

### บทที่ 3

#### ระเบียบวิธีวิจัย

##### รูปแบบการวิจัย (Research Design)

การวิจัยเชิงพรรณนา ศึกษาสัดส่วนของภาวะ LOH บนโครโมโซมคู่ที่ 1, 4, 8, 16 และ 18 ในมะเร็งตับทั้งสองกลุ่ม คือมะเร็งตับชนิดปฐมภูมิและมะเร็งตับชนิดดื้อต่ออินคาร์ซิโนมาที่แพร่กระจายมาจากที่อื่น และใช้ chi-square test ทดสอบความแตกต่างของสัดส่วนของภาวะ LOH ของโครโมโซมแต่ละคู่ระหว่างมะเร็งทั้งสองชนิด

##### ระเบียบวิธีวิจัย (Research Methodology)

คัดเลือกชิ้นเนื้อที่อยู่ในรูปบล็อกพาราฟิน โดยจำแนกเป็นสองกลุ่มคือมะเร็งตับชนิดปฐมภูมิและมะเร็งตับชนิดดื้อต่ออินคาร์ซิโนมา นำชิ้นเนื้อทั้งสองกลุ่มมาทำการค้นหาภาวะ LOH โดยใช้วิธีการทางอณูพันธุศาสตร์คือ Microsatellites method และตรวจวัดแถบของ DNA ที่เกิดขึ้นโดยการดูด้วยตาเปล่าเปรียบเทียบกับระหว่างเนื้อเยื่อที่เป็นเซลล์ปกติและเนื้อเยื่อที่เป็นมะเร็ง

##### คำถามการวิจัย (Research Questions)

คำถามหลัก

เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบภาวะ LOH บนโครโมโซมคู่ที่ 1, 4, 8, 16, และ 18 ของโรคมะเร็งตับชนิดปฐมภูมิ และมะเร็งตับชนิดดื้อต่ออินคาร์ซิโนมาที่แพร่กระจายมาว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเชื่อถือได้ 95% หรือไม่

คำถามรอง

เพื่อศึกษาความชุกของภาวะ LOH บนโครโมโซมคู่ที่ 1, 4, 8, 16 และ 18 ของโรคมะเร็งตับชนิดปฐมภูมิ และมะเร็งตับชนิดดื้อต่ออินคาร์ซิโนมาที่แพร่กระจายมาตามลำดับ

##### วัตถุประสงค์การวิจัย (Objectives)

1. เพื่อเปรียบเทียบอัตราการพบภาวะ LOH บนโครโมโซมคู่ที่ 1, 4, 8, 16 และ 18 ของโรคมะเร็งตับชนิดปฐมภูมิ และมะเร็งตับชนิดดื้อต่ออินคาร์ซิโนมาที่แพร่กระจายมา ว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ค่าความเชื่อมั่นที่ 95%

2. เพื่อศึกษาความชุกของภาวะ LOH บนโครโมโซมคู่ที่ 1, 4, 8, 16 และ 18 ในมะเร็งตับทั้งสองชนิดเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานของมะเร็งสองชนิดนี้ในคนไทย

### การคำนวณขนาดตัวอย่าง (Sample Size Justification)

การวิจัยนี้ต้องการทดสอบค่าความแตกต่างของสัดส่วนในประชากรสองกลุ่ม

$$\text{สูตรที่ใช้ในการคำนวณ คือ } n = \frac{(Z_\alpha + Z_\beta)^2 2\bar{P}(1-\bar{P})}{D^2}$$

$$\bar{P} = 1/2 (P_1 + P_2)$$

$$Z_\alpha = 0.5 \text{ (two sided) } = 1.96$$

$$Z_\beta = 0.10 \text{ (two sided) } = 1.28$$

$P_1$  = สัดส่วนของการตรวจพบ LOH โดยเฉลี่ยในผู้ป่วยมะเร็งตับชนิดปฐมภูมิ

$P_2$  = สัดส่วนของการตรวจพบ LOH โดยเฉลี่ยในผู้ป่วยมะเร็งตับชนิดดีโนคาร์ซิโนมา

เพื่อให้ได้ขนาดตัวอย่างมากที่สุด จึงเลือกข้อมูลของโครโมโซมที่มีค่าผลต่างระหว่าง  $P_1$  และ  $P_2$  น้อยที่สุดมาคำนวณ คือข้อมูลของโครโมโซมคู่ที่ 1 ซึ่งมีค่า  $P_1 = 68\%$  (0.68) และค่า  $P_2 = 25\%$  (0.25)

$$\bar{P} = 1/2 (0.68 + 0.25) = 0.465$$

$$n = \frac{(1.96 + 1.28)^2 2(0.465)(1-0.465)}{(0.68 - 0.25)^2}$$

$$n = 27.5 \quad \text{ดังนั้นต้องใช้ขนาดตัวอย่างในแต่ละกลุ่มเท่ากับ 28 คน}$$

### ประชากรที่นำมาศึกษา (population)

#### Inclusion criteria

1. ขึ้นเนื้อที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นมะเร็งตับชนิดปฐมภูมิโดยพบลักษณะที่ชัดเจนจากการดูด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยพยาธิแพทย์
2. ขึ้นเนื้อที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นมะเร็งตับชนิดดีโนคาร์ซิโนมาโดยพบลักษณะที่ชัดเจนจากการดูด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยพยาธิแพทย์

#### Exclusion criteria

1. ขึ้นเนื้อของตับที่ไม่สามารถวินิจฉัยโดยการดูด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยพยาธิแพทย์ได้อย่างชัดเจนว่าเป็นมะเร็งตับชนิดใด

### หลักเกณฑ์ในการเลือกโครโมโซมที่จะศึกษาภาวะ LOH

เป็นโครโมโซมที่มีข้อมูลยืนยันว่าตรวจพบสัดส่วนของ LOH บนโครโมโซมคู่ที่จะศึกษาในสัดส่วนที่สูงในมะเร็งชนิดหนึ่ง และ ในมะเร็งอีกชนิดมีข้อมูลว่าพบน้อย

### การสังเกตและการวัดผล (Observation and Measurement)

ตัวแปรในการวิจัย

ตัวแปรหลักที่ต้องการวัด คือ ภาวะ LOH บนโครโมโซมที่เลือกมาทำการศึกษาในมะเร็ง  
 ตับชนิดปฐมภูมิและมะเร็งตับชนิดดีโนคาร์ซิโนมา

การวัดผลของตัวแปร คือ การดูแถบของ DNA

เครื่องมือที่ใช้ในการวัดตัวแปร

Polymorphic microsatellite method

### การรวบรวมข้อมูล (Data Collection)

เก็บข้อมูลโดยการดูแถบของ DNA เปรียบเทียบระหว่างเนื้อเยื่อมะเร็งและเนื้อเยื่อที่เป็นเซลล์ปกติ ด้วยตาเปล่าโดยผู้วิจัยและอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ นายแพทย์อภิวัฒน์ มุทิรางกูรที่มีประสบการณ์ด้านนี้เป็นอย่างดี

### การวิเคราะห์ข้อมูล (Data Analysis)

วิธีนับหรือวิธีวัด

เนื่องจากเป็นข้อมูลเชิงคุณภาพ (qualitative data) ดังนั้นจึงวัดออกมาเป็นพบหรือไม่พบภาวะ LOH บนโครโมโซมที่ศึกษาแต่ละคู่ในประชากรแต่ละกลุ่ม

การสรุปข้อมูล

1. วัดภาวะ LOH บนโครโมโซมแต่ละคู่ออกมาเป็นอัตราส่วน (proportion) หรือ ร้อยละ (percentage) ในมะเร็งแต่ละชนิด
2. เปรียบเทียบอัตราส่วนที่พบ LOH ของโครโมโซมที่ศึกษาแต่ละคู่ในมะเร็งตับสองชนิดว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหรือไม่โดยใช้ chi-square test