อิทธิพลของอุณหภูมิระหว่างกระบวนการเก็บและละลายสิ่งส่งตรวจต่อผลของค่าการทำงานของเรนินในพลาสมา และสัดส่วนของอัลโดสเตอโรนต่อเรนินในผู้ป่วยความดันโลหิตสูงที่มีค่าการทำงานของเรนินในพลาสมาต่ำ

นายนวรัฐ เพ็งผ่อง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2554
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย
The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the Graduate School.

INFLUENCE OF TEMPERATURE DURING SPECIMEN COLLECTION AND THAWING ON RENIN ACTIVITY AND ALDOSTERONE RENIN RATIO IN LOW RENIN HYPERTENSIVE PATIENTS

Mr. Nawarat Pengpong

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science Program in Medicine

Department of Medicine

Faculty of Medicine

Chulalongkorn University

Academic Year 2011

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์ อิทธิพลของอุณหภูมิระหว่างกระบวนการเก็บและละลายสิ่งส่งตรวจต่อผลของค่าการทำงานของเรนินในพลาสมา และสัดส่วนของอัลโดสเตอโรนต่อเรนิน ในผู้ป่วยความดันโลหิตสูงที่มีค่าการทำงานของเรนินในพลาสมาต่ำ

โดย นายนวรัฐ เพ็งผ่อง

สาขาวิชา อายุรศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สารัช สุนทรโยธิน

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะแพทยศาสตร์

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ โศภณ นภาธร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ สุเทพ กลชาญวิทย์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ สารัช สุนทรโยธิน)

..... กรรมการ

(อาจารย์ แพทย์หญิง มาริษา พงศ์พฤฒิพันธ์)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ พงศ์อมร บุนนาค)

นวรัฐ เพ็งผ่อง : อิทธิพลของอุณหภูมิระหว่างกระบวนการเก็บและละลายสิ่งส่งตรวจต่อผลของค่าการทำงานของเรนินในพลาสมา และสัดส่วนของอัลโดสเตอโรนต่อเรนิน ในผู้ป่วยความดันโลหิตสูงที่มีค่าการทำงานของเรนิน ในพลาสมาต่ำ (INFLUENCE OF TEMPERATURE DURING SPECIMEN COLLECTION AND THAWING ON RENIN ACTIVITY AND ALDOSTERONE RENIN RATIO IN LOW RENIN HYPERTENSIVE PATIENTS) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : ผศ.นพ. สารัช สุนทรโยธิน, 64 หน้า.

ที่มา : อุณหภูมิระหว่างกระบวนการเก็บสิ่งส่งตรวจมีผลต่อการวัดค่าการทำงานของเรนิน ซึ่งอาจทำให้ได้ค่าที่น้อยหรือมากกว่าความเป็นจริงได้จากความร้อนและความเย็นตามลำดับ ปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาที่ประเมินอิทธิพลของอุณหภูมิระหว่างการเก็บและละลายสิ่งส่งตรวจต่อผลค่าการทำงานของเรนินในผู้ป่วยที่มีค่าการทำงานของเรนินต่ำหรือสงสัยภาวะ primary hyperaldosteronism โดยตรง

วิธีการศึกษา : เก็บเลือดจากผู้ป่วยความดันโลหิตสูงที่มีค่าการทำงานของเรนินในพลาสมาต่ำหรือสงสัยภาวะ primary hyperaldosteronism ตัวอย่างแรกวิเคราะห์ค่าการทำงานของเรนินภายใน 30 นาที (กลุ่มควบคุม) อีกสองตัวอย่างทำการแช่แข็งและละลายในอ่างน้ำแข็งและที่อุณหภูมิห้อง (กลุ่มที่ 2 และ 3) สองตัวอย่างสุดท้ายทิ้งไว้ในอ่างน้ำแข็งและอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 ชั่วโมง (กลุ่มที่ 4 และ 5) ก่อนทำการตรวจค่าการทำงานของเรนิน.

ผลการศึกษา : จากตัวอย่าง 40 คน ค่าการทำงานของเรนินในกลุ่มควบคุมเป็น 0.635 ng/ml/hr การละลายในอ่างน้ำแข็งและละลายที่อุณหภูมิห้องสามารถเพิ่มค่าการทำงานของเรนินเป็น 1.805 และ 1.470 ng/ml/h ($p<0.001$) ตามลำดับ การเก็บสิ่งส่งตรวจไว้ในอ่างน้ำแข็งและอุณหภูมิห้อง 6 ชั่วโมง สามารถเพิ่มค่าการทำงานของเรนินเป็น 2.055 และ 1.915 ng/ml/hr ($p=0.001$) ตามลำดับ ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ 2 และ 3 และกลุ่มที่ 4 และ 5 สัดส่วนของอัลโดสเตอโรนต่อเรนินลดลงในกลุ่มที่ 2, 3, 4 และ 5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สรุปผลการศึกษา : การละลายพลาสมาทั้งในอ่างน้ำแข็งและที่อุณหภูมิห้องมีผลเพิ่มค่าการทำงานของเรนิน ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างการเก็บสิ่งส่งตรวจในอ่างน้ำแข็งหรือที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง.

ภาควิชา .....อายุรศาสตร์..... ลายมือชื่อนิสิต..... .....
สาขาวิชา .....อายุรศาสตร์..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา วิทยานิพนธ์หลัก.....
ปีการศึกษา .....2554.....

##5374641130 : MAJOR MEDICINE

KEYWORD : CRYOACTIVATION / LOW RENIN HYPERTENSION / PLASMA ALDOSTERONE CONCENTRATION / PLASMA RENIN ACTIVITY

NAWARAT PENGPONG : INFLUENCE OF TEMPERATURE DURING SPECIMEN COLLECTION AND THAWING ON RENIN ACTIVITY AND ALDOSTERONE RENIN RATIO IN LOW RENIN HYPERTENSIVE PATIENTS.ADVISOR : ASSOC. PROF. SARAT SUNTHORNYOTHIN, M.D., 61 PAGES

Background : Cryoactivation of prorenin and heat-related angiotensinogen degradation are the major concerns in preanalytical condition of plasma renin activity (PRA) assay which can cause overestimation and underestimation of PRA respectively. To date, there is no study about the impact of preanalytical temperature on PRA in low renin hypertensive patients or patients who suspected primary hyperaldosteronism. We evaluated the impact of temperature during specimen collecting process and thawing on PRA assay.

Methods : Five blood samples from each patient were collected into EDTA tubes at room temperature. The first sample was processed within 30 minutes (control group). Other two blood samples were processed after freezing and thawing in ice bath (0˚C) or room temperature (Group 2 and Group 3). The last two samples were kept in ice bath (0˚C) or room temperature for 6 hours then freezing and thawing in ice bath before PRA assay (Group 4 and Group 5).

Results : Two-hundred samples from 40 patients were collected for matched analysis. In control group, PRA was 0.635 ng/ml/hr. Freezing and thawing in ice bath or room temperature can significantly increase PRA, 1.805 ($p<0.001$) and 1.470 ($p<0.001$) ng/ml/h, respectively. The blood samples which were kept in ice bath (0˚C) or room temperature for 6 hours significantly increased PRA , 2.055 ng/ml/hr ($p<0.001$) and 1.915 ng/ml/hr ($p=0.001$) . There were no significant differences when group 2 and group 3 ($p=0.181$) or group 4 and group 5 ($p=0.610$) were compared.

Conclusion : Thawing process of plasma caused significant increment of plasma renin activity, both in ice bath(0˚C) or at room temperature. There were no differences of PRA results between specimen collected in iced bath or room temperature for 6 hours.

Department:…….Medicine……. Student's Signature …….

Field of Study:…… Medicine ...……. Advisor's Signature…….

Academic Year:……2011…….…...

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณทุกท่านที่มีส่วนร่วมทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงสมความมุ่งหมาย วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งของ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์สารัช สุนทรโยธิน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งท่านได้ช่วยแก้ปัญหา ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่างๆในการวิจัยด้วยดีมาตลอด

ขอขอบคุณกองทุนรัชดาภิเษกสมโภชที่ให้การสนับสนุนงบประมาณรายจ่ายต่างๆ

ขอขอบคุณ คุณกรุณา ยังผ่อง รวมถึงอาจารย์และเจ้าหน้าที่ทุกท่าน ที่หน่วยต่อมไร้ท่อและเมตะบอลิสม ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้คำแนะนำและช่วยเหลือในการทำวิจัยเป็นอย่างดียิ่ง

และสุดท้ายต้องขอขอบพระคุณผู้ป่วยทุกท่านที่เสียสละเวลาและให้ความร่วมมือจนงานวิจัยนี้เสร็จสมบูรณ์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ
กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ
สารบัญ ..... ช
สารบัญตาราง ..... ฌ
สารบัญภาพ ..... ฎ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ ..... ฐ
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย 1
1.2 คำถามการวิจัย 4
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย 4
1.4 สมมติฐาน 4
1.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย 5
1.6 ข้อตกลงเบื้องต้น 6
1.7 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่จะใช้ในงานวิจัย 6
1.8 วิธีดำเนินการวิจัยโดยย่อ 6
1.9 ข้อพิจารณาด้านจริยธรรม 6
1.10 ข้อจำกัดของงานวิจัย 7
1.11 ขอบเขตการวิจัย 7
1.12 ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 7
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง 8
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 26
3.1 รูปแบบการวิจัย 26
3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย 26
3. 3 การคำนวณขนาดตัวอย่าง 28
3. 4 การดำเนินการวิจัย 28
3. 5 การรวบรวมข้อมูล 30

หน้า

3.6 การวิเคราะห์ข้อมูล 30
บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล 32
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ 47
รายการอ้างอิง 51
ภาคผนวก 54
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 64

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 แสดงกลุ่มโรคย่อยของ primary hyperaldosteronism..... 8
ตารางที่ 2 แสดงอัตราการเกิด cardiovascular event และ cardiac structure
ในผู้ป่วย primary hyperaldosteronism และ กลุ่มควบคุม.....13
ตารางที่ 3 แสดงยาและปัจจัยที่มีผลต่อการตรวจความเข้มข้นของอัลโดสเตอโรน
และค่าการทำงานของเรนิน 15
ตารางที่ 4 แสดงค่า plasma renin activity (PRA) ที่อุณหภูมิ
ในกระบวนการเก็บที่อุณหภูมิห้องและในความเย็น.....19
ตารางที่ 5 แสดงค่า plasma renin activity (PRA) เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่วิเคราะห์
ทันทีหลังจากละลายพลาสมาและ แช่ในอ่างน้ำแข็งเป็นเวลา 7 วัน 20
ตารางที่ 6 แสดงค่า plasma renin activity ภายหลังกระบวนการเก็บตัวอย่างพลาสมา
แบบต่างๆ จากผู้ป่วยที่ไม่ตั้งครรภ์ (N=6 คน).....21
ตารางที่ 7 แสดงค่า plasma renin activity ภายหลังกระบวนการเก็บตัวอย่าง
พลาสมาแบบต่างๆ จากผู้ป่วยที่ตั้งครรภ์ (N=6 คน).....21
ตารางที่ 8 แสดงค่า plasma renin activity (μg/l/h) ที่กระบวนการเก็บตัวอย่างต่างๆกัน 22
ตารางที่ 9 แสดงรายละเอียดการเก็บสิ่งส่งตรวจของการศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิ
ของกระบวนการเก็บตัวอย่างต่อค่าการทำงานของเรนิน 24
ตารางที่ 10 แสดงลักษณะข้อมูลพื้นฐานของประชากรที่นำมาศึกษา.....33
ตารางที่ 11 แสดงลักษณะข้อมูลพื้นฐานของประชากรที่นำมาศึกษาแยกตามการวินิจฉัย 34
ตารางที่ 12 แสดงลักษณะข้อมูลพื้นฐานของประชากรที่นำมาศึกษาแยก
ตามระดับค่าการทำงานของเรนิน 37
ตารางที่ 13 แสดงค่า plasma renin activity และ plasma aldosterone concentration
ในกลุ่มตัวอย่างที่ศึกษา 39
ตารางที่ 14 แสดง plasma renin activity ในกลุ่มตัวอย่างแยกตาม
ระดับของ plasma renin activity ในกลุ่มควบคุม.....43
ตารางที่ 15 แสดง plasma renin activity ในกลุ่มตัวอย่างแยกตามการวินิจฉัย.....43

หน้า

ตารางที่ 16 แสดงผลของการกระบวนการเก็บและละลายพลาสมาต่อ
สัดส่วนระหว่างระดับของพลาสมาอัลโดสเตอโรนและการทำงานของเรนิน
(aldosterone renin ratio) 45
ตารางที่ 17 แสดงสัดส่วนของผู้ที่เข้ารับการศึกษาที่ผลการคัดกรองหา
ภาวะ primary hyperaldosteronism เป็นบวก เมื่อใช้ค่า PRA ที่ได้จากตัวอย่าง
กลุ่มที่ 1-5 และ ที่ค่าจุดตัดต่างๆ กัน 46

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 enzyme kinetic assay ในการตรวจ plasma renin activity
และปัจจัยที่มีผลต่อ angiotensin I generation....2
ภาพที่ 2 สัดส่วนของการเกิด cryoactivation ของพลาสมาของอาสาสมัครสุขภาพดี
ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาต่างๆ 3
ภาพที่ 3 กรอบแนวความคิดในการวิจัย.... 5
ภาพที่ 4 แสดงขั้นตอนการตรวจวัดค่าการทำงานของเรนินที่จะทำการวิจัย.... 5
ภาพที่ 5 แสดงการทำงานของระบบเรนิน-แองจิโอเทนซิน-อัลโดสเตอโรน....9
ภาพที่ 6 แสดงแหล่งต้นกำเนิดของเรนินและโปรเรนิน.... 11
ภาพที่ 7 แสดงภาพแบบต่างๆของโปรเรนินและเรนิน.... 11
ภาพที่ 8 แสดงขั้นตอนการสืบค้นและตรวจวินิจฉัยในผู้ที่สงสัย primary hyperaldosteronism..... 14
ภาพที่ 9 ขั้นตอนการตรวจวัดค่าการทำงานของเรนิน.... 17
ภาพที่ 10 แสดงการเปลี่ยนแปลงของ plasma renin activity ของคนปกติที่เก็บ
ในอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสและ 4 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลาต่างๆกัน....23
ภาพที่ 11 การเปลี่ยนแปลงของ plasma renin activity .ของผู้ป่วย myoma uteri
ที่มีค่า inactive renin สูง เมื่อเก็บพลาสมาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส
และ 4 องศาเซลเซียสและค่า active renin concentration ในกลุ่มที่เก็บที่
อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสและ 4 องศาเซลเซียส 23
ภาพที่ 12 แผนภูมิแสดงค่าสัดส่วนระหว่างระดับของพลาสมาอัลโดสเตอโรนและการทำงานของ
เรนินแยกตามกลุ่มการวินิจฉัย....36
ภาพที่ 13 แสดงค่าการทำงานของเรนิน (plasma renin activity) ในกลุ่มตัวอย่าง.... 40
ภาพที่ 14 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าการทำงานของเรนินหลังจากการละลายตัวอย่าง
ในอ่างน้ำแข็ง (กลุ่มที่ 2) เทียบกับกลุ่มควบคุม (กลุ่มที่ 1)
ในตัวอย่างที่ได้จากผู้ป่วยแต่ละคน 40
ภาพที่ 15 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าการทำงานของเรนินหลังจากการละลายตัวอย่าง
ที่อุณหภูมิห้อง (กลุ่มที่ 3) เทียบกับกลุ่มควบคุม (กลุ่มที่ 1)
ในตัวอย่างที่ได้จากผู้ป่วยแต่ละคน 41
ภาพที่ 16 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าการทำงานของเรนินหลังจากแช่ตัวอย่าง
ในอ่างน้ำแข็ง 6 ชั่วโมง (กลุ่มที่ 4) เทียบกับกลุ่มควบคุม (กลุ่มที่ 1)

หน้า

ในตัวอย่างที่ได้จากผู้ป่วยแต่ละคน 41
ภาพที่ 17 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าการทำงานของเรนินหลังตั้งตัวอย่าง
ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 6 ชั่วโมง (กลุ่มที่ 5) เทียบกับกลุ่มควบคุม (กลุ่มที่ 1)
ในตัวอย่างที่ได้จากผู้ป่วยแต่ละคน 42

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

ACE	Angiotensin Converting Enzyme
ACEI	Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor
ARB	Angiotensin II Receptor Blockers
ARR	Aldosterone Renin Ratio
DBP	Diastolic Blood Pressure
DHP	Dihydropyridine
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
ET_A receptor	Endothelin receptor type A
IQR	Interquartile Range
JG cell	Juxtaglomerular cell
LVH	Left Ventricular Hypertrophy
NS	Non-significant
NSAIDs	Non-steroidal Antiinflammatory Drugs
PAC	Plasma Aldosterone Concentration
PRA	Plasma Renin Activity
SBP	Systolic Blood Pressure
SEM	Standard Error of the Mean
SD	Standard Deviation

บทที่ 1

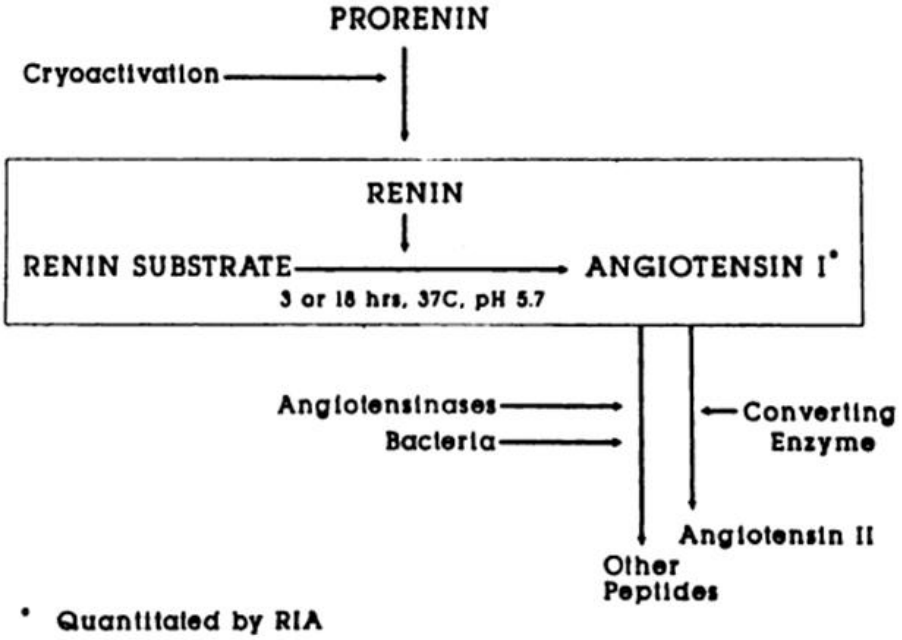
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย (Background and Rationale)

ภาวะ primary hyperaldosteronism เป็นภาวะที่เป็นสาเหตุของความดันโลหิตสูงที่สำคัญ พบถึง 5-10% ของผู้ป่วยความดันโลหิตสูงทั้งหมด [1] นอกจากนี้ภาวะ primary hyperaldosteronism ส่งผลเสียที่ไม่ขึ้นกับความดันโลหิตอีกหลายอย่าง ซึ่งส่งผลให้ผู้ป่วยมีภาวะแทรกซ้อนทางหัวใจมากกว่าผู้ป่วยความดันโลหิตสูงโดยทั่วไป โดยพบว่ามีการเพิ่มขึ้นของโรคหลอดเลือดสมอง , โรคหลอดเลือดหัวใจ และ atrial fibrillation มากกว่าผู้ป่วยความดันโลหิตสูงทั่วไปถึง 4 เท่า, 6 เท่า, และ 12 เท่าตามลำดับ[2]

เรนินและอัลโดสเตอโรนเป็นฮอร์โมนที่สำคัญในการควบคุมความดันและสมดุลย์ของเกลือแร่ ซึ่งการทำงานของฮอร์โมนกลุ่มนี้มักมีความผิดปกติในผู้ป่วยความดันโลหิตสูง การตรวจการทำงานของเรนิน (plasma renin activity) เป็นการตรวจที่เป็นส่วนหนึ่งในการคัดกรองภาวะ primary hyperaldosteronism ซึ่งในทางคลินิกจะใช้สัดส่วนระหว่างระดับของพลาสมาอัลโดสเตอโรนและการทำงานของเรนิน (aldosterone-renin ratio) ในการคัดกรองภาวะนี้ ซึ่งสัดส่วนที่สูงขึ้นทำให้นึกถึงภาวะ primary hyperaldosteronism มากขึ้น ดังนั้นหากมีปัจจัยที่ทำให้ค่าที่วัดได้ผิดจากความเป็นจริงก็จะส่งผลให้การคัดกรองผิดพลาดได้ โดยเฉพาะในกรณีที่มีปัจจัยที่ทำให้ค่าการทำงานของเรนิน (plasma renin activity) สูงขึ้น อาจทำให้ค่า aldosterone-renin ratio มีค่าต่ำกว่าเป็นจริง

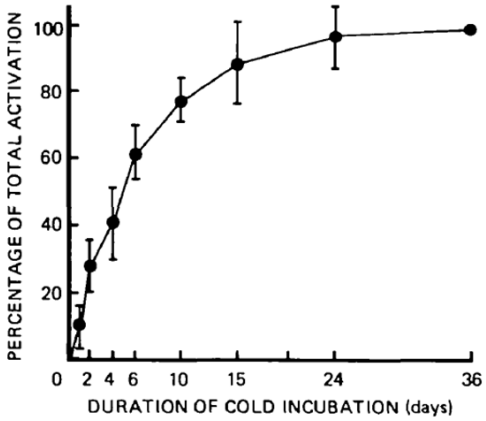
ค่าการทำงานของเรนิน (plasma renin activity) เป็นการตรวจการทำงานของเรนินในพลาสมาต่อ endogenous angiotensinogen ซึ่ง เป็นการตรวจการความสามารถ ของเรนินในการเปลี่ยน angiotensinogen เป็น angiotensin I ต่อหนึ่งหน่วยเวลา (วัดอัตราการสร้าง angiotensin I) โดยใช้ enzyme kinetic assay และวัด angiotensin I โดยใช้ radioimmuno assay ดังภาพที่ 1 [3, 4]



ภาพที่ 1 enzyme kinetic assay ในการตรวจ plasma renin activity และปัจจัยที่มีผลต่อ angiotensin I generation

การวัดค่าการทำงานของเรนินโดยใช้ enzyme kinetic assay มีข้อได้เปรียบกว่าการวัด direct renin measurement คือ สามารถเพิ่มความไวในการตรวจโดยการเพิ่ม incubation time ทำให้มีปริมาณ angiotensin I เพิ่มมากขึ้นโดยเฉพาะในกรณีที่มีปริมาณเรนินน้อย และ เป็นการบอกถึงความสามารถจริงของเรนินในพลาสมา อย่างไรก็ดี การตรวจค่าการทำงานของเรนินถูกรบกวนโดยหลายปัจจัยในขั้นตอนของกระบวนการตรวจวัด ได้แก่ cryoactivation, pH, blank reaction และ angiotensinase inhibition ซึ่งหากควบคุมปัจจัยเหล่านี้ไม่ได้มาตรฐานจะมีผลต่อการตรวจวัดค่าการทำงานของเรนิน [3]

Cryoactivation คือ ภาวะที่มีการกระตุ้นให้ โปรเรนินซึ่งโดยปกติไม่สามารถเปลี่ยนแปลง angiotensinogen ให้กลายเป็น angiotensin I ให้มี renin activity (สามารถเปลี่ยน angiotensinogen ให้กลายเป็น angiotensin I ได้) ทำให้มีการวัดค่าค่าการทำงานของเรนินได้สูงกว่าค่าความเป็นจริง ซึ่ง cryoactivation นี้สามารถเกิดได้ดีที่อุณหภูมิ -10 ถึง 4 องศาเซลเซียส โดยจะเกิดเมื่อพลาสมาอยู่ในรูปของเหลวเท่านั้น และภาวะนี้จะเกิดใน serum เร็วกว่า plasma และเมื่อเวลาผ่านไปนานขึ้น ภาวะ cryoactivation ก็สามารถทำให้สัดส่วนของค่าการทำงานของเรนินที่เพิ่มขึ้นมากขึ้นตามไปด้วย ซึ่งอาจมากถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ดังภาพที่ 2 [3]



ภาพที่ 2 **สัดส่วนของการเกิด cryoactivation ของพลาสมาของอาสาสมัครสุขภาพดีที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาต่างๆ[5]**

ความเป็นกรดของพลาสมาที่ระดับ pH 3.3 สามารถกระตุ้นให้โปรเรนินมี renin activity ได้ และเรนิน สามารถถูกทำลายได้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่ pH 8 ซึ่งในปัจจุบันการตรวจ ค่าการทำงานของเรนินมีการใช้ buffer control ซึ่งจะควบคุม pH ให้อยู่ที่ระดับ pH 6 [3]

ในกระบวนการเก็บและตรวจพลาสมา ปัจจัยที่มีผลต่อค่าการทำงานของเรนินในร่างกาย คือ ท่าทางขณะเก็บตัวอย่าง, การบริโภคโซเดียม , ยาบางชนิด, อายุ, เชื้อชาติ, ช่วงเวลาที่เก็บ, ประจำเดือน และระดับโพแทสเซียมในเลือด [4] นอกจากนี้ยังมีปัจจัยที่ทำให้ค่าการทำงานของเรนิน มีการเปลี่ยนแปลงไปหลังจากเก็บตัวอย่าง ได้แก่ อุณหภูมิที่เก็บและตรวจสิ่งส่งตรวจ หากเก็บและขนส่งตัวอย่างที่อุณหภูมิต่ำ (-10 ถึง 4 องศาเซลเซียส) อาจทำให้ค่าการทำงานของเรนิน มีค่าสูงกว่าความจริง แต่หากเก็บและขนส่งตัวอย่างที่อุณหภูมิห้อง อาจทำให้มีการทำลาย angiotensinogen เร็วขึ้น ทำให้ปริมาณ renin substrate ลดน้อยลง ซึ่งหลักฐานเชิงประจักษ์ในปัจจุบันยังมีข้อมูลขัดแย้งกันในเรื่องของอุณหภูมิของกระบวนการเก็บและตรวจค่าการทำงานของเรนิน แต่ข้อมูลส่วนใหญ่ยังเป็นการศึกษาในคนปกติซึ่งมีค่าการทำงานของเรนิน อยู่ในเกณฑ์ปกติ ในภาวะปกตินั้น โปรเรนินจะมากกว่า active renin ประมาณ 10 เท่า แต่หากตรวจวัดในผู้ป่วยบางกลุ่ม ได้แก่ ผู้ป่วยความดันโลหิตสูงที่มีภาวะเรนินต่ำ, ผู้ป่วยตั้งครรภ์ , ผู้ป่วยหญิงที่ได้รับการกระตุ้นรังไข่, ผู้ป่วย ที่มีก้อนเนื้องอกที่สามารถสร้างเรนิน (renin-secreting tumor) เป็นต้น ผู้ป่วยกลุ่มนี้จะมี โปรเรนินมากกว่า 98 เปอร์เซ็นต์ของ total renin ในพลาสมา ซึ่งการเกิด cryoactivation เพียงแค่ 2 เปอร์เซ็นต์ อาจมีผลต่อการวัดค่าการทำงานของเรนินได้

1.2 คำถามการวิจัย (Research questions)

คำถามหลัก (Primary research question)

กระบวนการเก็บและละลายพลาสมาที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) และ 0 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง มีผลต่อค่าการทำงานของเรนินในพลาสมาในผู้ป่วยความดันโลหิตสูงของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ที่มีค่าการทำงานของเรนินในพลาสมาต่ำ หรือผู้ป่วยที่สงสัยภาวะ primary hyperaldosteronism อย่างไร

คำถามรอง (Secondary research question)

กระบวนการเก็บและละลายพลาสมาที่อุณหภูมิอุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) และ 0 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง มีผลต่อการคัดกรอง primary hyperaldosteronism โดยสัดส่วนระหว่างระดับของพลาสมาอัลโดสเตอโรนและการทำงานของเรนินอย่างไร ในผู้ป่วยความดันโลหิตสูงของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ที่มีค่าการทำงานของเรนินในพลาสมาต่ำ

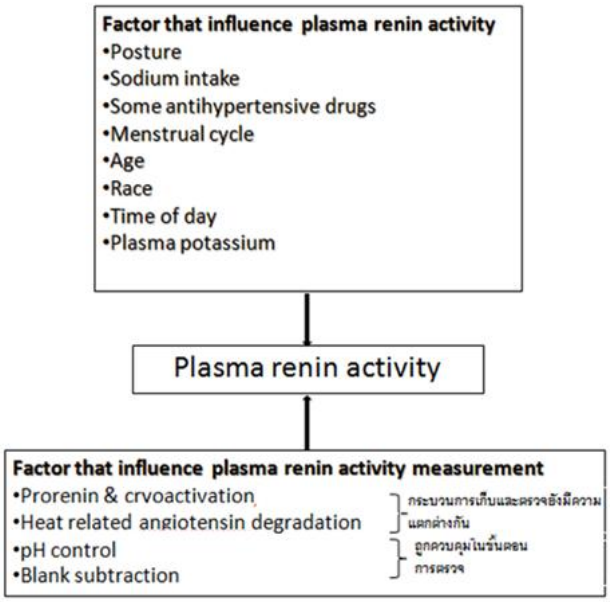
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย (Objectives)

เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิระหว่างการเก็บและละลายพลาสมาต่อค่าการทำงานของเรนินในพลาสมา ในผู้ป่วยความดันโลหิตสูงที่มีค่าการทำงานของเรนินในพลาสมาต่ำหรือผู้ป่วยที่สงสัยภาวะ primary hyperaldosteronism โดยกระบวนการเก็บและตรวจพลาสมาของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

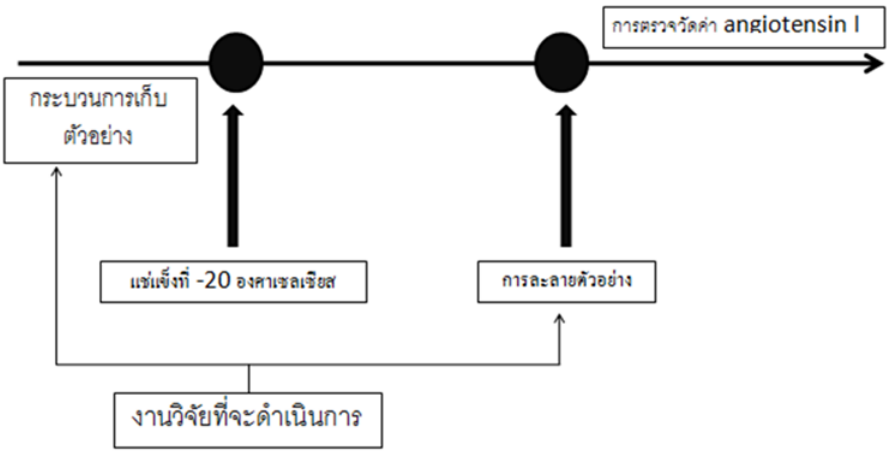
1.4 สมมติฐาน (Hypothesis)

กระบวนการเก็บและละลายพลาสมาต่อค่าการทำงานของเรนินในพลาสมา ในผู้ป่วยความดันโลหิตสูงที่มีค่าการทำงานของเรนินในพลาสมาต่ำหรือผู้ป่วยที่สงสัยภาวะ primary hyperaldosteronism โดยกระบวนการเก็บและละลายพลาสมาของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ที่อุณหภูมิ 0- 4 องศาเซลเซียสและที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) ได้ผลแตกต่างกัน

1.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย (Conceptual framework)



ภาพที่ 3 กรอบแนวความคิดในการวิจัย



ภาพที่ 4 แสดงขั้นตอนการตรวจวัดค่าการทำงานของเรนินที่จะทำการวิจัย

การวิจัยนี้จะศึกษาถึงอิทธิพลของอุณหภูมิระหว่าง preanalytical process ต่อผลของค่าการทำงานของเรนินโดยวิธี enzyme kinetic assay ดังภาพที่ 4

1.6 ข้อตกลงเบื้องต้น (Assumption)

การควบคุมอุณหภูมิห้องได้รับการควบคุมที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

1.7 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่จะใช้ในการวิจัย (Operational definitions)

ภาวะความดันโลหิตสูง คือ ภาวะที่มีความดันโลหิตสูงกว่าหรือเท่ากับ 140/90 มิลลิเมตรปรอท ในการวัดขณะพัก ในสองช่วงเวลา

ภาวะที่มีค่าการทำงานของเรนินในพลาสมาต่ำ คือ ผู้ป่วยที่เคยตรวจการทำงานของเรนิน (Plasma renin activity) < 1.5 ng/ml/hr ในการตรวจในท่านั่ง (upright) อย่างน้อยสองชั่วโมง อย่างน้อย 1 ครั้ง

ผู้ที่สงสัยภาวะ primary hyperaldosteronism คือ ผู้ป่วยความดันโลหิตสูงรุนแรงและยากต่อการรักษาที่มีหรือเคยมีภาวะโพแทสเซียมในเลือดต่ำ(serum potassium <3.5 mEq/l) และมีการตรวจพบก้อนที่ต่อมหมวกไต (adrenal nodule or mass)

1.8 วิธีการดำเนินการวิจัยโดยย่อ

ประชากรที่นำมาเข้าการศึกษาคือ ผู้ป่วยความดันโลหิตสูงที่มีค่าการทำงานของเรนินในพลาสมาต่ำหรือสงสัยภาวะ primary hyperaldosteronism ที่คลินิกโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ไม่เป็นโรคหรืออยู่ในภาวะที่แพทย์ผู้วิจัยพิจารณาว่าอาจมีอันตรายถ้าผู้ป่วยเข้าร่วมโครงการวิจัย หรืออาจมีผลรบกวนต่อการเข้าร่วมโครงการวิจัยหรือจากประวัติ ตรวจร่างกายหรือผลทางห้องปฏิบัติการ และตรงกับเกณฑ์การคัดเข้าและคัดออกตามที่กำหนด

ผู้ป่วยที่ยินยอมในการเข้าร่วมโครงการวิจัย จะทำการเจาะเลือด 1 ครั้งปริมาณ 20 มิลลิลิตร และแบ่งเลือดออกเป็น 5 ส่วน เพื่อนำไปวิเคราะห์หาค่าการทำงานของเรนินในพลาสมา โดยจะศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิระหว่างกระบวนการเก็บที่อุณหภูมิห้องและในอ่างน้ำแข็งเป็นเวลา 6 ชั่วโมง และระหว่างการละลายที่อุณหภูมิห้องและในอ่างน้ำแข็ง เทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้วิเคราะห์ค่าการทำงานของเรนินทันที เลือดที่เหลือจากการวิเคราะห์จะเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 ปี

1.9 ข้อพิจารณาด้านจริยธรรม (Ethical Consideration)

ผู้ที่ได้รับการทาบทามให้เข้าร่วมการวิจัยจะได้รับการชี้แจงถึงรายละเอียดของโครงการวิจัยและข้อมูลเกี่ยวกับการดำเนินการวิจัยอย่างชัดเจนจากการอธิบายและการอ่านรายละเอียดของวิธีการวิจัย

และเปิดโอกาสให้ซักถามปัญหาก่อนลงลายมือชื่อในหนังสือให้ความยินยอม ทั้งนี้ผู้เข้าร่วมวิจัยสามารถจะถอนตัวจากการวิจัยเมื่อไรก็ได้ โดยที่ไม่มีผลกระทบใดๆต่อผู้เข้าร่วมการวิจัย

ความเสี่ยงจากการเจาะเลือดอาจมีอาการเจ็บ เลือดออก ช้ำจากการเจาะเลือด อาการบวมบริเวณที่เจาะเลือดหรือหน้ามืด และโอกาสที่จะเกิดการติดเชื้อบริเวณที่เจาะเลือด ซึ่งพบได้น้อยมากหากใช้เทคนิคปลอดเชื้อในการเจาะเลือด

1.10 ข้อจำกัดของการวิจัย (Limitation)

ไม่มี

1.11 ขอบเขตการวิจัย

โครงการวิจัยนี้ ศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิระหว่างกระบวนการเก็บและละลายสิ่งส่งตรวจต่อผลของค่าการทำงานของเรนินในพลาสมา และสัดส่วนระหว่างระดับของพลาสมาอัลโดสเตอโรนและการทำงานของเรนินในผู้ป่วยความดันโลหิตสูงที่มีค่าการทำงานของเรนินในพลาสมาต่ำ ที่มารับการตรวจรักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์เท่านั้น

1.12 ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย (Expected Benefits and Applications)

1. ได้ทราบถึงอิทธิพลของอุณหภูมิระหว่างการเก็บและตรวจสิ่งส่งตรวจต่อผลของค่าการทำงานของเรนินในพลาสมา และผลต่อการคัดกรองภาวะ primary hyperaldosteronism
2. ได้ทราบถึงแนวทางการเก็บสิ่งส่งตรวจเพื่อตรวจค่าการทำงานของเรนินในพลาสมาแก่โรงพยาบาลทั่วไป เพื่อให้ได้ผลการตรวจที่มีความคลาดเคลื่อนน้อยที่สุด
3. เป็นการศึกษาแรกที่ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อค่าการทำงานของเรนินในพลาสมาในผู้ป่วยที่มีภาวะความดันโลหิตสูงที่มีค่าการทำงานของเรนินในพลาสมาต่ำ หรือสงสัยภาวะ primary hyperaldosteronism

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

Primary hyperaldosteronism ปัจจุบันเป็นโรคที่พบได้บ่อยที่เป็นสาเหตุของโรคความดันโลหิตสูง โรคนี้พบรายงานครั้งแรกในปี 1995 โดย Jerome Conn [6] รายงานผู้ป่วยที่มีภาวะความดันโลหิตสูงรุนแรง, ภาวะโพแทสเซียมในเลือดต่ำและตรวจพบ adrenal adenoma ซึ่งต่อมาได้มีการรายงานการตรวจพบสารอัลโดสเตอโรนในเลือด และพบว่ามีความผิดปกติของการหลั่งสาร อัลโดสเตอโรนที่มากเกินไปทำให้เกิดภาวะความดันโลหิตสูงและ hypokalemia ซึ่งได้รับการเรียกว่า Conn's adenoma หรือ aldosterone-producing adenoma และเรียกกลุ่มอาการนี้ว่า primary hyperaldosteronism หรือ Conn's syndrome [7]

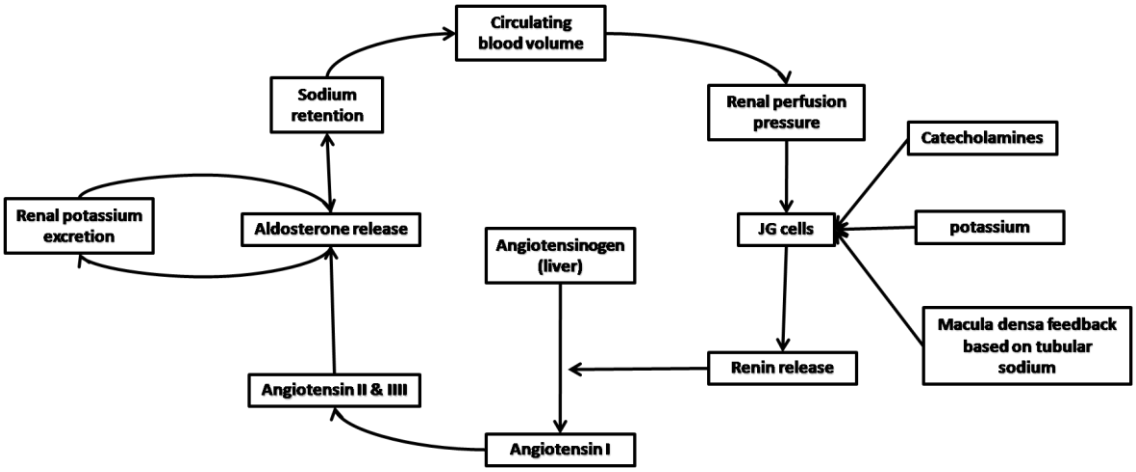
เดิมเชื่อว่า primary hyperaldosteronism เป็นภาวะที่พบได้น้อยที่เป็นสาเหตุของภาวะความดันโลหิตสูง แต่เมื่อมีการตรวจวัดค่า plasma aldosterone concentration และ plasma renin activity ได้และได้นำมาใช้ในการสืบค้นหาสาเหตุของความดันโลหิตสูง พบว่าเป็นโรคที่พบได้บ่อย แต่จากการรายงานความชุกของ primary hyperaldosteronism ช่วงหลังพบว่ามีความชุกต่างๆกันอยู่ในช่วง 1.4-32% (median 8.85%) [7, 8] ซึ่งเป็นสาเหตุที่พบได้บ่อยที่เป็นเหตุของความดันโลหิตสูง จากความรู้ในปัจจุบัน primary hyperaldosteronism ไม่ใช่โรคโรคเดียว แต่มีกลุ่มโรคย่อย (subtypes) ดังแสดงในตารางที่ 1 [9, 10]

ตารางที่ 1 [9, 10] แสดงกลุ่มโรคย่อยของ primary hyperaldosteronism

โรคที่สามารถรักษาได้โดยวิธีการผ่าตัด	โรคที่รักษาโดยการใช้ยา
Aldosterone-producing adenoma (35%) Primary (unilateral) adrenal hyperplasia (2%) Aldosterone-producing adrenocortical carcinoma (<1%) Ectopic aldosterone-producing adenoma / carcinoma (<1%)	Idiopathic hyperaldosteronism / Idiopathic bilateral hyperplasia (60%) Glucocorticoid-remediable aldosteronism (<1%)

กลไกการควบคุมระบบเรนิน-แองจิโอเทนซิน-อัลโดสเตอโรน (Renin-angiotensin-aldosterone system)

กลไกการควบคุมระบบเรนิน-แองจิโอเทนซิน-อัลโดสเตอโรนดังแสดงในภาพที่ 5



ภาพที่ 5 [11] แสดงการทำงานของระบบเรนิน-แองจิโอเทนซิน-อัลโดสเตอโรน

เรนินเป็นเอนไซม์ที่สร้างจาก juxtaglomerular apparatus ในไตซึ่งถูกเก็บในเซลล์และหลั่งออกจากเซลล์เมื่อได้รับการกระตุ้นเรนินเป็นโปรตีนที่ประกอบด้วย amino acid 340 ตัวซึ่ง 34 ตัวแรกเป็น prosegment ที่ถูกตัดออกกลายเป็น active hormone การหลั่งของเรนินเป็น rate-limiting step ของระบบนี้ ซึ่งการหลั่งของเรนินถูกควบคุมโดย

1. Macula densa เป็นกลุ่มเซลล์บริเวณ convoluted distal renal tubular cells ทำหน้าที่เป็น chemoreceptor ของ sodium และ chloride ที่ผ่านมายัง distal tubule ทำให้ลดการหลั่งเรนินจาก juxtaglomerular cells

2. Juxtaglomerular cells ทำหน้าที่เป็น pressure transducers ที่ตอบสนองต่อความดันภายใน afferent arteriolar wall และ renal perfusion pressure โดย renal perfusion pressure ที่ลดลงจะกระตุ้นให้มีการหลั่งเรนินที่มากขึ้น

3. ระบบประสาทอัตโนมัติซิมพาเทติค (sympathetic nervous system) มีส่วนในการกระตุ้นการหลั่งเรนิน

4. สารบางชนิดในเลือด ได้แก่ โพแทสเซียม, angiotensin II และ atrial natriuretic peptides

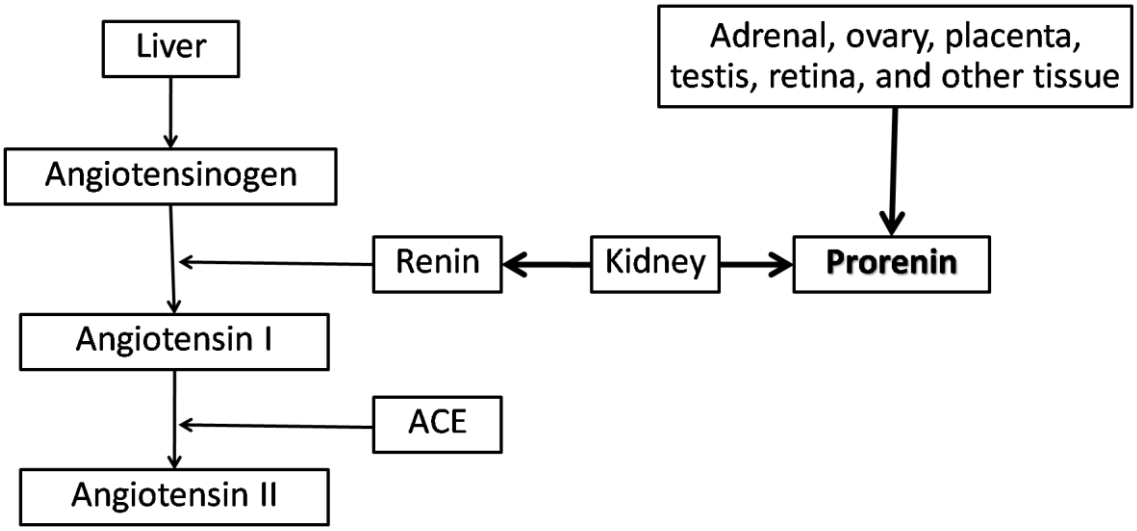
Angiotensinogen เป็น α_2 –globulin ที่สร้างจากตับ ประกอบด้วย amino acid 485 ตัว ถูกเรนินเปลี่ยนเป็น angiotensin I และถูก angiotensin-converting enzyme (ACE) จากปอดตัด 2 C-terminal peptides ออกกลายเป็น angiotensin II นอกจากนี้ angiotensin II ยังถูกตัด N-terminal aspartic acid กลายเป็น angiotensin III ซึ่งสามารถกระตุ้นการหลั่งสารอัลโดสเตอโรนได้เหมือน angiotensin II หน้าที่อื่นๆ ของ angiotensin II ได้แก่ กระตุ้นให้เกิดการหดตัวของหลอดเลือดทำให้ความดันเพิ่มขึ้น, ลดปริมาณเลือดที่ไปเลี้ยงไต, ทำให้มีการหลั่ง catecholamines จาก adrenal medulla เพิ่มขึ้น, เพิ่ม norepinephrine discharge จาก sympathetic nerve terminals จากการเพิ่ม central sympathetic outflow และ เพิ่มการหลั่ง vasopressin

สารอัลโดสเตอโรนเป็นฮอร์โมนที่หลังจากต่อมหมวกไตชั้น zona glomerulosa ภายใต้การควบคุมของ angiotensin II, ระดับโพแทสเซียมในเลือด และ adrenocorticotropic hormone และถูกยับยั้งการหลั่งโดย dopamine, atrial natriuretic peptide และ heparin มีหน้าที่หลักควบคุม extracellular volume และควบคุม potassium homeostasis ซึ่งเป็น classic genomic action ผ่านทาง mineralocorticoid receptor ที่อยู่ภายในเซลล์ แต่ยังมี nonclassic และ nongenomic action ผ่านทางตัวรับบนผิวเซลล์ (cell surface receptor) อีกด้วยซึ่งมีผลเกี่ยวกับ microangiopathy, necrosis, fibrosis และการอักเสบในเนื้อเยื่อต่างๆ ได้

ผลของอัลโดสเตอโรนทำให้เพิ่มการดูดกลับของโซเดียมที่หน่วยไตทำให้เพิ่ม circulating blood volume และ renal perfusion pressure ก่อให้เกิด negative feedback ไปยัง juxtaglomerular cells ลดการหลั่งเรนินลง

โปรเรนินและเรนิน (prorenin and renin)

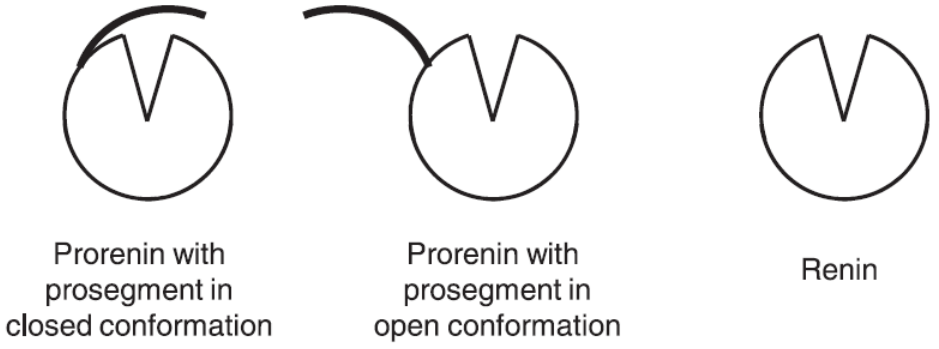
เรนินถูกสร้างขึ้นในรูปของ inactive zymogen เรียกว่า โปรเรนิน (prorenin) โปเรนินจะถูกเปลี่ยนเป็นเรนินที่ renal juxtaglomerular cells หลั่งออกจากไตโดยตรง ต่างจากเนื้อเยื่ออื่นๆ ที่สามารถสร้างและหลั่งโปรเรนินได้แต่ไม่สามารถเปลี่ยนเป็นเรนินได้ ดังภาพที่ 6 [12]



ภาพที่ 6 [12] แสดงแหล่งต้นกำเนิดของเรนินและโปรเรนิน

โดยทั่วไปปริมาณของโปรเรนินในพลาสมาจะมีค่ามากกว่าเรนินประมาณ 10 เท่า [12-14] แต่ในภาวะที่เรนินต่ำค่าโปรเรนินอาจมีปริมาณมากกว่าเรนินถึง 100 เท่า [12, 15]

โปรเรนินมี 2 รูปร่าง (conformation) คือ open conformation และ close conformation ดังภาพที่ 7 ส่วนใหญ่ (98%) โปรเรนินจะอยู่ในรูป close conformation ซึ่งไม่สามารถเปลี่ยน angiotensinogen ให้เป็น angiotensin I ได้ต่างจาก open conformation [12] โดยปกติการสลาย prosegment ออกจาก close conformation กลายเป็นเรนินเกิดที่ renal juxtaglomerular cells เท่านั้น



ภาพที่ 7 [12] แสดงรูปแบบต่างๆของโปรเรนินและเรนิน

การตรวจวัดเรนินโดย activity assay หรือ immunoassay ต้องความระมัดระวังในเรื่องการสลายเอา prosegment ออกจากโปรเรนินหรือการเปลี่ยนจาก close conformation เป็น open conformation ซึ่งมี renin activity ได้ เช่น ภาวะความเย็นและภาวะความเป็นกรดสามารถทำให้

prosegment มีการเปิดออก ในขณะที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสและ physiological pH สามารถทำให้มีการปิดของ prosegment ได้

ผลทางคลินิกของภาวะ primary hyperaldosteronism

มีหลายการศึกหาที่พบว่า primary hyperaldosteronism ส่งผลเสียต่อหลายระบบ เช่น ระบบหัวใจและหลอดเลือด, ไต, ระบบหลอดเลือดสมอง และ metabolic syndrome [7]

ผลของอัลโดสเตอโรนต่อระบบหัวใจและหลอดเลือด มีรายงานความสัมพันธ์ของ อัลโดสเตอโรนกับการเกิด vascular remodeling ผ่านทางการเพิ่มขึ้นของ endothelin-1 และมีการกระตุ้น ET_A receptor ทำให้มีการเพิ่มขึ้นของ vascular growth, มีการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างของหลอดเลือดขนาดเล็กและขนาดใหญ่ที่หนาตัวมากขึ้น นอกจากนี้ยังมีผลให้เกิดการอักเสบของระบบหลอดเลือด (vascular inflammation) และการเกิดพังผืด (fibrosis) อีกด้วย [16] นอกจากนี้ยังมีหลักฐานว่าผู้ป่วย ความดันโลหิตสูงจาก primary hyperaldosteronism จะมี left ventricular mass สูงกว่าและมีความผิดปกติของ left ventricular diastolic filling มากกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับผู้ป่วยความดันโลหิตสูงปกติ[17, 18] และดีขึ้นได้หลังได้รับการรักษาด้วยการผ่าตัด[17]

ผลของ อัลโดสเตอโรนต่อระบบไต Halimi และคณะได้รายงานว่าผู้ป่วย primary hyperaldosteronism ที่ไม่ได้รับการรักษา มีค่า urine albumin excretion สูงกว่าผู้ป่วย essential hypertension ที่ไม่ได้รับการรักษา [19] ซึ่งต่อมาได้มีการวิเคราะห์ข้อมูลจาก prospective survey ขนาดใหญ่ (PAPY study) ถึงผลของ primary hyperaldosteronism ต่อการเกิด renal damage พบว่าในผู้ป่วยความดันโลหิตสูงที่ยังมีค่า glomerular filtration rate ปกติ ผู้ที่ได้รับการวินิจฉัย aldosterone-producing adenoma และ idiopathic hyperaldosteronism มี urine albumin excretion สูงกว่าและ มีสัดส่วนของคนที่มี microalbuminuria มากกว่า essential hypertension [20]

ในปี 2005 Milliez และคณะได้ศึกษาผลทางคลินิกของผู้ป่วย primary hyperaldosteronism ต่อระบบหัวใจและหลอดเลือด โดยได้ทำการศึกษาแบบ match case-control study ในผู้ป่วย primary hyperaldosteronism จำนวน 124 คน เปรียบเทียบกับผู้ป่วย essential hypertension จำนวน 465 คน เพื่อดูผลของ cardiovascular event ผลแสดงดังตารางที่ 2 [2]

ตารางที่ 2 [2] แสดงอัตราการเกิด cardiovascular event และ cardiac structure ในผู้ป่วย primary hyperaldosteronism และ กลุ่มควบคุม

	Primary hyperaldosteronism (N=124)	Essential hypertension (N=465)	Odd ratio	p Value
Stroke (%)	12.9	3.4	4.2	< 0.001
Myocardial infarction (%)	4.0	0.6	6.5	< 0.005
Atrial fibrillation (%)	7.3	0.6	12.1	< 0.0001
Echocardiographic LVH (%)	34	24	1.6	< 0.01
Electrocardiographic LVH (%)	32	14	2.9	< 0.001

จากตารางแสดงให้เห็นถึงความสำคัญของ primary hyperaldosteronism ว่าเพิ่มโอกาสเกิดโรคหลอดเลือดสมอง, โรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด และ โรคหัวใจเต้นผิดจังหวะ atrial fibrillation 4.2, 6.5 และ 12.1 เท่าเทียบกับ essential hypertension นอกจากนี้ในแง่ของโรคหลอดเลือดสมองพบว่ามีการเพิ่มขึ้นของทั้ง ischemic stroke และ hemorrhagic stroke [21]

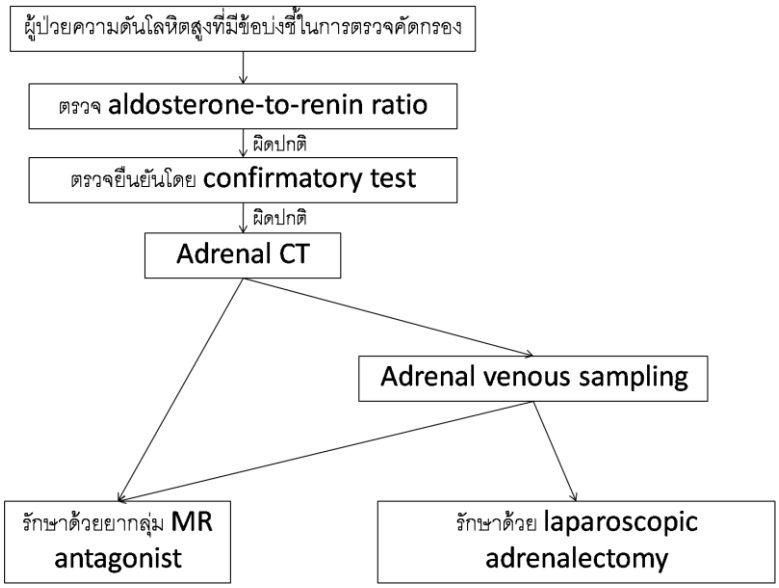
การตรวจคัดกรองภาวะ primary hyperaldosteronism

สมาคมต่อมไร้ท่อของประเทศสหรัฐอเมริกา ได้กำหนดแนวทางการตรวจคัดกรอง primary hyperaldosteronism ในกลุ่มผู้ป่วยที่มีความชุกของ primary hyperaldosteronism สูง [22] ซึ่งได้แก่

1. ผู้ป่วยความดันโลหิตสูงที่มีความดันโลหิตสูงกว่า 160/100 มิลลิเมตรปรอท
2. ผู้ป่วยความดันโลหิตสูงที่ไม่สามารถควบคุมได้ด้วยยาสามตัว (drug-resistant hypertension)

3. ผู้ป่วยความดันโลหิตสูงที่มีภาวะโพแทสเซียมในเลือดต่ำ หรือ มีภาวะโพแทสเซียมในเลือดต่ำ ภายหลังได้รับยาขับปัสสาวะ
4. ผู้ป่วยความดันโลหิตสูงที่มีการตรวจพบก้อนที่ต่อมหมวกไต (adrenal incidentaloma)
5. ผู้ป่วยความดันโลหิตสูงที่มีประวัติครอบครัวมีความดันโลหิตสูงในคนอายุน้อย หรือมีโรคหลอดเลือดสมองในคนอายุน้อย (น้อยกว่า 40 ปี)

ในผู้ที่มีข้อบ่งชี้ในการตรวจคัดกรองข้างต้น แนะนำให้ตรวจ สัดส่วนระหว่างระดับของพลาสมาอัลโดสเตอโรนและการทำงานของเรนิน (aldosterone to renin ratio, ARR) ในการตรวจคัดกรอง primary hyperaldosteronism [22] แนวทางการตรวจวินิจฉัยและรักษาผู้ป่วย primary hyperaldosteronism ดังภาพที่ 8



ภาพที่ 8 แสดงขั้นตอนการสืบค้นและตรวจวินิจฉัยในผู้ที่สงสัย primary hyperaldosteronism

อย่างไรก็ดี การตรวจ ค่าความเข้มข้นของอัลโดสเตอโรนในพลาสมา และ ค่าการทำงานของเรนินมีข้อควรระวังในกระบวนการตรวจและการแปลผลการตรวจดังนี้ [22]

1. ควรได้รับการแก้ไขภาวะโพแทสเซียมในเลือดต่ำก่อนการตรวจ
2. ผู้ป่วยควรรับประทานอาหารที่มีเกลือโซเดียมในปริมาณปกติก่อนการตรวจ
3. หยุดยาที่มีผลรบกวนการตรวจ ARR เป็นอย่างมากเป็นระยะเวลา 4 อาทิตย์ เช่น ยาขับปัสสาวะ และ อาหารหรือผลิตภัณฑ์ที่ทำจากรากชะเอม (licorice root)

4. ยาและปัจจัยอื่นๆที่มีผลต่อการตรวจ ARR ได้รวบรวมไว้ตามตารางที่ 3 [22]

5. กระบวนการเก็บสิ่งส่งตรวจ ได้แก่ เวลาที่เก็บสิ่งส่งตรวจ ท่าทางของผู้ป่วยขณะเก็บสิ่งส่งตรวจและอุณหภูมิระหว่างการเก็บสิ่งส่งตรวจ

6. เนื่องจากการตรวจวัดค่าการทำงานของเรนิน เป็นการวัดความสามารถในการทำงานของเรนินในการเปลี่ยน endogenous angiotensinogen เป็น angiotensin I และมีข้อมูลว่าปริมาณของ angiotensinogen มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงกับปริมาณ angiotensin I เมื่อมีค่าเรนินในปริมาณเท่าๆ กัน ดังนั้นปัจจัยที่มีผลต่อ angiotensin I จึงมีผลต่อค่าการทำงานของเรนินด้วย พบว่าการตั้งครรภ์, ภาวะ glucocorticoid excess และการได้รับเอสโตรเจน ทำให้มีการสร้าง angiotensinogen เพิ่มขึ้น และโรคตับทำให้มีการสร้าง angiotensinogen ลดลง [12]

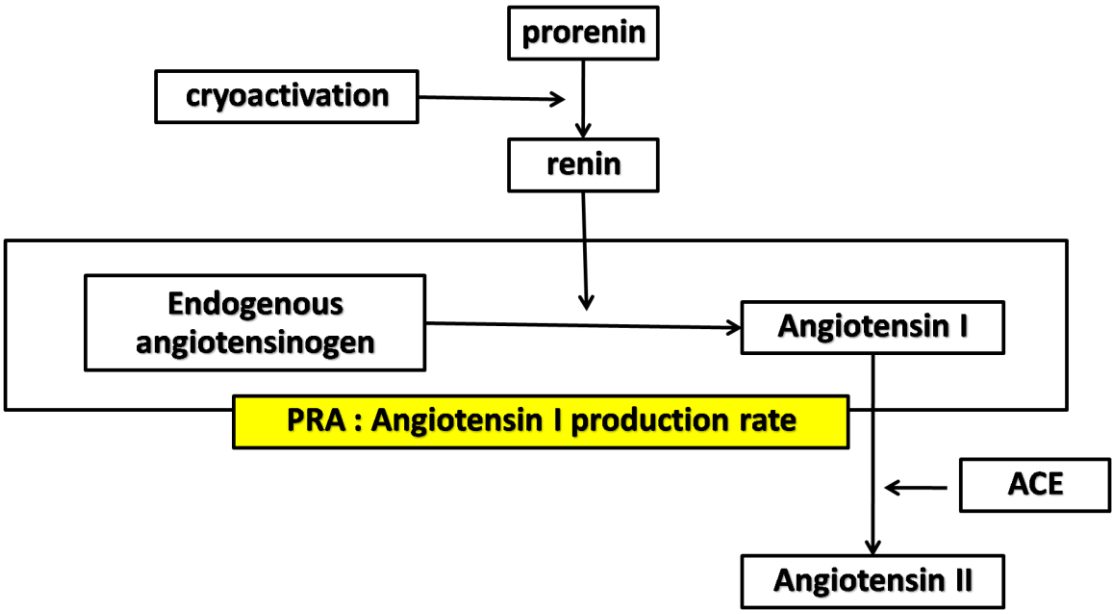
ตารางที่ 3 แสดงยาและปัจจัยที่มีผลต่อการตรวจความเข้มข้นของอัลโดสเตอโรนและค่าการทำงานของเรนิน

ปัจจัย	ผลต่อ PAC	ผลต่อ PRA	ผลต่อ ARR
ยา			
◦ β-adrenergic blockers	ลด	ลด	เพิ่ม
◦ Central α-2 agonists	ลด	ลด	เพิ่ม
◦ NSAIDs	ลด	ลด	เพิ่ม
◦ K-wasting diuretics	เพิ่มหรือเท่าเดิม	เพิ่ม	ลด
◦ K-sparing diuretics	เพิ่ม	เพิ่ม	ลด
◦ ACEIs	ลด	เพิ่ม	ลด
◦ ARBs	ลด	เพิ่ม	ลด
◦ Calcium blockers (DHP)	ลดหรือเท่าเดิม	เพิ่ม	ลด
◦ Renin inhibitors	ลด	ลด	เพิ่ม
ระดับโพแทสเซียม			
◦ Hypokalemia	ลด	เพิ่มหรือเท่าเดิม	ลด
◦ Potassium loading	เพิ่ม	ลดหรือเท่าเดิม	เพิ่ม

โซเดียมในอาหาร			
◦ โซเดียมน้อย	เพิ่ม	เพิ่ม	ลด
◦ โซเดียมมาก	ลด	เพิ่ม	เพิ่ม
อายุที่เพิ่มขึ้น	ลด	ลด	เพิ่ม
ภาวะอื่นๆ			
◦ Renal impairment	เท่าเดิม	ลด	เพิ่ม
◦ Pseudohypoaldosteronism type 2	เท่าเดิม	ลด	เพิ่ม
◦ Pregnancy	เพิ่ม	เพิ่ม	ลด
◦ Renovascular hypertension	เพิ่ม	เพิ่ม	ลด
◦ Malignant hypertension	เพิ่ม	เพิ่ม	ลด

ขั้นตอนกระบวนการตรวจค่า plasma renin activity [3, 23]

หลักการการตรวจวัดค่าการทำงานของเรนิน ไม่ได้เป็นค่าที่สามารถตรวจวัดได้โดยตรง เหมือนการตรวจวัดฮอร์โมนอื่นๆ แต่เป็นการตรวจวัดอัตราการสร้าง angiotensin I จาก endogenous angiotensinogen ต่อหนึ่งหน่วยเวลา ดังนั้นต้องมีกระบวนการยับยั้งกลไกการเปลี่ยน angiotensin I เป็น angiotensin II ในหลอดทดลอง การตรวจวัดปริมาณของ angiotensin I นั้นจะใช้เทคนิค radioimmunoassay โดยใช้ชุดสำเร็จรูปในการตรวจวัดค่า angiotensin I โดยหลักการการตรวจวัดแสดงดังภาพ [3]



ภาพที่ 9 หลักการตรวจวัดค่าการทำงานของเรนิน

ขั้นตอนการตรวจวัดค่าการทำงานของเรนินประกอบด้วย

1 ขั้นตอนการสร้าง angiotensin I (Angiotensin I generation)

ในการตรวจวัดค่าการทำงานของเรนินจะประกอบด้วย angiotensin I generation 2 ส่วน ได้แก่ blank sample และ generated sample

ใน blank sample ใส่พลาสมา 500 ไมโครลิตร ลงใน polystyrene tube ที่มี polyclonal anti-angiotensin I antibodies เคลือบอยู่ และเติมตัวยับยั้งการเปลี่ยน angiotensin I เป็น angiotensin II คือ PMSF และ ethanol ปริมาณ 10 ไมโครลิตร และเติมบัฟเฟอร์ปริมาณ 50 ไมโครลิตร เพื่อควบคุมให้ pH อยู่ในช่วง 5.5-6.0 ซึ่งเป็นค่าที่ทำให้การทำงานของเรนินดีที่สุด ตั้งทิ้งไว้ในอ่างน้ำแข็ง

ใน generated sample แบ่งพลาสมาส่วนหนึ่งจาก blank sample มา 200 ไมโครลิตร ใส่ใน polystyrene tube ตั้งพลาสมาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง (จำนวนชั่วโมงอาจเพิ่มขึ้นได้เพื่อเพิ่มปริมาณของ angiotensin I ทำให้ความไวของการทดสอบเพิ่มมากขึ้น) หลังจากครบเวลาแล้วให้นำ generated sample แช่ลงในอ่างน้ำแข็งเพื่อรอการตรวจวิเคราะห์ต่อไป

2 การตรวจวัดค่า angiotensin I (Radioimmunoassay for angiotensin I)

เป็นการตรวจวัดค่า angiotensin I หลังจากผ่านกระบวนการ angiotensin I generation โดยในชุดตรวจสำเร็จรูปจะมี calibrator ซึ่งประกอบด้วย human synthetic angiotensin I ความเข้มข้น

ต่างๆ กัน 5 ระดับ และจะทำการสร้าง calibration curve เพื่ออ่านค่าที่ได้จากตัวอย่างเทียบกับ calibration curve ออกมาเป็นปริมาณของ angiotensin I จาก blank และ generated sample

3 การคำนวณค่าการทำงานของเรนิน

3.1 อ่านค่าปริมาณ angiotensin I จาก calibration curve

3.2 ลบค่า angiotensin I ที่ได้จาก blank sample ออกจาก generated sample

3.3 คูณค่าที่ได้จากข้อ 3.2 ด้วย 1.12 ซึ่งเป็นค่าที่เกิดจากการเจือจางพลาสมาในกระบวนการตรวจด้วย enzyme inhibitorและบัฟเฟอร์

3.4 นำค่าที่ได้จากข้อ 3.3 หารด้วย angiotensin I production time

โดยสรุป สูตรของการคำนวณค่าการทำงานของเรนิน คือ

$$\text{PRA (ng/ml/hr)} = \frac{[\text{ng (generated)} - \text{ng (blank)}] \times 1.12}{1.5}$$

หลักฐานเชิงประจักษ์เรื่องการเกิด cryoactivation ของโปรเรนิน

Osmond และคณะ (1973)ได้รายงานการเพิ่มขึ้นของค่าการทำงานของเรนิน หลังจากเก็บพลาสมาของชายปกติ 3 คนในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน โดยมี angiotensin I generation มากขึ้นถึง 600 เปอร์เซ็นต์ [24]

ต่อมา Sealey และคณะ (1976) ได้รายงานการศึกษาแรกถึงผลของ cryoactivation ต่อ ค่าการทำงานของเรนินใน pool plasma ของผู้ป่วยความดันโลหิตสูงที่มีค่าการทำงานของเรนินต่ำ (0.75 ng/ml/hr) พบว่าการเก็บพลาสมาไว้ที่ -2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำให้มีค่า การ

ทำงานของเรนินเพิ่มขึ้น 110 เปอร์เซ็นต์ และที่ 48 ชั่วโมง เพิ่มขึ้น 420 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ อุณหภูมิที่ต่ำลงทำให้มีค่าการทำงานของเรนินเพิ่มมากขึ้น และพบว่าในคนปกติ prorenin activity จะมีค่ามากกว่า renin activity และความแตกต่างนี้จะมากขึ้นถ้ามีภาวะค่าการทำงานของเรนินต่ำ [25]

Emanuel และคณะ (1978) ได้ศึกษาผลของการเก็บและปั่นแยกสิ่งส่งตรวจในผู้ป่วยความดันโลหิตสูงและคนปกติที่อุณหภูมิห้องและในน้ำเย็นเป็นเวลา 20 นาทีก่อนแช่แข็ง (ทั้งสองกลุ่มมีค่าการทำงานของเรนินปกติ) การศึกษานี้ศึกษาในผู้ป่วยความดันโลหิตสูง 25 คน และผู้ที่ความดันโลหิตปกติ 10 คน แบ่งเลือดเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกแช่ในน้ำเย็นเป็นเวลา 20 นาที ส่วนที่สองทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที แล้วปั่นแยกพลาสมาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 สัปดาห์ แล้วนำมาวิเคราะห์หาค่าการทำงานของเรนินด้วยวิธี radioimmunoassay ได้ผลดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงค่า plasma renin activity (PRA) ที่อุณหภูมิในกระบวนการเก็บที่อุณหภูมิห้องและในความเย็น

	PRA (μg/liter/hour)		Significance
	ที่เก็บอุณหภูมิห้อง	เก็บในความเย็น	
ผู้ป่วยความดันโลหิตปกติ (10 คน)	3.81±0.55	2.82±0.55	NS
ผู้ป่วยความดันโลหิตสูง (25 คน)	15.8±3.5	14.1±3.1	NS

พบว่าไม่มีความแตกต่างของค่าการทำงานของเรนินระหว่างกลุ่มอุณหภูมิห้องและกลุ่มแช่ในความเย็น นอกจากนี้การศึกษานี้ยังวิเคราะห์ค่าการทำงานของเรนิน หลังจากเก็บพลาสมาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 9 เดือน และ 12 เดือน พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงของค่าการทำงานของเรนิน [26]

Fyhrquist และ คณะ (1978) ได้ทำการศึกษาค่าการทำงานของเรนินในผู้ป่วยความดันโลหิตสูงและคนปกติ 22 คน ในพลาสมาที่เก็บที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นระยะเวลาต่างๆ (ตัวอย่างมีค่าการทำงานของเรนินทั้งต่ำ, ปกติและสูง พบว่าในกลุ่มที่เก็บในอ่างน้ำแข็งและเก็บที่อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียสเป็นเวลาไม่เกิน 3 ชั่วโมงก่อนแช่แข็ง ไม่มีความแตกต่างของค่าการทำงานของเรนินใน

กลุ่มที่เก็บพลาสมาไว้ที่อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียสพบว่ามีการลดลงของค่าการทำงานของเรนิน 9.2% ที่ 1 วัน, 25.6% ที่ 2 วัน และ 74 % ที่ 3 วัน ในขณะที่กลุ่มที่เก็บพลาสมาไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส พบว่าไม่มีความเปลี่ยนแปลงของค่าการทำงานของเรนินเมื่อเก็บไว้ถึง 3 วัน แต่ผู้เขียนได้ตั้งข้อสังเกตว่ามีสัดส่วนของการเพิ่มขึ้นของค่าการทำงานของเรนินที่สูงกว่า ในกลุ่มที่มีค่าการทำงานของเรนินที่ต่ำกว่า [27]

Lijnen และคณะ(1978) ได้แสดงถึงภาวะ cryoactivation ในผู้ป่วยความดันโลหิตสูง 10 คน (ค่าการทำงานของเรนินเฉลี่ยอยู่ในเกณฑ์ปกติ) ที่ยังไม่ได้รับการรักษา โดยเก็บเลือดในหลอด EDTA เย็น ปั่นแยกที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสภายใน 15 นาที แล้วทำการแช่แข็งโดยใช้น้ำแข็งแห้งและ acetone ก่อนทำการตรวจได้ละลายในอ่างน้ำแข็ง แล้วแบ่งเป็น 2 กลุ่มคือกลุ่มที่ตรวจวัดค่าการทำงานของเรนินเลย และกลุ่มที่ตั้งทิ้งไว้ในอ่างน้ำแข็ง 7 วัน พบว่ากลุ่มที่ตั้งทิ้งไว้ในอ่างน้ำแข็ง 7 วัน มีค่าการทำงานของเรนินสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ดังตารางที่ 5 [28]

ตารางที่ 5 [28] แสดงค่า plasma renin activity (PRA) เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่วิเคราะห์ทันทีหลังจากละลายพลาสมาและแช่ในอ่างน้ำแข็งเป็นเวลา 7 วัน

	PRA (ng/ml per hour)	% PRA increment	p – value
วิเคราะห์ทันทีหลังละลายพลาสมา	3.14±1.44 (SEM)	250±50	P<0.05
วิเคราะห์หลังจากแช่ในอ่างน้ำแข็ง 7 วัน	6.07±1.93 (SEM)		

Rowe และคณะ (1979) ได้ศึกษาการเกิด cryoactivation ของพลาสมาในผู้ป่วยปกติ 6 คน และผู้ป่วยตั้งครรภ์ 6 คน ดังตารางที่ 6 และ 7 (ในกลุ่มผู้ป่วยที่ตั้งครรภ์จะมีค่า circulating inactive renin สูง) พบว่ากระบวนการเก็บและตรวจพลาสมาที่อุณหภูมิห้องและ 0 องศาเซลเซียส น้อยกว่า 1 และ 5 ชั่วโมงไม่มีผลต่อค่าการทำงานของเรนินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งสองกลุ่ม หากพิจารณาเฉพาะในกลุ่มผู้ป่วยตั้งครรภ์ พบว่าการตั้งพลาสมาไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 ชั่วโมงไม่มีผลต่อค่าการทำงานของเรนินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่การตั้งไว้ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 ชั่วโมงสามารถเพิ่มค่าการทำงานของเรนินได้ 44 เปอร์เซ็นต์ และยังพบว่าการแช่แข็งและการละลายพลาสมามีผลให้เกิดการเพิ่มขึ้นของค่าการทำงานของเรนินของทั้งกลุ่มคนปกติและผู้ที่ตั้งครรภ์อีกด้วย ทางผู้แต่งจึงได้แนะนำให้เก็บและส่งตรวจตัวอย่างที่อุณหภูมิห้อง [29]

ตารางที่ 6 [29] แสดงค่า plasma renin activity ภายหลังกระบวนการเก็บตัวอย่างพลาสมาแบบต่างๆ จากผู้ป่วยที่ไม่ตั้งครรภ์ (N=6 คน)

	Plasma renin activity (PRA)	
	PRA (ng/ml/hr, mean±SE)	การเปลี่ยนแปลงจาก baseline* (%)
กลุ่มที่กระบวนการเก็บทำที่อุณหภูมิห้อง		
แช่แข็งพลาสมาภายใน 1 ชั่วโมง	1.7±0.34	+7 (-5 - +23)
แช่แข็งพลาสมาภายใน 5 ชั่วโมง	1.8±0.36	+10 (0-+31)
แช่แข็งพลาสมาภายใน 9 ชั่วโมง	1.8±0.36	+8 (-4 - +15)
กลุ่มที่กระบวนการเก็บทำที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส		
แช่แข็งพลาสมาภายใน 1 ชั่วโมง	1.8±0.39	+11 (+3 - +20)
แช่แข็งพลาสมาภายใน 5 ชั่วโมง	2.0±0.42	+22 (+11 - +42)
แช่แข็งพลาสมาภายใน 9 ชั่วโมง	1.9±0.40	+15 (+6 - +21)

*ค่า baseline คือ ค่าที่ทำการ incubate เพื่อตรวจวัดค่าการทำงานของเรนินก่อนทำการแช่แข็ง

ตารางที่ 7 [29] แสดงค่า plasma renin activity ภายหลังกระบวนการเก็บตัวอย่างพลาสมาแบบต่างๆ จากผู้ป่วยที่ตั้งครรภ์ (N=6 คน)

	Plasma renin activity (PRA)	
	PRA (ng/ml/hr, mean±SE)	การเปลี่ยนแปลงจาก baseline* (%)
กลุ่มที่กระบวนการเก็บทำที่อุณหภูมิห้อง		
แช่แข็งพลาสมาภายใน 1 ชั่วโมง	4.7±1.02	+16 (+12 - +19)
แช่แข็งพลาสมาภายใน 5 ชั่วโมง	4.8±0.96	+22 (+14-+33)
แช่แข็งพลาสมาภายใน 9 ชั่วโมง	5.5±0.99	+44 (+24 - +115)
กลุ่มที่กระบวนการเก็บทำที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส		
แช่แข็งพลาสมาภายใน 1 ชั่วโมง	6.7±1.21	+89 (+16 - +191)
แช่แข็งพลาสมาภายใน 5 ชั่วโมง	8.9±1.73	+161 (+35 - +498)
แช่แข็งพลาสมาภายใน 9 ชั่วโมง	10.4±1.77	+195 (+80 - +510)

*ค่า baseline คือ ค่าที่ทำการ incubate เพื่อตรวจวัดค่าการทำงานของเรนินก่อนทำการแช่แข็ง

Herkner และคณะ (1983) ได้ศึกษากระบวนการเก็บพลาสมาของคนปกติ ระหว่างการเก็บด้วยอุปกรณ์ที่ไม่ได้แช่เย็นและทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1-3 ชั่วโมง แล้วนำมาปั่นแยกที่อุณหภูมิห้อง (W) กับการเก็บโดยอุปกรณ์ที่แช่เย็น และแช่ตัวอย่างในน้ำแข็งแล้วนำมาปั่นแยกพลาสมาที่ 4 องศาเซลเซียส (C) พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของค่าการทำงานของเรนิน (3.00±0.79 µg/l/h กับ 2.81±0.46 µg/l/hr ตามลำดับ) นอกจากนี้ ยังได้เก็บตัวอย่างทั้งสองกลุ่ม เพื่อตรวจค่าการทำงานของเรนิน ที่ 1 และ 2 อาทิตย์ โดยกลุ่มแรกเก็บที่ 4 องศาเซลเซียส (W) และกลุ่มที่สองเก็บที่ -20 องศาเซลเซียส (C) พบว่าค่าการทำงานของเรนินสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่อาทิตย์ที่สองเมื่อเทียบกับค่าแรกในทั้งสองกลุ่ม (7.29±1.29 µg/l/hr และ 6.95±1.05 µg/l/hr ในกลุ่มที่หนึ่ง (W) และสอง (C) ตามลำดับ) โดยมีแนวโน้มเริ่มสูงขึ้นตั้งแต่อาทิตย์แรก แต่ความแตกต่างของค่าการทำงานของเรนินระหว่างกลุ่มที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -20 องศาเซลเซียส ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ข้อมูลแสดงดังตารางที่ 8 [30]

ตารางที่ 8 [30] แสดงค่า plasma renin activity (µg/l/h) ที่กระบวนการเก็บตัวอย่างต่างๆกัน

	กระบวนการเก็บตัวอย่าง	Plasma renin activity (µg/l/hr, mean±SEM)		
		ค่าที่วิเคราะห์ทันที	1 อาทิตย์	2 อาทิตย์
กลุ่มตัวอย่างเด็ก (N=9 คน)	C*	1.99±0.81	2.43±0.79	2.90±0.86
	W*	2.27±0.78	2.73±0.80	3.43±0.84
กลุ่มตัวอย่างผู้ใหญ่ (N=10 คน)	C*	3.00±0.79	3.96±0.83	6.95±1.05**
	W*	2.81±0.46	4.41±0.90	7.29±1.29**

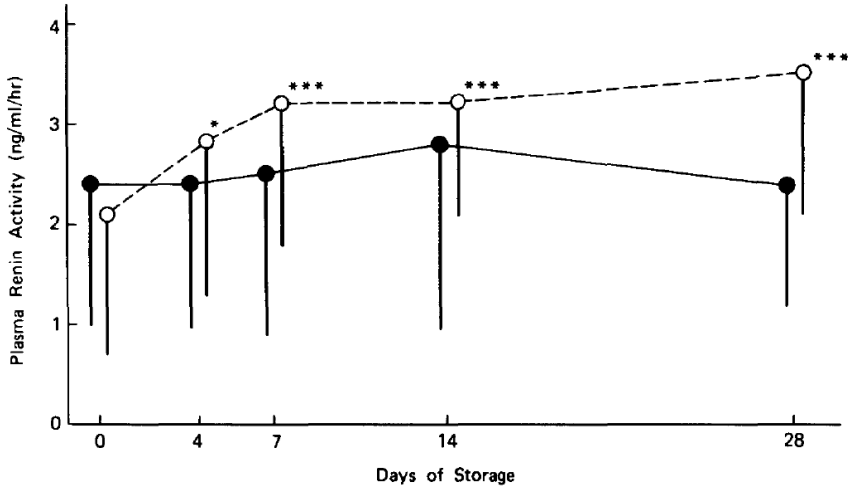
* ไม่พบมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่ม C และ W

** มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเทียบกับค่าที่วิเคราะห์ทันที

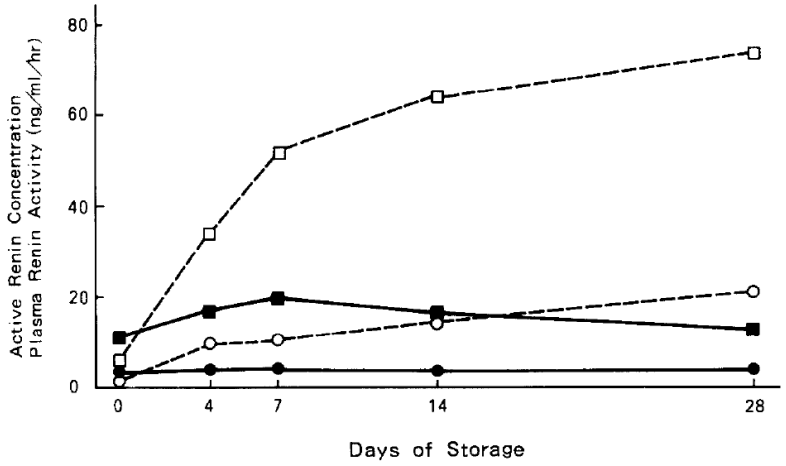
ต่อมามีการศึกษาโดย Matsunaga และคณะ (1986) ได้ยืนยันว่าการเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิห้องและ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมงไม่ได้มีผลต่อค่าการทำงานของเรนินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในคนปกติ แต่การเก็บพลาสมาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ค่าการทำงานของเรนินจะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญตั้งแต่วันที่ 4 (ทางผู้ทดลองไม่ได้วัดค่าการทำงานของเรนินก่อนหน้าวันที่ 4) ดังภาพที่ 10 นอกจากนี้ ในการศึกษานี้มีผู้ป่วย 1 คนที่มีภาวะ inactive renin สูงจาก uterine myoma (286 ng/ml/hr) พบว่าการเก็บเลือดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสและแช่ในอ่างน้ำแข็ง 2

ชั่วโมง มีค่าการทำงานของเรนินสูงกว่าการเก็บเลือดที่อุณหภูมิห้องตั้งแต่วันแรก ดังภาพที่ 10 และ 11 [31]

ภาพที่ 10 [31] แสดงการเปลี่ยนแปลงของ plasma renin activity ของคนปกติที่เก็บในอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส (●) และ 4 องศาเซลเซียส (❍) เป็นระยะเวลาต่างๆกัน



ภาพที่ 11 [31] การเปลี่ยนแปลงของ plasma renin activity ของผู้ป่วย myoma uteri ที่มีค่า inactive renin สูง เมื่อเก็บพลาสมาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส (●) และ 4 องศาเซลเซียส (❍) และค่า active renin concentration ในกลุ่มที่เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส (■) และ 4 องศาเซลเซียส (❑)



นอกจากนี้การศึกษานี้ยังได้พบว่า การเก็บพลาสมาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเป็นเวลาอย่างน้อย 4 อาทิตย์จะไม่มีผลต่อค่าการทำงานของเรนินและ active renin concentration ใน

ข้อสรุปของการศึกษานี้จึงได้ให้คำแนะนำให้ทำการเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิห้องเพื่อลดผลของ cryoactivation [31]

ในปี 2009 Zoltan และคณะ ได้รายงานผลที่แตกต่างออกไป ซึ่งศึกษาอิทธิพลของการเก็บสิ่งส่งตรวจในภาวะต่างๆ ต่อค่าการทำงานของเรนินในคนปกติ โดยพิจารณาถึงปัจจัยเรื่อง อุณหภูมิของหลอด EDTA, อุณหภูมิที่เก็บสิ่งส่งตรวจ (อุณหภูมิห้อง หรือ 0-5 องศาเซลเซียส) และระยะเวลาในการเก็บ specimen ที่อุณหภูมิห้อง หรือ 0-5 องศาเซลเซียส (30 นาที หรือ 2 ชั่วโมง) โดยได้ทำการเจาะเลือดจากคนปกติใส่หลอด EDTA และได้แบ่งการศึกษาเป็น 2 แบบ

1. ศึกษาอิทธิพลของความแตกต่างของอุณหภูมิระหว่างกระบวนการเก็บตัวอย่างจนถึงการแช่แข็ง ดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 แสดงรายละเอียดการเก็บสิ่งส่งตรวจของการศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิของกระบวนการเก็บตัวอย่างต่อค่าการทำงานของเรนิน

	รายละเอียดกระบวนการเก็บ	กลุ่มตัวอย่าง					
		1	2	3	4	5	6
หลอดเก็บเลือด	หลอด EDTA แช่เย็น	✓	✓			✓	
	หลอด EDTA ปกติ			✓	✓		✓
การบวนการเก็บ	เก็บเลือดที่อุณหภูมิ 0-5 องศาเซลเซียส	✓	✓			✓	
	เก็บเลือดที่อุณหภูมิห้อง			✓	✓		✓
การปั่นแยกเลือด	ภายใน 30 นาทีที่อุณหภูมิ 0-5 องศาเซลเซียส	✓	✓			✓	
	ภายใน 30 นาทีที่อุณหภูมิห้อง			✓	✓		
	หลังจากเก็บที่อุณหภูมิ 0-5 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง					✓	
	หลังจากเก็บที่อุณหภูมิห้อง 2 ชั่วโมง						✓
การเก็บพลาสมา	-20 องศาเซลเซียส	✓		✓		✓	✓

	-80 องศาเซลเซียส		✓		✓		

2. ศึกษาความคงตัวของค่า plasma renin activity หลังจากเก็บพลาสมาไว้ที่ -20 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2, 5, 7 อาทิตย์

พบว่าการเก็บสิ่งส่งตรวจไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2 ชั่วโมง (กลุ่มตัวอย่างที่ 6) มีผลทำให้ค่าการทำงานของเรนิน ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเทียบกับกลุ่มตัวอย่างที่ 1 แต่ไม่มีความแตกต่างถ้าเก็บที่ 0-5 องศาเซลเซียส ที่ 2 ชั่วโมง ค่าการทำงานของเรนินในกลุ่มที่ 1-5 ไม่ได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ [32]

การตรวจค่าการทำงานของเรนินที่ -20 องศาเซลเซียสทำให้ค่าการทำงานของเรนินลดลงตามเวลาที่ผ่านไป แต่ยังมีข้อจำกัดที่การศึกษามีค่า inter-assay variability สูง [32]

มีหลักฐานแสดงถึงค่าการทำงานของเรนินไม่มีการเปลี่ยนแปลงในการเก็บพลาสมาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเป็นเวลานาน 15 เดือน [33, 34]

อย่างไรก็ดียังไม่มีการศึกษาที่ศึกษาอิทธิพลของ cryoactivation ในประชากรความดันโลหิตสูงที่มีค่าการทำงานของเรนินต่ำโดยตรง และยังหลักฐานการเปรียบเทียบค่าการทำงานของเรนินที่กลุ่มควบคุมเป็นการตรวจค่าการทำงานของเรนินโดยไม่ผ่านความเย็นซึ่งเกิดขึ้นได้ทั้งในกระบวนการเก็บตัวอย่างและการละลายตัวอย่างเพื่อการตรวจวัด ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่ต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงผลของ cryoactivation ต่อผลของค่าการทำงานของเรนินในกลุ่มประชากรความดันโลหิตสูงที่มีค่าการทำงานของเรนินต่ำ เพื่อให้ทราบถึงแนวทางการเก็บสิ่งส่งตรวจเพื่อตรวจค่าการทำงานของเรนินให้ได้ผลการตรวจที่มีความคลาดเคลื่อนน้อยที่สุด

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 รูปแบบการวิจัย (Research design)

เป็นการศึกษาวิจัยแบบ cross-sectional experimental study

3.2 ระเบียบวิธีวิจัย (Research Methodology)

ประชากร (Population) และตัวอย่าง (Sample)

ประชากร (Population) คือ ผู้ป่วยความดันโลหิตสูงที่มีค่าการทำงานของเรนินในพลาสมาต่ำ (low renin hypertensive patients) หรือผู้ป่วยที่สงสัยภาวะ primary hyperaldosteronism

ตัวอย่าง (Sample) คือ ผู้ป่วยที่มีภาวะความดันโลหิตสูงในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ที่ตรวจพบว่ามีค่าการทำงานของเรนินในพลาสมาต่ำ หรือผู้ป่วยที่สงสัยภาวะ primary hyperaldosteronism

หลักเกณฑ์ในการคัดเลือกตัวอย่าง (Study population) เพื่อเข้ามาศึกษา

เกณฑ์การคัดเข้า (Inclusion criteria)

1. ผู้ป่วยที่มีภาวะความดันโลหิตสูงในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ที่ตรวจพบว่ามี ค่าการทำงานของเรนินในพลาสมาต่ำ (Plasma renin activity < 1.5 ng/ml/hr) หรือผู้ป่วยที่สงสัยภาวะ primary hyperaldosteronism (มีภาวะความดันโลหิตสูง, มีหรือเคยมีค่าโพแทสเซียมในเลือดต่ำ (Serum potassium <3.5 mEq/l) และตรวจพบก้อนที่ต่อมหมวกไต (adrenal mass or nodule)
2. Serum potassium >3 mEq/l ก่อนเก็บเลือดส่งตรวจค่าการทำงานของเรนินในพลาสมา

เกณฑ์การคัดออกจากการวิจัย (Exclusion criteria)

- ได้รับยาที่มีผลต่อการตรวจ plasma aldosterone concentration และ plasma renin activity
    - β-adrenergic blocker (ภายใน2 อาทิตย์)

- Central α-2 agonist (เช่น clonidine, methyldopa) (ภายใน2 อาทิตย์)
- Non-steroidal Antiinflammatory Drugs (ภายใน2 อาทิตย์)
- Diuretics (ภายใน 4 อาทิตย์)
- Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitor (ภายใน2 อาทิตย์)
- Angiotensin-II Receptor Antagonist (ภายใน2 อาทิตย์)
- Renin inhibitor (ภายใน2 อาทิตย์)
- Aldosterone receptor antagonist (ภายใน 4 อาทิตย์)

- ได้รับยาคุมกำเนิด หรือ hormone replacement therapy (ภายใน 4 อาทิตย์)
- อยู่ในภาวะตั้งครรภ์
- ได้รับยากลุ่มสเตียรอยด์
- มีภาวะโรคตับเรื้อรังหรือภาวะตับแข็ง

<u>เทคนิคในการสุ่มตัวอย่าง</u> (Sampling technique)

Purposive technique คัดเลือกผู้ป่วยทุกรายที่เข้าข่ายเกณฑ์ในการศึกษาวิจัยนี้

<u>การสังเกตและการวัด</u> (Observation & measurement)

เก็บข้อมูลของผู้ร่วมวิจัยโดยใช้แบบบันทึก (Record form) ซึ่งประกอบด้วย

1. ข้อมูลทั่วไป ได้แก่ อายุ เพศ โรคประจำตัว ยาที่ใช้ระหว่างการส่งตรวจค่าการทำงานของเรนิน ระยะเวลาที่เป็นความดันโลหิตสูง การวินิจฉัยโรค ระดับความดันโลหิต น้ำหนักตัว ส่วนสูง โดยบันทึกข้อมูลลงในแบบบันทึกข้อมูล
2. ข้อมูลเฉพาะเกี่ยวข้องกับผลทางห้องปฏิบัติการชีวเคมี ได้แก่ ระดับโพแทสเซียม ข้อมูลการตรวจค่าความเข้มข้นของอัลโดสเตอโรนในพลาสมาและค่าการทำงานของเรนิน ตามขั้นตอนวิธีการศึกษา

3.3 การคำนวณขนาดตัวอย่าง

เนื่องจากยังไม่มีการศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิระหว่างการเก็บและละลายพลาสมาต่อค่าการทำงานของเรนินในพลาสมา ในผู้ป่วยความดันโลหิตสูงที่มีค่าการทำงานของเรนินในพลาสมาต่ำโดยตรงจึงต้องมีการศึกษานำร่องเพื่อให้ได้ข้อมูลซึ่งนำมาคำนวณขนาดตัวอย่าง

จากการศึกษานำร่องในผู้ป่วย 5 คนที่ผู้ป่วยความดันโลหิตสูงที่มีค่าการทำงานของเรนินในพลาสมาต่ำหรือผู้ป่วยที่สงสัยภาวะ primary hyperaldosteronism พบว่าค่าการทำงานของเรนินในกลุ่มควบคุมเท่ากับ 0.272 ng/ml/hr และค่าการทำงานของเรนินในกลุ่มที่ทิ้งตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิห้อง 6 ชั่วโมงเท่ากับ 1.196 ng/ml/hr คำนวณค่า mean of difference 0.924 ng/ml/h และค่า variance of mean of difference เป็น 3.028

คำนวณหาขนาดตัวอย่างตามสูตร ดังนี้

กำหนด

α = 0.05

β = 0.10

$Z_{\alpha/2} = Z_{0.05} = 1.96$ (two tail)

$Z_{\beta} = Z_{0.10} = 1.28$

$N\ pair = (Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 \sigma^2 / d^2$

σ^2 = variance of mean of difference

d = mean of difference

ค่าตัวอย่างที่คำนวณได้จากการศึกษานำร่องเท่ากับ 37.23 คน จึงใช้ขนาดตัวอย่างทั้งหมด 40 คน

3.4 การดำเนินการวิจัย

<u>วิธีการศึกษา (Intervention)</u>

1. ซักประวัติ ทบทวนระบบต่างๆ และ ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับเกณฑ์การคัดออก ตรวจร่างกาย ตรวจสอบยาที่ได้รับ และรวบรวมข้อมูลต่างๆ ตามแบบบันทึกข้อมูล
2. ผู้ป่วยจะได้รับการตรวจสอบคุณสมบัติตามเกณฑ์คัด-เข้า/ออก
3. กระบวนการขอความยินยอม อธิบายให้ผู้เข้าร่วมวิจัยเข้าใจเกี่ยวกับการร่วมโครงการวิจัยและขั้นตอนการวิจัย โดยให้เวลาแก่ผู้เข้าร่วมวิจัยในการซักถามข้อสงสัย ก่อนจะเซ็นชื่อให้ความยินยอมในใบยินยอมเข้าร่วมการวิจัย (Informed consent)

4. ผู้ป่วยที่ให้ความยินยอมเข้าการศึกษาได้รับการเจาะเลือดใส่ในหลอด EDTA 3 หลอด หลอดละ 5 ซีซี เพื่อตรวจค่าการทำงานของเรนินและ หลอด heparin 1 หลอด หลอดละ 5 ซีซี เพื่อตรวจระดับความเข้มข้นของอัลโดสเตอโรนในพลาสมาที่ตึก อปร.ชั้น 11

5. นำเลือดในหลอด EDTA มาตรวจหาค่าการทำงานของเรนินโดยวิธี Radioimmunoassay โดยใช้ Radioimmunoassay REN-CT2 kit ในการตรวจวัด angiotensin I ของบริษัท Radim (Rome, Italy)

1) หลอดที่ 1 ปั่นแยกพลาสมาภายใน 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 5 นาทีแล้วนำพลาสมามาแบ่งเป็น 3 ส่วน
   i. ส่วนที่ 1 นำพลาสมาตรวจหาค่าการทำงานของเรนินภายใน 30 นาทีหลังเก็บตัวอย่าง (กลุ่มที่ 1)
   ii. ส่วนที่ 2 นำพลาสมาแช่แข็งเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 อาทิตย์ แล้วนำมาละลายให้อยู่ในรูปของเหลวในอ่างน้ำแข็ง เป็นเวลา 40 นาที แล้วตรวจหาค่าการทำงานของเรนิน(กลุ่มที่ 2)
   iii. ส่วนที่ 3 นำพลาสมาแช่แข็งเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 อาทิตย์ แล้วนำมาละลายให้อยู่ในรูปของเหลวที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 15นาที แล้วตรวจหาค่าการทำงานของเรนิน(กลุ่มที่ 3)
2) หลอดที่ 2 นำเลือดในหลอด EDTA ที่ได้ แช่ในอ่างน้ำแข็งเป็นเวลา 6 ชั่วโมง แล้วปั่นแยกพลาสมาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แช่แข็งเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 อาทิตย์ แล้วนำมาละลายให้อยู่ในรูปของเหลวในอ่างน้ำแข็งเป็นเวลา 40 นาที แล้วตรวจหาค่าการทำงานของเรนิน(กลุ่มที่ 4)
3) หลอดที่ 3 นำเลือดในหลอด EDTA ที่ได้ ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 6 ชั่วโมง แล้วปั่นแยก พลาสมาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แช่แข็งเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 อาทิตย์ แล้วนำมาละลายให้อยู่ในรูปของเหลวในอ่างน้ำแข็ง เป็นเวลา 40 นาที แล้วตรวจหา ค่าการทำงานของเรนิน (กลุ่มที่ 5)

การตรวจวิเคราะห์หาค่าการทำงานของเรนินได้ทำการตรวจวิเคราะห์ angiotensin I จาก generated samples และ blank samples อย่างละ 2 ครั้งและนำมาคำนวณเป็นค่าเฉลี่ยเพื่อนำมาคำนวณเป็นค่าการทำงานของเรนิน ซึ่งตัวอย่างที่ได้รับการวิเคราะห์มี Intraclass correlation coefficient ของ generated angiotensin I เป็น 0.993 และของ blank samples เป็น 0.991 ($p<0.001$)

6. นำเลือดในหลอด heparin มาตรวจหาระดับความเข้มข้นของอัลโดสเตอโรนในพลาสมาโดยวิธี Radioimmunoassay โดยใช้ ALDO-RIACT kit ของบริษัท CIS bio international

7. นำค่าระดับความเข้มข้นของอัลโดสเตอโรนในพลาสมาและค่าการทำงานของเรนินที่ได้จากกลุ่มที่ 1 ถึง 5 มาคำนวณเป็น สัดส่วนระหว่างระดับความเข้มข้นของอัลโดสเตอโรนในพลาสมาและค่าการทำงานของเรนิน (aldosterone renin ratio) ซึ่งคำนวณระดับความเข้มข้นของอัลโดสเตอโรนในพลาสมา (ng/dl) หารด้วยค่าการทำงานของเรนิน (ng/ml/hr) จะได้เป็นสัดส่วนระหว่างระดับของพลาสมาอัลโดสเตอโรนและการทำงานของเรนิน (aldosterone renin ratio) ทั้งหมด 5 ค่า เพื่อนำมาวิเคราะห์เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

ข้อมูลทั้งหมดของผู้เข้ารับการศึกษาทุกรายจะถูกบันทึกลงแบบฟอร์ม และจัดเก็บเข้าสู่ระบบคอมพิวเตอร์เพื่อจะนำไปสู่การวิเคราะห์ข้อมูลต่อไป

3.5 การรวบรวมข้อมูล (Data collection)

ผู้เก็บและบันทึกข้อมูล คือ ผู้ดำเนินการวิจัยโดยเก็บข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย และผลตรวจทางห้องปฏิบัติการ ได้แก่ อายุ เพศ โรคประจำตัว ยาที่ใช้ระหว่างการส่งตรวจค่าการทำงานของเรนิน ระยะเวลาที่เป็นความดันโลหิตสูง การวินิจฉัยโรค ระดับความดันโลหิต น้ำหนักตัว ส่วนสูง , ระดับโพแทสเซียม โดยบันทึกข้อมูลลงในแบบบันทึกข้อมูล

3.6 การวิธีการวิเคราะห์ข้อมูล (Data analysis)

1. การวิเคราะห์ข้อมูลเชิงพรรณนา ได้แก่อายุ เพศ โรคประจำตัว ยาที่ใช้ประจำ ยาที่ใช้ระหว่างการส่งตรวจค่าการทำงานของเรนิน ระยะเวลาที่เป็นความดันโลหิตสูง การวินิจฉัยโรค ระดับความดันโลหิต น้ำหนักตัว ส่วนสูง และระดับโพแทสเซียมในเลือด ข้อมูลที่มีการแจกแจงปกติจะวิเคราะห์และนำเสนอเป็น ค่าเฉลี่ย (Mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) และข้อมูลที่ไม่ได้มีการแจกแจงปกติจะนำเสนอเป็นค่ามัธยฐาน (Median) และ interqauartile range (IQR)

2. วิเคราะห์ข้อมูลค่าการทำงานของเรนินที่กระบวนการเก็บและตรวจแบบต่างๆและเปรียบเทียบกับค่าอ้างอิง (ค่าการทำงานของเรนินที่เก็บและตรวจทันทีในกลุ่มที่ 1 โดย

ใช้วิธี paired t-test สำหรับข้อมูลเชิงปริมาณที่มีการแจกแจงปกติ และใช้ Non-parametric test สำหรับข้อมูลเชิงปริมาณที่ไม่ได้มีการแจกแจงแบบปกติ

3. วิเคราะห์ข้อมูลสัดส่วนระหว่างระดับของพลาสมาอัลโดสเตอโรนและการทำงานของเรนิน (plasma aldosterone concentration / plasma renin activity ; aldosterone-renin ratio) ที่ได้จากค่าการทำงานของเรนินที่กระบวนการเก็บและตรวจแบบต่างๆว่ามีผลต่อการคัดกรองภาวะ primary hyperaldosteronism อย่างไร โดยใช้วิธี paired t-test สำหรับข้อมูลเชิงปริมาณที่มีการแจกแจงปกติ และใช้ Non-parametric test สำหรับข้อมูลเชิงปริมาณที่ไม่ได้มีการแจกแจงแบบปกติ และใช้ Chi-square test สำหรับข้อมูลเชิงกลุ่ม

ในการวิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมดทำโดยใช้โปรแกรม SPSS version 17.0 และพิจารณาระดับนัยสำคัญ (p value) เมื่อน้อยกว่า 0.05

บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

คุณลักษณะของประชากรในการศึกษา

ผู้ป่วยความดันโลหิตสูงที่มีค่าการทำงานของเรนินต่ำ หรือผู้ป่วยที่สงสัยภาวะ primary hyperaldosteronism จำนวน 40 คน อายุเฉลี่ย 48.40 ±14.44 ปี ส่วนใหญ่เป็นเพศหญิง (60%) ส่วนสูงเฉลี่ย 161.45±8.46 เซนติเมตร น้ำหนัก 70.31±16.54 กิโลกรัม ค่าดัชนีมวลกาย 27.64±4.97 กิโลกรัม/ตารางเมตร ผู้ป่วยทุกคนมีโรคประจำตัวเป็นความดันหิตสูง (100%) รองลงมาเป็นโรคไขมันในเลือดสูง (37.5%) เบาหวาน (15%) และโรคไตเรื้อรัง (12.5%) ตามลำดับ

ผู้ป่วยที่เข้าการศึกษามีค่าเฉลี่ยของระยะเวลาตั้งแต่เริ่มวินิจฉัยความดันโลหิตสูง 5.87 ±6.49 ปี ค่าความดันโลหิตตัวบน (Systolic blood pressure, SBP) และตัวล่าง (Diastolic Blood Pressure, DBP) เฉลี่ย 151.17 ±19.25 และ 88.21 ±11.04 มิลลิเมตรปรอทตามลำดับ ส่วนใหญ่การควบคุมความดันโลหิตส่วนใหญ่ใช้ยากลุ่ม non-dihydropyridine calcium antagonists (77.5%) และรองลงมาเป็น α-adrenergic receptor antagonists (67.5%) ผู้ป่วยที่เคยได้รับการตรวจค่าความเข้มข้นของอัลโดสเตอโรนและค่าการทำงานของเรนินก่อนเข้ากาศึกษา พบว่าค่าเฉลี่ยของค่าความเข้มข้นของอัลโดสเตอโรน 42.45 ±46.28 ng/dl และค่าเฉลี่ยของค่าการทำงานของเรนิน 1.50 ±1.79 ng/ml/h และค่าสัดส่วนระหว่างระดับของพลาสมาอัลโดสเตอโรนและการทำงานของเรนินก่อนเข้าการศึกษา (ARR) เป็น 52.8 (IQR 19.08-170.66)

การวินิจฉัยสาเหตุของความดันโลหิตสูงในผู้ป่วยที่เข้าการศึกษาพบว่า ส่วนใหญ่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นความดันโลหิตสูงแบบไม่มีสาเหตุ 52.5% รองลงมาคือ primary hyperaldosteronism 45% ในจำนวนนี้เป็น aldosterone-producing adenoma 37.5% และ primary hyperaldosteronism ที่ไม่ได้ระบุประเภท 7.5% และ adrenocortical neoplasm 2.5%

ข้อมูลคุณลักษณะของประชากรในการศึกษาโดยละเอียดแสดงในตารางที่ 10

ตารางที่ 10 แสดงลักษณะข้อมูลพื้นฐานของประชากรที่นำมาศึกษา

ข้อมูลพื้นฐาน (จำนวน 40 คน)	ผลการศึกษา (mean±SD)
อายุ (ปี)	48.40 ±14.44
เพศชาย (%)	40
ส่วนสูง (เซนติเมตร)	161.45 ±8.46
น้ำหนัก (กิโลกรัม)	70.31 ±16.54
ค่าดัชนีมวลกาย (กิโลกรัม/ตารางเมตร)	27.64 ±4.97
โรคประจำตัว (%)	
- ความดันโลหิตสูง	100
- เบาหวาน	15
- ไขมันในเลือดสูง	37.5
- โรคไตเรื้อรัง	12.5
- โรคหลอดเลือดหัวใจ	2.5
- โรคหลอดเลือดสมอง	7.5
ระยะเวลาของการตั้งแต่เริ่มวินิจฉัยความดันโลหิตสูง (ปี)	5.87 ±6.49
ความดันโลหิต	
- Systolic blood pressure	151.17 ±19.25
- Diastolic Blood Pressure	88.21 ±11.04
การวินิจฉัย	
- Aldosterone-producing adenoma	15 (37.5%)
- Primary hyperaldosteronism ที่ไม่ได้ระบุประเภท	3 (7.5%)
- Essential hypertension	21 (52.5%)
- Subclinical Cushing's syndrome	1 (2.5%)
ยาที่ใช้ระหว่างที่เข้าการศึกษา (%)	
- Non-dihydropyridine calcium antagonists	77.5
- α-adrenergic receptor antagonists	67.5
- Oral hypoglycemic agents	10
- Statins	27.5
- Fibrates	2.5
- Aspirins	10

- Proton pump inhibitors	2.5
ค่าความเข้มข้นของอัลโดสเตอโรนก่อนเข้าการศึกษา (PAC,ng/dl)	42.45 ±46.28
ค่าการทำงานของเรนินก่อนเข้าการศึกษา (PRA, ng/ml/hr)	1.50 ±1.79
ระดับของโพแทสเซียมในเลือด (mmol/L)	3.84 ±0.51
สัดส่วนระหว่างระดับของพลาสมาอัลโดสเตอโรนและการทำงานของเรนินก่อนเข้าการศึกษา (ARR)	52.80 (Median) (IQR 19.08-170.66)

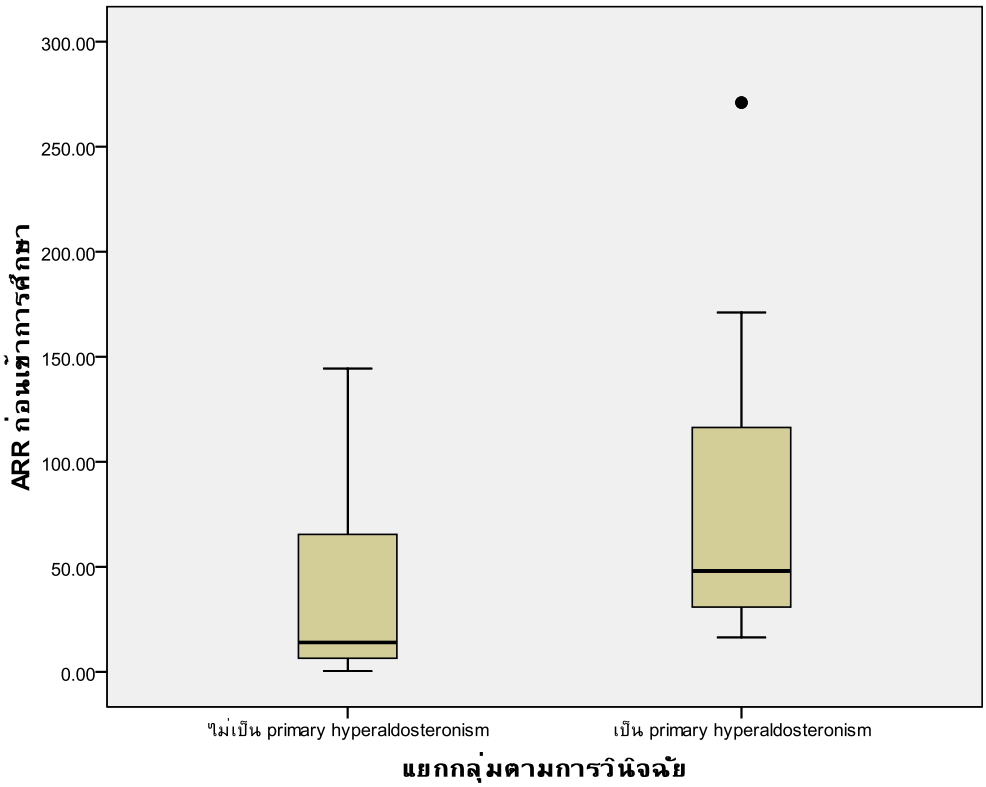
ตารางที่ 11 แสดงการวิเคราะห์เปรียบเทียบข้อมูลโดยแยกตามการวินิจฉัยโดยแยกเป็นกลุ่มที่วินิจฉัย primary hyperaldosteronism (จำนวน 22 คน) และกลุ่มที่ไม่ได้รับการวินิจฉัย primary hyperaldosteronism (จำนวน 18 คน) พบว่า อายุ, เพศ, ส่วนสูง, น้ำหนัก, ค่าดัชนีมวลกาย, การควบคุมความดันโลหิต, และค่าการทำงานของเรนิน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ทางสถิติ แต่พบว่าระยะเวลาตั้งแต่เริ่มวินิจฉัยความดันโลหิตสูง ค่าความเข้มข้นของอัลโดสเตอโรน และค่าสัดส่วนระหว่างระดับของพลาสมาอัลโดสเตอโรนและการทำงานของเรนินก่อนเข้าการศึกษามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.009$ และ $p<0.023$ ตามลำดับ) โดยพบว่ากลุ่มที่ได้รับการวินิจฉัย primary hyperaldosteronism จะมีระยะเวลาตั้งแต่เริ่มวินิจฉัยความดันโลหิตสูงนานกว่า (7.87±6.98 ปี เทียบกับ 4.24±5.72 ปี) มีค่าความเข้มข้นของอัลโดสเตอโรนสูงกว่า (61.16±55.01 ng/dl เทียบกับ 19.99±15.14 ng/dl) และสัดส่วนของอัลโดสเตอโรนต่อเรนินก่อนเข้าการศึกษาสูงกว่า (48.11 (IQR 29.66-129.61) และ 14.00 (IQR 6.37-78.00)) ดังแสดงในตารางที่ 11 และภาพที่ 12

ตารางที่ 11 แสดงลักษณะข้อมูลพื้นฐานของประชากรที่นำมาศึกษาแยกตามการวินิจฉัย

ข้อมูลพื้นฐาน	ผลการศึกษา (mean ±SD)		p-value
	กลุ่มที่วินิจฉัย primary hyperaldosteronism (จำนวน 22 คน)	กลุ่มที่ไม่ได้รับการวินิจฉัย primary hyperaldosteronism (จำนวน 18 คน)	
อายุ (ปี)	48.28 ±10.70	48.5 ±17.16	0.960
เพศชาย (%)	44.4	36.3	0.846
ส่วนสูง (เซนติเมตร)	160.18 ±6.53	162.61 ±9.91	0.398
น้ำหนัก (กิโลกรัม)	68.61	71.70	0.564

ค่าดัชนีมวลกาย (กิโลกรัม/ตารางเมตร)	26.73 ±4.27	28.46 ±5.50	0.304
ระยะเวลาตั้งแต่เริ่มวินิจฉัยความดันโลหิตสูง (ปี)	7.87 ±6.98	4.24 ±5.72	0.034
ความดันโลหิต (มิลลิเมตรปรอท) - SBP - DBP	 153.46 ±18.36 90.70 ±	 149.29 ±20.17 86.18 ±	 0.502 0.201
ค่าความเข้มข้นของอัลโดสเตอโรนก่อนเข้าการศึกษา (ng/dl)	61.16 ±55.01	19.99 ±15.14	0.009
ค่าการทำงานของเรนินก่อนเข้าการศึกษา (ng/ml/hr)	1.46 ±2.05	1.56 ±1.49	0.875
สัดส่วนระหว่างระดับของพลาสมาอัลโดสเตอโรนและการทำงานของเรนินก่อนเข้าการศึกษา (ARR)	48.11 (median) (IQR 29.66-129.61)	14.00 (median) (IQR 6.37-78.00)	0.023

ภาพที่ 12 แผนภูมิแสดงค่าสัดส่วนระหว่างระดับของพลาสมาอัลโดสเตอโรนและการทำงานของเรนินแยกตามกลุ่มการวินิจฉัย



หากวิเคราะห์แยกกลุ่มประชากรที่ศึกษาตามค่าการทำงานของเรนินโดยแบ่งตามค่าการทำงานของเรนินในกลุ่มที่ 1 ซึ่งเป็นกลุ่มที่ตรวจวัดค่าการทำงานของเรนินทันทีภายใน 30 นาที หลังจากเจาะเลือดซึ่งเป็นค่าที่เชื่อถือได้มากที่สุด โดยแบ่งเป็นกลุ่มที่มีค่าการทำงานของเรนินต่ำ (PRA< 1.5 ng/ml/hr) จำนวน 30 คน และ กลุ่มที่มีค่าการทำงานของเรนินปกติ (PRA ≥1.5 ng/ml/h) จำนวน 10 คน พบว่า อายุ, เพศ, น้ำหนัก, ค่าดัชนีมวลกาย, ระยะเวลาตั้งแต่เริ่มวินิจฉัยความดันโลหิตสูง, การควบคุมความดันโลหิต, ค่าการทำงานของเรนิน และค่าความเข้มข้นของอัลโดสเตอโรน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ส่วนสูงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.019) และถึงแม้ว่าค่าการทำงานของเรนินก่อนเข้าการศึกษาจะไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่พบว่าแนวโน้มกลุ่มที่มีค่า PRA จากตัวอย่างกลุ่มที่ 1 ต่ำ จะมีค่า PRA ก่อนเข้าการศึกษาต่ำกว่า (1.02 ±0.89 เทียบกับ 3.29 ±3.01 ng/ml/hr, p-value=0.094) ดังตารางที่ 12

ตารางที่ 12 แสดงลักษณะข้อมูลพื้นฐานของประชากรที่นำมาศึกษาแยกตามระดับค่าการทำงานของเรนิน

ข้อมูลพื้นฐาน	ผลการศึกษา		p-value
	กลุ่มที่ค่า PRA ต่ำ (PRA <1.5 ng/ml/hr) (จำนวน 30 คน)	กลุ่มที่ค่า PRA ปกติ (PRA ≥1.5 ng/ml/hr) (จำนวน 10 คน)	
อายุ (ปี)	51.23 ±13.89	39.90 ±13.24	0.030
เพศชาย (%)	33.33	60	0.159
ส่วนสูง (เซนติเมตร)	159.44 ±7.72	166.70 ±8.39	0.019
น้ำหนัก (กิโลกรัม)	67.37 ±14.08	79.1 ±20.79	0.051
ค่าดัชนีมวลกาย (กิโลกรัม/ตารางเมตร)	27.37 ±4.31	28.36 ±6.60	0.600
ระยะเวลาตั้งแต่เริ่มวินิจฉัยความดันโลหิตสูง (ปี)	6.13 ±6.61	5.10 ±6.23	0.479
ความดันโลหิต - Systolic Blood Pressure - Diastolic Blood Pressure	 151.89 ±19.83 87.74 ±11.14	 149.00 ±18.20 89.63 ±11.19	 0.687 0.645
ได้รับการวินิจฉัย primary hyperaldosteronism (%)	53.3	20	0.082
ค่าความเข้มข้นของอัลโดสเตอโรนก่อนเข้าการศึกษา (ng/dl)	39.96 ±33.97	51.69 ±80.54	0.560
ค่าการทำงานของเรนินก่อนเข้าการศึกษา (ng/ml/hr)	1.02 ±0.89	3.29 ±3.01	0.094

ผลค่าการทำงานของเรนินที่ได้จากกระบวนการเก็บและการละลายที่อุณหภูมิต่างๆ กัน

ตัวอย่างที่ได้จะถูกแบ่งเป็น 5 กลุ่มเพื่อศึกษาถึงอิทธิพลของอุณหภูมิระหว่างการเก็บสิ่งส่งตรวจและการละลายสิ่งส่งตรวจต่อค่าการทำงานของเรนิน

1. กลุ่มที่ 1 : นำพลาสมาตรวจหาค่าการทำงานของเรนินภายใน 30 นาทีหลังเก็บตัวอย่าง ซึ่งกลุ่มนี้ถือเป็นกลุ่มควบคุม ค่าที่ได้มีความน่าเชื่อถือมากที่สุด
2. กลุ่มที่ 2 : นำพลาสมาแช่แข็งเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 อาทิตย์ แล้วนำมาละลายให้อยู่ในรูปของเหลวในอ่างน้ำแข็ง เป็นเวลา 40 นาที แล้วตรวจหาค่า การทำงานของเรนิน
3. กลุ่มที่ 3 : นำพลาสมาแช่แข็งเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 อาทิตย์ แล้วนำมาละลายให้อยู่ในรูปของเหลวที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 15นาที แล้วตรวจหาค่าการทำงานของเรนิน
4. กลุ่มที่ 4 : นำเลือดในหลอด EDTA ที่ได้ แช่ในอ่างน้ำแข็งเป็นเวลา 6 ชั่วโมง แล้วปั่นแยกพลาสมาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แช่แข็งเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 อาทิตย์ แล้วนำมาละลายให้อยู่ในรูปของเหลวในอ่างน้ำแข็ง เป็นเวลา 40 นาที แล้วตรวจหาค่าการทำงานของเรนิน
5. กลุ่มที่ 5 : นำเลือดในหลอด EDTA ที่ได้ ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง(25องศาเซลเซียส)เป็นเวลา 6 ชั่วโมง แล้วปั่นแยก พลาสมาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แช่แข็งเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 อาทิตย์ แล้วนำมาละลายให้อยู่ในรูปของเหลวในอ่างน้ำแข็งเป็นเวลา 40 นาที แล้วตรวจหาค่าการทำงานของเรนิน

ค่าการทำงานของเรนินในกลุ่มที่ 1-5 แสดงในตารางที่ 13 และภาพที่ 13 ผลการศึกษาพบว่าค่าการทำงานของเรนินในกลุ่มที่ 1 ซึ่งถือเป็นกลุ่มควบคุมเท่ากับ 0.635 (IQR 0.273-1.455) ng/ml/h ค่าการทำงานของเรนินในกลุ่มที่ 2 และ 3 เป็นค่าที่ประเมินอิทธิพลของอุณหภูมิระหว่างการละลายพลาสมา (thawing) โดยกลุ่มที่ 2 ละลายพลาสมาในอ่างน้ำแข็งได้ค่าการทำงานของเรนิน 1.805 (IQR 1.040-3.050) ng/ml/h และกลุ่มที่ 3 ละลายพลาสมาที่อุณหภูมิห้องได้ค่าการทำงานของเรนิน 1.470 (IQR 0.778-2.930) ng/ml/h โดยมีค่าเพิ่มขึ้นจากค่าการทำงานของเรนินในกลุ่มที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (เพิ่มจากกลุ่มที่ 1 2.843 และ 2.314 เท่าตามลำดับ) แต่หากวิเคราะห์ค่าการทำงานของเรนินในกลุ่มที่ 2 เทียบกับกลุ่มที่ 3 พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.398)

ค่าการทำงานของเรนินในกลุ่มที่ 4 และ 5 เป็นค่าที่ประเมินอิทธิพลของอุณหภูมิระหว่างกระบวนการเก็บสิ่งส่งตรวจ โดยกลุ่มที่ 4 ได้แช่สิ่งส่งตรวจในอ่างน้ำแข็งเป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมงได้ค่าการทำงานของเรนิน 2.055 (IQR 0.963-3.160) ng/ml/hr และกลุ่มที่ 5 ได้ตั้งสิ่งส่งตรวจทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมงได้ค่าการทำงานของเรนิน 1.915 (IQR 0.875-3.635) ng/ml/hr โดยมีค่าเพิ่มขึ้นจากค่าการทำงานของเรนินในกลุ่มที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) เพิ่มจากกลุ่มที่ 1 3.236 และ 3.015 เท่าตามลำดับ ทั้งสองกลุ่มนี้ได้ทำการละลายพลาสมาในอ่างน้ำแข็งเหมือนกัน แต่หากวิเคราะห์ค่าการทำงานของเรนินในกลุ่มที่ 4 เทียบกับกลุ่มที่ 5 พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.154$) ข้อมูลแสดงในตารางที่ 13 และภาพที่ 13-17 ค่าความเข้มข้นของอัลโดสเตอโรนในกลุ่มตัวอย่างที่ศึกษาเท่ากับ 19.5 ng/dl (IQR 12.125-55.875)

ตารางที่ 13 แสดงค่าการทำงานของเรนิน (plasma renin activity) และ ค่าความเข้มข้นของอัลโดสเตอโรน (plasma aldosterone concentration) ในกลุ่มตัวอย่างที่ศึกษา

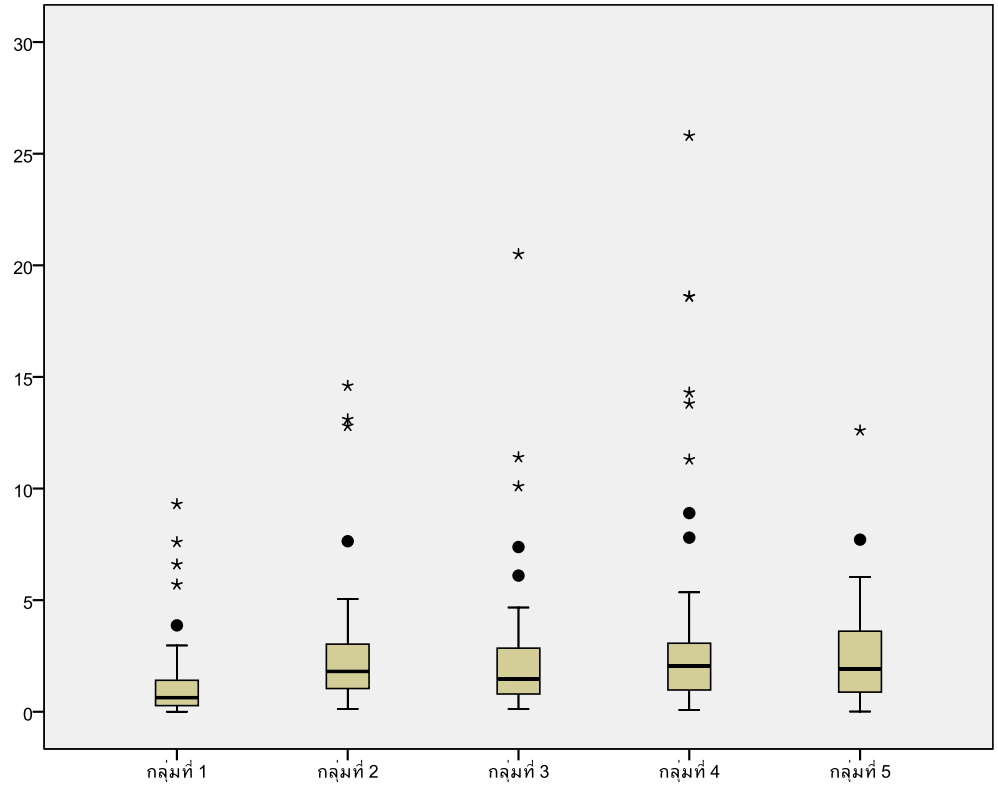
ค่าการทำงานของเรนินในพลาสมาในกลุ่มตัวอย่างที่ศึกษา				
กระบวนการเก็บตัวอย่าง	ค่าการทำงานของเรนินในพลาสมา		สัดส่วนของ PRA ที่เพิ่มขึ้น (เท่า)	p-value *
	median PRA (ng/ml/hr)	IQR		
กลุ่มที่ 1	0.635	0.273-1.455	-	-
กลุ่มที่ 2	1.805**	1.040-3.050	2.843	$p < 0.001$
กลุ่มที่ 3	1.470**	0.778-2.930	2.314	$p < 0.001$
กลุ่มที่ 4	2.055***	0.963-3.160	3.236	$p < 0.001$
กลุ่มที่ 5	1.915***	0.875-3.635	3.015	$p < 0.001$
ค่าความเข้มข้นของอัลโดสเตอโรนในกลุ่มตัวอย่างที่ศึกษา				
	Median PAC (ng/dl)		IQR	
PAC	19.050		12.125-55.875	

*ค่า p-value เทียบกับค่าการทำงานของเรนินในพลาสมาของกลุ่มที่ 1

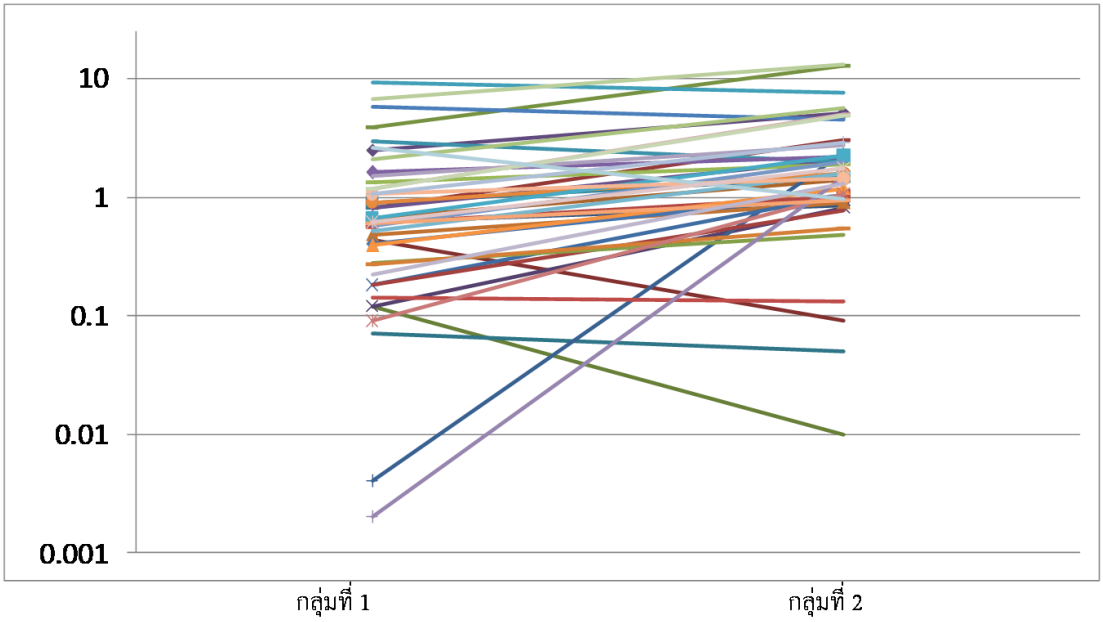
**ค่า PRA ในกลุ่มที่ 2 และ 3 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.398$)

***ค่า PRA ในกลุ่มที่ 4 และ 5 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.154$)

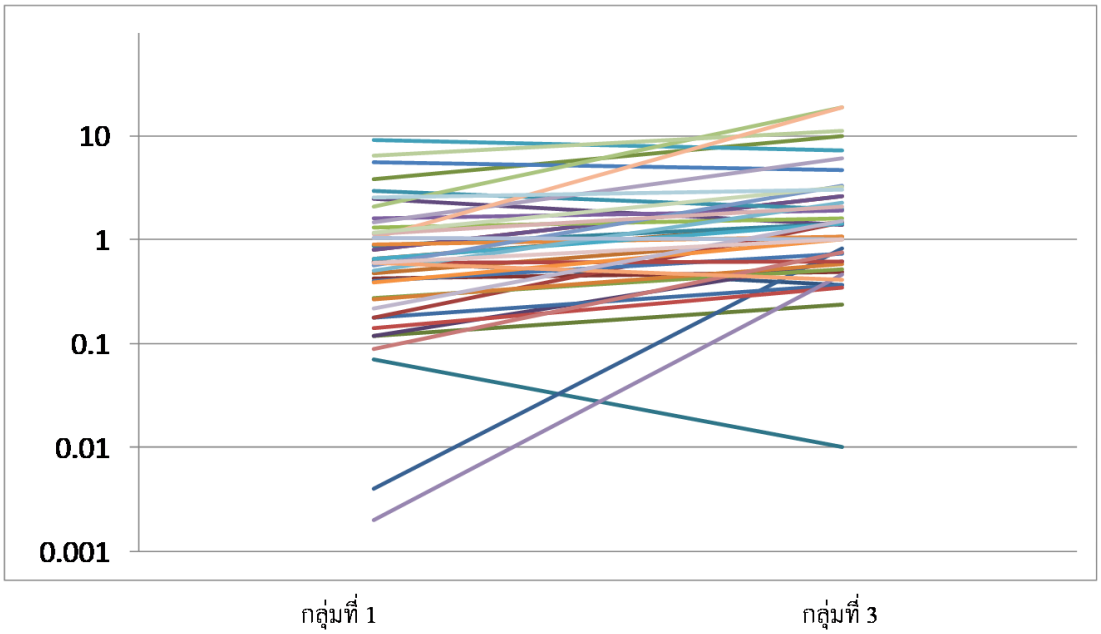
ภาพที่ 13 แสดงค่าการทำงานของเรนิน (plasma renin activity) ในกลุ่มตัวอย่าง



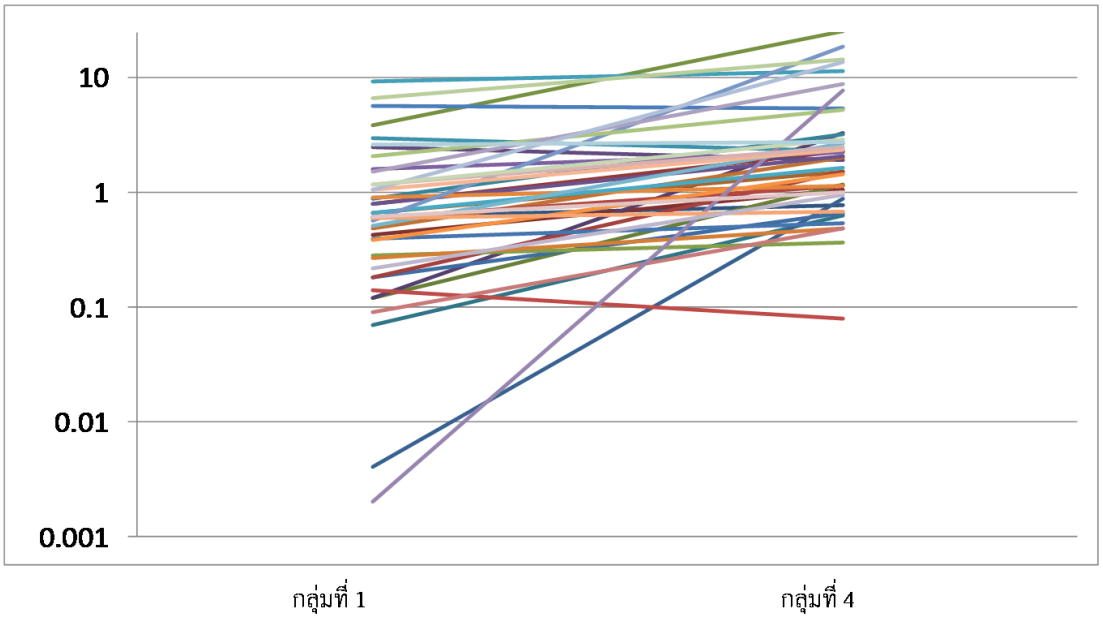
ภาพที่ 14 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าการทำงานของเรนินหลังจากการละลายตัวอย่างในอ่างน้ำแข็ง (กลุ่มที่ 2) เทียบกับกลุ่มควบคุม (กลุ่มที่ 1) ในตัวอย่างที่ได้จากผู้ป่วยแต่ละคน



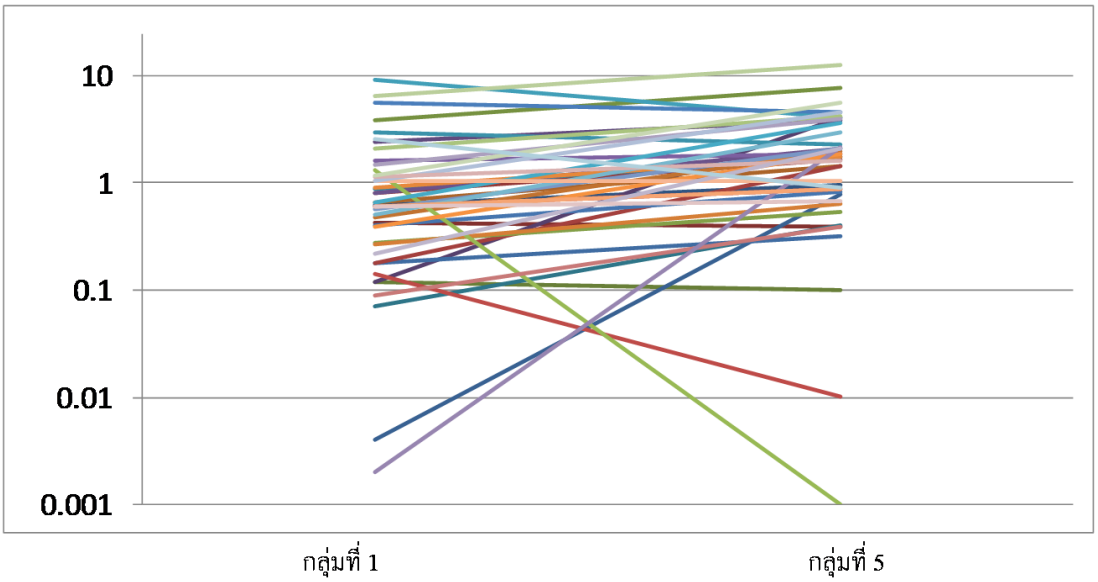
ภาพที่ 15 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าการทำงานของเรนินหลังจากการละลายตัวอย่างที่อุณหภูมิห้อง (กลุ่มที่ 3) เทียบกับกลุ่มควบคุม (กลุ่มที่ 1) ในตัวอย่างที่ได้จากผู้ป่วยแต่ละคน



ภาพที่ 16 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าการทำงานของเรนินหลังจากแช่ตัวอย่างในอ่างน้ำแข็งชั่วโมง (กลุ่มที่ 4) เทียบกับกลุ่มควบคุม (กลุ่มที่ 1) ในตัวอย่างที่ได้จากผู้ป่วยแต่ละคน 6



ภาพที่ 17 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าการทำงานของเรนินหลังตั้งตัวอย่างทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 6 ชั่วโมง (กลุ่มที่ 5) เทียบกับกลุ่มควบคุม (กลุ่มที่ 1) ในตัวอย่างที่ได้จากผู้ป่วยแต่ละคน



เมื่อแยกวิเคราะห์อิทธิพลของอุณหภูมิต่อค่าการทำงานของเรนินในกลุ่มที่ค่าการทำงานของเรนินต่ำ (PRA < 1.5 ng/ml/hr) จำนวน 30 คนและปกติ (PRA ≥ 1.5 ng/ml/hr) จำนวน 10 คน พบว่าเฉพาะกลุ่มที่มีค่าการทำงานของเรนินต่ำเท่านั้น ที่มีการเพิ่มขึ้นของค่าการทำงานของเรนินในกลุ่มที่ 2, 3, 4, และ 5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.001$) โดยในกลุ่มที่ 1 มีค่า การทำงานของเรนิน 0.523±0.371 ng/ml/hr และมีการเพิ่มขึ้นเป็น 1.782±1.267, 1.390±0.928, 2.646±3.998 และ 1.889±1.481 ng/ml/hr ตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนในกลุ่มที่มีค่าการทำงานของเรนินปกติ พบว่า ในกลุ่มที่ 1 มีค่า การทำงานของเรนิน 4.421 ±2.714 ng/ml/hr และมีการเพิ่มขึ้นเป็น 6.546±5.170, 6.857 ±5.914, 9.34 3±8.166 และ 4.551 ±3.370 ng/ml/hr แต่ความแตกต่างนี้ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ดังตารางที่ 14

ตารางที่ 14 แสดงค่าการทำงานของเรนิน (plasma renin activity) ในกลุ่มตัวอย่างแยกตามระดับของค่าการทำงานของเรนินในกลุ่มควบคุม

	ค่าการทำงานของเรนิน (mean PRA, ng/ml/hr)	
	กลุ่มตัวอย่างที่ค่า PRA < 1.5 ng/ml/hr (กลุ่มตัวอย่าง 30 คน)	กลุ่มตัวอย่างที่ค่า PRA ≥ 1.5 ng/ml/hr (กลุ่มตัวอย่าง 10 คน)
กลุ่มที่ 1	0.523±0.371	4.421±2.714
กลุ่มที่ 2	1.782±1.267*	6.546±5.170**
กลุ่มที่ 3	1.390±0.928*	6.857±5.914**
กลุ่มที่ 4	2.646±3.998*	9.343±8.166**
กลุ่มที่ 5	1.889±1.481*	4.551±3.370**

*p<0.001 เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ 1

**p>0.05 เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ 1

ตารางที่ 15 แสดงค่าการทำงานของเรนิน (plasma renin activity) ในกลุ่มตัวอย่างแยกตามการวินิจฉัย

	ค่าการทำงานของเรนิน (mean PRA, ng/ml/hr)	
	กลุ่มตัวอย่างที่ได้รับการวินิจฉัย primary hyperaldosteronism (กลุ่มตัวอย่าง 18 คน)	กลุ่มตัวอย่างที่ไม่ได้รับการวินิจฉัย primary hyperaldosteronism (กลุ่มตัวอย่าง 22 คน)
กลุ่มที่ 1	0.705±0.750	2.146±2.709
กลุ่มที่ 2	2.023±1.565*	3.750±4.289*
กลุ่มที่ 3	1.531±1.127*	3.761±4.845*
กลุ่มที่ 4	3.141±4.914*	5.285±6.704*
กลุ่มที่ 5	1.995±1.851*	3.013±2.676**

*p<0.05 เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ 1

**p=0.10 เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ 1

เมื่อแยกวิเคราะห์อิทธิพลของอุณหภูมิต่อค่าการทำงานของเรนินตามการวินิจฉัยเป็นสองกลุ่มคือ กลุ่มตัวอย่างที่ได้รับการวินิ จฉัย primary hyperaldosteronism จำนวน 18 คน และ กลุ่มตัวอย่างที่ไม่ได้รับการวินิจฉัย primary hyperaldosteronism จำนวน 22 คน พบว่ากลุ่มที่ได้รับการวินิจฉัย primary hyperaldosteronism มีการเพิ่มขึ้นของค่าการทำงานของเรนินในกลุ่มที่ 2, 3, 4, และ 5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยในกลุ่มที่ 1 มีค่าการทำงานของเรนิน 0.705 ±0.750 ng/ml/hr และมีการเพิ่มขึ้นเป็น 2.023 ±1.565, 1.531 ±1.127, 3.141 ±4.914 และ 1.995 ±1.851 ng/ml/hr ตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ส่วนในกลุ่มที่ไม่ได้รับการวินิ จฉัย primary hyperaldosteronism พบว่าในกลุ่มที่ 1 มีค่าการทำงานของเรนิน 2.146 ±2.709 ng/ml/hr และมีการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในกลุ่มที่ 2, 3, และ 4 เป็น 3.750 ±4.289, 3.761 ±4.845 และ 5.285 ±6.704 ng/ml/hr แต่ค่าการทำงานของเรนินระหว่างกลุ่มที่ 1 และ 5 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.10$) ดังตารางที่ 15

ผลค่าการทำงานของเรนินที่ได้จากกลุ่มต่างๆ ต่อ สัดส่วนระหว่างระดับของพลาสมาอัลโดสเตอโรนและการทำงานของเรนิน

หลังจากที่ได้ค่าการทำงานของเรนินในแต่ละกลุ่มแล้ว ได้นำมาคำนวณ สัดส่วนระหว่างระดับของพลาสมาอัลโดสเตอโรนและการทำงานของเรนินซึ่งเป็นค่าที่ใช้คัดกรองเพื่อการตรวจวินิจฉัยภาวะ primary hyperaldosteronism ซึ่งจะได้สัดส่วนระหว่างระดับของพลาสมาอัลโดสเตอโรนและการทำงานของเรนินออกมา 5 ค่า ซึ่งได้จากการใช้ค่าการทำงานของเรนินจากกลุ่มที่ 1 ถึง 5 ดังแสดงในตารางที่ 16

ผลการศึกษาพบว่า สัดส่วนระหว่างระดับของพลาสมาอัลโดสเตอโรนและการทำงานของเรนินที่คิดจากค่าการทำงานของเรนินในกลุ่มที่ 1, 2, 3, 4 และ 5 เป็น 32.59 (IQR 9.74-136.68), 10.48 (IQR 5.77-29.54), 12.21 (IQR 5.99-34.03), 9.91 (IQR 4.19-32.18) และ 8.07 (IQR 5.69-33.91) ตามลำดับ โดยค่าที่ได้ในกลุ่มที่ 2, 3, 4 และ 5 ลดลงจากค่าที่ได้ในกลุ่มที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.001$) ดังตารางที่ 16

เมื่อนำสัดส่วนระหว่างระดับของพลาสมาอัลโดสเตอโรนและการทำงานของเรนินที่ได้จากค่าการทำงานของเรนินในกลุ่ม 1 ถึง 5 ของผู้ป่วยแต่ละคนมา คำนวณเป็นสัดส่วนของผู้ป่วยที่ผ่านการตรวจคัดกรองหาภาวะ primary hyperaldosteronism โดยใช้ค่าจุดตัดที่ค่าสัดส่วนมากกว่า 20 และ 30 ดังแสดงในตารางที่ 17 พบว่า ถ้าใช้ค่าจุดตัดของค่า สัดส่วนระหว่างระดับของพลาสมาอัล

โดสเตอโรนและการทำงานของเรนินที่มากกว่า 20 จะมีผู้ป่วยที่ผ่านการคัดกรอง 65 % ถ้าใช้ค่าการทำงานของเรนินจากกลุ่มที่ 1 และลดลงเป็น 30%, 40 %, 35% และ 37.5 % เมื่อใช้ค่าการทำงานของเรนินจากกลุ่มที่ 2, 3, 4 และ 5 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างจากกลุ่มที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และหากเปลี่ยนจุดตัดของค่า สัดส่วนระหว่างระดับของพลาสมาอัลโดสเตอโรนและการทำงานของเรนินเป็นมากกว่า 30 พบว่า จะมีผู้ป่วยที่ผ่านการคัดกรอง 55 % ถ้าใช้ค่าการทำงานของเรนินจากกลุ่มที่ 1 และลดลงเป็น 25%, 25%, 25% และ 30% เมื่อใช้ค่าการทำงานของเรนินจากกลุ่มที่ 2, 3, 4 และ 5 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างจากกลุ่มที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เช่นกัน

ตารางที่ 16 แสดงผลของการกระบวนการเก็บและละลายพลาสมาต่อ สัดส่วนระหว่างระดับของพลาสมาอัลโดสเตอโรนและการทำงานของเรนิน (aldosterone renin ratio)

	สัดส่วนระหว่างระดับของพลาสมาอัลโดสเตอโรนและการทำงานของเรนิน (ARR)	
	Median	IQR
ค่า ARR ที่คิดจากค่า PRA จากกลุ่มที่ 1	32.59	9.74-136.68
ค่า ARR ที่คิดจากค่า PRA จากกลุ่มที่ 2	10.48*	5.77-29.54
ค่า ARR ที่คิดจากค่า PRA จากกลุ่มที่ 3	12.21*	5.99-34.03
ค่า ARR ที่คิดจากค่า PRA จากกลุ่มที่ 4	9.91*	4.19-32.18
ค่า ARR ที่คิดจากค่า PRA จากกลุ่มที่ 5	8.07*	5.69-33.91

*$p<0.001$ เทียบกับค่า ARR ที่คำนวณได้จากค่า PRA ที่ได้จากกลุ่มที่ 1

ตารางที่ 17 แสดงสัดส่วนของผู้ที่เข้ารับการศึกษาที่ผลการคัดกรองหาภาวะ primary hyperaldosteronism เป็นบวก เมื่อใช้ค่า PRA ที่ได้จากตัวอย่างกลุ่มที่ 1-5 และ ที่ค่าจุดตัด (cut-off level) ต่างๆ กัน

สัดส่วนของผู้ที่เข้ารับการศึกษาที่ผลการคัดกรองหาภาวะ primary hyperaldosteronism เป็นบวก				
	ARR>20		ARR>30	
ค่า ARR ที่คิดจากค่า PRA จากกลุ่มที่ 1	65%	-	55%	-
ค่า ARR ที่คิดจากค่า PRA จากกลุ่มที่ 2	30%	p=0.002*	25%	p=0.001*
ค่า ARR ที่คิดจากค่า PRA จากกลุ่มที่ 3	40%	p<0.001*	25%	p=0.001*
ค่า ARR ที่คิดจากค่า PRA จากกลุ่มที่ 4	35%	p<0.001*	25%	p=0.001*
ค่า ARR ที่คิดจากค่า PRA จากกลุ่มที่ 5	37.5%	p<0.001*	30%	p<0.001*

*p-value เทียบกับค่า ARR ที่คิดจากค่า PRA จากกลุ่มที่ 1

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

จากผลการวิจัยพบว่าค่าทำงานของเรนินเฉลี่ยของตัวอย่างก่อนเข้าการศึกษาเป็น 1.50±1.79 ng/ml/hr ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ต่ำ และเมื่อเข้าการศึกษาพบว่าค่าการทำงานของเรนินเท่ากับ 0.653 (IQR 0.273-1.455) ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ต่ำกว่าค่าการทำงานของเรนินก่อนเข้าการศึกษา อิทธิพลของอุณหภูมิระหว่างการละลายต่อค่าการทำงานของเรนินแสดงในค่าการทำงานของเรนินในกลุ่มที่ 2 และ 3 พบว่าการละลายพลาสมาในอ่างน้ำแข็ง (0 องศาเซลเซียส) และการละลายที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทั้งสองกลุ่ม โดยค่าในกลุ่มที่ละลายในอ่างน้ำแข็งเป็น 1.805 (IQR 1.040-3.050) ng/ml/hr คิดเป็น 2.843 เท่าของค่าควบคุม และ ค่าในกลุ่มที่ละลายที่อุณหภูมิห้องเป็น 1.470 (IQR 0.778-2.930) ng/ml/hr คิดเป็น 2.314 เท่าของค่าควบคุม

อิทธิพลของอุณหภูมิระหว่างการเก็บสิ่งส่งตรวจเป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมงแสดงในค่าการทำงานของเรนินในกลุ่มที่ 4 และ 5 พบว่าการเก็บสิ่งส่งตรวจในอ่างน้ำแข็ง (0 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 6 ชั่วโมงและการเก็บที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) เป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง ทำให้ ค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทั้งสองกลุ่มโดยค่าในกลุ่มเก็บในอ่างน้ำแข็งเป็น 2.055 (IQR 0.963-3.160) ng/ml/hr คิดเป็น 3.236 เท่าของค่าควบคุม และ ค่าในกลุ่มที่เก็บที่อุณหภูมิห้องเป็น 1.915 (IQR 0.875-3.635) ng/ml/hr คิดเป็น 3.015 เท่าของค่าควบคุม

ค่าความแตกต่างที่พบข้างต้นนี้เมื่อแยกตามค่าการทำงานของเรนินของกลุ่มควบคุมแล้วพบว่าผลที่มีการเพิ่มขึ้นของค่าการทำงานของเรนินนั้นจะพบเฉพาะในกลุ่มที่มีค่าการทำงานของเรนินต่ำเท่านั้น (PRA < 1.5 ng/ml/hr) แต่ในกลุ่มที่ค่าการทำงานของเรนินปกติไม่พบว่ามีการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.001$)

นอกจากนี้เมื่อแยกตามการวินิจฉัยเป็นสองกลุ่มคือ กลุ่มที่ได้รับการวินิจฉัย primary hyperaldosteronism และกลุ่มที่ไม่ได้รับการวินิจฉัย primary hyperaldosteronism พบว่า ทั้งสองกลุ่มมีการเพิ่มขึ้นของค่าการทำงานของเรนินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกกลุ่ม ($p<0.05$) ยกเว้น

กลุ่มที่ไม่ได้รับการวินิจฉัย primary hyperaldosteronism ที่กระบวนการเก็บเก็บในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่าการเพิ่มของค่าการทำงานของเรนินไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.10)

หากคิดเป็น สัดส่วนระหว่างระดับของพลาสมาอัลโดสเตอโรนและการทำงานของเรนินเพื่อการคัดกรอง primary hyperaldosteronism พบว่าสัดส่วนระหว่างระดับของพลาสมาอัลโดสเตอโรนและการทำงานของเรนินลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกกลุ่มที่ใช้ค่าการทำงานของเรนินในกลุ่มที่ 2 ถึง 5 ในการคัดกรอง และยังส่งผลให้สัดส่วนของคนที่ผ่านการคัดกรองลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยถ้าใช้ค่าจุดตัดที่ 20 จะทำให้มีการคัดกรองผิดพลาดมากถึง 35% และถ้าใช้ค่าจุดตัดที่ 30 จะทำให้มีการคัดกรองผิดพลาดมากถึง 30%

อภิปรายผลการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาถึงอิทธิพลของอุณหภูมิของกระบวนการเก็บและละลายพลาสมาแบบต่างๆ ต่อค่าการทำงานของเรนินเพื่อศึกษาผลของ cryoactivation ในขั้นตอนของ preanalytic process เพื่อศึกษาว่ากระบวนการเก็บและการละลายแบบใดที่ได้ค่าที่ไม่แตกต่างหรือใกล้เคียงกับค่าของกลุ่มควบคุมมากที่สุด โดยได้ออกแบบการวิจัยให้ประเมิน preanalytic process ใน 2 ส่วนคือ ขั้นตอนกระบวนการเก็บสิ่งส่งตรวจว่าการเก็บแช่เย็นและทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องมีความแตกต่างกับค่าควบคุมอย่างไร และขั้นตอนการละลายว่าการละลายในอ่างน้ำแข็งและละลายที่อุณหภูมิห้องมีความแตกต่างกับค่าควบคุมอย่างไร

จากผลการศึกษาพบว่าการละลายพลาสมา ไม่ว่าจะทำในอ่างน้ำแข็งหรือที่อุณหภูมิห้องมีผลเพิ่มค่าการทำงานของเรนินได้พอๆกัน แต่อย่างไรก็ดีในกลุ่มที่ละลายที่อุณหภูมิห้อง ระหว่างการละลายพลาสมาตัวอย่างก็ได้ผ่านความเย็นในช่วงที่เป็นของเหลวด้วยเช่นกัน ดังนั้นแม้ว่าจะเป็นแค่ช่วงเวลาสั้นๆ แต่ก็มีผลให้มีการเพิ่มขึ้นของค่าการทำงานของเรนินอย่างมีนัยสำคัญได้

จากผลการศึกษาผลของการเก็บสิ่งส่งตรวจ พบว่าทั้งกลุ่มที่แช่เย็นในอ่างน้ำแข็งและทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง มีผลเพิ่มค่าการทำงานของเรนินได้พอๆกันทั้งสองกลุ่ม แต่อย่างไรก็ดีกลุ่มที่ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ไม่ได้เป็นการอิทธิพลของการเกิด heat-related angiotensinogen degradation เพียงอย่างเดียว เนื่องจากตัวอย่างได้รับการเก็บแช่แข็งและผ่านการละลายก่อนการตรวจค่าการทำงานของเรนิน ดังนั้นจึงน่าจะมีอิทธิพลของ cryoactivation ได้ ซึ่งถ้าเกิดขึ้นมากเพียงพออาจทำให้ไม่เห็นผลของการเกิด heat-related angiotensinogen degradation ได้ นอกจากนี้ผลค่าการทำงานของเรนินในกลุ่มที่แช่เย็นยังมีอิทธิพลของความเย็นระหว่างการละลายพลาสมาอีกด้วย

การเพิ่มขึ้นของค่าการทำงานของเรนินนั้นจะเห็นได้ชัดในกลุ่มที่มีค่าการทำงานของเรนินต่ำ แต่ไม่พบความแตกต่างนี้เมื่อวิเคราะห์เฉพาะกลุ่มที่มีค่าการทำงานของเรนินปกติ แต่หากพิจารณาค่าการทำงานของเรนินแล้วพบว่ามีแนวโน้มคล้ายคลึงกับค่าที่ได้จากกลุ่มที่มีค่าการทำงานของเรนินต่ำ ได้แก่ ค่าการทำงานของเรนินจะมีแนวโน้มสูงขึ้นในทุกกลุ่มเมื่อเทียบกับค่าควบคุม และค่าการทำงานของเรนินจะมากที่สุดในกลุ่มที่แช่ทิ้งไว้ในอ่างน้ำแข็ง 6 ชั่วโมง ซึ่งสาเหตุที่ยังไม่สามารถเห็นถึงความแตกต่างอาจเป็นเพราะกลุ่มตัวอย่างมีเพียงแค่ 10 คน อาจมีกำลัง (power) ไม่พอหรืออาจเกิดจากในกลุ่มที่มีค่าการทำงานของเรนินต่ำอาจมีสัดส่วนของโปรเรนินในปริมาณที่สูงกว่า จึงทำให้เห็นอิทธิพลของการเกิด cryoactivation ได้ชัดเจนกว่า หากแยกวิเคราะห์ตามการวินิจฉัยพบว่ามีการเกิด cryoactivation ของทั้งสองกลุ่มทั้งที่ได้รับการวินิจฉัยและไม่ได้รับการวินิจฉัย primary hyperaldosteronism เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกกลุ่ม ยกเว้นกลุ่มที่ไม่ได้รับการวินิจฉัย primary hyperaldosteronism ที่ตัวอย่างตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 6 ชั่วโมง

จากผลการศึกษาพบว่าการใช้สัดส่วนระหว่างระดับของพลาสมาอัลโดสเตอโรนและการทำงานของเรนินที่มีอิทธิพลของ cryoactivation อาจจะทำให้มีการคัดกรองผิดพลาดได้ (false negative result) และอาจมากถึง 30-35% ทำให้ผู้ป่วยอาจไม่ได้รับการวินิจฉัยที่ถูกต้อง แต่อย่างไรก็ดีการเก็บสิ่งส่งตรวจและทำการวิเคราะห์ค่าการทำงานของเรนินทันทีซึ่งในทางทฤษฎีแล้วเป็นค่าที่น่าเชื่อถือได้มากที่สุดอาจเป็นไปได้ยากในทางปฏิบัติ ดังนั้นในขั้นตอนกระบวนการเก็บสิ่งส่งตรวจจึงควรทำให้ระยะเวลาการสัมผัสกับความเย็นในภาวะของเหลวน้อยที่สุดและทำให้แช่แข็งที่ -20 องศาเซลเซียสให้เร็วที่สุด และการเก็บสิ่งส่งตรวจโดยการแช่เย็นหรือการทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องก่อนการปั่นแยกและแช่เย็นในระยะเวลาไม่เกิน 6 ชั่วโมง ไม่ได้ทำให้ค่าการทำงานของเรนินแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ดังนั้นจากข้อสรุปทั้งหมดจากการศึกษาจึงแนะนำให้กระบวนการเก็บสิ่งส่งตรวจควรทำการปั่นแยกพลาสมาและแช่แข็งทันทีหลังจากเจาะเลือด และไม่มีความจำเป็นต้องแช่เย็นในระหว่างการเก็บสิ่งส่งตรวจถ้าระยะเวลาระหว่างเก็บสิ่งส่งตรวจและปั่นแยกพลาสมาไม่นานจนเกินไป (น้อยกว่า 6 ชั่วโมง)

ข้อเสนอแนะและข้อจำกัดของการวิจัย

1. จากผลการศึกษาพบว่าค่าการทำงานของเรนินที่เชื่อถือได้มากที่สุดควรเป็นค่าที่ได้รับการวิเคราะห์หลังจากเก็บเลือดและปั่นแยกพลาสมาทันที

2. การแปลผลค่าการทำงานของเรนินที่ตัวอย่างได้สัมผัสกับความเย็นแม้เพียงระยะเวลาไม่นาน ต้องทำด้วยความระมัดระวัง
3. ยังไม่มีหลักฐานว่าการแช่เย็นในระหว่างการบวนการเก็บสิ่งส่งตรวจจะมีผลการตรวจที่ถูกต้องมากกว่าการไม่แช่เย็น ถ้าระยะเวลาระหว่างกระบวนการเก็บและการปั่นแยกและแช่แข็งพลาสมา เป็นระยะเวลาไม่นาน (น้อยกว่า 6 ชั่วโมง)
4. การละลายสิ่งส่งตรวจทำให้ค่าการทำงานของเรนินเพิ่มขึ้นได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
5. การศึกษานี้ไม่ได้เป็นการศึกษาผลของ heat-related angiotensinogen degradation โดยตรง
6. การศึกษานี้ไม่ได้วัดระดับของโปรเรนินในพลาสมาตัวอย่าง

รายการอ้างอิง

(1) Stowasser M. Update in primary aldosteronism. **J Clin Endocrinol Metab.** 2009 Oct;94(10):3623-30.

(2) Milliez P, Girerd X, Plouin PF, Blacher J, Safar ME, Mourad JJ. Evidence for an increased rate of cardiovascular events in patients with primary aldosteronism. **J Am Coll Cardiol.** 2005 Apr 19;45(8):1243-8.

(3) Sealey JE. Plasma renin activity and plasma prorenin assays. **Clin Chem.** 1991 Oct;37(10 Pt 2):1811-9.

(4) Stowasser M, Taylor PJ, Pimenta E, Ahmed AH, Gordon RD. Laboratory investigation of primary aldosteronism. **Clin Biochem Rev.** 2010 May;31(2):39-56.

(5) Drury PL. Incomplete cryoactivation of human renin: a cause of confusion? **Hypertension.** 1982 Sep-Oct;4(5):750-1.

(6) Conn JW. Presidential address. I. Painting background. II. Primary aldosteronism, a new clinical syndrome. **J Lab Clin Med.** 1955 Jan;45(1):3-17.

(7) Rossi GP, Pessina AC, Heagerty AM. Primary aldosteronism: an update on screening, diagnosis and treatment. **J Hypertens.** 2008 Apr;26(4):613-21.

(8)Rossi GP. Primary aldosteronism: a needle in a haystack or a yellow cab on Fifth Avenue? **Curr Hypertens Rep.** 2004 Feb;6(1):1-4.

(9) Young WF, Jr. Primary aldosteronism: management issues. **Ann N Y Acad Sci.** 2002 Sep;970:61-76.

(10) Young WF. Primary aldosteronism: renaissance of a syndrome. **Clin Endocrinol (Oxf).** 2007 May;66(5):607-18.

(11) Shlomo M KS, Larsen PR, Kronenberg HM, editor. **Williams Textbook of Endocrinology. 12th edition ed.** Philadelphia: Elsevier Inc.; 2011.

(12) Campbell DJ, Nussberger J, Stowasser M, Danser AH, Morganti A, Frandsen E, et al. Activity assays and immunoassays for plasma Renin and prorenin: information provided and precautions necessary for accurate measurement. **Clin Chem.** 2009 May;55(5):867-77.

(13) Nussberger J, de Gasparo M, Juillerat L, Guyenne TT, Mooser V, Waeber B, et al. Rapid measurement of total and active renin: plasma concentrations during acute and sustained converting enzyme inhibition with CGS 14824A. **Clin Exp Hypertens A.** 1987;9(8-9):1353-66.

(14) Campbell DJ, Kladis A, Skinner SL, Whitworth JA. Characterization of angiotensin peptides in plasma of anephric man. **J Hypertens.** 1991 Mar;9(3):265-74.

(15) Sealey JE, Blumenfeld J, Laragh JH. Prorenin cryoactivation as a possible cause of normal renin levels in patients with primary aldosteronism. **J Hypertens.** 2005 Feb;23(2):459-60; author reply 60.

(16) Fritsch Neves M, Schiffrin EL. Aldosterone: a risk factor for vascular disease. **Curr Hypertens Rep.** 2003 Feb;5(1):59-65.

(17) Rossi GP, Sacchetto A, Visentin P, Canali C, Graniero GR, Palatini P, et al. Changes in left ventricular anatomy and function in hypertension and primary aldosteronism. **Hypertension.** 1996 May;27(5):1039-45.

(18) Rossi GP, Sacchetto A, Pavan E, Palatini P, Graniero GR, Canali C, et al. Remodeling of the left ventricle in primary aldosteronism due to Conn's adenoma. **Circulation.** 1997 Mar 18;95(6):1471-8.

(19) Halimi JM, Mimran A. Albuminuria in untreated patients with primary aldosteronism or essential hypertension. **J Hypertens.** 1995 Dec;13(12 Pt 2):1801-2.

(20) Rossi GP, Bernini G, Desideri G, Fabris B, Ferri C, Giacchetti G, et al. Renal damage in primary aldosteronism: results of the PAPY Study. **Hypertension.** 2006 Aug;48(2):232-8.

(21) Nishimura M, Uzu T, Fujii T, Kuroda S, Nakamura S, Inenaga T, et al. Cardiovascular complications in patients with primary aldosteronism. **Am J Kidney Dis.** 1999 Feb;33(2):261-6.

(22) Funder JW, Carey RM, Fardella C, Gomez-Sanchez CE, Mantero F, Stowasser M, et al. Case detection, diagnosis, and treatment of patients with primary aldosteronism: an endocrine society clinical practice guideline. **J Clin Endocrinol Metab.** 2008 Sep;93(9):3266-81.

(23) Cawood ML. Measurement of plasma renin activity. **Methods Mol Biol.** 2006;324:187-96.

(24) Osmond DH, Ross LJ, Scaiff KD. Increased renin activity after cold storage of human plasma. **Can J Physiol Pharmacol.** 1973 Sep;51(9):705-8.

(25) Sealey JE, Moon C, Laragh JH, Alderman M. Plasma prorenin: cryoactivation and relationship to renin substrate in normal subjects. **Am J Med.** 1976 Nov;61(5):731-8.

(26) Emanuel RL, Williams GH. Should blood samples for assay of plasma renin activity be chilled? **Clin Chem.** 1978 Nov;24(11):2042-3.

(27) Fyhrquist F, Puutula L. Effect of temperature on plasma renin samples. **Clin Chem.** 1978 Jul;24(7):1202-4.

(28) Lijnen PJ, Amery AK. Cryoactivation of renin in human plasma [proceedings]. **Arch Int Physiol Biochim.** 1978 May;86(2):437-9.

(29) Rowe J, Gallery ED, Gyory AZ. Cryoactivation of renin in plasma from pregnant and nonpregnant subjects, and its control. **Clin Chem.** 1979 Nov;25(11):1972-4.

(30) Herkner K, Herkner C, Fink M. Investigation of plasma renin activity under different conditions for drawing and storing of blood sample. **Clin Chim Acta.** 1983 Jan 7;127(1):131-5.

(31) Matsunaga M, Suzuki Y, Nakagawa K, Wada M, Nishihata S. Reexamination of the conditions for processing and storing of blood for plasma renin assay. **Clin Chim Acta.** 1986 Feb 15;154(3):213-7.

(32) Locsei Z, Racz K, Patocs A, Kovacs GL, Toldy E. Influence of sampling and storage conditions on plasma renin activity and plasma renin concentration. **Clin Chim Acta.** 2009 Apr;402(1-2):203-5.

(33) Lijnen PJ, Amery AK, Fagard RH. Renin concentration after prolonged cold storage of human plasma. **Clin Chim Acta.** 1977 Aug 15;79(1):51-4.

(34) Roulston JE, MacGregor GA. Measurement of plasma renin activity by radioimmunoassay after prolonged cold storage. **Clin Chim Acta.** 1978 Aug 15;88(1):45-8.

ภาคผนวก

เอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย

(Information sheet for research participant)

<u>ชื่อโครงการวิจัย</u> อิทธิพลของอุณหภูมิระหว่างการเก็บและละลายสิ่งส่งตรวจต่อผลของค่าการทำงานของเรนินในพลาสมา และสัดส่วนระหว่างระดับของพลาสมาอัลโดสเตอโรนและการทำงานของเรนินในผู้ป่วยความดันโลหิตสูงที่มีค่าการทำงานของเรนินในพลาสมาต่ำ

<u>แพทย์ผู้ทำวิจัย</u>
ชื่อ นายแพทย์ นวรัฐ เพ็งผ่อง
ที่อยู่ หน่วยต่อมไร้ท่อและเมตาบอลิสม ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
เบอร์โทรศัพท์ 02-2564101, 089-1592789

<u>แพทย์ผู้ร่วมในโครงการวิจัย</u>
ชื่อ ผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์ สารัช สุนทรโยธิน
ที่อยู่ หน่วยต่อมไร้ท่อและเมตาบอลิสม ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
เบอร์โทรศัพท์ 02-2564101

<u>เรียน ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยทุกท่าน</u>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่แสดงข้อมูลเพื่อใช้ประกอบการตัดสินใจของท่านในการเข้าร่วมการศึกษาวิจัย ก่อนที่ท่านตกลงเข้าร่วมการศึกษาดังกล่าว ขอให้ท่านอ่านเอกสารฉบับนี้อย่างละเอียด เพื่อให้ท่านได้ทราบถึงเหตุผล และรายละเอียดของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ หากท่านมีข้อสงสัยใดๆเพิ่มเติม กรุณาซักถามจากทีมงานของแพทย์ผู้ทำวิจัย หรือแพทย์ผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย ซึ่งจะเป็นผู้สามารถให้ความกระจ่างแก่ท่านได้

ท่านสามารถขอคำแนะนำในการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้จากครอบครัว เพื่อน หรือแพทย์ประจำตัวของท่านได้ ถ้าท่านตัดสินใจแล้วว่าจะเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ ขอให้ท่านเซ็นชื่อยินยอมในหนังสือแสดงความยินยอมการเข้าร่วมในโครงการวิจัย

<u>วัตถุประสงค์ของการศึกษา</u>

เป็นงานวิจัยเพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิระหว่างการเก็บและละลายพลาสมาต่อค่าการทำงานของเรนินในพลาสมาในผู้ป่วยความดันโลหิตสูงที่มีค่าการทำงานของเรนินในพลาสมาต่ำโดยกระบวนการเก็บและตรวจพลาสมาของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ เพื่อทราบถึงขั้นตอนการเก็บสิ่งส่งตรวจเพื่อให้ได้ผลของการทำงานของเรนินในพลาสมาที่ถูกต้องที่สุด

<u>วิธีดำเนินการที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย</u>

1. ผู้ทำการวิจัยจะคัดกรองและเชิญผู้ป่วยที่เป็นความดันโลหิตสูงที่มีค่าการทำงานของเรนินต่ำที่ตรวจรักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์เข้าร่วมในโครงการวิจัย
2. อาสาสมัครจะได้รับการอธิบายถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัยโดยท่านจะได้รับเอกสารชุดนี้และได้ลงนามในใบยินยอมก่อน
3. อาสาสมัครจะได้รับการซักประวัติ ตรวจร่างกายจากแพทย์
4. อาสาสมัครนัดมาเจาะเลือดเพื่อตรวจค่าการทำงานของเรนินในพลาสมาที่ อปร . ชั้น 11 โดยจำนวนอาสาสมัครทั้งหมดจนสิ้นสุดการวิจัยมีจำนวน 40 คน
5. การเจาะเลือดจะใช้วิธีปลอดเชื้อ กระทำโดยพยาบาลหรือเจ้าหน้าที่เทคนิคการแพทย์ซึ่งชำนาญ โดยจะทำความสะอาดบริเวณที่เจาะเลือดก่อนเจาะเลือดด้วยเข็มปลอดเชื้อ อาสาสมัครอาจรู้สึกเจ็บเล็กน้อยและอาจพบรอยเขียวช้ำบริเวณที่ถูกเจาะเลือด ซึ่งมักจะหายไปได้เองใน 2-3 วัน หลังเจาะเลือด
6. หากท่านมีข้อสงสัยใดๆ เกี่ยวกับความเสี่ยงที่อาจได้รับจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านสามารถสอบถามจากแพทย์ผู้ทำวิจัยได้ตลอดเวลา

<u>ความเสี่ยงที่อาจได้รับ</u>

ท่านอาจรู้สึกเจ็บเล็กน้อยและอาจพบรอยเขียวช้ำบริเวณที่ถูกเจาะเลือด ซึ่งมักจะหายไปได้เองใน 2-3 วัน หลังเจาะเลือด

<u>ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย</u>

1. ได้ทราบถึงอิทธิพลของอุณหภูมิระหว่างการเก็บและตรวจสิ่งส่งตรวจต่อผลของค่าการทำงานของเรนินในพลาสมา
2. ได้ทราบถึงแนวทางการเก็บสิ่งส่งตรวจเพื่อตรวจค่าการทำงานของเรนินในพลาสมาแก่โรงพยาบาลทั่วไป เพื่อให้ได้ผลการตรวจที่มีความคลาดเคลื่อนน้อยที่สุด

3. เป็นการศึกษาแรกที่ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อค่าการทำงานของเรนินในพลาสมาในผู้ป่วยที่มีภาวะความดันโลหิตสูงที่มีค่าการทำงานของเรนินในพลาสมาต่ำ

<u>ค่าใช้จ่ายสำหรับอาสาสมัครที่จะเข้าร่วมในการวิจัย</u>

ค่าใช้จ่ายต่างๆในโครงการวิจัย เช่น ค่าวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ ผู้สนับสนุนการวิจัยจะเป็นผู้รับผิดชอบทั้งหมด อาสาสมัครจะไม่เสียค่าใช้จ่ายในส่วนของการตรวจเลือดแต่อย่างใด โดยใช้แหล่งเงินทุนจากทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

<u>การเข้าร่วมและการสิ้นสุดการเข้าร่วมโครงการวิจัย</u>

การเข้าร่วมในโครงการวิจัยครั้งนี้เป็นไปโดยความสมัครใจ หากท่านไม่สมัครใจจะเข้าร่วมการศึกษาแล้ว ท่านสามารถถอนตัวได้ตลอดเวลา การขอถอนตัวจากโครงการวิจัย จะไม่มีผลต่อการดูแลรักษาโรคของท่านแต่อย่างใด

แพทย์ผู้ทำวิจัยอาจถอนท่านออกจากการเข้าร่วมการวิจัย เพื่อเหตุผลด้านความปลอดภัยของท่าน หรือเมื่อผู้สนับสนุนการวิจัยยุติการดำเนินงานวิจัย

<u>การปกป้องรักษาข้อมูลของอาสาสมัคร</u>

ข้อมูลที่อาจนำไปสู่การเปิดเผยตัวของท่าน จะได้รับการปกปิดและจะไม่เปิดเผยแก่สาธารณชน ในกรณีที่ผลการวิจัยได้รับการตีพิมพ์ ชื่อและที่อยู่ของท่านจะต้องได้รับการปกปิดอยู่เสมอ โดยจะใช้เฉพาะรหัสประจำโครงการวิจัยของท่าน ตัวอย่างเลือดที่เหลือจากการวิจัยนี้จะได้รับการเก็บรักษาไว้เป็นเวลา 5 ปี ถ้าจะมีการใช้เพื่อตรวจเพิ่มเติมสามารถทำได้ในระยะเวลาที่เก็บรักษาตัวอย่างเลือดไว้ โดยมิต้องขอคำยินยอมใหม่ซ้ำ ทั้งนี้โครงการวิจัยที่จะทำในอนาคตจะต้องผ่านการรับรองจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยก่อนเริ่มโครงการ

จากการลงนามยินยอมของท่าน แพทย์ผู้ทำวิจัยและผู้สนับสนุนการวิจัยมีสิทธิ์สามารถเข้าไปตรวจสอบบันทึกข้อมูลทางการแพทย์ของท่านได้ตลอดเวลา แม้จะสิ้นสุดโครงการวิจัยแล้วก็ตาม หากท่านต้องการยกเลิกการให้สิทธิ์ดังกล่าว ท่านสามารถเขียนบันทึกขอยกเลิกการให้คำยินยอมโดยส่งไปที่ นพ.นวรัฐ เพ็งผ่อง หน่วยต่อมไร้ท่อและเมตาบอลิสม ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หากท่านขอยกเลิกการให้คำยินยอมหลังจากที่ท่านได้เข้าร่วมโครงการวิจัยแล้ว ข้อมูลส่วนตัวของท่านจะไม่ถูกบันทึกเพิ่มเติม อย่างไรก็ตามข้อมูลอื่นๆ ของท่านอาจถูกนำมาใช้เพื่อ

ประเมินผลการวิจัย และท่านจะไม่สามารถกลับมาเข้าร่วมในโครงการนี้ได้อีก ทั้งนี้เนื่องจากข้อมูลของท่านที่จำเป็นสำหรับใช้เพื่อการวิจัยไม่ได้ถูกบันทึก

จากการลงนามยินยอมของท่าน แพทย์ผู้ทำการวิจัยสามารถบอกรายละเอียดของท่านที่เกี่ยวกับการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ให้แก่แพทย์ผู้รักษาท่านได้

<u>สิทธิ์ของผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย</u>

ในฐานะที่ท่านเป็นผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย

1. ท่านจะได้รับทราบถึงลักษณะและวัตถุประสงค์ของการวิจัยในครั้งนี้
2. ท่านจะได้รับการอธิบายเกี่ยวกับระเบียบวิธีการของการวิจัยทางการแพทย์
3. ท่านจะได้รับการอธิบายถึงความเสี่ยงและความไม่สบายที่จะได้รับจากการวิจัย
4. ท่านจะได้รับการอธิบายถึงประโยชน์ที่ท่านอาจจะได้รับจากการวิจัย
5. ท่านจะได้รับทราบแนวทางในการรักษาในกรณีที่พบโรคแทรกซ้อนภายหลังการเข้าร่วมในโครงการวิจัย
6. ท่านจะมีโอกาสได้ซักถามเกี่ยวกับงานวิจัยหรือขั้นตอนที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย
7. ท่านจะได้รับทราบว่าการยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ท่านสามารถขอถอนตัวจากโครงการเมื่อไรก็ได้ โดยผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยสามารถขอถอนตัวจากโครงการโดยไม่ได้รับผลเสียใดๆทั้งสิ้น
8. ท่านจะได้รับสำเนาเอกสารใบยินยอมที่มีทั้งลายเซ็นและวันที่
9. ท่านจะได้โอกาสในการตัดสินใจว่าจะเข้าร่วมในโครงการวิจัยหรือไม่ก็ได้ โดยปราศจากการใช้อิทธิพลบังคับ ข่มขู่ หรือการหลอกลวง

หากท่านไม่ได้รับการปฏิบัติตามที่ปรากฏในเอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในการวิจัย ท่านสามารถร้องเรียนได้ที่ คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตึกอานันทมหิดลชั้น 3 โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ถนนพระราม 4 ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทร 0-2256-4455 ต่อ 14, 15 ในเวลาราชการ

ขอขอบคุณในการร่วมมือของท่านมา ณ ที่นี้

เอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัย

<u>ชื่อโครงการวิจัย</u> **อิทธิพลของอุณหภูมิระหว่างการเก็บและละลายสิ่งส่งตรวจต่อผลของค่าการทำงานของเรนินในพลาสมา และสัดส่วนของอัลโดสเตอโรนต่อเรนิน ในผู้ป่วยความดันโลหิตสูงที่มีค่าการทำงานของเรนิน ในพลาสมาต่ำ**

วันให้คำยินยอมวันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

ข้าพเจ้า นาย/นาง/นางสาว..... ....

ที่อยู่.....

ได้อ่านรายละเอียดจากเอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยวิจัยที่แนบมาฉบับวันที่ ..... และข้าพเจ้ายินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัยโดยสมัครใจ

ข้าพเจ้าได้รับสำเนาเอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยที่ข้าพเจ้าได้ลงนามและ วันที่ พร้อมด้วยเอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย ทั้งนี้ก่อนที่จะลงนามในใบยินยอมให้ทำการวิจัยนี้ ข้าพเจ้าได้รับการอธิบายจากผู้วิจัยถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย ระยะเวลาของการทำวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัย และแนวทางรักษาโดยวิธีอื่นอย่างละเอียด ข้าพเจ้ามีเวลาและโอกาสเพียงพอในการซักถามข้อสงสัยจนมีความเข้าใจอย่างดีแล้ว โดยผู้วิจัยได้ตอบคำถามต่าง ๆ ด้วยความเต็มใจไม่ปิดบังซ่อนเร้นจนข้าพเจ้าพอใจ

ข้าพเจ้ารับทราบจากผู้วิจัยว่าหากเกิดอันตรายใด ๆ จากการวิจัยดังกล่าว ผู้เข้าร่วมวิจัยจะได้รับการรักษาพยาบาลโดยไม่เสียค่าใช้จ่าย

ข้าพเจ้ามีสิทธิที่จะบอกเลิกเข้าร่วมในโครงการวิจัยเมื่อใดก็ได้ โดยไม่จำเป็นต้องแจ้งเหตุผล และการบอกเลิกการเข้าร่วมการวิจัยนี้ จะไม่มีผลต่อการรักษาโรคหรือสิทธิอื่น ๆ ที่ข้าพเจ้าจะพึงได้รับต่อไป

ผู้วิจัยรับรองว่าจะเก็บข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าเป็นความลับ และจะเปิดเผยได้เฉพาะเมื่อได้รับการยินยอมจากข้าพเจ้าเท่านั้น บุคคลอื่นในนามของคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคน อาจได้รับอนุญาตให้เข้ามาตรวจและประมวลข้อมูลของผู้เข้าร่วมวิจัย ทั้งนี้จะต้องกระทำไปเพื่อวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูลเท่านั้น โดยการตกลงที่จะเข้าร่วมการศึกษานี้ข้าพเจ้าได้ให้คำยินยอมที่จะให้มีการตรวจสอบข้อมูลประวัติทางการแพทย์ของผู้เข้าร่วมวิจัยได้

ผู้วิจัยรับรองว่าจะไม่มีการเก็บข้อมูลใด ๆ ของผู้เข้าร่วมวิจัย เพิ่มเติม หลังจากที่ข้าพเจ้าขอยกเลิกการเข้าร่วมโครงการวิจัยและต้องการให้ทำลายเอกสารและ/หรือ ตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบทั้งหมดที่สามารถสืบค้นถึงตัวข้าพเจ้าได้

ข้าพเจ้าเข้าใจว่า ข้าพเจ้ามีสิทธิ์ที่จะตรวจสอบหรือแก้ไขข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าและสามารถยกเลิกการให้สิทธิในการใช้ข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าได้ โดยต้องแจ้งให้ผู้วิจัยรับทราบ

ข้าพเจ้าได้ตระหนักว่าข้อมูลในการวิจัยรวมถึงข้อมูลทางการแพทย์ของข้าพเจ้าที่ไม่มีการเปิดเผยชื่อ จะผ่านกระบวนการต่าง ๆ เช่น การเก็บข้อมูล การบันทึกข้อมูลในแบบบันทึกและในคอมพิวเตอร์ การตรวจสอบ การวิเคราะห์ และการรายงานข้อมูลเพื่อวัตถุประสงค์ทางวิชาการ รวมทั้งการใช้ข้อมูลทางการแพทย์ในอนาคตหรือการวิจัยทางด้านเภสัชภัณฑ์ เท่านั้น

ข้าพเจ้าได้อ่านข้อความข้างต้นและมีความเข้าใจดีทุกประการแล้ว ยินดีเข้าร่วมในการวิจัยด้วยความเต็มใจ จึงได้ลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมนี้

.....ลงนามผู้ให้ความยินยอม

(.....) ชื่อผู้ยินยอมตัวบรรจง

วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....

ข้าพเจ้าได้อธิบายถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการไม่พึงประสงค์หรือความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัยอย่างละเอียด ให้ผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยตามนามข้างต้นได้ทราบและมีความเข้าใจดีแล้ว พร้อมลงนามลงในเอกสารแสดงความยินยอมด้วย ความเต็มใจ

.....ลงนามผู้ทำวิจัย

(.....) ชื่อผู้ทำวิจัย ตัวบรรจง

วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....

.....ลงนามพยาน

(.....) ชื่อพยาน ตัวบรรจง

วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....

เอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยสำหรับผู้แทนโดยชอบธรรม

โครงการวิจัยเรื่อง : อิทธิพลของอุณหภูมิระหว่างการเก็บและละลายสิ่งส่งตรวจต่อผลของค่าการทำงานของเรนินในพลาสมา และสัดส่วนของอัลโดสเตอโรนต่อเรนิน ในผู้ป่วยความดันโลหิตสูงที่มีค่าการทำงานของเรนินในพลาสมาต่ำ

วันให้ความยินยอม วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

ข้าพเจ้า นาย/นาง/นางสาว..... ซึ่งมี

ความสัมพันธ์เป็น .....ของ ด.ช./ด.ญ./นาย/นาง/นางสาว

..... ได้อ่านรายละเอียดจากเอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมการวิจัย

ที่แนบมาฉบับวันที่..... แล้วข้าพเจ้ายินยอมให้ ด.ช./ด.ญ./นาย/นาง/นางสาว

..... เข้าร่วมในโครงการวิจัยโดยสมัครใจ

ข้าพเจ้าได้รับสำเนาเอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยที่ข้าพเจ้าได้ลงนาม และ วันที่ พร้อมด้วยเอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย ทั้งนี้ก่อนที่จะลงนามในใบยินยอมเข้าร่วมในการวิจัยนี้ ข้าพเจ้าและผู้เข้าร่วมการวิจัยได้รับการอธิบายจากผู้วิจัยถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย ระยะเวลาของการทำวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย หรือจากยาที่ใช้รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัยและแนวทางรักษาโดยวิธีอื่นอย่างละเอียด ข้าพเจ้าและผู้เข้าร่วมการวิจัยมีเวลาและโอกาสเพียงพอในการซักถามข้อสงสัยทั้งหมดจนมีความเข้าใจอย่างดีแล้ว โดยผู้วิจัยได้ตอบคำถามต่าง ๆ ที่ข้าพเจ้าและผู้เข้าร่วมการวิจัยสงสัยด้วยความเต็มใจไม่ปิดบังซ่อนเร้นจนข้าพเจ้าและผู้เข้าร่วมการวิจัย พอใจ

ข้าพเจ้าและผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยได้รับทราบจากผู้วิจัยว่าหากเกิดอันตรายใด ๆ จากการวิจัยดังกล่าว ผู้เข้าร่วมวิจัยจะได้รับการรักษาพยาบาล โดยไม่เสียค่าใช้จ่าย และจะได้รับการชดเชยจากผู้สนับสนุนการวิจัย

ข้าพเจ้าเข้าใจถึงสิทธิที่จะบอกเลิกการเข้าร่วมการวิจัย เมื่อใดก็ได้โดยไม่จำเป็นต้องแจ้งเหตุผลและการบอกเลิกการเข้าร่วมการวิจัยนี้ จะไม่มีผลต่อการรักษาโรคหรือสิทธิอื่นๆ ที่ผู้เข้าร่วมการวิจัยจะพึงได้รับต่อไป

ผู้วิจัยรับรองว่าจะเก็บข้อมูลเฉพาะเกี่ยวกับตัวของผู้เข้าร่วมการวิจัยเป็นความลับ และจะเปิดเผยได้เฉพาะเมื่อได้รับการยินยอมจากข้าพเจ้าเท่านั้น บุคคลอื่น ในนามของบริษัทผู้สนับสนุนการวิจัย คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคน และสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา อาจจะได้รับอนุญาตให้เข้ามาตรวจและประมวลข้อมูลส่วนตัวของผู้เข้าร่วมการวิจัย ทั้งนี้จะต้องกระทำไปเพื่อวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูลเท่านั้น โดยการตกลงที่จะเข้าร่วมการศึกษาวิจัยนี้ข้าพเจ้าได้ให้ความยินยอมที่จะให้มีการตรวจสอบข้อมูลประวัติทางการแพทย์ของผู้เข้าร่วมการวิจัยได้

ผู้วิจัยรับรองว่าจะไม่มีการเก็บข้อมูลใด ๆ ของผู้เข้าร่วมการวิจัย เพิ่มเติม หลังจากที่ข้าพเจ้าขอยกเลิกการเข้าร่วมโครงการวิจัยและต้องการให้ทำลายเอกสารและ/หรือตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบทั้งหมดที่สามารถสืบค้นถึงตัวผู้เข้าร่วมการวิจัย

ข้าพเจ้าเข้าใจว่า ข้าพเจ้าและ ผู้เข้าร่วมการวิจัยมีสิทธิ์ที่จะตรวจสอบหรือแก้ไขข้อมูลส่วนตัวของผู้เข้าร่วมการวิจัยและสามารถยกเลิกการให้สิทธิในการใช้ข้อมูลส่วนตัวของผู้เข้าร่วมการวิจัยได้ โดยต้องแจ้งให้ผู้วิจัยรับทราบ

ข้าพเจ้าได้ตระหนักว่าข้อมูลในการวิจัยรวมถึงข้อมูลทางการแพทย์ที่ไม่มีการเปิดเผยชื่อของผู้เข้าร่วมการวิจัย จะผ่านกระบวนการต่าง ๆ เช่น การเก็บข้อมูล การบันทึกข้อมูลในแบบบันทึกและในคอมพิวเตอร์ การตรวจสอบ การวิเคราะห์ และการรายงานข้อมูลเพื่อวัตถุประสงค์ทางวิชาการ รวมทั้งการใช้ข้อมูลทางการแพทย์ในอนาคตหรือการวิจัยทางด้านเภสัชภัณฑ์ เท่านั้น

ข้าพเจ้าได้อ่านข้อความข้างต้น และมีความเข้าใจดีทุกประการแล้ว ยินดีให้ ด.ช./ด.ญ./นาย/นาง/นางสาว ..... เข้าร่วมในโครงการวิจัยด้วยความเต็มใจ จึงได้ลงนามในเอกสารใบยินยอมนี้

.....ลงนามผู้แทนโดยชอบธรรม

(.....) ชื่อผู้แทนโดยชอบธรรมตัวบรรจง

.....ความสัมพันธ์ของผู้แทนโดยชอบธรรมกับผู้เข้าร่วมการวิจัย

วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....

ข้าพเจ้าได้อธิบายถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย อาการไม่พึงประสงค์ หรือความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย หรือจากยาที่ใช้รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัยอย่างละเอียด ให้ผู้แทนโดยชอบธรรมของผู้เข้าร่วมการวิจัยตามนามข้างต้นได้ทราบและมีความเข้าใจดีแล้ว พร้อมลงนามลงในเอกสารแสดงความยินยอมด้วยความเต็มใจ

.....ลงนามผู้ทำวิจัย

(.....) ชื่อผู้ทำวิจัย ตัวบรรจง

วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....

.....ลงนามพยาน

(.....) ชื่อพยาน ตัวบรรจง

วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....

วันที่เก็บเลือด……

CASE RECORD FORM

1. Case number……
2. เพศ 1. ชาย 2.หญิง
3. อายุ……
4. น้ำหนัก……..Kg.
5. ส่วนสูง……cms
6. โรคประจำตัว
    1. Hypertension
    2. DM……..
    3. Dyslipidemia…….
    4. Chronic kidney disease: Cr……..
    5. Cardiovascular disease……
    6. Cerebrovascular disease ……
    7. อื่นๆ……
7. ยาที่ใช้ระหว่างการเข้าการศึกษา
    1. Non-dihydropyridine CCB……..
    2. α-blocker……
    3. Oral hypoglycemic agent……
    4. Statin ……
    5. Fenofibrate
    6. Gemfibrozil
    7. Aspirin
    8. PPI……
    9. อื่นๆ……
8. Duration of hypertension……..yr ……..mo
9. Final diagnosis……..
10. Blood pressure ……/……/……
11. Plasma aldosterone concentration ก่อนเข้าการศึกษา

    ……

12. Plasma renin activityก่อนเข้าการศึกษา……
13. Serum potassium……mEq/dl
14. Plasma aldosterone concentration……
15. Plasma renin activity
    - 1.1……
    - 1.2. ……
    - 1.3. ……
    - 2. ……
    - 3. …… ……

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ชื่อ นายแพทย์ นวรัฐ เพ็งผ่อง

วันเกิด 29 มีนาคม พ.ศ. 2525 จังหวัดนราธิวาส

สถานภาพ โสด

ที่อยู่ บ้านเลขที่152 หมู่ 7 ต.รัตภูมิ อ.ควนเนียง จ. สงขลา 90220

เบอร์โทรศัพท์ 074-432056

การศึกษา

ประถมศึกษา	พ.ศ. 2531-2535	โรงเรียนวัดลำภู จ.นราธิวาส
พ.ศ.	2536	โรงเรียนบ้านควนเนียง จ.สงขลา
มัธยมศึกษา	พ.ศ. 2537-2541	โรงเรียนสาธิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี
อุดมศึกษา	พ.ศ. 2542-2547	คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
แพทย์ใช้ทุน/แพทย์พี่เลี้ยง	พ.ศ. 2548-2551	ณ โรงพยาบาลพระปกเกล้า จันทบุรี และสอบเพื่อ หนังสืออนุมัติบัตรและวุฒิบัตรแสดงความรู้ความชำนาญในการประกอบวิชาชีพเวชกรรม สาขาอายุรศาสตร์ ประจำปีการศึกษา 2551

ประวัติการทำงาน

- พ.ศ. 2548 แพทย์เพิ่มพูนทักษะ โรงพยาบาลพระปกเกล้า จันทบุรี
- พ.ศ. 2549-2551 แพทย์พี่เลี้ยง/แพทย์ใช้ทุน แผนกอายุรกรรม ณ โรงพยาบาลพระปกเกล้า จันทบุรี
- พ.ศ. 2552 อายุรแพทย์ โรงพยาบาลพระปกเกล้า จันทบุรี
- พ.ศ. 2553-2555 แพทย์ประจำบ้านต่อยอด หน่วยต่อมไร้ท่อและเมตะบอลิสม โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์