

เนื้อหางานวิจัย

การวิเคราะห์หาปริมาณ cotinine ในปัสสาวะเพื่อบ่งชี้ทางชีวภาพในการสัมผัสกับควันบุหรี่จากการสูบบุหรี่โดยตรงและควันบุหรี่มือสอง และตัวบ่งชี้ของความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจ

1. บทคัดย่อภาษาไทย และภาษาอังกฤษ

ปริมาณ cotinine ในปัสสาวะสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ในการรับสัมผัสกับควันบุหรี่ในผู้สูบบุหรี่และไม่สูบบุหรี่ ในการศึกษานี้เป็นการนำปัสสาวะมาสกัดด้วยของเหลว (Liquid-liquid extraction) และวิเคราะห์หาปริมาณ cotinine ด้วยเครื่องแยกสารด้วยของเหลวแรงดันสูง (Reversed-phase high performance liquid chromatographic method with diode array detection) ค่าต่ำสุดของวิธีการวิเคราะห์เท่ากับ (Detection limit) 20 ng/mL ในการศึกษาครั้งนี้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณ cotinine ในปัสสาวะ ระดับไขมันในเลือด (LDL-cholesterol HDL-cholesterol total cholesterol) และตัวบ่งชี้ในการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ (high sensitivity C-reactive protein, hs-CRP) ในอาสาสมัครจำนวน 169 ราย แบ่งเป็นผู้ที่สูบบุหรี่เป็นประจำ จำนวน 54 ราย ผู้ที่สัมผัสควันบุหรี่มือสอง จำนวน 60 ราย และกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้สูบบุหรี่และสัมผัสควันบุหรี่ จำนวน 55 ราย จากผลการศึกษาพบค่าเฉลี่ยของปริมาณ cotinine ในปัสสาวะสูงสุดในอาสาสมัครผู้สูบบุหรี่ ลำดับถัดมาคืออาสาสมัครที่ไม่ได้สูบบุหรี่และสัมผัสควันบุหรี่และอาสาสมัครผู้ที่สัมผัสควันบุหรี่มือสอง ซึ่งมีค่าเท่ากับ $1,183.83 \pm 1,131.72$ ng/mL 36.48 ± 63.36 ng/mL และ 35.68 ± 59.11 ng/mL ตามลำดับ ผลการศึกษา hs-CRP ในแต่ละกลุ่มมีดังนี้ อาสาสมัครผู้สูบบุหรี่ที่มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.23 (± 1.35) อาสาสมัครผู้ที่สัมผัสควันบุหรี่มือสองมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.18 (± 1.43) และอาสาสมัครที่ไม่ได้สูบบุหรี่และสัมผัสควันบุหรี่มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.29 (± 1.59) mg/L ในการประเมินแนวโน้มของความเสี่ยงในการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจนั้น ถ้า hs-CRP มีค่ามากกว่า 3 mg/L จะมีโอกาสเสี่ยงสูงในการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ พบว่า กลุ่มผู้สูบบุหรี่เป็นประจำจะมีจำนวนผู้ที่มีความเสี่ยงสูงมากกว่าในกลุ่มได้รับควันบุหรี่มือสองและกลุ่มที่ไม่สัมผัสกับควันและบุหรี่ คิดเป็นร้อยละเท่ากับ 13.0, 6.6 และ 9.1 ตามลำดับสรุปผลการศึกษาในครั้งนี้ คือ สามารถใช้ปริมาณ cotinine ในปัสสาวะเป็นตัวบ่งชี้ในการรับสัมผัสที่ดีในผู้สูบบุหรี่

Urinary cotinine measurement enables estimation of amount of tobacco smoke exposure for both smokers and non-smokers. Cotinine in urine was analyzed by reversed-phase high performance liquid chromatographic method with diode array detection following liquid-liquid extraction with dichloromethane in alkaline urine. Detection limit of the method was 20 ng/mL.

In this cross-sectional study, determination of urinary cotinine, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, total cholesterol, and recognized biomarkers of cardiovascular disease risk: high sensitivity C-reactive protein (hs-CRP), were monitored in 169 adults: 54 smokers, 60 secondhand smokers and 55 non-smokers. The mean values of urinary cotinine (\pm SD) were highest in smokers ($1,183.83 \pm 1,131.72$ ng/mL), followed by non-smokers and secondhand smokers (36.48 ± 63.36 ng/mL and 35.68 ± 59.11) ng/mL. The results of average hs-CRP (\pm SD) for smokers, secondhand smokers and non-smokers were $1.23 (\pm 1.35)$, $1.18 (\pm 1.43)$ and $1.29 (\pm 1.59)$ mg/L, respectively. Assessment of cardiovascular risk trend from levels of Plasma hs-CRP showed that smokers were the highest percentage in high risk (hs-CRP > 3 mg/L) compared with secondhand smokers and non-smokers: 13%, 6.6% and 9.1%, respectively. The present study showed that urinary cotinine can be used as biomarker of exposure for active smoking.

2. Executive summary

การสูบบุหรี่เป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญที่ก่อให้เกิดปัญหาทางด้านสุขภาพ ของทั้งตัวผู้สูบเองและผู้ที่ได้รับควันบุหรี่มือสองจากการสูบบุหรี่ของผู้ร่วมงาน บุคคลในครอบครัว หรือจากผู้ที่สูบบุหรี่ในบริเวณที่สาธารณะ การสูบบุหรี่มีผลทำให้หลอดเลือดมีขนาดแคบลง ทำให้เลือดไปเลี้ยงส่วนต่างๆของร่างกายได้น้อยลง มีผลทำให้เกิดโรคหัวใจตีบหรือหัวใจขาดเลือดได้ทั้งในผู้สูบบุหรี่และผู้ได้รับควันบุหรี่มือสอง รวมถึงมีความเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็งปอดและโรคหัวใจเพิ่มขึ้นในผู้สูบบุหรี่

ในการศึกษาครั้งนี้จะทำการศึกษาในกลุ่มตัวอย่าง 3 กลุ่มคือ กลุ่มผู้สูบบุหรี่ กลุ่มผู้ที่ได้รับควันบุหรี่มือสอง และกลุ่มที่ไม่สูบบุหรี่หรือสัมผัสกับควันบุหรี่ (กลุ่มควบคุม) จะมีการสัมภาษณ์โดยใช้แบบสอบถาม เก็บตัวอย่างเลือดและปัสสาวะในตอนเช้า ซึ่งอาสาสมัครจะต้องมีกรงดอาหารอย่างน้อย 12 ชั่วโมงก่อนการเจาะเลือด

ปัสสาวะจะนำไปวิเคราะห์ปริมาณ nicotine metabolites คือ cotinine ในปัสสาวะ เพื่อใช้เป็นตัวบ่งชี้การรับสัมผัสกับควันบุหรี่ โดยการนำปัสสาวะมาสกัดด้วยสารละลายและวิเคราะห์ด้วยเครื่อง High performance liquid chromatography with diode array detector หน่วยของ cotinine ในปัสสาวะจะแสดงเป็น ng/ml และ ng/g creatinine หลังจากการปรับด้วยค่า creatinine แล้ว ส่วนตัวอย่างเลือดนั้นหลังจากแยกซีรัมแล้ว นำไปวิเคราะห์หาปริมาณ high sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) และระดับไขมันในเลือด (LDL-cholesterol, HDL-cholesterol และtotal cholesterol) ด้วยเครื่อง Automate เพื่อใช้เป็นตัวบ่งชี้ของความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจ

ผลที่ได้จะนำมาวิเคราะห์โดยการ เปรียบเทียบระดับ cotinine ในปัสสาวะ ในกลุ่มผู้สูบบุหรี่ กลุ่มผู้ที่ได้รับควันบุหรี่มือสองและกลุ่มควบคุม ดูปริมาณ hs-CRP ในเลือด ซึ่งใช้เป็นดัชนีชี้วัดเพื่อดูความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจ และหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ cotinine ในปัสสาวะกับปริมาณ hs-CRP และปริมาณ cotinine ในปัสสาวะกับระดับไขมันในเลือด (LDL-cholesterol, HDL-cholesterol และtotal cholesterol)

3. วัตถุประสงค์

1. เพื่อหาปริมาณ cotinine ในปัสสาวะ ในการบ่งชี้การสัมผัสกับควันบุหรี่ในกลุ่มผู้ที่ได้รับควันบุหรี่มือสอง เปรียบเทียบกับกลุ่มผู้สูบบุหรี่และไม่ได้สูบบุหรี่หรือรับควันบุหรี่
2. เพื่อหาปริมาณ high sensitivity C-reactive protein ในเลือด ซึ่งใช้เป็นดัชนีชี้วัดเพื่อดูความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจ
3. เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ cotinine ในปัสสาวะกับปริมาณ high sensitivity C-reactive protein และปริมาณ cotinine ในปัสสาวะกับระดับไขมันในเลือด

4. วิธีทดลอง

การวิจัยในครั้งนี้เป็นการศึกษาแบบ Cross-sectional study โดยกลุ่มตัวอย่างที่จะทำการศึกษาในครั้งนี้ จะใช้อาสาสมัครเพศชาย ที่มีอายุระหว่าง 25-55 ปี ซึ่งจะแบ่งอาสาสมัครเป็น 3 กลุ่ม คือ

- กลุ่มอาสาสมัครที่สูบบุหรี่เป็นประจำ คือผู้ที่สูบบุหรี่อย่างสม่ำเสมอ สูบเป็นประจำทุกวัน
 - กลุ่มอาสาสมัครที่ได้รับควันบุหรี่มือสอง คือผู้ที่ไม่สูบบุหรี่แต่มีการรับสัมผัสกับควันบุหรี่จากสิ่งแวดล้อม คือได้รับควันบุหรี่จากการสูบบุหรี่ของผู้ร่วมงานหรือบุคคลในครอบครัวอยู่เป็นประจำ และ
 - กลุ่มควบคุม คือ ผู้ไม่สูบบุหรี่และไม่ได้มีการสัมผัสกับควันบุหรี่
- และอาสาสมัครจะต้องไม่มีคุณสมบัติดังต่อไปนี้ (Exclusion criteria)
- ดื่มแอลกอฮอล์ โดยที่ดื่มเกินกว่าที่กำหนดดังนี้ เบียร์ 1 กระป๋อง ไวน์คูลเลอร์ 1 ขวด ไวน์ 1 แก้ว (140 ml) หรือสก๊อตวิสกี้หรือสุราไทย 3 แก้ว (ปริมาณวิสกี้ 45 ml) ต่อวัน [22]
 - มีค่าดัชนีมวลกายมากหรือน้อยกว่าปกติ (ค่าปกติอยู่ระหว่าง 18.5-24.9)

- มีภาวะของโรคดังนี้ มีการติดเชื้อหรืออักเสบ ภูมิคุ้มกันบกพร่อง ตับ ไทรอยด์ เบาหวานทั้งชนิดที่ 1 และ 2 โดยที่ข้อมูลนี้มาจากการสอบถามจากอาสาสมัคร

โดยอาสาสมัครในกลุ่มที่ได้รับควันบุหรี่มือสองและกลุ่มควบคุมจะต้องเป็นผู้ที่ไม่เคยสูบบุหรี่มาก่อน จากการคำนวณขนาดของกลุ่มตัวอย่าง ได้จำนวนตัวอย่างที่ต้องใช้ในแต่ละกลุ่มดังนี้ กลุ่มผู้สูบบุหรี่ 49.6 ราย กลุ่มผู้ได้รับควันบุหรี่มือสอง 36.3 ราย และกลุ่มควบคุม 44.0 ราย โดยทำการเก็บตัวอย่างเพิ่ม 10% เพื่อป้องกันในรายที่มีข้อมูลไม่ครบ ดังนั้นขนาดตัวอย่างที่ต้องใช้ในแต่ละกลุ่ม คือ กลุ่มผู้สูบบุหรี่ 55 ราย กลุ่มผู้ได้รับควันบุหรี่มือสอง 40 ราย และกลุ่มควบคุม 49 ราย เนื่องจากขนาดตัวอย่างจากการคำนวณของทั้ง 3 กลุ่มมีค่าค่อนข้างใกล้เคียงกันจึงใช้ขนาดตัวอย่างในแต่ละกลุ่มเท่ากัน โดยใช้เท่ากับขนาดตัวอย่างที่ได้จากการคำนวณของกลุ่มผู้สูบบุหรี่ ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีขนาดตัวอย่างมากกว่ากลุ่มอื่น นั่นคือกลุ่มละ 55 ราย

ในการเก็บตัวอย่างจากอาสาสมัคร จะดำเนินการหลังจากที่ผู้วิจัยให้รายละเอียดของโครงการวิจัยแก่ผู้สนใจที่จะเข้าร่วมโครงการ และอาสาสมัครลงชื่อในหนังสือแสดงความยินยอมสมัครใจเข้าร่วมโครงการวิจัยแล้ว จึงทำการสัมภาษณ์อาสาสมัครโดยใช้แบบสอบถาม และทำการเก็บตัวอย่างเลือดและปัสสาวะ โดยมีรายละเอียดดังนี้

1. การเก็บตัวอย่าง

1.1 แบบสอบถาม

ผู้วิจัยทำการสัมภาษณ์อาสาสมัครโดยใช้แบบสอบถาม เพื่อทำการเก็บข้อมูลต่างๆ เช่น เพศ อายุ น้ำหนัก ความสูง ข้อมูลการเจ็บป่วย ประวัติในการสูบบุหรี่หรือสัมผัสควันบุหรี่ เพื่อใช้ในการหาความสัมพันธ์กับผลการวิเคราะห์เลือดและปัสสาวะ โดยในแบบสอบถามจะไม่มีคำถามของอาสาสมัคร มีการระบุเพียงหมายเลขของอาสาสมัครเท่านั้น

1.2 การเก็บตัวอย่างเลือด

การเก็บตัวอย่างเลือดของอาสาสมัคร ทำในช่วงเช้าก่อนรับประทานอาหารเช้า ซึ่งได้ขอให้อาสาสมัครงดอาหารก่อนเจาะเลือด 8-12 ชั่วโมง (Fasting blood) ทำการเจาะเลือดจากหลอดเลือดดำ ปริมาณ 5 ml เลือด ทำการปั่นแยกและเก็บที่อุณหภูมิ -20°C จนกว่าจะทำการวิเคราะห์

1.3 การเก็บตัวอย่างปัสสาวะ

ทำการเก็บปัสสาวะในตอนเช้าวันเดียวกับที่ทำการเจาะเลือด เก็บใส่ภาชนะพลาสติกที่สะอาด ปริมาณ 15 ml ปิดฝาให้สนิท และเก็บที่อุณหภูมิ -20°C จนกว่าจะทำการวิเคราะห์

2. การวิเคราะห์หาปริมาณ cotinine ตามวิธีของ Ceppa et al. [1]

2.1 การเตรียมตัวอย่างปัสสาวะ ตามขั้นตอนดังนี้

1. ใช้ปัสสาวะจำนวน 5 mL ใส่ลงในหลอดทดลองชนิดที่มีฝาปิด ขนาด 20 mL
2. เติม Methanol ลงในตัวอย่างปัสสาวะ จำนวน 300 μ L
3. เติม 20 μ g/mL 2-phenylimidazole (Internal standrad) จำนวน 300 μ l ลงในตัวอย่างปัสสาวะ
4. เติม 5 M Potassium hydroxide (KOH) ลงในตัวอย่างปัสสาวะจำนวน 1 mL เพื่อปรับให้ปัสสาวะมีฤทธิ์เป็นด่าง (pH > 9)
5. เติม Dichloromethane ลงในตัวอย่างปัสสาวะ 5 mL จากนั้นนำไป Vortex นาน 2 นาที
6. นำสารละลายดังกล่าวไปปั่นเหวี่ยงด้วย Centrifugation 1500 g นาน 15 นาที นำไปดูดเพื่อแยกชั้น Organic layer ออกมา และนำไประเหยแห้งภายใต้ก๊าซไนโตรเจน ที่อุณหภูมิห้อง
7. เติมสารละลาย Mobile phase จำนวน 300 μ l ลงในตัวอย่างที่ระเหยแห้ง แล้วกรองตัวอย่างด้วย Nylon filter จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณ Cotinine ด้วย HPLC

2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณ cotinine ด้วย HPLC/DAD

1. ฉีดปริมาณสารสกัดได้จำนวน 10 μ l เข้าเครื่อง HPLC
 2. โดยใช้คอลัมน์ 150 mm x 4.6 mm Platinum C18 Column (5 μ m particle size)(Alltech) ในการแยกสาร
 3. Mobile phase ที่ใช้ประกอบด้วย phosphate buffer (pH 3.1), acetonitrile และ methanol ในอัตราส่วน 80:10:10 (โดยน้ำหนัก) ในอัตราส่วนและอัตราเร็วคงที่ (isocratic mobile phase) ที่อัตราเร็ว 1.0 ml/min เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 260 nm
 4. ใช้พื้นที่ใต้ peak ในการคำนวณหา ปริมาณ cotinine โดยเทียบกับ Calibration curve
4. การวิเคราะห์หาปริมาณ high sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) และไขมันในเลือด

ใช้วิธีเพื่อการวิเคราะห์หาปริมาณ hs-CRP, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol และ total cholesterol โดยวิธี particle enhanced turbidimetric assay สำหรับ hs-CRP และ enzymatic colorimetric assay สำหรับ LDL-cholesterol, HDL-cholesterol และ total cholesterol ด้วยเครื่อง Automate photometer

5. การวิเคราะห์ข้อมูล

ทำการวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรม SPSS for windows เพื่อ

1. ทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของปริมาณ cotinine ในปัสสาวะ hs-CRP และปริมาณไขมันในเลือดซึ่งได้แก่ Triglyceride Cholesterol HDL-cholesterol LDL-Cholesterol ในกลุ่มอาสาสมัครกลุ่มที่สูบบุหรี่ กลุ่มที่ได้รับควันบุหรี่มือสอง และกลุ่มควบคุม โดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance หรือ ANOVA)

2. หาความสัมพันธ์ระหว่าง cotinine ในปัสสาวะ hs-CRP และปริมาณไขมันในเลือดซึ่งได้แก่ Triglyceride Cholesterol HDL-cholesterol LDL-Cholesterol ระหว่างกลุ่มอาสาสมัครกลุ่มที่สูบบุหรี่กลุ่มที่ได้รับควันบุหรี่มือสอง และกลุ่มควบคุม โดยการหา Pearson-correlation coefficient

5. ผลการทดลอง

จำนวนอาสาสมัครทั้งหมดรวม 169 คน โดยแบ่งเป็นอาสาสมัครที่สูบบุหรี่เป็นประจำ จำนวน 54 คน กลุ่มอาสาสมัครที่ได้รับควันบุหรี่มือสอง จำนวน 60 คน และกลุ่มควบคุม คือผู้ไม่สูบบุหรี่และไม่ได้มีการสัมผัสกับควันบุหรี่ จำนวน 55 คน โดยข้อมูลจากแบบสอบถามสามารถสรุปได้ดังแสดงในตารางที่ 1 และผลจากการวิเคราะห์เลือดและปัสสาวะแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 1 ตารางสรุปข้อมูลทั่วไปของอาสาสมัคร (ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

ข้อมูล	สูบบุหรี่ประจำ	ได้รับควันบุหรี่มือสอง	ไม่ได้สูบบุหรี่และสัมผัสควันบุหรี่
จำนวน (คน)	54	60	55
อายุ (ปี)	35.6 ± 7.9	33.9 ± 5.0	38.5 ± 7.6
น้ำหนัก (กิโลกรัม)	61.2 ± 7.1	62.0 ± 7.1	62.1 ± 7.1
ความสูง (เมตร)	1.67 ± 0.06	1.68 ± 0.06	1.67 ± 0.06
ดัชนีมวลกาย	21.8 ± 1.9	22.0 ± 1.9	22.1 ± 1.8
ปริมาณการสูบบุหรี่ (มวน/วัน)	7.3 ± 4.3	-	-
ระยะเวลาสัมผัสกับควันบุหรี่ (นาที่/วัน)	-	33.5 ± 72.4	-

ตารางที่ 2 ตารางสรุปผลการวิเคราะห์เลือดและปัสสาวะของอาสาสมัคร (ค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

ผลการวิเคราะห์	สูบบุหรี่ประจำ	ได้รับควันบุหรี่มือสอง	ไม่ได้สูบบุหรี่และสัมผัสควันบุหรี่
Triglyceride (mg/dL)	141.54 \pm 85.75	115.81 \pm 46.80	131.42 \pm 81.33
Total cholesterol (mg/dL)	191.13 \pm 44.75	196.29 \pm 32.18	200.78 \pm 35.98
HDL cholesterol (mg/dL)	59.74 \pm 13.29	58.05 \pm 9.40	56.84 \pm 12.43
LDL cholesterol (mg/dL)	105.09 \pm 39.37	115.67 \pm 26.82	119.05 \pm 30.82
hs-CRP (mg/L)	1.23 \pm 1.35	1.18 \pm 1.43	1.29 \pm 1.59
Urinary cotinine (ng/mL)	1,183.83 \pm 1,131.72	35.68* \pm 59.11	36.48* \pm 63.36

* มีความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณโคตินินในปัสสาวะมีค่าต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้เท่ากับ 20 ng/mL โดยพบว่าในอาสาสมัครกลุ่มควบคุมที่ไม่มีการสูบบุหรี่หรือสัมผัสกับควันบุหรี่จำนวน 7 รายที่มีค่ามากกว่าค่าต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ ค่าที่วิเคราะห์ได้อยู่ระหว่าง 21.70 - 362.86 ng/mL อาสาสมัครกลุ่มที่ได้รับควันบุหรี่มือสองจำนวน 5 รายที่มีค่ามากกว่าค่าต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ ค่าที่วิเคราะห์ได้อยู่ระหว่าง 35.21 - 330.52 ng/mL ส่วนในอาสาสมัครที่สูบบุหรี่นั้นมีค่าโคตินินในปัสสาวะสูงกว่าค่าต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ทั้งหมด โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1,183.83 \pm 1,131.72 ng/mL และมีค่าอยู่ระหว่าง 67.75 - 5,025.84ng/mL

การวิเคราะห์ปริมาณ hs-CRP ในนั้นสามารถแบ่งออกออกเป็น 3 กลุ่มตามลักษณะความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจ คือ ปริมาณ hs-CRP < 1.0 mg/L จะมีความเสี่ยงน้อย ปริมาณ 1.0-3.0 mg/L จะมีความเสี่ยงปานกลาง และปริมาณ > 3.0 mg/L จะมีความเสี่ยงมากในการเกิดโรคหัวใจ [2] ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ตารางแสดงความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจของอาสาสมัคร แบ่งกลุ่มตามปริมาณ hs-CRP

ปริมาณ hs-CRP	สูบบุหรี่ประจำ	ได้รับควันบุหรี่มือสอง	ไม่ได้สูบบุหรี่และสัมผัสควันบุหรี่
จำนวนอาสาสมัคร (ราย)	54 (100%)	60 (100%)	55 (100%)
< 1.0 mg/L	37 (68.5%)	37 (61.7%)	34 (61.8%)
1.0-3.0 mg/L	10 (18.5%)	19 (31.7%)	16 (29.1%)
> 3.0 mg/L	7 (13.0%)	4 (6.6%)	5 (9.1%)

จากการทดสอบสมมติฐานทางสถิติในการทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance หรือ ANOVA) พบว่า ไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มอาสาสมัครทั้ง 3 กลุ่ม ในการวิเคราะห์พารามิเตอร์ของ Triglyceride Cholesterol HDL-cholesterol LDL-Cholesterol และ hs-CRP แต่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มอาสาสมัครกลุ่มที่สูบบุหรี่เป็นประจำและกลุ่มอาสาสมัครที่ได้รับควันบุหรี่มือสอง และระหว่างกลุ่มอาสาสมัครกลุ่มที่สูบบุหรี่เป็นประจำและกลุ่มควบคุมที่ไม่สูบบุหรี่และไม่ได้มีการสัมผัสกับควันบุหรี่ ในพารามิเตอร์ของปริมาณ cotinine ในปัสสาวะอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ (Pearson correlations) ระหว่างพารามิเตอร์ Triglyceride Cholesterol HDL-cholesterol LDL-Cholesterol hs-CRP และ cotinine ในปัสสาวะในกลุ่มอาสาสมัครทั้ง 3 กลุ่ม ดังแสดงในตารางที่ 4 พบว่า มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญระหว่าง Total cholesterol และ Triglyceride, Total cholesterol และ HDL-cholesterol, Total Cholesterol และ LDL-Cholesterol ที่ $P < 0.01$ และความสัมพันธ์แบบผกผันระหว่าง HDL-cholesterol และ hs-CRP ที่ $P < 0.05$

ตารางที่ 4 ตารางแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพารามิเตอร์ในอาสาสมัครทั้ง 3 กลุ่ม

		Smoking Status	Cholesterol	Triglyceride	HDL	LDL	hs-CPR	Cotinine
Smoking Status	Pearson Correlation	1	-.052	-.085	.028	-.038	.019	-.027
	Sig. (2-tailed)		.501	.271	.714	.619	.802	.732
Cholesterol	Pearson Correlation	-.052	1	.228**	.216**	.913**	-.017	-.088
	Sig. (2-tailed)	.501		.003	.005	.000	.828	.258
Triglyceride	Pearson Correlation	-.085	.228**	1	-.314**	.007	.094	.063
	Sig. (2-tailed)	.271	.003		.000	.931	.220	.419
HDL	Pearson Correlation	.028	.216**	-.314**	1	.003	-.164*	-.059
	Sig. (2-tailed)	.714	.005	.000		.974	.033	.451
LDL	Pearson Correlation	-.038	.913**	.007	.003	1	-.009	-.101
	Sig. (2-tailed)	.619	.000	.931	.974		.905	.195
hs-CPR	Pearson Correlation	.019	-.017	.094	-.164*	-.009	1	-.003
	Sig. (2-tailed)	.802	.828	.220	.033	.905		.974
Cotinine	Pearson Correlation	-.027	-.088	.063	-.059	-.101	-.003	1
	Sig. (2-tailed)	.732	.258	.419	.451	.195	.974	

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

* . Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

6. สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง และข้อเสนอแนะสำหรับงานวิจัยในอนาคต

ในการศึกษาปริมาณ cotinine ในปัสสาวะนี้ สามารถวิเคราะห์หาปริมาณ cotinine ในปัสสาวะได้ในกลุ่มอาสาสมัครที่สูบบุหรี่ทุกราย แต่ในอาสาสมัครกลุ่มที่ได้รับควันบุหรี่มือสอง และกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้สูบบุหรี่และสัมผัสกับควันบุหรี่มีเพียงบางรายเท่านั้นที่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณ cotinine ในปัสสาวะได้ ซึ่งในอาสาสมัครกลุ่มที่ได้รับควันบุหรี่มือสองและกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้สูบบุหรี่และสัมผัสกับควันบุหรี่ส่วนใหญ่มีปริมาณ cotinine ในปัสสาวะน้อยกว่าค่าต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (detection limit) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 20 ng/mL อย่างไรก็ตามความไวในการวิเคราะห์ในการศึกษาค้างนี้ยังไม่เพียงพอในการวิเคราะห์หาปริมาณ cotinine ในปัสสาวะในอาสาสมัครที่ได้รับควันบุหรี่มือสองในปริมาณที่น้อย หรืออาสาสมัครที่ไม่ได้สูบบุหรี่หรือได้รับควันบุหรี่มือสองได้ โดยการศึกษาของ Doctor et al. [3] และ Ziegler et al. [4] นั้นสามารถวิเคราะห์หา cotinine ในปัสสาวะในปริมาณน้อยๆ ได้ ซึ่งมีค่าค่าต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้เท่ากับ 2 ng/mL และ 1 ng/mL ตามลำดับ การศึกษาของ Doctor et al. นั้นมีการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธี Solid-phase extraction ก่อนที่จะนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือ Reversed phase iron-paired high performance liquid chromatography สำหรับการศึกษาของ Ziegler et al. นั้นวิเคราะห์หาปริมาณ cotinine ในปัสสาวะด้วยวิธี Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

การศึกษาในผู้สัมผัสกับบุหรี่ในกลุ่มต่างๆ โดยใช้ปริมาณ cotinine ในปัสสาวะเป็นตัวบ่งชี้ในการรับสัมผัส Bruckert et al. [5] พบว่ามีปริมาณ cotinine ในปัสสาวะ 79.4 mmol/mL, 39.9 mmol/mL และ 0.7 mmol/mL ในกลุ่มผู้ที่สูบบุหรี่ กลุ่มที่ได้รับควันบุหรี่จากสิ่งแวดล้อม และกลุ่มที่ไม่ได้มีการสัมผัสกับบุหรี่ตามลำดับ ส่วนผลการศึกษาของ Ziegler et al. [4] มีค่า 1363 ± 1574 ng/mL, 54 ± 59 ng/mL และ 14 ± 7 ng/mL ตามลำดับ สำหรับผลการศึกษาในครั้งนี้ พบปริมาณ cotinine ในปัสสาวะในกลุ่มผู้ที่สูบบุหรี่ กลุ่มผู้ที่ได้รับควันบุหรี่มือสอง และกลุ่มที่ไม่ได้สูบบุหรี่หรือสัมผัสกับควันบุหรี่ เท่ากับ $1,183.83 \pm 1,131.72$ ng/mL, $35.68 \pm 59/11$ ng/mL และ 36.48 ± 63.36 ng/mL ตามลำดับ

การสูบบุหรี่เป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญในการเกิดโรคเกี่ยวกับหลอดเลือดหัวใจ (coronary heart disease) [6] โดยที่บุหรี่มีผลทำให้รูของหลอดเลือดมีขนาดแคบลง ทำให้เลือดไปเลี้ยงส่วนต่างๆของร่างกายได้น้อยลง มีผลทำให้เกิดโรคหัวใจตีบหรือหัวใจขาดเลือดได้ [7] และยังมีการศึกษาพบว่าในกลุ่มผู้ที่สูบบุหรี่จะมีปริมาณ HDL-cholesterol ลดลง, LDL-cholesterol สูงขึ้น [5,8-9] และพบว่ามี ปริมาณ C-reactive protein, fibrogen และ homocysteine ในเลือดเพิ่มสูงขึ้น แสดงให้เห็นว่าหลอดเลือดมีการบาดเจ็บ ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการเกิด Atherosclerosis [10] สำหรับผู้ที่ได้รับบุหรี่มือสองหรือจากสิ่งแวดล้อมนั้น Feldman et al. [9] ได้ทำการศึกษาระดับไขมันในเลือด มีผลเช่นเดียวกับกลุ่มผู้สูบบุหรี่ และมีการศึกษาว่า C-reactive protein (CRP) เป็น acute phase protein ที่พบได้เมื่อเกิดการอักเสบ (inflammatory response to injury) [2] พบว่า CRP มีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจ สามารถใช้เป็นตัวทำนายการเกิดของโรคหัวใจได้ดี [2,11] การวิเคราะห์หาปริมาณ CRP ด้วยวิธี high sensitivity CRP (hs-CRP) assay จะมีความไวมากขึ้น สามารถที่จะบ่งชี้การเกิดโรคหัวใจได้ดียิ่งขึ้น [12-14] โดย ถ้าปริมาณ hs-CRP < 1.0 mg/L จะมีความเสี่ยงน้อย (low risk, cutoff points) 1.0-3.0 mg/L จะมีความเสี่ยงปานกลาง (average risk) และ > 3.0 mg/L จะมีความเสี่ยงมาก (high risk) ในการเกิดโรคหัวใจ

ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ไม่พบความแตกต่างของระดับไขมันในเลือด และปริมาณ hs-CRP ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ของความเสี่ยงในการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจในระหว่างอาสาสมัครทั้ง 3 กลุ่ม แต่พบมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญระหว่าง Total cholesterol และ Triglyceride, Total cholesterol และ HDL-cholesterol, Total Cholesterol และ LDL-Cholesterol และความสัมพันธ์แบบผกผันระหว่าง HDL-cholesterol และ hs-CRP ทั้งนี้เมื่อแบ่งกลุ่มอาสาสมัครตามความเสี่ยงของการเกิดโรคหัวใจโดยใช้ค่า hs-CRP จะเห็นได้ว่าในกลุ่มผู้ที่สูบบุหรี่เป็นประจำจะมีจำนวนผู้ที่มีความเสี่ยงสูงมากกว่าในกลุ่มที่ได้รับควันบุหรี่มือสองและกลุ่มที่ไม่สัมผัสกับควันและบุหรี่ คิดเป็นร้อยละเท่ากับ 13.0, 6.6 และ 9.1 ตามลำดับ

ข้อเสนอแนะสำหรับการวิจัยในอนาคต

1. พัฒนาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณ cotinine ในปัสสาวะให้มีความไวมากยิ่งขึ้น เพื่อที่สามารถวิเคราะห์ได้ในคนที่ไม่ได้สูบบุหรี่ หรือได้รับควันบุหรี่มือสองได้ดียิ่งขึ้น
2. ในการศึกษาในครั้งนี้ไม่เห็นความแตกต่างระหว่างกลุ่มอาสาสมัครในค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ที่เป็นตัวบ่งชี้ของความเสี่ยงในการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ อาจเนื่องด้วยตัวอย่างในแต่ละกลุ่มมีจำนวนน้อยเกินไป ควรมีการศึกษาในกลุ่มประชากรที่มากขึ้น

7. ภาคผนวก

7.1 เอกสารอ้างอิง

1. Ceppa F, Jahiri YE, Mayaudon H, Dupuy O, Burnat P. High-performance liquid chromatographic determination of cotinine in urine in isocratic mode. *J Chromatogr B*. 2000; 746: 115-22.
2. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: a statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation* 2003; 107: 499-511.
3. Dotor PB, Gokani VN, Kulkarni PK, Parikh JR, Sailed HN. Determination of nicotine and cottoning in tobacco harvesters' urine by solid-phase extraction and liquid chromatography. *J Chromatogr B*. 2004; 802: 323-8.
4. Ziegler UE, Kauczok J, Dietz UA, Reith HB, Schmidt K. Clinical correlation between the consumption of nicotine concentrations in urine and serum by competitive enzyme-linked immunosorbent assay. *Pharmacology* 2004; 72: 254-9.
5. Brucket E, Jacob N, Lamaire L, Truffert J, Percheron F, de Gennes JL. Relationship between smoking status and serum lipids in hyper lipidemic population and analysis of possible confounding factors. *Clin Chem* 1992; 38: 1698-705.
6. U.S. Department of Health and Human Services. The Health Consequences of Smoking: A Report of the Surgeon General. U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, Office on Smoking and Health, 2004 [cited 2007 Oct 10]. Available from: http://www.cdc.gov/tobacco/data_statistics/sgr/sgr_2004/index.htm.
7. U.S. Department of Health and Human Services. Reducing the Health Consequences of Smoking—25 Years of Progress: A Report of the Surgeon General. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, CDC; 1989. DHHS Pub. No. (CDC) 89-8411 [cited 2007 Nov 10]. Available from: <http://profiles.nlm.nih.gov/NN/B/B/X/S/>.

8. Brischetto CS, Connor WE, Connor SL, Matarazzo JD. Plasma lipid and lipoprotein profiles of cigarette smokers from randomly selected families: enhancement of hyperlipidemia and depression of high-density lipoprotein. *Am J Cardiol.* 1983 Oct 1; 52(7): 675–80.
9. Freedman DS, Srinivasan SR, Shear CL, Hunter SM, Croft JB, Webber LS, Berenson GS. Cigarette smoking initiation and longitudinal changes in serum lipids and lipoproteins in early adulthood: the Bogalusa Heart Study. *Am J Epidemiol.* 1986 Aug; 124(2): 207–19.
10. Bazzano LA, He J, Muntner P, Vupputuri S, Whelton PK. Relationship between cigarette smoking and novel risk factors for cardiovascular disease in the United States. *Ann Intern Med* 2003; 138: 891-7.
11. Ridler PM, Wilson PW, Grundy SM. Should C-reactive protein be added to metabolic syndrome and to assessment of global cardiovascular risk? *Circulation* 2004; 109: 2818-25.
12. Yeh ETH, Willerson JT. Coming of age of C-reactive protein: Using inflammation markers in cardiology. *Circulation* 2003; 107: 370-2.
13. Rifai N, Ridker PM. High-sensitivity C-reactive protein: A novel and promising marker of coronary heart disease. *Clin Chem* 2001; 47: 403-11.
14. Choi EY, Yan R, Fernandes V, Opdahl A, Gomes A, Almeida A, et al. High sensitivity c-reactive protein as an independent predictor of progressive myocardial functional deterioration: the longitudinal multi-ethnic study of atherosclerosis. *Am Heart J* 2012; 164: 251-8.

7.2 แบบสอบถามโครงการวิจัย

(เอกสารแนบหมายเลข 1)

3. ท่านสูบบุหรี่ชนิดใด

ผลิตในประเทศ ชนิด..... (ธรรมดา หรือ อ่อน/light)

ผลิตจากต่างประเทศ ชนิด..... (ธรรมดา หรือ อ่อน/light)

4. ท่านสูบบุหรี่โดยเฉลี่ยวันละเท่าใด มวน/วัน

5. ปกติท่านสูบบุหรี่ในสถานที่ใดบ้าง

ที่บ้าน: โดยการสูบ..... ในตัวบ้าน บริเวณบ้าน/สวน ที่ไม่มีคน

ที่ทำงาน: โดยการสูบ... บริเวณเดียวกับที่ปฏิบัติงาน ในห้องหรือบริเวณที่จัดไว้เฉพาะ

ที่อื่นๆ ระบุ.....

3.5 ถ้าท่านไม่สูบบุหรี่ ท่านได้รับควันบุหรี่จากสิ่งแวดล้อม (จากบุคคลในบ้านหรือเพื่อนร่วมงาน) บ้างหรือไม่

ไม่ได้รับ (จบการสอบถาม) ได้รับเป็นบางครั้ง ได้รับเป็นประจำ

3.6 ถ้าท่านได้รับควันบุหรี่ ท่านได้รับจากแหล่งใดบ้าง และได้รับเป็นระยะเวลาานเท่าใด

ที่บ้าน: โดยได้รับประมาณนาที่/วัน

ที่ทำงาน: โดยได้รับประมาณนาที่/วัน

ที่อื่นๆ: โดยได้รับประมาณนาที่/วัน

7.3 หนังสือยินยอมให้ศึกษาวิจัยในคน

(เอกสารแนบหมายเลข 2)



CERTIFICATE OF ETHICAL APPROVAL
Ethics Committee of the Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University
420/6 Ratchawithi Rd., Ratchadewee, Bangkok 10400, Thailand

This Certificate of Ethical Approval (MUTM 2008-030-01) applies to the

Project entitled: Assessment of urinary cotinine as exposure biomonitoring to active and secondhand smoking and biomarkers of cardiovascular disease risk

IC Submission No.: TMEC 08-025

with the following relevant documents:

Protocol:	Thai, version date 22 October 2008
Participant Information Sheet:	Thai, version date 22 October 2008
Informed Consent Form:	Thai, version date 22 October 2008
Questionnaire:	Thai, version date 22 October 2008

Principal Investigator: Dr. Prapin Tharnpoophasiam

Affiliation: Department of Social and Environmental Medicine
Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University

**This project has been approved for the period
from 31 October 2008 to 30 October 2009**

Signature *Wijit Fungladda*
(Assoc. Prof. Wijit Fungladda)

Chairperson
Ethics Committee of the
Faculty of Tropical Medicine

Date *Oct. 31, 2008*

Signature *Waranya Wongwit*
(Assoc. Prof. Waranya Wongwit)

Member Secretary
Ethics Committee of the
Faculty of Tropical Medicine

Date *31 Oct 2008*

7.4 เอกสารชี้แจงเข้าร่วมโครงการวิจัย (Information sheet) และ หนังสือแสดงความยินยอมสมัครใจเข้าร่วมโครงการวิจัย (Inform consent form)

(เอกสารแนบหมายเลข 3 และ เอกสารแนบหมายเลข 4)

เอกสารแนบหมายเลข 3

เอกสารชี้แจงผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย

โครงการวิจัยเรื่อง “การวิเคราะห์หาปริมาณโคตินีน ในปัสสาวะเพื่อบ่งชี้ทางชีวภาพในการสัมผัสกับควันบุหรี่จากการสูบบุหรี่โดยตรงและควันบุหรี่มือสอง และตัวบ่งชี้ของความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจ”

บุหรี่ ก่อให้เกิดปัญหาทางด้านสุขภาพ ของตัวผู้สูบเองและผู้ที่ได้รับควันบุหรี่จากสิ่งแวดล้อม ทั้งจากการสูบบุหรี่ของผู้ร่วมงาน บุคคลในครอบครัว หรือจากผู้สูบบุหรี่ในบริเวณที่สาธารณะ การสูบบุหรี่เป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญของการเกิดโรคหัวใจขาดเลือด มีผลทำให้รู้หลอดเลือดมีขนาดแคบลง เลือดไปเลี้ยงส่วนต่างๆของร่างกายได้น้อยลง มีผลให้เกิดโรคหัวใจตีบหรือหัวใจขาดเลือดได้ โดยผู้สูบบุหรี่จะเป็นโรคหัวใจขาดเลือดมากกว่าผู้ที่ไม่ได้สูบบุหรี่ 2.4 เท่า และเป็นโรคเส้นเลือดหัวใจตีบได้มากกว่าผู้ที่ไม่ได้สูบบุหรี่มากกว่า 10 เท่า สำหรับผู้ที่ได้รับควันบุหรี่มือสองเป็นประจำนั้น พบว่าจะมีความเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็งปอดและโรคหัวใจเพิ่มขึ้น และในผู้สูบบุหรี่ พบว่า ไชมันในเลือดมีปริมาณสูงขึ้น ซึ่งผลที่ได้จากการศึกษาในกลุ่มของผู้ที่ได้รับควันบุหรี่มือสอง ก็มีผลต่อระดับไขมันในเลือดเช่นเดียวกับกลุ่มผู้สูบบุหรี่

ในการศึกษารั้งนี้จะทำการศึกษาในอาสาสมัคร 3 กลุ่มคือ กลุ่มผู้สูบบุหรี่ กลุ่มที่ได้รับควันบุหรี่เป็นประจำจากสิ่งแวดล้อม และกลุ่มผู้ที่ไม่สูบบุหรี่และไม่ได้รับควันบุหรี่ กลุ่มละ 55 ราย โดยจะทำการตรวจวัดปริมาณโคตินีน ซึ่งเป็นสารที่ถูกขับออกมากับปัสสาวะ ซึ่งตรวจพบได้ในผู้สูบบุหรี่หรือได้รับควันบุหรี่ และจะมีการวัดปริมาณ โปรตีนที่มีความไวสูง (high sensitivity C-reactive protein) และไขมันในเลือด เพื่อเปรียบเทียบความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจ การศึกษานี้จะทำ ณ หน่วยเครื่องมือกลาง คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล

โดยวัตถุประสงค์ในการวิจัยนี้คือ เพื่อตรวจวัดการได้รับควันบุหรี่ และหาความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจในผู้ที่ไม่สูบบุหรี่และผู้ที่ได้รับควันบุหรี่เป็นประจำจากสิ่งแวดล้อม เปรียบเทียบกับผู้ที่สูบบุหรี่ และประโยชน์ที่จะได้รับจากการวิจัยในครั้งนี้คือ สามารถใช้ปริมาณโคตินีนเป็นตัวบ่งชี้ในการสัมผัสกับควันบุหรี่ ทั้งจากการสูบบุหรี่และจากสิ่งแวดล้อม และสามารถดูความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจได้ จากการตรวจวัดโปรตีนที่มีความไวสูงและอัตราส่วนของไขมันในเลือด

เนื่องจากท่านเป็นผู้ที่อยู่ในขอบข่ายที่จะเป็นอาสาสมัครในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ จึงขอเรียนเชิญท่านเข้าร่วมโครงการวิจัยในโครงการ “การวิเคราะห์หาปริมาณโคตินีน ในปัสสาวะเพื่อบ่งชี้ทางชีวภาพในการสัมผัสกับควันบุหรี่จากการสูบบุหรี่โดยตรงและควันบุหรี่มือสอง และตัวบ่งชี้ของความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจ” หากท่านสมัครใจที่จะเข้าร่วมในการวิจัย ผู้วิจัยจะขอสัมภาษณ์ เจาะเลือดและเก็บตัวอย่างปัสสาวะจากท่าน โดยมีรายละเอียดดังนี้

- การสัมภาษณ์โดยใช้แบบสอบถาม ซึ่งจะใช้เวลาประมาณ 5-10 นาที เพื่อสอบถามข้อมูลทั่วไป ข้อมูลเกี่ยวกับสุขภาพ และข้อมูลเกี่ยวกับการสูบบุหรี่หรือการสัมผัสกับควันบุหรี่

- การเก็บตัวอย่างเลือด พยาบาลวิชาชีพหรือนักเทคนิคการแพทย์จะเป็นผู้ทำการเจาะเลือดจากท่าน ในตอนเช้าก่อนอาหาร โดยขอให้ท่านงดอาหารก่อนเจาะเลือด อย่างน้อย 12 ชั่วโมง

ทำการเก็บตัวอย่างเลือดจากหลอดเลือดดำบริเวณท้องแขน จำนวน 5 มิลลิลิตร (ประมาณ 1 ช้อนชา) โดยใช้เข็มปราศจากเชื้อที่ไม่เคยผ่านการใช้มาก่อน ความเสี่ยงที่อาจจะเกิดขึ้นได้จากการเจาะเลือด เช่น การปวด บวม ฟกช้ำในบริเวณที่ทำการเจาะเลือด ซึ่งอาการดังกล่าวจะหายไปเองเมื่อเวลาผ่านไป 2-3 วัน ส่วนการติดเชื้อที่เกิดจากการเจาะเลือดนั้น มีโอกาสเกิดขึ้นได้น้อยมาก

- การเก็บตัวอย่างปัสสาวะ ท่านสามารถเก็บตัวอย่างปัสสาวะด้วยตัวท่านเองในตอนเช้าวันเดียวกับที่ทำการเจาะเลือด โดยเก็บปริมาณ 15 มิลลิลิตร (ประมาณ 1 ช้อนโต๊ะ) ใส่ภาชนะพลาสติกที่เตรียมไว้ให้ โดยภาชนะที่ใช้เก็บปัสสาวะนั้น ได้ผ่านการทำความสะอาดอย่างดีแล้ว

ทั้งนี้ท่านจะได้รับค่าตอบแทนเป็นค่าเสียเวลาเป็นจำนวนเงิน 200 บาท สำหรับตัวอย่างเลือดและปัสสาวะที่เหลือจากการวิเคราะห์ จะเก็บไว้เป็นระยะเวลา 5 ปี จึงทำลายทิ้ง

หลังจากนั้นจะนำตัวอย่างไปวิเคราะห์หาปริมาณโคติไนในปัสสาวะเพื่อดูปริมาณการได้รับวันบุหรี และวัดปริมาณโปรตีนที่มีความไวสูง (high sensitivity C-reactive protein) และปริมาณไขมันในเลือด หากผลการวิจัยพบว่าท่านมีปริมาณไขมันในเลือดสูง หรือตัวบ่งชี้ของความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจมีค่าเกินกว่าปกติ ทางผู้วิจัยจะแจ้งให้ท่านทราบเพื่อที่ท่านจะปฏิบัติตัวเพื่อลดการสัมผัสกับบุหรีหรือปรึกษาแพทย์เพื่อทำการรักษาต่อไป

ผลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้จะถือเป็นความลับ และจะไม่มีการเปิดเผยข้อมูลส่วนตัวของท่านให้กับผู้อื่น หากมีการเปิดเผยข้อมูล จะทำในลักษณะที่เป็นภาพรวมและไม่สามารถเชื่อมโยงถึงตัวอาสาสมัครได้ เฉพาะผู้วิจัยและผู้ตรวจสอบจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคนเท่านั้นที่จะสามารถเข้าถึงข้อมูลของท่านได้ และในระหว่างการศึกษานี้ ผู้เข้าร่วมวิจัย มีสิทธิที่จะบอกเลิกการร่วมในการศึกษาวิจัยเวลาใดก็ได้ โดยไม่มีผลเสียใดๆ ต่ออาสาสมัครผู้เข้าร่วมการวิจัย

โดยท่านสามารถติดต่อกับคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคนได้ตามที่อยู่และหมายเลขโทรศัพท์ดังนี้

ฝ่ายเลขานุการคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน

คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล

420/6 ถ.ราชวิถี เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400

โทร. 0 2354 9100 ต่อ 1349, 1525 หรือ 0 2643 5578

โทรสาร 66 (0) 2354 3466

หากท่านมีข้อสงสัยประการใด สามารถติดต่อผู้วิจัยได้ตามที่อยู่และหมายเลขโทรศัพท์ดังนี้

ดร.ประพิน ธารภูผาสยาม

ภาควิชาเวชศาสตร์สังคมและสิ่งแวดล้อม คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล

420/6 ถ.ราชวิถี เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400

โทร. 0 2354 9100 ต่อ 1569 หรือ โทร.มือถือ 08 9103 0774

เอกสารแนบหมายเลข 4

หนังสือแสดงความยินยอมสมัครใจเข้าร่วมโครงการวิจัย

การวิจัยเรื่อง การวิเคราะห์หาปริมาณโคติเนน ในปัสสาวะเพื่อป้องกันชี้ทางชีวภาพในการสัมผัสกับ
ควันบุหรี่จากการสูบบุหรี่โดยตรงและควันบุหรี่มือสอง และตัวบ่งชี้ของความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจ

วันให้คำยินยอม วันที่ เดือน พ.ศ.
ข้าพเจ้าชื่อ..... อายุปี เพศ
.....
อยู่บ้านเลขที่.....ซอย.....ถนน.....
แขวง/ตำบล..... เขตอำเภอ..... จังหวัด.....

ก่อนที่จะลงนามไปยินยอมให้ทำการวิจัยนี้ ข้าพเจ้าได้รับการอธิบายจากผู้วิจัยถึงวัตถุประสงค์
ของการวิจัย วิธีการวิจัย อันตรายหรืออาการที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจาก
การวิจัยอย่างละเอียด และมีความเข้าใจดีแล้ว ผู้วิจัยตอบคำถามต่างๆ ที่ข้าพเจ้าสงสัยด้วยความเต็มใจ
จนข้าพเจ้าพอใจ

ผู้วิจัยรับรองว่าจะเก็บข้อมูลเฉพาะที่เกี่ยวข้องกับตัวข้าพเจ้าเป็นความลับ หากมีการเปิดเผย
ข้อมูล จะทำในลักษณะที่เป็นภาพรวมและไม่สามารถเชื่อมโยงถึงตัวข้าพเจ้าได้ เฉพาะผู้วิจัยและผู้ตรวจ
สอบจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคนเท่านั้นที่จะสามารถเข้าถึงข้อมูลได้ และหากมีข้อมูลเพิ่มเติม
ที่ส่งผลกระทบต่อการศึกษาหรือข้าพเจ้า ข้าพเจ้าจะได้รับการแจ้งให้ทราบโดยไม่ปิดบังซ่อนเร้น

ข้าพเจ้ายินดีที่จะเข้าร่วมโครงการวิจัยในครั้งนี้โดยสมัครใจ และมีสิทธิที่จะบอกเลิกการเข้าร่วม
โครงการวิจัยนี้เมื่อใดก็ได้ โดยไม่มีผลกระทบใดๆ ต่อข้าพเจ้า

ข้าพเจ้าได้อ่านข้อความข้างต้นแล้ว และมีความเข้าใจดีทุกประการ และได้ลงนามในใบยินยอมนี้
ด้วยความเต็มใจ

ลงนาม ผู้ยินยอม
ลงนาม ผู้วิจัย
ลงนาม พยาน