



บทที่ 3

ระเบียบวิธีวิจัย

การออกแบบวิจัย (Research design)

เป็นการวิจัยที่เก็บข้อมูลจากผู้ป่วยในคลินิก (clinical research) นำข้อมูลในช่วงเวลาหนึ่งมาวิเคราะห์ผล (analytical research design , cross-sectional study)

ประชากรที่ศึกษา

กลุ่มประชากรตัวอย่างในการศึกษานี้เป็นกลุ่มผู้ป่วยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากและผู้ป่วยไลเคนอยด์ในช่องปากสาเหตุจากยาที่มารับการรักษาที่คลินิกบัณฑิตเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยมีกลุ่มควบคุมเป็นอาสาสมัครที่มีสุขภาพแข็งแรง ไม่มีรอยโรคในช่องปาก

การคำนวณขนาดของกลุ่มตัวอย่าง

ใช้สูตรในการคำนวณขนาดตัวอย่างในการเปรียบเทียบค่าสัดส่วนของประชากรในตัวอย่างสองกลุ่มที่เป็นอิสระต่อกันซึ่งเหมาะสำหรับการวิจัยแบบ case control หรือ cross-sectional

$$n \text{ แต่ละกลุ่ม} = \frac{[Z_{\alpha}\sqrt{2p(1-p)} + Z_{\beta}\sqrt{p_1(1-p_1) + p_2(1-p_2)}]^2}{(p_1 - p_2)^2}$$

เมื่อ $p = (p_1 + p_2)/2$

ให้ p_1 = สัดส่วนของผู้ที่คาดว่าจะมีปัจจัยเสี่ยง (ANA positive) ในประชากรที่ไม่มีโรค (healthy)

p_2 = สัดส่วนของผู้ที่คาดว่าจะมีปัจจัยเสี่ยง (ANA positive) ในประชากรที่มีโรค (OLP patients)

แทนค่าตัวแปรให้ $p_1 = 0.057$, $p_2 = 0.281$ (อ้างอิงจากการศึกษาของ Chang และคณะ^[9] ในปี ค.ศ. 2009)

Z_{α} คือ ค่า Z เมื่อกำหนดขนาดของ type I error มักกำหนดมีค่าไม่เกิน ร้อยละ 5 หรืออาจเรียกว่าค่า Z ที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 = 1.96 (Two - tailed)

ดังนั้น $Z_{\alpha} = 1.96$



75077700

Z_{β} คือ ค่า Z เมื่อกำหนดขนาดของ type II error มักกำหนดให้เท่ากับ ร้อยละ 10

$$\text{ดังนั้น } Z_{\beta} = 1.282$$

จากการคำนวณจะได้ค่า n ในแต่ละกลุ่มเท่ากับ 57 คน

แต่ด้วยข้อจำกัดด้านงบประมาณสนับสนุนและจำนวนผู้ป่วยที่เข้าเกณฑ์ของการศึกษาที่มีอยู่ในการวิจัยนี้จึงจำเป็นต้องกำหนดขนาดของกลุ่มตัวอย่างในแต่ละกลุ่มลดลง เป็นกลุ่มผู้ป่วยโลเคน แพลนีสในช่องปาก จำนวน 20 ราย กลุ่มผู้ป่วยโรคโลเคนอยดีในช่องปากสาเหตุจากยา จำนวน 20 ราย และกลุ่มควบคุม จำนวน 20 ราย

การคัดเลือกผู้เข้าร่วมโครงการ (Inclusion criteria)

1. ผู้ป่วยโรคโลเคน แพลนีสในช่องปากต้องมีทั้งลักษณะทางคลินิกและยืนยันด้วยการตรวจทางจุลพยาธิวิทยา ให้การวินิจฉัยโรคเป็นโลเคน แพลนีสในช่องปาก
2. ผู้ป่วยโลเคนอยดีในช่องปากสาเหตุจากยา รอยโรคจะต้องมีลักษณะทางคลินิกคล้ายรอยโรคโลเคน แพลนีสในช่องปาก แต่ผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาเพียงเข้ากันได้กับโรคโลเคน แพลนีสในช่องปาก (compatible) และมีลักษณะที่ไม่จำเพาะต่อโรคอื่นใดๆ ทั้งสิ้น ผู้ป่วยกลุ่มนี้ต้องมีประวัติการรับประทานยารักษาโรคทางระบบที่มีรายงานว่าเกี่ยวข้องกับการเกิดโลเคนอยดีในช่องปากสาเหตุจากยาเป็นประจำอย่างน้อย 1 ชนิด ก่อนมีรอยโรคปรากฏในช่องปาก จากยารักษาโรคทางระบบต่างๆ ได้แก่ ยารักษาโรคความดันโลหิตสูง ยาต้านการอักเสบที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ ยารักษาโรคเบาหวาน ยาลดไขมันในเลือด และยาชนิดอื่นๆ
3. ลักษณะทางคลินิกของรอยโรคในผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม ต้องเป็นชนิดผื่นสีหรือแผลถลอกอย่างใดอย่างหนึ่ง หรือทั้งสองชนิดร่วมกัน
4. ผู้ป่วยโรคโลเคน แพลนีสในช่องปาก และผู้ป่วยโลเคนอยดีในช่องปากสาเหตุจากยา อาจมีหรือไม่มีรอยโรคเกิดที่ผิวหนังร่วมด้วย
5. ผู้ป่วยโรคโลเคน แพลนีสในช่องปาก และผู้ป่วยโลเคนอยดีในช่องปากสาเหตุจากยา ต้องไม่ได้รับยาเพื่อรักษารอยโรคในช่องปากมาก่อนเข้าร่วมการศึกษาอย่างน้อย 3 เดือน
6. สำหรับอาสาสมัครกลุ่มควบคุมที่ได้รับการคัดเลือกเข้าการศึกษานี้คือ บุคคลที่มีสุขภาพแข็งแรง ไม่มีโรคประจำตัวหรือโรคทางระบบใดๆ หรือกำลังตั้งครรภ์ ณ วันที่เข้าร่วมการศึกษา กลุ่มควบคุมต้องมีสภาพในช่องปากปกติ ไม่มีรอยโรคในช่องปาก และไม่มีประวัติการใช้ยาภายใน 3 เดือนที่ผ่านมาก่อนวันที่เข้าร่วมการศึกษา
7. ผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มและอาสาสมัครกลุ่มควบคุมต้องมีเชื้อชาติไทย และมีอายุตั้งแต่ 18 ปีขึ้นไป แต่ไม่เกิน 70 ปี โดยกลุ่มผู้ป่วยและกลุ่มควบคุม ควรมีเพศและอายุใกล้เคียงกัน

8. ผู้ป่วยและอาสาสมัครกลุ่มควบคุมต้องยินยอมเข้าร่วมการศึกษาโดยสมัครใจ

การคัดผู้ป่วยออกจากโครงการ (Exclusion criteria)

1. ผู้ป่วยที่มีโรคทางระบบร้ายแรง เช่น ความดันโลหิตสูงที่ควบคุมไม่ได้ โรคระบบทางเดินหายใจรุนแรง โรคไต โรคหัวใจ ที่รุนแรง
2. ประวัติการเป็นมะเร็ง
3. โรคเบาหวานชนิดต้องพึ่งอินซูลิน
4. โรคติดต่อยาแรง
5. ผู้ป่วยใช้ยากดภูมิคุ้มกัน
6. ผู้ป่วยตั้งครรภ์
7. มีวัสดุทางทันตกรรมสัมผัสกับรอยโรค
8. ไม่ยินยอมเข้าร่วมการศึกษาโดยสมัครใจ

วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

1. ชุดเครื่องมือตรวจฟัน
2. เข็มฉีดยา (dental needle 30 gauge; Terumo, Thailand)
3. ยาชา (2% mepivacaine hydrochloride injection; Scandonest, France)
4. อุปกรณ์ตัดชิ้นเนื้อชนิดเจาะ (tissue punch biopsy No.4; Stiefel[®], Diethelm & Co. Ltd., Thailand)
5. กรรไกรตัดไหม
6. ผ้าก๊อซ
7. เข็มเย็บแผล No.18 (3/8 circle-cutting edge 18mm. spring eye; Mani Inc., Japan)
8. เส้นไหมสำหรับเย็บแผล (non resorbable black silk 3/0, Peasalls limited, England)
9. ชุดตรวจหาแอนตินิวเคลียร์แอนติบอดี (Euroimmun[®], Germany)



ขั้นตอนการวิจัยและการรวบรวมข้อมูล

1. การศึกษาผ่านการพิจารณาจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และได้รับการอนุมัติโดยไม่มีเงื่อนไข จากที่ประชุมคณะกรรมการฯ ลงวันที่ 4 มิถุนายน 2556 โดยก่อนเริ่มการศึกษาผู้ป่วย ได้รับการอธิบาย และลงนามยินยอมเข้าร่วมการวิจัย
2. ผู้ทำวิจัยจะทำการซักประวัติผู้ป่วย ตรวจในช่องปาก ตัดชิ้นเนื้อบริเวณรอยโรคส่งไป ยืนยันการวินิจฉัยด้วยผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยา โดยใช้เกณฑ์ดังนี้ (ดูรายละเอียด ได้จากตารางที่ 5)
 - 2.1 ผู้ป่วยจะต้องมีลายเส้นสีขาวหนานูนเซ็ดไม่ออกร่วมกับการอักเสบแดงหรือ แผลที่บริเวณเยื่อเมือกในช่องปาก
 - 2.2 ผู้ป่วยไลเคน แพลนัสในช่องปาก ต้องไม่มีประวัติของการรับประทานยา รักษาโรคทางระบบ และผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาต้องประกอบด้วย ไฮเปอร์เคอราโตซิส (hyperkeratosis) อะแคนโทซิส (acanthosis) ร่วมกับการเสื่อมสลายของชั้นเบซิลเซลล์ (liquefaction degeneration) พบแถบของกลุ่มลิมโฟไซด์ (band-like lymphocytic infiltrate) ในชั้นลามินา โพรเพรีย และไม่มีดิสเพลเซีย
 - 2.3 สำหรับผู้ป่วยไลเคนอยดีในช่องปากสาเหตุจากยาจะต้องมีหลักฐานยืนยัน ประวัติของการเป็นโรคทางระบบหรือการได้รับยารักษาโรคทางระบบเป็นประจำด้วย เช่น การนำยาที่ได้รับมาแสดง ใบรับรองแพทย์ ฯลฯ ผู้ป่วย กลุ่มนี้ผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาอาจมีลักษณะคล้ายคลึงกับ (2.2) แต่ไม่ครบเกณฑ์ และไม่เข้าเกณฑ์ของการเป็นโรคอื่นๆ



ตารางที่ 5 แสดงเกณฑ์การวินิจฉัยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากและไลเคนอยดีในช่องปากสาเหตุจากยา ดัดแปลงมาจากเกณฑ์ขององค์การอนามัยโลก^[65] และของ van der Meij และคณะ^[84]

ไลเคน แพลนัสในช่องปาก (OLP)	ไลเคนอยดีในช่องปากสาเหตุจากยา (OLDR)
<p>ประวัติทางการแพทย์</p> <ul style="list-style-type: none"> - ไม่มีโรคทางระบบ - ไม่มีประวัติการรับประทานยาใดๆ <p>เกณฑ์ทางคลินิก</p> <ul style="list-style-type: none"> - มีรอยโรคทั้งสองข้าง (bilateral) ลักษณะเป็นลายเส้นสีขาว ฝ้าขาว ฝ่อสีบ หรือเป็นแผลถลอก (รอยถลอก) <p>เกณฑ์ทางจุลพยาธิวิทยา</p> <ul style="list-style-type: none"> - พบแถบของกลุ่มลิมโฟไซต์ที่มารวมกันจำนวนมากในชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันใต้ต่อชั้นเยื่อฐาน - มีการเสื่อมสลายของเซลล์ในชั้นเยื่อฐาน - ไม่พบเซลล์เยื่อบุผิวที่มีดิสเพลเซีย 	<p>ประวัติทางการแพทย์</p> <ul style="list-style-type: none"> - รอยโรคในช่องปากเกิดขึ้นหลังจากรับประทานยา <p>เกณฑ์ทางคลินิก</p> <ul style="list-style-type: none"> - รอยโรคเป็นข้างเดียว หรือเป็นทั้งสองข้าง ลักษณะเป็นลายเส้นสีขาว ฝ้าขาว ฝ่อสีบ หรือเป็นแผลถลอก (รอยถลอก) <p>เกณฑ์ทางจุลพยาธิวิทยา</p> <ul style="list-style-type: none"> - มีลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาเหมือนที่พบในรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก หรือเข้ากันได้กับโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก - ไม่พบเซลล์เยื่อบุผิวที่มีดิสเพลเซีย

- เมื่อการตรวจทางจุลพยาธิวิทยายืนยันผลการวินิจฉัย ทำการส่งเจาะเลือดทางหลอดเลือดดำในกลุ่มผู้ป่วยและอาสาสมัคร จำนวนรายละ 5 มิลลิลิตร เพื่อส่งตรวจซีรั่มแอนตินิวเคลียร์แอนติบอดีโดยตรวจด้วยวิธีอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์ทางอ้อมโดยห้องปฏิบัติการที่ใช้ชุดตรวจหาซีรั่มแอนตินิวเคลียร์แอนติบอดี ยี่ห้อ Euroimmun[®] จากประเทศเยอรมนี ซึ่งเป็นชุดตรวจที่มี HEp-2 cells เป็นซับสเตรทใช้เกณฑ์ในการแปลผลของซีรั่มแอนตินิวเคลียร์แอนติบอดี^[77, 85] คือ
 - ไม่พบการติดสีเรืองแสงของซีรั่มแอนตินิวเคลียร์แอนติบอดี ถือว่า ANA negative (ANA-ve) หรือให้ผลลบ

2. พบการติดสีเรืองแสงของซีรัมแอนตินิวเคลียร์แอนติบอดี ตั้งแต่ไตเตอร์ 1:40 ขึ้นไป ถือว่า ANA positive (ANA+ve) หรือให้ผลบวก

โดยเกณฑ์ในการแปลผลบวกของซีรัมแอนตินิวเคลียร์แอนติบอดี มีดังนี้

- 2.1 ไตเตอร์ระดับ 1:40 - 1:80 = ให้ผลบวกระดับต่ำ (low)
 2.2 ไตเตอร์ระดับ 1:160 - 1:320 = ให้ผลบวกระดับกลาง (medium)
 2.3 ไตเตอร์ระดับ \geq 1:640 = ให้ผลบวกระดับสูง (high)

การวิเคราะห์ข้อมูล

การทดสอบสถิติต่างๆ จะใช้โปรแกรม SPSS 17.0 for windows ใช้สถิติเชิงพรรณนาในการแสดงผลข้อมูลทั่วไปของแต่ละกลุ่มศึกษา วิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี Chi-Square test หรือ Fisher's exact test เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของการพบซีรัมแอนตินิวเคลียร์แอนติบอดีระหว่างกลุ่มศึกษา ใช้สถิติ One way ANOVA ในการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยอายุระหว่างกลุ่มที่ศึกษา และใช้สถิติ Mann-Whitney U test ในการเปรียบเทียบระยะเวลาของการเกิดโรคระหว่างกลุ่มผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม โดยกำหนดระดับความเชื่อมั่นที่ ร้อยละ 95 ($P\text{-value} < 0.05$)

