



## บทที่ 4

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### 4.1 รูปแบบการวิจัย (Research method)

เป็นการศึกษาเชิงวิเคราะห์ ณ จุดเวลาใดเวลาหนึ่ง (Cross-sectional analytic study)

#### 4.2 ระเบียบวิธีวิจัย (Research methodology)

##### 4.2.1 ประชากรที่ศึกษา (Population)

##### ประชากรเป้าหมาย (Target population)

ประชากรคนไทยที่มีอายุมากกว่า 20 ปีโดยแบ่งเป็น 3 กลุ่มตามระดับ HDL-C ในเลือด คือ ระดับ HDL-C มากกว่าหรือเท่ากับ 100 มก./ดล., 65 – 99 มก./ดล. และ 36 – 64 มก./ดล.

##### ประชากรที่ใช้ในการศึกษา (Study population) และการคัดเลือกผู้เข้าร่วมการวิจัย

ประชากรเป้าหมายทุกคนที่ยินดีเข้าร่วมโครงการหลังจากได้รับคำอธิบายรายละเอียดของโครงการแล้ว (consecutive sampling) โดยทั้งหมดจะเป็นผู้ป่วยนอกของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

##### 4.2.2 กฎเกณฑ์การคัดเลือกเข้ามาศึกษา (Inclusion criteria)

กลุ่มผู้ที่มาตรวจที่แผนกผู้ป่วยนอกโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ (Case) ซึ่ง

1. อายุมากกว่า 20 ปี ไม่จำกัดเพศ
2. ได้รับการตรวจระดับไขมันในเลือดชนิด HDL-C โดยตรวจเลือดอย่างน้อย 2 ครั้ง
3. มีเส้นรอบเอวในผู้หญิงน้อยกว่า 32 นิ้ว และ ในผู้ชายน้อยกว่า 36 นิ้ว
4. มีดัชนีมวลกายอยู่ในช่วง 18 – 23 กิโลกรัม/เมตร<sup>2</sup> [71]

##### 4.2.3 กฎเกณฑ์การตัดออกจากการศึกษา (Exclusion criteria)

กลุ่มผู้ที่จะเข้าร่วมการวิจัยจะต้องไม่มีลักษณะที่มีผลต่อภาวะดีต่อฮอร์โมนอินซูลินซึ่งเข้า  
ได้กับข้อใดข้อหนึ่งต่อไปนี้

1. มีประวัติดื่มสุราหรือเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์มากกว่า 0.5 กรัม ต่อน้ำหนักตัว(กิโลกรัม)

ต่อวันในช่วง 3 เดือน ก่อนเข้าการวิจัย

[ปริมาณสูงสุดของเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ (ซีซีต่อวัน) =  $(100 \times 0.5 \times BW) / (\text{degree} \times 0.8)$  ; BW = น้ำหนักตัว(Kg) ; degree = ปริมาณดีกรีตามชนิดของเหล้า เช่น ถ้าน้ำหนักตัว 60 กก. ต้องดื่มเหล้า(40degree)ไม่เกิน 94 ซีซีต่อวัน , เบียร์ไม่เกิน 750 ซีซีต่อวัน ]

2. เป็นโรคตับแข็ง หรือ สงสัยว่าเป็นโรคตับแข็ง (Cirrhosis) จากประวัติหรือตรวจร่างกาย
3. เป็นโรคเบาหวาน หรือมีระดับน้ำตาลในเลือดมากกว่า 100 มก./ดล.

4. โรค cushing's disease
5. โรค acromegaly
6. โรค pheochromocytoma
7. มีภาวะธัยรอยด์เป็นพิษ (thyrotoxicosis) หรือธัยรอยด์ทำงานน้อยอย่างรุนแรง (severe hypothyroidism) จากประวัติหรือตรวจร่างกาย
8. กำลังได้รับยาต่อไปนี้ steroid , insulin , estrogen , fibrates , nicotinic acid , HMG-CoA reductase inhibitor , phenytoin,  $\beta$  – adrenergic blocker, interferon -  $\alpha$ , thiazide, vacor, diazoxide, pentamidine, metformin, oral hypoglycemic agents, protease inhibitors ในช่วง 1 เดือนก่อน โดยใช้วิธีสอบถามผู้ป่วยและสำรวจชนิดของยาที่ได้รับในปัจจุบันจากการที่ผู้ป่วยนำยาที่รับประทานทั้งหมดในปัจจุบันมาให้แพทย์ดูร่วมกับการตรวจสอบจากเวชระเบียน
9. ติดเชื้อเอชไอวี จากการสอบถามผู้ป่วยร่วมกับการตรวจสอบจากเวชระเบียน โดยการเจาะเลือดเพื่อตรวจการติดเชื้อเอชไอวีจะทำเฉพาะอาสาสมัครที่มีความเสี่ยงซึ่งจะต้องได้รับความยินยอมจากอาสาสมัครเป็นลายลักษณ์อักษร
10. มีภาวะความเจ็บป่วยหนักหรือติดเชื้อรุนแรง ในขณะที่เข้าร่วมการศึกษาวิจัย โดยใช้วิธีซักประวัติ ตรวจร่างกาย และบันทึกที่มีในเวชระเบียน
11. กำลังป่วยด้วยโรค nephrotic syndrome จากประวัติ ตรวจร่างกายหรือผลทางห้องปฏิบัติการ
12. เป็นโรคไตวายเรื้อรังซึ่งกำลังได้รับการรักษาด้วยการล้างไตทางหน้าท้อง (CAPD) หรือฟอกเลือด (hemodialysis)
13. หญิงมีครรภ์และหญิงให้นมบุตร โดยใช้วิธีซักประวัติ
14. มีลักษณะกลุ่มอาการ polycystic ovarian syndrome ตามเกณฑ์การวินิจฉัยของ revised 2003 Rotterdam PCOS consensus <sup>[72,73]</sup>
15. ระดับไขมันไตรกลีเซอไรด์มากกว่า 150 มก./ดล.

#### 4.2.4 การคำนวณขนาดตัวอย่าง (Sample size)

เนื่องจากยังไม่เคยมีการศึกษาในลักษณะดังกล่าวมาก่อนจึงได้มีการทำ pilot study ในกลุ่มประชากรที่มีระดับ HDL-C ต่างๆ กัน 3 กลุ่ม โดยแบ่งตามค่า HDL-C คือ 36 ถึง 64, 65 ถึง 99 และ มากกว่าหรือเท่ากับ 100 มก./ดล. กลุ่มละ 5, 4 และ 5 รายตามลำดับ พบว่าค่าเฉลี่ยของ HOMA-IR ในแต่ละกลุ่มเท่ากับ  $1.29 \pm 0.31$ ,  $0.71 \pm 0.27$  และ  $0.94 \pm 0.04$  ตามลำดับ และนำมาคำนวณหาค่า sample size โดยใช้สูตรของ Cohen ซึ่งเป็นสูตรสำหรับคำนวณตัวอย่างที่

ต้องการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแต่ละกลุ่ม โดยมีจำนวนกลุ่มมากกว่าหรือเท่ากับ 3 กลุ่มขึ้นไป  
คำนวณโดยใช้โปรแกรม computer (PASS program) จากสูตร

$$n = \frac{n_{.05}}{400 f^2} + 1$$

โดย  $n$  = จำนวนประชากรในแต่ละกลุ่ม

$$f = \frac{\sigma_m}{\sigma}$$

โดย  $f$  = สัดส่วนของ  $\sigma_m$  ต่อ  $\sigma$  (effect size)

$\sigma_m$  = Standard deviation of the between group means

$\sigma$  = Standard deviation of the within group means

$$\text{หาค่า } \sigma_m = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^k (\mu_i - \mu)^2}{k}}$$

โดย  $k$  = จำนวนกลุ่ม = 3 กลุ่ม

$\mu_i$  = ค่าเฉลี่ยของแต่ละกลุ่ม = ค่าเฉลี่ย HOMA-IR ในแต่ละกลุ่ม

ดังนั้น  $\mu_1 = 1.29, \mu_2 = 0.71, \mu_3 = 0.94$

$\mu$  = ค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่ม

แทนค่า  $\sigma$  = 0.55

$\sigma_m$  = 0.24

กำหนดให้  $\alpha = 0.05$  และ  $\beta = 0.1$

หลังแทนค่าจะได้ค่า  $f$  และนำค่า  $f$  ไปเปิดตารางหรือคำนวณโดยใช้ program PASS ได้  
ประชากรในแต่ละกลุ่ม เท่ากับ 24 ราย

#### 4.2.5 การสังเกตและการวัด (Observation and measurement)

เก็บข้อมูลของผู้ร่วมวิจัยโดยใช้แบบบันทึก (record form) ซึ่งประกอบด้วย

1. ข้อมูลทั่วไป เช่น ชื่อ เพศ อายุ ภูมิภาค อาชีพ โรคประจำตัว ยาที่ใช้ประจำ ประวัติครอบครัว อาศัยการซักประวัติและจากเวชระเบียน
2. ข้อมูลเฉพาะที่เกี่ยวข้องกับกลุ่มอาการทางเมตาบอลิก ได้แก่ ความดันโลหิต ส่วนสูง น้ำหนัก ดัชนีมวลกาย (body mass index) เส้นรอบเอวโดยวัดในแนวรอบตัวผ่านจุดกึ่งกลางระหว่างขอบล่างสุดของกระดูกชายโครงกับขอบบนของกระดูก iliac (iliac crest) เส้นรอบสะโพก โดยวัดในแนวรอบตัวผ่านปุ่มกระดูก greater trochanter และ สัดส่วนของเส้นรอบเอวต่อเส้นรอบสะโพก
3. ข้อมูลเฉพาะที่เกี่ยวข้องกับโรคหลอดเลือดแดงแข็ง ได้แก่ ประวัติโรคเส้นเลือดหัวใจตีบ โรคเส้นเลือดสมองตีบ โรคเส้นเลือดส่วนปลายตีบ และปัจจัยเสี่ยงต่อโรคหลอดเลือดแดงตีบ อาศัยการซักประวัติ ข้อมูลเดิมบันทึกที่มีในเวชระเบียน จากการตรวจร่างกายทั่วไป สัญญาณชีพ การตรวจหลอดเลือดแดงส่วนปลาย
4. ข้อมูลเฉพาะที่เกี่ยวข้องกับภาวะไขมันในเลือดสูง ได้แก่ การตรวจร่างกายหาร่องรอยไขมันสะสมตามผิวหนังและเนื้อเยื่อต่างๆ
5. ตรวจการวัดภาวะความไวต่อฮอร์โมนอินซูลินโดยใช้วิธี Homeostasis Model Assessment (HOMA)
6. ตรวจเลือดเพื่อวัดระดับน้ำตาลในเลือด ไขมันคอเลสเตอรอล ไขมันไตรกลีเซอไรด์ HDL-C และ คำนวณแอลดีแอล

#### 4.2.6 วิธีการศึกษา (Intervention)

1. อธิบายให้ผู้เข้าร่วมวิจัยเข้าใจเกี่ยวกับการร่วมโครงการวิจัยและขั้นตอนการวิจัย
2. ซักประวัติ ทบทวนระบบต่างๆ (review of systems) และข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับเกณฑ์การคัดออก ตรวจร่างกาย การตรวจสอบยาที่ได้รับและรวบรวมข้อมูลต่างๆ ตามแบบบันทึกข้อมูล
3. ผู้ป่วยจะได้รับการตรวจสอบคุณสมบัติตามเกณฑ์คัด-เข้า/ออก
4. ให้ผู้เข้ารับการศึกษาลงชื่อในใบยินยอมเข้าร่วมการวิจัย (Informed consent)
5. ผู้ป่วยต้องงดน้ำและอาหารเป็นเวลาอย่างน้อย 12 ชั่วโมงเพื่อรับการเจาะเลือด
6. การเจาะเลือดจะทำการเจาะทุก 5 นาที
7. นำเลือดมาปั่นแยกซีรัม (Serum) เก็บที่อุณหภูมิ  $-80^{\circ}\text{C}$  เพื่อรอตรวจระดับน้ำตาล, ระดับไขมันคอเลสเตอรอล, HDL-C, ไขมันไตรกลีเซอไรด์ และ ฮอร์โมนอินซูลิน

8. นำผลเลือดที่ได้มาคำนวณหาค่า HOMA-IR โดยนำผลที่วัดได้มาแทนค่า

$$\text{HOMA-IR} = \text{FI} \times \text{FG} / 22.5$$

FI คือ ระดับฮอร์โมนอินซูลินหลังจากอดอาหาร (fasting insulin) ไมโครยูนิต/มล.

FG คือ ระดับน้ำตาลในเลือดหลังจากอดอาหาร (fasting glucose) มิลลิโมล/ลิตร

#### 4.2.7 วิธีการตรวจระดับฮอร์โมนอินซูลิน

ใช้วิธี electrochemiluminescence

#### 4.2.8 วิธีการตรวจระดับ HDL-C

ใช้วิธี homogeneous enzymatic calorimetric assay

#### 4.2.9 วิธีการตรวจระดับน้ำตาล

ใช้วิธี enzymatic reference method with hexokinase

#### 4.2.10 การเก็บรวบรวมข้อมูล (Data collection)

ข้อมูลทั้งหมด ประวัติ ตรวจร่างกาย ผลเลือด ต่างๆ จะได้รับการบันทึกลงในแบบเก็บข้อมูล และเก็บในเครื่องคอมพิวเตอร์โดยอาศัยโปรแกรมคำนวณทางสถิติ (SPSS) โดยผู้ทำการวิจัยเป็นผู้รวบรวม

#### 4.2.11 การวิเคราะห์ข้อมูล (Data analysis)

1. เปรียบเทียบความไวต่อฮอร์โมนอินซูลิน ในกลุ่มที่มีระดับ HDL-C 3 กลุ่ม โดยใช้ ANOVA test ซึ่งกำหนดระดับนัยสำคัญที่  $p < 0.05$
2. แสดงลักษณะของต่างๆของประชากรแต่ละกลุ่ม เช่น อายุ เพศ โรคประจำตัว การออกกำลังกาย ยาอื่นที่ใช้ร่วม ประวัติการหมดประจำเดือน ประวัติครอบครัว ผลการตรวจร่างกายทั่วไป ดัชนีมวลกาย (body mass index: BMI) ระดับไขมันในเลือด ภาวะไขมันสะสมใต้ผิวหนังและตามเส้นเอ็น โรคหลอดเลือดหัวใจ โรคเส้นเลือดส่วนปลายตีบ หรือโรคหลอดเลือดสมอง ระหว่างกลุ่มที่มีระดับ HDL-C สูงมาก สูง และปกติ โดยใช้ค่า  $\text{MEAN} \pm \text{SEM}$
3. การวิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมดอาศัยโปรแกรมทางคอมพิวเตอร์ SPSS

### 4.3 ปัญหาทางจริยธรรม (Ethical considerations)

การศึกษานี้เพื่อหาความสัมพันธ์ของระดับความไวต่อฮอร์โมนอินซูลินในคนไทยที่มารับการตรวจแผนกผู้ป่วยนอกรพ.จุฬาลงกรณ์โดยเปรียบเทียบระดับ HDL-C ที่ระดับต่างๆกันซึ่งอันตรายจากการเจาะเลือดมีน้อยมาก โดยการศึกษาจะทำเฉพาะอาสาสมัครที่เข้าใจและยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรเท่านั้นและการวิจัยนี้ได้รับความเห็นชอบจากคณะกรรมการจริยธรรมของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

