



บทที่ 4

ผลการวิจัย

จำนวนผู้ป่วยที่ศึกษาทั้งสิ้น 23 ราย (รายละเอียดดังตารางที่ 6)

- เพศ ชาย 15 ราย คิดเป็น 65.22%
หญิง 8 ราย คิดเป็น 34.78%
 - อายุ น้อยที่สุด 15 ปี
มากที่สุด 70 ปี
เฉลี่ย 37.39 ปี
 - ระยะเวลาหลังจากที่ผู้ป่วยเสียชีวิตจนถึงก่อนทำการตัดชิ้นเนื้อ
น้อยที่สุด 2 ชม.
มากที่สุด 19 ชม.
เฉลี่ย 9.83 ชม.
 - ระยะเวลาที่เก็บชิ้นเนื้อไว้ที่อุณหภูมิ -70°C . จนถึงทำการย้อมเซลล์
น้อยที่สุด 1 วัน
มากที่สุด 21 วัน
เฉลี่ย 9.04 วัน
 - สาเหตุการตาย :
ผู้ป่วยทั้งหมดเสียชีวิตจากอุบัติเหตุ โดยได้รับบาดเจ็บจากเลือดออก
ในสมอง (Intracerebral, subdural, epidural hemorrhage) 17 ราย
อุบัติเหตุของช่องอก (Hemothorax, pneumothorax) 7 ราย
เลือดออกในช่องท้อง 2 ราย
หมายเหตุ บางรายได้รับบาดเจ็บหลายแห่ง
 - ผล Anti HIV antibody : negative ทุกราย
- หลังจากทำการตัดชิ้นเนื้อและย้อมเซลล์แล้วด้วยกล้องจุลทรรศน์แล้ว รวม
ชิ้นเนื้อแต่ละบริเวณดังนี้

ATPase technique

Palate	15	ชิ้น
Buccal mucosa	20	ชิ้น
Upper labial mucosa	20	ชิ้น
Lower labial mucosa	19	ชิ้น

Monoclonal antibody OKT6

Palate	15	ชิ้น
Buccal mucosa	23	ชิ้น
Upper labial mucosa	17	ชิ้น
Lower labial mucosa	17	ชิ้น

ผลการย้อมด้วยวิธี ATPase

จากการย้อมด้วยวิธี ATPase technique จะพบเซลล์ลักษณะเป็น dendritic cell ติดสีน้ำตาลเข้มกระจายอยู่ทั่วไป ทว่าการนับเซลล์โดยถือเซลล์ที่ติดสีชัดเจน มีอย่างน้อย 1 dendrite แต่ละชิ้นเนื้อนับจำนวนเซลล์เมื่อดูด้วยกำลังขยาย x40 ต่อ 1 optical grid (10 x 10 ช่อง) 5 ครั้ง แล้วนำมาเฉลี่ยเป็นต่อ 1 optical grid จำนวนเซลล์ที่นับได้มาคำนวณเป็นจำนวนเซลล์ต่อ 1 หน่วยพื้นที่ (1 ตารางมิลลิเมตร) ดังนี้

$$\begin{aligned} \text{พื้นที่ 1 optical grid (10 x 10 ช่อง) เมื่อดูด้วยกำลังขยาย} \\ \text{x40 จะครอบคลุมพื้นที่ } 0.27 \text{ mm} \times 0.27 \text{ mm} &= 0.0729 \text{ mm}^2 \\ \text{ดังนั้น พื้นที่ } 1 \text{ mm}^2 &= \frac{1}{0.0729} \times \text{cell} \\ &= 13.72 \times \text{cell} \end{aligned}$$

บริเวณ buccal mucosa, upper labial mucosa และ lower labial mucosa พบ dendritic cell กระจายอยู่ค่อนข้างหนาแน่น ดังรูปที่ 5-7 ส่วนบริเวณ palate พบเซลล์กระจายอยู่ห่างกัน ดังรูปที่ 8 หนาแน่นน้อยกว่าบริเวณที่กล่าวมาแล้วอย่างชัดเจน เมื่อคำนวณเซลล์ต่อพื้นที่แล้วได้ผลดังตารางที่ 7 และเมื่อคำนวณทางสถิติหาค่าเฉลี่ย, ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และพิสัยแล้วได้ผลดังตารางที่ 9

ผลการย้อมด้วย monoclonal antibody OKT6

จากการย้อมเซลล์ด้วย monoclonal antibody OKT6 โดย peroxidase conjugated avidin staining method แล้ว counterstain ด้วย hematoxylin พบว่า LC มีลักษณะเป็นเซลล์ที่เป็น dendritic cell ติดสีน้ำตาลเป็น granule เล็กๆกระจายตัวอยู่ที่ epidermis ตั้งแต่บริเวณ basal cell layer จนถึง stratum malpighii แต่ไม่พบลักษณะเซลล์ดังกล่าวที่บริเวณ stratum granulosum หรือ stratum corneum เลย ลักษณะรูปร่างโดยทั่วไปนั้นพบว่าความยาวของ dendrite ในแต่ละรายแตกต่างกันไปตั้งแต่ยาวน้อยถึงมาก แต่จะพบลักษณะเช่นเดียวกันในแต่ละชิ้นเนื้อ ไม่พบเซลล์ที่มี dendrite ยาวบ้างสั้นบ้างในรายเดียวกัน แต่ละเซลล์

อยู่เดี่ยวๆ (discrete) กระจายอยู่ที่วไบบริเวณ epidermis ไม่พบลักษณะที่เป็น reticulate pattern บริเวณ buccal, upper labial และ lower labial mucosa พบ LC กระจายตัวอยู่มากบริเวณ suprabasilar layer และ basal layer (ตั้งรูปที่ 9-11) โดยพบมากที่สุดบริเวณเหนือ dermal papilla และไม่พบ LC ที่บริเวณ salivary gland เลย (ตั้งรูปที่ 12) ส่วนบริเวณ palate พบ LC กระจายตัวอยู่มากบริเวณ mid-stratum malpighii (ตั้งรูปที่ 13-15) เมื่อทำการนับจำนวนเซลล์ต่อความยาวของ epidermis โดยดูด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย x40 ต่อความยาว 1 ด้าน optical grid 5 ครั้งแล้วนำมาเฉลี่ยเป็นต่อ 1 ความยาว optical grid นำจำนวนเซลล์ที่ได้มาคำนวณเป็นจำนวนเซลล์ต่อความยาว epidermis (1 มิลลิเมตร) ดังนี้

ความยาว 1 optical grid 1 ด้าน (10 ช่อง) = 0.27 mm.

ดังนั้นความยาว 1 mm. = $\frac{1}{0.27}$ x cell

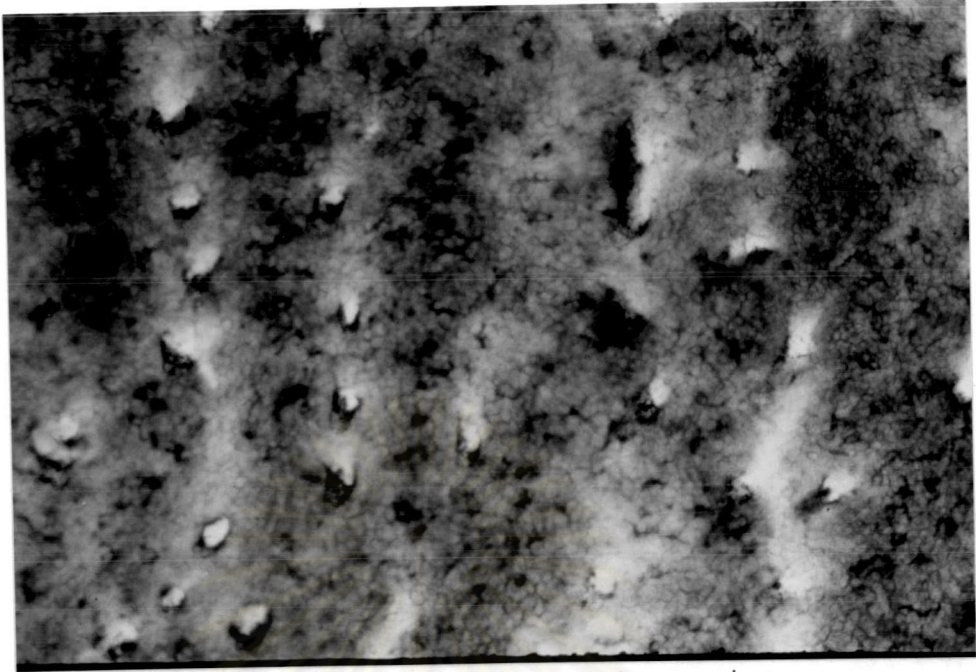
= 3.7 x cell

ค่าที่ได้ต่อความยาว epidermis ได้ผลดังตารางที่ 8 และเมื่อคำนวณทางสถิติหาค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และพิสัยแล้วได้ผลดังตารางที่ 10

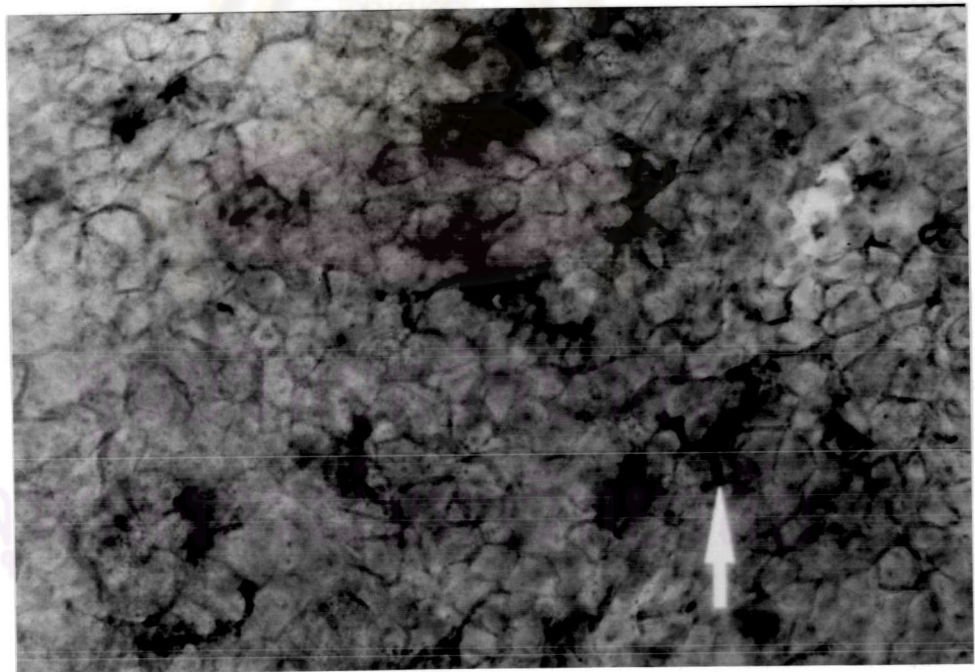
เมื่อทำการเปรียบเทียบจำนวน LC ระหว่างกลุ่มที่มีอายุ < 30 ปี และ > 50 ปี พบว่าใกล้เคียงกัน ดังตารางที่ 11

เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ด้วย one-way analysis of variance แล้วพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p = 0.05$ โดยเมื่อหาค่า LSR แล้วพบว่าบริเวณที่แตกต่างไปคือ palate แต่ buccal, upper labial และ lower labial mucosa จำนวน LC ไม่มีความแตกต่างกัน

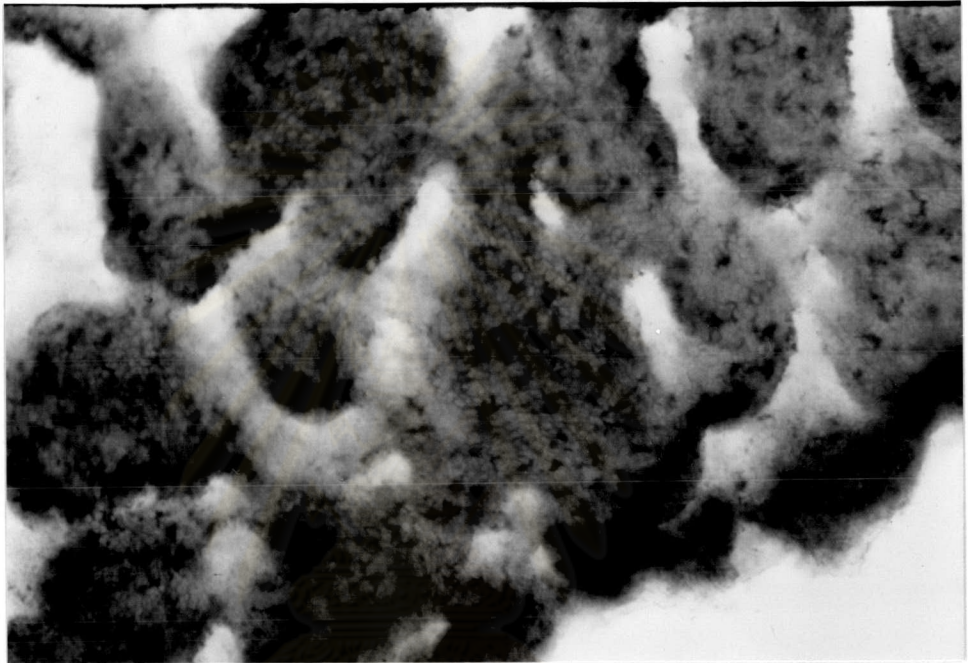
ศูนย์วิทยุทันตวิทยา
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 5 Buccal mucosa จากผู้ป่วยรายที่ 22 เมื่อย้อมด้วย ATPase
(กำลังขยาย x 100)

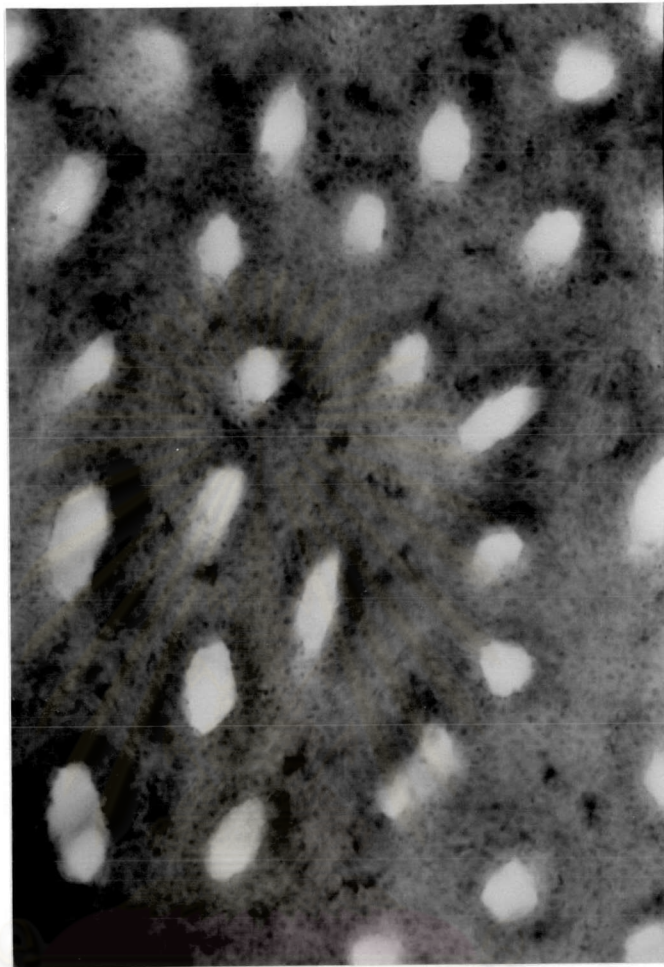


รูปที่ 6 Buccal mucosa จากผู้ป่วยรายที่ 22 เมื่อย้อมด้วย ATPase
(กำลังขยาย x 400)



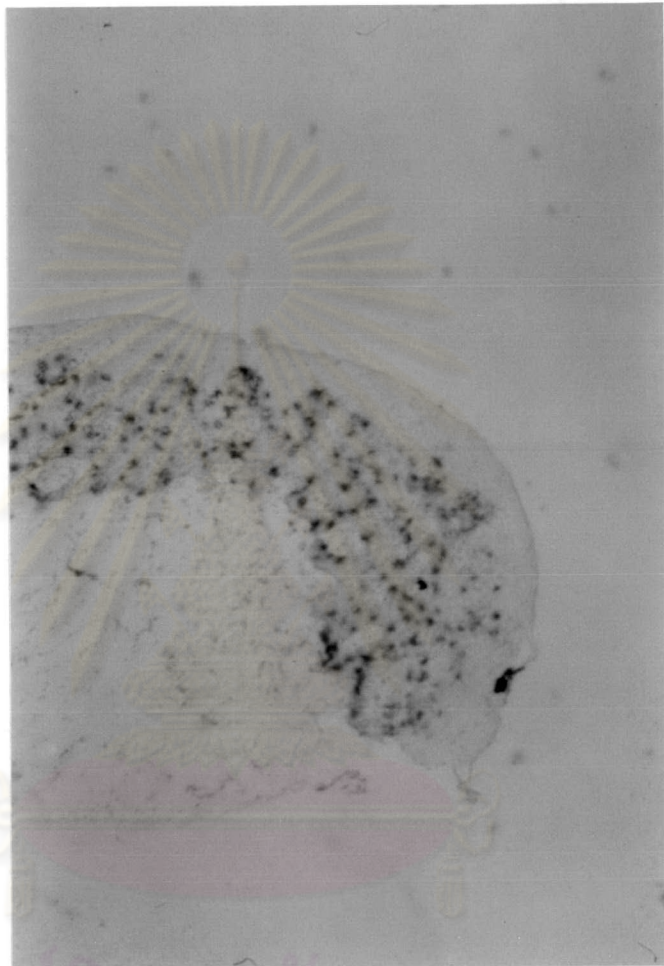
รูปที่ 7 Lower labial mucosa จากผู้ป่วยรายที่ 22 เมื่อย้อมด้วย
ATPase (x 100)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



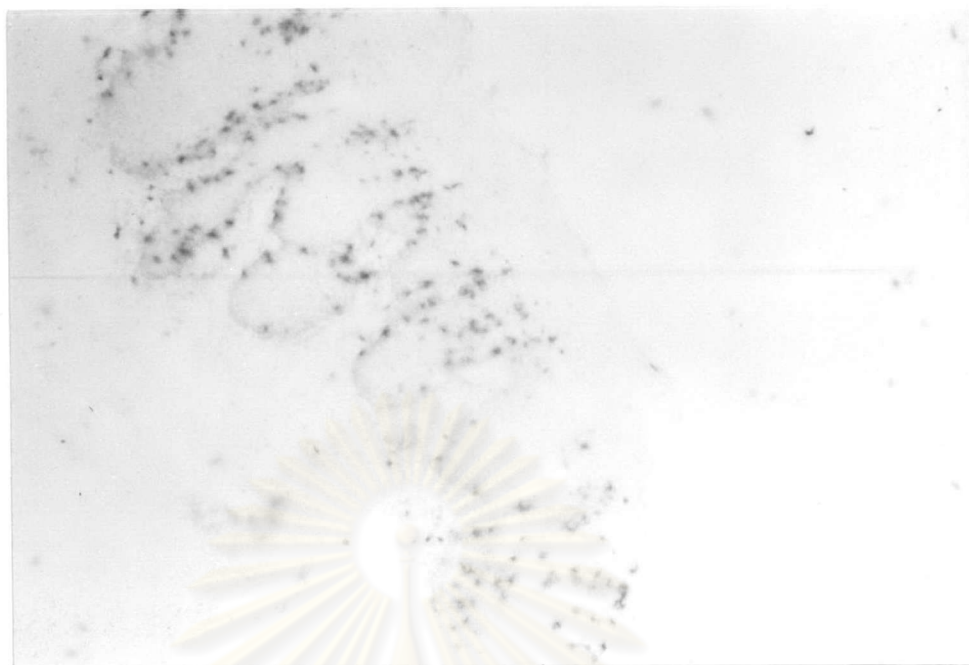
รูปที่ 8 Palate จากผู้ป่วยรายที่ 21 เมื่อย้อมด้วย ATPase
(x 100)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

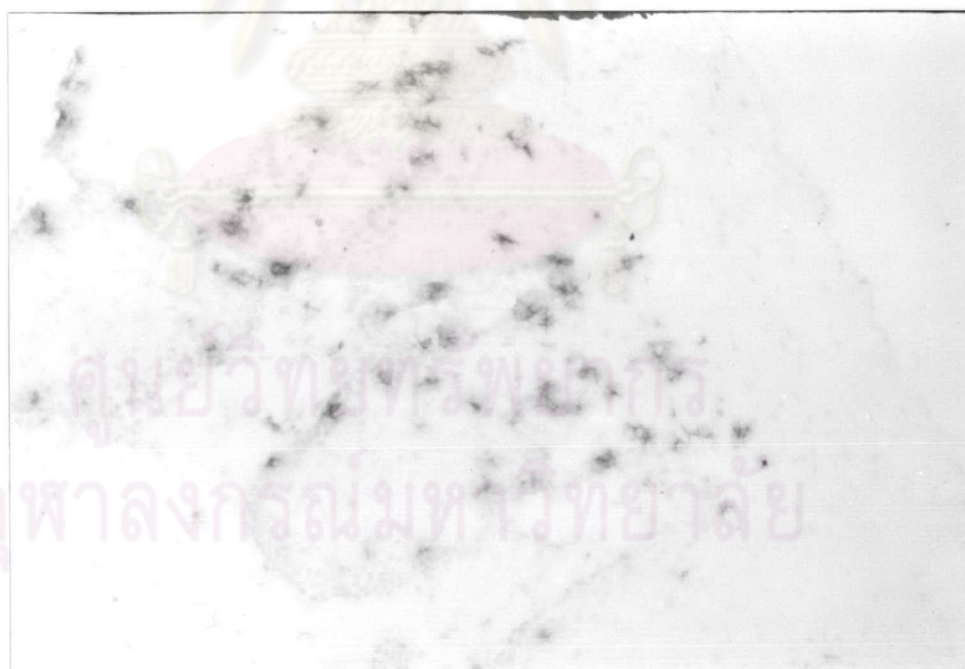


ศูนย์วิทยาศาสตร์สุขภาพ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

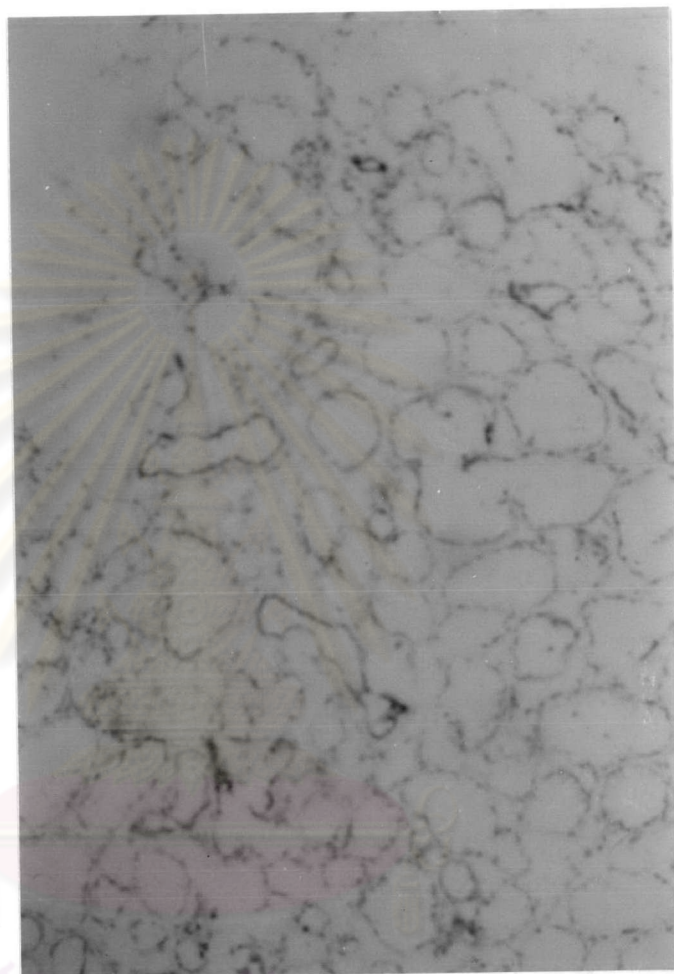
รูปที่ 9 Upper labial mucosa จากผู้ป่วยรายที่ 22 ย้อมด้วย
OKT6 แสดงตำแหน่งของ LC บริเวณ basal และ
suprabasal layer (x 40)



รูปที่ 10 Buccal mucosa จากผู้ป่วยรายที่ 20 ย้อมด้วย OKT6 (x 40)

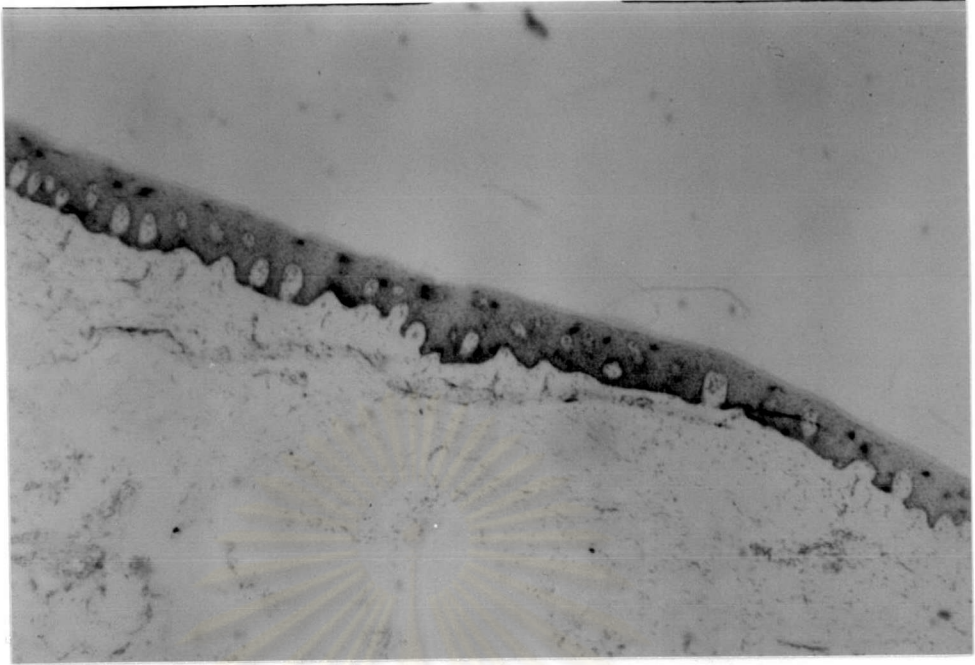


รูปที่ 11 Buccal mucosa จากผู้ป่วยรายที่ 20 ย้อมด้วย OKT6 แสดงตำแหน่งของ LC บริเวณ basal และ suprabasal layer (x 100)

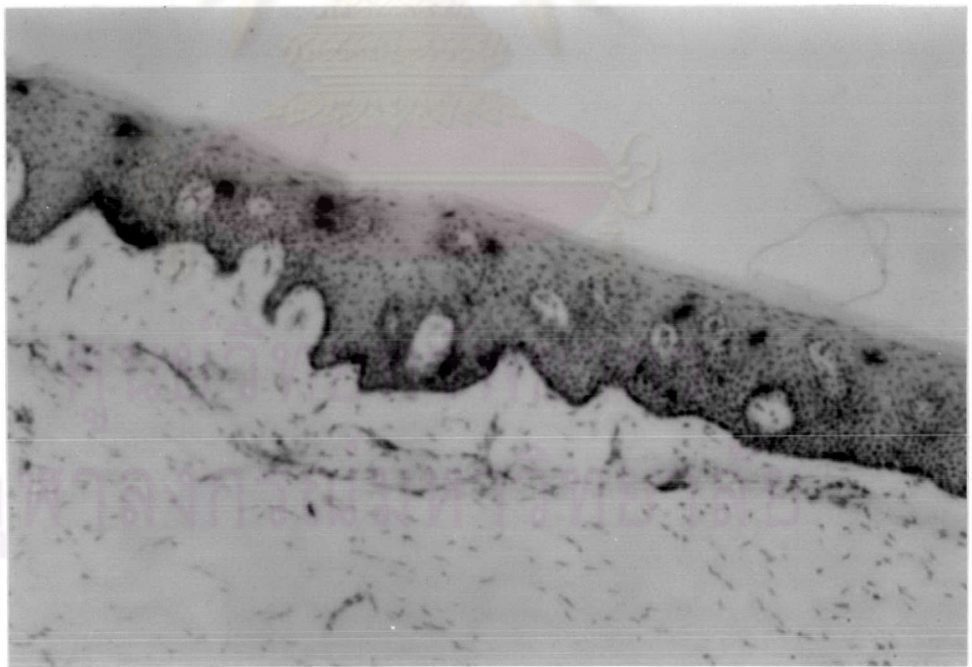


ศูนย์วิทยุโทรพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

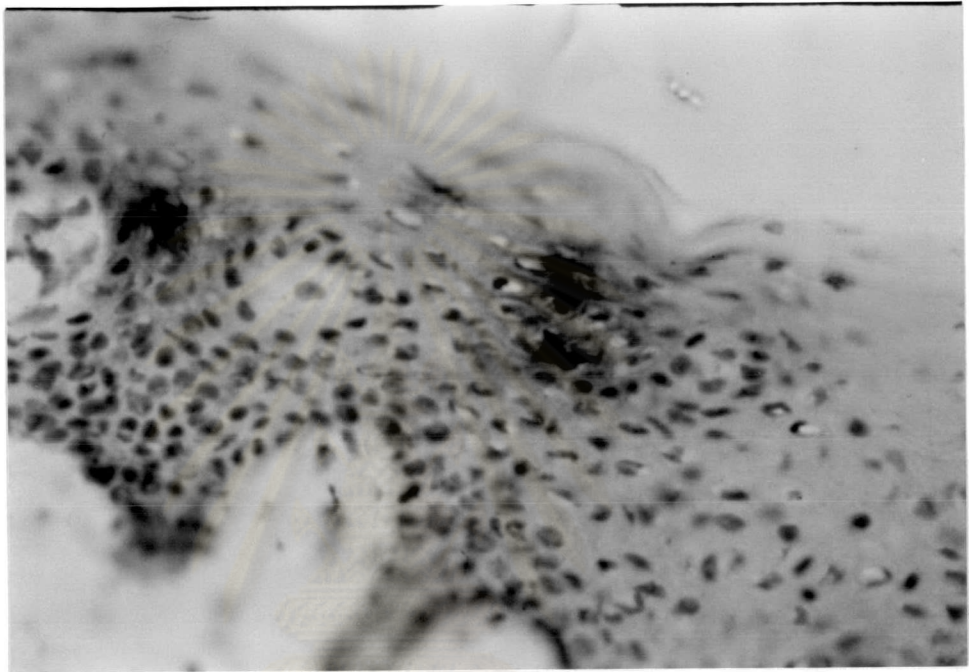
รูปที่ 12 Minor salivary gland จาก lower labial mucosa
ผู้ป่วยรายที่ 21 เมื่อย้อมด้วย OKT6 แสดงให้เห็นว่า ไม่พบ
LC ในบริเวณนี้เลยในภาวะปกติ



รูปที่ 13 Palate จากผู้ป่วยรายที่ 10 ย้อมด้วย OKT6 แสดง LC บริเวณ mid-stratum malpighii (x 40)

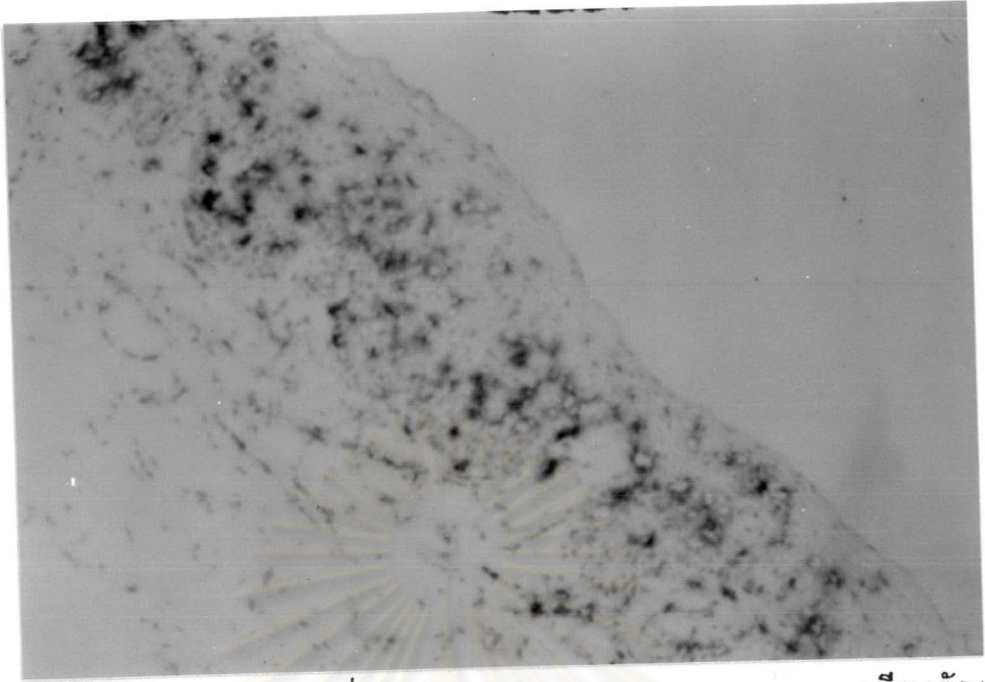


รูปที่ 14 Palate เมื่อดูด้วยกำลังขยายสูงขึ้น (x 100)

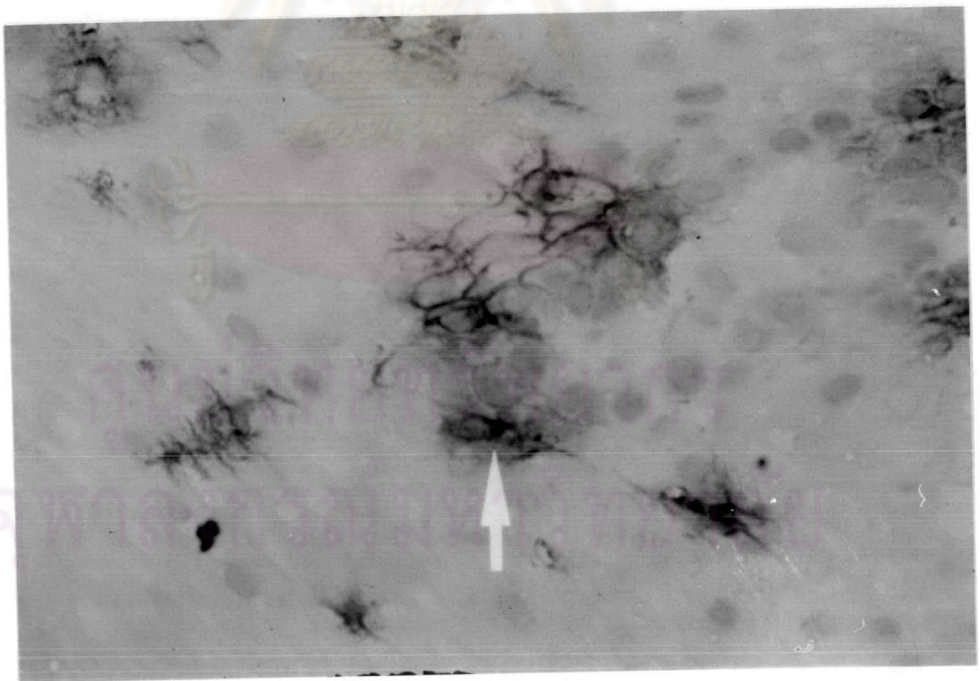


รูปที่ 15 Palate เมื่อย้อมด้วย OKT6 เห็น LC ติดสีน้ำตาลเข้มชัดเจน
ลักษณะเป็น dendritic cell (x 400)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 16 แสดง LC ที่บริเวณ lower labial mucosa เรียงตัวเป็น discrete pattern (x 40)



รูปที่ 17 Lower labial mucosa เมื่อดูด้วยกำลังขยายสูงขึ้น (x 400)

ตารางที่ 6 ข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วย

ผู้ป่วยรายที่	เพศ	อายุ (ปี)	ระยะเวลาที่เสียชีวิต (ชม.)
1	ญ.	36	8
2	ญ.	38	4
3	ช.	24	13
4	ญ.	30	10
5	ช.	19	8
6	ช.	17	15
7	ญ.	68	13
8	ช.	70	4
9	ช.	51	12
10	ช.	25	14
11	ญ.	70	10
12	ช.	23	19
13	ช.	15	13
14	ช.	30	18
15	ช.	40	13
16	ช.	20	8
17	ญ.	59	13
18	ญ.	64	2
19	ญ.	24	4
20	ช.	60	5
21	ช.	27	5
22	ช.	23	7
23	ช.	27	8

ตารางที่ 7 จำนวน LC ในเยื่อช่องปากต่อพื้นที่ (mm²) เมื่อวัดด้วยวิธี ATPase

Case No.	Palate	Buccal mucosa	Upper labial mucosa	Lower labial mucosa
1	288.12	644.84		
2		555.66		
3	274.40	651.70	603.70	530.60
4	301.84		595.45	653.07
6	288.12	562.52	562.52	497.35
7	360.15	457.29	493.92	469.91
8	315.10	512.17	406.11	488.43
9		524.10	507.64	570.75
10		727.16	740.88	768.32
11	301.84	621.93	768.32	706.58
12	308.70	603.68	710.70	614.66
13		528.22	598.19	504.90
14		576.24	568.01	581.73
15		702.41	641.49	722.63
16		740.88	751.86	718.93
17	425.32	787.53	653.07	779.30
18	411.60	713.44	724.42	653.07
19	351.23	537.82	570.75	
20	274.40	386.90	488.43	466.48
21	271.66		524.10	502.15
22	285.38	510.38	518.62	581.73
23	172.87	408.86	411.60	418.46

ตารางที่ 8 จำนวน LC ในเยื่อช่องปากต่อความยาว epidermis (mm.)
เมื่อย้อมด้วย monoclonal antibody OKT6

Case No.	Palate	Buccal mucosa	Upper labial mucosa	Lower labial mucosa
1	26.62	48.10		
2		11.10		
3		14.80		
4		25.16		
5	18.50	16.28	25.16	21.46
6	22.20	20.72	13.88	22.20
7		34.48		
8	23.13	28.37	57.72	55.50
9	25.16	25.16	14.06	10.36
10	14.80	16.15	17.02	11.10
11		41.63	37	22.94
12		32.77	26.83	27.38
13		22.20	40.70	40.70
14	19.43	51.80	37	37
15	18.50	28.68	32.68	28.86
16		40.70	40.70	39.22
17	18.50	58.46	39.96	53.32
18	23.13	55.50	59.94	76.22
19	22.20	43.66	59.94	55.50
20	34.80	37	38.85	
21	11.10	35.15		24.05
22	16.03	27.75	37.74	30.53
23	14.80	33.30	29.60	26.83

ตารางที่ 9 ค่าทางสถิติของจำนวน LC ในเยื่อช่องปากต่อพื้นที่ (mm²)
โดยวิธี ATPase

Site	n	Mean	S.D.	Range
Palate	15	308.72	61.15	172.87-425.32
Buccal mucosa	20	587.69	110.85	386.90-787.53
Upper labial mucosa	20	591.99	108.40	411.60-768.32
Lower labial mucosa	19	591.00	110.80	418.46-729.32

ตารางที่ 10 ค่าทางสถิติของจำนวน LC ในเยื่อช่องปากต่อความยาวของ
epidermis (mm.) โดย monoclonal antibody OKT6

Site	n	Mean	S.D.	Range
Palate	15	19.93	6.57	11.10-34.8
Buccal mucosa	23	32.58	13.17	11.10-58.46
Upper labial mucosa	17	35.81	14.31	13.88-59.94
Lower labial mucosa	17	34.30	17.49	11.10-76.22

หมายเหตุ n = จำนวน specimens, Mean = ค่าเฉลี่ยของจำนวน LC
S.D. = ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน, Range = ค่าพิสัยของจำนวน LC

ตารางที่ 11 แสดงการเปรียบเทียบจำนวน LC/mm² ระหว่างอายุและบริเวณ
เยื่อช่องปาก

Site	Hard palate	Buccal mucosa	Upper labial mucosa	Lower labial mucosa
Age				
<30ปี	322.03	584.76	596.37	597.26
>50ปี	348.07	571.91	577.42	590.65

นอกจากบริเวณเยื่อช่องปากแล้ว ผู้วิจัยยังได้ทำการตัดชิ้นเนื้อที่ผิวหนังบริเวณอื่นมาทำการนับจำนวน LC ด้วย ปรากฏผลดังตารางที่ 12 และ 13

ลักษณะการกระจายตัวของ LC เมื่อย้อมด้วย monoclonal antibody OKT6 พบว่าส่วนใหญ่เซลล์เรียงตัวเป็น discrete pattern แต่พบลักษณะ reticulate pattern ดังรูปที่ 19-22 ในบางรายด้วยซึ่งเป็นลักษณะที่แตกต่างไปจาก oral mucosa รายละเอียดดังตารางที่ 14 นอกจากนี้ยังพบ LC อยู่บริเวณรอบ pilosebaceous structure ด้วยดังรูปที่ 18,19

เมื่อนำค่าเฉลี่ยของจำนวน LC ที่บริเวณต่าง ๆ มาเปรียบเทียบกันพบว่า บริเวณที่มี LC สูงสุด คือ inner forearm และต่ำสุดคือ palm รายละเอียดดังตารางที่ 15 เมื่อเปรียบเทียบกันโดยใช้ one-way analysis of variance แล้วพบว่าบริเวณที่มีจำนวน LC แตกต่างไป คือ palm ส่วนบริเวณอื่นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p\text{-value} = 0.05$

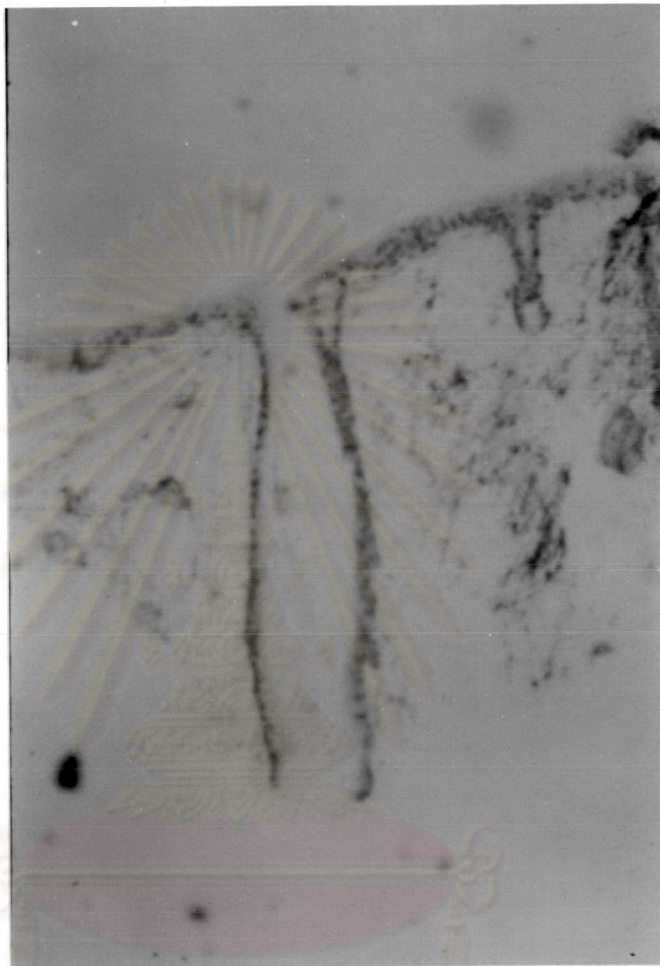
ตารางที่ 12 ค่าสถิติของจำนวน LC บริเวณผิวหนังต่อพื้นที่ (mm^2) โดยวิธี ATPase

Site	n	mean	S.D.	Range
Upper lip	5	583.36	93.05	521.36-732.60
Lower lip	7	610.13	81.55	507.64-722.63
Face	13	610.43	115.95	439.04-801.25
Chest	15	637.39	106.34	503.11-787.53
Outer forearm	19	623.67	99.58	452.76-834.18
Inner forearm	18	649.12	183.94	493.92-828.69
Palm	11	199.09	60.15	126.91-294.68

ตารางที่ 13 ค่าสถิติของจำนวน LC บริเวณผิวหนังต่อความยาว epidermis (mm .)

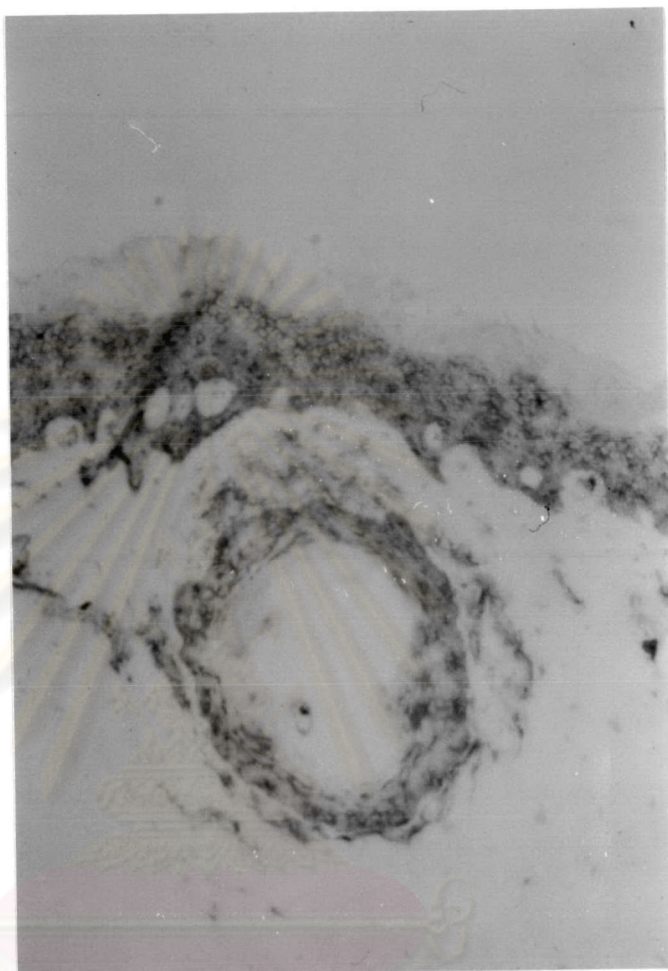
โดย monoclonal antibody OKT6

Site	n	mean	S.D.	Range
Upper lip	8	32.31	17.21	14.06-65.12
Lower lip	6	25.88	10.85	14.06-46.51
Face	14	27.30	7.53	13.32-37.74
Chest	16	34.84	18.29	17.27-85.10
Outer forearm	20	30.70	12.05	12.58-55.50
Inner forearm	20	33.64	11.31	11.10-55.50
Palm	14	7.93	4.81	1.85-17.58



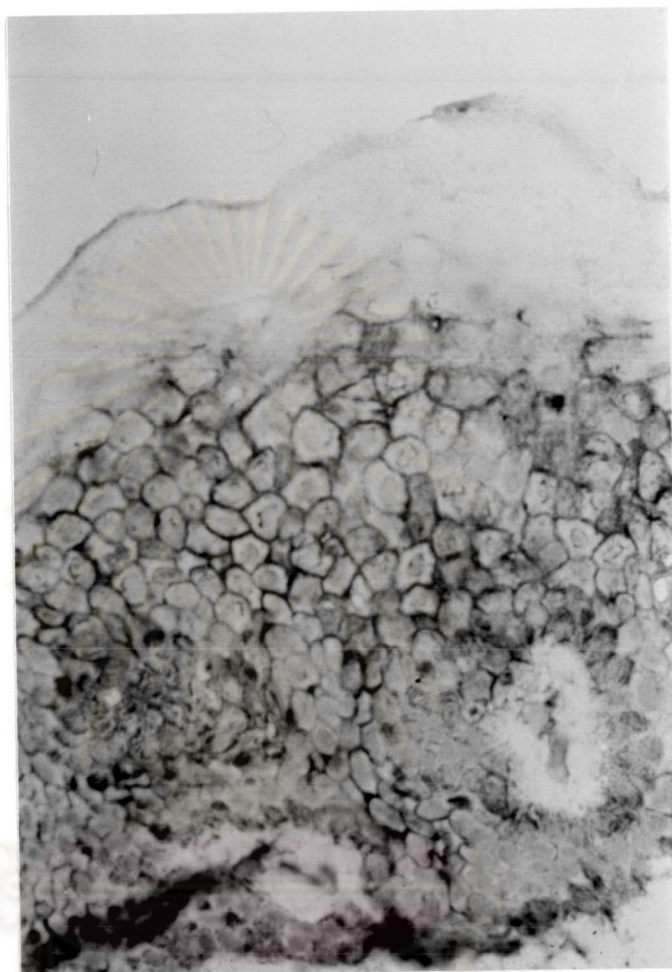
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 18 Face จากผู้ป่วยรายที่ 11 ย้อมด้วย OKT6 แสดง LC รอบ
hair follicle (x 40)



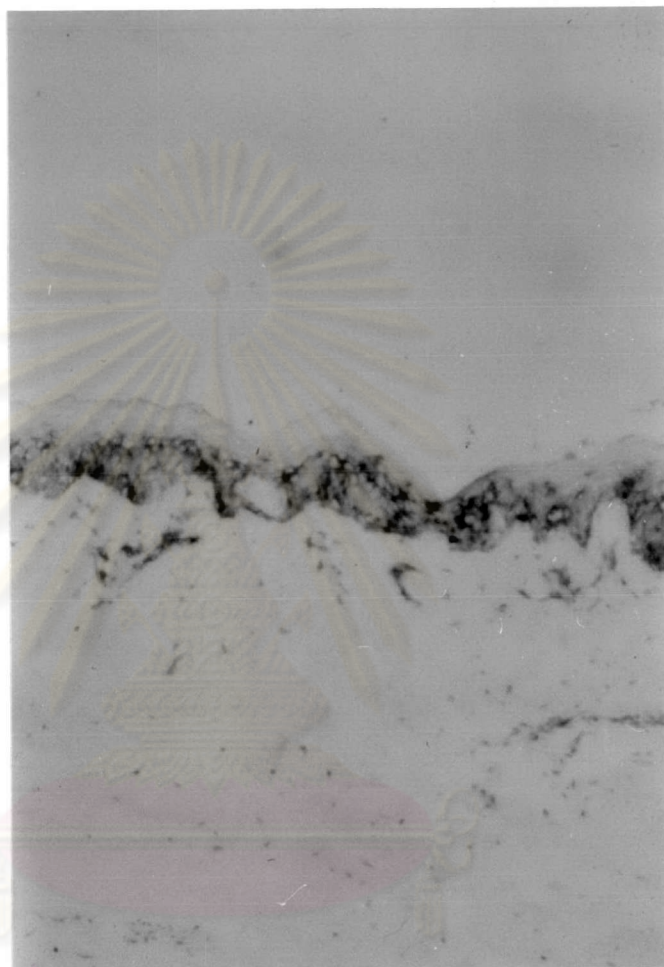
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 19 Inner forearm จากผู้ป่วยรายที่ 19 ย้อมด้วย OKT6 แสดง LC รอบ follicle และการเรียงตัวของ LC ที่ epidermis เป็นreticulate pattern (x 100)



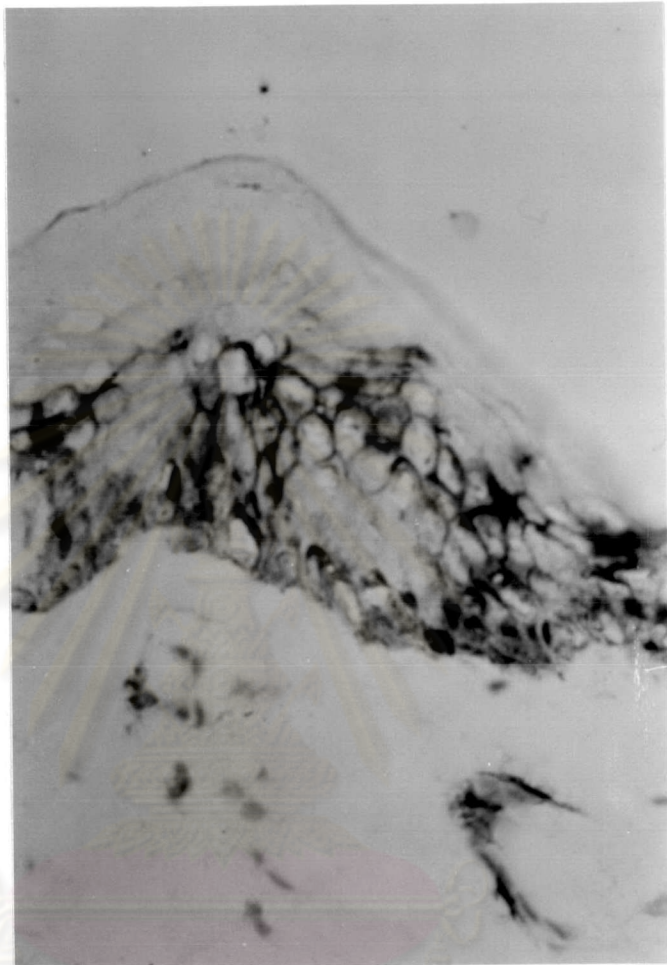
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 20 Inner forearm ตูด้วยกำลังขยายสูงขึ้นไป เห็นลักษณะ
reticulate pattern ชัดเจน (x 400)



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 21 Outer forearm จากผู้ป่วยรายที่ 19 ย้อมด้วย OKT6 แสดง
LC เป็น reticulate pattern (x 40)



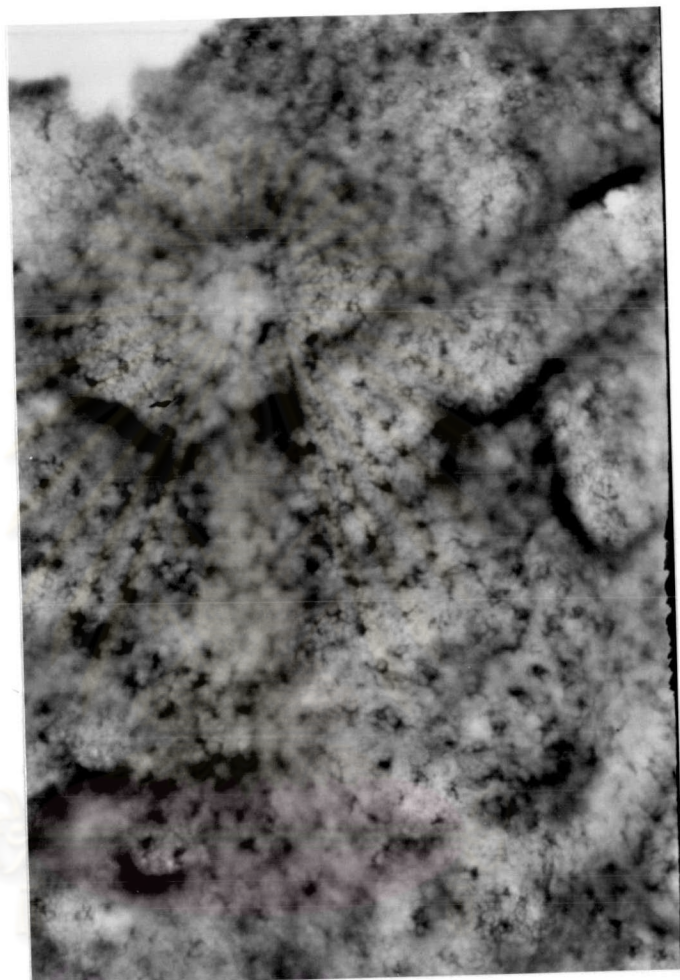
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 22 Outer forearm ดูด้วยกล้องขยายสูงขึ้นไปเห็นลักษณะ
reticulate pattern ชัดเจน (x 400)



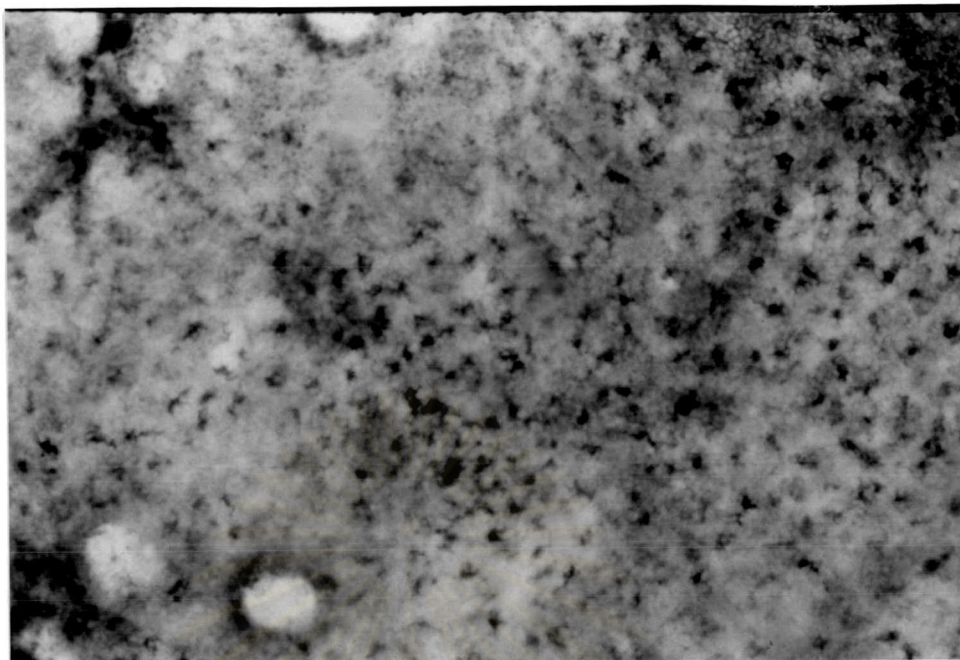
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 23 Palm จากผู้ปวยรายที่ 16 ย้อมด้วย OKT6 พบ LC จำนวน
น้อยอยู่เป็น discrete pattern (x 400)

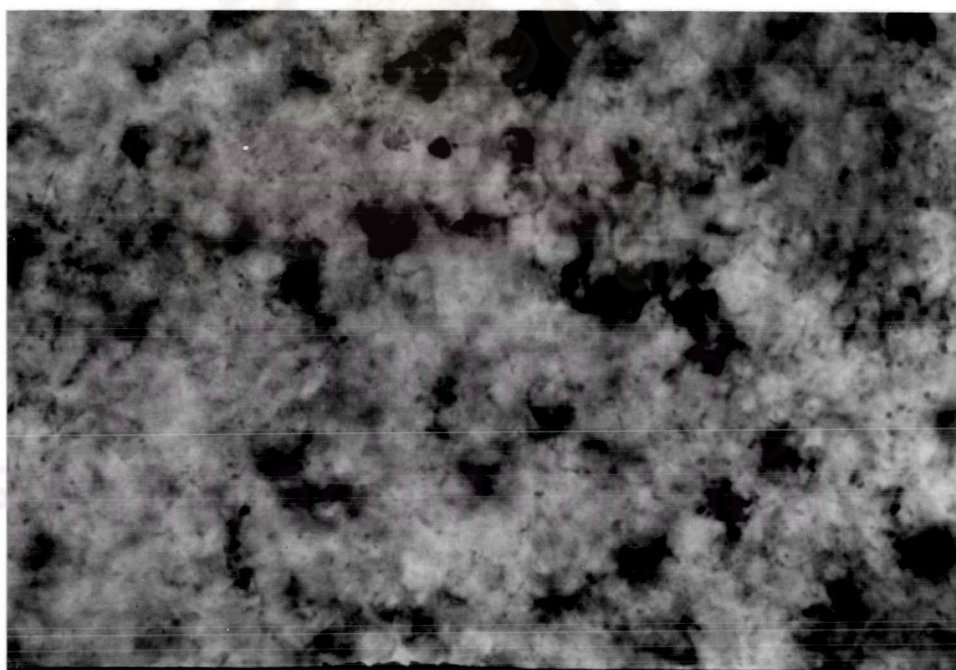


ศูนย์วิทยาศาสตร์สุขภาพ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

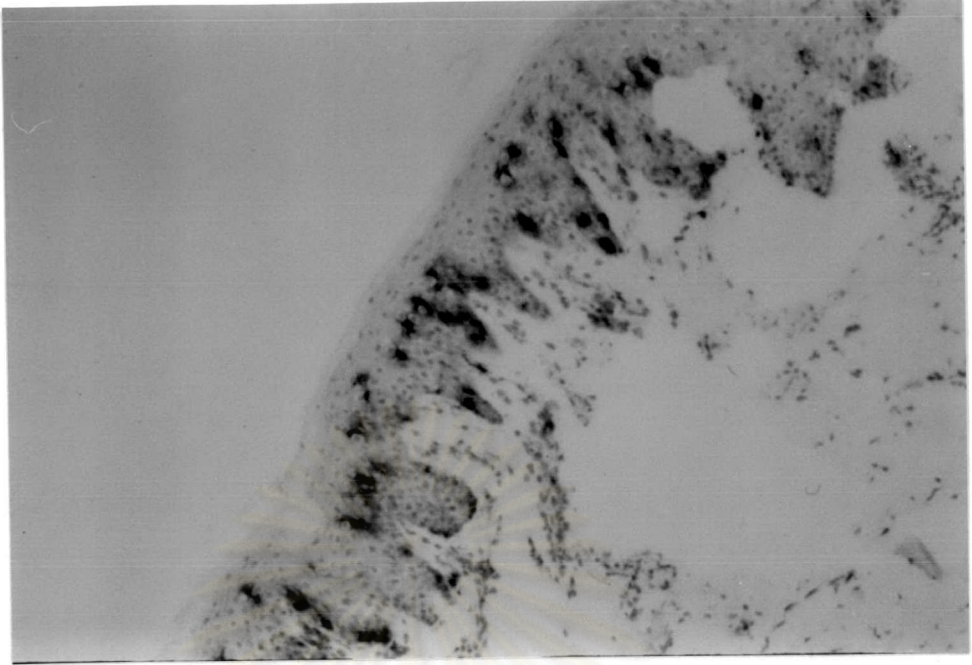
รูปที่ 24 Inner forearm จากผู้ป่วยรายที่ 1 ย้อมด้วย ATPase
(x 100)



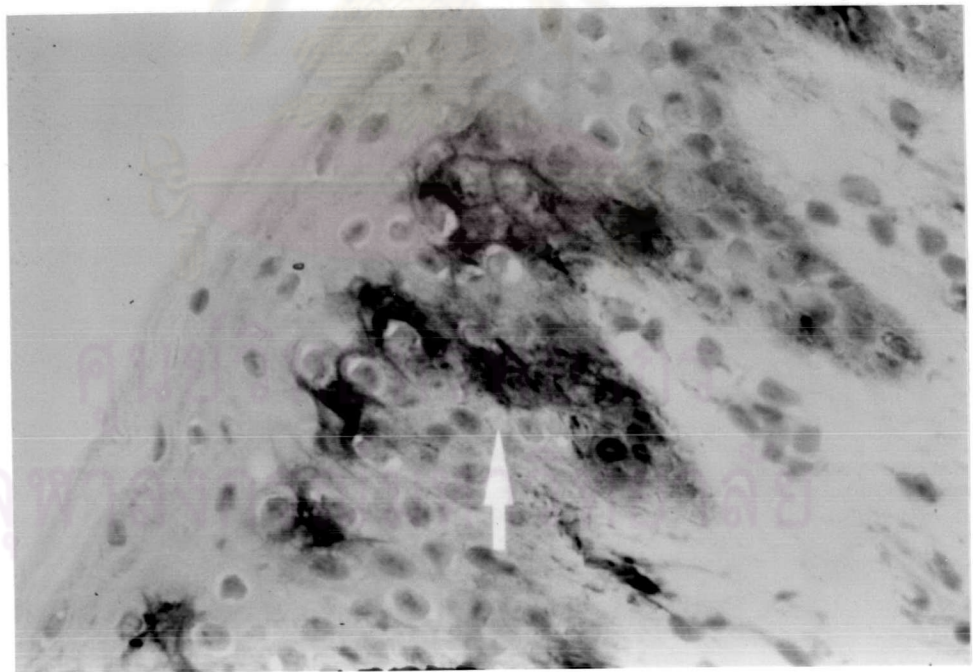
รูปที่ 25 Upper lip จากผู้ป่วยรายที่ 5 ย้อมด้วย ATPase(x 100)



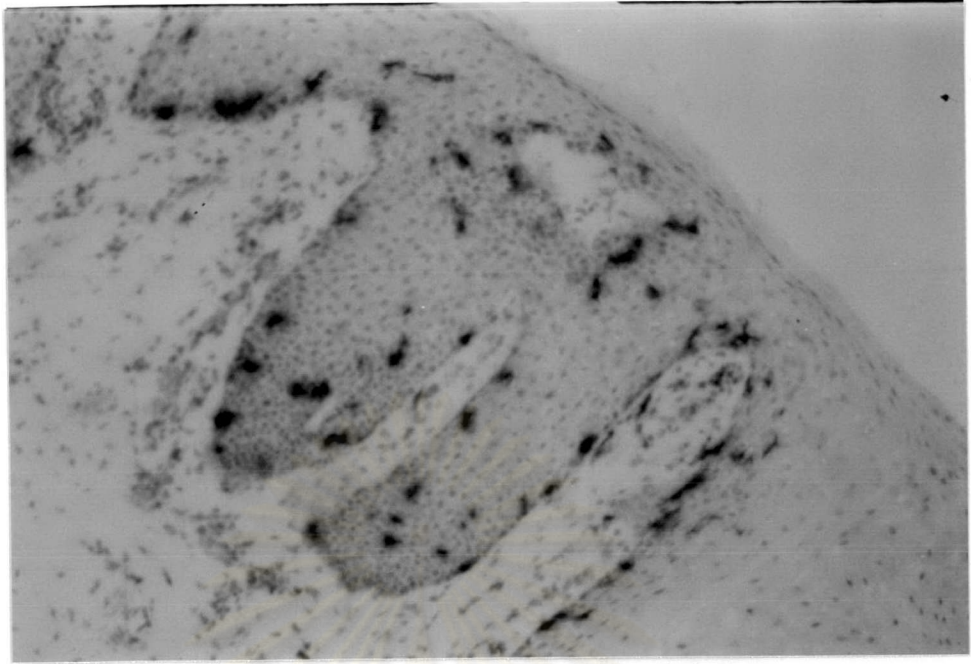
รูปที่ 26 Upper lip เมื่อดูด้วยกำลังขยายสูงขึ้น (x 400)



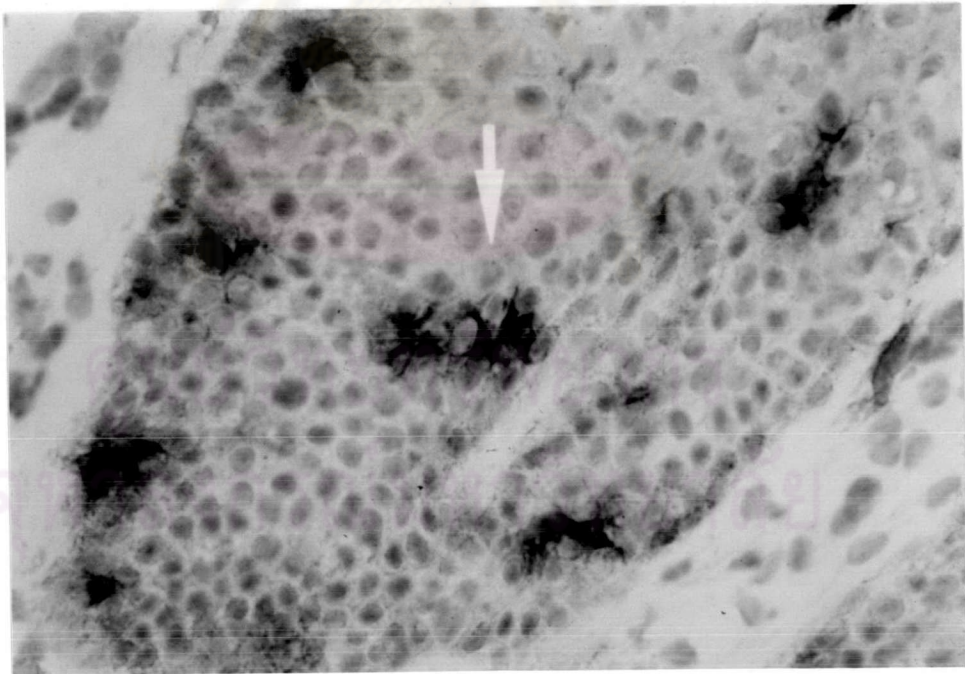
รูปที่ 27 Upper lip จากผู้ป่วยรายที่ 3 ย้อมด้วย OKT6 (x100)



รูปที่ 28 Upper lip เมื่อดูด้วยกำลังขยายสูงขึ้น (x 400)



รูปที่ 29 Lower lip จากผู้ป่วยรายที่ 7 ย้อมด้วย OKT6 (x 100)



รูปที่ 30 Lower lip เมื่อดูด้วยกำลังขยายสูงขึ้น (x 400)

ตารางที่ 14 การเปรียบเทียบการเรียงตัวของ LC ที่บริเวณผิวหนังและ oral mucosa

Site	Pattern	
	Reticulate	Discrete
Palate	0%	100%
Buccal mucosa	0%	100%
Upper labial mucosa	0%	100%
Lower labial mucosa	0%	100%
Upper lip	0%	100%
Face	38.46%	61.54%
Chest	40%	60%
Outer forearm	36.48%	63.16%
Inner forearm	38.89%	61.11%
Palm	0%	100%

ตารางที่ 15 แสดงค่าเฉลี่ยของ LC/mm² จากบริเวณที่มีค่าสูงสุดถึงต่ำสุด

ตำแหน่ง	Mean \pm S.D.
Inner forearm	649.12 \pm 183.94
Chest	637.39 \pm 106.34
Outer forearm	623.67 \pm 99.58
Face	610.43 \pm 115.95
Lower lip	610.13 \pm 81.55
Upper labial mucosa	591.99 \pm 108.40
Lower labial mucosa	591.00 \pm 110.80
Buccal mucosa	587.69 \pm 110.85
Upper lip	583.36 \pm 93.05
Palate	308.72 \pm 61.15
Palm	199.09 \pm 60.15