

## การศึกษาเปรียบเทียบถึงประสิทธิภาพของวิธีการเสริมทางคลินิกเพื่อช่วยในการตรวจและวินิจฉัยรอยโรคก่อนมะเร็งและรอยโรคมะเร็งในช่องปาก

สรสัณห์ ริงสัยานนท์\* สิริบังอร พินุลนิม โขวิทฺรทิก\*\* สนิภัทร ตสังจิต\*\*\*  
เปี่ยมกมล วัชรโรยงกูร\*\*\*

### บทคัดย่อ

วิธีการวินิจฉัยโรคมะเร็งในช่องปากในปัจจุบันใช้การตรวจทางคลินิกร่วมกับการตัดเนื้อเยื่อจากรอยโรคเพื่อส่งตรวจด้วยลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา ซึ่งผู้ตรวจต้องมีความชำนาญสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่มีลักษณะของรอยโรคที่สงสัยว่าเป็นมะเร็งไม่ชัดเจน หรือในกรณีที่ผู้ป่วยโรคก่อนมะเร็งยิ่งทำให้ผู้ตรวจอาจมองข้ามไปได้ เทคโนโลยีทางการแพทย์ในปัจจุบันได้เสนอวิธีการต่าง ๆ เพื่อใช้เสริมในการตรวจวินิจฉัยมะเร็งช่องปากนอกเหนือไปจากการตัดชิ้นเนื้อเพื่อตรวจด้วยลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาให้มีความไวและแม่นยำมากขึ้น งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบด้านความไวและจำเพาะและความแม่นยำตรงของวิธีการเสริม 2 วิธี คือการใช้ระบบออดิโอฟลูออเรสเซนส์ ด้วยเครื่องเวลสโคป และการย้อมสีเนื้อเยื่อด้วยสีโทลูอิดีนบลู ในผู้ป่วยที่มีรอยโรคของเนื้อเยื่ออ่อนในช่องปากที่สงสัยเป็นรอยโรคก่อนมะเร็งและรอยโรคมะเร็งในช่องปาก ผลการศึกษาพบว่าจากผู้ป่วยทั้งสิ้น 20 คน เป็นผู้ป่วยเพศชาย 10 คน (50%) และหญิง 10 (50%) อย่างละเท่า ๆ กัน ผู้ป่วยมีอายุอยู่ในช่วง 35-76 ปี (อายุเฉลี่ยเท่ากับ  $58.1 \pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน = 3.16) โดยผลการตรวจชิ้นเนื้อด้วยลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา พบลักษณะของอีพิทีเลียมดิสเพลเซีย 5 รายและมะเร็งชนิดสควamous เซลล์คาร์ซิโนมา 3 ราย ส่วน 12 รายที่เหลือเป็นรอยโรคที่ไม่จัดอยู่ในกลุ่มรอยโรคก่อนมะเร็งและมะเร็ง เมื่อเปรียบเทียบถึงความไว ความจำเพาะและความแม่นยำตรงของทั้งสองวิธี พบว่า การใช้เครื่องเวลสโคปมีค่าความไวเท่ากับ 62.5% ความจำเพาะเท่ากับ 25% และค่าความแม่นยำตรงเท่ากับ 40% สำหรับวิธีการย้อมเนื้อเยื่อด้วยสีโทลูอิดีนบลูพบค่าความไวเท่ากับ 87.5% ความจำเพาะเท่ากับ 50% และค่าความแม่นยำตรงเท่ากับ 65% จากการคำนวณค่าการทำนายโรคเมื่อผลทดสอบเป็นบวก สำหรับเวลสโคป เท่ากับ 35.71% และของโทลูอิดีนบลูเท่ากับ 53.85% และทั้งสองวิธีดังกล่าวมีค่าการทำนายโรคเมื่อผลทดสอบเป็นลบ เท่ากับ 50% และ 85.71% ตามลำดับ โดยสรุปจากผลการวิจัยที่ได้ในครั้งนี้ พบว่าการใช้โทลูอิดีนบลูมีค่าความไว ความจำเพาะและความแม่นยำตรงที่สูงกว่าวิธีการใช้เวลสโคป อย่างไรก็ตามการศึกษาในครั้งนี้เป็นการศึกษาเบื้องต้นทางคลินิกเพื่อพัฒนาวิธีเสริมในการตรวจและคัดกรองรอยโรคก่อนมะเร็งและมะเร็งในช่องปาก โดยการนำเครื่องมือเสริมทางคลินิกมาใช้เพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดในการรักษาผู้ป่วยทางคลินิกต่อไป

**คำสำคัญ:** วิธีเสริม รอยโรคก่อนมะเร็ง รอยโรคมะเร็ง เวลสโคป โทลูอิดีนบลู

\*รองศาสตราจารย์, ภาควิชาคัลยศาสตร์และเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

\*\*รองศาสตราจารย์, ภาควิชาทันตกรรมทั่วไปชั้นสูง คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

\*\*\*อาจารย์, ภาควิชาคัลยศาสตร์และเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

# A Comparative Study of the Effectiveness of Clinical Adjunctive Techniques on the Diagnosis of Potentially Malignant Disorders and Oral Cancers

Sorasun Rungsiyanont\* Siribang-on Piboonnyom Khovidhunkit\*\*  
Sineepat Talungchit\*\*\* Piamkamon Vacharotayangkul\*\*\*

## Abstract

The gold standard of the diagnosis of oral cancers is the clinical examination with histopathological study of the lesion. These methods require experienced oral medicine specialists/pathologists, especially when the clinical appearance is equivocal. Premalignant lesions can also appear benign and often be overlooked by some examiners. New medical interventions are now available to assist the diagnosis clinically with more sensitivity and specificity than from the past. The objective of this research was to compare the sensitivity, specificity and accuracy of two adjunctive diagnostic methods; the autofluorescence in Velscope(R) and dye detection with toluidine blue. The study was done in 20 subjects who had suspicious soft tissue as premalignant and malignant lesions in the oral cavity. Results: 20 subjects, 10 males and 10 females with the age range from 35 to 76 years (mean age  $58.1 \pm S.D 3.16$ ) were enrolled in the study. The histopathological examination revealed 5 cases with epithelial dysplasia, 3 cases with squamous cell carcinoma, and 12 cases without potentially malignant lesions. The sensitivity of Velscope(R) was 62.5%, with specificity at 25% and accuracy at 40%, whereas the sensitivity of toluidine blue staining was 87.5%, specificity at 50% and accuracy at 65%. The positive predictive value of Velscope(R) and toluidine blue staining was 35.71%, and 53.85% respectively. The negative predictive value of Velscope(R) was 50%, and that of toluidine blue staining was 85.71%. Conclusion: Dye detection with toluidine blue has higher specificity and sensitivity than Velscope (R) autofluorescence method in detecting the oral premalignant/malignant lesions in the clinical setting. This preliminary study is beneficial for future research to develop and improve adjunctive methods in the diagnosis of premalignant/malignant lesions.

**Keywords:** Adjunctive technique, Premalignant, Malignant, Velscope, Toluidine blue

---

\*Associate professor, Department of Oral Surgery and Oral Medicine, Faculty of Dentistry, Srinakharinwirot University

\*\*Associate professor, Department of Advanced General Dentistry, Faculty of Dentistry, Mahidol University

\*\*\*Lecturer, Department of Oral Surgery and Oral Medicine, Faculty of Dentistry, Srinakharinwirot University

## บทนำ

โรคมะเร็งเป็นปัญหาที่สำคัญทางด้านสาธารณสุข และส่งผลกระทบต่ออย่างมากทั้งทางด้านคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยและด้านเศรษฐกิจในประเทศไทย โดยพบว่าอัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยยังมีอัตราที่สูง การรักษาและการดูแลผู้ป่วยส่งผลกระทบต่อในหลายด้านทั้งแก่สุขภาพผู้ป่วยเอง ครอบครัวและสังคมที่อยู่อาศัย เป็นต้น ได้มีความพยายามจากหลายหน่วยงานในการเข้ามาดูแลปัญหาที่เกิดขึ้นนี้ แต่มีหลักฐานทางการแพทย์ที่ชี้ชัดว่าการให้การตรวจที่ทันทั่วถึงและได้มาตรฐานสามารถลดอุบัติการณ์ในการสูญเสียของผู้ป่วยจากโรคมะเร็งได้เป็นอย่างมาก ทั้งนี้ การวินิจฉัยโรคมะเร็งได้ตั้งแต่ระยะแรกยังคงเป็นวิธีที่ดีที่สุดที่สามารถทำให้ผู้ป่วยยังคงมีชีวิตที่ยืนยาวและคุณภาพชีวิตที่ดี

หากมุ่งเน้นมาที่โรคมะเร็งช่องปาก พบว่ายังคงเป็นโรคที่มีอุบัติการณ์สูง ในปี พ.ศ. 2545 (ค.ศ. 2002) มีรายงานการเกิดโรคมะเร็งมากกว่า 274,000 รายทั่วโลก ประเทศที่มีอุบัติการณ์สูงที่สุดคือกลุ่มประเทศในบริเวณ Melanesia มีอัตราการเกิดโรคในเพศหญิง และเพศชาย เท่ากับ 20.2 และ 31.5 ต่อประชากร 100,000 คน โดยทั่วไปเพศชายมีอุบัติการณ์ของโรคมะเร็งมากกว่าเพศหญิง ในยุโรปตะวันตกมีอุบัติการณ์ในเพศชาย 11.3 ราย เอเชียตอนใต้ 12.7 ราย ต่อประชากร 100,000 คน [1] ประมาณการเกิดโรคในประเทศอเมริกา ปี พ.ศ. 2552 (ค.ศ. 2009) คาดว่าจะมีผู้ป่วยใหม่ 35,720 ราย และจะมีผู้ตายจากโรคประมาณ 7,600 ราย [2] รายงานการเกิดโรคในประเทศไทย พ.ศ. 2540 พบว่ามะเร็งช่องปากเป็นมะเร็งที่พบมากติดอันดับหนึ่งในสิบของมะเร็งทุกชนิด มีอุบัติการณ์ของโรคในเพศชาย 3.6-8.4 รายต่อประชากร 100,000 คน ในเพศหญิง 3.1-7.3 รายต่อประชากร 100,000 คน แตกต่างกันตามแต่ละภาค [3,4] อัตราการรอดชีวิตจากโรคนี้อยู่ในระดับต่ำ ทั้ง ๆ ที่วิธีการรักษาโรคมะเร็งมีความก้าวหน้าอย่างมาก ในช่วงต้นศตวรรษที่ผ่านมา อัตราการรอดชีวิต 1 ปี 3 ปี และ 5 ปีของผู้ป่วยมะเร็งช่องปากในจังหวัดอุบลราชธานี เท่ากับ 46.7% 26.4% และ 18.2% ตามลำดับ [5]

สาเหตุหลักเกิดจากการที่รอยโรคส่วนมากมักถูกตรวจพบในระยะที่โรคมะเร็งลุกลามไปมากแล้ว จึงทำให้การรักษาไม่ประสบผลสำเร็จ [6] ซึ่งนอกจากจะเป็นผลจากความกลัวและการขาดความรู้ความเข้าใจที่ถูกต้องของผู้ป่วยแล้ว ยังอาจเกิดจากการขาดแคลนผู้ที่มีความชำนาญในการตรวจวินิจฉัยและรักษา ทำให้ผู้ป่วยไม่สามารถเข้าถึงและได้รับการรักษาอย่างทันทั่วถึง

มะเร็งช่องปากระยะแรกเริ่มมักถูกตรวจพบได้ยาก เนื่องจากมักมีลักษณะไม่ร้ายแรง (benign) หรืออาจไม่มีอาการ บางกรณีอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงโดยกลายจากรอยโรคของเยื่อบุผิวช่องปากที่เป็นอยู่ เช่น โลเคนแพลนัส (lichen planus) ภาวะเยื่อหนา (hyperkeratosis) ลิวโคเพลเคีย (leukoplakia) อีโรโทรเพลเคีย (erythroplakia) เป็นต้น บางรอยโรคมีลักษณะเป็นแผลเรื้อรัง บางครั้งคล้ายแผลติดเชื้อ ทำให้วินิจฉัยผิดพลาด เกิดความล่าช้าในการตรวจพบและการให้การรักษา ทั้งๆ ที่การรักษารอยโรคมะเร็งตั้งแต่ระยะแรกเริ่มจะช่วยลดอัตราการเสียชีวิตและความพิการได้ [7,8] การวินิจฉัยรอยโรคในระยะที่มีความคลุมเครือนี้จำเป็นต้องใช้ความชำนาญสูง ไม่ว่าจะแพทย์หรือทันตแพทย์ผู้ทำการตรวจช่องปากทางคลินิกและเลือกบริเวณที่จะตัดตัวอย่างชิ้นเนื้อเยื่อส่งตรวจ พยาธิแพทย์หรือพยาธิทันตแพทย์ผู้วินิจฉัยเนื้อเยื่อตัวอย่าง ซึ่งบุคลากรเหล่านี้ยังมีจำนวนน้อย มีผู้พยายามแก้ไขปัญหานี้โดยคิดค้นวิธีที่สามารถใช้ตรวจวินิจฉัยรอยโรคมะเร็งช่องปากให้ได้ตั้งแต่ระยะเริ่มแรก และพัฒนาเครื่องมือตรวจแบบไม่รุกราน (non-invasive) โดยมีวัตถุประสงค์ในการช่วยให้ผู้ตรวจที่ยังไม่มีความชำนาญสามารถใช้ในการตรวจหารอยโรคมะเร็งได้ง่าย และพยายามพัฒนาให้วิธีการเหล่านี้ให้ผลการตรวจที่แม่นยำ รวดเร็ว และเชื่อถือได้ปัจจุบันนี้วิธีการที่น่าเชื่อถือที่สุดในการวินิจฉัยโรคว่าเป็นมะเร็งหรือไม่ หรือมีความผิดปกติของเซลล์หรือไม่ คือวิธีการตัดเนื้อเยื่อออกตรวจ (Biopsy) การตัดตัวอย่างเนื้อเยื่อบริเวณรอยโรคที่สงสัยด้วยมีด (scalpel biopsy) หรือด้วยการเจาะ (punch biopsy) แล้วส่งตัวอย่างชิ้นเนื้อ

นั้นไปตรวจด้วยลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา (histopathological examination) ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานของการวินิจฉัยรอยโรคมะเร็งช่องปาก (oral malignant lesion) หรือรอยโรคก่อนมะเร็งช่องปาก (oral potentially malignant disorders) ที่ปฏิบัติกันอยู่ในปัจจุบัน ซึ่งต้องอาศัยความชำนาญของแพทย์หรือทันตแพทย์โดยตรวจพบรอยโรคที่น่าสงสัยจากการสังเกต การดู หรือการคลำ แล้วจึงตัดตัวอย่างเนื้อเยื่อส่งตรวจทางจุลพยาธิวิทยาเพื่อยืนยันการวินิจฉัย การตัดเนื้อเยื่อออกพิสูจน์นั้นต้องเลือกบริเวณที่คาดว่าจะได้ผลการวินิจฉัยที่ถูกต้อง สามารถเป็นตัวแทนของรอยโรคได้ดี โดยเลือกบริเวณที่มีเซลล์ผิดปกติ ไม่ใช่บริเวณที่เป็นเนื้อเยื่อตาย (necrotic tissue) และเลือกตัดเนื้อเยื่อตัวอย่างในบริเวณที่ไม่ก่อให้เกิดอันตรายหรือการสูญเสียหน้าที่ของอวัยวะสำคัญที่อยู่ใกล้เคียง เช่น เส้นประสาทหรือเส้นเลือดขนาดใหญ่ นอกจากนี้ยังต้องระมัดระวังในการจัดการกับชิ้นเนื้อตัวอย่าง เช่น ไม่ฉีดยาชาเข้าบริเวณที่เป็นรอยโรคโดยตรงเพราะมีผลทำให้รูปร่างเซลล์เปลี่ยนแปลงไป ไม่ใช่เครื่องมือบีบชิ้นเนื้อแน่นจนกระทั่งทำให้เซลล์เสียหาย ไม่ควรทำให้ชิ้นเนื้อตัวอย่างขาดรุ่งริ่งจนไม่สามารถบ่งบอกทิศทางของชิ้นเนื้อได้ ตัดตัวอย่างเนื้อเยื่อให้ลึกและมีขนาดใหญ่เพียงพอ หรืออาจจำเป็นต้องพิจารณาตัดตัวอย่างเนื้อเยื่อจากรอยโรคหลายตำแหน่ง เลือกใช้น้ำยาเก็บเนื้อเยื่อตัวอย่างอย่างเหมาะสมและมีปริมาณมากพอที่จะรักษาสภาพของเซลล์ได้ [9-13] นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าพบการแพร่กระจายของมะเร็งจากการตัดชิ้นเนื้อออกตรวจบางส่วน (incisional biopsy) โดยตรวจพบเซลล์มะเร็งในกระแสเลือดหลังจากทำการตัดชิ้นเนื้อออกตรวจ 15 นาที [14, 15] ทำให้มีผู้เสนอการใช้เลเซอร์ หรือมีดไฟฟ้า (electroknife) ในการตัดชิ้นเนื้อตรวจแทนการใช้มีดหรือการเจาะเนื้อเยื่อเพื่อป้องกันการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง [16] แต่วิธีนี้มีผลทำให้เซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงและส่งผลให้การตรวจทางพยาธิวิทยาเนื้อเยื่อทำได้ยากโดยเฉพาะบริเวณตามขอบของชิ้นเนื้อที่ตัดออกมา [12] ผู้ตรวจทางจุลพยาธิวิทยา ควรเป็นผู้ที่มีความชำนาญมากเพียงพอ

ที่จะให้การวินิจฉัยได้อย่างถูกต้องโดยเฉพาะรอยโรคที่มีความคลุมเครือไม่ชัดเจน เช่น รอยโรคมะเร็งในระยะแรกเริ่ม รอยโรคก่อนมะเร็ง (pre-malignant lesion) ที่เริ่มกลายเป็นมะเร็ง มีการศึกษาหลายชิ้นที่แสดงว่า ขบวนการอักเสบ ตำแหน่งของรอยโรค วิธีการตัดเนื้อเยื่อ ตัวอย่าง และการสูญบุหรือของผู้ป่วย มีผลต่อความน่าเชื่อถือ (reliability) ของการวินิจฉัยทางจุลพยาธิวิทยาของรอยโรคในช่องปาก ไม่ว่าจะเป็นรอยโรคก่อนมะเร็ง รอยโรคมะเร็ง หรือเนื้อเยื่อที่มีลักษณะทางคลินิกปกติ ในบริเวณใกล้เคียงกับรอยโรค [17,18] นอกจากนี้ ยังมีปัจจัยเรื่องความคิดเห็นที่แตกต่างระหว่างผู้ตรวจแต่ละคน (interobserver variability) และความเห็นที่แตกต่างของผู้ตรวจคนเดียวกันในการตรวจแต่ละครั้ง (intraobserver variability) มีผลต่อความถูกต้องของการวินิจฉัย [19-21] นอกจากนี้พบว่ากฎเกณฑ์ทางจุลพยาธิวิทยาที่ใช้จัดแบ่งระดับ (grading) ของภาวะเยื่อผิวช่องปากเจริญผิดปกติ (oral epithelial dysplasia) ยังมีผลต่อความเห็นที่แตกต่างระหว่างผู้ตรวจแต่ละคนด้วย [22] ปัจจุบันมีหลักฐานมากมายที่สนับสนุนว่าอาจพบมีการเปลี่ยนแปลงในระดับโมเลกุล (molecular change) หรือระดับพันธุกรรม (genetic change) เกิดขึ้นก่อนที่จะมีการเปลี่ยนแปลงของลักษณะและรูปร่างเซลล์ให้เห็นได้ชัดเจนในทางจุลพยาธิวิทยาหรือทางคลินิก [23-26] ทำให้การวินิจฉัยรอยโรคจากลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาเพียงอย่างเดียวอาจไม่เพียงพอสำหรับการตรวจและวินิจฉัยรอยโรคในระยะแรกเริ่มเกิดโรคขึ้น จากการพัฒนาทางด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์และการตรวจทางห้องปฏิบัติการ ในปัจจุบันได้มีการเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อด้วยวิธีการอื่นๆ ที่นอกเหนือจากการตัดด้วยมีดหรือการเจาะเนื้อเยื่อดังกล่าวข้างต้น ตัวอย่างเช่น การเก็บเนื้อเยื่อตัวอย่างจากเยื่อผิวด้วยการใช้แปรง (brush biopsy) ในกรณีที่รอยโรคอยู่ลึกลงไปใต้ผิวหนังหรือเยื่อผิวอาจใช้เข็มดูด (needle aspiration) ตัวอย่างผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปที่มีจำหน่าย เช่น OralCDx Brush TestTM (OralCDx Laboratories, Inc., Suffern, NY, USA) ผู้ผลิตออกแบบแปรงให้มีขนาดเล็กเพื่อให้สามารถ

เข้าถึงบริเวณต่าง ๆ ในช่องปากได้ง่าย ใช้แปรงถูไปมาที่บริเวณรอยโรค แล้วป้ายเซลล์ที่เก็บได้ลงบนแผ่นสไลด์แก้ว (glass slide) เพื่อส่งตรวจทางจุลพยาธิวิทยาหรือส่งกลับบริษัทเพื่อตรวจและวิเคราะห์ด้วยระบบคอมพิวเตอร์โดยมีรายงานพบว่ามีควมไว (sensitivity) ต่อการตรวจพบรอยโรค 92-100% ความจำเพาะต่อรอยโรค (specificity) 94-100% ค่าการทำนายโรคเมื่อผลทดสอบเป็นบวก (positive predictive value, PPV) 38% [27-30] แต่มีบางการศึกษาที่ได้ผลแตกต่างออกไปจากที่มีการรายงานมา กล่าวคือพบความไวต่อการตรวจพบรอยโรคเพียง 71% มีความจำเพาะต่อรอยโรค 32% และค่าการทำนายโรคเมื่อผลทดสอบเป็นบวกเท่ากับ 44% [31]

วิธีการที่ได้รับความนิยมอีกวิธีในปัจจุบัน คือวิธีการย้อมสีในเนื้อเยื่อที่มีชีวิต (vital tissue staining) โดยปัจจุบันมีใช้กันแพร่หลายมากขึ้นหลายชนิด ดังที่จะได้กล่าวถึงเป็นลำดับดังนี้ วิธีการแรกคือ การย้อมด้วยโทโลเนียมคลอไรด์ (Tolonium chloride) หรือโทลูอิดีนบลู (Toluidine blue) โดยสารโทโลเนียมคลอไรด์ หรือเป็นที่รู้จักกันในชื่อว่า โทลูอิดีนบลู เป็นสารมีสีที่มีประจุบวก (cationic metachromatic dye) สามารถจับกับกลุ่มประจุลบอิสระ (free anionic groups) เช่น ซัลเฟต (sulphate) ฟอสเฟต (phosphate) คาร์บอกซิเลต (carboxylate) ของสารโมเลกุลใหญ่ สารนี้จึงจับกับกลุ่มฟอสเฟตของดีเอ็นเอ (DNA) และอาร์เอ็นเอ (RNA) ทำให้สามารถย้อมติดนิวเคลียสของเซลล์ได้ เซลล์ที่มีภาวะเจริญผิดปกติ (dysplasia) หรือเซลล์มะเร็งจะมีการแบ่งเซลล์อย่างรวดเร็วและมีอัตราส่วนของนิวเคลียสต่อไซโตพลาสซึม (cytoplasm) เพิ่มขึ้นจึงติดสีน้ำเงินของโทลูอิดีนบลู ชัดเจนกว่าเซลล์ปกติ ดังนั้นจึงมีรายงานถึงการใช้โทลูอิดีนบลู 1% ป้ายในบริเวณที่สงสัยหรือให้ผู้ป่วยยกป้ายปากนาน 1-2 นาที แล้วเช็ดสีส่วนเกินออกด้วยการใช้ก้อนสำลีชุบกรดน้ำส้ม (acetic acid) 1-2% จะช่วยบ่งบอกรอยโรคมะเร็งได้ [32-34] อย่างไรก็ตามยังมีข้อถกเถียงว่าการติดสีน้ำเงินเข้ม (dark blue) กับการติดสีน้ำเงินอ่อน (pale blue) จะถือว่าให้ผลบ่งชี้

การเป็นมะเร็งเหมือนกันหรือไม่ จากการพบทวนข้อมูลที่มีผู้ทำการศึกษาการใช้โทลูอิดีนบลู ในการตรวจรอยโรคมะเร็งช่องปากรายงานว่าทำให้ผลลบเทียม (false negative) พบน้อยมาก [35] การให้ผลบวกเทียม (false positive) อาจพบได้เช่นกันในรอยโรคที่มีการอักเสบหรือเป็นแผล แต่การติดสีมักคงอยู่ไม่นานและมักจำกัดอยู่บริเวณขอบแผล ซึ่งแตกต่างไปจากรอยโรคมะเร็งที่ควรพบการติดสีโดยทั่วๆ ไปในบริเวณรอยโรคที่สงสัย การศึกษาการเปลี่ยนแปลงในระดับโมเลกุลของรอยโรคก่อนมะเร็งช่องปาก พบว่าในกลุ่มตัวอย่างที่ติดสีโทลูอิดีนบลู มีการหายไปของอัลลีล (allelic loss) ทำให้สูญเสียความเป็นเฮเทอโรไซโกท (loss of heterozygosity, LOH) ที่โครโมโซมตำแหน่ง 3p14, 9p21 และ 17p13 ในสัดส่วนที่สูงกว่าในกลุ่มที่ไม่ติดสี [36,37] แสดงว่าโทลูอิดีนบลู สามารถบ่งชี้บริเวณที่มีความผิดปกติในระดับโมเลกุลได้ การติดตามตรวจรอยโรคก่อนมะเร็งช่องปากอย่างต่อเนื่องทุก ๆ 6 เดือนเป็นเวลา 44 เดือน พบว่าในกลุ่มที่ติดสีโทลูอิดีนบลู ไม่ว่าจะแสดงภาวะเจริญผิดปกติหรือไม่ก็ตาม มีการเปลี่ยนแปลงเป็นมะเร็ง 33% ในขณะที่กลุ่มที่ไม่ติดสีมีการเปลี่ยนแปลงเป็นมะเร็งเพียง 5% ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p = 0.0002$ ) และรอยโรคในกลุ่มไม่ติดสีนี้มีการเปลี่ยนแปลงเป็นติดสีก่อนที่จะพบว่าเป็นมะเร็งจากการตรวจทางจุลพยาธิวิทยา [35]

นอกเหนือจากวิธีการย้อมด้วยสีแล้ว ในปัจจุบันมีการนำเสนอวิธีการใหม่ๆ ซึ่งได้แก่การใช้เครื่องมือเสริมการมองเห็น (visualization adjuncts) ดังมีผู้ผลิตแนะนำเครื่องมือและหลักการใหม่ ๆ หลายชนิด ชนิดหนึ่งที่เริ่มมีการนำมาใช้ช่วยในการตรวจคัดกรองรอยโรคทางคลินิกกันมากขึ้น ได้แก่หลักการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ในตัว (autofluorescence) โดยมีหลักการว่าเนื้อเยื่อที่มีชีวิตมีสารฟลูออโรฟอร์ (fluorophores) เช่น NADH (nicotinamide adenine dinucleotide) FAD (flavin adenine dinucleotide) ซึ่งเมื่อถูกกระตุ้นด้วยแสงที่มีความยาวคลื่นจำเพาะจะปลดปล่อยแสงฟลูออเรสเซนซ์ออกมาแตกต่างกัน โดยขึ้นอยู่กับโครงสร้าง

ของเนื้อเยื่อบริเวณนั้น เช่น ความหนาของเยื่อบุผิว รูปร่างของเซลล์หรือนิวเคลียส ปริมาณคอลลาเจน (collagen) และการเชื่อมโยงข้ามของอีลาสติน (elastin crosslinks) ปริมาณฮีโมโกลบิน (hemoglobin) การขยายตัวของเส้นเลือด และการอักเสบ เมื่อกระตุ้นด้วยแสง UV (ultraviolet) หรือแสงที่มีความยาวคลื่นใกล้เคียง เนื้อเยื่อปกติจะเรืองแสงน้อยลงหรือไม่เรืองแสงและปรากฏเป็นบริเวณที่มีสีน้ำตาลคล้ำ (dark brown) หรือดำ หรืออาจเปล่งแสงฟลูออเรสเซนซ์สีแดงเพิ่มขึ้น [38,39] มีรายงานว่ากระตุ้นด้วยแสงที่มีความยาวคลื่น 400 นาโนเมตร และตรวจดูการเรืองแสงที่มีความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร สามารถแยกแยะบริเวณที่เป็นมะเร็งออกจากบริเวณเนื้อเยื่อปกติได้ดี โดยมีความไวและความจำเพาะ 91% และ 86% ตามลำดับ [40] การวิเคราะห์สารฟลูออเรสเซนซ์ในมะเร็งช่องปากด้วย high-performance liquid chromatography (HPLC) พบว่าสารประกอบพอร์ไฟริน (porphyrin) มีความจำเพาะกับมะเร็งช่องปาก [41] การตรวจดูรอยโรคในช่องปากจากการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ในตัว ทำให้พบรอยโรคมะเร็งและบ่งบอกขอบเขตของรอยโรค มะเร็งที่ไม่พบจากการตรวจทางคลินิกโดยใช้แสงไฟจากแก๊อที่ทันตกรรมได้ [42] วิธีนี้มีความไวต่อการตรวจพบรอยโรคมะเร็ง 98-100% ความจำเพาะ 78-100% ค่าการทำนายโรคเมื่อผลทดสอบเป็นบวก 66-100% และค่าการทำนายโรคเมื่อผลทดสอบเป็นลบ 86-100% [43] ตัวอย่างอุปกรณ์ทางการค้าที่ใช้ระบบการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ในตัว ได้แก่ velscope® (LED Medical Diagnostics Inc., White Rock, British Columbia, Canada) ใช้แสงสีฟ้าที่มีความยาวคลื่น 400-460 นาโนเมตร Identafi 3000TM (TrimiraTM, Houston, Texas, USA) ใช้แสงที่มีความยาวคลื่น 2 ขนาด คือ แสงสีขาวอำพัน (white amber) ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร และแสงสีม่วงความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร หรือ Sapphire Plus (Dent Mat Inc., USA) ใช้แสงสีเขียวที่มีความยาวคลื่น 400-460 นาโนเมตร เป็นต้น

[44-50] นอกจากนี้มีการพัฒนาอุปกรณ์ที่สามารถวัดความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่เปล่งออกมาและบันทึกเก็บไว้ในคอมพิวเตอร์สำหรับการวิเคราะห์ได้ โดยใช้ สเปกโทรสโกปี (spectroscopy) หรือใช้กล้อง CCD (charge-coupled device camera) ในการบันทึกภาพ [51]

จากวิธีการต่างๆที่นำเสนอพบว่าการยอมด้วยโทลูอิดีนบลูและการเรืองแสงของเนื้อเยื่อ เป็นวิธีที่ได้รับการแนะนำให้ใช้เป็นการตรวจเสริม (adjunctive examination) ในการตรวจคัดกรอง (screening) ตรวจหา (detection) เผ่าระวังและติดตามการเกิดรอยโรค มะเร็งช่องปาก หรือการเกิดรอยโรคปฐมภูมิลำดับที่สอง ซึ่งสามารถช่วยให้การวินิจฉัยโรคง่ายและรวดเร็วขึ้น นอกจากนี้ยังสามารถใช้ตัดสินใจหรือเลือกตำแหน่งและขอบเขต (margin) ที่จะตัดตัวอย่างเนื้อเยื่อส่งตรวจทางพยาธิวิทยาหรือส่งต่อผู้ป่วยไปพบผู้เชี่ยวชาญต่อไป ทำให้ผู้ป่วยได้รับการรักษาตั้งแต่ระยะเริ่มแรก ส่งผลให้ลดอัตราการความพิการและอัตราการตายจากโรคนี้ได้ แต่ก็ต้องระวังการเกิดผลบวกเทียมซึ่งจะทำให้เกิดการตัดเนื้อเยื่อตรวจโดยไม่จำเป็น หรือผลลบเทียมจะทำให้ละเลยต่อการให้การรักษาที่เหมาะสม ส่งผลให้โรคลุกลามไปมากดังนั้นการศึกษาเพื่อเลือกใช้วิธีการเสริมที่เหมาะสมกับบริบททางการแพทย์ของไทย จะช่วยให้การตรวจและวิเคราะห์โรคทางคลินิกสำหรับรอยโรคก่อนมะเร็งและมะเร็งช่องปากทำได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้นเพราะถึงแม้การตรวจหารอยโรค มะเร็งในช่องปากด้วยวิธีอื่นๆ

นอกเหนือไปจากการตัดเนื้อเยื่อเพื่อส่งตรวจทางพยาธิวิทยาจะมีรายงานว่าได้ผลดี แต่ยังมีขาดหลักฐานชัดเจนที่สนับสนุนประสิทธิภาพของการใช้เครื่องมือเหล่านี้ในการวินิจฉัยรอยโรค และในปัจจุบันยังไม่สามารถใช้วิธีการเหล่านี้แทนการตรวจทางคลินิกด้วยผู้เชี่ยวชาญ ร่วมกับการยืนยันการวินิจฉัยด้วยผลการตรวจด้วยลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาซึ่งถือเป็นวิธีการมาตรฐาน และยังคงปฏิบัติกันอยู่ได้ วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัยครั้งนี้เพื่อการเปรียบเทียบวิธีการเสริม 2 วิธี ได้แก่

การย้อมเนื้อเยื่อด้วยโทลูอิดีนบลูและการส่องแสงดูเนื้อเยื่อโดยตรงใช้เทคนิคอโตฟลูออเรสเซนส์ด้วยเครื่องเวลสโคปโดยจะเปรียบเทียบด้านความไวและความแม่นยำของทั้งสองวิธีและตัดสินผลที่ได้รับโดยวิธีการตัดชิ้นเนื้อเยื่อเพื่อส่งตรวจด้วยลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา

### วัตถุประสงค์และวิธีการ

โครงการวิจัยนี้เป็นการเก็บสิ่งส่งตรวจผู้ป่วยทางคลินิก โดยผ่านการเห็นชอบจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เลขที่ 3/2557 เรียบร้อยแล้ว ซึ่งการวิจัยวางแผนโดยเลือกวิธีการเสริมเพื่อช่วยวินิจฉัยรอยโรคมะเร็งทางคลินิก 2 วิธี ได้แก่ เทคนิคอโตฟลูออเรสเซนส์ (autofluorescence (velscope®)) และการย้อมสีเนื้อเยื่อด้วยโทลูอิดีนบลูเปรียบเทียบกับวิธีการมาตรฐาน คือการตัดชิ้นเนื้อเพื่อตรวจด้วยลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา (biopsy) โดยใช้วิธีดำเนินการในกลุ่มตัวอย่างแบบสะดวก (convenience samples) ได้แก่ ผู้ป่วยที่พบรอยโรคในช่องปากที่เข้าข่ายรอยโรคก่อนมะเร็ง (potentially malignant disorders) และรอยโรคมะเร็งช่องปาก (oral cancers) ซึ่งได้รับการตรวจดูและประมวลการตรวจวินิจฉัยทางคลินิกด้วยทันตแพทย์ผู้เชี่ยวชาญในสาขาเวชศาสตร์ช่องปากและวางแผนเพื่อการตัดชิ้นเนื้อเพื่อตรวจด้วยลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาที่มารับการบริการตรวจสุขภาพช่องปากที่คลินิกเวชศาสตร์และตรวจพิเศษโรคมะเร็งช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ และคลินิกเวชศาสตร์ช่องปาก มหาวิทยาลัยมหิดล จำนวนทั้งสิ้น 20 คน

การเก็บข้อมูลวิจัย คือ เมื่อผู้ป่วยได้รับทราบข้อมูลโครงการและสมัครใจเข้าร่วมโครงการแล้ว ผู้ป่วยจะถูกบันทึกภาพลักษณะรอยโรคทางคลินิกที่พบ จากนั้นจึงส่องดูรอยโรคด้วยวิธีอโตฟลูออเรสเซนส์ โดยใช้เครื่อง Velscope® พร้อมบันทึกภาพ จากนั้นจึงย้อมสีเนื้อเยื่อด้วยสีโทลูอิดีนบลู ซึ่งมีขั้นตอน คือ เช็ดบริเวณ

เนื้อเยื่อที่ต้องการย้อมสีเนื้อเยื่อให้แห้ง ทาสีบริเวณเนื้อเยื่อดังกล่าวเบา ๆ ด้วยสำลีชุบโทลูอิดีนบลู จากนั้นเช็ดเบา ๆ ในตำแหน่งดังกล่าวด้วยสำลีชุบกรดอะซิติกความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ แล้วจึงให้ผู้ป่วยบ้วนน้ำบันทึกภาพการติดสีโทลูอิดีนบลู ก่อนการตัดชิ้นเนื้อเพื่อวินิจฉัยตรวจด้วยลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา โดยเลือกตำแหน่งการตัดชิ้นเนื้อในบริเวณที่มีการติดสีโทลูอิดีนบลูเข้มที่สุดและให้มีบริเวณเนื้อเยื่อข้างเคียงที่ไม่มีการย้อมติดสีใดๆ ด้วย

นำข้อมูลที่ได้จากทุกวิธีการมาวิเคราะห์เชิงพรรณนา (descriptive analysis) เพื่อแสดงถึงประสิทธิภาพในการตรวจหารอยโรคทางคลินิกที่พบว่าเป็นรอยโรคก่อนมะเร็งและรอยโรคมะเร็งช่องปากเทียบกับวิธีการมาตรฐาน คือการตรวจลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของชิ้นเนื้อและนำผลมาวิเคราะห์เชิงสถิติเพื่อหาความสัมพันธ์ของการเรืองแสงฟลูออเรสเซนส์ในตัวของเนื้อเยื่อ การติดสีชิ้นเนื้อทางคลินิกและผลการวิเคราะห์ชิ้นเนื้อด้วยลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา เพื่อหาค่าความไวและความจำเพาะ ความแม่นยำ ค่าการทำนายโรคเมื่อผลทดสอบเป็นบวกและค่าการทำนายโรคเมื่อผลทดสอบเป็นลบของวิธีการเสริมทางคลินิกทั้งสองวิธีเปรียบเทียบกัน

### ผลการวิจัย

ผลการศึกษาเบื้องต้นนี้ การเก็บข้อมูลจากผู้ป่วยทั้งสิ้น 20 คน โดยเป็นเพศชาย 10 คน (50%) และหญิง 10 (50%) อย่างละครึ่งๆ กัน ผู้ป่วยมีช่วงอายุเท่ากับ 35-76 ปี (อายุเฉลี่ยเท่ากับ  $58.1 \pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน= 3.16)

โดยจำแนกตามตำแหน่งที่พบรอยโรคและเป็นไปตามข้อกำหนดของการวิจัย ซึ่งได้รับการตรวจและตัดชิ้นเนื้อเพื่อการส่งตรวจด้วยลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา แสดงดังตารางที่ 1

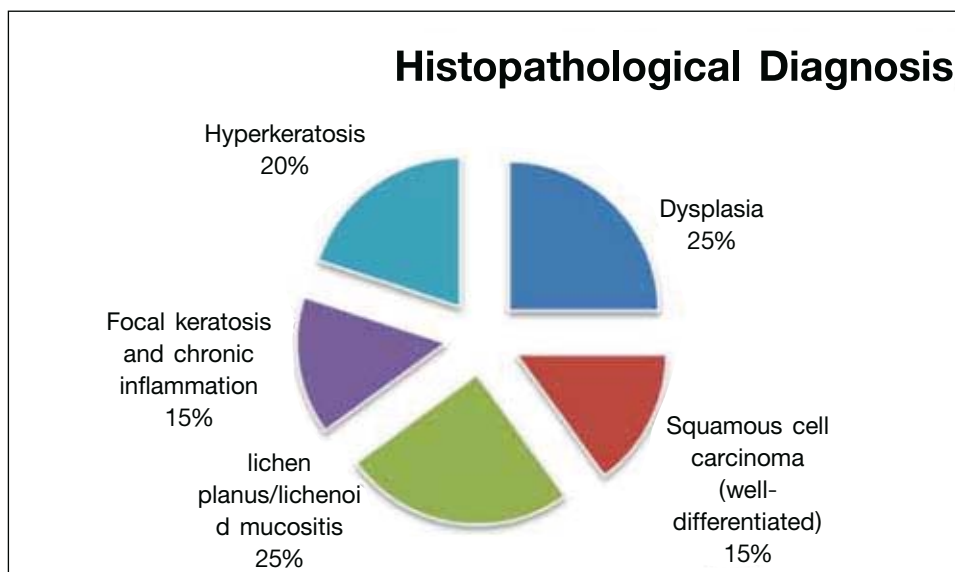
**ตารางที่ 1** แสดงตำแหน่งต่าง ๆ ของการตัดชิ้นเนื้อเพื่อส่งตรวจด้วยลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา

ลิ้น	6	30
เหงือก	1	5
กระพุ้งแก้ม	6	30
ตำแหน่งลิ้นว่างของเหงือก	7	35
<b>รวม</b>	<b>20</b>	<b>100</b>

จากผลการตัดชิ้นเนื้อเพื่อส่งตรวจด้วยลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา พบผลการวิเคราะห์ชิ้นเนื้อทั้ง 20 ชิ้น และได้ผลวิเคราะห์ดังตารางที่ 2 และกราฟที่ 1

**ตารางที่ 2** แสดงผลการวิเคราะห์ชิ้นเนื้อด้วยลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา

Epithelial Dysplasia	5	25
Squamous cell carcinoma ( well-differentiated)	3	15
Lichen planus/Lichenoid mucositis	5	25
Focal keratosis and chronic inflammation	3	15
Hyperkeratosis	4	20



**กราฟที่ 1** แสดงผลการวิเคราะห์ชิ้นเนื้อที่ส่งตรวจด้วยลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา

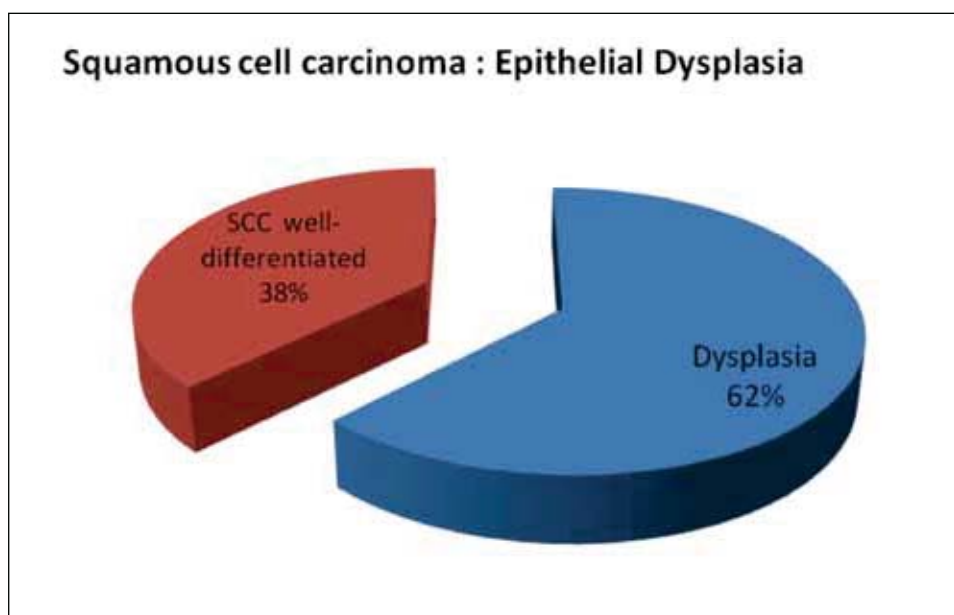


โดยหากแยกวิเคราะห์เฉพาะกรณีศึกษาผู้ป่วยที่พบความผิดปกติของรอยโรคเนื้อเยื่ออ่อนในช่องปาก และผลการตรวจชิ้นเนื้อด้วยลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาที่มีความผิดปกติ กล่าวคือมีผลค่อนไปในทางของรอยโรคก่อนมะเร็ง รวมทั้งเปลี่ยนไปเป็นมะเร็งชนิดสความัส

เซลล์ คาร์ซิโนมา (ตารางที่ 3 และกราฟที่ 2) ซึ่งเป็นความผิดปกติที่สนใจนำมาเปรียบเทียบผลด้านความไวและความแม่นยำของวิธีส่องแสงเนื้อเยื่อด้วยเครื่อง velscope® และ ย้อมสีเนื้อเยื่อด้วยโทลูอิดีนบลูพบเนื้อเยื่อที่มีความผิดปกติดังตารางที่ 4

**ตารางที่ 3 แสดงผลการวิเคราะห์ชิ้นเนื้อด้วยลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาในกรณีที่พบความผิดปกติเป็นรอยโรคก่อนมะเร็งและมะเร็งในช่องปาก**

ผลการวิเคราะห์ด้วยลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา	จำนวน คน
Epithelial Dysplasia	5
Squamous cell carcinoma ( well-differentiated)	3



**กราฟที่ 2 แสดงสัดส่วนความผิดปกติของเนื้อเยื่อที่แสดงลักษณะก่อนมะเร็งและมะเร็งในช่องปาก**

**ตารางที่ 4 แสดงผลของการสะท้อนแสงของเนื้อเยื่อเมื่อส่องดูด้วยเครื่อง Velscope® เปรียบเทียบกับการย้อมสีเนื้อเยื่อด้วยโทลูอิดีนบลู**

ลำดับ	ผล Velscope®		ผล Toluidine blue		ผลการวินิจฉัยด้วยลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา
	+	-	+	-	
1	⊙		⊙		A: Severe epithelial dysplasia , B: Moderate epithelial dysplasia
2		⊙		⊙	Chronic mucositis consistent with lichen planus/lichenoid mucositis
3	⊙		⊙		Focal keratosis and chronic inflammation
4	⊙		⊙		Consistent with lichen planus
5	⊙		⊙		Chronic mucositis consistent with lichen planus/lichenoid mucositis
6		⊙	⊙		Focal keratosis with mild epithelial dysplasia
7		⊙	⊙		Focal keratosis with mild epithelial dysplasia
8	⊙			⊙	Focal keratosis and chronic inflammation
9	⊙			⊙	Focal keratosis and chronic inflammation
10	⊙		⊙		Squamous cell carcinoma ( well-differentiated)
11	⊙		⊙		Consistent with lichen planus / lichenoid mucositis
12		⊙		⊙	Consistent with lichen planus
13	⊙		⊙		Mild epithelial dysplasia (Focal)
14	⊙			⊙	Hyperkeratosis
15		⊙	⊙		Hyperkeratosis and melanosis
16		⊙		⊙	Mild epithelial dysplasia
17	⊙		⊙		Hyperkeratosis
18	⊙			⊙	Hyperkeratosis
19	⊙		⊙		Squamous cell carcinoma (well-differentiated)
20	⊙		⊙		Squamous cell carcinoma (well-differentiated)

นำผลที่ได้จากตารางที่ 4 มาจำแนกตามกลุ่ม ได้แก่ ผลบวกจริง ผลลบจริง ผลบวกเทียมและผลลบเทียม เพื่อเปรียบเทียบวิธีการเสริมทั้ง 2 วิธีเปรียบเทียบ

กับวิธีมาตรฐาน คือการตัดชิ้นเนื้อเพื่อวิเคราะห์ด้วย ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา ได้ผลสรุปตามตารางที่ 5

**ตารางที่ 5 แสดงผลการวิเคราะห์ค่าสำหรับนำไปเปรียบเทียบหาความไวและความแม่นยำของวิธีการตรวจเสริมทางคลินิกทั้ง 2 วิธี**

Results Methods	True positive	True negative	False positive	False negative
Velscope®	5	3	9	3
Toluidine blue staining	7	6	6	1

เปรียบเทียบถึงความไวและความแม่นยำของวิธีการเสริมที่ใช้ช่วยสำหรับการตรวจและคัดกรองรอยโรคก่อนมะเร็งและมะเร็งในช่องปาก ทั้งสองวิธี พบว่าการส่องแสงเนื้อเยื่อด้วยเครื่องเวลสโคปมีค่าความไวเท่ากับ 62.5% ความจำเพาะเท่ากับ 25% และค่าความแม่นยำตรงเท่ากับ 40% สำหรับวิธีการย้อมเนื้อเยื่อด้วยสีโทลูอิดีนบลูพบค่าความไวเท่ากับ 87.5% ความจำเพาะเท่ากับ 50% และค่าความแม่นยำตรงเท่ากับ 65% จากการคำนวณค่าการทำนายโรคเมื่อผลทดสอบเป็นบวกสำหรับเวลสโคป เท่ากับ 35.71% และของโทลูอิดีนบลู เท่ากับ 53.85% และทั้งสองวิธีดังกล่าวมีค่าการทำนายโรคเมื่อผลทดสอบเป็นลบ เท่ากับ 50% และ 85.71% ตามลำดับ

โดยสรุปจากผลการวิจัยที่ได้ในครั้งนี้ พบว่าการใช้โทลูอิดีนบลู มีค่าความไว ความจำเพาะและความแม่นยำตรงที่สูงกว่าวิธีการใช้เวลสโคป

#### บทวิจารณ์

ในปัจจุบันมีการนำเสนอถึงวิธีการเสริมทางคลินิกหลายวิธี เพื่อใช้ร่วมกับการตรวจผู้ป่วยทางคลินิกที่นอกเหนือไปจากวิธีการมาตรฐาน คือการตรวจชิ้นเนื้อด้วยลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา ในปัจจุบันมี 2 แนวทางที่ใช้ คือการใช้แสงส่องลงไปที่เนื้อเยื่อแล้ววิเคราะห์ผล

การสะท้อนของแสง อีกวิธีหนึ่งคือการย้อมสีเนื้อเยื่อในบริเวณที่สงสัยโดยตรงและดูผลการติดสี พร้อมทั้งแปลผลตามวิธีการของผู้ผลิต ในการวิจัยครั้งนี้เลือกใช้ 2 วิธีการเสริม คือ การใช้สีย้อมเนื้อเยื่อด้วยโทโลเนียมคลอไรด์ (Tolonium chloride) หรือโทลูอิดีนบลู (Toluidine blue) และอโต้ฟลูออเรสเซนส์ ด้วยเครื่องเวลสโคป (velscope®)

โทลูอิดีนบลู เป็นสารมีสีที่มีประจุบวก (cationic metachromatic dye) สามารถจับกับกลุ่มประจุลบอิสระ (free anionic groups) เช่น ซัลเฟต (sulphate) ฟอสเฟต (phosphate) คาร์บอกซิเลต (carboxylate) ของสารโมเลกุลใหญ่ สารนี้จึงจับกับกลุ่มฟอสเฟตของดีเอ็นเอ (DNA) และอาร์เอ็นเอ (RNA) ทำให้ย้อมติดนิวเคลียสของเซลล์ได้ เซลล์ที่มีภาวะเจริญผิดปกติ (dysplasia) หรือเซลล์มะเร็งจะมีการแบ่งเซลล์อย่างรวดเร็วและมีอัตราส่วนของนิวเคลียสต่อไซโตพลาสซึม (cytoplasm) เพิ่มขึ้นจึงติดสีน้ำเงินของโทลูอิดีนบลูชัดเจนกว่าเซลล์ปกติ จากการทบทวนข้อมูลที่มีผู้ทำการศึกษาการใช้โทลูอิดีนบลู ในการตรวจรอยโรคมะเร็งช่องปาก พบว่าความไวและความจำเพาะของการตรวจรอยโรคมะเร็งช่องปากด้วยโทลูอิดีนบลู มีค่า 38-98% (มัธยฐาน 85%) และ 9-93% (มัธยฐาน 67%) ตามลำดับ มีค่าการทำนายโรคเมื่อผลทดสอบเป็นบวก 33-93%

(มัธยฐาน 85%) ค่าการทำนายโรคเมื่อผลทดสอบเป็นลบ (negative predictive value, NPV) 22-92% (มัธยฐาน 83%) [52,53] ส่วนการให้ผลลบเทียม (false negative) พบน้อยมาก [54] การให้ผลบวกเทียม (false positive) อาจพบได้ในรอยโรคที่มีการอักเสบหรือเป็นแผล แต่การติดสีมักคงอยู่ไม่นานและมักจำกัดอยู่บริเวณขอบแผล ซึ่งแตกต่างไปจากรอยโรคมะเร็ง โดยสามารถยืนยันผลของการติดสีในรอยโรคเหล่านี้ได้ด้วยการตรวจซ้ำในอีก 2 สัปดาห์ [55,56] นอกจากนี้ยังมีรายงานการตรวจพบรอยโรคปฐมภูมิลำดับที่สอง (second primary lesion) ในเยื่อเมือกช่องปากที่ตรวจไม่พบทางคลินิก แต่พบได้จากการย้อมด้วยโทลูอิดีนบลู [57-60] ผลการศึกษาในครั้งนี้ เมื่อย้อมด้วยโทลูอิดีนบลู มีความ ค่าผลบวกจริง ผลบวกเทียม ผลลบจริง ผลลบเทียมใกล้เคียงกับการวิจัยที่ผ่านมา โดยเฉพาะการได้ผลลบเทียม ซึ่งไม่ต้องการเนื่องจากจะทำให้แพทย์มองข้ามหรือพลาดการวินิจฉัยโรคไปได้นั้น พบน้อยมาก กล่าวคือพบเพียง 1 รายจากผู้ป่วย 20 ราย

สำหรับการใช้หลักการเรืองแสง (luminescence) ซึ่งสามารถแยกแยะให้เห็นความแตกต่างของเนื้อเยื่อที่ผิดปกติได้ เนื้อเยื่อปกติจะดูดกลืนแสงไว้ทำให้มีสีฟ้าอ่อน ส่วนเนื้อเยื่อมะเร็งจะเรืองแสงปรากฏเป็นสีขาวสว่างและมีขอบเขตอย่างชัดเจน การศึกษาการเรืองแสงสารเคมีในผู้ป่วยที่มีรอยโรคสีขาว (white lesion) ในช่องปาก 55 ราย โดยให้ผู้ป่วยกลั้วปากด้วยกรดน้ำส้ม 1% นาน 60 วินาที เพื่อกำจัดไกลโคโปรตีน (glycoprotein) ที่อาจขัดขวางการดูดกลืนและการสะท้อนแสง หลังจากนั้นทำการตรวจดูการสะท้อนแสงของรอยโรคโดยใช้ ViziLite™ (Zila Pharmaceuticals, Phoenix, Arizona, USA) ระบบนี้ใช้แสงสีฟ้าขาวที่เกิดจากการทำปฏิกิริยากันของสารเคมี แสงที่เปล่งออกมามีความยาวคลื่น 430 และ 580 นาโนเมตร จากการเปรียบเทียบระหว่างการตรวจด้วย ViziLite™ กับการตรวจทางคลินิก ภายใต้แสงไฟจากเก้าอี้ทันตกรรม ประกอบกับการยืนยันผลการตรวจด้วยการตัดชิ้นเนื้อส่งตรวจทางพยาธิเนื้อเยื่อ พบว่าการตรวจด้วย ViziLite™ มีความไวต่อการตรวจ

พบรอยโรคมะเร็งช่องปาก 100% แต่มีความแม่นยำ (accuracy) ต่อการวินิจฉัยรอยโรคมะเร็งเพียง 18.2% และมีความจำเพาะต่อรอยโรคมะเร็ง 0% วิธีนี้ไม่สามารถแยกแยะรอยโรคมะเร็งออกจากภาวะเยื่อบุผิวงอกเกิน (epithelial hyperplasia) เยื่อบุผิวเจริญผิดปกติ ลิ่วโคเพลเคีย หรือไลเคนแพลนัสได้ นอกจากนี้การตรวจด้วยวิธีนี้ยังไม่มีผลต่อการวินิจฉัยเบื้องต้น และตำแหน่งของการตัดชิ้นเนื้อเพื่อส่งตรวจทางพยาธิวิทยาเนื้อเยื่อ อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้ ViziLite™ สามารถบ่งชี้รอยโรคที่ไม่สามารถตรวจพบได้ด้วยการใช้แสงไฟจากเก้าอี้ทันตกรรมในผู้ป่วย 1 ราย [61]

มีการนำหลักการสะท้อนแสงนี้มาใช้ร่วมกับการย้อมโทลูอิดีนบลู โดยมีการศึกษาหนึ่งซึ่งทำการเปรียบเทียบระหว่างการตรวจด้วย ViziLite™ กับการตรวจด้วยโทลูอิดีนบลู พบว่ารอยโรคเคอราโทสิสแบบไม่ร้าย (benign keratosis) ไลเคนแพลนัส และมะเร็งช่องปากต่างให้ผลบวกกับการตรวจด้วยระบบ ViziLite™ โดยมีความไวของการตรวจพบรอยโรคมะเร็ง 100% มีความแม่นยำในการวินิจฉัยรอยโรคมะเร็ง 80.6% และมีความจำเพาะต่อรอยโรคมะเร็ง 14.2% ในขณะที่การใช้โทลูอิดีนบลู ให้ความไวเพียง 70.3% ความแม่นยำ 64.5% แต่มีความจำเพาะสูงกว่าคือ 25% [62] ค่าการทำนายโรคเมื่อผลทดสอบเป็นบวกเฉลี่ยจากการตรวจด้วย ViziLite™ เท่ากับ 20% และมีค่าการทำนายโรคเมื่อผลทดสอบเป็นลบเป็น 0% [63]

ปัจจุบันบริษัทผู้จำหน่าย ViziLite™ ได้พัฒนาให้ใช้การเรืองแสงสารเคมีนี้ร่วมกับการย้อมด้วยโทลูอิดีนบลู มีชื่อทางการค้าว่า ViziLite Plus with TBlue (Zila Pharmaceuticals, Phoenix, Arizona, USA) เนื่องจากพบว่าสามารถเพิ่มความไว ค่าการทำนายโรคเมื่อผลทดสอบเป็นบวก และค่าการทำนายโรคเมื่อผลทดสอบเป็นลบได้เป็น 100% รายงานการศึกษาผลของการใช้ ViziLite Plus with TBlue ในการประเมินรอยโรคที่สงสัยว่าเป็นมะเร็งช่องปากที่พบจากการตรวจทางคลินิกจำนวน 97 รอยโรค ในผู้ป่วย 84 ราย โดยให้ผู้ป่วยกลั้วปากด้วยกรดน้ำส้ม 1% เป็นเวลา 30-60 วินาที

แล้วหรีแสงสว่างของห้องตรวจลง ทำการตรวจดูการเรืองแสงของรอยโรคด้วยแสงจาก ViziLite™ แล้วทำการป้ายรอยโรคที่ปรากฏด้วยกรดน้ำส้ม 1% อีกครั้งก่อนที่จะทาด้วยโทลูอิดีนบลู หลังจากนั้นจึงกำจัดสีส่วนเกินออกด้วยการเช็ดด้วยกรดน้ำส้ม 1% พบว่าวิธีนี้สามารถเพิ่มความสว่าง (brightness) และความคมชัด (sharpness) ของขอบเขตรอยโรคได้ถึง 61.8% ของรอยโรคที่ตรวจพบ ทำให้สามารถลดอัตราการตัดชิ้นเนื้อในรายที่มีผลบวกเทียบจากการตรวจทางคลินิกแต่ไม่ติดสีโทลูอิดีนบลู ถึง 55.26 % ขณะเดียวกันยังคงค่าการทำนายโรคเมื่อผลทดสอบเป็นลบไว้ที่ 100% [64]

อีกวิธีหนึ่งที่เป็นวิธีการเสริมและเลือกใช้ในการวิจัยนี้คือการใช้หลักการของการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ในตัว (Autofluorescence) โดยจากหลักการที่ว่าเนื้อเยื่อที่มีชีวิตมีสารฟลูออโรฟออร์ (fluorophores) เช่น NADH (nicotinamide adenine dinucleotide) FAD (flavin adenine dinucleotide) ซึ่งเมื่อถูกกระตุ้นด้วยแสงที่มีความยาวคลื่นจำเพาะจะปลดปล่อยแสงฟลูออเรสเซนซ์ออกมาแตกต่างกัน โดยขึ้นอยู่กับโครงสร้างของเนื้อเยื่อบริเวณนั้น ตัวอย่างอุปกรณ์ทางการค้าที่ใช้ระบบการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ในตัว ได้แก่ velscope® (LED Medical Diagnostics Inc., White Rock, British Columbia, Canada) ใช้แสงสีฟ้าที่มีความยาวคลื่น 400-460 นาโนเมตร โดยผลการวิจัยครั้งนี้พบว่าระบบการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์นี้ให้ความไวที่ดีและเทียบเท่ากับการวิจัยที่ผ่านมา แต่ยังมีค่าความแม่นยำไม่ดันทันทีจากผลการวิจัยครั้งนี้ ที่พบความคลาดเคลื่อนจากงานวิจัยที่ผ่านมา อาจมีผลมาจากการในแต่ละการศึกษา มีเกณฑ์ในการเลือกกลุ่มตัวอย่างแตกต่างกัน บางการศึกษาเลือกรอยโรคมะเร็ง ในขณะที่การศึกษาอื่นเลือกรอยโรคก่อนมะเร็ง ประกอบกับการมีข้อจำกัดทางจริยธรรมที่ไม่สามารถตัดชิ้นเนื้อจากบริเวณเนื้อเยื่อปกติที่ตรวจไม่พบรอยโรคและให้ผลลบในการทดสอบไปตรวจทางจุลพยาธิวิทยาเนื้อเยื่อเพื่อยืนยันความถูกต้องของการวินิจฉัยได้ การศึกษาจึงต้องทำในผู้ป่วยที่มีรอยโรคปรากฏซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ต้องตัดชิ้นเนื้อตรวจหรือมีความน่าจะเป็น

มะเร็งสูงอยู่แล้ว การทดสอบเหล่านี้จึงให้ผลความไวของเครื่องมือทดสอบเป็น 100% แต่ถ้าหากนำไปทดสอบในกลุ่มเสี่ยงที่ยังไม่มีรอยโรคปรากฏหรืออยู่ในระยะเริ่มมีการเปลี่ยนแปลง รวมทั้งรอยโรคที่มีลักษณะคลุมเครืออาจให้ผลความไวของการตรวจหารอยโรคมะเร็งลดลง นอกจากนี้เครื่องมือทดสอบบางชนิดยังไม่สามารถแยกแยะรอยโรคก่อนมะเร็ง เช่น ลิ่วโคเพลเคีย โลเคนแพลนัส เยื่อบุผิววงอกเกิน เยื่อบุผิวเจริญผิดปกติ หรือภาวะการอักเสบ ออกจากรอยโรคมะเร็งได้ จึงมีความจำเพาะต่อการตรวจพบมะเร็งต่ำ ดังนั้นควรพิจารณาทั้งค่าความไวและความจำเพาะของวิธีการหรือเครื่องมือที่ประกอบกัน นอกจากนี้ยังควรคำนึงถึงค่าการทำนายโรคเมื่อผลทดสอบเป็นบวกที่แสดงความน่าจะเป็นที่รอยโรคซึ่งให้ผลบวกจากการทดสอบเกิดการเป็นโรคจริงและค่าการทำนายโรคเมื่อผลทดสอบเป็นลบที่แสดงความน่าจะเป็นที่รอยโรคซึ่งให้ผลลบจากการทดสอบไม่ได้เป็นโรค

การย้อมด้วยโทลูอิดีนบลูและการเรืองแสงของเนื้อเยื่อ เป็นวิธีที่ได้รับการแนะนำให้ใช้เป็นการตรวจเสริม (adjunctive examination) ในการตรวจคัดกรอง (screening) ตรวจหา (detection) เผื่อระวังและติดตามการเกิดรอยโรคมะเร็งซ้ำ หรือการเกิดรอยโรคปฐมภูมิลำดับที่สอง ซึ่งสามารถช่วยให้การวินิจฉัยโรคร้ายและรวดเร็วขึ้น นอกจากนี้ยังสามารถใช้ตัดสินใจหรือเลือกตำแหน่งและขอบเขต (margin) ที่จะตัดตัวอย่างเนื้อเยื่อส่งตรวจทางพยาธิวิทยา [46,53] หรือส่งต่อผู้ป่วยไปพบผู้เชี่ยวชาญต่อไป ทำให้ผู้ป่วยได้รับการรักษาตั้งแต่ระยะเริ่มแรก ส่งผลให้ลดอัตราการความพิการและอัตราการตายจากโรคนี้ได้ แต่ก็ต้องระวังการเกิดผลบวกเทียมซึ่งจะทำให้เกิดการตัดเนื้อเยื่อตรวจโดยไม่จำเป็น หรือผลลบเทียมจะทำให้ละเลยต่อการให้การรักษาที่เหมาะสมส่งผลให้โรคลุกลามไปมาก

ถึงแม้การตรวจหารอยโรคมะเร็งในช่องปากด้วยวิธีอื่นๆ นอกเหนือไปจากการตัดเนื้อเยื่อเพื่อส่งตรวจทางจุลพยาธิวิทยาจะมีรายงานว่าได้ผลดี แต่ยังมีขาดหลักฐานชัดเจนที่สนับสนุนประสิทธิภาพของการใช้

เครื่องมือเหล่านี้ในการวินิจฉัยรอยโรค ในปัจจุบันจึงยังไม่สามารถใช้วิธีการเหล่านี้แทนการตรวจทางคลินิกด้วยผู้เชี่ยวชาญร่วมกับการยืนยันการวินิจฉัยด้วยผลการตรวจทางพยาธิวิทยาเนื้อเยื่อตั้งที่ปฏิบัติกันอยู่ได้อย่างไรก็ตามทั้งบุคลากรทางการแพทย์และประชาชนควรได้รับการส่งเสริมให้มีความรู้ ความเข้าใจ และตระหนักถึงความจำเป็นในการได้รับการตรวจสุขภาพอวัยวะในช่องปากอื่น ๆ ที่นอกเหนือไปจากการตรวจรักษาฟันตามปกติ การตรวจมะเร็งช่องปากสามารถทำได้ง่ายกว่าการตรวจมะเร็งของอวัยวะอื่น ๆ เช่น มะเร็งปากมดลูก มะเร็งเต้านม มะเร็งต่อมลูกหมาก มะเร็งลำไส้ใหญ่ เป็นต้น ดังนั้นการตรวจสุขภาพช่องปากเป็นประจำจึงน่าจะเป็นวิธีการที่สำคัญในการลดความพิการและอัตราการเสียชีวิตจากมะเร็งช่องปากได้ ทั้งนี้การพิจารณาเลือกใช้เครื่องมือหรือสารต่าง ๆ ที่ใช้ง่าย ราคาถูก และมีความไวในการตรวจพบโรคสูง อาจเป็นทางเลือกที่บุคลากรทางการแพทย์ที่ไม่มีความชำนาญในการตรวจวิเคราะห์รอยโรค สามารถนำมาใช้ตรวจคัดกรองโรคมะเร็งในช่องปากในกลุ่มที่มีความเสี่ยงสูงเพื่อส่งต่อผู้ป่วยที่มีรอยโรคที่น่าสงสัยว่าจะเป็นมะเร็งในช่องปากไปรับการตรวจวินิจฉัยที่แน่นอนจากผู้เชี่ยวชาญทำให้ผู้ป่วยได้รับการรักษาตั้งแต่ระยะแรกเริ่มได้ทันทั่วทั้ง

#### บทสรุป

การศึกษาครั้งนี้ ได้ข้อมูลเบื้องต้นที่ยังต้องศึกษาเพิ่มเติมในกลุ่มประชากรที่มากขึ้น และที่สำคัญคือผลที่ได้รับนี้ยังไม่สามารถแสดงหลักฐานสนับสนุนความน่าเชื่อถือของเครื่องมือเหล่านี้ในการใช้วินิจฉัยรอยโรค มะเร็งแทนวิธีการตัดเนื้อเยื่อส่งตรวจทางจุลพยาธิวิทยา ดังนั้นการตรวจทางคลินิกอย่างละเอียดถี่ถ้วน ร่วมกับการตัดตัวอย่างรอยโรคในบริเวณที่สงสัยส่งตรวจทางจุลพยาธิวิทยา จึงยังเป็นมาตรฐานของการวินิจฉัยโรคมะเร็งช่องปาก

#### กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยชิ้นนี้ได้รับเงินทุนสนับสนุนการวิจัยจากเงินรายได้มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ปิงปวงประมาณ 2557 และผู้วิจัยขอขอบคุณ อาจารย์ทันตแพทย์หญิง ดร. สุภาวดี เนาว์รุ่งโรจน์ ที่กรุณาเสนอแนะด้านการวิเคราะห์ข้อมูลเชิงสถิติเป็นอย่างดี

#### เอกสารอ้างอิง

1. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55(2): 74-108.
2. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2009. *CA Cancer J Clin* 2009; 59(4): 225-249.
3. Vatanasapt V, Martin N, Sriplung H, Chindavijak K, Sontipong S, Sriamporn H, et al. Cancer incidence in Thailand, 1988-1991. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1995; 4(5): 475-483.
4. Vatanasapt V, Sriamporn S, Vatanasapt P. Cancer control in Thailand. *Jpn J Clin Oncol* 2002; 32 Suppl: S82-91.
5. Kruaysawat W, Aekplakorn W, Chapman RS. Survival time and prognostic factors of oral cancer in Ubon Ratchathani Cancer Center. *J Med Assoc Thai* 2006; 93(3): 278-84.
6. Allison P, Locker D, Feine JS. The role of diagnostic delays in the prognosis of oral cancer: a review of the literature. *Oral Oncol* 1998; 34(3): 161-170.
7. Mignogna MD, Fedele S. Oral cancer screening: 5 minutes to save a life. *Lancet* 2005; 365(9475): 1905-1906.

8. Sankaranarayanan R, Ramadas K, Thomas G, Muwonge R, Thara S, Mathew B, et al. Effect of screening on oral cancer mortality in Kerala, India: a cluster-randomised controlled trial. *Lancet* 2005; 365(9475): 1927-1933.
9. Pippi R. Technical notes about soft tissues biopsies of the oral cavity. *Minerva Stomatol* 2006; 55(10): 551-566.
10. Cheng CK, Gaia BF, de Oliveira Neto HG, Martini MZ, Aburad A, Shinohara EH. Severe hemorrhage during an incisional biopsy: a report of a case. *J Contemp Dent Pract* 2007; 8(3): 97-103.
11. Lee JJ, Hung HC, Cheng SJ, Chiang CP, Liu BY, Yu CH, et al. Factors associated with underdiagnosis from incisional biopsy of oral leukoplakic lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007; 104(2): 217-225.
12. Poh CF, Ng S, Berean KW, Williams PM, Rosin MP, Zhang L. Biopsy and histopathologic diagnosis of oral premalignant and malignant lesions. *J Can Dent Assoc* 2008; 74(3): 283-288.
13. Dios PD, Leston JS. Oral cancer pain. *Oral Oncol* 2005; 46(6): 448-451.
14. Kusakawa J, Suefuji Y, Ryu F, Noguchi R, Iwamoto O, Kameyama T. Dissemination of cancer cells into circulation occurs by incisional biopsy of oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med* 2000; 29(7): 303-307.
15. Dyavanagoudar S, Kale A, Bhat K, Hallikerimath S. Reverse transcriptase polymerase chain reaction study to evaluate dissemination of cancer cells into circulation after incision biopsy in oral squamous cell carcinoma. *Indian J Dent Res* 2008; 19(4): 315-319.
16. Klein DR. The use of the carbon dioxide laser in plastic surgery. *South Med J* 1977; 70(4): 429-431.
17. Fischer DJ, Epstein JB, Morton TH, Schwartz SM. Interobserver reliability in the histopathologic diagnosis of oral pre-malignant and malignant lesions. *J Oral Pathol Med* 2004; 33(2): 65-70.
18. Fischer DJ, Epstein JB, Morton TH, Jr., Schwartz SM. Reliability of histologic diagnosis of clinically normal intraoral tissue adjacent to clinically suspicious lesions in former upper aerodigestive tract cancer patients. *Oral Oncol* 2005; 41(5): 489-496.
19. Karabulut A, Reibel J, Therkildsen MH, Praetorius F, Nielsen HW, Dabelsteen E. Observer variability in the histologic assessment of oral premalignant lesions. *J Oral Pathol Med* 1995; 24(5): 198-200.
20. van der Meij EH, Reibel J, Slootweg PJ, van der Wal JE, de Jong WF, van der Waal I. Interobserver and intraobserver variability in the histologic assessment of oral lichen planus. *J Oral Pathol Med* 1999; 28(6): 274-277.
21. van der Meij EH, Schepman KP, Plonait DR, Axell T, van der Waal I. Interobserver and intraobserver variability in the clinical assessment of oral lichen planus. *J Oral Pathol Med* 2002; 31(2): 95-98.
22. Kujan O, Khattab A, Oliver RJ, Roberts SA, Thakker N, Sloan P. Why oral histopathology suffers inter-observer variability on grading oral epithelial dysplasia: an attempt to understand the sources of variation. *Oral Oncol* 2007; 43(3): 224-231.

23. Williams HK. Molecular pathogenesis of oral squamous carcinoma. *Mol Pathol* 2000; 53(4): 165-172.
24. Ha PK, Califano JA. Promoter methylation and inactivation of tumour-suppressor genes in oral squamous-cell carcinoma. *Lancet Oncol* 2006; 7(1): 77-82.
25. Ishida E, Nakamura M, Ikuta M, Shimada K, Matsuyoshi S, Kirita T, et al. Promotor hypermethylation of p14ARF is a key alteration for progression of oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 2005;4 1(6): 614-622.
26. Herceg Z, Hainaut P. Genetic and epigenetic alterations as biomarkers for cancer detection, diagnosis and prognosis. *Mol Oncol* 2007; 1(1): 26-41.
27. Sciubba JJ. Improving detection of precancerous and cancerous oral lesions. Computer-assisted analysis of the oral brush biopsy. U.S. Collaborative OralCDx Study Group. *J Am Dent Assoc* 1999; 130(10): 1445-1457.
28. Christian DC. Computer-assisted analysis of oral brush biopsies at an oral cancer screening program. *J Am Dent Assoc* 2002; 133(3): 357-362.
29. Svirsky JA, Burns JC, Carpenter WM, Cohen DM, Bhattacharyya I, Fantasia JE, et al. Comparison of computer-assisted brush biopsy results with follow up scalpel biopsy and histology. *Gen Dent* 2002; 50(6): 500-503.
30. Scheifele C, Schmidt-Westhausen AM, Dietrich T, Reichart PA. The sensitivity and specificity of the OralCDx technique: evaluation of 103 cases. *Oral Oncol* 2004; 40(8): 824-828.
31. Poate TW, Buchanan JA, Hodgson TA, Speight PM, Barrett AW, Moles DR, et al. An audit of the efficacy of the oral brush biopsy technique in a specialist Oral Medicine unit. *Oral Oncol* 2004; 40(8): 829-834.
32. Onofre MA, Sposto MR, Navarro CM. Reliability of toluidine blue application in the detection of oral epithelial dysplasia and in situ and invasive squamous cell carcinomas. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2001; 91(5): 535-540.
33. Patton LL, Epstein JB, Kerr AR. Adjunctive techniques for oral cancer examination and lesion diagnosis: a systematic review of the literature. *J Am Dent Assoc* 2008; 139(7): 896-905; quiz 93-94.
34. Warnakulasuriya KA, Johnson NW. Sensitivity and specificity of OraScan (R) toluidine blue mouthrinse in the detection of oral cancer and precancer. *J Oral Pathol Med* 1996; 25(3): 97-103.
35. Zhang L, Williams M, Poh CF, Laronde D, Epstein JB, Durham S, et al. Toluidine blue staining identifies high-risk primary oral premalignant lesions with poor outcome. *Cancer Res* 2005; 65(17): 8017-8021.
36. Guo Z, Yamaguchi K, Sanchez-Cespedes M, Westra WH, Koch WM, Sidransky D. Allelic losses in OraTest-directed biopsies of patients with prior upper aerodigestive tract malignancy. *Clin Cancer Res* 2001; 7(7): 1963-1968.



37. Epstein JB, Zhang L, Poh C, Nakamura H, Berean K, Rosin M. Increased allelic loss in toluidine blue-positive oral premalignant lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003; 95(1): 45-50.
38. Dubuc J, Legoux JL, Winnock M, Seyrig JA, Barbier JP, Barrioz T, et al. Endoscopic screening for esophageal squamous-cell carcinoma in high-risk patients: a prospective study conducted in 62 French endoscopy centers. *Endoscopy* 2006; 38(7): 690-695.
39. Moschler O, Spahn TW, Middelberg-Bisping C, Grosse-Thie W, Christoph B, Kloeppe G, et al. Chromoendoscopy is a valuable tool for screening of high-risk patients with head and neck cancer for early detection of esophageal cancer. *Digestion* 2006; 73(2-3): 160-166.
40. El-Shalakany AH, Saeed MM, Abdel-Aal MR, El-Nakeeb AH, Noseirat N, Ayyad SB, et al. Direct visual inspection of the cervix with Lugol iodine for the detection of premalignant lesions. *J Low Genit Tract Dis* 2008; 12(3): 193-198.
41. Onizawa K, Okamura N, Saginoya H, Yoshida H. Characterization of autofluorescence in oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 2003; 39(2): 150-156.
42. Qureshi S, Das V, Zahra F. Evaluation of visual inspection with acetic acid and Lugol's iodine as cervical cancer screening tools in a low-resource setting. *Trop Doct* 1998; 40(1): 9-12.
43. Sangwa-Lugoma G, Mahmud S, Nasr SH, Liaras J, Kayembe PK, Tozin RR, et al. Visual inspection as a cervical cancer screening method in a primary health care setting in Africa. *Int J Cancer* 2006; 119(6): 1389-1395.
44. Maeda K, Suzuki T, Ooyama Y, Nakakuki K, Yamashiro M, Okada N, et al. Colorimetric analysis of unstained lesions surrounding oral squamous cell carcinomas and oral potentially malignant disorders using iodine. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2008; 39(5): 486-92.
45. Roblyer D, Kurachi C, Stepanek V, Williams MD, El-Naggar AK, Lee JJ, et al. Objective detection and delineation of oral neoplasia using autofluorescence imaging. *Cancer Prev Res (Phila)* 2009; 2(5): 423-431.
46. Poh CF, MacAulay CE, Zhang L, Rosin MP. Tracing the "at-risk" oral mucosa field with autofluorescence: steps toward clinical impact. *Cancer Prev Res (Phila)* 2009; 2(5): 401-404.
47. Svistun E, Alizadeh-Naderi R, El-Naggar A, Jacob R, Gillenwater A, Richards-Kortum R. Vision enhancement system for detection of oral cavity neoplasia based on autofluorescence. *Head Neck* 2004; 26(3): 205-215.
48. Poh CF, Ng SP, Williams PM, Zhang L, Laronde DM, Lane P, et al. Direct fluorescence visualization of clinically occult high-risk oral premalignant disease using a simple hand-held device. *Head Neck* 2007; 29(1): 71-76.
49. Poh CF, Zhang L, Anderson DW, Durham JS, Williams PM, Priddy RW, et al. Fluorescence visualization detection of field alterations in tumor margins of oral cancer patients. *Clin Cancer Res* 2006; 12(22): 6716-22.
50. De Veld DC, Witjes MJ, Sterenberg HJ, Roodenburg JL. The status of in vivo autofluorescence spectroscopy and imaging for oral oncology. *Oral Oncol* 2005; 41(2): 117-31.

51. Lane PM, Gilhuly T, Whitehead P, Zeng H, Poh CF, Ng S, et al. Simple device for the direct visualization of oral-cavity tissue fluorescence. *J Biomed Opt* 2006; 11(2): 024006.
52. Epstein JB, Sciubba J, Silverman S, Jr., Sroussi HY. Utility of toluidine blue in oral premalignant lesions and squamous cell carcinoma: continuing research and implications for clinical practice. *Head Neck* 2007; 29(10): 948-958.
53. Epstein JB, Scully C, Spinelli J. Toluidine blue and Lugol's iodine application in the assessment of oral malignant disease and lesions at risk of malignancy. *J Oral Pathol Med* 1992; 21(4): 160-3.
54. Epstein JB, Oakley C, Millner A, Emerton S, van der Meij E, Le N. The utility of toluidine blue application as a diagnostic aid in patients previously treated for upper oropharyngeal carcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1997; 83(5): 537-47.
55. Missmann M, Jank S, Laimer K, Gassner R. A reason for the use of toluidine blue staining in the presurgical management of patients with oral squamous cell carcinomas. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 102(6): 741-743.
56. Onofre MA, Sposto MR, Navarro CM. Reliability of toluidine blue application in the detection of oral epithelial dysplasia and in situ and invasive squamous cell carcinomas. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2001; 91(5): 535-540.
57. Patton LL, Epstein JB, Kerr AR. Adjunctive techniques for oral cancer examination and lesion diagnosis: a systematic review of the literature. *J Am Dent Assoc* 2008; 139(7): 896-905; quiz 93-94.
58. Warnakulasuriya KA, Johnson NW. Sensitivity and specificity of OraScan (R) toluidine blue mouthrinse in the detection of oral cancer and precancer. *J Oral Pathol Med* 1996; 25(3): 97-103.
59. Mashberg A. Reevaluation of toluidine blue application as a diagnostic adjunct in the detection of asymptomatic oral squamous carcinoma: a continuing prospective study of oral cancer III. *Cancer* 1980; 46(4): 758-763.
60. Mashberg A. Tolonium (toluidine blue) rinse-a screening method for recognition of squamous carcinoma. Continuing study of oral cancer IV. *Jama* 1981; 245(23): 2408-2410.
61. Epstein JB, Silverman S, Jr., Epstein JD, Lonky SA, Bride MA. Analysis of oral lesion biopsies identified and evaluated by visual examination, chemiluminescence and toluidine blue. *Oral Oncol* 2008; 44(6): 538-544.
62. Epstein JB, Zhang L, Rosin M. Advances in the diagnosis of oral premalignant and malignant lesions. *J Can Dent Assoc* 2002; 68(10): 617-621.
63. Farah CS, McCullough MJ. A pilot case control study on the efficacy of acetic acid wash and chemiluminescent illumination (ViziLite) in the visualisation of oral mucosal white lesions. *Oral Oncol* 2007; 43(8): 820-824.
64. Ram S, Siar CH. Chemiluminescence as a diagnostic aid in the detection of oral cancer and potentially malignant epithelial lesions. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2005; 34(5): 521-527.

**ติดต่อบทความ:**

รศ.ทพ.ดร.สรลันท์ รังลิยานนท์

ภาควิชาศัลยศาสตร์และเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันต

แพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ถนนสุขุมวิท 23 แขวงคลองเตยเหนือ เขตวัฒนา

กรุงเทพมหานคร 10110

โทรศัพท์ 02-649-5000 ต่อ 15818

จดหมายอิเล็กทรอนิกส์ peted2000@hotmail.com

**Corresponding author:**

Associate Professor Dr. Sorasun Rungsiyanont

Department of Oral Surgery & Oral Medicine,

Faculty of Dentistry, Srinakarinwirot University,

Sukhumvit 23, Wattana, Bangkok, 10110

Thailand

Tel: 02-649-5000 ext 15818

E-mail: peted2000@hotmail.com