่มีร่างกายปกติแข็งแรงก่อนการเสียชีวิต ดังนั้นผู้วิจัยจึงทำการคัดเลือกเฉพาะการเสียชีวิตจากอุบัติเหตุ นอกจากชนิดของการเสียชีวิตยังได้ใช้การตรวจทางนิติเวชร่วมกับประวัติการเจ็บป่วยในอดีตจากญาติผู้ใกล้ชิดในการตัดสิน แน่นอนที่สุด กลุ่มผู้เสียชีวิตน่าจะเป็นแค่ตัวแทนของผู้ใช้รถใช้ถนนและอยู่ในความประมาท (ในกรณีที่เสียชีวิตจากอุบัติเหตุ) มากกว่าจะเป็นตัวแทนของประชากรทั้งหมด แต่ก็คงเป็นที่ยอมรับว่า ในปัจจุบันประชากรส่วนใหญ่มักจะเดินทางด้วยยานพาหนะ ดังนั้น ผู้เสียชีวิตในกลุ่มดังกล่าวน่าที่จะใช้เป็นตัวแทนของประชากรในพื้นที่ดังกล่าวได้

ข. การเสียชีวิตจากอุบัติเหตุจะมีผลต่อการวัดผลของการวิจัยหรือไม่ ?

เนื่องจาก ผู้วิจัยได้หลีกเลี่ยงการจัดเก็บชิ้นเนื้อซึ่งอยู่ในบริเวณเดียวกับบริเวณที่ได้รับการบาดเจ็บ และ exclude ลักษณะของการเกิดอุบัติเหตุบางอย่างออกไป เช่น ไฟไหม้ น้ำร้อนลวก หรือ จมน้ำ ซึ่งสิ่งเหล่านี้จะมีผลต่อการศึกษาระดับของ electrolyte ในกล้ามเนื้อ ดังนั้นลักษณะของอุบัติเหตุจึงไม่มีผลต่อการวัดผลการวิจัย

ค.การเปลี่ยนแปลงก่อนการเสียชีวิต (antimortem change) หมายถึงการเปลี่ยนแปลงที่เกิดตั้งแต่ได้รับอุบัติเหตุจนเสียชีวิต มีผลต่อการวัดผลการวิจัยหรือไม่ ? (ดูรูป 3.5)

อาจแบ่งการเสียชีวิตได้เป็น 2 ลักษณะ คือ **ลักษณะแรก** การเสียชีวิตก่อนมาถึง ร.พ. ในระยะนี้ผู้ป่วยจะไม่ได้รับหรือมีการสูญเสีย potassium เข้าหรือออกจากร่างกาย ดังนั้นปริมาณของ potassium จึงยังมีปริมาณเท่าเดิม แต่อาจจะมีปัจจัยอีก 2 อย่างที่ทำให้เกิดภาวะ redistribution ของ potassium ออกจากเซลล์ ได้แก่ 1. ภาวะ acidosis และ 2. ภาวะ rhabdomyolysis เนื่องจากว่า ภาวะ acidosis มักเป็น lactic acidosis ซึ่งได้รับการพิสูจน์ว่า มีผลน้อยมากต่อการ shift ของ potassium ออกจากเซลล์ [22] และ rhabdomyolysis มักเป็นเฉพาะที่ ร่วมกับการที่ผู้วิจัยคัดเลือกเฉพาะบริเวณที่ไม่ได้รับการบาดเจ็บ ดังนั้น ปริมาณของ potassium ในกล้ามเนื้อที่วัดได้ น่าจะเป็นตัวแทนของ potassium ในกล้ามเนื้อก่อนได้รับอุบัติเหตุ **ลักษณะที่สอง** การเสียชีวิตภายใน ร.พ. ในกรณีนี้จะทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของ TBK (total body potassium) ซึ่งขึ้นอยู่กับระยะเวลาของการเจ็บป่วย การได้รับ potassium ทางปาก หรือทางเส้นเลือด และการสูญเสีย potassium ไปในทางปัสสาวะอันสืบเนื่องมาจาก การได้รับยาขับปัสสาวะ หรือ ยาชนิดอื่นๆ ที่มีผลต่อการทำงานของไต เนื่องจากผู้วิจัยได้กำหนดระยะเวลาตั้งแต่เกิดอุบัติเหตุจนกระทั่งเสียชีวิต ใช้เวลาไม่เกินกว่า 24 ชั่วโมง และ โดยทั่วไปการรักษาภาวะอุบัติเหตุ มักจะไม่ให้ potassium ทดแทน ภายใน 1-3 วันแรก แม้จะมีการใช้ยาขับปัสสาวะ หรือยาอื่นๆ ร่วมด้วย แต่คาดว่า ในระยะเวลาอันสั้น ไม่สามารถทำให้เกิดการสูญเสีย potassium จากร่างกายได้มาก โดยสรุป ปริมาณของ potassium ในกล้ามเนื้อที่วัดได้ น่าจะเป็นตัวแทนของ potassium ในกล้ามเนื้อก่อนได้รับอุบัติเหตุ การเปลี่ยนแปลงของ sodium ก็เป็นไปในทำนองคล้ายกัน แต่จะได้รับการกระทบมากกว่า potassium เนื่องจาก sodium ดำรงอยู่ในปริมาณมากภายนอกเซลล์

การเปลี่ยนต่อพยาธิสภาพของเนื้อไต

สิ่งที่หลีกเลี่ยงไม่ได้ก็คือการเกิด acute tubular necrosis (ATN) การเปลี่ยนแปลงนี้ แต่การเปลี่ยนแปลงนี้ไม่มีผลต่อการตรวจหา CTIN ยาต่างๆ ที่ได้รับภายใน ร.พ. แม้ว่าจะมีโอกาสทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ interstitium แต่ระยะเวลาในการได้รับยาสั้นเกินไปกว่าที่จะเห็นผลดังกล่าว (งานวิจัยนี้จำกัดเวลา น้อยกว่า 24 ชั่วโมง) ดังนั้น การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นที่ interstitium ย่อมหมายถึงการเปลี่ยนแปลงในบริเวณเดียวกันก่อนได้รับอุบัติเหตุ

ง. การเปลี่ยนแปลงภายหลังจากเสียชีวิต (postmortem change) (ดูรูป 3.6)

การเปลี่ยนแปลงต่อ electrolyte ในกล้ามเนื้อ

เมื่อเริ่มเสียชีวิต แหล่งของพลังงานต่างๆ ภายในเซลล์จะหายไป เซลล์ membrane จึงไม่สามารถดำรงความแตกต่างระหว่าง electrolyte ภายใน และ ภายนอกเซลล์ได้ ดังนั้น potassium ซึ่งมีอยู่มากภายในเซลล์ จะออกมานอกเซลล์ sodium ซึ่งมีอยู่มากภายในของเหลวระหว่างเซลล์จะเคลื่อนตัวเข้ามาภายในเซลล์ จนถึงจุดสมดุลย์ โดยปกติถ้าเกิดเหตุการณ์ดังกล่าวในขณะที่ยังมีชีวิตอยู่ เลือดที่มาหล่อเลี้ยงจะนำ potassium ออกจากบริเวณนี้ และนำ sodium มาเสริมแทนปริมาณของ sodium ที่หายเข้าเซลล์ แต่ในขณะที่เสียชีวิต การหมุนเวียนของระบบโลหิตจะหยุดชะงักไปด้วย จึงทำให้ ปริมาณโดยรวมของ electrolyte ในบริเวณดังกล่าวไม่เปลี่ยนแปลง กล่าวคือ ปริมาณโดยรวมของ potassium ทั้งภายในและภายนอกเซลล์ยังคงมีปริมาณเท่าเดิม เท่ากับ ปริมาณโดยรวมก่อนเสียชีวิต ในทำนองเดียวกันกับ sodium และเนื่องจากการวัด electrolyte content เป็นการวัดปริมาณโดยรวม กล่าวคือ วัดทั้งภายใน และ ภายนอกเซลล์ ดังนั้น ค่า electrolyte content ของกล้ามเนื้อ ภายหลังการเสียชีวิต จึงมีค่าไม่ต่างจากค่าก่อนเสียชีวิต ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวต่างจากการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นภายในเม็ดโลหิต เนื่องจากเม็ดโลหิตสัมผัสกับเลือดอยู่ตลอดเวลา ดังนั้นปริมาณของ potassium ในเลือดจึงสูงขึ้นเรื่อยๆ ตามเวลาที่ผ่านไป ซึ่งจุดนี้ได้มีการใช้ระดับของ potassium ในเลือด และในเม็ดเลือดมาประมาณระยะเวลาการเสียชีวิต [40]

ผู้วิจัยได้ทำ preliminary study (ดูรูป 3.7-3.8) เกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงของ electrolyte content ในกล้ามเนื้อภายหลังการเสียชีวิต โดยใช้ model จากกล้ามเนื้อในห้องผ่าตัด ด้วยการนำชิ้นกล้ามเนื้อที่ได้จากห้องผ่าตัดจำนวน 7 ชิ้น มาศึกษา แต่ละชิ้น จะถูกแบ่งเป็น 3 ชิ้นย่อย ชิ้นแรกดำเนินขั้นตอนในการวัด electrolyte content ทันที ชิ้นที่สองเก็บไว้ในอุณหภูมิห้อง และ ชิ้นที่สามแช่เย็นในอุณหภูมิ -20°C นาน 24 ชั่วโมง แล้วจึงทำการวัด electrolyte content ในกล้ามเนื้อเหล่านี้ พบว่า ปริมาณของ sodium และ potassium ในกล้ามเนื้อทั้งสามชิ้น ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ผู้วิจัยจึงเลือกระยะเวลา 12 ชั่วโมงเป็นระยะเวลาในการเสียชีวิตจนกระทั่งได้รับการชันสูตรพลิกศพ (ในกรณีที่ไม่ได้รับการแช่เย็น) แม้ว่าจะไม่ได้ศึกษาถึงการแช่เย็นที่ใช้เวลานานกว่า 24 ชั่วโมง (ในที่นี้กำหนดระยะเวลาแช่เย็นศพไว้ 72 ชั่วโมง) ผู้วิจัยก็ขออนุมาน (จากเหตุผลดังกล่าวในเบื้องต้น) ว่าค่า electrolyte content ที่วัดได้จะไม่เปลี่ยนแปลงจากเดิม ทั้งนี้เนื่องจากว่า ประชากรตัวอย่างอาจจะเสียชีวิตในวันหยุดราชการและจำเป็นต้องทำการแช่เย็นศพ มากกว่า 24 ชั่วโมง

การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อไต

โดยทั่วไป พยาธิแพทย์สามารถแยกความแตกต่างของการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นภายในเนื้อไต ระหว่าง ระยะ antimortem และ postmortem ได้ ถ้ามีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นในบริเวณ interstitium จริง การเปลี่ยนแปลงนี้จะยังคงปรากฏให้เห็นผลต่อการเปลี่ยนแปลงในสิ่งที่เกิดขึ้นก่อนเสียชีวิตในเนื้อไตแบ่งเป็นสองระยะ ระยะแรก คือระยะก่อนการจัดเก็บชิ้นเนื้อ (preserve specimen) ในระยะนี้ถ้าระยะเวลาไม่นาน การเปลี่ยนแปลงจะยังคงมีไม่มาก ระยะที่สองได้แก่ ระยะหลังจาก preserve specimen พบว่าถ้ามีการจัดเก็บในน้ำยารักษาสภาพของเนื้อเยื่ออย่างถูกวิธี ก็จะสามารถชลอการตรวจทางพยาธิออกไปได้

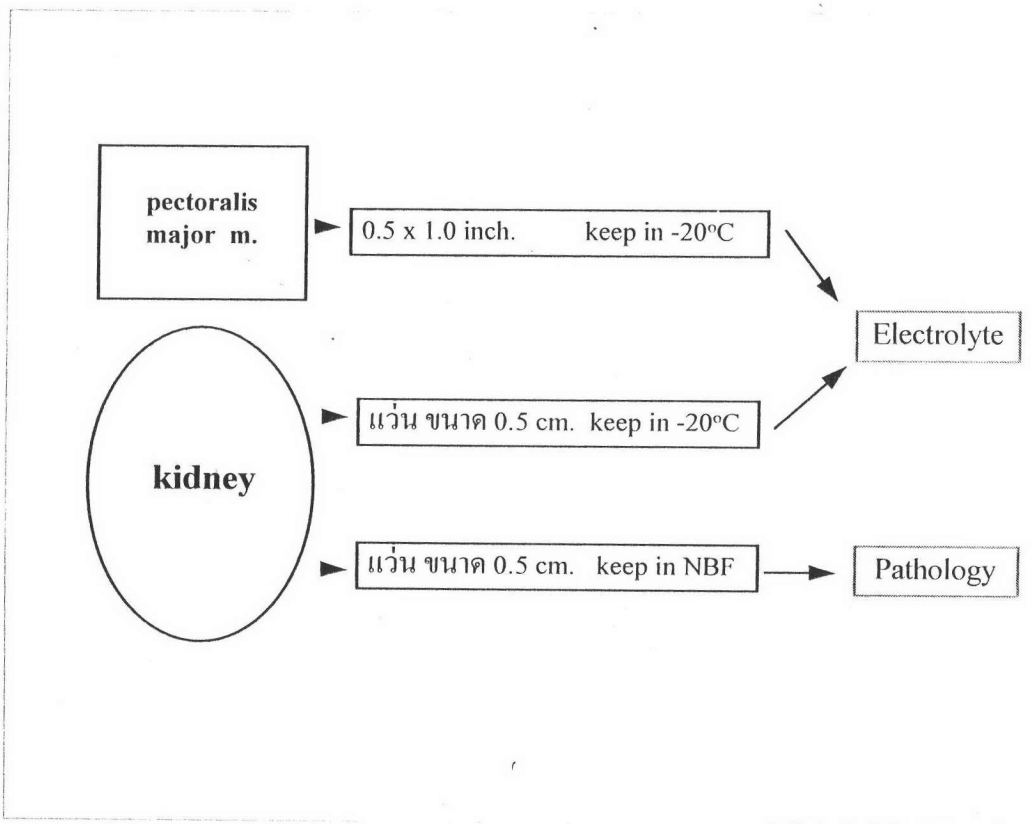
จ. ปัจจัยเกี่ยวกับตัวกวน (Confounding factor)

มีปัจจัยหลายอย่างที่อาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงชนิด CTIN เช่น ยาแก้ปวดต่างๆ โรคติดเชื้อ สารพิษ การอุดตันของทางเดินปัสสาวะ เป็นต้น ผู้วิจัยได้ตระหนักถึงปัจจัยที่กล่าวมาดังกล่าว จึงพยายามที่จะลด ปัจจัยดังกล่าวลงให้มากที่สุด เช่น การสอบถามประวัติการใช้ยาแก้ปวดของผู้เสียชีวิตจากญาติสนิท เป็นต้น

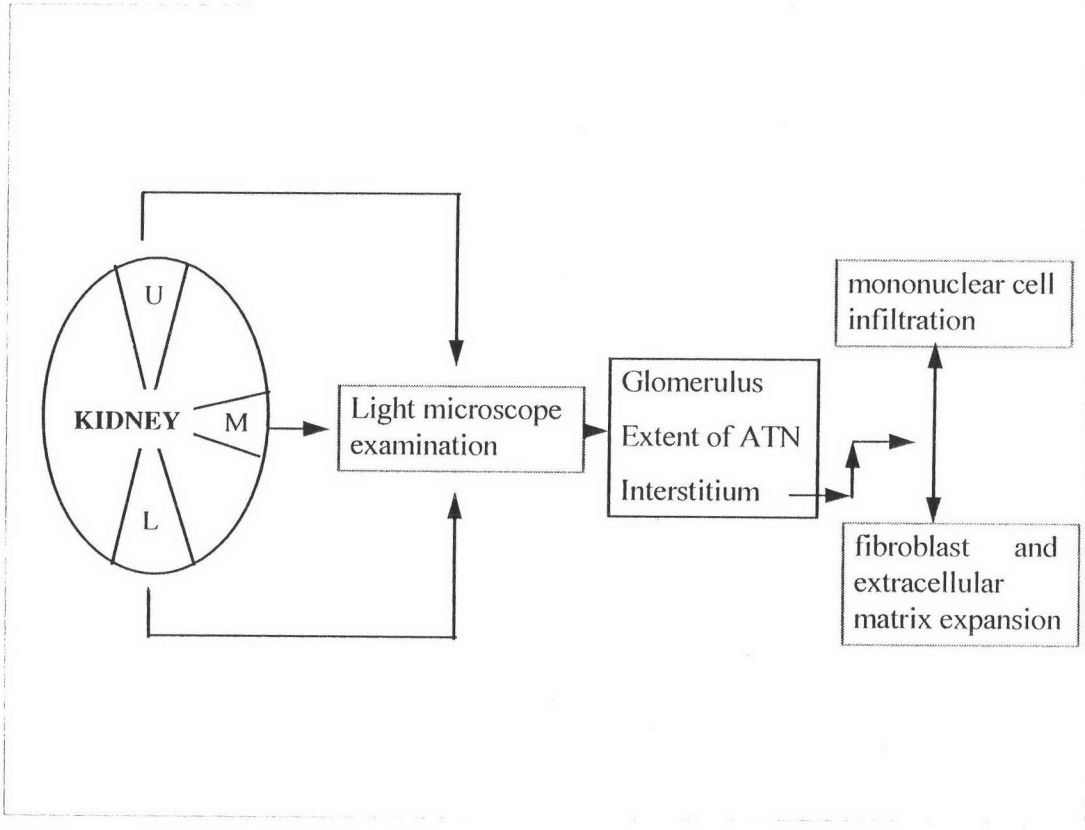
สุดท้าย งานวิจัยนี้ มีลักษณะของการ Design เป็น crossectional analytic study ดังนั้นจึงเป็นการบ่งถึง association เท่านั้น และ อาจจะเป็นได้ทั้ง direct หรือ indirect association ไม่อาจที่จะยืนยันในเรื่องของ cause และ effect ได้โดยตรง

## ปัญหาทางจริยธรรม

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาในคนที่เสียชีวิตซึ่งต้องได้รับการชันสูตรพลิกศพตามกฎหมายจึงไม่ขัดต่อจริยธรรมทางการแพทย์ อย่างไรก็ตาม งานวิจัยนี้ได้ผ่านการตรวจสอบทางจริยธรรมเป็นที่เรียบร้อยจาก คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมของคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

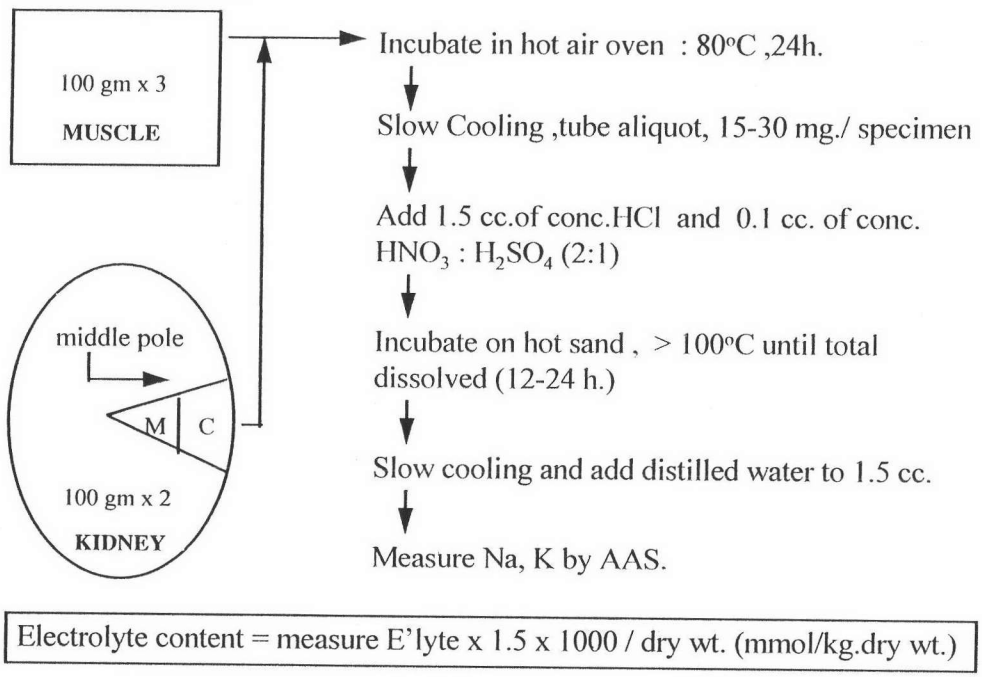



**รูป 3.1 แสดงขั้นตอนการตรวจ electrolyte ในกล้ามเนื้อ และ เนื้อไต**

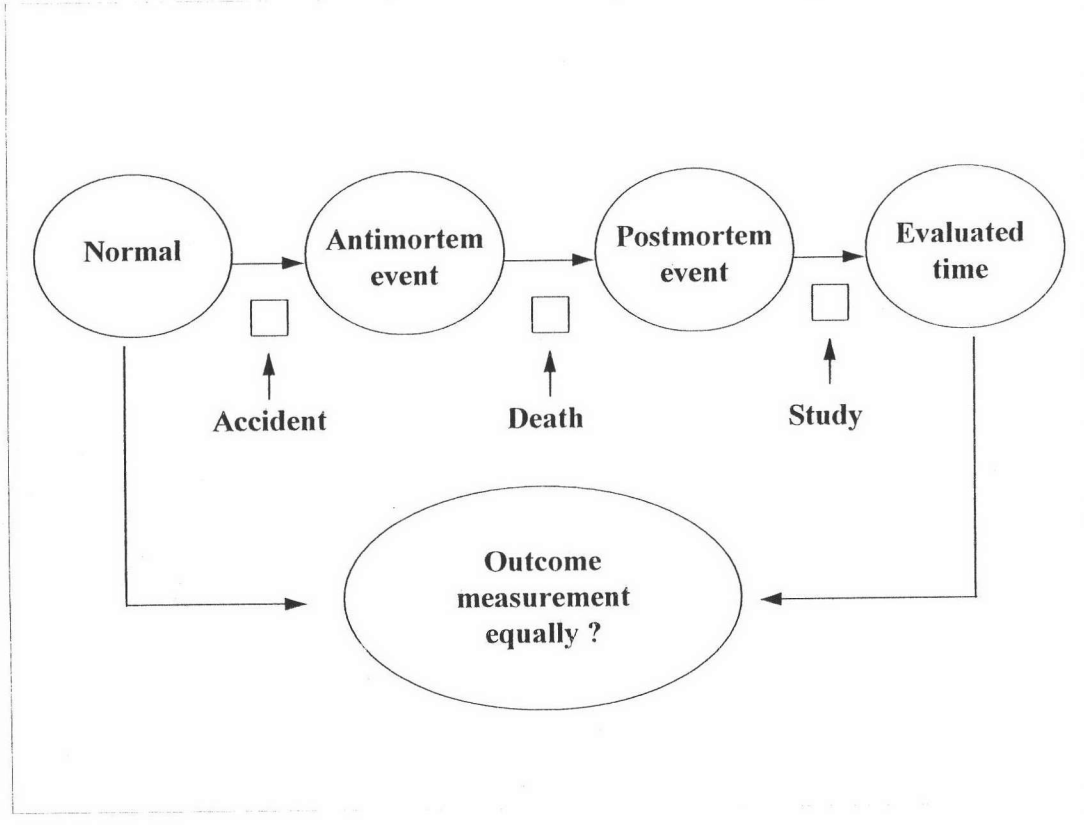



**รูป 3.2 แสดงขั้นตอนการตรวจพยาธิวิทยา (pathology) ของเนื้อไต**

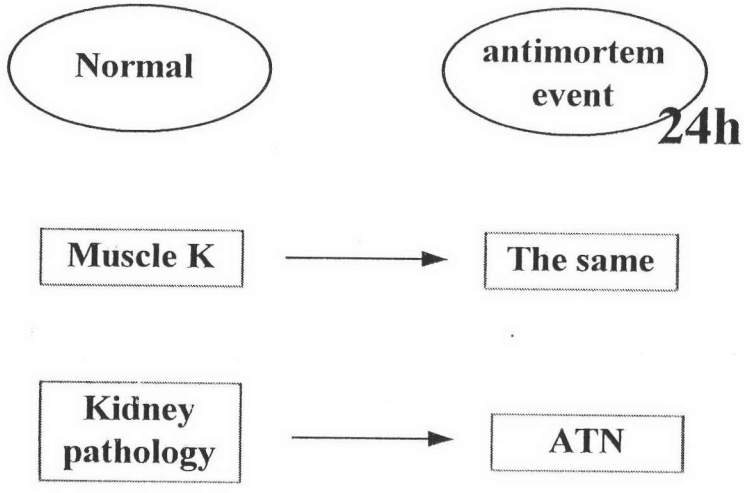
**(U, M, L= upper, middle, lower pole ของไต )**



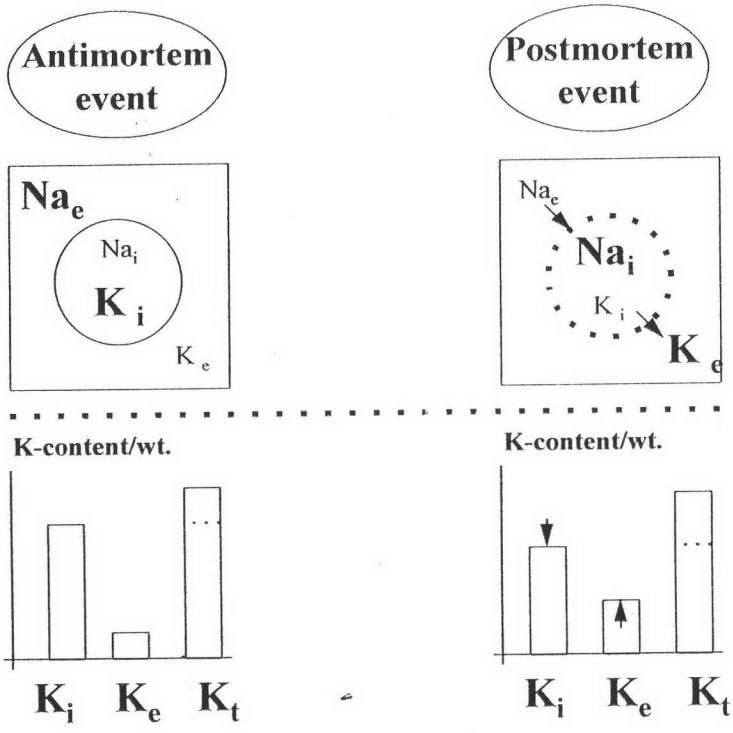

**รูป 3.3** แสดงรายละเอียดของการตรวจ **electrolyte** ในกล้ามเนื้อและเนื้อไต



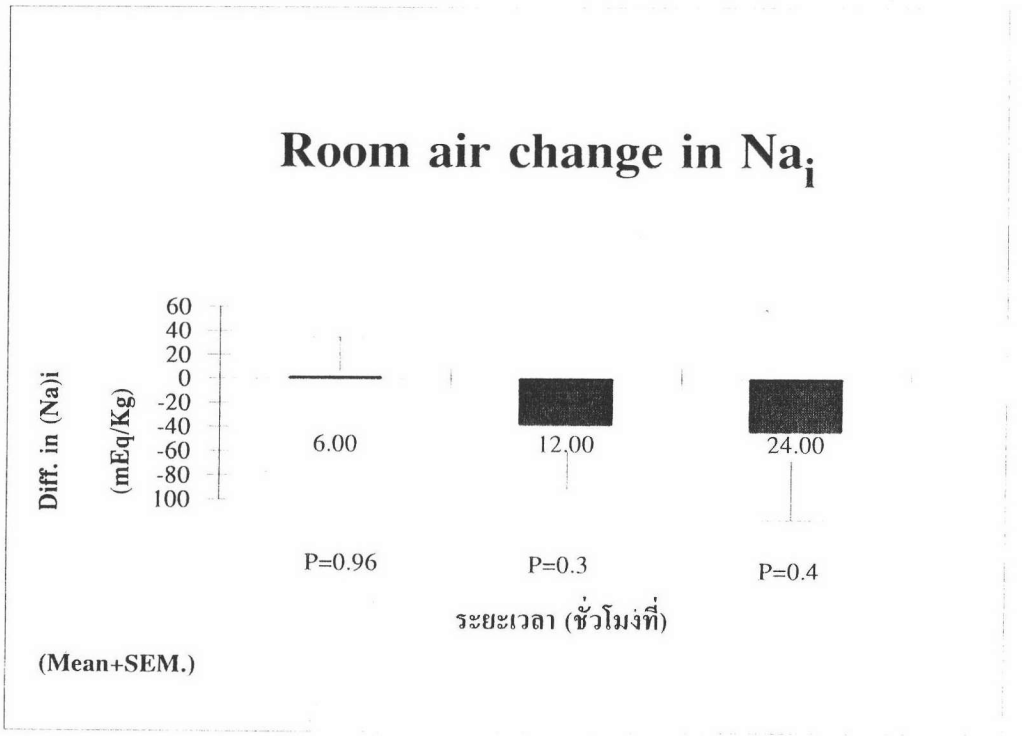

รูป 3.4 แสดง นวภาพ ของ ลำดับการเปลี่ยนแปลง ตั้งแต่ ก่อนได้รับอุบัติเหตุจนกระทั่งได้รับการศึกษาวิจัย

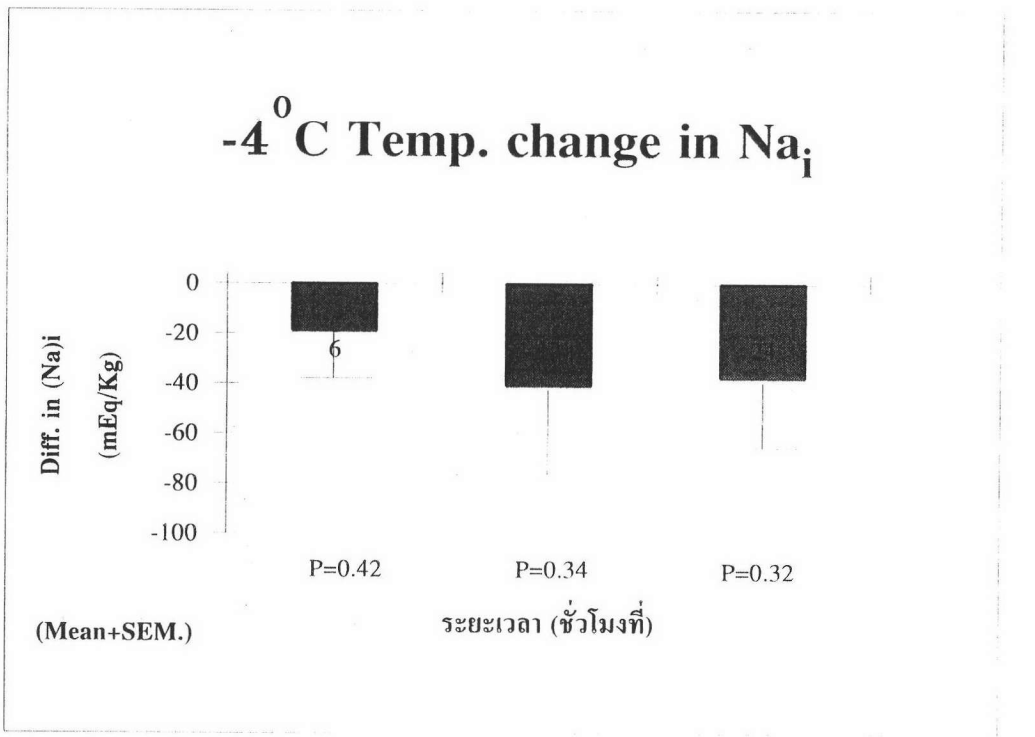



รูป 3.5 แสดง outcome ในระยะ ก่อนได้รับอุบัติเหตุ และ ระยะ antimortem



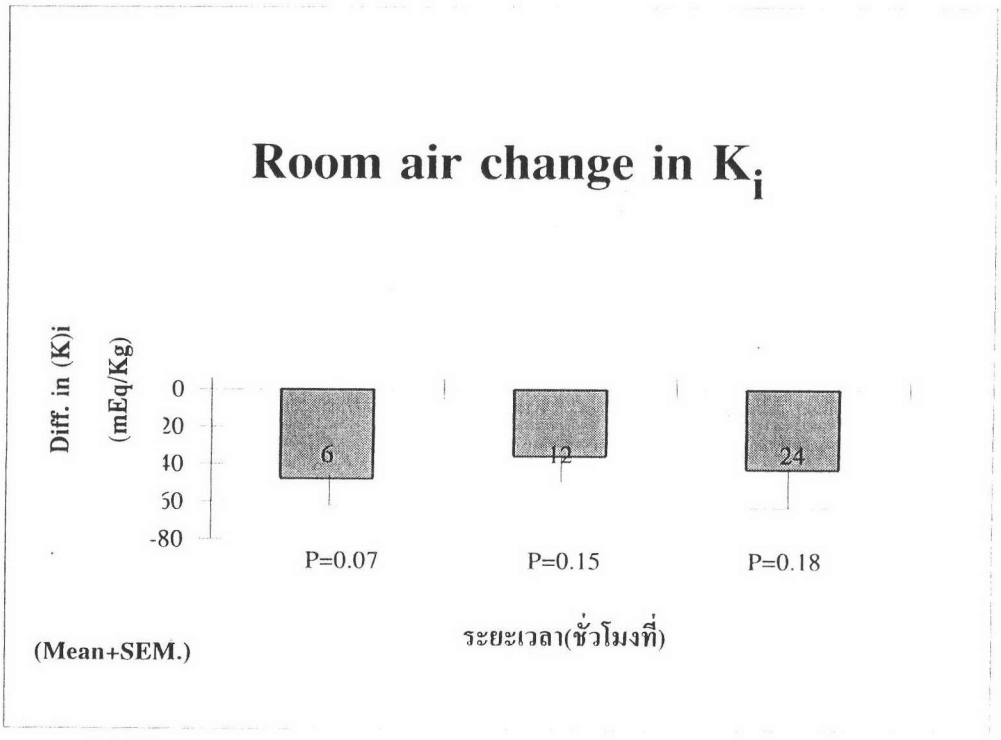

**รูป 3.6 แสดง electrolyte content ของกล้ามเนื้อ ในระยะantimortem และ postmortem (รายละเอียด ดูใน บทความ)**

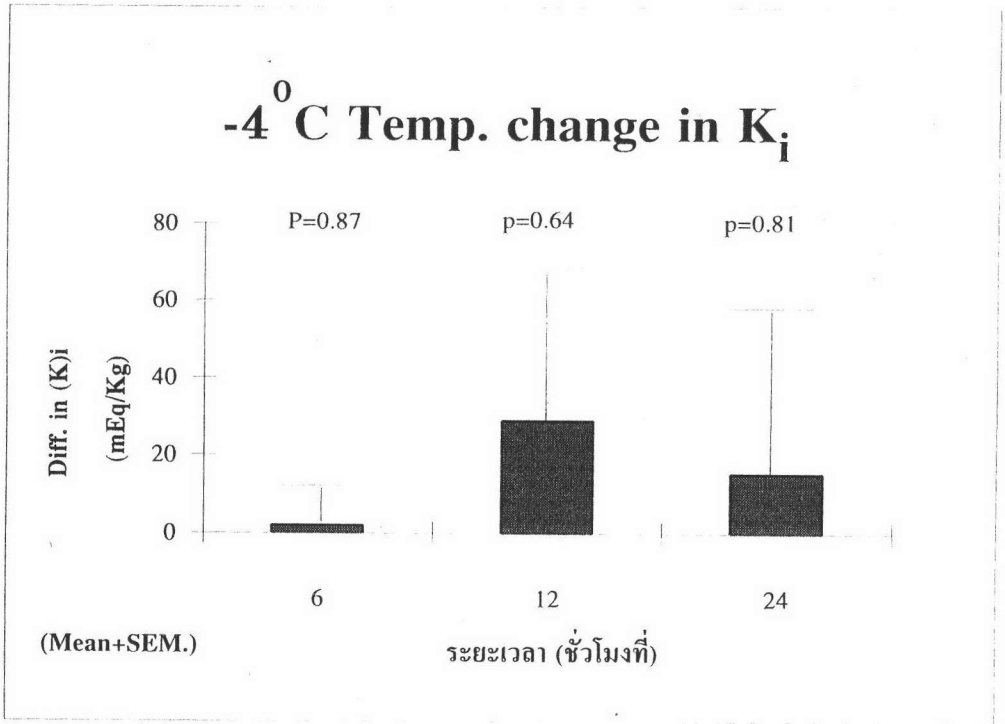



**รูป 3.7 แสดง การเปลี่ยนแปลง ของ Na content ของกล้ามเนื้อที่ทิ้งไว้ใน อุณหภูมิห้อง และ -4°C ในเวลา 6 , 12 , และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ (รายละเอียด ดูในบทความ)**

I 17057620




**รูป 3.8 แสดง การเปลี่ยนแปลง ของ K content ของกล้ามเนื้อที่ทิ้งไว้ใน อุณหภูมิห้อง และ -4°C ในเวลา 6 , 12 , และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ (รายละเอียด ดูในบทความ)**