



ก.

ชื่อเรื่อง : การติดสีโทลูอิดิน บลู ในรอยโรคที่ขึ้นเกิดมะเร็งและมะเร็งช่องปาก

ชื่อผู้เขียน : (1) สุพิศ จึงพาณิชย์ วท.บ., ท.บ., ป.บัณฑิต (พยาธิวิทยา)

M. med. Sc. (Oral Pathology)

ตำแหน่ง : ผู้ช่วยศาสตราจารย์

ภาควิชาโสตจักษุวิทยา

คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา 90110

โทร (074) 211030 ต่อ 2545 โทรสาร (074) 212922

(2) พัชร กัมพลานนท์ วท.บ., ท.บ., Training in Oral Surgery

ตำแหน่ง : ทันตแพทย์ ระดับ 8

กลุ่มงานทันตกรรม โรงพยาบาลหาดใหญ่

อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา 90110

(3) ชัยฤกษ์ จุฑากิตติ ท.บ.

ตำแหน่ง : ทันตแพทย์ระดับ 5

กลุ่มงานทันตกรรม โรงพยาบาลตรัง

อ. เมือง จ. ตรัง 92000

(4) นายกรัสนาย หวังรังสิมากุล วท.บ, ท.บ., F.F.D., RC.S. (Irel) in Oral and

Maxillo-facial Surgery

ตำแหน่ง : อาจารย์ ระดับ 8

ภาควิชาศัลยศาสตร์

คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา 90110

แหล่งเงินทุน : สภาวิจัยแห่งชาติ

เลขที่ RC280.๓๖ ๖๖ ๒๕๓๙

เลขทะเบียน B. 1

๓๑.๓.๒๕๔๐

Order Key..... 10713

BIB Key..... 119711

๒๐๖/๔ ๕๒ ช่องปาก ๕๔ มะเร็ง ๕๕ กรณีศึกษา ๕๖ วิจัย

## **Title : The application of toluidine blue staining in oral precancer and cancer**

Authors : (1) SUPIS CHUNGPANICH BSc., D.D.S., Grad. Dip in Clin. Sc  
(Pathology), M. Med. Sc (Oral Pathology).

Position : Assistant professor  
Department of Stomatology  
Faculty of Dentistry, Prince of Songkla University  
Hatyai , Songkla 90110  
Tel (074) 211030 Ext 2545, Fax (074) 212922

(2) PATCHAREE KUMPLANONTA B.Sc., D.D.S. Training in Oral Surgery

Position : Oral Surgeon  
Department of Dentistry, Hatyai Regional Hospital  
Hatyai, Songkla 90110

(3) CHAILERK JUTHAKITTI D.D.S.

Position : Oral Surgeon  
Department of Dentistry, Trang Hospital  
Amphur Muang, Trang. 92000

(4) KRASSANAI WANGRANGSIMAKUL Bsc., D.D.S., F.F.D.,R.C.S (Irel)

in Oral and Maxillo-facial Surgery

Position : Lecturer  
Department of Surgery,  
Faculty of Dentistry, Prince of Songkla University,  
Hatyai, Songkl 90110

GRANT : National Research Council

## การติดสีโทลูอิดิน บลู ในรอยโรคก่อนเกิดมะเร็งและมะเร็งช่องปาก

### บทคัดย่อ

โทลูอิดิน บลู ที่เป็นสีย้อมเนื้อเยื่อหรืออวัยวะยังชีพ ที่มีการนำมาใช้ตรวจหารอย

โรคมะเร็งในช่องปาก การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อประเมินการใช้สีโทลูอิดิน บลู ในการ

ตรวจหารอยโรคก่อนเกิดมะเร็ง หรือรอยโรคมะเร็งในช่องปาก ผู้ป่วยที่ศึกษาทั้งหมด ๓๑ ราย

เป็นผู้ป่วยที่มีรอยโรคในช่องปากซึ่งปรากฏลักษณะทางคลินิกสงสัยว่าเป็นรอยโรคก่อนเกิดมะเร็ง

ชนิดที่เรียกว่า ดิสเพลเซีย หรือ รอยโรคมะเร็ง ผู้วิจัยได้ศึกษาเปรียบเทียบระหว่างผลการติดสี

โทลูอิดิน บลู กับ ผลการวินิจฉัยโรคทางจุลพยาธิวิทยาของรอยโรค ผลการศึกษาพบว่ารอยโรค

มะเร็งในผู้ป่วยทั้งหมด ๙ ราย พบการติดสี (ผลบวก) ในขณะที่รอยโรคดิสเพลเซียใน ผู้ป่วยทั้ง

๒ รายไม่พบการติดสี (ผลลบ) แสดงว่าการติดสีในรอยโรคก่อนเกิดมะเร็งและรอยโรคมะเร็งมี

อัตราผลลบปลอมหรือการวินิจฉัยโรคผิดต่ำกว่าที่เป็นจริงอยู่ร้อยละ ๑๘ กลุ่มรอยโรคเนื้อไม่ร้าย

๑ ใน ๒๐ รายพบว่ามี การติดสี (ผลบวก) ซึ่งหมายความว่า มีอัตราผลบวกปลอม หรือ การวินิจฉัย

โรคผิดเกินกว่าที่เป็นจริงอยู่ร้อยละ ๕ ถึงแม้ว่าสีโทลูอิดิน บลู อาจจะช่วยสาธิต บริเวณรอยโรค

มะเร็งได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่ผลการติดสีของรอยโรคดิสเพลเซียยังให้ผลไม่แน่นอน

# The application of toluidine blue staining in oral precancer and cancer

## Abstract

Toluidine blue, a vital dye, has been used to detect malignant change of the oral cavity. This study was carried out to evaluate toluidine blue application in identifying oral precancer or cancer. Thirty - one patients clinically suspected of being oral dysplasia or malignancy were studied by comparing toluidine blue staining reactions with histopathological diagnoses. All 9 carcinomas were stain - positive whereas 2 dysplastic lesions were stain - negative. There was a false negative rate (underdiagnosis) of 18 % in the dysplastic and malignant lesions. One of 20 non - malignant lesions was stain - positive , giving a false positive rate (overdiagnosis) of 5 %. Although the toluidine blue staining can be successfully applied to delineate areas of the oral carcinomas, staining in the dysplastic lesion is still questionable.

key words : Toluidine blue staining , Oral precancer , Oral cancer.

## บทนำ

โทลูอิดิน บลู (Toluidine blue) เป็นสีชนิดที่ติดสีต่างกันด้วยสีย้อมเดียวกันของกลุ่ม

ไรอะซิน (metachromatic dye of the thiazine group) ซึ่งใช้ย้อมกรดนิวคลีอิกของเซลล์ใน

กาย (in vivo) ได้ทั้ง DNA และ RNA โดยปกติเชื่อว่าเซลล์ที่มีการเจริญผิดปกติและ / หรือเซลล์

ที่มีการเปลี่ยนแปลงกลายเป็นเซลล์มะเร็ง (dysplastic and / or anaplastic cells) อาจพบมี

กรดนิวคลีอิกมากกว่าเซลล์ปกติ ปี คศ. ๑๙๖๓ Richart <sup>(๑)</sup> ศึกษาผู้ป่วยเนื้องอกของเยื่อเมือก

ปากมดลูก (cervical intraepithelial neoplasms) ๒๐๐ ราย โดยการย้อมสีโทลูอิดินบลู บริเวณ

รอยโรคและพบว่ามากกว่าร้อยละ ๙๕ ของผู้ป่วยเนื้องอกเยื่อเมือกปากมดลูกซึ่งได้รับการตรวจ

ด้วยกล้องโคลโปสโคปี (colposcopy) ให้ผลบวกเมื่อย้อมด้วยสีโทลูอิดิน บลู ปี คศ ๑๙๖๔ Niebel

and Chomet <sup>(๒)</sup> ได้ทดสอบการติดสีโทลูอิดิน บลู ด้วยวิธีเดียวกันในผู้ป่วยที่มีรอยโรคในช่อง

ปาก (intraoral lesions) และสรุปว่า การย้อมสีโทลูอิดิน บลู ช่วยในการตรวจเนื้องอกของเยื่อ

เมือกช่องปาก รวมทั้งการตรวจหาตำแหน่งของรอยโรคตลอดจนการลุกลามของรอยโรค

รอยโรคในช่องปากที่มีลักษณะทางคลินิกพบเป็นรอยฝ้าขาว (leukoplakia) หรือ

รอยถลอกแดง (erythroplakia) หรือรอยฝ้าขาวสลับรอยถลอกแดง (leukoerythroplakia) นั้น

เมื่อตรวจดูทางจุลพยาธิวิทยา (histopathology) รอยโรคพวกนี้อาจพบการเปลี่ยนแปลงของ

เซลล์ในชั้นเยื่อบุผิว (epithelium) ได้หลายระดับ เช่น อาจพบเฉพาะมีการหนาตัวของชั้นเคอราติน

น (keratin) ซึ่งเรียกว่า บีไนน์ ไฮเพอเคอราโทซิส (benign hyperkeratosis) หรืออาจพบการ

เจริญผิดปกติของเซลล์ในชั้นเยื่อผิว ที่เรียกว่า เอพิทีเลียล ดิสเพลเซีย (epithelial dysplasia) ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มรอยโรคก่อนเกิดมะเร็งและมีโอกาสกลายเป็นมะเร็งภายหลังได้สูง หรืออาจพบได้แม้กระทั่งเป็นมะเร็งสความัส เซลล์ (squamous cell carcinoma) รอยโรคกลุ่มดังกล่าวข้างต้นวินิจฉัยแยกโรคทางคลินิกได้ยาก การย้อมสีโทลูอิดิน บลู เป็นวิธีหนึ่งที่จะช่วยการตรวจแยกโรคทางคลินิกได้

รายงานนี้เป็นการศึกษาการติดสีโทลูอิดิน บลู ของรอยโรคที่มีลักษณะทางคลินิก

วินิจฉัยแยกโรคได้ยากระหว่างรอยโรคที่ไม่ใช่เนื้อร้าย (benign lesions) กับรอยโรคมะเร็ง

(malignant lesions) โดยจะศึกษาเปรียบเทียบระหว่างผลการติดสีโทลูอิดิน บลู กับ ผลการ

วินิจฉัยโรคทางจุลพยาธิวิทยา

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

ตัวอย่างผู้ป่วย

กลุ่มตัวอย่างได้จากผู้ป่วยที่มารับการรักษาที่โรงพยาบาลทันตกรรม คณะทันตแพทย

ศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และโรงพยาบาลหาดใหญ่ อ.หาดใหญ่ จ. สงขลา ด้วย

อาการมีรอยโรคหรือความผิดปกติของเยื่อเมือกช่องปากซึ่งเมื่อได้รับการตรวจแล้วสงสัยว่าจะ

เป็นมะเร็งช่องปากหรือรอยโรคก่อนเกิดมะเร็ง (precancerous lesions) รวมทั้งผลเรื้อรังที่ไม่

หายภายใน ๒ อาทิตย์ ผู้ป่วยทุกรายจะได้รับการตรวจในช่องปากอย่างละเอียดพร้อมทั้งบันทึก

ประวัติการเป็นโรคที่เกี่ยวข้องกับรอยโรคในช่องปาก และ ลักษณะทางพยาธิสภาพของรอยโรค  
อย่างละเอียดก่อนทำการศึกษา

### การเตรียมสีโทลูอิดิน บลู

สีโทลูอิดิน บลู ที่ใช้สำหรับย้อมประกอบด้วยสารละลาย 2 ชนิด คือ

(1) ๑% Toluidine blue solution เตรียมโดยละลายสารโทลูอิดิน บลู ๑ กรัม ในน้ำกลั่น  
๘๖ มิลลิลิตร แล้วเติม absolute alcohol ๔ มิลลิลิตร และ acetic acid ๑๐ มิลลิลิตร จากนั้นปรับ  
สารละลายให้มี pH ๔.๕ โดยใช้ NaOH กรองสารละลายด้วยกระดาษกรองเบอร์ ๑ เก็บสาร  
ละลายในขวดสีชา

(2) ๑% Acetic acid เตรียมโดยเติม acetic acid ๑๐ มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น ๙๙๐ มิลลิ  
ลิตร

### วิธีการย้อมสี

วิธีการย้อมสีมีขั้นตอนดังนี้ คือ ขั้นแรกให้ผู้ป่วยบ้วนปากด้วยน้ำสะอาดชับน้ำ  
ลายบริเวณรอยโรคให้แห้ง ใช้สำลีชุบ ๑ % acetic acid ทาบบริเวณรอยโรคและข้างเคียงเพื่อ  
ขจัดคราบมิวซิน (mucin) ในน้ำลาย ทิ้งไว้ประมาณ ๒๐ วินาที แล้วล้างกรดออกด้วยน้ำสะอาด  
หรือให้ผู้ป่วยบ้วนปากแล้วซับให้แห้ง ขั้นที่สองใช้สำลีชุบ ๑% toluidine blue solution ทาบ  
บริเวณรอยโรคและข้างเคียงทิ้งไว้ประมาณ ๒๐ วินาทีแล้วล้างด้วยน้ำสะอาดหรือบ้วนปากและซับ  
ให้แห้ง ขั้นที่สามใช้สำลีชุบ ๑% acetic acid ทาบบริเวณรอยโรคอีกครั้งเพื่อขจัดสีที่เกินออก

(decolorize) ประมาณ ๒๐ วินาที ล้างด้วยน้ำสะอาดหรือบ้วนปาก ขั้นที่สี่บันทึกการติดสี

บริเวณรอยโรคพร้อมทั้งถ่ายภาพไว้ ขั้นสุดท้ายตัดชิ้นเนื้อตรวจ (biopsy) ต้องชิ้นเนื้อในน้ำ

ยาบัพเฟอร์ฟอมาริน ๑๐% และส่งไปยังห้องปฏิบัติการจุลพยาธิวิทยาเพื่อตัดทำสไลด์ชิ้นเนื้อและ

ย้อมด้วยสีฮีมาทอกซิลินและอีโอซิน.

### การแปลผลการติดสี

การแปลผลการติดสี จะให้คะแนนผลบวก (+) หรือหมายถึงการติดสี เมื่อ

บริเวณรอยโรค หรือส่วนหนึ่งส่วนใดของรอยโรคมีการติดสีน้ำเงินสด (royal blue) เท่านั้น ซึ่ง

หมายถึงบริเวณนั้นจะมีกลุ่มเซลล์มะเร็งอยู่ และจะให้คะแนนผลลบ (-) เมื่อไม่มีการติดสี ใน

กรณีที่มีการติดสีฟ้าจาง ๆ หรือ สีน้ำเงินดำเข้ม หรือสีดำ ก็จะให้คะแนนเป็นผลบวกและลบ

(+/-) ซึ่งหมายถึงรอยโรคพวกนี้ไม่แน่นอน คลุ่มเครือ

### ผลการศึกษา

จำนวนผู้ป่วยทั้งหมดที่นำมาศึกษา ๓๑ ราย ช่วงอายุระหว่าง ๒๒-๘๒ ปี อายุ

เฉลี่ย ๕๖ปี เป็นผู้ชาย ๑๕ รายและผู้หญิง ๑๖ ราย ลักษณะปรากฏทางคลินิกรวมทั้งตำแหน่ง

ของรอยโรค ดังรายละเอียดในตารางที่ ๑ สำหรับตารางที่ ๒ แสดงผลการวินิจฉัยโรคทางจุล

พยาธิวิทยาเปรียบเทียบกับผลการติดสีโทลูอิดิน บลู ซึ่งพบว่า บีไนท์ ไฮเพอเคอราโทซิส ( ๖ ราย

) และ เอพพิทีเลียล ดิสเพลเซีย (๒ ราย) ไม่ติดสี (รูปที่ ๑) โลเคน เพลนัส หรือโลเคนนอยด์( ๑๓

ราย ) พบว่าไม่ติดสี ๑๐ ราย (รูปที่ ๒) และติดสีจาง ๆ ๓ ราย (รูปที่ ๓) คาร์ซิโนมา อิน ซิทิว



(carcinoma in situ) ( ๑ ราย) และ มะเร็งสความัส เซลล์ ( ๘ ราย ) ติดสื่อน้ำเงินสดเป็นบาง

ตำแหน่ง ( รูปที่ ๔,๕ และ ๖) แผลอักเสบเรื้อรัง (chronic non-specific ulceration) ( ๑ ราย )

ติดสื่อน้ำเงินสดบริเวณตรงกลางแผลซึ่งเป็นเนื้อตาย ( รูปที่ ๗)

ตารางที่ ๑. ลักษณะทางคลินิกของรอยโรคในช่องปาก ๓๑ ราย

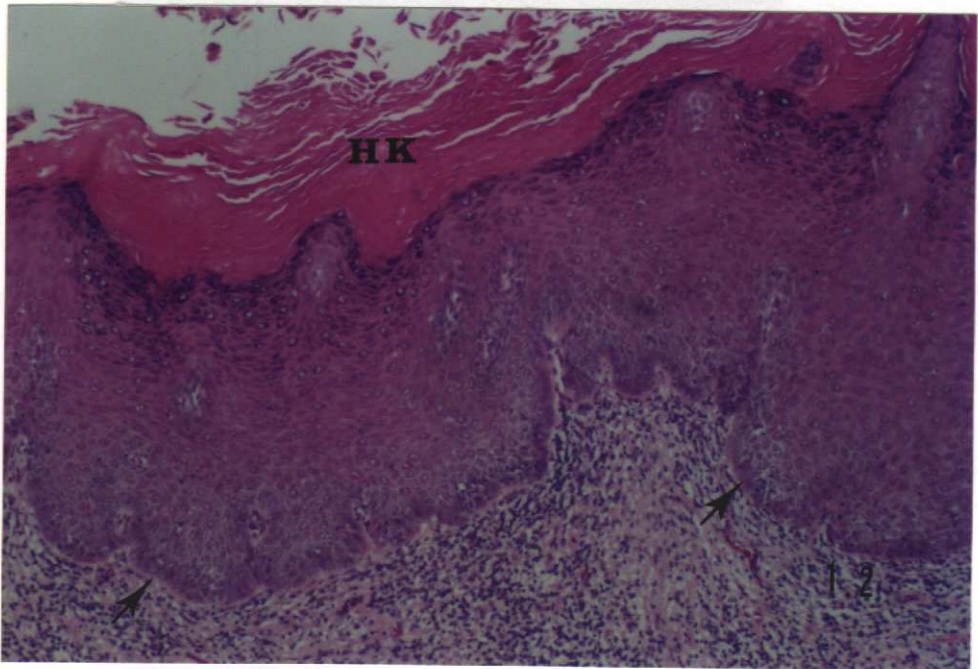
( Clinical findings in 31 cases of oral lesions )

	จำนวน ( No. )
Clinical presentation	
Leukoplakia	9 (29 %)
White striated	5 (16 %)
Leukoerythroplakia	7 (23 %)
Ulceration	13 (42 %)
Induration	6 (19 %)
Location	
Buccal mucosa	11 (36 %)
Lower gingiva	6 (19 %)
Upper gingiva	4 (13 %)
Palate	4 (13 %)
Tongue	4 (13 %)
Floor of mouth	1 (13 %)
Lower lip	1 (13%)

ตารางที่ ๒ ผลการวินิจฉัยโรคทางพยาธิวิทยาและการติดสีโทลูอิดิน บลู ของรอยโรคในช่องปาก ๓๑ ราย

( Pathological diagnosis and Toluidine blue staining in 31 cases of oral lesions)

ผลการวินิจฉัยโรคทางจุลพยาธิวิทยา (Histopathological diagnosis)	จำนวนทั้งหมด (No.)	ผลการติดสีโทลูอิดิน บลู (Toluidine blue uptake)		
		+	-	+/-
Benign hyperkeratosis	6	-	6	-
Lichen planus or lichenoid lesion	13	-	10	3
Slight epithelial dysplasia	2	-	2	-
Carcinoma in situ	1	1	-	-
Squamous cell carcinoma	8	8	-	-
Chronic non-specific ulceration	1	1	-	-
Total	31	10	18	3

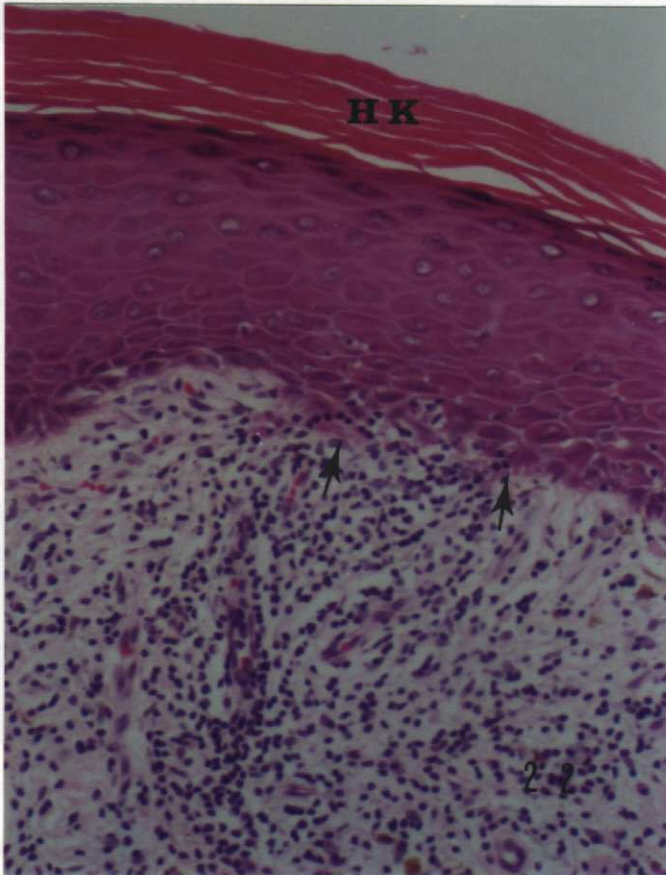


รูปที่ ๑. รอยโรคเอพิทีเลียล ดิสเพลเซีย ในผู้ป่วยชายไทยอายุ ๗๒ ปี. ๑.๑ ย้อมไม่ติดสี (-).

๑.๒. ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา ประกอบด้วยไฮเพอเคอราโทซิส (เอชเค) , การขยายของริทริดจเป็นรูปหยดน้ำ (ศรชี้) และกลุ่มเซลล์เจริญเติบโตไม่เต็มที่ ( H & E x 40 )

Fig. 1 Epithelial dysplasia in a 72 - year - old Thai male. 1.1. Negative stain (-).

1.2. Histological features include hyperkeratosis (HK), drop - shaped rete ridges (arrows) and loss of maturation. ( H & E x 40 )



รูปที่ ๒

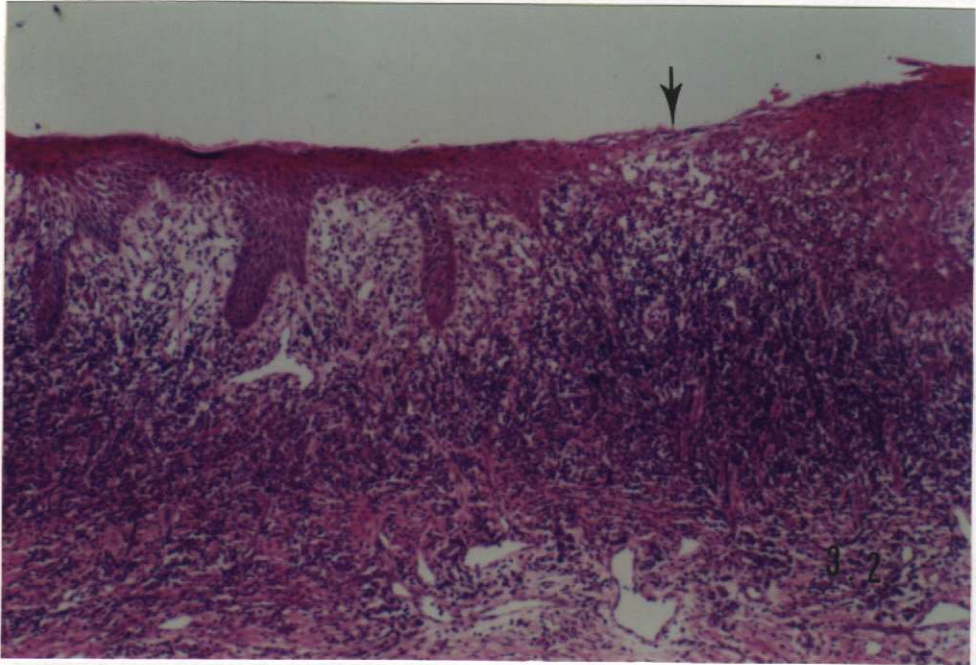
รอยโรคไลเคนนอยด์ ในผู้ป่วยชายไทยอายุ ๕๖ ปี. ซึ่งมีประวัติเป็นเบาหวาน.

๒.๑. ย้อมไม่ติดสี(-). ๒.๒. ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาประกอบด้วยไฮเพอเคอราไทซิส (เฮชเค) และการเสื่อมหรือถูกทำลายของเซลล์ที่ฐาน (ครซี่) ( H & E x 100 )

Fig 2.

Lichenoid lesion in a 56 - year - old Thai male with a history of diabetes mellitus..

2.1. Negative stain (-). 2.2. Histological features include hyperkeratosis (HK) and basal cell degeneration (arrows) ( H & E x 100 )

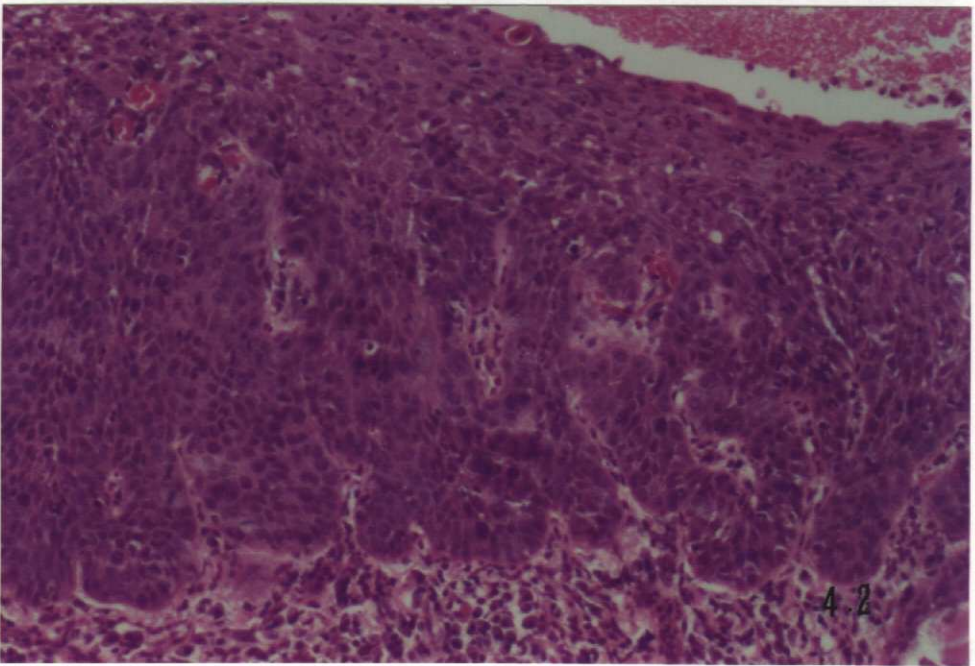
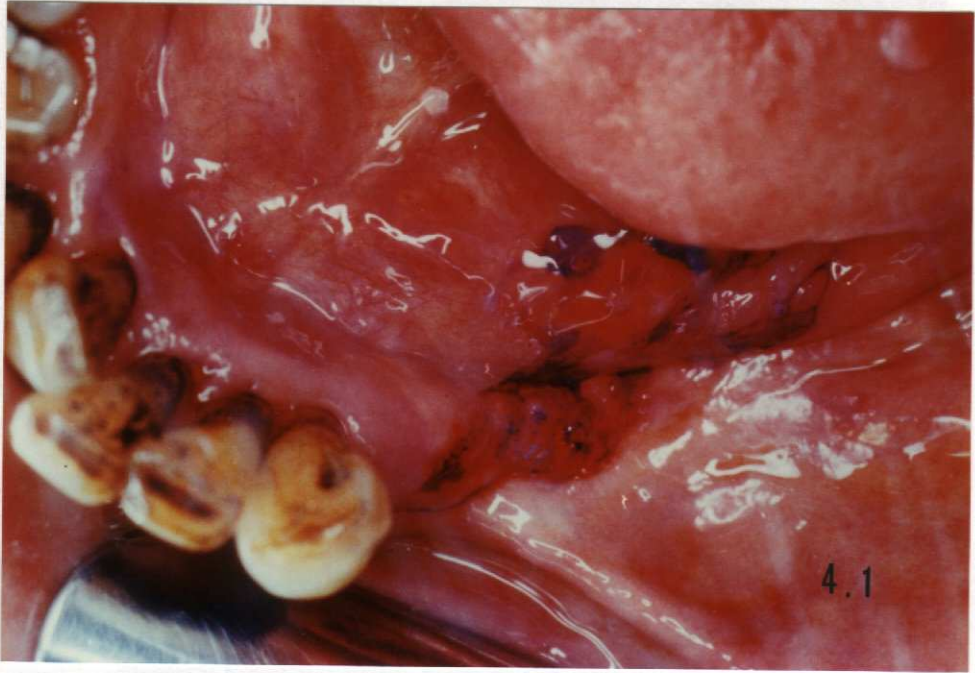


รูปที่ ๓

รอยโรคอีโรซิฟไลเคน เพลนัสในผู้ป่วยชายไทย อายุ ๖๓ ปี. ๓.๑. ย้อมติดสีไม่แน่นอน (+/-) -- ติดสีดำบริเวณที่เยื่อเมือถูกทำลายหรือฉีกขาด ๓.๒. ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา ประกอบด้วยเยื่อเมือที่มีริตจ ริดจ คล้ายฟันเลื่อยและแถบเซลล์อักเสบแทรกอยู่ในเยื่อเส้นใย บางตำแหน่งของเยื่อเมือถูกทำลายหรือฉีกขาด (ศรชี้) ( H & E x 40 )

Fig 3.

Erosive lichen planus in a 63 - year - old Thai male. 3.1 Equivocal stain (+/-) --Black stains in eroded areas 3.2 Histological features include saw- tooth rete ridges and a band - like inflammatory infiltrate. The epithelium has been destroyed in some places (arrow) ( H & E x 40 )

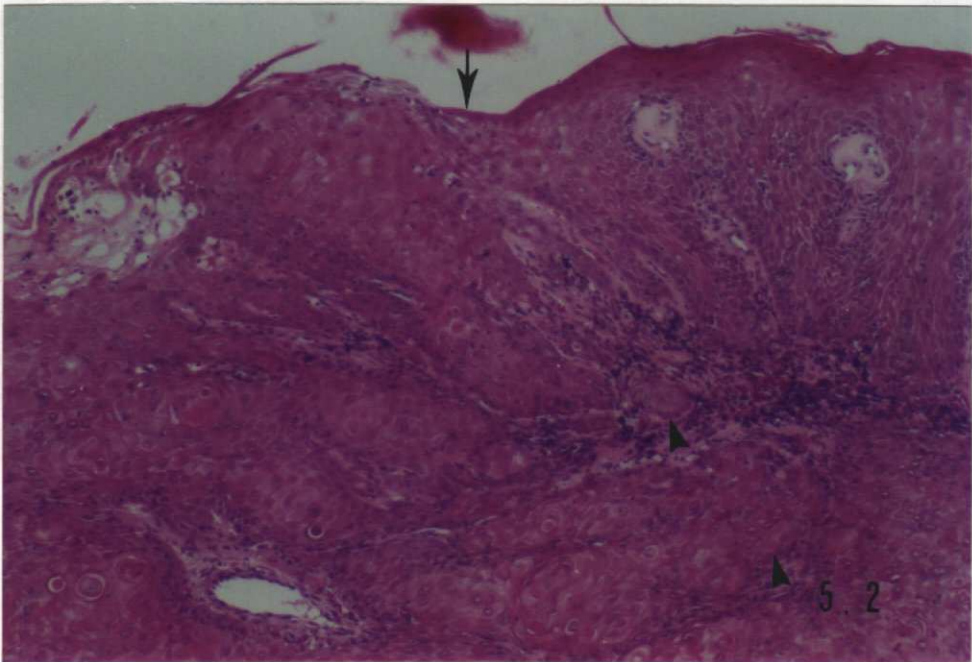
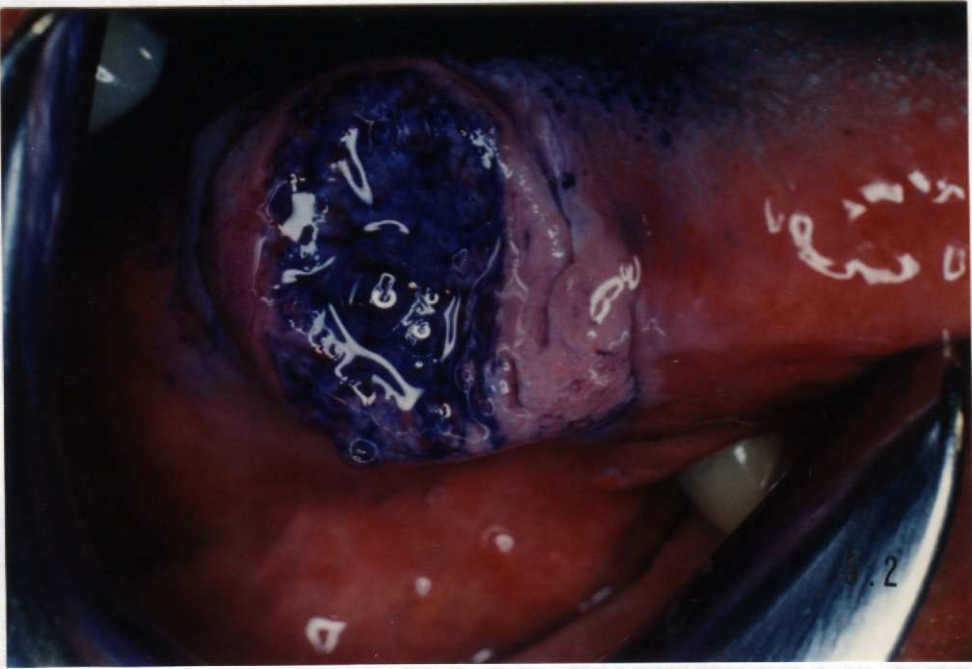


รูปที่ ๔

คาร์ซิโนมา อิน ซิติว ในผู้ป่วยหญิงไทย อายุ ๗๑ ปี. ๔.๑. ย้อมติดสี (+) -ติดสีน้ำเงิน สดจางและเข้มเป็นหย่อม ๆ ๔.๒. ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา ประกอบด้วยเซลล์ที่มีการเจริญเติบโตไม่เต็มที่ตลอดความหนาของชั้นเอพิทีเลียม ( H & E x 100 )

Fig 4.

Carcinoma in situ in a 71 - year - old Thai female. 4.1 Positive stain (+) -Pale to deep royal blue stains with stippled appearance. 4.2. Histological features include a lack of maturation throughout the full thickness of the epithelium. ( H & E x 100 )



รูปที่ ๕.

มะเร็งที่ลิ้นของผู้ป่วยชายไทยอายุ ๖๕ ปี. ๕.๑. ย้อมติดสี (+)

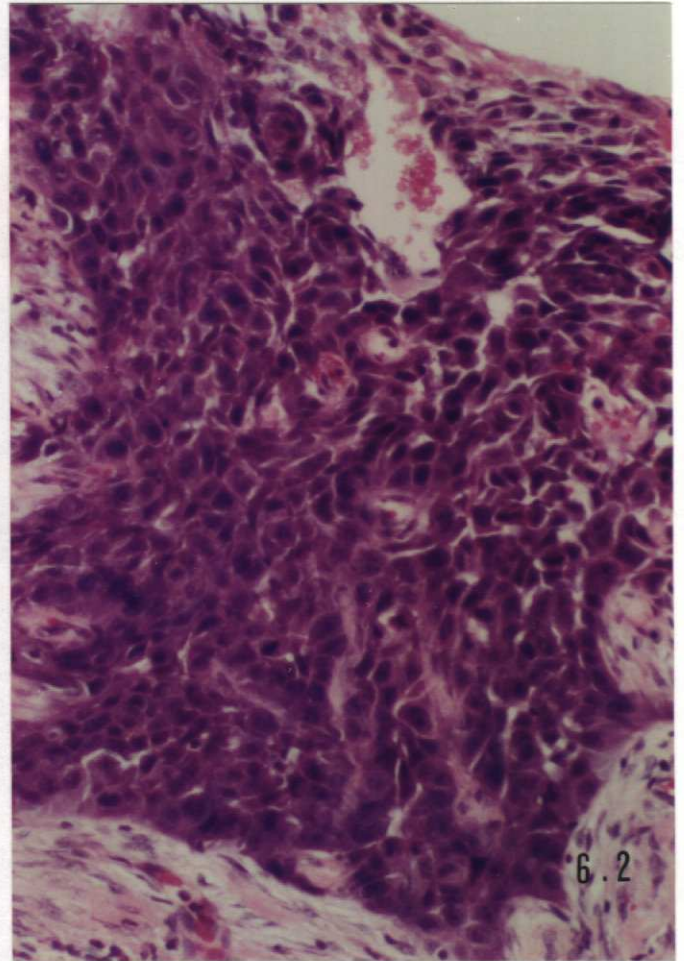
- ติดสีน้ำเงินสดบริเวณที่เซลล์เยื่อเมือกกลายเป็นมะเร็ง ๕.๒. ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา ประกอบด้วย เยื่อเมือกที่ปกติ ซึ่งพบมีการกลายเป็นมะเร็ง (ครี) และกลุ่มเซลล์มะเร็ง แทรกอยู่ในเยื่อเส้นใย (หัวลูกศร) ( H & E x 40 )

Fig. 5.

Carcinoma of tongue in a 65 - year - old Thai male.

5.1 Positive stain (+) --Royal blue stain in areas of malignant change.

5.2. Histological features include normal mucosa which shows malignant transformation (arrow) and islands of well differentiated squamous cell carcinoma scattered in underlying tissue (arrow heads). ( H & E x 40 )



รูปที่ ๖.

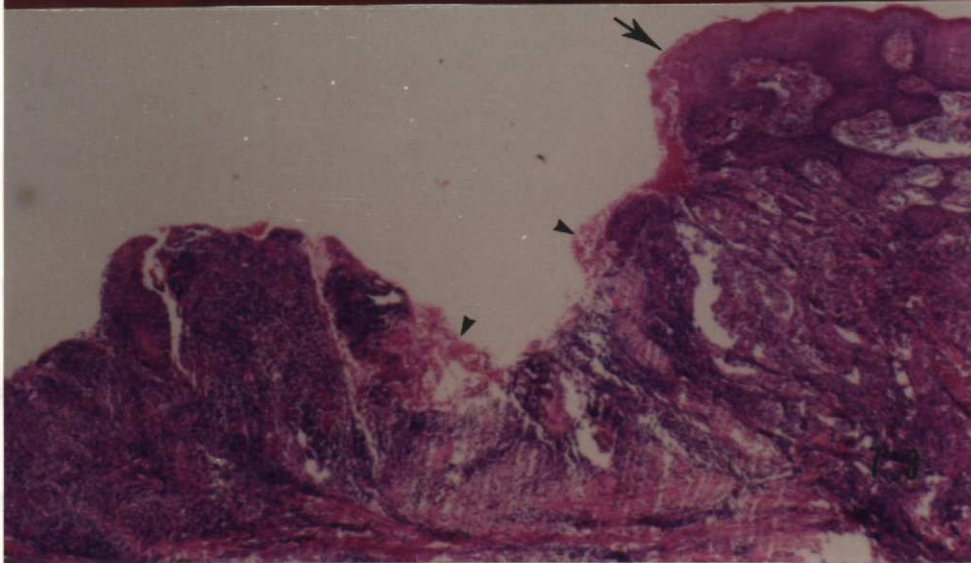
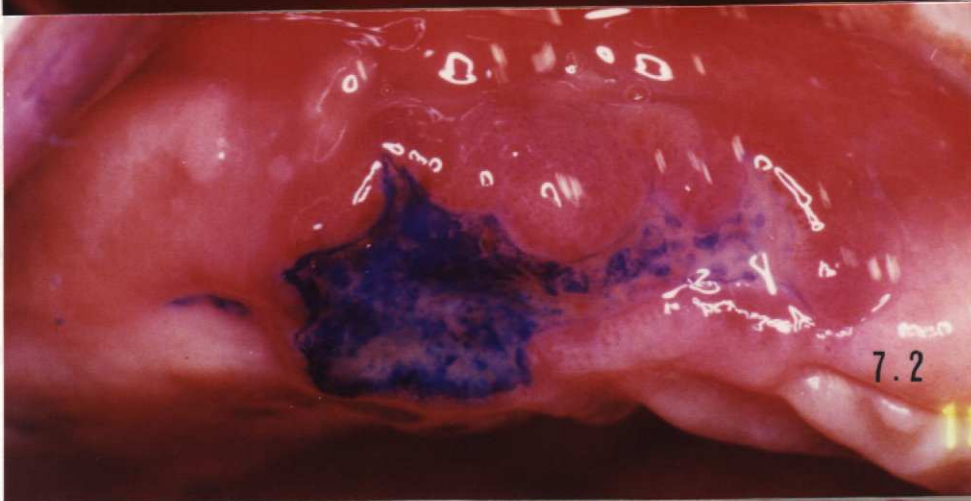
มะเร็งที่กระพุ้งแก้มในผู้ป่วยชายไทยอายุ ๙๒ ปี. ๖.๑. ย้อมติดสี (+) -ติดสีน้ำเงินสดเข้มบางตำแหน่ง ๖.๒. ชิ้นเนื้อตัดจากบริเวณที่ติดสีพบเป็นมะเร็งสquamous เซลล์ชนิดไร้การปรับตัว ( H & E x 40 )

Fig. 6. Carcinoma of buccal mucosa in a 92 - year - old Thai male.

6.1. Positive stain (+) -Deep royal blue stain.

6.2. Biopsy taken from the dye - retention area shows anaplastic squamous cell carcinoma. ( H & E x 40 )





รูปที่ 7. แผลอักเสบเรื้อรังในผู้ป่วยชายไทยอายุ 52 ปี. ๗.๑. รอยโรคก่อนย้อมสี ๗.๒. รอยโรคหลังย้อมสี. -ติดสีผลบวกปลอมของโทลูอิดีน บลูที่บริเวณเนื้อตาย ๗.๓. ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา พบเยื่อเส้นใยอักเสบซึ่งถูกคลุมบางส่วนด้วยไฮเพอพลาสติก เอพิธีเลียม บางส่วนด้วยเนื้อตาย ( H & E x 20 )

Fig 7. Chronic non - specific ulceration in a 52 - year - old Thai male. 7.1 Pre - and 7.2. post - staining. -- False positive toluidine blue uptake in necrotic area. 7.3. Histology shows inflamed fibrous tissue which is covered partly by hyperplastic epithelium (arrow) and partly by necrotic tissue (arrow heads) ( H & E x 20 )

## วิจารณ์

การติดสีโทลูอิดิน บลู ในเซลล์มะเร็งจะพบเป็นสีน้ำเงินสด (royal blue) และความเข้มของสีมีความสัมพันธ์กับความทึบหรือหนาแน่นของนิวเคลียส เพราะฉะนั้นการติดสีน้ำเงินสดอ่อนหรือเข้มอาจใช้เป็นเครื่องบ่งชี้ภาวะความรุนแรงของเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์มะเร็ง เช่น มะเร็งทั้งชนิดลุกลามและไม่ลุกลาม (invasive carcinoma and carcinoma in situ) จะติดสีน้ำเงินสดเข้ม ส่วนเซลล์ที่มีการเจริญผิดปกติ (dysplastic cells) จะติดสีน้ำเงินสดอ่อน เป็นต้น สำหรับเนื้อเยื่อปกติที่มีการอักเสบเกิดขึ้น จะพบมีการติดสีน้ำเงินดำเข้มหรือม่วงแดง (deep blue - black or purple) หรือดำ<sup>(๑-๒)</sup>

ในการศึกษา รอยโรคก่อนเป็นมะเร็ง (precancerous lesion) ที่นำมาศึกษา คือ เอพิทีเลียล ดิสเพลเซีย (epithelial dysplasia) พบว่าทั้งสองรายย่อยไม่ติดสี (รูปที่ ๑) ทั้งนี้เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของรอยโรคอยู่ในระดับไม่รุนแรงและการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นกับเซลล์ในชั้นล่าง ส่วนเซลล์ชั้นผิวยังเป็นเซลล์ที่ปกติและมีสภาวะไฮเพอเคอราโทซิสร่วมอีกด้วย จากการศึกษาของ Mashberg<sup>(๓)</sup> พบว่าการติดสีของรอยโรคเอพิทีเลียล ดิสเพลเซียไม่แน่นอน บางรายติดสีจาง ๆ หรือบางรายไม่ติดสีเลย การแปรผลการติดสีเปรียบเทียบกับผลการวินิจฉัยโรคจากจุลพยาธิวิทยาของรอยโรคนี้ทำให้ยาก เนื่องจากการวิเคราะห์แบ่งระดับความรุนแรงของรอยโรคนี้ทางด้านจุลพยาธิวิทยายังคลุมเครือไม่ชัดเจน ลักษณะการติดสีของรอยโรคนี้จึงหาข้อสรุปไม่ได้

การติดสีของกลุ่มรอยโรคมะเร็งในการศึกษานี้พบติดสีทั้ง ๔ ราย (รวมคาร์ซีโนมา อินไซต์) ส่วนใหญ่มักจะมีการติดสีเป็นบางตำแหน่ง (รูปที่ ๔,๕ และ ๖) จากการตัดชิ้นเนื้อตรวจพบว่า ตำแหน่งที่ติดสีเป็นตำแหน่งที่เซลล์ชั้นผิวมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นแล้ว ในการศึกษานี้ไม่พบการติดสีชนิดผลลบปลอม (false negative) ซึ่งหมายถึงรอยโรคเป็นมะเร็งแต่ไม่ติดสีตามที่มีรายงานมา<sup>(๓,๔,๕)</sup> พบว่าการติดสีของรอยโรคมะเร็งที่ให้ผลลบปลอมมีประมาณร้อยละ

๒ - ๗

กลุ่มรอยโรคไลเคน เพลนัส ในการศึกษานี้มีทั้งหมด ๑๓ ราย พบว่าไม่ติดสี ๑๐ ราย (ร้อยละ ๗๗) และพบติดสีจาง ๆ กลุ่มเครือ (ผลบวก / ผลลบ) (รูปที่ ๓) จำนวน ๓ ราย (ร้อยละ ๒๓) ผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาทั้ง ๓ ราย พบว่า เยื่อบุผิวบางและหลุดหายไปบางตำแหน่งร่วมกับมีเซลล์อักเสบแทรกอยู่ ซึ่งเข้าใจว่าเป็นสาเหตุที่ทำให้สีผ่านทะลุเข้าไปได้ ไลเคน เพลนัสหรือไลเคนนอยด์ ทั้ง ๓ รายจัดอยู่ในกลุ่มชนิดอีโรซิฟ (erosive type) สำหรับ ๑๐ รายของรอยโรคไลเคน เพลนัสหรือไลเคนนอยด์ที่ไม่ติดสี (รูปที่ ๒) พบเป็นชนิด นอน - อีโรซิฟ (non - erosive)

การติดสีของรอยโรคหรือแผลที่เกิดจากการอักเสบหรือบาดเจ็บมักพบมีการติดสีโทลูอิดิน บลู คือให้ผลบวก ปรัชการณณ์เช่นนี้ เรียกว่า ผลบวกปลอม (false positive) ซึ่งมีรายงานพบได้สูงถึง ร้อยละ ๙ - ๓๐<sup>(๔,๕)</sup> อย่างไรก็ตาม Mashberg<sup>(๓,๖)</sup> ได้เสนอแนะว่ารอยโรคที่มีการอักเสบร่วมด้วยควรทิ้งไว้ประมาณ ๑๐ - ๑๔ วัน ก่อนที่จะใช้สีโทลูอิดิน บลู ย้อมบนรอย

โรค ทั้งนี้เพื่อรอให้การอักเสบลดลงหรือถูกกำจัดออกไปก่อน ในการศึกษาที่รอยโรคแผล

อักเสบเรื้อรังมีอยู่ ๑ ราย และการติตติเป็นผลบวกปลอม (รูปที่ ๗)

รอยโรคบีไนท์ไฮเพอเคอราโทซิส ซึ่งเป็นรอยโรคที่มีความผิดปกติเกิดขึ้นที่ชั้น

เคอราทินเท่านั้น คือ เนื้อเยื่อในชั้นนี้หนาขึ้น ส่วนเซลล์ในเยื่อบุผิวไม่พบมีการเปลี่ยนแปลง

การติตติของรอยโรคกลุ่มนี้ทั้ง ๖ ราย พบว่าไม่ติตติ

การตรวจหารอยโรคมะเร็งโดยใช้สีโทลูอิดิน บลู นอกจากจะใช้วิธีย้อมสีบน

รอยโรคแล้ว ยังอาจใช้วิธีบ้วนปากด้วยน้ำยาโทลูอิดิน บลู จากการศึกษาเปรียบเทียบทั้งสองวิธี

<sup>(๖)</sup> พบว่าการใช้วิธีย้อมสีจะก่อให้เกิดผลบวกปลอมสูงกว่าวิธีบ้วนปาก ในขณะที่เดียวกันผลลบ

ปลอมจะพบในรายที่ใช้วิธีบ้วนปากสูงกว่าวิธีย้อม จากรายงาน <sup>(๗)</sup> ที่ศึกษาการใช้น้ำยาบ้วน

ปากโทลูอิดิน บลู (หรือ OraScan) ซึ่งมีจำหน่ายในตลาดยอมรับว่าสามารถใช้ตรวจหารอยโรค

มะเร็งได้อย่างมีประสิทธิภาพ สำหรับรอยโรคดิสเพลเซีย อาจให้ผลลบปลอมสูงถึงร้อยละ ๒๐.๕

การย้อมด้วยสีโทลูอิดิน บลู อาจใช้ตรวจหาขอบของรอยโรคมะเร็ง หรือ ตรวจหารอยโรคมะเร็งที่

เหลือค้างอยู่หลังผ่าตัด หรือตรวจหารอยโรคมะเร็งที่เกิดขึ้นใหม่โดยเฉพาะในกลุ่มเสียงอาจใช้

ตรวจติดตามผล การใช้น้ำยาบ้วนปากโทลูอิดิน บลู เป็นเครื่องตรวจสอบรอยโรคมะเร็งช่องปาก

(Oral cancer screening) ในชุมชนนั้น อาจยังมีปัญหาเรื่องผลบวกปลอมและผลลบปลอม ซึ่ง

จะทำให้เกิดการผิดพลาดในการวินิจฉัยโรค รอยโรคที่ไม่ใช่มะเร็งอาจเข้าใจว่าเป็นมะเร็ง

สำหรับรอยโรคมะเร็งบางรายอาจเข้าใจว่าเป็นรอยโรคอื่นหรือไม่เป็นโรค ดังนั้นการตรวจ

วินิจฉัยที่แน่นอนยังคงจำเป็นต้องอาศัยการตัดชิ้นเนื้อตรวจ <sup>(๖,๗,๘,๙,๑๐)</sup>

สรุป

การใช้สีโทลูอิดินบลูตรวจหารอยโรคมะเร็งในช่องปาก เชื่อว่าเป็นวิธีที่ใช้ได้ผล

และมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้อาจใช้ตรวจหารอยโรคมะเร็งในระยะแรกหรือระยะที่ยังไม่ลุกลาม

(carcinoma in situ) ได้ด้วย อย่างไรก็ตามในรอยโรคที่ยังไม่พบมีการเปลี่ยนแปลงหรือเจริญ

ผิดปกติของเซลล์ในชั้นบนของเยื่อเมืออาจไม่ได้ผลเมื่อย้อมด้วยสีโทลูอิดิน บลู คือ อาจเกิดการ

วินิจฉัยโรคผิดต่ำกว่าเป็นจริง (underdiagnosis) ได้ ทางตรงกันข้ามในรอยโรคที่พบมีการอักเสบ

เรื้อรังมักพบมีการติดโทลูอิดิน บลู เหมือนรอยโรคมะเร็งทำให้เกิดการวินิจฉัยโรคผิดสูงกว่าเป็น

จริง (overdiagnosis) การแปลผลการติดสีเป็นปัญหาหนึ่งซึ่งต้องอาศัยความชำนาญและ

ประสบการณ์ของผู้ใช้จึงอาจจะช่วยลดความผิดพลาดได้ การใช้สีโทลูอิดิน บลู ช่วยในการ

วินิจฉัยโรคในคลินิกนั้น อาจใช้ได้เป็นแค่เครื่องมือช่วยศัลยแพทย์ตัดสินใจในเรื่องตำแหน่งที่จะ

เลือกตัดเนื้อตรวจหรือการตรวจหารอยโรคมะเร็งที่เหลืออยู่หลังผ่าตัดหรือมะเร็งที่เกิดขึ้นใหม่

หรือการตรวจติดตามผลในการรักษาหรือติดตามผลในกลุ่มเสี่ยงเป็นต้น

## เอกสารอ้างอิง

1. Richart, R.M. : A Clinical Staining Test for the in vivo Delineation of Dysplasia and Carcinoma in situ. *Am.J. Obst. & Gynec.* 86 (6) : 703 - 712 , 1963.
2. Niefel, H.H., Chomet, B. : In vivo Staining Test for Delineation of Oral Intraepithelial Neoplastic Change : Preliminary Report. *J. Am. Dent. Assoc.* 68 : 801 - 806, 1964.
3. Mashberg, A. : Reevaluation of Toluidine Blue Application as a Diagnostic Adjunct in the Detection of Asymptomatic Oral Squamous Carcinoma : Continuing Prospective Study of Oral Cancer III. *Cancer* 46 : 758 - 763, 1980.
4. Mashberg, A. Final Evaluation of Tolonium Chloride rinse for Screening of High Risk Patients with Asymptomatic Squamous Carcinoma. *J. Am. Dent: Assoc.* 160 : 319 - 323, 1983.
5. Silverman , S., Migliorati , C. and Barbasa J. Toluidine blue Staining in the Detection of Oral Precancerous and Malignant lesions. *Oral Surg.* 57 : 379 - 382 , 1984.

6. Mashberg, A. Tolonium (Toluidine Blue) Rinse - A Screening Method for Recognition of Squamous Carcinoma : Contnuing Study of Oral Cancer IV. J. Am. Med. Assoc. 245 (23) : 2408-2410 , 1981.
7. Warnakulasuriya , K. A. A. S. and Johnson, N. w. : Sensitivity and Specficity of OraScan Toluidine Blue Mouthrinse in the Detection of Oral Cancer and Precancer. J. Oral Pathol. Med. 25 : 97 - 103 , 1996.
8. Epstein , J.B., Scully, C. and Spinelli, J.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. 21 : 160 - 163, 1992.
9. Rosenberg, D. and Cretin, S. : Use of Meta - analysis to Evaluate Tolonium Chloride in Oral Cancer Screening. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. 67 : 621 - 627, 1989.
10. Portugal , L. G., Wilson , K.M., Biddinger, P.W. and Gluckman, J.L. : The Role of Toluidine Blue in Assessing Margin Status Aften Resection of Squamous Cell Carcinomas of the upper Aerodigestive Tract. Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg. 122 : 517 - 519, 1996.