

Chulalongkorn University

Chula Digital Collections

Chulalongkorn University Theses and Dissertations (Chula ETD)

2021

ความแตกต่างระหว่างระดับเมตะเนพรีนในเลือดที่ได้จากการเจาะเลือดจาก
หลอดเลือดดำท่อน้ำและการดูดเลือดผ่านสายสวนหลอดเลือดหลังการเจาะคาไว้
30 นาที

จุฑามาศ ตันติประวรณ

คณะแพทยศาสตร์

Follow this and additional works at: <https://digital.car.chula.ac.th/chulaetd>

 Part of the [Medical Sciences Commons](#)

Recommended Citation

ตันติประวรณ, จุฑามาศ, "ความแตกต่างระหว่างระดับเมตะเนพรีนในเลือดที่ได้จากการเจาะเลือดจากหลอดเลือดดำท่อน้ำและการดูดเลือดผ่านสายสวนหลอดเลือดหลังการเจาะคาไว้ 30 นาที" (2021). *Chulalongkorn University Theses and Dissertations (Chula ETD)*. 5677.

<https://digital.car.chula.ac.th/chulaetd/5677>

This Thesis is brought to you for free and open access by Chula Digital Collections. It has been accepted for inclusion in Chulalongkorn University Theses and Dissertations (Chula ETD) by an authorized administrator of Chula Digital Collections. For more information, please contact ChulaDC@car.chula.ac.th.

ความแตกต่างระหว่างระดับเมตะเนพรินในเลือดที่ได้จากการเจาะเลือดจากหลอดเลือดดำทันทีและ
การดูดเลือดผ่านสายสวนหลอดเลือดหลังการเจาะคาไว้ 30 นาที



น.ส.จุฑามาศ ตันติประวรรณ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2564

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Differences in plasma metanephrines level between blood collected by direct
venipuncture and an indwelling intravenous cannula



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Medicine
Department of Medicine
FACULTY OF MEDICINE
Chulalongkorn University
Academic Year 2021
Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ความแตกต่างระหว่างระดับเมตะเนพรินในเลือดที่ได้จากการเจาะเลือดจากหลอดเลือดดำตื้นที่และการดูดเลือดผ่านสายสวนหลอดเลือดหลังการเจาะคาไว้ 30 นาที
โดย	น.ส.จุฑามาศ ดันติประวรรณ
สาขาวิชา	อายุรศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ธิตี สันบุญ

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะแพทยศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ฉันทชัย สิทธิพันธุ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์เจตทชนง แก้วสงคราม)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ธิตี สันบุญ)

..... กรรมการ
(แพทย์หญิง ดร.จิรดา ศรีเงิน)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์พันเอกนครินทร์ ศันสนยุทธ์)

จุฬามาศ ตันติประวรรณ : ความแตกต่างระหว่างระดับเมตะเนพรินในเลือดที่ได้จากการเจาะเลือดจากหลอดเลือดดำทันทีและการดูดเลือดผ่านสายสวนหลอดเลือดหลังการเจาะคาไว้ 30 นาที. (Differences in plasma metanephrines level between blood collected by direct venipuncture and an indwelling intravenous cannula)
 อ.ที่ปรึกษาหลัก : ผศ. นพ.รติ สันบุญ

ที่มา ปัจจัยก่อนการตรวจหลายอย่างที่รบกวนทำให้ระดับพลาสมาเมตะเนพรินมีค่าเปลี่ยนแปลง อย่างไรก็ตาม การศึกษาผลของความเจ็บปวดหรือความเครียดขณะเจาะเลือดที่มีต่อระดับพลาสมาเมตะเนพรินมีจำกัด

วิธีการศึกษา ผู้เข้าร่วมวิจัยที่ไม่เป็นความดันโลหิตสูงทั้งหมด 50 คน เปิดเส้นและใส่สายสวนหลอดเลือดดำที่ข้อพับแขนจากนั้นให้นอนราบ 30 นาที เก็บเลือดจากสายสวนหลอดเลือดดำที่คาไว้ ตามด้วยการเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำในแขนอีกข้างในเวลาใกล้เคียงกัน วัดระดับความเจ็บปวดตอนเจาะเลือด

ผลการวิจัย ระดับพลาสมาเมตะเนพริน นอร์เมตะเนพริน และ 3 เมทอกซีโทรามินจากการเจาะเลือดดำโดยตรงมีค่าสูงกว่าการดูดเลือดจากสายสวนหลอดเลือดที่คาไว้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ค่าเฉลี่ยความแตกต่างได้แก่ 4.73 (0.44 ถึง 9.02) pg/ml *P-value* 0.031 และ 2.28 (0.99 ถึง 3.58) pg/mL *P-value* 0.001 ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม คะแนนความเจ็บปวดไม่สัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของระดับพลาสมาเมตะเนพริน

สรุปผล การดูดเลือดจากสายสวนหลอดเลือดที่คาไว้เป็นวิธีการเก็บเลือดที่ช่วยลดผลบวกลวงได้เมื่อเทียบกับการเจาะเลือดจากหลอดเลือดดำโดยตรง

สาขาวิชา อายุรศาสตร์
 ปีการศึกษา 2564

ลายมือชื่อนิสิต
 ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก

6370075430 : MAJOR MEDICINE

KEYWORD: PLASMA METANEPHRINES, PHEOCHROMOCYTOMA/PARAGANGLIOMA,
VENIPUNCTURE, INDWELLING INTRAVENOUS CANNULA

Jutamart Tantiprawan : Differences in plasma metanephrines level
between blood collected by direct venipuncture and an indwelling
intravenous cannula. Advisor: Asst. Prof. THITI SNABBOON

Background: Pre-analytical factors including posture during blood collection, diet, medications, or pain have effect on the plasma free metanephrines (PMNs) levels. However, few data were available about the stress or pain effects during blood sample collection on PMNs levels.

Methods: Fifty healthy normotensive participants (25 men) were recruited into the study. We collected blood in supine position and rest at least 30 minutes by using an indwelling cannula. Venipuncture on the contralateral arm was done consecutively. Pain score was evaluated during venipuncture.

Results: Plasma concentrations of free metanephrine (MN) and 3-methoxytyramine (3MT) were higher with blood sampling using venipuncture compared to that using an indwelling cannula with mean difference were MN 4.73 (0.44 to 9.02) pg/ml, *P-value* 0.031 and 3MT 2.28 (0.99 to 3.58) pg/ml, *P-Value* 0.001, respectively. However, pain score and difference of PMNs were not correlated significantly.

Conclusion: Drawing blood from indwelling cannula was preferred than venipuncture to avoid false positive results.

Field of Study: Medicine

Student's Signature

Academic Year: 2021

Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณทุกท่านที่มีส่วนร่วมทำให้งานวิจัยและวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี สมความมุ่งหมายสาขาวิชาอายุรศาสตร์ (โรคต่อมไร้ท่อและเมตะบอลิซึม) คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ได้แก่

1. ผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์ธิดิ์ สนับบุญ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ในการให้คำปรึกษา กระบวนการทำวิจัย คำชี้แนะในการแก้ปัญหา รวมถึงข้อคิดเห็นต่างๆ จนงานวิจัยสำเร็จไปได้ด้วยดี
 2. อาจารย์นายแพทย์จักรกฤษ อมรวิทย์ อาจารย์ประจำสาขาหน่วยประสาทวิทยา ที่ให้คำปรึกษาเกี่ยวกับกระบวนการวัดระดับความเจ็บปวดโดยใช้เครื่อง CASE IV
 3. คุณกนกพร จุพันธ์ เจ้าของหน้าที่หน่วยประสาทวิทยา ที่ช่วยวัดระดับความเจ็บปวดให้ผู้เข้าร่วมวิจัย
 4. คุณณัฐนิชา ห่วงงาม นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ ศูนย์ความเป็นเลิศทางการแพทย์ด้านเบาหวาน ฮาร์โมนและเมตะบอลิซึม ที่ช่วยดำเนินการระบบทุนวิจัย
 5. คุณปรางอารียา สันติสิทธิานนท์ นักเทคนิคการแพทย์ หน่วยต่อมไร้ท่อและเมตะบอลิซึม ที่ช่วยเก็บตัวอย่างส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการ เก็บข้อมูลอาสาสมัคร
 6. คุณศุภกานต์ อัมพรกชกร พยาบาลวิจัย หน่วยต่อมไร้ท่อและเมตะบอลิซึม ที่ช่วยเจาะเลือดให้ผู้เข้าร่วมวิจัย
 7. คุณปาริฉัตร ยิ้มน้อย นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ ศูนย์ห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่ช่วยตรวจวัดระดับ plasma metanephrines
 8. ทุนอุดหนุนการวิจัยจากสภาอากาศไทย สำหรับการสนับสนุนงบประมาณให้กับโครงการวิจัย
 9. อาสาสมัครทุกท่านที่ได้เสียสละเวลาและให้ความร่วมมือในงานวิจัยนี้เสร็จสมบูรณ์
- สุดท้าย กราบขอบพระคุณบิดา มารดาและสามี ที่ให้ความช่วยเหลือและกำลังใจตลอดมาตลอดจนผู้ที่ไม่ได้กล่าวนามในที่นี้ด้วย

จุฬามาศ ตันติประวรรณ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ง
กิตติกรรมประกาศ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ณ
สารบัญรูปภาพ.....	ญ
สารบัญแผนภูมิ.....	ฎ
บทที่ 1	1
บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญ และที่มาของปัญหาการวิจัย (Background and Rationale)	1
1.2 คำถามของการวิจัย (Research questions)	7
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย (Objectives).....	7
1.4 สมมติฐาน (Hypothesis).....	7
1.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย (Conceptual framework).....	8
1.6 ข้อตกลงเบื้องต้น (Assumption).....	8
1.7 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่ใช้ในการวิจัย (Operational Definition)	8
1.8 รูปแบบการวิจัย (Research design).....	9
1.9 วิธีการวิจัยโดยย่อ.....	9
1.10 ข้อพิจารณาทางจริยธรรม (Ethical consideration).....	10
1.11 ข้อจำกัดทางการวิจัย (Limitation).....	10
1.12 ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย (Expected benefit and application)..	11

1.13 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นและมาตรการแก้ไข (Obstacles and strategies to solve the problem).....	11
บทที่ 2	12
ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	12
2.1 การเจาะเลือดและการกระตุ้นระบบประสาทซิมพาเทติก	12
2.2 ระบบประสาทซิมพาเทติกและการเปลี่ยนแปลงของระดับพลาสมาเมตะเนฟริน นอร์เมตะเนฟรินและ 3 เมทอกซีโทรามิน.....	12
2.3 การประเมินความเจ็บปวดจากการเจาะเลือด.....	16
บทที่ 3	17
วิธีการดำเนินการวิจัย	17
3.1 ระเบียบวิธีการวิจัย (Research methodology).....	17
3.2 ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย.....	19
3.3 การรวบรวมข้อมูล (Data collection)	20
3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล (Data analysis).....	20
บทที่ 4	22
ผลวิจัย	22
คุณลักษณะของประชากรศึกษา.....	22
ระดับพลาสมาเมตะเนฟริน นอร์เมตะเนฟริน และ 3-เมทอกซีโทรามิน	23
ระดับความเจ็บปวด	27
ปัจจัยอื่นๆได้แก่ เพศ อายุ และค่าดัชนีมวลกาย	28
บทที่ 5.....	30
อภิปราย สรุปผลวิจัย และข้อเสนอแนะ.....	30
อภิปรายผล.....	30
จุดแข็งของการวิจัย.....	35

ข้อจำกัดในการวิจัย.....	36
สรุปผลการวิจัย.....	36
ข้อเสนอแนะ	36
ภาคผนวก.....	38
แบบบันทึกข้อมูลวิจัย 1	39
แบบบันทึกข้อมูลวิจัย 2.....	40
แบบประเมินความเจ็บปวดโดยใช้ visual analog scale	42
วิธีการตรวจระดับพลาสมาเมตะเนเฟรินโดยวิธี Liquid chromatography tandem mass spectrometry.....	43
บรรณานุกรม.....	45
ประวัติผู้เขียน.....	50

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าความไวและค่าความจำเพาะระหว่างการตรวจระดับ....	3
ตารางที่ 2 การศึกษาเปรียบเทียบการตรวจระดับเมตะเนพรินในพลาสมาโดยวิธีการตรวจ HPLC เปรียบเทียบกับวิธีการตรวจวิธีอื่น.....	4
ตารางที่ 3 วิธีการเจาะเลือดในการศึกษาต่างๆ	14
ตารางที่ 4 ชนิดของข้อมูลและสถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์.....	21
ตารางที่ 5 ลักษณะทั่วไปของผู้เข้าร่วมวิจัย.....	22
ตารางที่ 6 ความแตกต่างวิธีการ ระยะเวลาและความดันโลหิต จากการเก็บเลือดทั้ง 2 วิธี	23
ตารางที่ 7 ค่าแตกต่างระดับพลาสมาเมตะเนพรินรวมจากการเก็บเลือดทั้ง 2 วิธี	24
ตารางที่ 8 แสดงจำนวนผู้เข้าร่วมวิจัยที่มีระดับพลาสมาเมตะเนพริน นอร์เมตะเนพรินและ 3 เมทอกซี ไทรามีนสูงกว่าค่าปกติ.....	26
ตารางที่ 9 ความสัมพันธ์ระหว่างคะแนนความเจ็บปวดและระดับพลาสมาเมตะเนพริน.....	28
ตารางที่ 10 ความสัมพันธ์ระหว่างเพศชาย อายุ และดัชนีมวลกายและการเปลี่ยนแปลงของระดับ พลาสมาเมตะเนพริน นอร์เมตะเนพริน และ 3 เมทอกซีไทรามีน	28
ตารางที่ 11 เปรียบเทียบระดับพลาสมาเมตะเนพรินรวมระหว่างเพศชายและหญิง	29
ตารางที่ 12 ผลการวิจัยของ Eijkelenkamp และคณะเทียบกับผลวิจัยปัจจุบัน	31

สารบัญรูปภาพ

	หน้า
รูปภาพที่ 1 Catecholamine metabolism.	1
รูปภาพที่ 2 เมตะเนฟรินในรูปฟอร์มอิสระและฟอร์ม conjugated.....	2
รูปภาพที่ 3 ตำแหน่งการออกฤทธิ์ยาที่มีผลต่อระดับเมตะเนฟรินในพลาสมา	6
รูปภาพที่ 4 Bland Altman Plot analysis ระหว่างค่าพลาสมาเมตะเนฟริน นอร์เมตะเนฟริน และ 3 เมทอกซีไทรามินจากการเจาะเลือด (Ven)และจากสายสวนหลอดเลือด (Can)	25
รูปภาพที่ 5 waterfall plot แสดงการเปลี่ยนแปลงของระดับพลาสมาเมตะเนฟริน นอร์เมตะเนฟริน และ 3 เมทอกซีไทรามินจากการเจาะหลอดเลือดดำโดยตรงเทียบกับการดูดเลือดจากสายสวนหลอดเลือด โดยคิดเป็นร้อยละ	27
รูปภาพที่ 6 ผลวิจัยระดับของเมตะเนฟรินและนอร์เมตะเนฟรินที่วัดหลังจากใส่สายสวนหลอดเลือดดำ ที่ 0, 15, 30, 60, 90 และ 120 นาที	31
รูปภาพที่ 7 ระดับพลาสมาเมตะเนฟริน นอร์เมตะเนฟรินและระดับ 3 เมทอกซีไทรามิน หลังนอนราบ เป็นระยะเวลา 10 20 30 40 และ 60 นาที	33

สารบัญแผนภูมิ

หน้า

แผนภูมิที่ 1 แสดงกรอบแนวคิดในการวิจัย	8
---------------------------------------------	---



บทที่ 1

บทนำ

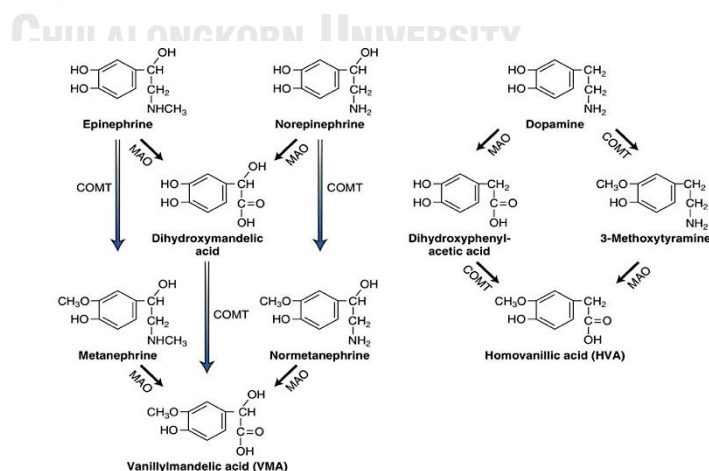
1.1 ความสำคัญ และที่มาของปัญหาการวิจัย (Background and Rationale)

ฟีโอโครโมไซโตมา (Pheochromocytoma ; PCC) และพาราแองเกลิโอมา (Paraganglioma ; PGL) คือเนื้องอกของ Chromaffin cells ที่สามารถสร้างสาร catecholamines ได้แก่ เอพิเนฟริน (epinephrine) และนอร์เอพิเนฟริน (norepinephrine) แม้ว่าอุบัติการณ์ของโรคจะน้อยประมาณ 2-8 คนต่อประชากร 1 ล้านคน (1) อย่างไรก็ตาม โรคนี้มีความสำคัญที่เราจะต้องสงสัยและตรวจเลือดยืนยันวินิจฉัยและผ่าตัดรักษาเนื่องจาก

1. ภาวะความดันโลหิตสูงจะหายเป็นปกติเมื่อเราผ่าตัดเอาก้อนออก
2. ความเสี่ยงของคนไข้เวลามีอาการความดันโลหิตสูง อาจสูงจนทำให้ถึงแก่ชีวิตได้
3. พบก้อนเนื้องอกที่มีอากาศเป็นมะเร็ง ร้อยละ 10 (2)
4. ร้อยละ 40 ของโรคนี้อาจมีโอกาสรักษาหายขาดทางพันธุกรรม ทำให้มีประโยชน์สำหรับการ

การวินิจฉัยโรคในสมาชิก ภายในครอบครัวของผู้ป่วย

อาการสำคัญของคนไข้ในผู้ป่วยกลุ่มนี้คือ อาการปวดหัว เหงื่อออก ใจสั่นที่มาเป็นพักๆและหายไปตัวเอง (3) ในคนที่มีอาการที่สงสัย PCC/PGL ต้องได้รับการตรวจเลือดหรือเก็บปัสสาวะ 24 ชั่วโมงเพื่อตรวจสอบเมตาเนฟริน (metanephrine) และนอร์เมตาเนฟริน (normetanephrine) (3) ซึ่งเป็นเมตาบอไลต์ที่เกิดจากการเติมหมู่เมทิล methyl group ของ epinephrine และ norepinephrine ตามลำดับดังแสดงในรูปที่ 1



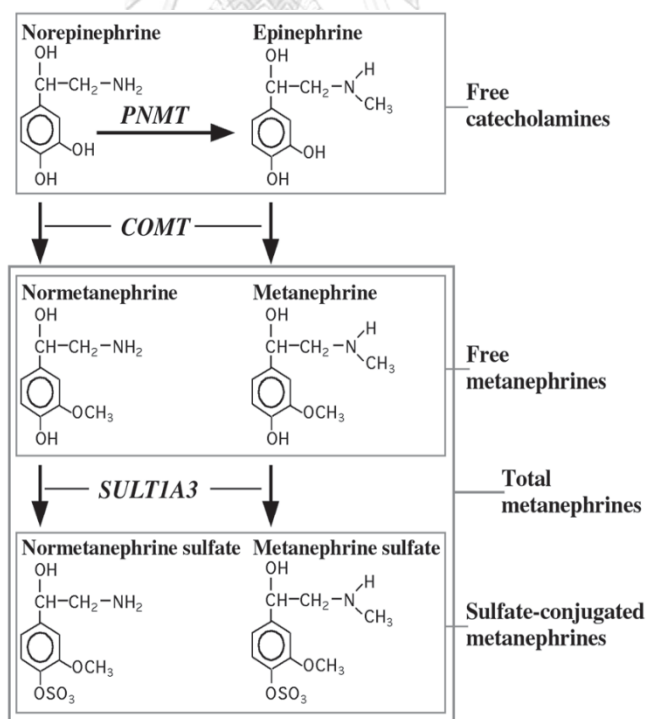
รูปภาพที่ 1 Catecholamine metabolism.

COMT= Catechol-O-methyltransferase MAO=Monoamine oxidase (ภาพประกอบจาก William's Textbook of endocrinology 14th edition: Chapter 16 Endocrine hypertension)

โดยถ้าระดับเมตะเนพรินในพลาสมาหรือในปัสสาวะสูงกว่าค่าปกติ ก็สามารถวินิจฉัยว่าเป็น PCC และ PGL อย่างไรก็ตามมีปัจจัยหลายอย่างที่ทำให้เกิดผลบวกกลางได้ ตั้งแต่วิธีการตรวจจนถึง การเตรียมตัวก่อนการตรวจ

วิวัฒนาการของการตรวจเพื่อการวินิจฉัย PCC และ PGL เริ่มจากการตรวจปัสสาวะ 24 ชั่วโมง เพื่อตรวจระดับ vanillylmandelic acid (VMA) พบว่าเป็นการตรวจที่ไม่เหมาะสมในการ วินิจฉัย PCC และ PGL เนื่องจากมี sensitivity ต่ำ (4) การศึกษาของ Lenders และคณะ (5) พบว่าการตรวจระดับเมตะเนพรินซึ่งเป็นฟอร์มอิสระในพลาสมา ถ้าทำการตรวจโดยวิธี liquid chromatography มีค่าความไวและความจำเพาะที่ดีกว่าการตรวจด้วยวิธีอื่นๆ ได้แก่การตรวจ ปัสสาวะ 24 ชั่วโมง ซึ่งเป็นการตรวจวัดระดับเมตะเนพรินทั้งหมดในพลาสมา (ทั้งฟอร์มอิสระและ ฟอร์ม conjugated) ดังแสดงในรูปที่ 2 การตรวจวัดระดับแคทีโคลามีน ได้แก่ นอร์เอพิเนพริน และเอพิเนพริน ในพลาสมา

- ระดับแคทีโคลามีนในพลาสมา ค่าความไวร้อยละ 85 และค่าความจำเพาะร้อยละ 82
- ระดับเมตะเนพรินในพลาสมา ค่าความไวร้อยละ 100 ค่าความจำเพาะร้อยละ 85
- ระดับเมตะเนพรินในปัสสาวะ 24 ชั่วโมง ค่าความไวร้อยละ 89



รูปภาพที่ 2 เมตะเนพรินในรูปฟอร์มอิสระและฟอร์ม conjugated
อ้างอิงจาก (6)

จึงทำให้การวัดระดับเมตะเนพรินในพลาสมา หรือ การตรวจระดับเมตะเนพรินในปัสสาวะตรวจ 24 ชั่วโมง เป็นการตรวจที่แนะนำในการใช้เป็นการตรวจเริ่มต้นเนื่องจากค่าความไวดีกว่า (3) จากนั้นจึงมีงานวิจัยมากมายที่ทำการเปรียบเทียบค่าความไวและ ค่าความจำเพาะระหว่างการตรวจระดับเมตะเนพรินในพลาสมาและในปัสสาวะ 24 ชั่วโมง (7) ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าความไวและค่าความจำเพาะระหว่างการตรวจระดับเมตะเนพรินในพลาสมาและในปัสสาวะ 24 ชั่วโมง

ผู้เขียน, ปี ค.ศ. (อ้างอิง)	วิธีการตรวจ		ระดับเมตะเนพรินในพลาสมา (Plasma metanephrines)		ระดับเมตะเนพรินในปัสสาวะ 24 ชั่วโมง (24 hr urine fractionated metanephrines)	
	ในพลาสมา	ในปัสสาวะ	ค่าความไว (Sensitivity)	ค่า ความจำเพาะ (Specificity)	ค่าความไว (Sensitivity)	ค่าความจำเพาะ (Specificity)
Lenders <i>et al</i> ; 2002 (8)	HPLC-EC	HPLC-EC	99% supine	89% supine	97%	69%
Hickman <i>et al</i> ; 2009 (9)	HPLC-EC	HPLC-EC	100% seated	98% seated	86%	95%
Grouzmann <i>et al</i> ; 2010 (10)	HPLC-EC	HPLC-EC	96% supine	89% supine	95%	86%
Unger <i>et al</i> ; 2012 (11)	EIA	EIA	89% seated	90% seated	93%	78%
Daerr <i>et al</i> ; 2014 (12)	HPLC- MS/MS	HPCL- MS/MS	76% seated 94% supine	98% seated 97% supine	95%	80%
Tanaka <i>et al</i> ; 2014 (13)	EIA	EIA	96% supine	97% supine	89%	95%
Kim <i>et al</i> ; 2015 (14)	HPLC- MS/MS	HPLC-EC	96% seated	76% seated	96%	94%

หมายเหตุ HPLC-EC; high performance liquid chromatography-electrochemical detection, HPLC-MS/MS; high performance liquid chromatography - tandem mass spectrometry EIA; enzyme immunoassay, RIA; radioimmunoassay

จากตารางที่ 1 การศึกษาเปรียบเทียบระหว่างการตรวจระดับเมตะเนพรินในพลาสมากับการตรวจในปัสสาวะ 24 ชั่วโมง พบว่าการตรวจในพลาสมามีค่าความไวที่ดีกว่าเมื่อเทียบกับการตรวจในปัสสาวะ นอกจากนี้ การตรวจระดับเมตะเนพรินในพลาสมาโดยวิธี HPLC-MS/MS จะมีค่าความไวและค่าความจำเพาะที่ดีกว่าการตรวจโดยวิธีอื่น ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 การศึกษาเปรียบเทียบการตรวจระดับเมตะเนพรินในพลาสมาโดยวิธีการตรวจ HPLC เปรียบเทียบกับการตรวจวิธีอื่น

ผู้เขียน, ปี ค.ศ. (อ้างอิง)	ท่าขณะเจาะเลือด	วิธีการตรวจ	ค่าความไว (Sensitivity)	ค่าความจำเพาะ (Specificity)
Peaston <i>et al</i> , 2009 (15)	ท่านั่ง	HPLC-MS/MS	100%	96%
		ELISA	95%	95%
Mullins <i>et al</i> , 2012 (16)	ท่านั่ง	HPLC-MS/MS	100%	95%
		ELISA	100%	88%
Weismann <i>et al</i> , 2015 (17)	ท่านอน	HPLC-MS/MS	98%	100%
		EIA	96%	95%

หมายเหตุ HPLC- MS/MS; high performance liquid chromatography -tandem mass spectrometric detection, ELISA; enzyme linked immunoassay EIA; enzyme immunoassay

อย่างไรก็ตามการตรวจระดับเมตะเนพรินในพลาสมามีปัจจัยหลายอย่างส่งผลต่อการตรวจและทำให้ผลการตรวจเป็นผลบวกปลอมได้ (false positive) เนื่องจากอาจจะเกิดจากการเพิ่มขึ้นของระบบประสาทซิมพาเทติกทำให้เกิด false positive ได้ เช่น การออกกำลังกาย ท่าทางขณะเจาะเลือด อาหาร ความเครียด ภาวะน้ำตาลต่ำ และยาที่มีผลต่อการสร้าง catecholamine หรือเมตะบอไลต์ของ catecholamines (18)

ปัจจัยที่มีผลต่อระดับพลาสมาเมตะเนพริน ได้แก่

1. การพักในท่านอนราบก่อนการเจาะเลือดและท่าทางขณะเก็บเลือด

การศึกษาของ Lenders และคณะ (19) ได้ทำการศึกษาระดับเมตะเนพรินในพลาสมาในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้นอนพักก่อนเก็บเลือดในท่านั่งเปรียบเทียบกับกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่ได้นอนพักก่อนการเก็บเลือดในท่านั่ง พบว่าระดับเมตะเนพรินในพลาสมาในกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่ได้นอนพักมีระดับที่สูงกว่ากลุ่มที่

ได้นอนพักก่อนการเก็บเลือด และในการศึกษาเดียวกันนี้ พบว่าเมื่อเก็บเลือดในท่านั่ง แต่ใช้ส่วนบนค่าอ้างอิงของท่านอน จะทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของผลบวกปลอมจากร้อยละ 9 เป็นร้อยละ 25 จึงเป็นที่มาของแนวทางเวชปฏิบัติของสมาคมต่อมไร้ท่อ (Endocrine society) ที่แนะนำให้เจาะเลือดในท่านอนและใช้ช่วงค่าอ้างอิง (Reference range) ในท่าเดียวกัน นอกจากนี้ยังแนะนำให้อยู่ในท่านอนอย่างน้อย 30 นาทีก่อนการเก็บเลือด (3)

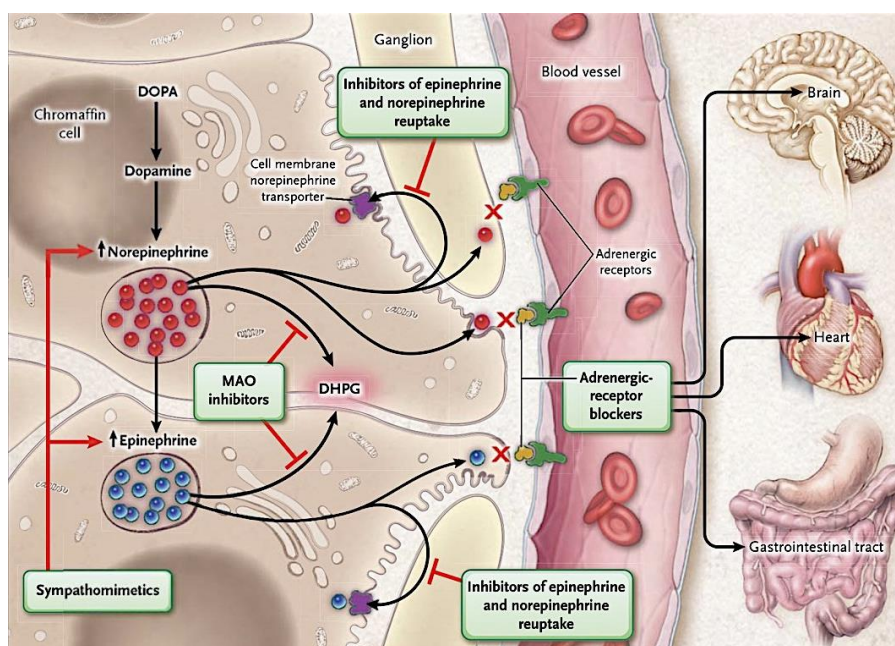
2. อาหาร

เมื่อเราต้องการตรวจวัดระดับ 3-methoxytyramine ซึ่งเป็นเมตะบอไลต์ของ dopamine อาหารที่มีสารไทรามินซึ่งเป็นสารตั้งต้นของการสร้างโดพามีน (dopamine) สูง เช่นกลุ่มอาหารหมักดอง อาจทำให้ระดับ 3-methoxytyramine เพิ่มขึ้นได้ ในทางกลับกัน อาหารที่มี catecholamine สูง เช่น สับปะรด กลับไม่มีผลต่อระดับเมตะเนเฟรินในพลาสมา เพราะฉะนั้นถ้าเราต้องการตรวจ 3-methoxytyramine ด้วย แนะนำว่าควรดื่มน้ำเปล่าก่อนมาเจาะเลือด (20)

3. ยา

มียาหลายตัวที่ทำให้ระดับเมตะเนเฟรินในพลาสมาสูงขึ้นไป มีรายงานยา venlafaxine แม้จะเป็น serotonin reuptake inhibitor แต่ก็อาจมีฤทธิ์ inhibit reuptake ของ norepinephrine ร่วมด้วยได้ ทำให้การตรวจระดับนอร์เมตะเนเฟรินในพลาสมาสูงขึ้น (21) ยาอื่นๆ ได้แก่

- ยากลุ่มยับยั้ง reuptake ของนอร์เอพิเนเฟริน ได้แก่ ยากลุ่ม tricyclic antidepressant (amitriptyline, imipramine)
- ยากลุ่ม monoamine oxidase inhibitors ได้แก่ tranylcypromine, moclobemide
- ยากลุ่ม sympathomimetics ได้แก่ ephedrine, pseudoephedrine, fenfluramine, methylphenidate
- ยากลุ่ม alpha receptor blockers ได้แก่ methyldopa, phenoxybenzamine
- ยากลุ่ม acetaminophen (22, 23) , mesalamine, sulfasalazine มีรายงานรบกวนการตรวจระดับเมตะเนเฟรินถ้าตรวจโดยวิธี Liquid chromatography electrochemical detection (LC-ECD)



รูปภาพที่ 3 ตำแหน่งการออกฤทธิ์ยาที่มีผลต่อระดับเมตะเนพรินในพลาสมา

อ้างอิงจาก (21)

4. การสูบบุหรี่ เครื่องดื่มที่มีคาเฟอีนก็มีผลต่อระบบซิมพาเทติก จึงแนะนำให้หยุดก่อน 1 วัน ก่อนทำการทดสอบ (24)

5. เพศ อายุ จากการศึกษาของ Eisenhofer และคณะ (25) พบว่า เพศชายจะมีระดับเมตะเนพรินในพลาสมาที่สูงกว่าเพศหญิง อย่างไรก็ตามช่วงค่าอ้างอิง (reference interval) ไม่ต่างกันในเรื่องของอายุ พบว่าอายุที่มากขึ้นมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของช่วงค่าอ้างอิงของระดับนอร์เมตะเนพรินมากกว่าเมตะเนพรินในคนปกติ โดยที่ระดับนอร์เมตะเนพรินที่ปกติในเด็กมีค่า 0.47 นาโนโมลต่อลิตร ในขณะที่ผู้สูงอายุมากกว่า 60 ปี เพิ่มขึ้นถึง 1.05 นาโนโมลต่อลิตร

6. เชื้อชาติ ไม่มีงานวิจัยใดที่เปรียบเทียบระดับเมตะเนพรินในพลาสมาระหว่างเชื้อชาติ อย่างไรก็ตามมีงานวิจัยที่ทำในชาวญี่ปุ่นและชาวเกาหลี ค่า cut point ที่ใช้ในงานวิจัย ใช้ตามค่าอ้างอิงของวิธีการตรวจนั้น ๆ ทำให้อนุมานได้ว่าระดับพลาสมาเมตะเนพรินน่าจะแตกต่างกันระหว่างเชื้อชาติ (13, 14)

7. ภาวะอ้วนและน้ำหนักเกิน มีการศึกษาในคน Caucasian เปรียบเทียบระดับเมตะเนพรินในพลาสมาในคนน้ำหนักปกติ (Body mass index; BMI < 25 kg/m²) คนที่มีภาวะน้ำหนักเกิน (BMI 25-29.9 kg/m²) และคนที่มีภาวะอ้วน (BMI ≥30 kg/m²) พบว่าระดับเมตะเนพรินและ

เอพินเฟพรีนในพลาสมาในคนที่มีการะอ้วนจะน้อยกว่าเมื่อเทียบกับคนน้ำหนักปกติ ในขณะที่ระดับนอร์เมตะเนพรีนไม่ต่างกันทั้ง 3 กลุ่ม (26)

8. ภาวะเครียดต่าง ๆ ทั้งการมีไข้ การติดเชื้อ ภาวะเลือดออกในสมอง ภาวะน้ำตาลต่ำ (27) รวมถึง ความเจ็บปวด

มีการกล่าวถึงการดูแลจากสายสวนหลอดเลือด เพื่อที่จะลดผลบวกลวงที่อาจเกิดจากความเจ็บปวดที่เกิดการเจาะเลือด ทางผู้วิจัยจึงมีความสนใจเรื่องของความเจ็บปวดจากการเจาะเลือดว่ามีผลต่อระดับเมตะเนพรีนในพลาสมาหรือไม่ เมื่อเทียบการดูแลจากสายสวนหลอดเลือดที่ค่าไว้แล้ว โดยควบคุมตัวกวนดังกล่าวไปข้างต้นแล้ว

1.2 คำถามของการวิจัย (Research questions)

คำถามหลัก (Primary research question)

- การเจาะเลือดจากหลอดเลือดดำที่กับการดูแลจากสายสวนหลอดเลือดทั้งไว้ มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับเมตะเนพรีนในเลือดหรือไม่

คำถามรอง (Secondary research question)

- ค่าความเจ็บปวดแต่ละระดับที่วัดโดย VAS มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเมตะเนพรีนในเลือดอย่างไร

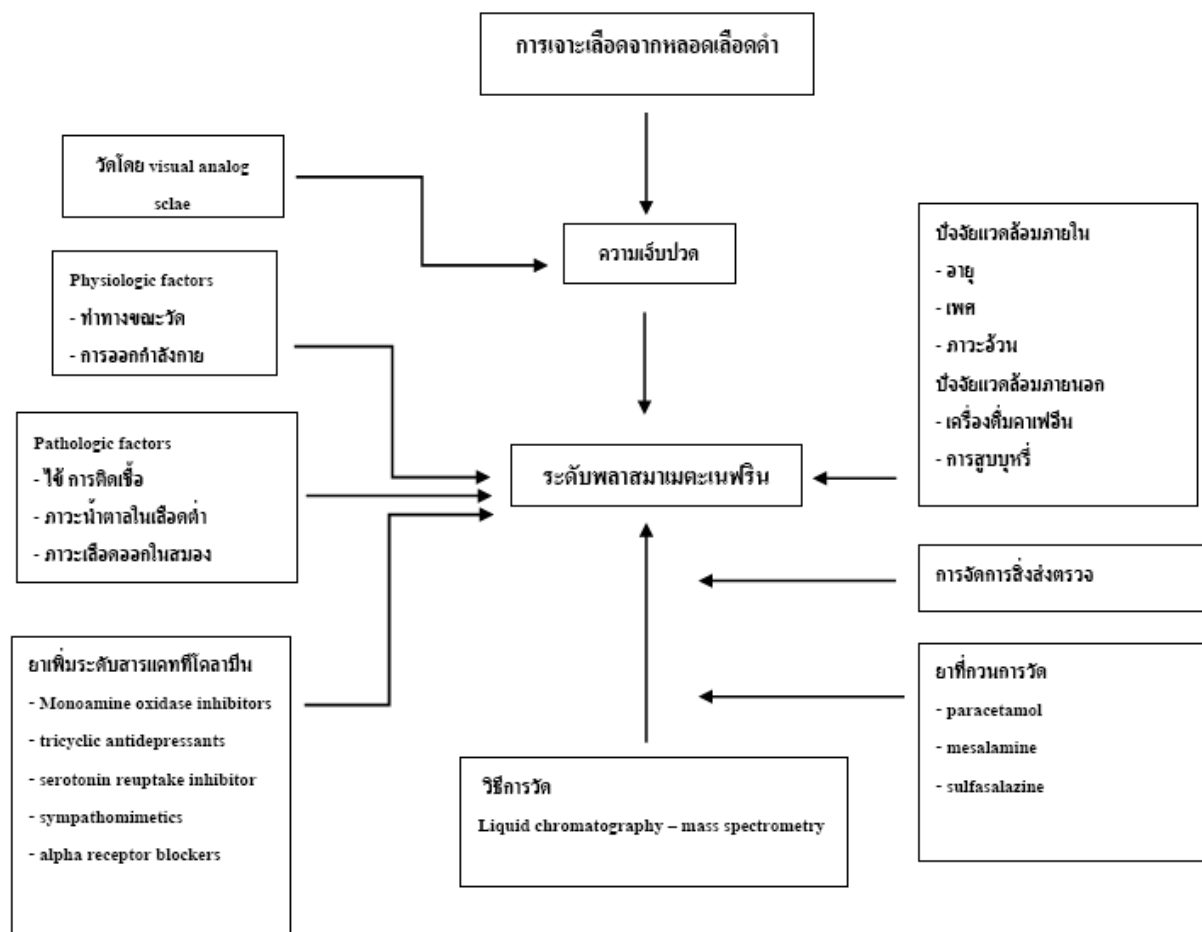
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย (Objectives)

- เพื่อศึกษาความแตกต่างระดับเมตะเนพรีนจากการเจาะเลือดทางหลอดเลือดดำโดยตรง และการดูแลจากสายสวนหลอดเลือด
- เพื่อศึกษาความระดับเจ็บปวดที่เกิดจากการเจาะเลือดทางหลอดเลือดดำ ว่ามีระดับเท่าใด
- เพื่อศึกษาระดับความเจ็บปวดว่ามีความสัมพันธ์กับระดับเมตะเนพรีนที่เปลี่ยนแปลงหรือไม่

1.4 สมมติฐาน (Hypothesis)

- **Null hypothesis** :ระดับเมตะเนพรีนจากการเจาะเลือดจากหลอดเลือดดำไม่ต่างกับระดับเมตะเนพรีนจากการดูแลจากสายสวนหลอดเลือด
- **Alternate hypothesis** :ระดับเมตะเนพรีนจากการเจาะเลือดจากหลอดเลือดดำต่างกับระดับเมตะเนพรีนจากการดูแลจากสายสวนหลอดเลือด

1.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย (Conceptual framework)



แผนภูมิที่ 1 แสดงกรอบแนวคิดในการวิจัย

1.6 ข้อตกลงเบื้องต้น (Assumption)

- ผู้ที่ทำการเจาะเลือดถือว่าเป็นผู้เชี่ยวชาญในการเจาะเลือด
- ผู้เข้าร่วมวิจัยถือว่าเป็นตัวแทนของคนไทยทั่วประเทศ

1.7 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่ใช้ในการวิจัย (Operational Definition)

- ระดับเมตะเนฟรินรวม หมายถึง ระดับเมตะเนฟรินและระดับนอร์เมตะเนฟริน
- ระดับเมตะเนฟรินสูง หมายถึง ระดับเมตะเนฟรินที่มีค่าเกิน 96.64 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร
- ระดับนอร์เมตะเนฟรินสูง หมายถึง ระดับนอร์เมตะเนฟรินที่มีค่าเกิน 163.05 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร

- Pheochromocytoma หมายถึง ก้อนเนื้องอกที่ต่อมหมวกไตชั้นใน
- Paraganglioma หมายถึง ก้อนเนื้องอกของ chromaffin cell ที่กลุ่มเส้นประสาทซิมพาเทติกที่สร้างนอร์เมตะเนฟรินเด่น
- ประวัติการเจาะเลือดยาก คือ ประวัติเจาะที่ต้องเจาะเลือดมากกว่า 1 ครั้งเพื่อให้ได้ประสบความสำเร็จ

1.8 รูปแบบการวิจัย (Research design)

การวิจัยเชิงทดลอง Experimental cross sectional study design

1.9 วิธีการวิจัยโดยย่อ

หลังจากผู้เข้าร่วมวิจัยให้ความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัย ผู้วิจัยทำการซักประวัติ บันทึกข้อมูลพื้นฐานในแบบสอบถาม จากนั้นจะให้ใบคำแนะนำเรื่องการงดอาหารเข้าก่อนมาทำการเจาะเลือด ยาบางชนิด เช่น พาราเซตามอลที่สามารถรบกวนการตรวจเลือดก่อนมาเจาะเลือด นอกจากนี้ต้องงดเครื่องดื่มคาเฟอีน การสูบบุหรี่ การออกกำลังกายหนัก และการทำงานในกะกลางคืน 1 วันก่อนมาเจาะเลือด

ในวันเจาะเลือด ผู้วิจัยวัดความดันโลหิตในท่านั่ง จับชีพจร ชั่งน้ำหนักและวัดส่วนสูงของผู้เข้าร่วมวิจัย โดยจะทำการเก็บตัวอย่างในช่วงเวลา 7 โมงเช้าถึง 9 โมงเช้าก่อนไปทำงานเพื่อลดตัวรบกวน จากนั้นผู้วิจัยจะใส่สายสวนหลอดเลือด ขนาด 22G x 25mm (Jelco® IV Catheters, Smiths Medical International Ltd., Ashford, Kent, UK) คาไว้ที่ข้อพับของผู้เข้าร่วมวิจัย ความดันโลหิตและชีพจรถูกวัดหลังจากใส่สายสวนหลอดเลือด ผู้เข้าร่วมวิจัยให้คะแนนความเจ็บปวดจากการเปิดสายสวนหลอดเลือดดำโดย visual analog scale จากนั้นผู้เข้าร่วมวิจัยจะนอนในห้องเงียบเป็นเวลา 30 นาที

หลังจากนอนครบ 30 นาที ผู้เข้าร่วมวิจัยจะทำการดูดเลือด 6 มิลลิลิตร จากสายสวนหลอดเลือดใส่หลอดเก็บเลือดชนิด EDTA (BD Vacutainer® blood collection tubes, Becton Drive, Franklin Lakes, NJ07417, USA) จากนั้นผู้วิจัยจะทำการเจาะเลือดและดูดเลือดโดยเข็มขนาด 22G x 25 mm (NIPRO CORPORATION, Hypodermic Needle, Osaka, Japan) จากเส้นเลือดข้อพับแขนอีกข้างหนึ่งปริมาณ 6 มิลลิลิตร ความดันโลหิตและชีพจรถูกวัด และผู้เข้าร่วมวิจัยต้องให้คะแนนความเจ็บปวดหลังเจาะเลือดเช่นกัน ทุกขั้นตอนจะมีการบันทึกเวลากำกับทุกครั้ง เลือดที่ได้จะถูกนำไปปั่นแยกเก็บพลาสมาโดยเครื่อง Hettich Zentrifugen, Tuttlingen, Germany ด้วยความเร็ว 2500 x g เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นทำการเก็บพลาสมา 1.5 มิลลิลิตรลงใน microcentrifuge tube

(Molecular BioProducts, Inc. San Diego, CA, USA) และเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส (BINDER GmbH, Tuttlingen, Germany)

1.10 ข้อพิจารณาทางจริยธรรม (Ethical consideration)

ใช้หลักจริยธรรมพื้นฐานอ้างอิงตาม Belmont Report ได้แก่ หลักการเคารพในบุคคล (Respect for person), หลักการให้คุณประโยชน์ (Beneficence) และหลักความเป็นธรรม (Justice)

1. หลักการเคารพในบุคคล (respect for person)

มีการให้ข้อมูลอย่างครบถ้วนทั้งวิธีการเตรียมตัว การเจาะเลือด และตอบคำถามข้อสงสัยผู้ที่สนใจเข้าร่วมวิจัยก่อนมีการเซ็นยินยอมมีการลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษร ทั้งนี้ ในใบยินยอมต้องไม่มีข้อความที่อาจให้ผู้วิจัยหรือสังกัดพันธุศาสตร์เกิดภัยอันตรายกับอาสาสมัคร และต้องไม่มีข้อความที่ให้อาสาสมัครยกสิทธิของตนให้กับผู้วิจัย เคารพความเป็นส่วนตัว (Respect for privacy) เช่น ไม่รูล้ำร่างกาย หรือไม่ถามเรื่องส่วนตัวโดยไม่จำเป็นต่อการวิจัย เก็บรักษาความลับของอาสาสมัคร (Respect for confidentiality) โดยการแสดงวิธีการเก็บรักษาเอกสารหรือข้อมูลของอาสาสมัคร มาตรการเก็บรักษาเอกสารหรือข้อมูลเกี่ยวกับผู้ป่วยจากบุคคลที่ไม่เกี่ยวข้อง มาตรการทำลายเอกสารหรือข้อมูลหลังเสร็จสิ้นการวิจัย ไม่มีส่วนลบหลู่ความเชื่อ ศาสนา ประเพณีและวัฒนธรรมใด ๆ ในโครงการวิจัยหลักการและเหตุผลที่ต้องทำวิจัย

2. หลักการให้คุณประโยชน์และโทษ (Beneficence/Non-maleficence)

ผู้เข้าร่วมวิจัยจะไม่ได้รับประโยชน์ใดๆ อาจเกิดความเสี่ยงต่อตัวผู้เข้าร่วมวิจัยเพียงเล็กน้อย คือความลับของผู้เข้าร่วมวิจัยอาจถูกเปิดเผย ผู้วิจัยจะเก็บรักษาความลับของผู้ร่วมวิจัย ทั้งนี้ ผลการศึกษาในวิจัยครั้งนี้จะมีประโยชน์ต่อคนไข้ที่จำเป็นต้องตรวจวัดระดับเมตาเนพรีนในเลือดเพื่อได้ค่าที่ถูกต้องภายในการเจาะครั้งเดียว

3. หลักของความยุติธรรม (Justice)

ต้องไม่แบ่งแยกกลุ่มตัวอย่างตามเพศ ฐานะ เชื้อชาติ สีผิว เพื่อให้การกระจายประโยชน์และความเสี่ยงเป็นไปอย่างเที่ยงธรรม มีเกณฑ์การคัดเข้าและการคัดออกในการศึกษาอย่างชัดเจน

ผู้ป่วยทุกรายจะได้รับการชี้แจงเกี่ยวกับงานวิจัยโดยละเอียด ในเอกสารคำอธิบายประกอบหนังสือยินยอม เพื่อใช้ประกอบการตัดสินใจในการเข้าร่วมการศึกษาวินิจฉัยและเซ็นชื่อยินยอมในเอกสารยินยอมรับการรักษาและเข้าร่วมโครงการวิจัย การปกปิดความลับของผู้ป่วย ทำโดยเก็บเอกสารงานวิจัยไว้ในตู้เอกสารที่ผู้เปิดได้มีเพียงผู้ทำวิจัยและอาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัยเท่านั้น

1.11 ข้อจำกัดทางการวิจัย (Limitation)

เป็นการทำในคนปกติ ไม่ได้ทำในผู้ป่วยความดันโลหิตสูงซึ่งอาจมีการตอบสนองที่แตกต่างไป

1.12 ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย (Expected benefit and application)

ทราบความแตกต่างของระดับพลาสมาเมตะเนพรีน จากการเจาะเลือดทั้ง 2 วิธี
นำไปประยุกต์ใช้ในทางเวชปฏิบัติทางคลินิกได้จริง เพื่อให้ได้วิธีการเก็บเลือดที่ถูกต้องสำหรับการส่ง
ตรวจระดับพลาสมาเมตะเนพรีน

1.13 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นและมาตรการแก้ไข (Obstacles and strategies to solve the problem)

ระดับความเจ็บปวดขึ้นอยู่กับความเชี่ยวชาญในการเจาะเลือดของผู้เจาะและความยากในการเจาะ
เลือด

วิธีแก้ไข ผู้ทำการเจาะเลือดจะเป็นผู้เชี่ยวชาญในการเจาะเลือด และเป็นคนเดียวที่จะทำการเจาะ
เลือดในงานวิจัยนี้



บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 การเจาะเลือดและการกระตุ้นระบบประสาทซิมพาเทติก

ปกติการที่เราได้รับสิ่งกระตุ้นที่ทำให้เราเจ็บปวด จะมีการกระตุ้นระบบประสาทซิมพาเทติก ซึ่งก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเลือดที่ไหลไปบริเวณผิวหนังและกล้ามเนื้อ รวมถึงมีการเปลี่ยนแปลงของความดันโลหิต อัตราการเต้นของหัวใจ การหลั่งของเหงื่อ และขนาดของรูม่านตา (28) A.R. Burton และคณะ (29) ได้ทำการทดสอบความต่างของการตอบสนองของระบบประสาทซิมพาเทติก ระหว่างการกระตุ้นความเจ็บปวดโดยการฉีดน้ำเกลือเข้าผิวหนังและเข้ากล้ามเนื้อ พบว่าการฉีดเข้ากล้ามเนื้อที่ความเจ็บปวดวัดโดย visual analog scale (VAS) ที่เฉลี่ย 4.9 ± 0.8 และระยะเวลา 358 ± 32 วินาที จะทำให้มีการเพิ่มขึ้นของ muscle sympathetic nerve activity ($43.9 \pm 10\%$) ความดันโลหิตที่สูงขึ้น ($5.4 \pm 1\%$) และอัตราการเต้นหัวใจที่เพิ่มขึ้น ($7 \pm 2\%$) อย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่การฉีดน้ำเกลือเข้าผิวหนัง โดยมีค่าความเจ็บปวดวัดโดย VAS ที่เฉลี่ย 4.9 ± 0.6 และระยะเวลานาน 464 ± 54 วินาที ทำให้มีการเพิ่มขึ้นของ muscle sympathetic nerve activity ($38.2 \pm 12.8\%$) ค่าความดันโลหิต ($5.1 \pm 2.1\%$) และอัตราการเต้นของหัวใจ ($5.6 \pm 2\%$) อย่างมีนัยสำคัญ แล้วการเจาะเลือดมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระบบประสาทซิมพาเทติกหรือไม่ก็น้อยเพียงใด

การศึกษาของ Kliszewicz และคณะ (30) ที่ทำการวัด heart rate variability ก่อนและหลังการเจาะเลือดพบว่าในช่วงที่มีการเจาะเลือด อัตราการเต้นของหัวใจเร็วขึ้นกว่าก่อนเจาะเลือดอย่างมีนัยสำคัญ และจะคงอยู่ประมาณ 10 นาที จากนั้นจะกลับสู่อัตราการเต้นหัวใจปกติ ซึ่งจากการวิจัยนี้อาจจะแปรได้ว่าการเพิ่มขึ้นของระบบประสาทซิมพาเทติกในช่วงของการเจาะเลือดจริง

2.2 ระบบประสาทซิมพาเทติกและการเปลี่ยนแปลงของระดับพลาสมาเมตะเนเฟริน นอร์เมตะเนเฟริน และ 3 เมทอกซีโทรามิน

การศึกษาของ Netter และคณะ (31) ในปี ค.ศ.1987 ที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของระดับแคททีโคลามีนจากการเจาะเลือดและภาวะเครียดทางจิตใจ พบว่าการเจาะเลือดโดยตรงมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของระดับเอพิเนเฟรินและนอร์เอพิเนเฟรินในพลาสมาทั้งในผู้ชายและผู้หญิงในคนปกติ ซึ่งบ่งบอกว่า การเจาะเลือดมีผลกระตุ้นระบบซิมพาเทติกทำให้ระดับแคททีโคลามีนในเลือดเพิ่มขึ้นจริง อย่างไรก็ตาม การเจาะเลือดมีผลต่อระดับพลาสมาเมตะเนเฟริน นอร์เมตะเนเฟริน ซึ่งเป็นเมตะบอไลต์ของแคททีโคลามีนหรือไม่

การศึกษาของ Eisenhofer และคณะ (32) ในปี ค.ศ. 1995 ที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของระดับพลาสมาเมตะเนเฟริน นอร์เมตะเนเฟรินในคนปกติเทียบกับคนที่มีภาวะต่างๆ ได้แก่ ภาวะความดัน

โลหิตสูงปฏุนภูมิ ภาวะน้ำท่วมปอด ภาวะหลังการผ่าตัดต่อมหมวกไตทั้ง 2 ข้าง และภาวะที่มีการกลายพันธุ์ของยีนที่ส่งผลต่อเอนไซม์ monoamine oxidase ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมตะบอลิซึมของแคทีโคลามีนในเลือด โดยทำการวัดช่วงก่อนให้และระหว่างการให้สารอะดรีนาลีน นอร์อะดรีนาลีนเข้าสู่เส้นเลือดเพื่อกระตุ้นระบบประสาทอัตโนมัติซิมพาเทติก รวมถึงการกระตุ้นระบบประสาทซิมพาเทติกจากวิธีอื่นๆ ได้แก่ การปั่นจักรยาน การรัดบริเวณขาและการดูวิดีโอเกม โดยเก็บเลือดก่อนและหลังการกระตุ้นระบบประสาทซิมพาเทติก โดยการวัดพลาสมาเมตะเนเฟรินและนอร์เมตะเนเฟรินใช้วิธี Liquid chromatography ผลพบว่า พลาสมาเมตะเนเฟรินและนอร์เมตะเนเฟรินมีการเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับระดับแคทีโคลามีนในเลือดหลังการกระตุ้นระบบประสาทซิมพาเทติก อย่างไรก็ตามการเพิ่มขึ้นของเมตะเนเฟรินและนอร์เมตะเนเฟรินจะเพิ่มขึ้นในระดับที่น้อยกว่าเมื่อเทียบกับระดับแคทีโคลามีน ซึ่งบ่งบอกว่าการเปลี่ยนแปลงของระดับพลาสมาเมตะเนเฟรินและนอร์เมตะเนเฟรินจะมีการเปลี่ยนแปลงที่ไว้น้อยกว่าระดับแคทีโคลามีนในเลือด นอกจากนี้เมื่อวัดระดับพลาสมาเมตะเนเฟรินหลังการให้สารอะดรีนาลีนในเลือดผลพบว่าการเพิ่มขึ้นของเมตะเนเฟรินซึ่งเป็นเมตะบอลิท์ของอะดรีนาลีนแคโรยละ 6 ของอะดรีนาลีนที่ให้ไปทางเส้นเลือด บ่งบอกว่าระดับเมตะเนเฟรินในเลือดที่วัดได้ ร้อยละ 90 มาจากการเมตะบอลิซึมที่เกิดขึ้นในต่อมหมวกไตชั้นในก่อนที่จะปล่อยเข้าสู่กระแสเลือด นอกจากนี้เมื่อวัดระดับพลาสมาเมตะเนเฟรินและนอร์เมตะเนเฟรินของคนที่ตัดต่อมหมวกไตทั้ง 2 ข้างพบการลดลงของระดับเมตะเนเฟรินร้อยละ 90 และระดับนอร์เมตะเนเฟรินลดลงร้อยละ 30-45 เมื่อเทียบกับคนปกติ ซึ่งทำให้การวัดระดับพลาสมาเมตะเนเฟรินและนอร์เมตะเนเฟรินช่วยในการวินิจฉัย pheochromocytoma/paraganglioma ที่ดีกว่าการวัดระดับแคทีโคลามีน อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษาการกระตุ้นระบบประสาทซิมพาเทติกก็สามารถกระตุ้นให้ระดับพลาสมาเมตะเนเฟรินและนอร์เมตะเนเฟรินเช่นกันแม้จะในสัดส่วนที่น้อยกว่าการกระตุ้นระดับแคทีโคลามีนในเลือด

การศึกษาของ Deutschbein และคณะในปี ค.ศ.2010 ได้ศึกษาปัจจัยต่างๆไม่ว่าจะเป็น เพศ อายุ น้ำหนักตัว ประจำเดือน การเจาะเลือด การออกกำลังกาย กาแฟ อาหารเข้า และท่าทางขณะเจาะเลือดที่มีผลต่อระดับพลาสมาเมตะเนเฟริน นอร์เมตะเนเฟริน โดยใช้วิธีวัดเป็น Radioimmunoassay โดยผู้เข้าร่วมวิจัยทั้งหมด 8 คน ได้ใส่สายสวนหลอดเลือด จากนั้นเก็บเลือดที่ 0, 15, 30, 60, 90 และ 120 นาที หลังใส่สายสวนและวัดระดับพลาสมาเมตะเนเฟรินและนอร์เมตะเนเฟริน ผลพบว่าระดับพลาสมาเมตะเนเฟรินและนอร์เมตะเนเฟรินไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างการเก็บเลือดแต่ละเวลาบ่งบอกว่าการใส่สายสวนแล้วเจาะเลือดเลยไม่มีผลต่อระดับพลาสมาเมตะเนเฟรินและนอร์เมตะเนเฟริน ในขณะที่เมื่อทำการวัดหลังให้ผู้เข้าร่วมวิจัยไปออกกำลังกายหนักเป็นเวลา 15 นาที ผลพบว่าการเพิ่มขึ้นของระดับพลาสมาเมตะเนเฟรินร้อยละ 82 หลังออกกำลังกาย และเพิ่มขึ้นลดลงเหลือร้อยละ 55 หลังจากพัก 15 นาทีหลังออกกำลังกาย ระดับพลาสมาเมตะเนเฟรินเพิ่มขึ้นร้อยละ 84 หลังการออกกำลังกายและเหลือร้อยละ 29 หลังการพัก 15 นาที แสดง

ให้เห็นว่าการใส่สายสวนหลอดเลือดและเจาะเลือดทันทีอาจกระตุ้นระบบประสาทซิมพาเทติกน้อยกว่าการออกกำลังกาย จากข้อมูลการศึกษานี้ทำให้พบว่าการเจาะเลือดมีผลเพียงเล็กน้อยต่อระดับพลาสมาเมตะเนเฟรินและนอร์เมตะเนเฟริน

ตารางที่ 3 วิธีการเจาะเลือดในการศึกษาต่างๆ

ผู้เขียน, ปี ค.ศ. (อ้างอิง)	วิธีการตรวจ	ท่าที่ใช้ขณะเจาะเลือด ระยะเวลาพักก่อนเจาะเลือด	วิธีการเจาะเลือด
Raber <i>et al</i> , 2000 (33)	HPLC	ท่านอนหลังพัก 20 นาที	ดูดจากสายสวนหลอดเลือดดำ
Lenders <i>et al</i> , 2002 (8)	HPLC	ท่านอนหลังพัก 20 นาที	ดูดจากสายสวนหลอดเลือดดำ
Sawka <i>et al</i> , 2002 (34)	LC-ECD	ไม่ได้ระบุ	ไม่ได้ระบุ
Eisenhofer <i>et al</i> , 2003, (35)	HPLC	ท่านอนหลังพัก 20 นาที	ดูดจากสายสวนหลอดเลือดดำ
Hickman <i>et al</i> , 2009 (9)	HPLC	ไม่ได้ระบุ	ไม่ได้ระบุ
Grouzmann <i>et al</i> , 2010 (10)	HPLC	ไม่ได้ระบุ	ดูดจากสายสวนหลอดเลือดดำ
Eisenhofer <i>et al</i> , 2011 (36)	LC-ECD	ไม่ได้ระบุ	ไม่ได้ระบุ
Christensen <i>et al</i> , 2011 (37)	EIA	ท่านั่ง	ดูดจากสายสวนหลอดเลือดดำ
Unger <i>et al</i> , 2012 (11)	EIA	ท่านอนหลังพัก 20 นาที	เจาะเลือดจากหลอดเลือดดำโดยตรง
Darr <i>et al</i> , 2014 (12)	HPLC- MS/MS	ท่านอนหลังพัก 20 นาที และ ท่านั่ง	ดูดจากสายสวนหลอดเลือดดำ
Tanaka <i>et al</i> , 2014 (13)	EIA	ไม่ได้ระบุ	ไม่ได้ระบุ
Kim Hye Jeong <i>et al</i> , 2015 (14)	LC-MS/MS	ท่านั่ง	เจาะเลือดจากหลอดเลือดดำโดยตรง
Barco <i>et al</i> , 2019 (38)	LC-MS/MS	ไม่ได้ระบุ	ไม่ได้ระบุ

หมายเหตุ HPLC; High Performance Liquid Chromatography, LC-ECD; Liquid chromatography- electrochemical detection, LC-MS/MS; Liquid chromatography mass spectrometry, HPLC- MS/MS; high performance liquid chromatography -tandem mass spectrometric detection, EIA- enzyme immunoassay

จากหลายงานวิจัยที่ทำการศึกษาระดับเมตะเนพรินในพลาสมา พบว่ามีความแตกต่างกันในแต่ละงานวิจัยในเรื่องของการเก็บสิ่งส่งตรวจ โดยส่วนใหญ่จะเป็นการดูดเลือดจากสายสวนหลอดเลือดดำและไม่ได้ระบุวิธีการเจาะ มีแค่งานวิจัยบางส่วนที่ระบุว่าเจาะเลือดจากหลอดเลือดดำโดยตรงดังแสดงในตารางที่ 3

ในแนวทางเวชปฏิบัติที่ตีพิมพ์ในปี ค.ศ. 2014 ของสมาคมต่อมไร้ท่อ (3) ได้แนะนำการตรวจระดับพลาสมาเมตะเนพรินรวม โดยแนะนำการเก็บเลือดในท่านอนแนะนำให้นอนราบ 30 นาทีก่อนทำการเจาะเลือด อย่างไรก็ตามในการเก็บเลือดเพื่อวินิจฉัยไม่ได้มีการแนะนำวิธีการเก็บเลือดว่าเจาะเลือดหรือดูดเลือดจากสายสวนหลอดเลือด อย่างไรก็ตาม ทางแนวทางเวชปฏิบัติได้แนะนำให้ติดตามคนไข้ทุกคนที่มีค่าบวกเมื่อเทียบกับค่าปกติโดยการพิจารณาติดตามขึ้นกับระดับพลาสมาเมตะเนพรินนอร์เมตะเนพรินที่สูงขึ้นร่วมกับอาการแสดง เนื่องจากดังที่กล่าวไปในบทที่ 1 ว่ามีหลายปัจจัยที่ทำให้ค่าสูงผิดปกติได้ นอกจากการหาปัจจัยที่ทำให้ค่าสูงและการควบคุมปัจจัยนั้นแล้ว ถ้าเจาะเลือดซ้ำแล้วค่ายังสูงทางแนวทางเวชปฏิบัติมีการแนะนำการทำ clonidine suppression test เพื่อแยกผลบวกจากผลบวกจริงในผู้ที่มีระดับพลาสมาเมตะเนพรินและนอร์เมตะเนพรินสูงเล็กน้อย ซึ่งในการทำ clonidine suppression test นี้ (39) ในกระบวนการทำการแนะนำให้ใส่สายสวนหลอดเลือดและนอนราบ 30 นาที เพื่อลดการกระตุ้นระบบประสาทซิมพาเทติกจากทุกปัจจัยรวมถึงจากการเจาะเลือด อย่างไรก็ตามการทำ clonidine suppression test ก็ยังต้องรอการตรวจสอบความแม่นยำในงานวิจัยอื่นๆที่เพิ่มขึ้น สรุปได้ว่า จากแนวทางเวชปฏิบัติก็ยังไม่มีการแนะนำอย่างชัดเจนในเรื่องของการเก็บเลือด

การศึกษาโดย Eijkelkamp และคณะ (40) ได้ทำการเปรียบเทียบระดับพลาสมาเมตะเนพริน นอร์เมตะเนพริน และ 3 เมทอกซีโทรามินที่วัดโดย liquid chromatography-tandem mass spectrometry ระหว่างการเจาะเลือดและการดูดเลือดจากการใส่สายสวนหลอดเลือดได้ โดยทำการศึกษาประชากร 22 คน ที่ไม่มีโรคประจำตัว พบว่า ระดับเมตะเนพรินจากการเจาะเลือดโดยตรงสูงกว่าจากการดูดเลือดจากสายสวนหลอดเลือด 0.02 นาโนโมลต่อลิตร หรือ 3.94 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร (95%CI = -0.004 ถึง 0.04 nmol/L, p-value= 0.006) ระดับนอร์เมตะเนพรินจากการเจาะเลือดโดยตรงสูงกว่าจากการดูดเลือดจากสายสวนหลอดเลือด 0.019 นาโนโมลต่อลิตรหรือ 3.4 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร (95%CI = -0.004 ถึง 0.077 nmol/L, p-value= 0.015) พบว่าความแตกต่างของระดับเมตะเนพรินและระดับนอร์เมตะเนพรินมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามค่ากลางความแตกต่างค่อนข้างน้อย ทางทีมวิจัยจึงสนใจและต้องการศึกษาเพิ่มเติมโดยการเพิ่มจำนวนตัวอย่างของประชากร การวัดความสอดคล้อง (agreement measurement) และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ (correlation measurement) ของระดับเมตะเนพรินทั้ง 2 วิธี และมีการประเมินคะแนนความ

เจ็บปวดโดยใช้ VAS เพื่อประเมินค่าความเจ็บปวดว่ามีความสัมพันธ์กับระดับเมตะเอนเฟรินในเลือดที่เปลี่ยนแปลงหรือไม่

2.3 การประเมินความเจ็บปวดจากการเจาะเลือด

จากงานวิจัยของ A.R.Burton และคณะ (29) พบว่าการฉีดยาน้ำเกลือเข้าผิวหนังต้องมีระดับความเจ็บปวดโดยวัดจาก visual analog scale อย่างน้อย 4-5 คะแนน และการกระตุ้นนานเกินกว่า 5-6 นาที จะมีการเพิ่มขึ้นของ sympathetic activity ทีมวิจัยจึงได้ตั้งสมมติฐานว่า ถ้าเจาะเลือดโดยใช้เวลาที่สั้นกว่า 5 นาทีและค่าความเจ็บปวดวัดโดย VAS ไม่เกิน 4 คะแนน คาดว่าระดับเมตะเอนเฟรินน่าจะไม่มีแตกต่างจากการดูดเลือดจากสายสวนเส้นเลือดดำ

ในส่วนการประเมินเรื่องความเจ็บปวด J.J.Meeuse และคณะ (41) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบการวัดค่าความเจ็บปวดโดยใช้ visual analog scale เปรียบเทียบกับ heart rate variability พบว่า heart rate variability parameter ไม่สัมพันธ์กับระดับความรุนแรงของความเจ็บปวด นอกจากนี้ K.Hamunen และคณะ (42) ได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ของระดับความเจ็บปวดที่เกิดจากการกระตุ้นด้วยความร้อนและความเย็นที่วัดโดย visual analog scale ที่ระดับต่างๆและค่า autonomic parameter ต่างๆโดยใช้ photoplethysmographic pulse wave amplitude และ อัตราการเต้นของหัวใจ พบว่าระดับ parameter ดังที่กล่าวไปจะช่วยแยกกลุ่มที่ระดับความเจ็บปวดมาก (VAS ค่าเฉลี่ย 8.1 คะแนน) กับกลุ่มระดับความเจ็บปวดปานกลาง (VAS ค่าเฉลี่ย 3.5 คะแนน) และกลุ่มระดับความเจ็บปวดไม่มาก (VAS ค่าเฉลี่ย 1.6 คะแนน) แต่ไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มระดับความเจ็บปวดกลางและระดับความเจ็บปวดไม่มาก เพราะฉะนั้นสามารถสรุปได้ว่าการใช้ VAS น่าจะเหมาะสมมากที่สุดสำหรับการวัดระดับความเจ็บปวดที่ไม่มาก

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 ระเบียบวิธีการวิจัย (Research methodology)

ประชากร (POPULATION) และตัวอย่าง (SAMPLE)

ประชากร(Population) ประชากรทั้งหมด

- ประชากรเป้าหมาย (Target population) ประชากรที่สุขภาพดี อายุมากกว่า 18 ปีและไม่มีโรคประจำตัว
- ประชากรตัวอย่าง (Sample population) ประชากรที่สุขภาพดี อายุมากกว่า 18 ปีและไม่มีโรคประจำตัว

กฎเกณฑ์ในการคัดเลือกเข้ามศึกษา (Inclusion criteria)

- อายุมากกว่า 18 ปี ทั้งเพศหญิงและชาย สุขภาพแข็งแรงที่ไม่มีโรคประจำตัว ได้แก่ ความดันโลหิตสูง โรคเบาหวาน โรคที่ต้องใช้ยาทางจิตเวช โรคที่เกี่ยวกับหัวใจและหลอดเลือด เช่น โรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด โรคภูมิคุ้มกันบกพร่อง (HIV) และมะเร็ง และโรคเกี่ยวกับระบบประสาทอัตโนมัติ ได้แก่ multiple system atrophy และไม่มีภาวะสมองเสื่อมสามารถประเมินคะแนนความเจ็บปวดได้
- ไม่ใช้ยา ได้แก่ monoamine oxidase inhibitor, serotonin reuptake inhibitor, tricyclic antidepressant, sympathomimetic alpha-receptor blockers

กฎเกณฑ์ในการคัดเลือกรับการศึกษา (Exclusion criteria)

- ผู้ป่วยตั้งครรภ์
- มีประวัติเจาะเลือดยาก

ขนาดตัวอย่าง

เนื่องจากการคำนวณความสัมพันธ์ของระดับเมตะเนพรินจาก 2 วิธีในการเจาะเลือด จึงใช้ Bland Altman analysis ในการคำนวณขนาดตัวอย่าง

$$95\%CI = \pm 1.96\sqrt{3S^2/N}$$

$$95\%CI = \pm 1.96 (\sqrt{3/N}) S$$

- N คือ ขนาดกลุ่มตัวอย่าง

- S คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

โดยที่เราต้องกำหนด Precision ของข้อมูล ในงานวิจัยนี้ เราต้องการ precision 0.5 S

$$N = 1.96^2 \times 3S^2 \div (0.5^2)(S^2)$$

$$N = 1.96^2 \times 3 \div (0.5^2)$$

$$N = 46$$

จากการแทนค่าในสูตรทำให้ได้กลุ่มตัวอย่างจำนวน 46 คน

คิด drop out ร้อยละ 10 จึงกำหนดขนาดกลุ่มตัวอย่าง 50 คน

การสังเกตและการวัด (Observation and measurement)

1. เก็บข้อมูลทั่วไปของผู้เข้าร่วมได้แก่อายุ น้ำหนัก ส่วนสูง อาชีพ เพศ โดยใช้แบบบันทึกข้อมูลแบบสอบถาม และผลทางห้องปฏิบัติการ และผลตรวจอื่นๆ
2. ประวัติการเจาะเลือด ว่ามีประวัติเจาะเลือดยากหรือไม่
3. ความดันโลหิตและอัตราการเต้นของหัวใจขณะพัก
4. การวัดความดันโลหิต โดยวัดในท่านอนหลังจากนอนพักมา 30 นาที และวัด 2 ครั้งที่แขนข้างเดิมก่อนการเจาะเลือด ใช้ค่าที่สูงสุดใน 2 ค่า

5.อัตราการเต้นหัวใจ ใช้วิธีการจับชีพจรใน 1 นาที

3.2 ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย

1) ประชาสัมพันธ์หาอาสาสมัครเข้าร่วมโครงการวิจัย โดยการติดป้ายประกาศเชิญชวนในบริเวณโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย และเชิญชวนโดยทีมผู้วิจัยโดยตรง

2) ขอความยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย ผู้วิจัยจะให้ข้อมูลเกี่ยวกับรายละเอียดงานวิจัยแก่ผู้เข้าร่วมโครงการด้วยตนเองพร้อมให้เอกสารชี้แจง ข้อมูลประกอบการตัดสินใจ เพื่อให้ผู้เข้าร่วมงานวิจัยรับทราบถึงขั้นตอนการดำเนินการวิจัย ความเสี่ยงและประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย และเปิดโอกาสให้ผู้เข้าร่วมโครงการซักถามจนหมดข้อสงสัย และให้เวลาผู้เข้าร่วมวิจัยทำการตัดสินใจโดยอิสระก่อนลงนามให้ความยินยอมเข้าร่วมงานวิจัย (Informed consent)

3) ซักประวัติ ตรวจร่างกาย ผลตรวจทางห้องปฏิบัติการเบื้องต้น ทบทวนข้อมูลเกณฑ์การคัดเข้าและคัดออก รวบรวมข้อมูลตามแบบบันทึกข้อมูล หลังจากผู้เข้าร่วมวิจัยให้ความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัย ผู้วิจัยทำการซักประวัติ บันทึกข้อมูลพื้นฐานในแบบสอบถาม จากนั้นจะให้ใบคำแนะนำเรื่องอาหารที่มีไขมันสูงที่ควรหลีกเลี่ยง 3 วัน ก่อนมาเจาะเลือด

4) การเตรียมตัวก่อนการทำการเจาะเลือด ได้แก่

- งดอาหารหลังเที่ยงคืน งดกาแฟ งดชา ดื่มได้เฉพาะน้ำเปล่า
- งดการออกกำลังกาย 1 วันก่อนหน้ามาเจาะเลือด
- งดการใช้ยาทุกชนิดก่อนมาเจาะเลือดรวมถึง paracetamol

5) ในวันทำการทดสอบ

5.1 ผู้เข้าร่วมวิจัยจะเข้าเอนนอนในห้องเงียบ จากนั้นนอนพัก 30 นาที และได้รับการวัดความดันโลหิต และวัดอัตราการเต้นของหัวใจ

5.2 ในวันเจาะเลือด ผู้วิจัยวัดความดันโลหิตในท่านั่ง จับชีพจร ชั่งน้ำหนักและวัดส่วนสูงของผู้เข้าร่วมวิจัย โดยจะทำการเก็บตัวอย่างในช่วงเวลา 7 โมงเช้าถึง 9 โมงเช้าก่อนไปทำงานเพื่อลดตัวกวน จากนั้นผู้วิจัยจะใส่สายสวนหลอดเลือด ขนาด 22G x 25mm (Jelco® IV Catheters, Smiths Medical International Ltd., Ashford, Kent, UK) คาไว้ที่ข้อพับของผู้เข้าร่วมวิจัย ความดันโลหิตและชีพจรถูกวัดหลังจากใส่สายสวนหลอดเลือด ผู้เข้าร่วมวิจัยให้คะแนนความเจ็บปวดจากการเปิดสายสวนหลอดเลือดค่าโดย visual analog scale จากนั้นผู้เข้าร่วมวิจัยจะนอนในห้องเงียบเป็นเวลา 30 นาที

หลังจากนอนครบ 30 นาที ผู้เข้าร่วมวิจัยจะทำการดูดเลือด 6 มิลลิลิตรจากสายสวนหลอดเลือดใส่หลอดเก็บเลือดชนิด EDTA (BD Vacutainer® blood collection tubes, Becton Drive,

Franklin Lakes, NJ07417, USA) จากนั้นผู้วิจัยจะทำการเจาะเลือดและดูดเลือดโดยเข็มขนาด 22G x 25 mm (NIPRO CORPORATION, Hypodermic Needle, Osaka, Japan) จากเส้นเลือดข้อพับแขนอีกข้างหนึ่งปริมาณ 6 มิลลิลิตร ความดันโลหิตและชีพจรถูกวัด และผู้เข้าร่วมวิจัยต้องให้คะแนนความเจ็บปวดหลังเจาะเลือดเช่นกัน ทุกขั้นตอนจะมีการบันทึกเวลากำกับทุกครั้ง เลือดที่ได้จะถูกนำไปปั่นแยกเก็บพลาสมาโดยเครื่อง Hettich Zentrifugen, Tuttlingen, Germany ด้วยความเร็ว 2500 x g เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นทำการเก็บพลาสมา 1.5 มิลลิลิตรลงใน microcentrifuge tube (Molecular BioProducts, Inc. San Diego, CA, USA) และเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส (BINDER GmbH, Tuttlingen, Germany)

เลือดทั้ง 4 หลอดจะส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการได้แก่ พลาสมาเมตาเนพรีน นอร์เมตาเนพรีน และ 3 - เมทอกซีโทรามิน โดยระบุตำแหน่งและวิธีที่เจาะ การวัด พลาสมาเมตาเนพรีน วัดโดยวิธี liquid chromatography- tandem mass spectrometry (LC-MS/MS)

3.3 การรวบรวมข้อมูล (Data collection)

- 1) ชักประวัติและเก็บข้อมูลตามแบบบันทึกข้อมูล
- 2) ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการต่าง ๆ ของผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยทุกรายจะถูกเก็บข้อมูลลงในระบบคอมพิวเตอร์เพื่อวิเคราะห์ทางสถิติต่อไป

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล (Data analysis)

ข้อมูลเชิงคุณภาพ

- ข้อมูลลักษณะนาม (nominal scale) ได้แก่ ลักษณะโดยทั่วไปของผู้ป่วย เช่น เพศ รายงานผลเป็นความถี่หรือร้อยละ ส่วนอายุ น้ำหนัก ส่วนสูง BMI และค่าความดันโลหิตรายงานเป็นค่า mean \pm SD
- ข้อมูลเพศ อายุ และค่าดัชนีมวลกาย มีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงค่าเมตาเนพรีนโดยใช้ Spearman's correlation
- ระดับความเจ็บปวดที่มีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงค่าเมตาเนพรีนโดยใช้ Spearman's correlation

ข้อมูลเชิงปริมาณ

- ค่าพลาสมาเมตาเนพรีนรวม ทั้ง 2 ค่า ที่ได้จากการเจาะเลือดและจากการดูดเลือดจากสายสวนหลอดเลือดดำ แล้วนำมาคำนวณความสัมพันธ์ที่ 2 ค่าว่ามีความ agreement เท่าไรโดยใช้ Bland Altman analysis

- ค่าพลาสมาเมเตนเฟรินรวม ทั้ง 2 ค่า ที่ได้จากการเจาะเลือดและจากการดูดเลือดจากสายสวนหลอดเลือดดำ นำมาคำนวณว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญหรือไม่โดยใช้ paired T-Test
- ค่าพลาสมาเมเตนเฟรินรวม ทั้ง 2 ค่า ที่ได้จากการเจาะเลือดและจากการดูดเลือดจากสายสวนหลอดเลือดดำ นำมาคำนวณว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญหรือไม่ระหว่างเพศชายและหญิง โดยใช้ student T-Test

โดยผู้วิจัยทำการวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรม SPSS version 26 (Windows, IBM Corp., Armonk, NY) ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 4 ชนิดของข้อมูลและสถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์

Endpoint		Statistical methods
Primary endpoint	Differences in plasma metanephrines level between blood collected by direct venipuncture and an indwelling intravenous cannula	Bland Altman Plot Paired T-Test
Secondary endpoint	Pain score by visual analog scale correlate with plasma metanephrines	Spearman's correlation
	Age, gender and BMI correlate with plasma metanephrines level	Spearman's correlation
	Gender difference of plasma metanephrines level	Unpaired T-test

บทที่ 4

ผลวิจัย

คุณลักษณะของประชากรศึกษา

เมื่อพิจารณาข้อมูลทั่วไปของประชากรที่นำมาศึกษาจากเกณฑ์การคัดเข้าในการศึกษาคือเพศชายและหญิงที่อายุมากกว่า 18 ปี ไม่มีโรคประจำตัว ไม่ได้ใช้ยาใดประจำ ได้จำนวนผู้เข้าร่วมวิจัยจำนวน 50 คน โดยแบ่งเป็นเพศชาย 25 คน คิดเป็นร้อยละ 50 ของผู้เข้าร่วมวิจัย อายุเฉลี่ยของผู้เข้าร่วมวิจัยคือ 28.98 ปี โดยช่วงอายุตั้งแต่ 23 ถึง 50 ปี น้ำหนักโดยเฉลี่ยคือ 64 กิโลกรัม และค่าดัชนีมวลกายโดยเฉลี่ยคือ 22.88 กิโลกรัมต่อตารางเมตร ระดับความดันโลหิตโดยเฉลี่ยของผู้เข้าร่วมวิจัยคือ 115.2/71.32 มิลลิเมตรปรอท อัตราการเต้นของหัวใจโดยเฉลี่ยของผู้เข้าร่วมวิจัยคือ 69.8 ครั้งต่อนาที

ตารางที่ 5 ลักษณะทั่วไปของผู้เข้าร่วมวิจัย

ข้อมูลทั่วไปของผู้เข้าร่วมวิจัย	ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
อายุ (ปี) (median (IQR))	27.5 (24-33)
น้ำหนัก (กิโลกรัม)	64.28 \pm 13.22
ค่าดัชนีมวลกาย (กิโลกรัมต่อตารางเมตร)	22.88 \pm 3.7
ความดันโลหิตซิสโตลิก (มิลลิเมตรปรอท)	115.2 \pm 11.16
ความดันโลหิตไดแอสโตลิก (มิลลิเมตรปรอท)	71.32 \pm 9.8
อัตราการเต้นหัวใจ (ครั้งต่อนาที)	69.88 \pm 10.2

ในกระบวนการเจาะเลือด การใส่สวนหลอดเลือดทำในข้อพับแขนขวา ร้อยละ 34 การเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำโดยตรงทำในข้อพับแขนขวาร้อยละ 68 จากการซักประวัติ ไม่มีผู้เข้าร่วมวิจัยมีประวัติเจาะเลือดยาก อย่างไรก็ตามมีผู้เข้าร่วมวิจัย 1 คนที่ใส่สายสวนหลอดเลือด และเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำโดยตรง ที่ข้อพับแขนขวาข้างเดียวกัน เนื่องจากไม่สามารถเจาะเลือดจากข้อพับแขนซ้ายได้ ระยะเวลาที่ใช้ในกระบวนการใส่สายสวนหลอดเลือด และเจาะเลือดดำมีค่ากลางที่ 1 นาที ในกระบวนการใส่สายสวนหลอดเลือด จำนวนเข็มที่ใช้ต่อคน ใช้จำนวน 1 เข็ม คิดเป็นร้อยละ 88 ใช้จำนวน 2 เข็ม คิดเป็นร้อยละ 10 และใช้จำนวน 3 เข็ม คิดเป็นร้อยละ 2 ในกระบวนการเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำโดยตรง จำนวนเข็มที่ใช้ต่อคน ใช้จำนวน 1 เข็ม คิดเป็นร้อยละ 92 ใช้จำนวน 2 เข็ม คิดเป็นร้อยละ 6 และ ใช้จำนวน 3 เข็ม คิดเป็นร้อยละ 2 ไม่มีความแตกต่างของความดันโลหิตซิสโต

ลิกและไดแอสโตลิกหลังการใส่สายสวนหลอดเลือดและการเจาะเลือดอย่างมีนัยสำคัญ ($p\text{-value} = 0.75$ และ $p\text{-value} = 0.54$ ตามลำดับ) แต่อัตราการเต้นหัวใจหลังใส่สายสวนหลอดเลือดเร็วกว่าหลังการเจาะเลือดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (HR after cannula 68/min, HR after venipuncture 62/min, $p\text{-value} < 0.001$) คะแนนความเจ็บปวดหลังการใส่สายสวนหลอดเลือดมีค่าน้อยกว่าหลังการเจาะเลือดโดยตรงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (median pain score after cannula 2 (1,3), median pain score after venipuncture 3 (2-5), $p\text{-value} < 0.001$) ดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 6 ความแตกต่างวิธีการ ระยะเวลาและความดันโลหิต จากการเก็บเลือดทั้ง 2 วิธี

	ช่วงใส่สายสวนหลอดเลือด	ช่วงเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำโดยตรง	p-value
ตำแหน่ง			
หลอดเลือดดำข้อพับขวา	17 (34%)	34 (68%)	0.021*
ระยะเวลาที่ใช้ median (นาที)	1	1	0.897
จำนวนเข็มที่ใช้			
1	44 (88%)	46 (92%)	0.480
2	5 (10%)	3 (6%)	
3	1 (2%)	1 (2%)	
คะแนนความเจ็บปวด (median, IQR)	2 (1, 3)	3 (2, 5)	<0.001*
ความดันโลหิตซิสโตลิก (มิลลิเมตรปรอท)	115.68 \pm 12.85	115.24 \pm 10.9	0.752
ความดันโลหิตไดแอสโตลิก (มิลลิเมตรปรอท)	72 \pm 9.28	71.36 \pm 8.1	0.536
อัตราการเต้นหัวใจ (ครั้งต่อนาที)	68.64 \pm 10.68	62.34 \pm 8.23	<0.001*

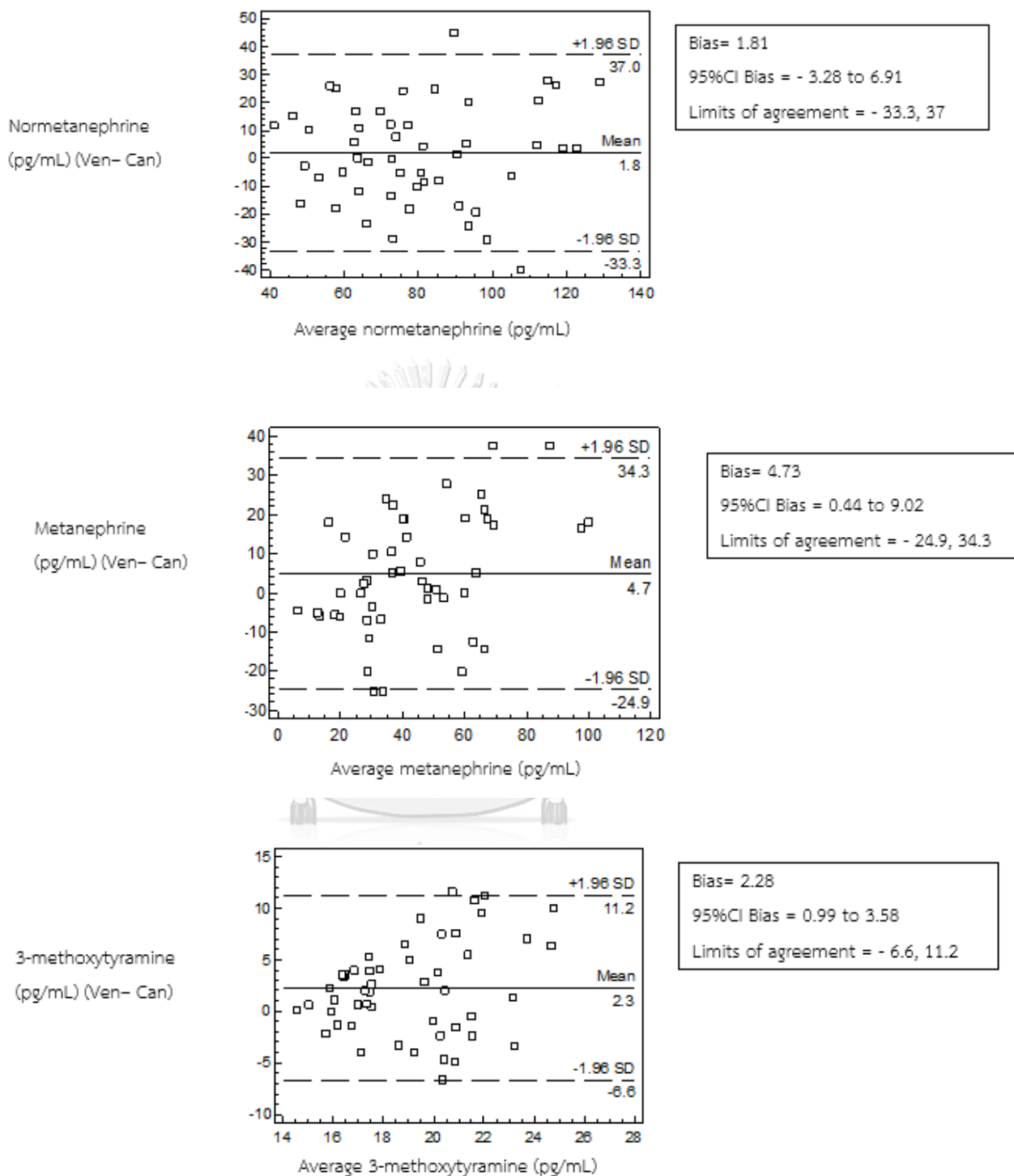
ระดับพลาสมาเมตะเนฟริน นอร์เมตะเนฟริน และ 3-เมทอกซีไทรามีน

ค่าเฉลี่ยของระดับพลาสมาเมตะเนฟริน นอร์เมตะเนฟริน และ 3 เมทอกซีไทรามีน จากเลือดที่ได้จากสายสวนหลอดเลือด มีค่า 41.24 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร 78.78 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตรและ

17.97 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ค่าเฉลี่ยของระดับพลาสมาเมตะเนฟริน นอร์เมตะเนฟริน และ 3 เมทอกซีไทรามีน จากเลือดที่ได้จากการเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำโดยตรง มีค่า 45.97 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร 80.6 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตรและ 20.25 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ค่าเฉลี่ยของระดับพลาสมา นอร์เมตะเนฟรินจากทั้ง 2 วิธีไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (mean difference 1.81 pg/mL, 95%CI -3.28,6.91, p-value 0.478) อย่างไรก็ตามระดับพลาสมาเมตะเนฟรินและเมทอกซีไทรามีนที่มาจากการดูดเลือดจากสายสวนหลอดเลือดมีค่าต่ำกว่าจากการเจาะเลือดโดยตรงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Plasma MN mean difference 4.73 pg/mL, 95%CI 0.44, 9.02, p-value 0.031, Plasma 3-MT mean difference 2.28, 95% CI 0.99, 3.58, p-value 0.001) ดังแสดงในตารางที่ 8 เมื่อนำค่าความแตกต่างระหว่าง 2 วิธีและค่าเฉลี่ยระหว่าง 2 วิธีมาวาด Bland Altman Plot เพื่อดู limit of agreement พบว่า ระดับพลาสมาเมตะเนฟรินมีค่า limit of agreement ระหว่างการเจาะเลือด 2 วิธี -24.9 ถึง 34.3 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร ระดับนอร์เมตะเนฟรินค่า limit of agreement ระหว่างการเจาะเลือด 2 วิธี -33.3 ถึง 37 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร และระดับพลาสมา 3 เมทอกซีไทรามีนมีค่า limit of agreement ระหว่างการเจาะเลือด 2 วิธี -0.99 ถึง 3.58 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งจะเห็นว่าค่ากระจายอยู่ทั้งบนและล่างของค่าเฉลี่ยความแตกต่าง บ่งบอกว่าระดับพลาสมาเมตะเนฟริน นอร์เมตะเนฟริน และ 3-เมทอกซีไทรามีนจากการเจาะเลือดจาก 2 วิธีไม่มีอคติที่สอดคล้องกัน และค่าส่วนใหญ่อยู่ใน $\pm 1.96SD$ ดังแสดงในรูปภาพที่ 4

ตารางที่ 7 ค่าแตกต่างระดับพลาสมาเมตะเนฟรินรวมจากการเก็บเลือดทั้ง 2 วิธี

ระดับพลาสมา	จากสายสวนหลอดเลือด	จากการเจาะเลือดโดยตรง	ค่าเฉลี่ยความแตกต่าง	ร้อยละของการเปลี่ยนแปลง (95%CI)	p-value
Metanephrine	41.24 \pm 19.44	45.97 \pm 25.35	4.73	15.55 (0.76, 30.35)	0.031*
Normetanephrine	78.78 \pm 23.11	80.6 \pm 24.29	1.81	5.22 (-1.77, 12.22)	0.478
3-methoxytyramine	17.97 \pm 2.91	20.25 \pm 3.91	2.28	14.9 (7.54, 22.27)	0.001*



รูปภาพที่ 4 Bland Altman Plot analysis ระหว่างค่าพลาสมาเมตะเนฟริน นอร์เมตะเนฟริน และ 3-เมทอกซีไทรามินจากการเจาะเลือด (Ven) และจากสายสวนหลอดเลือด (Can)

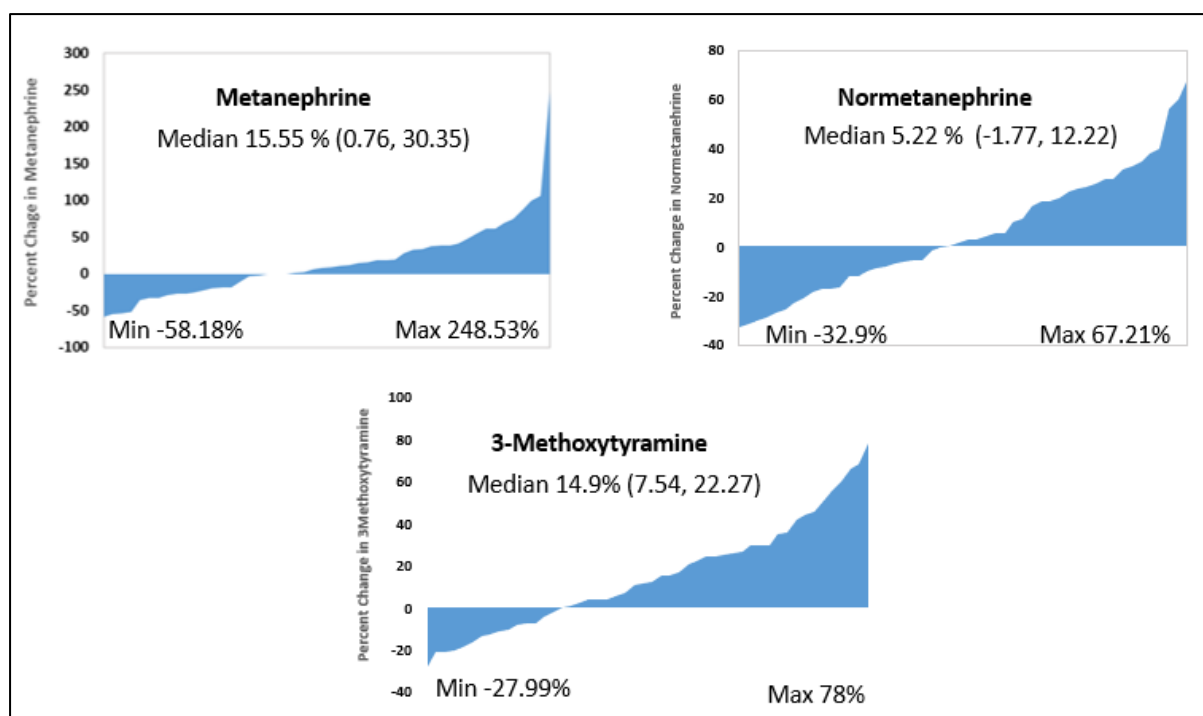
ระดับพลาสมาเมตะเนพรินจากเลือดที่เก็บโดยการดูดเลือดจากสายสวนหลอดเลือดอยู่ในค่าปกติทั้งหมด อย่างไรก็ตาม ระดับพลาสมาเมตะเนพรินจากตัวอย่างที่เก็บโดยการเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำโดยตรงมีค่าสูงกว่าค่าปกติถึง 3 คน โดยระดับพลาสมาเมตะเนพรินจากสายสวนหลอดเลือด และการเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำโดยตรงที่ค่าสูงกว่าค่าปกติ (0-96.64 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร) เป็นดังนี้

1. 89.21 และ 105.77 คะแนนความเจ็บปวด 4
2. 90.78 และ 108.87 คะแนนความเจ็บปวด 3
3. 68.53 และ 106.16 คะแนนความเจ็บปวด 2

ระดับพลาสมา นอร์เมตะเนพรินอยู่ในเกณฑ์ปกติทั้งหมด อย่างไรก็ตาม ระดับพลาสมา 3-เมทอกซีไทรามินจากการดูดเลือดจากสายสวนหลอดเลือดพบค่าสูงกว่าปกติถึง 18 คน ในขณะที่ระดับพลาสมา 3-เมทอกซีไทรามินจากการเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำโดยตรงพบค่าสูงกว่าปกติถึง 30 คน โดย 13 คนมีค่าสูงกว่าค่าปกติจากทั้ง 2 วิธี โดยค่าที่ผิดปกติอยู่ระหว่าง 18.6-24.9 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสูงกว่าค่าปกติ 0.2-4 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 แสดงจำนวนผู้เข้าร่วมวิจัยที่มีระดับพลาสมาเมตะเนพริน นอร์เมตะเนพรินและ 3 เมทอกซีไทรามินสูงกว่าค่าปกติ

ระดับพลาสมา (ค่าปกติ)	จำนวนผู้เข้าร่วมที่มีระดับเลือดสูงกว่าค่าปกติ		
	จากสายสวนหลอดเลือด	จากการเจาะเส้นเลือดดำโดยตรง	จากทั้ง 2 วิธี
Metanephrine (0-96.64 pg/mL)	0/50	3/50	0/50
Normetanephrines (0-163.05 pg/mL)	0/50	0/50	0/50
3 -Methoxytyramine (0 -18.4 pg/mL)	18/50	30/50	13/50



รูปภาพที่ 5 waterfall plot แสดงการเปลี่ยนแปลงของระดับพลาสมาเมตะเนพริน นอร์เมตะเนพริน และ 3 เมทอกซีไทรามินจากการเจาะหลอดเลือดดำโดยตรงเทียบกับการดูดเลือดจากสายสวนหลอดเลือดโดยคิดเป็นร้อยละ

การเปลี่ยนของระดับพลาสมาเมตะเนพรินจากการเจาะเลือดโดยตรงเมื่อเทียบกับการดูดเลือดจากสายสวน โดยพบว่าระดับพลาสมาเมตะเนพรินเพิ่มขึ้น 29 คนใน 50 คน (ร้อยละ 58) โดยอัตราการเพิ่มขึ้นตั้งแต่ร้อยละ 1.7 ถึงร้อยละ 75 ระดับพลาสมานอร์เมตะเนพรินเพิ่มขึ้น 26 คนใน 50 คน (ร้อยละ 52) โดยอัตราการเพิ่มขึ้นตั้งแต่ร้อยละ 3.1 ถึงร้อยละ 67 ระดับพลาสมา 3 เมทอกซีไทรามินเพิ่มขึ้น 34 คนใน 50 คน (ร้อยละ 68) โดยอัตราการเพิ่มขึ้นตั้งแต่ร้อยละ 0.5 ถึงร้อยละ 78 ในขณะที่เกี่ยวกับ พบการลดลงของทั้งระดับพลาสมาเมตะเนพริน ระดับพลาสมานอร์เมตะเนพริน และระดับพลาสมา 3 เมทอกซีไทรามินลดลงเช่นกัน แต่ลดลงในสัดส่วนที่น้อยกว่า และร้อยละของการเปลี่ยนแปลงน้อยกว่าเมื่อเทียบกับส่วนที่เพิ่มขึ้นดังแสดงในรูปภาพที่ 5

ระดับความเจ็บปวด

คะแนนความเจ็บปวดหลังเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำโดยตรงไม่มีความสัมพันธ์กับระดับพลาสมาเมตะเนพริน นอร์เมตะเนพริน ยกเว้นคะแนนความเจ็บปวดหลังเจาะเลือดที่มีความสัมพันธ์

กับระดับพลาสมา 3 เมทอกซีไทรามีนอย่างมีนัยสำคัญ ($p\text{-value} = 0.014$) อย่างไรก็ตามระดับความสัมพันธ์ค่อนข้างต่ำ ($r = 0.346$) ดังแสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 9 ความสัมพันธ์ระหว่างคะแนนความเจ็บปวดและระดับพลาสมาเมตะเนฟรีน
ระดับนอร์เมตะเนฟรีนและ ระดับ 3 เมทอกซีไทรามีน

	คะแนนความเจ็บปวด			
	Venipuncture		Difference	
	r	p-value	r	p-value
Metanephrine	0.015	0.918	-0.122	0.400
Normetanephrine	0.062	0.668	-0.081	0.577
3-Methoxytyramine	0.346	0.014*	0.194	0.177

ปัจจัยอื่นๆ ได้แก่ เพศ อายุ และค่าดัชนีมวลกาย

อายุและค่าดัชนีมวลกายไม่มีความสัมพันธ์กับระดับพลาสมาเมตะเนฟรีน นอร์เมตะเนฟรีน และ 3 เมทอกซีไทรามีน อย่างไรก็ตาม เพศชายมีความสัมพันธ์กับระดับพลาสมาเมตะเนฟรีนทั้งจาก ดูดจากสายสวนหลอดเลือดและการเจาะเลือดอย่างมีนัยสำคัญ ($r = -0.301$, $p\text{-value} = 0.034$ และ $r = -0.428$, $p\text{-value} = 0.002$ ตามลำดับ) ดังแสดงในตารางที่ 10

ตารางที่ 10 ความสัมพันธ์ระหว่างเพศชาย อายุ และค่าดัชนีมวลกายและการเปลี่ยนแปลงของระดับ
พลาสมาเมตะเนฟรีน นอร์เมตะเนฟรีน และ 3 เมทอกซีไทรามีน

	เพศ (ชาย)		อายุ		ค่าดัชนีมวลกาย	
	r	p-value	r	p-value	r	p-value
Difference						
Metanephrine	-0.301	0.034*	-0.192	0.182	-0.100	0.488
Normetanephrine	-0.428	0.002*	-0.064	0.660	0.143	0.322
3-Methoxytyramine	-0.245	0.086	-0.084	0.563	0.197	0.170

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างเพศชายและหญิงพบว่า พลาสมาเมตะเนพรินและนอร์เมตะเนพรินที่ได้จากการเจาะเลือดดำโดยตรงของเพศชายสูงกว่าในเพศหญิงอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ในเพศชายพบมีการเปลี่ยนแปลงของระดับพลาสมาเมตะเนพรินและนอร์เมตะเนพรินระหว่างเลือดที่คูดจากสายสวนหลอดเลือดและการเจาะเลือดโดยตรงมีค่าสูงกว่าเพศหญิงอย่างมีนัยสำคัญดังแสดงในตารางที่ 11

ตารางที่ 11 เปรียบเทียบระดับพลาสมาเมตะเนพรินรวมระหว่างเพศชายและหญิง

	เพศชาย (n=25)	เพศหญิง (n=25)	ค่าเฉลี่ยความแตกต่าง (95%CI)	p-value
Cannula				
Metanephrine	47.22 ± 20.71	35.25 ± 16.38	11.97 (1.35, 22.59)	0.028*
Normetanephrine	79.84 ± 22.03	77.73 ± 24.56	2.11 (-11.16, 15.38)	0.750
3-Methoxytyramine	17.43 ± 2.34	18.51 ± 3.35	-1.08 (-2.73, 0.57)	0.192
Venipuncture				
Metanephrine	56.54 ± 27	35.4 ± 18.73	21.14 (7.93, 34.36)	0.002*
Normetanephrine	89.33 ± 26.9	71.87 ± 17.95	17.46 (4.41, 30.51)	0.010*
3-Methoxytyramine	20.91 ± 4.63	19.59 ± 2.98	1.31 (-0.91, 3.54)	0.239
Difference				
Metanephrine	9.32 ± 16.31	0.14 ± 12.48	9.17 (0.92, 17.43)	0.030*
Normetanephrine	9.49 ± 16.35	- 5.86 ± 16.33	15.35 (6.05, 24.64)	0.002*
3-Methoxytyramine	3.48 ± 4.77	1.09 ± 4.06	2.39 (-0.12, 4.91)	0.062

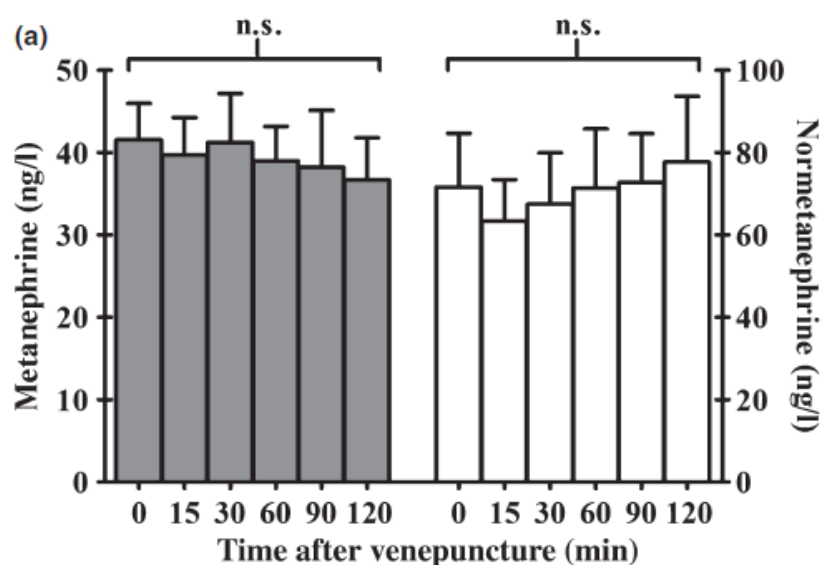
บทที่ 5

อภิปราย สรุปผลวิจัย และข้อเสนอแนะ

อภิปรายผล

ในปัจจุบันวิธีการวินิจฉัย pheochromocytoma/paraganglioma แนะนำให้เจาะเลือด ตรวจระดับเมตะเนฟรีน นอร์เมตะเนฟรีน และ 3 เมทอกซีไทรามีนในเลือด หรือการเก็บปัสสาวะ 24 ชั่วโมงส่ง urine fractionated metanephrines อย่างใดอย่างหนึ่ง (3) โดยที่การตรวจเลือดด้วย Liquid chromatography เป็นวิธีที่มีค่าความไวและค่าความจำเพาะที่สูงกว่าการตรวจด้วยวิธีอื่น (17) อย่างไรก็ตาม พบว่ามีปัจจัยหลายอย่างที่อาจทำให้เกิดผลบวกложงได้ไม่ว่าจะเป็นท่าทางขณะเจาะเลือด ยาบางชนิดที่มีผลต่อแคททีโคลามีนเมตะบอลิซึม เป็นต้น (19, 21) ซึ่งความเจ็บปวดการเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำโดยตรงสามารถกระตุ้นระบบประสาทซิมพาเทติกได้ (30, 42)

จากการทบทวนวรรณกรรม พบว่าเคยมีการศึกษาวิจัยดูผลของการเจาะเลือดต่อระดับเมตะเนฟรีนและนอร์เมตะเนฟรีนในเลือดในผู้เข้าร่วมวิจัยที่ไม่มีโรคประจำตัว 8 คน (43) โดยผู้ทำวิจัยได้ใส่สายสวนหลอดเลือดและเก็บเลือดทันที และจากนั้นที่ 15, 30, 60, 90 และ 120 นาที ผลพบว่าค่าเลือดที่ 0 นาที และเวลาอื่นๆ ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญดังแสดงในรูปภาพที่ 6 อย่างไรก็ตามวิธีการตรวจระดับเมตะเนฟรีนและนอร์เมตะเนฟรีนในงานวิจัยนี้ใช้ radioimmunoassay นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยโดย Eijkelenkamp และคณะ (40) โดยการเปรียบเทียบระดับเมตะเนฟรีน นอร์เมตะเนฟรีน และ 3 เมทอกซีไทรามีนในเลือดจากการดูดเลือดการเจาะเลือดดำโดยตรงและจากสายสวนหลอดเลือดในผู้เข้าร่วมวิจัยทั้งหมด 22 คน ผลคือพบความแตกต่างของระดับพลาสมาเมตะเนฟรีนและนอร์เมตะเนฟรีนอย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่พบความแตกต่างของระดับพลาสมา 3-เมทอกซีไทรามีน ที่วัดโดยวิธี liquid chromatography-tandem mass spectrometry โดยระดับพลาสมาเมตะเนฟรีนและนอร์เมตะเนฟรีนสูงกว่าในเลือดที่เจาะจากเส้นเลือดดำโดยตรงดังแสดงในตารางที่ 13 อย่างไรก็ตาม ความแตกต่าง (median difference) ระหว่าง 2 วิธีมีค่าแตกต่างในระดับที่น้อยมาก ดังนั้น ผู้ทำวิจัยแนะนำว่าการเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำโดยตรงสามารถทำแทนการใส่สายสวนหลอดเลือดได้



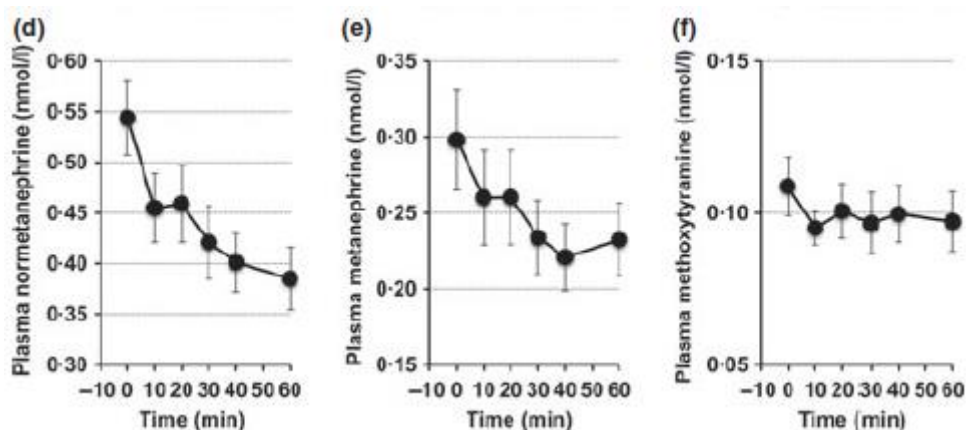
รูปภาพที่ 6 ผลวิจัยระดับของเมตะเนพรินและนอร์เมตะเนพรินที่วัดหลังจากใส่สายสวนหลอดเลือดดำที่ 0, 15, 30, 60, 90 และ 120 นาที
อ้างอิงจาก (43)

ตารางที่ 12 ผลการวิจัยของ Eijkelenkamp และคณะเทียบกับผลวิจัยปัจจุบัน

ผลการวิจัยของ Eijkelenkamp (40)				
PMNs (pg/mL)	Cannula Median	Vein Median	Median difference (95%CI)	p-value
Metanephrine	26.22	28.39	3.94 (-0.788, 7.88)	0.006*
Normetanephrines	63.02	72.7	3.4 (-0.73, 14.1)	0.015*
3-Methoxytyramine	2.0	2.34	0 (-0.66, 0.66)	0.910
ผลการวิจัยปัจจุบัน				
PMNs (pg/mL)	Cannula Mean±SD	Vein Mean±SD	Mean difference (95%CI)	p-value
Metanephrine	41.24±19.44	45.97±25.35	4.73	0.031*
Normetanephrine	78.78±23.11	80.6±24.29	1.81	0.478
3-Methoxytyramine	17.97±2.91	20.25±3.91	2.28	0.001*

จากงานวิจัยนี้ พบว่าระดับพลาสมาเมเตนเฟรินจากเลือดที่เจาะทางเส้นเลือดดำโดยตรงมีค่าสูงกว่าเลือดที่ดูดจากสายสวนหลอดเลือดที่ขาไว้อย่างมีนัยสำคัญ แม้ว่าค่าเฉลี่ยความแตกต่างจะน้อยก็ตาม อย่างไรก็ตามพบว่าผู้เข้าร่วมวิจัย 3 คนที่มีค่าระดับพลาสมาเมเตนเฟรินในเลือดจากสายสวนหลอดเลือดปกติ แต่มีค่าสูงกว่าค่าปกติในเลือดที่มาจากการเจาะเลือดโดยตรง ซึ่งมีความสำคัญในทางปฏิบัติเนื่องจากแม้ค่าจะสูงเล็กน้อย ในเวชปฏิบัติแนะนำว่าควรตรวจติดตามและตรวจยืนยันซ้ำหรือทำ clonidine suppression test เพื่อยืนยันการวินิจฉัย (3, 8)

การเปลี่ยนแปลงของระดับเมเตนเฟรินและ 3 เมทอกซีโทรามินที่พบในงานวิจัยนี้ อาจเป็นการเปลี่ยนแปลงของระดับพลาสมาเมเตนเฟรินที่มีความแปรปรวนตามปกติในแต่ละเวลาหรือไม่ ในงานวิจัยของ Darr และคณะ(12) ได้ทำการดูดเลือดจากสายสวนหลอดเลือดเพื่อตรวจระดับพลาสมาเมเตนเฟรินในท่านั่ง และท่านอน หลังนอนราบเป็นระยะเวลา 10 20 30 40 และ 60 นาที ในผู้เข้าร่วมวิจัยที่ แข็งแรงไม่มีโรคประจำตัว และผู้ที่มีวินิจฉัยเป็น PGL เดิม พบว่าระดับพลาสมาเมเตนเฟรินและนอร์เมเตนเฟรินมีแนวโน้มลดลงตามระยะเวลาที่ผ่านไป จากท่านั่งสู่ท่านอนราบ โดยพบความแตกต่างของระดับพลาสมาเมเตนเฟรินมีนัยสำคัญระหว่างท่านั่ง และหลังนอนราบ 20 นาที ($P\text{-value} = 0.036$) ในขณะที่ความแตกต่างของระดับพลาสมาเมเตนเฟรินมีนัยสำคัญระหว่างท่านั่ง และหลังนอนราบ 30 นาที ($P\text{-value} = 0.027$) ระดับพลาสมา 3 เมทอกซีโทรามิน ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างท่านั่งและท่านอน อย่างไรก็ตามพบว่าพลาสมาเมเตนเฟรินและนอร์เมเตนเฟริน ระหว่างระยะเวลาหลังนอนราบ 30 นาทีและ 60 นาที ค่าไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยระดับพลาสมาเมเตนเฟรินและนอร์เมเตนเฟรินระหว่าง 30-60 นาที มีการเปลี่ยนแปลงที่น้อยกว่า 0.05 nmol/L (10 pg/mL สำหรับระดับพลาสมาเมเตนเฟรินและ 9 pg/mL สำหรับระดับพลาสมา นอร์เมเตนเฟริน) ในขณะที่ระดับพลาสมา 3 เมทอกซีโทรามินแทบไม่มีความแตกต่างกันที่ 30 และ 60 นาที ดังแสดงในรูปภาพที่ 7 การเปลี่ยนแปลงที่พบในงานวิจัยนี้ก็อาจเป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงตามปกติของระดับพลาสมาเมเตนเฟรินของแต่ละเวลาได้ ไม่ได้เกิดจากการเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำเพียงปัจจัยเดียว



รูปภาพที่ 7 ระดับพลาสมาเมตะเนพริน นอร์เมตะเนพรินและระดับ 3 เมทอกซีไทรามิน หลังนอนราบ เป็นระยะเวลา 10 20 30 40 และ 60 นาที อ้างอิงจาก(12)

ในทางตรงกันข้าม ระดับพลาสมา นอร์เมตะเนพรินไม่แตกต่างกันระหว่างการเก็บเลือด 2 วิธี ก่อนหน้านี้มีการทำวิจัยวัดระดับเอพิเนพรินและนอร์เอพิเนพรินเพื่อตอบสนองต่อการเจาะเลือด และความเครียดทางจิตใจ พบว่า การเจาะเลือดสามารถกระตุ้นการเพิ่มขึ้นทั้งเอพิเนพรินและนอร์เอพิเนพรินในคนปกติที่ไม่เป็นความดันสูง ซึ่งไม่เป็นตามสมมติฐานที่ตั้งไว้ คือการเจาะเลือดถ้ามีการเพิ่มขึ้นของระดับเมตะเนพรินแล้ว ระดับนอร์เมตะเนพรินควรขึ้นเช่นกัน อย่างไรก็ตาม อาจอธิบายจากการเมตะบอลิซึมที่แตกต่างกันระหว่างเอพิเนพรินและนอร์เอพิเนพริน การเมตะบอลิซึมของเอพิเนพริน และนอร์เอพิเนพริน เกิดได้ 2 ตำแหน่งคือ ตำแหน่งปลายเส้นประสาทบริเวณที่แคททีโคลามีนโดปปล่อยออกมา และตำแหน่งนอกเส้นประสาท การเมตะบอลิซึมเกิดได้จาก 2 เอนไซม์คือ monoamine oxidase (MAO) และ Catechol-O-methyltransferase (COMT) ซึ่งผลที่ได้หลังจากผ่านแต่ละเอนไซม์คือ dihydroxymandelic acid (จาก MAO) และ เมตะเนพรินและนอร์เมตะเนพริน (จาก COMT) ซึ่งจะพบ COMT ในเนื้อเยื่อที่ไม่ใช่ระบบเส้นประสาทมากกว่า โดยพบว่าการเกิด O-methylation เกิดมากที่สุดที่ต่อมหมวกไตชั้นใน (adrenal medulla) มีการศึกษาในหนูทดลองเปรียบเทียบการเมตะบอลิซึมผ่าน MAO และ COMT พบว่านอร์เอพิเนพรินจะมีเมตะบอลิซึมที่ปลายเส้นประสาทมากกว่านอกเส้นประสาทโดยที่เกิดผ่าน MAO มากกว่า O-methylation ในขณะที่เอพิเนพรินจะเกิดเมตะบอลิซึมผ่าน O-methylation ดีกว่านอร์เอพิเนพริน และเมตะบอลิซึมผ่าน MAO ได้ประสิทธิภาพน้อยกว่านอร์เอพิเนพริน (44) ซึ่งอาจอธิบายที่ระดับนอร์เมตะเนพรินไม่แตกต่างกันระหว่าง 2 วิธี เนื่องจากนอร์เอพิเนพรินมีการเมตะบอลิซึมผ่าน MAO ร่วมด้วยทำให้ระดับนอร์เมตะเนพรินไม่เปลี่ยนแปลง ในขณะที่ระดับพลาสมาเมตะเนพรินแตกต่างกันระหว่าง 2 วิธี

ระดับพลาสมา 3 เมทอกซีไทรามีนระหว่างการเจาะเลือด 2 วิธีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามค่าเฉลี่ยความแตกต่างคือ 2.28 พิโคกรัมต่อมิลลิตรเท่านั้น ซึ่งไม่มีความสำคัญในทางเวชปฏิบัติ อย่างไรก็ตาม จากผลการวิจัยนี้ยังพบว่าถ้าใช้ค่า reference range 0-18.4 pg/mL พบว่าหนึ่งในสามของผู้เข้าร่วมวิจัยมีค่า 3 เมทอกซีไทรามีนเกินค่าปกติในพลาสมาจากการดูดซับสว่นหลอดเลือด และมีจำนวนถึง 30 คนที่มีค่าเกินเมื่อวิเคราะห์พลาสมาจากการเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำโดยตรง โดยมี 13 คนที่ระดับพลาสมา 3 เมทอกซีไทรามีนสูงกว่าค่าปกติจากพลาสมาจากการเจาะเลือดทั้ง 2 วิธี สาเหตุที่เป็นไปได้คืออาหารที่มีแคทีโคลามีนสูง จากงานวิจัยก่อนหน้านี้ได้ทดลองให้ผู้เข้าร่วมวิจัยทานอาหารที่มีแคทีโคลามีนสูงได้แก่ กลัวย สับปะรด และถั่ว walnut เทียบกับคนที่หลีกเลี่ยงอาหารที่มีแคทีโคลามีนสูง ผลพบว่าทำให้ระดับพลาสมา 3 เมทอกซีไทรามีนทั้งแบบ free form และ conjugated form สูงขึ้นประมาณ 2 เท่าและ 3 เท่าตามลำดับ ซึ่งในงานวิจัยนี้ แนะนำให้ผู้เข้าร่วมวิจัยงดอาหารมื้อเช้าก่อนมาเจาะเลือดและกาแฟเท่านั้น ไม่ได้เตรียมเรื่องการหลีกเลี่ยงอาหารที่มีแคทีโคลามีนสูง

งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยแรกที่น่าจะเน้นความเจ็บปวดที่วัดโดย visual analog scale ขณะเจาะเลือดโดยตรงและหาความสัมพันธ์กับระดับพลาสมาเมตะเนเฟรินรวม ซึ่งผลพบว่าคะแนนความเจ็บปวดไม่สัมพันธ์กับระดับพลาสมาเมตะเนเฟรินและนอร์เมตะเนเฟริน รวมถึงค่าความเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บเลือด 2 วิธี แต่คะแนนความเจ็บปวดมีความสัมพันธ์กับระดับพลาสมา 3 เมทอกซีไทรามีนจากพลาสมาที่ได้จากเส้นเลือดดำ อย่างไรก็ตามคะแนนความเจ็บปวดไม่มีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของระดับพลาสมา 3 เมทอกซีไทรามีนระหว่างการเก็บเลือด 2 วิธี สมมติฐานที่อาจพอจะอธิบายได้คือ

1. ระดับความเจ็บปวดในแต่ละคนต่างกัน
2. การวัดคะแนนความเจ็บปวดโดย visual analog scale ไม่มีความแม่นยำพอ เนื่องจากคะแนนความเจ็บปวดจากเจาะเลือดต่ำ
3. มีสาเหตุอื่นๆนอกเหนือจากความเจ็บปวดที่ทำให้ระดับพลาสมาเมตะเนเฟรินและ 3 เมทอกซีไทรามีนเปลี่ยนแปลง ไม่ว่าจะเป็นความกังวล ความกลัวเข็ม เป็นต้น ซึ่งอาจมีผลต่อระดับระบบประสาทซิมพาเทติกทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของระดับพลาสมาเมตะเนเฟรินและ 3 เมทอกซีไทรามีน การตรวจเพิ่มเติมเพื่อประเมินระบบประสาทซิมพาเทติก เช่น การตรวจวัดเหงื่อบริเวณมือ เป็นต้น อาจช่วยทำให้เกิดความเข้าใจมากขึ้น

จากผลงานวิจัยนี้ พบว่าอายุและมวลร่างกาย (BMI) ไม่สัมพันธ์กับระดับพลาสมาเมตะเนเฟริน นอร์เมตะเนเฟริน และ 3-เมทอกซีไทรามีน ซึ่งผลวิจัยไม่สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ ที่พบว่าอายุมีความสัมพันธ์กับระดับพลาสมาเมตะเนเฟรินและนอร์เมตะเนเฟริน กล่าวคืออายุที่เยอะขึ้นสัมพันธ์กับระดับพลาสมาเมตะเนเฟรินและนอร์เมตะเนเฟรินที่สูงขึ้น น้ำหนักตัวที่เยอะมีความสัมพันธ์กับระดับ

พลาสมาโน้อร์เมตะเนพรีน โดยพบว่ากลุ่ม BMI > 30 kg/m² ระดับพลาสมาโน้อร์เมตะเนพรีนสูงกว่ากลุ่ม BMI ≤ 25 kg/m² และ BMI 25-30 kg/m² อย่างมีนัยสำคัญ (43) สาเหตุที่งานวิจัยนี้ผลไม่สอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมา เนื่องจากอายุของผู้เข้าร่วมวิจัยส่วนใหญ่อยู่ในวัย 20-30 ปี รวมถึงค่าเฉลี่ย BMI อยู่ที่ 22 kg/m² โดยมีผู้เข้าร่วมวิจัย 1 คนที่มี BMI เกิน 30 kg/m²

จากผลงานวิจัย พบว่าเพศชายสัมพันธ์กับระดับพลาสมาโน้อร์เมตะเนพรีนและโน้อร์เมตะเนพรีนเมื่อเปรียบเทียบกับเพศหญิงพบระดับพลาสมาโน้อร์เมตะเนพรีนและโน้อร์เมตะเนพรีนสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ความแตกต่างของระดับพลาสมาโน้อร์เมตะเนพรีนและโน้อร์เมตะเนพรีนระหว่างวิธีการเก็บเลือดเพศชายมีค่าสูงกว่าเพศหญิงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ งานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่าเพศชายมีความสัมพันธ์กับระดับพลาสมาโน้อร์เมตะเนพรีน และพบระดับพลาสมาโน้อร์เมตะเนพรีนที่สูงกว่าเพศหญิงอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามไม่พบความสัมพันธ์ของเพศกับระดับพลาสมาโน้อร์เมตะเนพรีน (43)

จุดแข็งของการวิจัย

การศึกษาวิจัยนี้เป็น experimental cross sectional study โดยศึกษาความแตกต่างของระดับพลาสมาโน้อร์เมตะเนพรีน โน้อร์เมตะเนพรีน และ 3 เมทอกซีโทรามินระหว่างการดูดเลือดจากสายสวนหลอดเลือดและการเจาะจากเส้นเลือดดำโดยตรง เพื่อดูว่าความเจ็บปวดจากการเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำมีผลต่อระดับพลาสมาโน้อร์เมตะเนพรีนรวมหรือไม่ ซึ่งจากการทบทวนวรรณกรรมมีงานวิจัยที่เคยตีพิมพ์จำนวน 2 ฉบับที่เคยตีพิมพ์ก่อนหน้านี้ (40, 43) ผลการศึกษาจากงานวิจัยทั้ง 2 ฉบับได้ผลที่ไม่เป็นไปในทางเดียวกัน งานวิจัยนี้จึงจัดทำเพื่อตอบคำถามดังกล่าวข้างต้นให้ชัดเจนมากขึ้น

งานวิจัยนี้ได้เพิ่มจำนวนผู้เข้าร่วมวิจัยมากขึ้นกว่างานวิจัยที่ผ่านมา กลางคือทั้งหมด 50 คน โดยงานวิจัยก่อนหน้านี้มีผู้เข้าร่วมวิจัยที่ดูเรื่องผลการเจาะเลือด 8 คน (43) และ 22 คน (40) จำนวนผู้วิจัยที่เพิ่มขึ้น ทำให้การวิเคราะห์ทางสถิติได้ผลที่ชัดเจนขึ้น แม้ว่าช่วงทำการศึกษาวิจัยอยู่ในช่วงการระบาดของโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา (COVID-19) แต่สามารถเก็บจำนวนผู้เข้าวิจัยได้ครบตามกำหนด

นอกจากนี้งานวิจัยนี้ยังได้นำการวัดคะแนนความเจ็บปวดจากการเจาะเลือดที่วัดโดย visual analog scale มาหาความสัมพันธ์ของการเปลี่ยนแปลงของระดับพลาสมาโน้อร์เมตะเนพรีนรวมว่ามีความสัมพันธ์กันหรือไม่

การวัดระดับพลาสมาโน้อร์เมตะเนพรีน โน้อร์เมตะเนพรีนและ 3 เมทอกซีโทรามินใช้เครื่อง Liquid Chromatography-Mass spectrometry ซึ่งเป็นวิธีการวัดมาตรฐานในปัจจุบัน รวมถึงที่มีค่าความไวและความจำเพาะมากที่สุดเมื่อเทียบกับวิธีอื่นๆ นอกจากนี้ตัวอย่างเลือดทั้งหมด ได้รับการตรวจในครั้งเดียวพร้อมกัน ทำให้ไม่มี inter-assay variation

ข้อจำกัดในการวิจัย

1. งานวิจัยนี้ศึกษาในผู้เข้าร่วมวิจัยที่ไม่มีความดันโลหิตสูง ซึ่งในทางเวชปฏิบัติการเจาะเลือดระดับพลาสมาเมเตนเฟริน นอร์เมเตนเฟริน และ 3 เมทอกซีไทรามีนในผู้ที่มีอาการสงสัย pheochromocytoma / paraganglioma ซึ่งมักจะมีมีความดันโลหิตสูงร่วมด้วย การเปลี่ยนแปลงของระดับพลาสมาเมเตนเฟรินรวมในผู้ที่มีความดันโลหิตสูงอาจต่างกับผู้ที่ไม่มีความดันโลหิตสูง

2. ความหลากหลายของผู้เข้าร่วมวิจัยน้อย เนื่องจากต้องการผู้ที่ไม่ได้มีโรคประจำตัว ทำให้อายุของผู้เข้าร่วมวิจัยส่วนใหญ่อยู่ในช่วงอายุ 20 ถึง 40 ปี รวมไปถึงดัชนีมวลกายส่วนใหญ่อยู่ในเกณฑ์ปกติ มีส่วนน้อยที่มีภาวะน้ำหนักตัวเกิน ทำให้การวิเคราะห์ผลของอายุและน้ำหนักต่อระดับพลาสมาเมเตนเฟรินรวมไม่สามารถเห็นความแตกต่างในแต่ละช่วงอายุและดัชนีมวลกายได้

สรุปผลการวิจัย

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า การเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำส่งผลให้ระดับพลาสมาเมเตนเฟรินและ 3 เมทอกซีไทรามีนสูงขึ้นเมื่อเทียบกับการดูดเลือดจากสายสวนหลอดเลือดอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามไม่มีผลต่อระดับพลาสมา นอร์เมเตนเฟริน แม้ว่าความแตกต่างจะน้อย แต่การเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำโดยตรงทำให้มีระดับพลาสมาเมเตนเฟรินมีค่าผิดปกติในผู้เข้าร่วมวิจัยทั้งหมด 3 คน ระดับความเจ็บปวดไม่สัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของระดับพลาสมาเมเตนเฟริน นอร์เมเตนเฟริน และ 3 เมทอกซีไทรามีน

อายุและดัชนีมวลกายไม่มีความสัมพันธ์กับระดับพลาสมาเมเตนเฟริน นอร์เมเตนเฟริน และ 3 เมทอกซีไทรามีน เพศชายมีระดับพลาสมาเมเตนเฟรินและนอร์เมเตนเฟริน รวมถึงการเปลี่ยนแปลงหลังเจาะเลือด มีค่าสูงกว่าเพศหญิงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ข้อเสนอแนะ

1. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงระดับเมเตนเฟริน นอร์เมเตนเฟริน และ 3 เมทอกซีไทรามีนในประชากรที่มีความดันโลหิตสูง

2. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงระดับเมเตนเฟริน นอร์เมเตนเฟริน และ 3 เมทอกซีไทรามีนในประชากรที่มีความหลากหลายทั้งอายุและดัชนีมวลกาย

3. นอกจากการประเมินความเจ็บปวดจากการเจาะเลือดว่ามีผลต่อระดับพลาสมาเมเตนเฟริน นอร์เมเตนเฟริน และ 3 เมทอกซีไทรามีนหรือไม่ การประเมินความกังวลจากการเจาะเลือด เช่น การทำแบบสอบถาม หรือการประเมินระบบประสาทซิมพาเทติกเช่นการตรวจ sweat testing เพื่อหาปัจจัยอื่นๆที่มีผลต่อระดับพลาสมาเมเตนเฟริน นอร์เมเตนเฟริน และ 3 เมทอกซีไทรามีน

4. การให้คำแนะนำเรื่องการหลีกเลี่ยงอาหารที่มีแคททีโคลามีนสูงเพิ่มเติม เพื่อดูผลต่อระดับพลาสมา 3 เมทอกซีไทรามิน ว่ามีค่าที่ผิดปกติลดลงหรือไม่





แบบบันทึกข้อมูลวิจัย 1

เกณฑ์การคัดเลือกเพื่อเข้าวิจัย

หมายเหตุ: ผู้เข้าร่วมวิจัยจำเป็นต้องผ่านเกณฑ์การคัดเลือกทุกข้อ

1. อายุมากกว่า 18 ปี	<input type="checkbox"/> ผ่าน <input type="checkbox"/> ไม่ผ่าน
2. สุขภาพแข็งแรงที่ไม่มีโรคประจำตัว ได้แก่ ความดันโลหิตสูง โรคเบาหวาน โรคที่ต้องใช้ยาทางจิตเวช โรคที่เกี่ยวกับหัวใจและหลอดเลือด เช่น โรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด โรคภูมิคุ้มกันบกพร่อง (HIV) และมะเร็ง และโรคเกี่ยวกับระบบประสาทอัตโนมัติ ได้แก่ multiple system atrophy และไม่มีภาวะสมองเสื่อมสามารถประเมินคะแนนความเจ็บปวดได้	<input type="checkbox"/> ผ่าน <input type="checkbox"/> ไม่ผ่าน
3. ไม่ใช้ยา ได้แก่ monoamine oxidase inhibitor, serotonin reuptake inhibitor, tricyclic antidepressant, sympathomimetic alpha-receptor blockers	<input type="checkbox"/> ผ่าน <input type="checkbox"/> ไม่ผ่าน
4. ภาวะตั้งครรภ์	<input type="checkbox"/> ผ่าน <input type="checkbox"/> ไม่ผ่าน
5. ประวัติเจาะเลือดยาก	<input type="checkbox"/> ผ่าน <input type="checkbox"/> ไม่ผ่าน

ผู้ป่วยสามารถเข้าร่วมงานวิจัยได้หรือไม่ ☐ ได้ ☐ ไม่ได้เนื่องจาก

.....

แบบบันทึกข้อมูลวิจัย 2

วันที่ (วัน/เดือน/ปี)/...../.....

เลขที่
อายุ ปี
เพศ	<input type="checkbox"/> ชาย (1) <input type="checkbox"/> หญิง (2)
น้ำหนัก ส่วนสูง	น้ำหนัก กิโลกรัม ส่วนสูง เซนติเมตร BMI... กิโลกรัม/ตารางเมตร
ความดันโลหิต	SBP/DBP MAP.....
อัตราการเต้นของหัวใจ ครั้งต่อนาที

ขั้นตอนที่ 1 เปิดเส้นสายสวนหลอดเลือด

เวลาเปิดเส้น	น.
เวลาที่ทำเสร็จ	น.
ระยะเวลา	นาที
ขนาดเข็มสายสวนหลอดเลือด	
จำนวนเข็มที่ใช้	
คะแนนความเจ็บปวด (1-10)	
ความดันโลหิตหลังทำ	mmHg
อัตราการเต้นของหัวใจหลังทำ	ครั้งต่อนาที
ผู้เจาะเลือด	

ขั้นตอนที่ 2 ช่วงเวลานอนราบ

เวลาเริ่มนอนน

เวลาดูเลือดจากสายสวนหลอดเลือด.....น

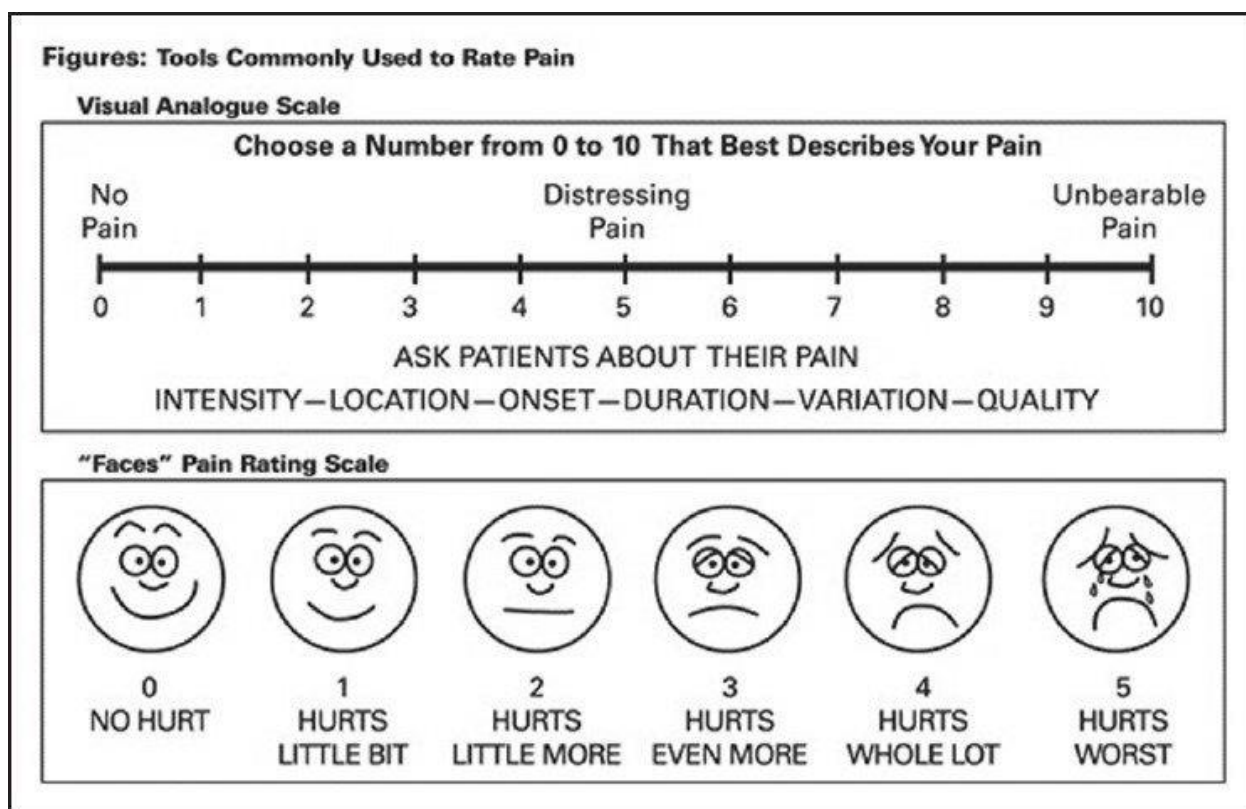
ระยะเวลาอนก่อนดูดเลือด.....นาที

ขั้นตอนที่ 3 เจาะเลือดจากสายสวนหลอดเลือด

เวลาเจาะเลือด	น.
เวลาที่ทำเสร็จ	น.
ระยะเวลา	นาที
ขนาดเข็มเจาะเลือด	
จำนวนเข็มที่ใช้	
คะแนนความเจ็บปวด (1-10)	
ความดันโลหิตหลังทำ	mmHg
อัตราการเต้นของหัวใจหลังทำ	ครั้งต่อนาที
ผู้เจาะเลือด	

แบบประเมินความเจ็บปวดโดยใช้ visual analog scale

เลขที่.....



วิธีการตรวจระดับพลาสมาเมตะเนเฟรินโดยวิธี Liquid chromatography tandem mass spectrometry

วิธีการตรวจระดับเมตะเนเฟรินโดยวิธี liquid chromatography mass spectrometry ใช้เครื่อง Spectrometer ของบริษัท Shimadzu ประเทศญี่ปุ่น โดยใช้ระบบ Shimadzu FCV-11AL พลาสมาเมื่อเข้าไปในเครื่อง จะมีการสกัดแยกสารภายในคอลัมน์ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยใช้คอลัมน์ของบริษัท ClinMass® analytical column รุ่น MS 11030 พลาสมาที่นำมาวิเคราะห์จะถูกชะล้างผ่านทาง mobile phase A และ mobile phase B โดยใช้สารที่ผลิตจากบริษัท ClinMass® ประเทศเยอรมัน ปริมาตรพลาสมาที่ฉีดเข้าสู่เครื่องคือ 50 ไมโครลิตร อัตราการแยกสารคือ 600 ไมโครลิตรต่อนาที ขั้นตอนการทำ Liquid chromatography เป็นดังนี้ พลาสมาที่ถูกวิเคราะห์ร้อยละ 5-30 จะวิ่งอยู่ในคอลัมน์โดย mobile phase A ส่วนที่เหลืออยู่ในคอลัมน์ mobile phase B เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นร้อยละ 30 ของพลาสมาจะอยู่ในคอลัมน์ mobile phase A เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นลดลงเหลือร้อยละ 5 ภายในเวลา 3 นาทีและรอให้สารเข้าสู่ระดับสมดุลในคอลัมน์ mobile phase A ในเวลา 1 นาที เครื่องทำงานโดยวิธี multiple reaction monitoring ซึ่งเป็นโหมดที่ทำโดยการแตกประจุของสารที่สนใจ 2 ครั้งเพื่อให้เกิดความจำเพาะเจาะจงต่อสารที่ต้องการวิเคราะห์ โดยใช้โหมดประจุบวก โดยตั้งแรงดันไฟฟ้าที่ 4.5 กิโลโวลต์ collision-induced dissociation (CID) gas จะคงไว้ที่ระดับ 230 กิโลพาสคาล แก๊สที่พ่นเข้าไปถูกตั้งไว้ที่อัตรา 3 ลิตรต่อนาที อัตราของ heating gas อยู่ที่ 15 ลิตรต่อนาที อุณหภูมิของ interface, desolvation line และ heat block คือ 200 และ 400 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการทำ mass transition คือ 0.1 วินาที ระบบ software ที่ใช้ในการประมวลผลมาจากบริษัท Shimadzu ประเทศญี่ปุ่น Calibration ทำโดยสาร Clinical® Serum Calibrators จากบริษัท ClinMass® การควบคุมคุณภาพทำโดย ClinChek® Serum Controls

พลาสมาจากผู้เข้าร่วมวิจัยถูกวิเคราะห์พร้อมกัน Intra-assay coefficients of variability ของระดับพลาสมาเมตะเนเฟริน นอร์เมตะเนเฟรินและ 3 เมทอกซีโทราซีนมีค่าน้อยกว่าร้อยละ 10



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บรรณานุกรม

1. Stenstrom G, Svardsudd K. Pheochromocytoma in Sweden 1958-1981. An analysis of the National Cancer Registry Data. *Acta Med Scand.* 1986;220(3):225-32.
2. Plouin PF, Fitzgerald P, Rich T, Ayala-Ramirez M, Perrier ND, Baudin E, et al. Metastatic pheochromocytoma and paraganglioma: focus on therapeutics. *Horm Metab Res.* 2012;44(5):390-9.
3. Lenders JW, Duh QY, Eisenhofer G, Gimenez-Roqueplo AP, Grebe SK, Murad MH, et al. Pheochromocytoma and paraganglioma: an endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(6):1915-42.
4. Peaston RT, Lai LC. Biochemical detection of phaeochromocytoma: should we still be measuring urinary HMMA? *J Clin Pathol.* 1993;46(8):734-7.
5. Lenders JW, Keiser HR, Goldstein DS, Willemsen JJ, Friberg P, Jacobs MC, et al. Plasma metanephrines in the diagnosis of pheochromocytoma. *Ann Intern Med.* 1995;123(2):101-9.
6. Eisenhofer G, Goldstein DS, Kopin IJ, Crout JR. Pheochromocytoma: rediscovery as a catecholamine-metabolizing tumor. *Endocr Pathol.* 2003;14(3):193-212.
7. Darr R, Kuhn M, Bode C, Bornstein SR, Pacak K, Lenders JWM, et al. Accuracy of recommended sampling and assay methods for the determination of plasma-free and urinary fractionated metanephrines in the diagnosis of pheochromocytoma and paraganglioma: a systematic review. *Endocrine.* 2017;56(3):495-503.
8. Lenders JW, Pacak K, Walther MM, Linehan WM, Mannelli M, Friberg P, et al. Biochemical diagnosis of pheochromocytoma: which test is best? *JAMA.* 2002;287(11):1427-34.
9. Hickman PE, Leong M, Chang J, Wilson SR, McWhinney B. Plasma free metanephrines are superior to urine and plasma catecholamines and urine catecholamine metabolites for the investigation of phaeochromocytoma. *Pathology.* 2009;41(2):173-7.
10. Grouzmann E, Drouard-Troalen L, Baudin E, Plouin PF, Muller B, Grand D, et al. Diagnostic accuracy of free and total metanephrines in plasma and fractionated

metanephrines in urine of patients with pheochromocytoma. *Eur J Endocrinol.* 2010;162(5):951-60.

11. Unger N, Hinrichs J, Deutschbein T, Schmidt H, Walz MK, Mann K, et al. Plasma and urinary metanephrines determined by an enzyme immunoassay, but not serum chromogranin A for the diagnosis of pheochromocytoma in patients with adrenal mass. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2012;120(8):494-500.

12. Darr R, Pamporaki C, Peitzsch M, Miehle K, Prejbisz A, Peczkowska M, et al. Biochemical diagnosis of phaeochromocytoma using plasma-free normetanephrine, metanephrine and methoxytyramine: importance of supine sampling under fasting conditions. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2014;80(4):478-86.

13. Tanaka Y, Isobe K, Ma E, Imai T, Kikumori T, Matsuda T, et al. Plasma free metanephrines in the diagnosis of pheochromocytoma: diagnostic accuracy and strategies for Japanese patients. *Endocr J.* 2014;61(7):667-73.

14. Kim HJ, Lee JI, Cho YY, Lee SY, Kim JH, Jung BC, et al. Diagnostic accuracy of plasma free metanephrines in a seated position compared with 24-hour urinary metanephrines in the investigation of pheochromocytoma. *Endocr J.* 2015;62(3):243-50.

15. Peaston RT, Graham KS, Chambers E, van der Molen JC, Ball S. Performance of plasma free metanephrines measured by liquid chromatography-tandem mass spectrometry in the diagnosis of pheochromocytoma. *Clin Chim Acta.* 2010;411(7-8):546-52.

16. Mullins F, O'Shea P, FitzGerald R, Tormey W. Enzyme-linked immunoassay for plasma-free metanephrines in the biochemical diagnosis of phaeochromocytoma in adults is not ideal. *Clin Chem Lab Med.* 2011;50(1):105-10.

17. Weismann D, Peitzsch M, Raida A, Prejbisz A, Gosk M, Riester A, et al. Measurements of plasma metanephrines by immunoassay vs liquid chromatography with tandem mass spectrometry for diagnosis of pheochromocytoma. *Eur J Endocrinol.* 2015;172(3):251-60.

18. van Berkel A, Lenders JW, Timmers HJ. Diagnosis of endocrine disease: Biochemical diagnosis of phaeochromocytoma and paraganglioma. *Eur J Endocrinol.* 2014;170(3):R109-19.

19. Lenders JW, Willemsen JJ, Eisenhofer G, Ross HA, Pacak K, Timmers HJ, et al. Is

supine rest necessary before blood sampling for plasma metanephrines? Clin Chem. 2007;53(2):352-4.

20. de Jong WH, Eisenhofer G, Post WJ, Muskiet FA, de Vries EG, Kema IP. Dietary influences on plasma and urinary metanephrines: implications for diagnosis of catecholamine-producing tumors. J Clin Endocrinol Metab. 2009;94(8):2841-9.

21. Neary NM, King KS, Pacak K. Drugs and pheochromocytoma--don't be fooled by every elevated metanephrine. N Engl J Med. 2011;364(23):2268-70.

22. Lenders JW, Eisenhofer G, Armando I, Keiser HR, Goldstein DS, Kopin IJ. Determination of metanephrines in plasma by liquid chromatography with electrochemical detection. Clin Chem. 1993;39(1):97-103.

23. Davidson FD. Paracetamol-associated interference in an HPLC-ECD assay for urinary free metadrenalines and catecholamines. Ann Clin Biochem. 2004;41(Pt 4):316-20.

24. Grassi G, Seravalle G, Calhoun DA, Bolla G, Mancia G. Cigarette smoking and the adrenergic nervous system. Clin Exp Hypertens A. 1992;14(1-2):251-60.

25. Eisenhofer G, Lattke P, Herberg M, Siegert G, Qin N, Darr R, et al. Reference intervals for plasma free metanephrines with an age adjustment for normetanephrine for optimized laboratory testing of pheochromocytoma. Ann Clin Biochem. 2013;50(Pt 1):62-9.

26. Reimann M, Qin N, Gruber M, Bornstein SR, Kirschbaum C, Ziemssen T, et al. Adrenal medullary dysfunction as a feature of obesity. Int J Obes (Lond). 2017;41(5):714-21.

27. Leow MK, Loh KC, Kiat Kwek T, Ng PY. Catecholamine and metanephrine excess in intracerebral haemorrhage: revisiting an obscure yet common "pseudopheochromocytoma". J Clin Pathol. 2007;60(5):583-4.

28. Burton AR, Fazalbhoy A, Macefield VG. Sympathetic Responses to Noxious Stimulation of Muscle and Skin. Front Neurol. 2016;7:109.

29. Burton AR, Birzniece I, Bolton PS, Henderson LA, Macefield VG. Effects of deep and superficial experimentally induced acute pain on muscle sympathetic nerve activity in human subjects. J Physiol. 2009;587(1):183-93.

30. Kliszczewicz B, Esco MR, E EB, Feito Y, C MW, Brown D, et al. Venipuncture

procedure affects heart rate variability and chronotropic response. *Pacing Clin Electrophysiol.* 2017;40(10):1080-6.

31. Netter P. Psychological aspects of catecholamine response patterns to pain and mental stress in essential hypertensive patients and controls. *J Clin Hypertens.* 1987;3(4):727-42.
32. Eisenhofer G, Friberg P, Pacak K, Goldstein DS, Murphy DL, Tsigos C, et al. Plasma metadrenalines: do they provide useful information about sympatho-adrenal function and catecholamine metabolism? *Clin Sci (Lond).* 1995;88(5):533-42.
33. Raber W, Raffesberg W, Bischof M, Scheuba C, Niederle B, Gasic S, et al. Diagnostic efficacy of unconjugated plasma metanephrines for the detection of pheochromocytoma. *Arch Intern Med.* 2000;160(19):2957-63.
34. Sawka AM, Jaeschke R, Singh RJ, Young WF, Jr. A comparison of biochemical tests for pheochromocytoma: measurement of fractionated plasma metanephrines compared with the combination of 24-hour urinary metanephrines and catecholamines. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(2):553-8.
35. Eisenhofer G, Goldstein DS, Walther MM, Friberg P, Lenders JW, Keiser HR, et al. Biochemical diagnosis of pheochromocytoma: how to distinguish true- from false-positive test results. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(6):2656-66.
36. Eisenhofer G, Lenders JW, Timmers H, Mannelli M, Grebe SK, Hofbauer LC, et al. Measurements of plasma methoxytyramine, normetanephrine, and metanephrine as discriminators of different hereditary forms of pheochromocytoma. *Clin Chem.* 2011;57(3):411-20.
37. Christensen TT, Frystyk J, Poulsen PL. Comparison of plasma metanephrines measured by a commercial immunoassay and urinary catecholamines in the diagnosis of pheochromocytoma. *Scand J Clin Lab Invest.* 2011;71(8):695-700.
38. Barco S, Verly I, Corrias MV, Sorrentino S, Conte M, Tripodi G, et al. Plasma free metanephrines for diagnosis of neuroblastoma patients. *Clin Biochem.* 2019;66:57-62.
39. Darr R, Lenders JW, Stange K, Kindel B, Hofbauer LC, Bornstein SR, et al. [Diagnosis of pheochromocytoma and paraganglioma: the clonidine suppression test in patients with borderline elevations of plasma free normetanephrine]. *Dtsch Med Wochenschr.* 2013;138(3):76-81.

40. Eijkelenkamp K, van Geel EH, Kerstens MN, van Faassen M, Kema IP, Links TP, et al. Blood sampling for metanephrines comparing venipuncture vs. indwelling intravenous cannula in healthy subjects. *Clin Chem Lab Med*. 2020.
41. Meeuse JJ, Lowik MS, Lowik SA, Aarden E, van Roon AM, Gans RO, et al. Heart rate variability parameters do not correlate with pain intensity in healthy volunteers. *Pain Med*. 2013;14(8):1192-201.
42. Hamunen K, Kontinen V, Hakala E, Talke P, Paloheimo M, Kalso E. Effect of pain on autonomic nervous system indices derived from photoplethysmography in healthy volunteers. *Br J Anaesth*. 2012;108(5):838-44.
43. Deutschbein T, Unger N, Jaeger A, Broecker-Preuss M, Mann K, Petersenn S. Influence of various confounding variables and storage conditions on metanephrine and normetanephrine levels in plasma. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2010;73(2):153-60.
44. Eisenhofer G, Finberg JP. Different metabolism of norepinephrine and epinephrine by catechol-O-methyltransferase and monoamine oxidase in rats. *J Pharmacol Exp Ther*. 1994;268(3):1242-51.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	จุฬามาศ ตันติประวรรณ
วัน เดือน ปี เกิด	16 ตุลาคม 2530
สถานที่เกิด	ชุมพร
วุฒิการศึกษา	การศึกษา พ.ศ. 2555 แพทยศาสตรบัณฑิตจากคณะแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (เกียรตินิยมอันดับที่ 2) พ.ศ. 2558-2561 แพทย์ประจำบ้านสาขาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พ.ศ. 2563-2565 แพทย์ประจำบ้านต่อยอด สาขาต่อมไร้ท่อและเมตะบอลิสม นิสิตปริญญาโท คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ที่อยู่ปัจจุบัน	450/32 ถ.เพชรบุรี ซอยเพชรบุรี 5 แขวงทุ่งพญาไท เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400
ผลงานตีพิมพ์	สมาชิกราชวิทยาลัยอายุรแพทย์แห่งประเทศไทย สมาชิกสมาคมต่อมไร้ท่อแห่งประเทศไทย Abstracts/presentation - 2020 Research Presenter, “Effects of diabetes on Covid-19 and the adapted in-hospital glucose management protocol performance: A KCMH experience” 32nd Annual academic conference, Thai Endocrine Society 2020 - 2021 Research Presenter, “Comparison of plasma metanephrines level via venipuncture and indwelling intravenous cannula” 33rd Annual academic conference, Thai Endocrine Society 2021 International publications - Tantiprawan J, Sunthornyothin S, Boonchaya-Anant P, Snabboon T. Posaconazole-induced Pseudohyperaldosteronism.

Kaohsiung J Med Sci. 2021 Mar;37(3):253-254.

- Phoophiboon V, Tantiprawan J, Vanakiatkul H, Wongkarnjana A.
Systemic to pulmonary venous shunt and the focal hepatic hot
spot sign from SVC obstruction in Behcet's disease. BMJ Case
Rep. 2020 Feb 4;13(2):e234017.

