

บทที่ 2

วิธีดำเนินการวิจัย

2.1 รูปแบบงานวิจัย

เป็นการทดลองแบบ pretest and posttest design ชนิด three factor (intervention X gender X time) research design โดยมีตัวแปรอิสระสามตัวแปร คือ

- Intervention หรือวิธีการกระตุ้นที่ได้รับ คือ กลุ่มที่ได้รับการกระตุ้นด้วย TES, TENS, placebo TES, และ placebo TENS
- Gender หรือเพศ คือ เพศหญิง และเพศชาย
- Time หรือเวลาที่ทำกรวัดซ้ำ เพื่อให้ได้ข้อมูลการตอบสนองทางสรีรวิทยาของร่างกาย ภายหลังการกระตุ้น

กระบวนการวิจัยได้ผ่านการอนุมัติจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคน กลุ่มสหสถาบัน ชุดที่ 1 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (ภาคผนวก 1)

การวิจัยนี้มีนักกายภาพบำบัดเข้าร่วมงานวิจัยสามคน โดยคนหนึ่งทำหน้าที่จัดผู้เข้าร่วมงานวิจัยเข้ารับการกระตุ้นไฟฟ้าแต่ละแบบ อีกสองคนทำหน้าที่วัดความดันโลหิต อัตราการเต้นของหัวใจ และอัตราการหายใจ พยาบาลวิชาชีพทำหน้าที่เจาะเลือดและเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อส่งต่อนักเทคนิคการแพทย์ทำการวิเคราะห์ข้อมูลต่อไป ทั้งนักกายภาพบำบัดผู้วัดข้อมูล และพยาบาลไม่ทราบว่าผู้เข้าร่วมงานวิจัยแต่ละคนถูกจัดอยู่ในกลุ่มใด

2.2 ผู้เข้าร่วมงานวิจัย

อาสาสมัครจำนวน 180 คน ทั้งหญิงและชาย อายุตั้งแต่ 18-40 ปี ได้รับการเชิญให้เข้าร่วมงานวิจัย เพื่อคัดเลือกอาสาสมัครจำนวน 140 คนที่ผ่านเกณฑ์การคัดเข้าและเกณฑ์การคัดออกให้เข้าร่วมงานวิจัย โดยแบ่งเป็นการวิจัยนำร่อง 20 คน และการวิจัยหลัก 120 คน

อาสาสมัครผ่านเกณฑ์การคัดเข้าเมื่อมีสุขภาพดีและไม่มีภาวะที่เป็นข้อห้ามต่อการกระตุ้นด้วยไฟฟ้า (Cameron, 2009; Lebedev et al., 2002b) อาสาสมัครถูกคัดออกถ้ามีภาวะต่อไปนี้

- ใช้เครื่องกระตุ้นไฟฟ้าหัวใจ หรือหัวใจเต้นไม่เป็นจังหวะ
- ได้รับการวินิจฉัยด้วยภาวะมะเร็ง หรือปัญหาทางระบบประสาท
- กำลังได้รับยาเพื่อรักษาโรคหรือภาวะความผิดปกติ
- มีประวัติการบาดเจ็บของศีรษะ หรือภาวะชัก

- มีภาวะความผิดปกติทางด้านจิตใจที่เห็นได้ชัด เช่น ภาวะซึมเศร้า ซึ่งจะคัดกรองด้วยแบบสอบถามของกรมสุขภาพจิต กระทรวงสาธารณสุข เป็นต้น
- มีภาวะการบาดเจ็บของระบบกระดูก กล้ามเนื้อและข้อต่อในตำแหน่งที่วางขั้วกระตุ้นไฟฟ้า
- มีแผลบนผิวหนังในตำแหน่งที่วางขั้วกระตุ้นไฟฟ้า
- มีภาวะกำลังตั้งครรภ์

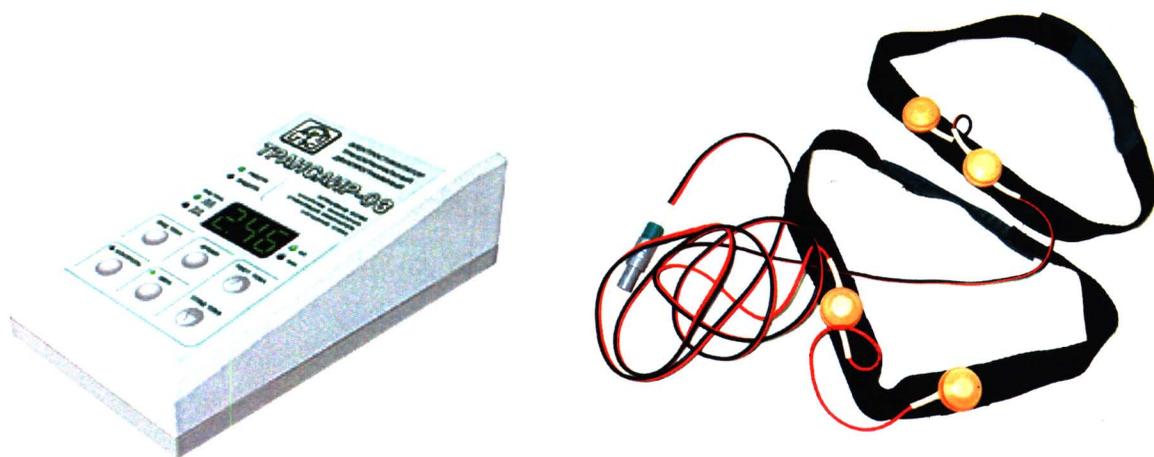
ผู้เข้าร่วมการวิจัยทั้งหมดได้รับการอธิบายถึงขั้นตอนการวิจัย และให้ความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรก่อนการเข้าร่วมการวิจัย ทั้งนี้ ผู้เข้าร่วมการวิจัยยังได้รับการร้องขอให้งดการดื่มแอลกอฮอล์ และหลีกเลี่ยงการออกกำลังกายอย่างหนักเกินภาวะปกติตลอดระยะเวลาที่เข้าร่วมการวิจัย

2.3 เครื่องมือวิจัย

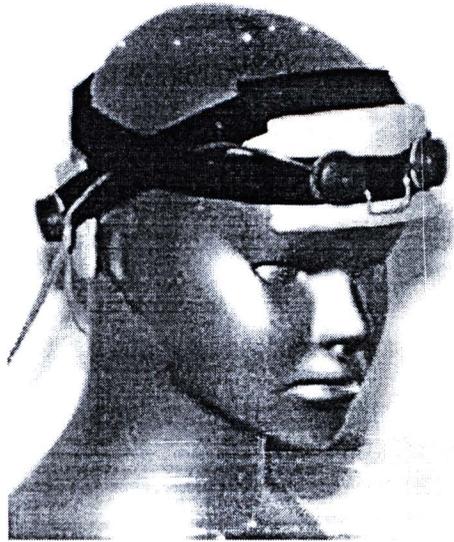
งานวิจัยนี้ใช้เครื่องกระตุ้นไฟฟ้าสองชนิด คือ

1. TES unit

เครื่องกระตุ้นไฟฟ้าแบบ TES (รูปที่ 1) รุ่น TRANSAIR-03 (TES center, St. Petersburg, Russia) ชุดอุปกรณ์ประกอบด้วยเครื่องกระตุ้นไฟฟ้าและขั้วกระตุ้นไฟฟ้าสี่ขั้วซึ่งถูกยึดติดเป็นคู่บนสายรัดศีรษะสองเส้น ขั้วกระตุ้นไฟฟ้าคู่แรกถูกจัดวางบริเวณหน้าผาก ขณะที่อีกคู่หนึ่งถูกจัดวางบริเวณหลังใบหูในตำแหน่งของ mastoid process โดยมีแผ่นผ้าชุบน้ำคั้นกลางระหว่างขั้วกระตุ้นไฟฟ้าและผิวหนัง (รูปที่ 2)



รูปที่ 1 ชุดอุปกรณ์ของ TES unit



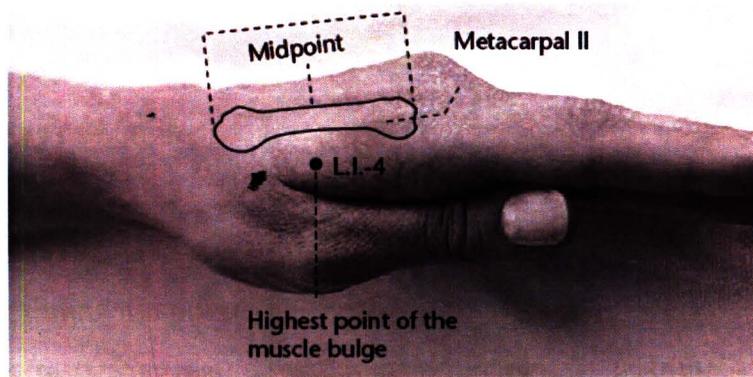
รูปที่ 2 การจัดวางขั้วกระตุ้นไฟฟ้าของ TENS unit บนศีรษะผู้เข้าร่วมการวิจัย

2. TENS unit

เครื่องกระตุ้นไฟฟ้าแบบ TENS รุ่น dual channel TENS 240Z unit (ITO, Tokyo, Japan) (รูปที่ 3) ซึ่งชุดอุปกรณ์ประกอบด้วยเครื่องกระตุ้นไฟฟ้าและขั้วกระตุ้นไฟฟ้าสองชุด โดยงานวิจัยนี้ใช้เทคนิคการกระตุ้นตามแนวจุดฝังเข็มที่มีรายงานว่า มีประสิทธิภาพในการลดปวดและกระตุ้นการหลั่งสารเอ็นโดรฟินด้วย (Cameron, 2009; Hughes et al., 1984) ในการติดขั้วกระตุ้นไฟฟ้านั้น ผู้วิจัยใส่เจลเพื่อเป็นสื่อ นำกระแสไฟฟ้าบนผิวขั้วกระตุ้นไฟฟ้ารูปวงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 50 มิลลิเมตร และวางทาบบนขั้วกระตุ้นไฟฟ้าบนจุด LI-4 และจุด LI-10 บนแขนขวาของผู้เข้าร่วมการวิจัย การกำหนดจุด LI-4 กระทำโดยการให้ผู้เข้าร่วมการวิจัยออกแรงบีบให้นิ้วหัวแม่มืออยู่แนบชิดนิ้วชี้อย่างเต็มที่ จุดสูงสุดของเนินกล้ามเนื้อที่นูนขึ้นระหว่างนิ้วมือทั้งสองกำหนดให้เป็นตำแหน่งของจุด LI-4 (Focks, 2008) ดังแสดงในรูปที่ 4 หลังจากนั้นให้ผู้เข้าร่วมการวิจัยงอข้อศอก 90 องศา แล้ววัดระยะทางจากร่องข้อพับศอกลงมาตามปลายแขนสองซุน (ระยะทางหนึ่งซุนเท่ากับความกว้างของข้อนิ้วหัวแม่มือของผู้เข้าร่วมการวิจัย) จะตรงกับจุด LI-10 (Focks, 2008) ดังแสดงในรูปที่ 5 โดยเมื่อกระตุ้นจุดฝังเข็มทั้งสองพร้อมกันจะมีผลทำให้อาการปวดบริเวณแขนลดลงได้ (Focks, 2008)



รูปที่ 3 ชุดอุปกรณ์ของ TENS unit



รูปที่ 4 แสดงตำแหน่งของจุดฝังเข็ม LI-4



รูปที่ 5 แสดงตำแหน่งของจุดฝังเข็ม LI-10

2.4 ตัวแปรที่ทำการศึกษา (Outcome measures) และวิธีการวัด

งานวิจัยนี้ทำการศึกษาสีตัวแปร ดังนี้

1. ความดันโลหิต (blood pressure) โดยใช้เครื่องวัดความดันโลหิตอัตโนมัติระบบตัวเลข OMRON SEM-1 apparatus (รูปที่ 6) ผู้เข้าร่วมงานวิจัยอยู่ในท่านั่งต้นแขนซ้ายวางพาดสูงระดับหัวใจ ผู้วิจัยพันแถบผ้ารอบต้นแขนผู้เข้าร่วมงานวิจัย แล้วจึงเปิดเครื่องและอ่านค่าความดันโลหิต systolic และ diastolic blood pressure จำนวนสองครั้ง ห่างกันหนึ่งนาที (Pickering et al., 2004) ค่าเฉลี่ยของการวัดทั้งสองครั้งจะถูกบันทึกไว้เพื่อการวิเคราะห์



รูปที่ 6 เครื่องมือวัดความดันโลหิต

2. อัตราการเต้นของหัวใจ (heart rate) วัดโดยใช้เครื่องมือเดียวกันกับการวัดความดันโลหิตซึ่งทำการวัดสองครั้ง และบันทึกค่าเฉลี่ยเพื่อการวิเคราะห์
3. อัตราการหายใจ (respiratory rate) ในขณะที่ผู้เข้าร่วมการวิจัยนั่ง ผู้วิจัยนับอัตราการหายใจเข้าของอาสาสมัครต่อเนื่องนานหนึ่งนาที
4. ระดับสาร beta-endorphin ในเลือด งานวิจัยนี้ใช้สองเทคนิคในการตรวจหาสาร beta-endorphin ในเลือด โดยเทคนิคแรก คือ enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) พยาบาลวิชาชีพเจาะเลือดผู้เข้าร่วมการวิจัยจาก antecubital vein จำนวน 8 ml และเก็บไว้ในหลอดที่มีสารกันเลือดแข็งตัว EDTA ก่อนที่จะนำไปผ่านขบวนการปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 1000 g ที่อุณหภูมิ 4°C นาน 15 นาที และแยก plasma เพื่อเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ -20°C จนกว่าจะถูกนำไปวิเคราะห์ด้วยชุดทดสอบ ELISA ของ Usn Life Science (Wuhan, China)

เทคนิคที่สอง คือ matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight (MALDI-TOF) ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้ตรวจหาสารโปรตีนขนาดเล็กต่างๆ ซึ่งรวมถึงสารเอนโดρφินด้วย งานวิจัยนี้กำหนดค่ามวลเฉลี่ยของโปรตีนที่ต้องการศึกษาไว้ไม่เกิน 4,500 Da ซึ่งการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า beta-endorphin ของมนุษย์มีมวลเท่ากับ 3,465.4 Da (Liu and Schey, 2005) โดยพยาบาล

วิชาชีพเจาะเลือดผู้เข้าร่วมการวิจัยจาก antecubital vein จำนวน 8 ml และเก็บไว้ในหลอดที่ไม่มีสารกั้นเลือดแข็งตัว (serum separator tubes) ก่อนที่จะนำไปปั่นและแยกเป็นซีรัมขนาด 0.5 ml ได้ 3 aliquots แล้วจึงเติมสาร protease inhibitor cocktail (Armresco, USA) จำนวน 5 μ l ลงในแต่ละ aliquot ก่อนที่จะถูกเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิต่ำ -80°C จนกว่าจะถูกนำไปวิเคราะห์ต่อไป

2.5 ขั้นตอนการวิจัย

หลังจากที่ผู้เข้าร่วมการวิจัยให้ความยินยอมเข้าร่วมการวิจัย ผู้เข้าร่วมการวิจัยทุกคนตอบแบบสอบถามเกี่ยวกับข้อมูลพื้นฐาน (เช่น อายุ เพศ อาชีพ แบบคัดกรองภาวะซึมเศร้า เป็นต้น) และแจ้งให้ผู้มีส่วนร่วมในการวิจัยทราบว่าอยู่ในเกณฑ์ปกติเมื่อเทียบกับค่าอ้างอิงปกติหรือไม่ หากพบว่าผู้ใดมีค่าไม่อยู่ในเกณฑ์ปกติ ผู้วิจัยจะแนะนำให้ปรึกษาแพทย์และคัดกรองผู้นั้นออกจากงานวิจัย

ต่อจากนั้น ผู้วิจัยทำการสุ่มเลือกผู้เข้าร่วมการวิจัยเข้ากลุ่มการกระตุ้นไฟฟ้าสี่กลุ่ม ด้วยวิธี quota sampling โดยจัดให้มีกลุ่มละ 30 คน เป็นหญิง 15 คน และเป็นชาย 15 คน ผู้เข้าร่วมการวิจัยแต่ละกลุ่มได้รับการปฏิบัติ ดังนี้

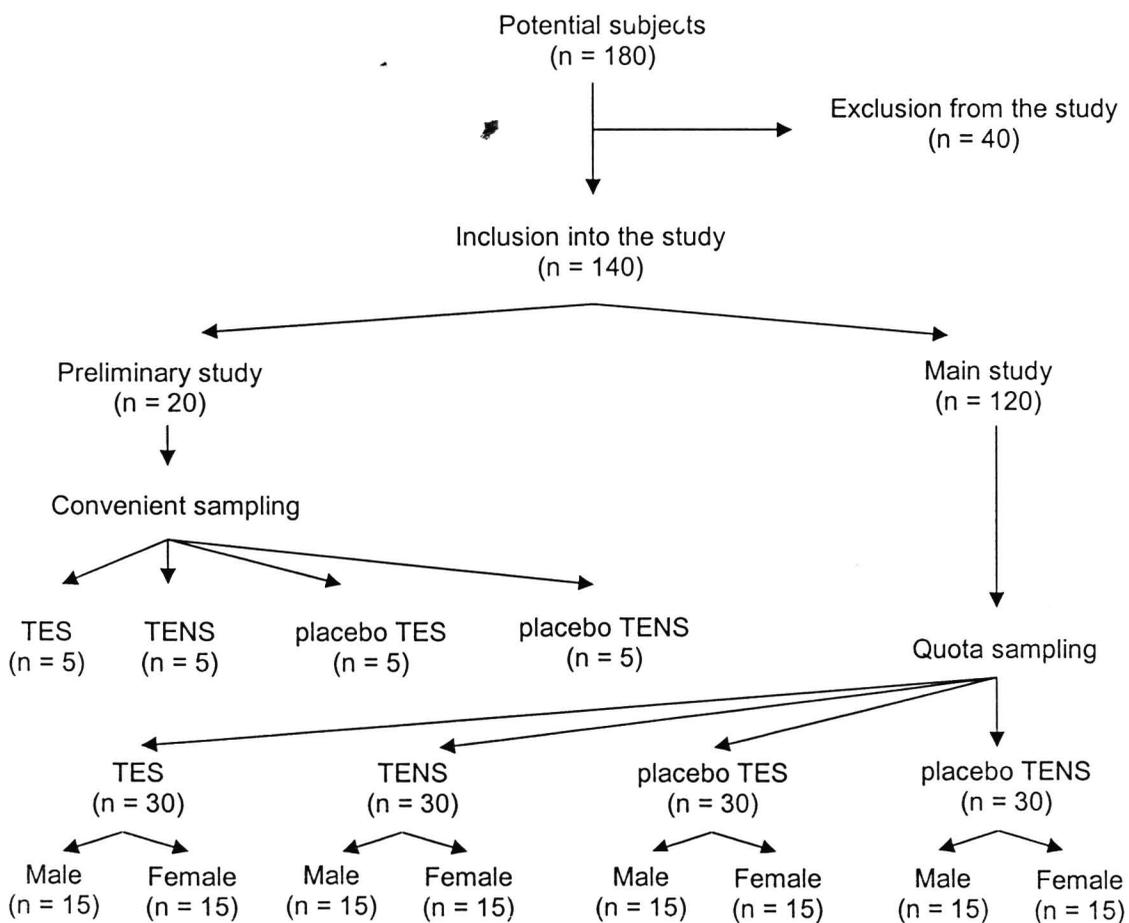
- กลุ่มที่ 1 TES ได้รับการกระตุ้นไฟฟ้าด้วย TES กระแสไฟฟ้าที่ใช้เป็นแบบ biphasic current มีความถี่ 77 Hz เป็นเวลา 30 นาที ซึ่งเป็นรูปแบบการกระตุ้นที่ได้รับการแนะนำว่า มีประสิทธิภาพในการลดปวดและกระตุ้นให้เกิดการหลั่งสาร beta-endorphin ได้ดี (Lebadev et al., 2002b) ผู้วิจัยทำการติดขั้วกระตุ้นไฟฟ้า และเปิดเครื่องโดยให้ผู้เข้าร่วมการวิจัยรู้สึกถึงการสั่นเล็กน้อย (slight tingling) ได้ขั้วกระตุ้นไฟฟ้า ในวันแรกของการกระตุ้นจำกัดความเข้มของกระแสไฟฟ้าไว้ไม่เกิน 1.0 mA การกระตุ้นในวันต่อมาจึงปรับความเข้มให้ผู้เข้าร่วมการวิจัยรู้สึกถึงการสั่นเล็กน้อยได้ขั้วกระตุ้นไฟฟ้าตลอดระยะเวลาของการกระตุ้น
- กลุ่มที่ 2 TENS ได้รับการกระตุ้นไฟฟ้าด้วย TENS กระแสไฟฟ้าที่ใช้เป็นแบบ biphasic current มีความถี่ 2 Hz เป็นเวลา 30 นาที และเปิดความเข้มของกระแสไฟฟ้าจนผู้เข้าร่วมการวิจัยรู้สึกถึงการกระตุกของกล้ามเนื้อปลายแขนเล็กน้อยเกิดเป็นการกระดกข้อมือขึ้นเป็นจังหวะ โดยไม่ก่อให้เกิดอาการเจ็บปวด (mild, nontetanic, และ nonpainful muscle contraction) ซึ่งเป็นรูปแบบการกระตุ้นที่ได้รับการแนะนำว่า มีประสิทธิภาพในการลดปวดและกระตุ้นให้เกิดการหลั่งสาร beta-endorphin ได้ดี (Cameron 2009)
- กลุ่มที่ 3 placebo TES ผู้เข้าร่วมการวิจัยได้รับการปฏิบัติเหมือนกลุ่ม TES ทุกประการ ยกเว้นความเข้มของกระแสไฟฟ้าซึ่งถูกตั้งไว้ที่ 0.2 mA ตลอด 30 นาทีของการกระตุ้น ซึ่งผู้เข้าร่วมการวิจัยแทบจะไม่มีรู้ถึงการกระตุ้นใดๆ

- กลุ่มที่ 4 placebo TENS ผู้เข้าร่วมการวิจัยได้รับการปฏิบัติเหมือนกลุ่ม TENS ทุกประการ ยกเว้นความเข้มของกระแสไฟฟ้าซึ่งถูกตั้งให้ผู้เข้าร่วมการวิจัยเริ่มรู้สึกถึงการสั่นสะเทือนได้ชั่วกระตุ่นเล็กน้อย ตลอด 30 นาทีของการกระตุ่น

หลังจากนั้น ผู้วิจัยจึงจัดให้ผู้เข้าร่วมการวิจัยนั่งเอนตามสบายบนเก้าอี้มีพนักพิง และทำการติดตั้งอุปกรณ์การกระตุ่นไฟฟ้าตามกลุ่มของผู้เข้าร่วมการวิจัย แล้วจึงให้ผู้เข้าร่วมการวิจัยนั่งพักนานห้า นาที ก่อนเริ่มดำเนินการวิจัย

ทั้งนี้ ผู้เข้าร่วมการวิจัยทุกคนต้องเข้ารับการกระตุ่นไฟฟ้าต่อเนื่องจำนวนหกครั้งภายในหนึ่งสัปดาห์ กระตุ่นวันละหนึ่งครั้ง โดยระยะห่างของแต่ละครั้งไม่เกิน 36 ชั่วโมง ทุกครั้งของการกระตุ่นไฟฟ้าผู้วิจัยทำการวัดความดันโลหิต อัตราการเต้นของหัวใจ และอัตราการหายใจ ที่เวลา 0, 15 และ 30 นาทีของการกระตุ่นไฟฟ้า ส่วนการเจาะเลือดผู้เข้าร่วมการวิจัยนั้นทำเฉพาะในครั้งที่ 1 และครั้งที่ 6 ที่เวลา 0, 15 และ 30 นาทีของการกระตุ่นไฟฟ้า

ในการนี้ งานวิจัยนี้ได้จัดให้มีการศึกษานำร่องด้วยกระบวนการวิจัยข้างต้นในผู้เข้าร่วมการวิจัย 20 คน เพื่อทดสอบกระบวนการวิจัย ก่อนทำการศึกษาลึกในผู้เข้าร่วมการวิจัย 120 คน รูปที่ 7 แสดงแผนภูมิสรุปการดำเนินการวิจัย



รูปที่ 7 แผนภูมิสรุปการดำเนินการวิจัย

2.6 การวิเคราะห์ข้อมูล

ในการศึกษานำร่องใช้สถิติ Kruskal-Wallis one-way analysis of variance (ANOVA) by ranks เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของความดันโลหิต อัตราการเต้นของหัวใจ และอัตราการหายใจระหว่างสี่กลุ่มของการกระตุ้นไฟฟ้าในกลุ่มตัวอย่างขนาดเล็ก โดยเปรียบเทียบข้อมูลที่บันทึก ณ เวลา 0, 15 และ 30 นาทีของวันที่ 1 และวันที่ 6 ของการกระตุ้นไฟฟ้า และใช้สถิติ Mann-Whitney U tests เป็น *post hoc analysis* ในกรณีที่พบมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนข้อมูลระดับ beta-endorphin นั้นวิเคราะห์ด้วยสถิติเชิงพรรณนา

ในการศึกษาหลักใช้สถิติ three-way analysis of covariance (ANCOVA) with one repeated factor เพื่อเปรียบเทียบผลของสามตัวแปร คือ กลุ่มการกระตุ้นไฟฟ้า เพศ และเวลา ต่อความดันโลหิต อัตราการเต้นของหัวใจ และอัตราการหายใจ โดยมีตัวแปรควบคุมร่วม (covariant) คือ ค่าความดันโลหิต อัตราการเต้นของหัวใจ และอัตราการหายใจก่อนเริ่มการวิจัย และใช้สถิติ multiple comparison ร่วมกับ Bonferroni tests เป็น *post hoc analysis* ในกรณีที่พบมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนข้อมูลระดับ beta-endorphin นั้นวิเคราะห์ด้วยสถิติเชิงพรรณนา

ในการวิเคราะห์ข้อมูล งานวิจัยนี้ตั้งค่านัยสำคัญทางสถิติเมื่อ $p < 0.05$