จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เงินอุดหนุนงบประมาณแผ่นดินประจำปี 2544

รายงานผลการวิจัย

การใช้เทคนิคอินฟราเรดตรวจมะเร็งปากมดลูกในส่วนภูมิภาค

(Infrared Spectroscopy Technology for Detection of Cervical Cancer in Rural Region)

โดย

รัตนา สินธุภัค
สมชาย ชิสระวาณิชย์
วีนัส อุดมประเสริฐกุล
ไพลิน ศรีสุขโข
อรอุมา ซองรัมย์
เริงศักดิ์ บุญบรรดาลชัย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จฬ
วพ 15
012051

ตุลาคม 2546

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เงินอุดหนุนงบประมาณแผ่นดินประจำปี 2544

รายงานผลการวิจัย

การใช้เทคนิคอินฟราเรดตรวจมะเร็งปากมดลูกในส่วน ภูมิภาค

(Infrared Spectroscopy Technology for Detection of Cervical Cancer in Rural Region)

โดย

รัตนา	สินธุภัค
สมชาย	อิสระวาณิชย์
วีนัส	อุดมประเสริฐกุล
ไพลิน	ศรีสุขโข
อรอุมา	ซองรัมย์
เริงศักดิ์	บุญบรรดาลชัย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตุลาคม 2546

22 ธ.ค. 2547

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้สามารถดำเนินการจนลุล่วงได้ด้วยการสนับสนุน และความร่วมมือจากหลายๆ ฝ่ายที่คณะผู้วิจัยขอแสดงความขอบคุณมา ณ ที่นี้ด้วย

คุณมาโนช กาญจนฉายา และครอบครัว ที่ได้บริจาคเงินซื้อเครื่อง FTIR

ศาสตราจารย์ กิตติคุณ นายแพทย์ นิกร ดุสิตสิน ที่ปรึกษาสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ตลอดการดำเนินการวิจัย

Professor Patrick TT Wong แห่งมหาวิทยาลัยออตตาวา ประเทศคานาดา ที่เอื้อเฟื้อโปรแกรมคอมพิวเตอร์ในการคำนวณผลที่ได้จากเครื่อง FTIR

ศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ พีระศักดิ์ จันทร์ประทีป ผู้อำนวยการสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และ รองศาสตราจารย์ ดร.พาลาภ สิงหเสนี ตันติยาสวัสดิกุล รองผู้อำนวยการฝ่ายวิจัย ที่สนับสนุนให้มีการดำเนินโครงการวิจัยนี้

ผู้อำนวยการศูนย์ส่งเสริมสุขภาพ เขต 6 และเขต 10 และผู้อำนวยการโรงพยาบาลแม่และเด็กของทั้งสองเขต ที่เห็นความสำคัญในการใช้เทคนิคใหม่นี้ตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูก และสนับสนุนตัวอย่างเซลล์ปากมดลูกเพื่อใช้ทดสอบ ตลอดจนเจ้าหน้าที่ของทั้งสองเขตที่ช่วยเก็บตัวอย่าง และดำเนินการส่งตัวอย่าง

คุณวัชรา กาญจน์กีรติ และ ดร.กิติพงษ์ หาญเจริญ ที่ช่วยตรวจตัวอย่างเซลล์ปากมดลูก ด้วยวิธีอินฟราเรด

คุณฉวีวรรณ ศรีสวัสดิ์ และเจ้าหน้าที่ของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ทุกท่าน ที่ช่วยเตรียมตัวอย่าง และเก็บข้อมูล

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนด้วยเงินอุดหนุนงบประมาณแผ่นดิน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

เลขหมู่ จส
จพ 15
เลขทะเบียน 012051
วัน,เดือน,ปี 23 ตค. 47

ชื่อโครงการวิจัย การใช้เทคนิคอินฟราเรดตรวจมะเร็งปากมดลูกในส่วนภูมิภาค

ชื่อผู้วิจัย

1. รัตนา สินธุภัค
2. สมชาย อิสระวาณิชย์
3. วีนัส อุดมประเสริฐกุล
4. ไพลิน ศรีสุขโข
5. อรอุมา ซองรัมย์
6. เริงศักดิ์ บุญบรรดาลชัย

เดือนและปีที่วิจัยเสร็จ กันยายน 2546

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ เพื่อทดสอบวิธีการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานฟอร์มอินฟราเรดสเปคโตรสโกปี ว่าสามารถนำไปใช้ได้ทั้งในส่วนกลางและส่วนภูมิภาค

รูปแบบการวิจัย การวิจัยเชิงพรรณนาโดยเก็บข้อมูลแบบตัดขวาง

สถานที่ทำการศึกษา สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร โรงพยาบาลแม่และเด็ก ศูนย์ส่งเสริมสุขภาพเขต 6 ขอนแก่น และเขต 10 เชียงใหม่

วิธีการศึกษา เก็บตัวอย่างเซลล์ปากมดลูกจากผู้มารับบริการตรวจ Pap smear ที่โรงพยาบาลแม่และเด็ก ศูนย์ส่งเสริมสุขภาพเขต 6 ขอนแก่น และเขต 10 เชียงใหม่ จำนวนทั้งหมด 1,652 ราย นำมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานฟอร์มอินฟราเรดสเปคโตรสโกปี (FTIR) แล้วเปรียบเทียบกับผลการตรวจ Pap smear

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการศึกษา ตัวอย่างที่มีปริมาณเซลล์ปากมดลูกเพียงพอและสามารถตรวจด้วยเทคนิค FTIR ได้ มีจำนวน 495 ราย พบว่าให้ผลบวก 100 ราย ซึ่งมีสเปกตรัมของเซลล์มะเร็ง peak frequency และ peak ratio แตกต่างกับเซลล์ปกติอย่างชัดเจน ผลการตรวจ Pap smear พบว่า 490 รายให้ผลลบ ซึ่งในจำนวนนี้ 98 ราย ให้ผลบวกจากเทคนิค FTIR

ปัญหาของวิธี FTIR นี้คือการได้เซลล์ปากมดลูกที่ไม่เพียงพอในการตรวจ ซึ่งจะต้องแก้ไขต่อไป

สรุป เทคนิค FTIR ให้สเปกตรัมของเซลล์มะเร็งที่แตกต่างจากเซลล์ปกติ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของมหาวิทยาลัยออตตาวา ประเทศคานาดา และที่จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถ้าได้มีการพัฒนาการเก็บตัวอย่างเซลล์ให้เพียงพอที่จะตรวจได้ และมีการติดตามผลผู้ที่ให้ผลบวกด้วยวิธี FTIR จนพิสูจน์ได้ว่าเป็นผลบวกจริง ก็จะทำให้เทคนิคนี้เป็นวิธีที่เหมาะสมในการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูก เพราะเป็นวิธีง่าย รวดเร็ว ราคาไม่แพง และสามารถตรวจได้ตั้งแต่ระยะเริ่มแรก

คำสำคัญ การตรวจคัดกรอง เทคนิคอินฟราเรดสเปคโตรสโกปี มะเร็งปากมดลูก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Project Title Infrared spectroscopy technology for detection of cervical cancer in rural region

Name of the Investigators 1. Ratana Sindhuphak 2. Somchai Issaravanich
3. Venus Udomprasertgul 4. Pailin Srisookho
5. Onuma Songrum 6. Rerngsak Boonbundarlchai

Year September 2003

Abstract

Objective To test the fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) technique for possible cervical cancer screening of Thai women in both center and rural regions.

Design Descriptive and crossectional study

Setting Institute of Health Research, Chulalongkorn University, Mother and Child Hospital, Health Promotion Center, Region 6 Khon Kaen and region 10 Chiang Mai.

Method The 1,652 cervical specimens were obtained from patients who came to check up for cervical cancer screening (Pap smear) at Mother and Child Hospital, Health Promotion Center, Region 6 Khon Kaen and Region 10 Chiang Mai. The samples were analyzed by FTIR technique and compared to standard Pap smear.

Result Only 495 samples had enough cervical cells for analysis by FTIR technique. One hundred specimens had FTIR positive, showing spectra, peak frequencies and peak ratios difference from normal spectra. For standard Pap smears, 490 patients had negative results, of which 98 cases had positive by FTIR.

The problem of this FTIR method is inadequate cervical cell sample. that must be solved.

Conclusion FTIR technique showed the difference of cervical cells spectra between cancer and normal cells. These findings are similar to previous study at Ottawa University and Chulalongkorn University. If the sample collection technique is developed to get sufficient cell material for detection and the positive results can be proved to be real positive, therefore, this technique is appropriate for cervical cancer screening because it serves as easy, rapid, economical procedure and can diagnosis for early detection.

Key words Screening, Infrared Spectroscopy Technology, Cervical Cancer

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	II
บทคัดย่อ - ภาษาไทย	III
บทคัดย่อ - ภาษาอังกฤษ	V
สารบัญ	VII
บทนำ	1
ระเบียบวิธีวิจัย	8
ผลการวิจัย	12
การอภิปรายผล	20
ข้อสรุป	23
ข้อเสนอแนะ	23
เอกสารอ้างอิง	24

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตารางประกอบ

หน้า

ตารางที่ 1	แสดงจำนวนตัวอย่างที่ได้มา และที่วิเคราะห์ได้ด้วยวิธี FTIR	12
ตารางที่ 2	ผลการตรวจตัวอย่างเซลล์ปากมดลูก ด้วยเทคนิค FTIR	12
ตารางที่ 3	ผลการตรวจตัวอย่างเซลล์ปากมดลูก ด้วยวิธี PAP ปกติ	13
ตารางที่ 4	เปรียบเทียบผลการตรวจด้วย เทคนิค FTIR กับ PAP	13
ตารางที่ 5	ความถี่ (frequency), vibrational mode และ major contribution ของสเปกตรัม ในช่วงความถี่ 950-1,600 ซม$^{-1}$	15
ตารางที่ 6	แสดงค่าความถี่ของการดูดกลืนแสงอินฟราเรด เปรียบเทียบค่าที่ได้จากเซลล์ปกติ และผิดปกติ (ขอนแก่น ครั้งที่ 1)	16
ตารางที่ 7	แสดงค่าความถี่ของการดูดกลืนแสงอินฟราเรด เปรียบเทียบค่าที่ได้จากเซลล์ปกติ และผิดปกติ (ขอนแก่น ครั้งที่ 2)	16
ตารางที่ 8	แสดงค่าความถี่ของการดูดกลืนแสงอินฟราเรด เปรียบเทียบค่าที่ได้จากเซลล์ปกติ และผิดปกติ (เชียงใหม่)	17
ตารางที่ 9	แสดงผลรวมของค่าเฉลี่ยความถี่ของการดูดกลืนแสงอินฟราเรด เปรียบเทียบค่าที่ได้จากเซลล์ปกติ และผิดปกติ ของทั้งขอนแก่น และเชียงใหม่	17
ตารางที่ 10	แสดงค่าเฉลี่ย peak ratio เปรียบเทียบค่าที่ได้จากเซลล์ปกติ และผิดปกติ (ขอนแก่น 1)	18
ตารางที่ 11	แสดงค่าเฉลี่ย peak ratio เปรียบเทียบค่าที่ได้จากเซลล์ปกติ และผิดปกติ (ขอนแก่น 2)	18
ตารางที่ 12	แสดงค่าเฉลี่ย peak ratio เปรียบเทียบค่าที่ได้จากเซลล์ปกติ และผิดปกติ (เชียงใหม่)	19
ตารางที่ 13	แสดงผลรวมของค่าเฉลี่ย peak ratio จากตัวอย่างเซลล์ขอนแก่น และเชียงใหม่ และเปรียบเทียบค่าที่ได้ของเซลล์ปกติ และผิดปกติ	19

สารบัญภาพประกอบ

หน้า

รูปที่ 1	รูปแสดงมะเร็งปากมดลูก ลักษณะเป็นก้อนเนื้อเหมือนดอกกะหล่ำ อาจยื่นออกมาจากปากมดลูก	2
รูปที่ 2	เครื่องอินฟราเรดสเปคโตรมิเตอร์ (FOURIER TRANSFORM INFRARED SPECTROMETER, FTIR)	7
รูปที่ 3	แสดงวิธีการเก็บและการเตรียมเซลล์ปากมดลูกเพื่อการทดสอบ	9
รูปที่ 4	แสดงวิธีการทำเซลล์ให้แห้งด้วยเครื่องเป่าผม (ใช้ลมเย็น)	11
รูปที่ 5	แสดงสเปคตรัมการดูดกลืนแสงอินฟราเรดของเซลล์ปากมดลูกปกติ (Normal) และเซลล์ปากมดลูกผิดปกติ (Abnormal) ในช่วงความถี่ 950-1,500 ซม$^{-1}$	14

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การใช้เทคนิคอินฟราเรดตรวจมะเร็งปากมดลูกในส่วนภูมิภาค

บทนำ

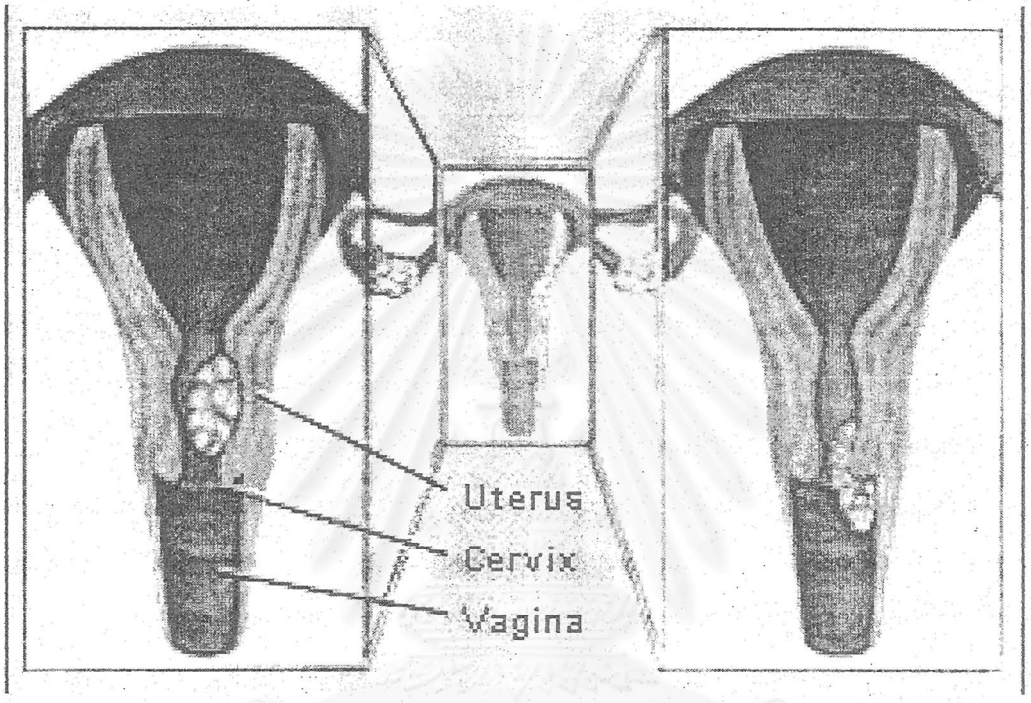
มะเร็งปากมดลูก เป็นมะเร็งที่พบได้มากที่สุดในสตรีไทย และเป็นสาเหตุของการเสียชีวิตอันดับแรกๆ ของสตรีจากการเป็นมะเร็ง (รูปที่ 1) จำนวนผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูกขณะนี้ พบมีอัตราประมาณ 30-40 คน/ประชากร 100,000 คน หรือคิดเป็น 18,000-24,000 คน/ปี (Cancer statistics,1989-1994; 2001; Vatanasapt และคณะ 2002) อุบัติการของมะเร็งปากมดลูก ในปี 2535-2537 จากจังหวัดขอนแก่น และจังหวัดเชียงใหม่ มีอัตรา 18.0 และ 25.5 ต่อประชากรสตรี 100,000 คน (Deerasamee และคณะ, 1999)

จำนวนผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูกในภาคต่างๆ ของประเทศ มีดังนี้ (Cancer statistics, 2001)

	ASR* per 100,000
ภาคเหนือ (เชียงใหม่)	29.7
ภาคกลาง (กรุงเทพฯ)	20.9
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (ขอนแก่น)	23.9
ภาคใต้ (สงขลา)	18.5

ASR* = age-standardized incidence rates

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 1 รูปแสดงมะเร็งปากมดลูก ลักษณะเป็นก้อนเนื้อเหมือนดอกกะหล่ำ อาจยื่นออกมาจากปากมดลูก (http://www.thaiclinic.com/medbible/cacervix.html)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ถ้าสามารถป้องกันมะเร็งปากมดลูกได้ ก็จะลดการสูญเสียต่างๆ ได้อย่างมหาศาล เพราะผู้ป่วยเป็นมะเร็งปากมดลูกหนึ่งคน จะเกิดความสูญเสียอย่างมาก เนื่องจากมะเร็งชนิดนี้มักเป็นในสตรีอายุ 40-60 ปี ซึ่งเป็นวัยแห่งประสิทธิภาพ วัยทำงาน โรคนี้มีผลกระทบต่อผู้ป่วยเองทั้งสุขภาพกาย สุขภาพจิต ต่อหน้าที่การงาน ผลิตผลที่ควรจะได้ รายได้ที่ควรจะได้รับ แต่ผลกระทบมิได้จำกัดอยู่เฉพาะผู้ป่วยเอง ยังมีผลต่อลูก สามี พ่อ-แม่ ญาติพี่น้อง ค่าใช้จ่ายดูแลรักษา คนที่จะดูแล อีกทั้งมีผลทางด้านจิตใจอีก เป็นลูกโซ่กันไปหมด นอกจากนี้ยังทำให้สังคมและประเทศชาติต้องสูญเสียทรัพยากรมนุษย์ มะเร็งปากมดลูกจึงเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญปัญหาหนึ่งของประเทศไทย

การเกิดมะเร็งจะเริ่มจาก เซลล์บุผิวของปากมดลูกที่ผิดปกติแต่ยังไม่ถึงกับเป็นมะเร็ง นักวิทยาศาสตร์เชื่อว่าเซลล์เหล่านี้จะเปลี่ยนเป็นมะเร็งภายหลัง เรียกว่า precancerous บางครั้งแพทย์อาจจะใช้คำ squamous intraepithelial lesion (SIL) ซึ่งพบได้ 2 แบบ

- Low-grade SIL หมายถึงการเปลี่ยนแปลงเริ่มแรกของ รูปร่าง ขนาด และจำนวน บางครั้งอาจหายไปเองแต่ก็มีจำนวนหนึ่งเปลี่ยนไปเป็น High-grade SIL บางครั้งเรียก mild dysplasia
- High-grade SIL หมายถึงการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เยื่อบุมดลูกที่เปลี่ยนไปจากเดิมชัดเจน ถ้าเซลล์อยู่เฉพาะปากมดลูกเรียก moderate or severe dysplasia

(http://siamhealth.net/Disease/cancer/cervixcancer.htm)

สาเหตุยังไม่ทราบแน่ชัดแต่พบว่ามีหลายปัจจัยเป็นความเสี่ยง ได้แก่

- พบอัตราการเกิดมะเร็งปากมดลูกในสตรีที่แต่งงานแล้วหรือมีประวัติมีเพศสัมพันธ์มากกว่าสตรีที่ยังไม่เคยมีเพศสัมพันธ์
- การมีเพศสัมพันธ์ก่อนอายุ 18 ปี และการมีสำส่อนทางเพศ (มีคู่นอนหลายคน) เชื่อว่าเกิดจากเชื้อไวรัส HPV (human papilloma viruses)
- สตรีที่ผ่านการคลอดบุตรมาแล้วมีโอกาสเป็นมากกว่าสตรีที่ไม่เคยคลอดบุตร สาเหตุดังกล่าว น่าจะมาจากการเป็นแผลบริเวณปากมดลูก ที่เกิดจากการคลอดบุตรหลายครั้ง และแผลดังกล่าวไม่ได้รับการรักษาให้หายขาด
- สตรีที่มีอาการของแผลอักเสบเรื้อรังบริเวณปากมดลูก ไม่ว่าจะเกิดจากเชื้อไวรัส เชื้อแบคทีเรีย หรือเชื้อพยาธิอื่น ๆ จะมีอัตราการเกิดมะเร็งปากมดลูกสูงกว่าคนปกติ

- สตรีที่มีการศึกษาน้อย มีฐานะไม่ค่อยจะสู้ดี และอยู่ในชนบท มีโอกาสเสี่ยงต่อมะเร็งปากมดลูกมากกว่าสตรีที่มีการศึกษาสูง มีฐานะค่อนข้างดี และอยู่ในเมืองหลวง เพราะผู้ที่มีการศึกษาน้อยมักจะไม่มีการดูแลสุขภาพของตนเอง ทำให้พลาดการตรวจพบในระยะแรกเริ่มเพื่อทำการรักษาได้ทันท่วงที ทำให้สตรีที่น่าสงสารเหล่านี้ ต้องจบชีวิตลงจากโรคมะเร็งปากมดลูกเป็นจำนวนมาก เพราะผู้ป่วยที่มาพบแพทย์มักจะเป็นระยะสุดท้ายแทบทั้งสิ้น
- การสูบบุหรี่
- การได้รับฮอร์โมนทดแทนชนิด diethylstilbestrol ระหว่างตั้งครรภ์
- ภูมิคุ้มกันบกพร่อง
- มีสามี ซึ่งภรรยาคนก่อนของสามีเป็นมะเร็งปากมดลูก
- เคยเป็นโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์
- ประวัติครอบครัวมีมารดาหรือพี่น้องที่เป็นโรคนี้

มีผู้รายงานการได้รับวิตามิน A ป้องกันมะเร็งได้
(http://siamhealth.net/Disease/cancer/cervixcancer.htm;
http://siamhealth.net/Disease/cancer/cervixcancer.htm;
http://www.thaibaby.com/a%20ca%20cervix.htm)

มะเร็งปากมดลูกนี้ ถ้าตรวจพบในระยะเริ่มแรก (Pre-invasive stage) สามารถรักษาให้หายขาดได้ไม่ยาก แต่ถ้าทิ้งไว้จนเข้าสู่ระยะลุกลาม (Invasive stage) แล้ว จะทำให้การรักษายุ่งยากมากขึ้น และต้องเสียค่าใช้จ่ายที่สูงขึ้น ทั้งในส่วนภาครัฐ และในส่วนของผู้ป่วยเอง

การตรวจมะเร็งปากมดลูกโดยวิธี Papanicolaou smear (Pap smear) เป็นการตรวจทางเซลล์วิทยาเพื่อการหามะเร็งปากมดลูกระยะเริ่มต้น เพื่อการรักษาแต่เนิ่นๆ ภาวะก่อนมะเร็งและต้องใช้ระยะเวลาการเปลี่ยนแปลงเพื่อเป็นมะเร็งระหว่าง 2-15 ปี เชื้อไวรัสชนิด Human papilloma viruses (HPV) เชื่อว่าเป็นสาเหตุของการเกิด ภาวะก่อนมะเร็ง และมะเร็งปากมดลูก มีเชื้อไวรัสชนิด HPV มากกว่า 60 ชนิด ซึ่งมากกว่า 10 ชนิดจะติดเชื้อบริเวณ อวัยวะสืบพันธุ์ โอกาสเกิดมะเร็งเนื่องจากสัมผัส เชื้อไวรัส มักจะเกิดในช่วงอายุ 20-30 ปี และ ภาวะก่อนมะเร็ง มักจะเกิดในช่วงอายุ 30-40 ปี และ มะเร็งปากมดลูก มักเกิดในช่วงอายุ 50-60 ปี

พลสมุทกลาง ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พบว่ามากกว่า 50% ของผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูก ไม่เคยตรวจ Pap smear อย่างน้อย 5 ปี และในส่วนที่เหลือ มักจะมีการตรวจมะเร็งปากมดลูกซึ่งมีผลเป็น ผิดปกติ หรือ ผลลบลวง ผลลบลวงพบได้ประมาณ 15-70% (รัตนา 2539; Van der Graaf 1987; Pairwuti 1991; Sherman และ Kelly 1992; Dehner 1993) การตรวจมะเร็งปากมดลูก หลายครั้งจะช่วยลดโอกาสเกิดผลลบลวง โอกาสที่จะเกิดผลลบลวงในการตรวจมะเร็งปากมดลูก ติดต่อกัน 3 ครั้ง อย่างสม่ำเสมอ 1-2 ปีต่อครั้ง เท่ากับ 0.8% (คมสันติ์, http://www.thaiclinic.com/medbible/cacervix.html) จะทำให้ค้นพบโรคนี้ได้ตั้งแต่ระยะเริ่มแรก ทำให้สามารถรักษาโรคให้หายขาดได้ โดยเสียค่าใช้จ่ายแต่น้อย และผลข้างเคียงหรือการทุพพลภาพจากการรักษาน้อย ทำให้ผู้ป่วยยังคงมีความสามารถในการประกอบอาชีพต่อไปได้เหมือนปกติ แต่ในปัจจุบันนี้การบริการ Pap smear ยังขาดแคลนอย่างมาก มีบริการก็เฉพาะในโรงพยาบาลใหญ่ๆ ของรัฐ หรือโรงพยาบาล เอกชนที่มีค่าใช้จ่ายสูง ประชาชนส่วนใหญ่โดยเฉพาะในชนบทไม่มีโอกาสได้รับการบริการนี้ หรือได้รับ บริการไม่สม่ำเสมอเท่าที่ควร

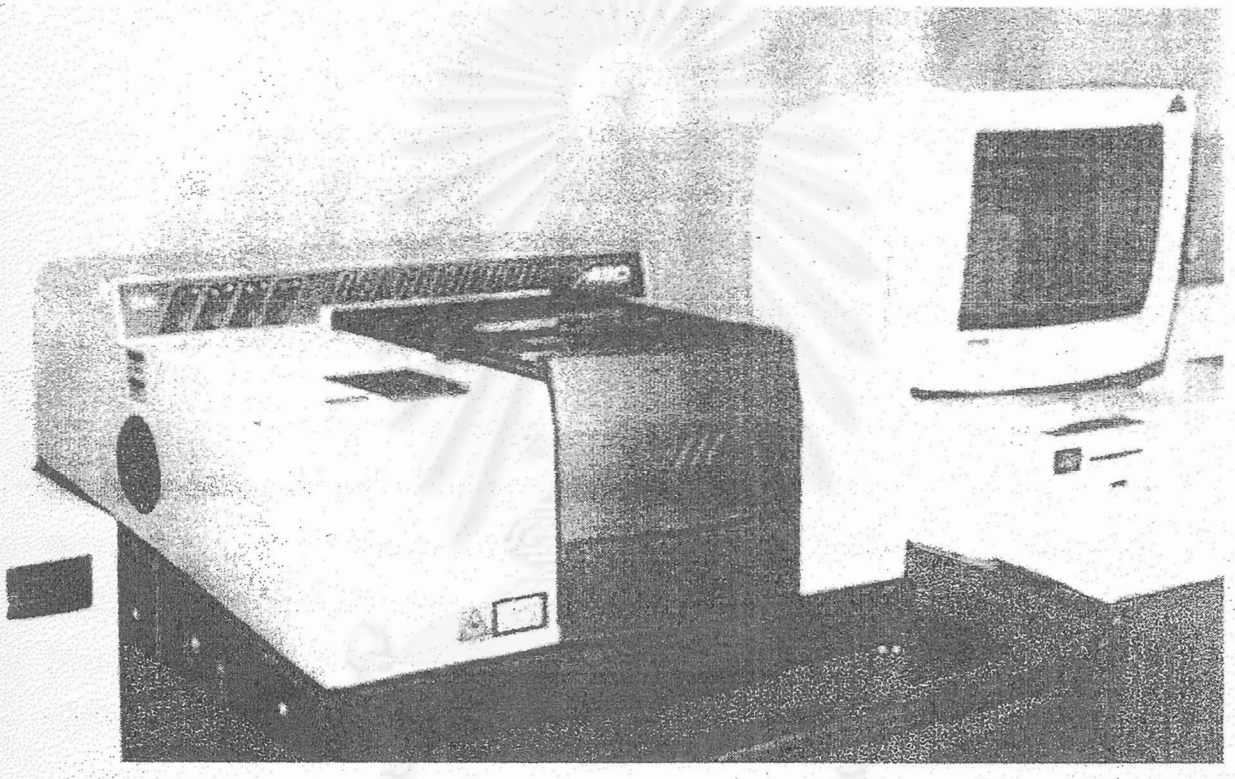
ปัจจุบัน ถึงแม้ว่าการบริการ Pap smear จะมีทั่วไปในโรงพยาบาล และคลินิก ทั้งในภาครัฐ และเอกชน แต่ปัญหาอยู่ที่ประชาชนยังไม่เห็นความสำคัญของการตรวจคัดกรองของโรคมะเร็งดังกล่าว โดยเฉพาะในชนบทห่างไกลยังไม่มีโอกาส หรือมีโอกาสน้อยในการได้รับบริการนี้อย่างสม่ำเสมอเท่าที่ควร

ปัญหาการขาดแคลนการบริการ Pap smear ในส่วนภูมิภาคปัจจุบัน เกิดจากการขาดบุคลากรที่มีความชำนาญหรือเชี่ยวชาญในการอ่านและแปลผลความผิดปกติของเซลล์ปากมดลูกโดยการส่องกล้องจุลทรรศน์ และการรายงานผลที่ยังต้องใช้เวลานาน การอบรมผู้อ่านผล Pap smear แต่ละคนต้องใช้เวลาถึง 2 ปี และสามารถรับผู้เข้าอบรมได้จำกัดเพียงปีละไม่เกิน 20 คน (โรงเรียนเลิกไปหลายปีแล้ว) ผู้อ่าน Pap smear เหล่านี้เมื่อมีอายุมากขึ้น สายตาจะเลือมลง ทำให้ความสามารถในการอ่านลดลงไปตามลำดับ จำนวน Pap smear ที่อ่านได้ก็น้อยลง และการแปลผลผิดพลาดก็อาจสูงขึ้น ผู้อ่านหลายคนจำเป็นต้องเลิกอ่าน บางคนขอเปลี่ยนงาน ลาออก หรือออกเพราะครบเกษียณอายุราชการ เป็นผลให้บุคลากรที่เชี่ยวชาญ มีประสบการณ์ลดน้อยลง ต้องเสียเวลาในการฝึกอบรมคนใหม่ต่อไป นอกจากนี้วิธี Pap smear ยังให้ผลลบลวงสูง ตั้งแต่ร้อยละ 15 ถึงร้อยละ 70 (รัตนา 2539; Van der Graaf และคณะ 1987; Pairwuti 1991; Sherman และ Kelly 1992; Dehner 1993; Nuovo และคณะ 2001) และในประเทศไทย ยังขาดระบบบริการ

อย่างเป็นทางการที่ครอบคลุมในการให้บริการ Pap smear ในระดับชุมชน ผลการสำรวจของอรอนงค์ (2545) ที่ อำเภอน้ำพอง จังหวัดขอนแก่น พบว่า สตรีร้อยละ 66.9 ได้รับการตรวจ Pap smear อย่างน้อย 1 ครั้ง และร้อยละ 33.1 ไม่เคยได้รับการตรวจเลย (Kritpetcharat และคณะ, 2003)

เทคนิคของฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปคโตรสโกปี (FOURIER TRANSFORM INFRARED SPECTROSCOPY TECHNOLOGY) หรือ FTIR (รูปที่ 2) เป็นวิธีการตรวจหาเซลล์มะเร็งปากมดลูกวิธีใหม่ (Wong และคณะ 1991; Wong และคณะ 1995; Morris และคณะ 1995; Chiriboga และคณะ 1998; Menashi และคณะ 1998; Neviliappan และคณะ 2002) ซึ่งใช้แสงอินฟราเรดศึกษาความเปลี่ยนแปลงของเซลล์ในระดับโมเลกุลในการวินิจฉัยความผิดปกติที่เกิดขึ้นกับเนื้อเยื่อในส่วนต่างๆ ของร่างกายรวมถึงโรคมะเร็ง โดยไม่ต้องพึ่งพาการตรวจวินิจฉัยด้วยกล้องจุลทรรศน์ และการอ่านผลด้วยสายตาของ Cytopathologist หรือ Cytotechnologist เหมือนแต่ก่อน เป็นการลดความผิดพลาดเนื่องจากความเหนื่อยล้าจากการอ่านสไลด์ที่ต้องดูกล้องเป็นเวลานานๆ (fatigue related error) ซึ่งวิธี FTIR ให้ความแม่นยำสูงในการตรวจหาเซลล์มะเร็ง เพราะใช้คอมพิวเตอร์ และซอฟท์แวร์ช่วยในการวิเคราะห์ผลที่ได้ ช่วยลดความผิดพลาดที่เกิดจากผู้วิเคราะห์ที่ขาดประสบการณ์ หรือมีประสบการณ์น้อย ด้วยวิธี FTIR สามารถตรวจตัวอย่างได้หลายร้อยตัวอย่างในแต่ละวัน เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการทำงาน และลดค่าใช้จ่ายที่ต้องใช้คนอ่านสไลด์หลายๆ คนลงได้เป็นอย่างมาก (รัตนา 2539; รัตนา และ คณะ, 2546; Sindhuphak และคณะ 2003)

ผลที่ได้จากการวิจัยนี้ จะเป็นการทดสอบยืนยันว่า วิธีการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกระยะเริ่มแรกในสตรี ด้วยการใช้เทคนิคฟูเรียร์ทรานฟอร์มอินฟราเรดสเปคโตรสโคปี สามารถใช้ได้ทั้งในส่วนกลางและส่วนภูมิภาค เมื่อเปรียบเทียบผลที่ได้กับวิธี Pap smear ปกติ อาจนำไปพัฒนาเป็นรูปแบบที่ใช้ในการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกในประเทศไทย และสามารถเสนอเทคนิคนี้ต่อกระทรวงสาธารณสุข เพื่อใช้เป็นเทคนิคที่เหมาะสมในการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกระยะเริ่มแรกในสตรีไทยต่อไป



รูปที่ 2 เครื่องอินฟราเรดสเปคโตรมิเตอร์ (FOURIER TRANSFORM INFRARED SPECTROMETER, FTIR)

ระเบียบวิธีวิจัย

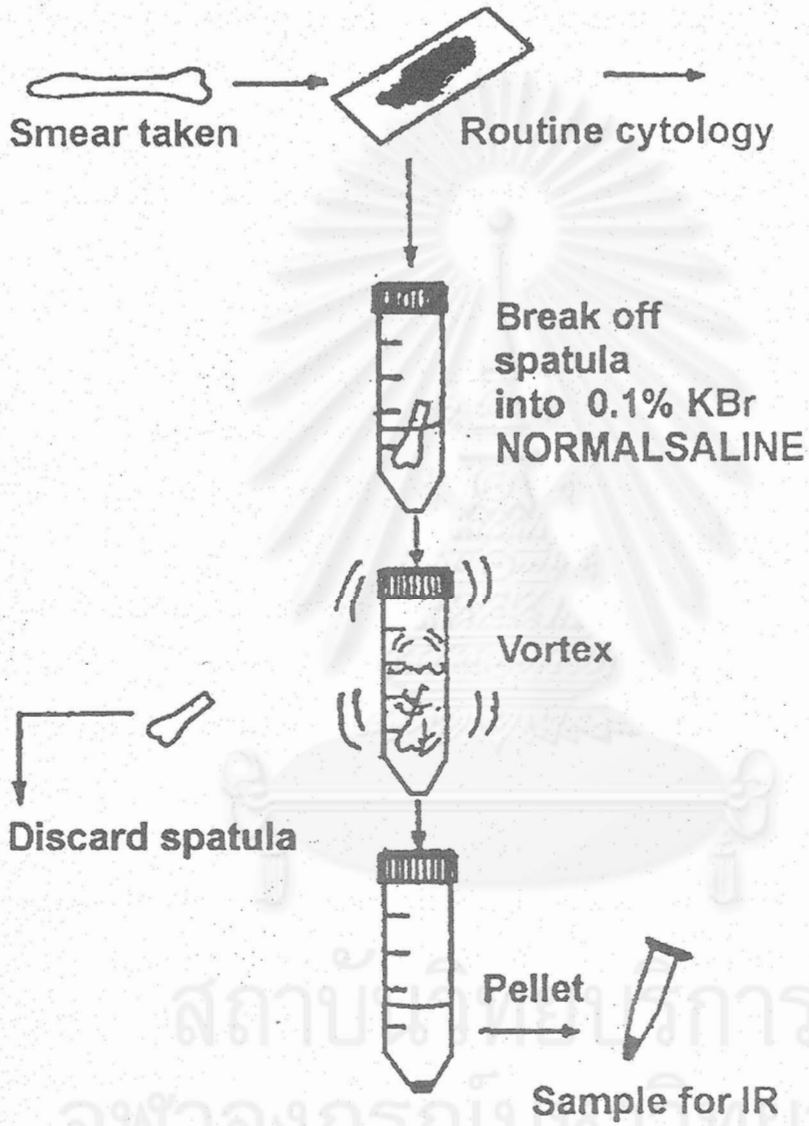
1. การคัดเลือกอาสาสมัคร และการสัมภาษณ์

คัดเลือกอาสาสมัครจากสตรีที่มารับการบริการตรวจหามะเร็งปากมดลูก ด้วยวิธี Pap smear ปกติ ณ โรงพยาบาลแม่และเด็ก ศูนย์ส่งเสริมสุขภาพ เขต 6 จังหวัดขอนแก่น ครั้งที่ 1 จำนวน 643 ราย ครั้งที่ 2 จำนวน 500 ราย และเขต 10 จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 508 ราย รวม 1651 ราย อาสาสมัครทุกคนจะได้รับการสัมภาษณ์ เพื่อให้ได้ข้อมูลเกี่ยวกับอาสาสมัครครบถ้วน ด้านประวัติ พฤติกรรมเกี่ยวกับสุขภาพ และด้านภาวะสุขภาพ เพื่อนำมาใช้ประกอบในการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูก ด้วยวิธี FTIR

2. การเก็บตัวอย่างเซลล์ปากมดลูก (รัตนา และคณะ 2541: Sindhuphak และคณะ 2003)

เก็บตัวอย่างเซลล์ปากมดลูก โดยใช้ spatula ไม้ ป้ายขอบนอกของปากมดลูก พยายามหลีกเลี่ยง mucus แยกส่วนหนึ่งป้ายลงบนสไลด์เพื่อทำ Pap smear (แช่ใน 95 เปอร์เซ็นต์ ethanol อย่างน้อย 15 นาที) ส่วนที่เหลือใส่ลงใน centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร ที่มี 10 มิลลิลิตร ของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ KBr (น้ำหนัก/ ปริมาตร) ใน Normal saline หัก spatula ส่วนที่เกินหลอดออก และปิดจุกให้แน่น เก็บไว้ที่ –20 องศาเซลเซียส หรือแช่ไว้ในช่องแช่แข็งของตู้เย็นธรรมดา ก่อนนำส่งห้องปฏิบัติการของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยต่อไป (รูปที่ 3)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3 แสดงวิธีการเก็บและการเตรียมเซลล์ปากมดลูกเพื่อการทดสอบ

3. **การส่งตัวอย่างเซลล์ปากมดลูก**

การส่งตัวอย่างเซลล์ปากมดลูก และสไลด์ Pap smear ทำเดือนละ 2 ครั้ง เฉพาะตัวอย่างเซลล์ปากมดลูกที่อยู่ใน centrifuge tube ให้บรรจุในกล่องโฟมที่มีน้ำแข็งแห้งอยู่ ส่งตัวอย่างทั้งหมดทางเครื่องบิน จะมีเจ้าหน้าที่ของสถาบันฯ ไปรับที่สนามบิน และนำกลับมายังสถาบันฯ ในวันเดียวกัน เพื่อเตรียมเซลล์ตัวอย่างสำหรับตรวจด้วยวิธี FTIR ต่อไป

4. **การเตรียมตัวอย่างเซลล์ปากมดลูก** (รัตนา และคณะ 2546; Sindhuphak และคณะ 2003)

4.1 ผสมเซลล์ปากมดลูกที่อยู่ใน Normal saline ให้เข้ากันด้วย Vortex mixture ใช้ปากคีบ คีบ Spatula ไม้ทิ้ง และนำไปปั่นด้วย centrifuge ที่ 3,600 รอบ เป็นเวลา 15 นาที

4.2 ดูดส่วนน้ำใสทิ้ง และดูดเซลล์ที่อยู่ก้น centrifuge tube ใส่ใน microfuge tube นำไปปั่นด้วย centrifuge ที่ 6,000 รอบ เป็นเวลา 10 นาที

4.3 ดูดส่วนน้ำใสทิ้ง และเก็บเซลล์ปากมดลูก ไว้ที่อุณหภูมิ –70 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการทดลองวิเคราะห์ด้วยวิธี FTIR ต่อไป

5. **การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค** FTIR (รัตนา และคณะ 2546; Sindhuphak และคณะ 2003)

5.1 หยดเซลล์ปากมดลูก (จากข้อ 4.3) ลงบน sample holder เป่าให้แห้งด้วยเครื่องเป่าผมโดยใช้ลมเย็น (รูปที่ 4) และนำไปวัด spectrum ด้วยเครื่อง FTIR Spectrometer

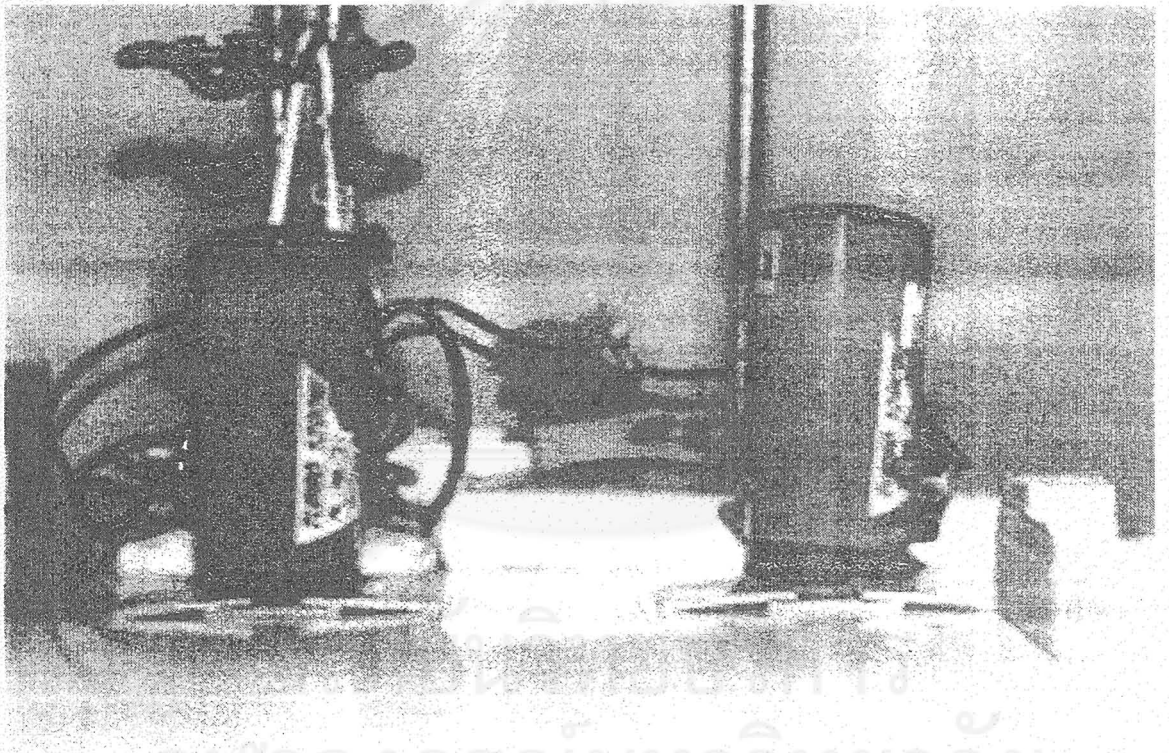
5.2 นำ spectrum ที่วัดได้จากข้อ 5.1 มาวิเคราะห์คำนวณผลที่ได้โดยใช้ซอฟท์แวร์สำเร็จรูป ที่ได้รับความอนุเคราะห์จาก Prof. Patrick TT Wong แห่งมหาวิทยาลัยออตตาวา ประเทศคานาดา

5.3 ศึกษารูปแบบของ spectrum, frequency และค่าที่คำนวณได้ กับค่า cut point ที่ได้จาก gold standard ที่สำคัญคือ intensity ratio ของ A/B ในเซลล์ปกติ ต้องมีค่า 1.4 ขึ้นไป และ D/C มีค่า ไม่เกิน 0.28

6. **การวิเคราะห์ข้อมูล**

ข้อมูลที่ตรวจได้โดยวิธี FTIR และ วิธี Pap smear วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS

เปรียบเทียบผลของ FTIR ที่ได้จากการทดลอง ด้วยการนำค่า cut point ของผลการศึกษาที่ผ่านมาเป็นเกณฑ์ (รัตนา และคณะ 2546; Sindhuphak และคณะ 2003) ระหว่าง ผลปกติ และผิดปกติ ด้วย unpaired t-test



รูปที่ 4 แสดงวิธีการทำเซลล์ให้แห้งด้วยเครื่องเป่าผม (ใช้ลมเย็น)

ผลการวิจัย

จำนวนตัวอย่างเซลล์ปากมดลูกทั้งหมด 1,652 ตัวอย่าง ได้จาก โรงพยาบาลแม่และเด็ก ศูนย์ส่งเสริมสุขภาพ เขต 6 จังหวัดขอนแก่น ครั้งที่ 1 จำนวน 643 ตัวอย่าง ครั้งที่ 2 จำนวน 500 ตัวอย่าง และจากเขต 10 จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 508 ตัวอย่าง ผลปรากฏว่ามีเซลล์ตัวอย่าง เพียง 165, 241 และ 89 ตัวอย่าง ตามลำดับ รวม 495 ตัวอย่าง หรือคิดเป็นร้อยละ 30 ที่สามารถตรวจวัดด้วยวิธี FTIR (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 แสดงจำนวนตัวอย่างที่ได้มา และที่วิเคราะห์ได้ด้วยวิธี FTIR

ตัวอย่างเซลล์ปากมดลูก	ขอนแก่น (1)	ขอนแก่น (2)	เชียงใหม่	รวม	
	n	n	n	n	%
จำนวนตัวอย่างที่ส่งมา	643	500	508	1,652	100.0
จำนวนตัวอย่างที่ตรวจด้วยวิธี FTIR ได้	165	241	89	495	30.0

การวิเคราะห์ด้วย

ผลการวิเคราะห์ด้วยวิธี FTIR จากจำนวนตัวอย่างเซลล์ปากมดลูก 495 ตัวอย่าง ที่ได้จากจังหวัดขอนแก่น ครั้งที่ 1 ครั้งที่ 2 และจังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 165, 241 และ 89 ราย ตามลำดับ พบว่าให้ผลผิดปกติ 24, 67 และ 10 ราย ตามลำดับ รวมมีเซลล์ผิดปกติ 100 ราย (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ผลการตรวจตัวอย่างเซลล์ปากมดลูก ด้วยเทคนิค FTIR

ผลการตรวจ	ขอนแก่น (1)		ขอนแก่น (2)		เชียงใหม่		รวม	
	n	%	n	%	n	%	n	%
ผลปกติ (-)	141	85.5	174	72.2	80	89.9	395	79.8
ผลผิดปกติ (+)	24	14.5	67	27.8	9	10.1	100	20.2
รวม	165	100.0	241	100.0	89	100.0	495	100.0

การวิเคราะห์ด้วยวิธี Pap smear

ผลการวิเคราะห์ด้วยวิธี Pap smear จากจำนวนตัวอย่างเซลล์ปากมดลูก 495 ตัวอย่าง เช่นกัน พบว่าให้ผลผิดปกติ 2, 1 และ 2 ราย ตามลำดับ รวมมีเซลล์ผิดปกติ 5 ราย (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ผลการตรวจตัวอย่างเซลล์ปากมดลูก ด้วยวิธี PAP ปกติ

ผลการตรวจ	ขอนแก่น (1)		ขอนแก่น (2)		เชียงใหม่		รวม	
	n	%	n	%	n	%	n	%
ผลปกติ (-)	163	98.8	240	99.6	87	97.8	490	99.0
ผลผิดปกติ (+)	2	1.2	1	0.4	2	2.2	5	1.0
รวม	165	100.0	241	100.0	89	100.0	495	100.0

เปรียบเทียบ ผลการตรวจด้วย เทคนิค FTIR กับ PAP ปกติ

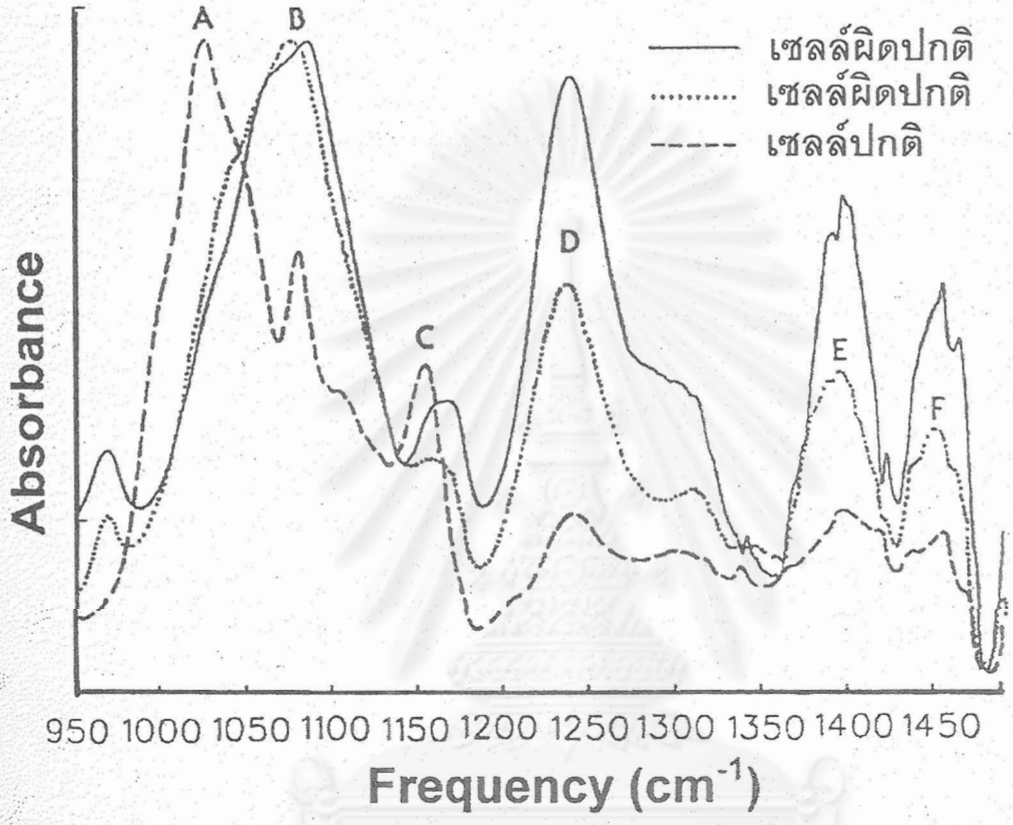
ผลการตรวจด้วย เทคนิค FTIR กับ วิธี Pap smear ปกติ เป็นผลรวมจากตัวอย่างเซลล์ปากมดลูก ของศูนย์ส่งเสริม สุขภาพ เขต 6 และ เขต10 แสดงผลการเปรียบเทียบไว้ใน ตารางที่ 4

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบผลการตรวจด้วย เทคนิค FTIR กับ PAP

ผล PAP	ผล FTIR		รวม	
	ผลปกติ (-)	*ผลผิดปกติ (+)*	n	%
ผลปกติ (-)	392	98	490	99.0
ผลผิดปกติ (+)	3	2	5	1.0
รวม	395 (79.8%)	100 (20.2%)	495	100

ศึกษารูปลักษณะของการดูดกลืนแสงอินฟราเรด

สเปกตรัมของการตรวจเซลล์ปากมดลูกที่ปกติ และผิดปกติ ในช่วงความถี่ 950-1,500 ซม$^{-1}$ แสดงไว้ใน รูปที่ 5



รูปที่ 5 แสดงสเปคตรัม การดูดกลืนแสงอินฟราเรดของเซลล์ปากมดลูกปกติ (Normal) และเซลล์ปากมดลูกผิดปกติ (Abnormal) ในช่วงความถี่ 950-1,500 ซม$^{-1}$

ศึกษาค่าความถี่ vibrational modes และ major contribution

รายงานนี้ได้ศึกษาถึงสเปกตรัม (spectrum) ในช่วงความถี่ 950-1600 ซม$^{-1}$ โดยแสดงรายละเอียดของความถี่ Vibrational mode และ Major contribution ของเซลล์ปากมดลูกไว้ในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ความถี่ (frequency), vibrational mode และ major contribution ของ สเปกตรัมในช่วงความถี่ 950-1,600 ซม$^{-1}$ (Wong และคณะ 1995)

Peak	Frequency (cm^{-1})	Vibrational mode	Major contribution
-	972	$-PO_2$	Nucleic acid และProtein
A	1,025	$-CH_2OH$	Glycogen
B	1,080	$-PO_2$	Nucleic acid
C	1,153	-C-OH	Carbohydrate
D	1,238	$-PO_2$	Nucleic acid
E	1,401	$-CH_3$	Protein
F	1,457	$-CH_3$	Protein
G	1,549	-C=O-N-C-	Protein Amide II
H	1,650	Amide I	Protein Amide I

การศึกษา peak frequencies

ค่าเฉลี่ยของ peak frequencies (mean $\pm$ SD) ของสเปกตรัมปกติ (normal) และผิดปกติ (abnormal) จากขอนแก่น ครั้งที่ 1 (ตารางที่ 6) ขอนแก่น ครั้งที่ 2 (ตารางที่ 7) และจากเชียงใหม่ (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 6 แสดงค่าความถี่ของการดูดกลืนแสงอินฟราเรด เปรียบเทียบค่าที่ได้จากเซลล์ปกติและผิดปกติ (ขอนแก่น ครั้งที่ 1)

Peak frequencies (cm^{-1})	Normal (n = 141)	Abnormal (n = 24)	P-Value
A	1024.97 ± 1.27	★1028.30 ± 5.77	0.010
B	1079.85 ± 0.74	1079.84 ± 1.54	0.979
C	1155.24 ± 0.66	★1156.21 ± 1.40	0.003
D	1238.43 ± 2.00	1237.47 ± 2.77	0.117
E	1414.05 ± 7.81	★1407.34 ± 7.57	0.000
F	1454.01 ± 2.71	1453.90 ± 1.81	0.806
G	1546.33 ± 3.39	★1544.15 ± 4.24	0.024
H	1649.23 ± 8.89	★1653.11 ± 7.35	0.027

★ = Significance ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม normal (ปกติ)

ตารางที่ 7 แสดงค่าความถี่ของการดูดกลืนแสงอินฟราเรด เปรียบเทียบค่าที่ได้จากเซลล์ปกติและผิดปกติ (ขอนแก่น ครั้งที่ 2)

Peak frequencies (cm^{-1})	Normal (n = 174)	Abnormal (n = 67)	P-Value
A	1023.63 ± 1.74	★1026.65 ± 4.22	0.000
B	1079.50 ± 0.89	1079.63 ± 1.29	0.456
C	1155.27 ± 0.73	★1156.17 ± 3.09	0.021
D	1237.79 ± 2.36	★1236.59 ± 2.09	0.000
E	1414.69 ± 7.60	★1408.97 ± 10.17	0.000
F	1452.82 ± 3.56	1425.83 ± 2.44	0.992
G	1545.72 ± 6.28	1544.14 ± 5.83	0.067
H	1636.52 ± 125.43	1623.98 ± 201.77	0.636

★ = Significance ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม normal (ปกติ)

ตารางที่ 8 แสดงค่าความถี่ของการดูดกลืนแสงอินฟราเรด เปรียบเทียบค่าที่ได้จากเซลล์ปกติและผิดปกติ (เชียงใหม่)

Peak frequencies (cm^{-1})	Normal (n = 80)	Abnormal (n = 9)	P-Value
A	1023.90 ± 0.88	★1026.07 ± 2.64	0.039
B	1079.40 ± 0.84	1079.79 ± 0.89	0.239
C	1155.40 ± 0.61	★1156.33 ± 1.20	0.050
D	1237.79 ± 1.43	★1235.70 ± 1.10	0.000
E	1417.42 ± 7.73	1422.32 ± 12.31	0.274
F	1453.97 ± 2.91	1455.65 ± 3.70	0.218
G	1546.09 ± 4.59	1545.41 ± 5.29	0.717
H	1647.34 ± 12.06	1645.87 ± 12.73	0.749

★ = Significance ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม normal (ปกติ)

ผลรวมค่าเฉลี่ยของ peak frequencies (mean ± SD) ของสเปกตรัมปกติ (normal) และผิดปกติ (abnormal) จากขอนแก่น *ครั้งที่ 1*, ขอนแก่น *ครั้งที่ 2* และจากเชียงใหม่ (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 แสดงผลรวมของค่าเฉลี่ยความถี่ของการดูดกลืนแสงอินฟราเรด เปรียบเทียบค่าที่ได้จากเซลล์ปกติ และผิดปกติ ของทั้งขอนแก่น 2 ครั้ง และเชียงใหม่

Peak frequencies (cm^{-1})	Normal (n = 395)	Abnormal (n = 100)	P-Value
A	1024.16 ± 1.56	★1026.99 ± 4.56	0.000
B	1079.60 ± 0.85	1079.69 ± 1.32	0.524
C	1155.29 ± 0.68	★1156.20 ± 2.63	0.001
D	1238.02 ± 2.09	★1236.72 ± 2.25	0.000
E	1415.02 ± 7.78	★1409.76 ± 10.52	0.000
F	1453.48 ± 3.19	1453.34 ± 2.56	0.647
G	1546.01 ± 5.07	★1544.25 ± 5.40	0.004
H	1643.25 ± 83.67	1632.94 ± 165.33	0.547

★ = Significance ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม normal (ปกติ)

ศึกษาค่าที่ได้จากการคำนวณ peak ratio

ค่าเฉลี่ย peak ratio A/B, D/C, D/G, E/F และ D/F ที่คำนวณได้จากเซลล์ปากมดลูกปกติ และผิดปกติ ของตัวอย่างเซลล์จากขอนแก่นครั้งที่ 1, ขอนแก่นครั้งที่ 2, จากเชียงใหม่ และค่าเฉลี่ยรวม แสดงด้วย mean $\pm$ SD ในตารางที่ 10, 11, 12 และ 13 ตามลำดับ

ตารางที่ 10 แสดงค่าเฉลี่ย peak ratio เปรียบเทียบค่าที่ได้จากเซลล์ปกติ และเซลล์ผิดปกติ (ขอนแก่น 1)

Peak ratio	Normal (n = 141)	Abnormal (n = 24)	P-Value
A/B	1.58 $\pm$ 0.16	*1.31 $\pm$ 0.22	0.000
D/C	0.26 $\pm$ 0.04	*0.89 $\pm$ 0.73	0.000
D/G	0.21 $\pm$ 0.06	0.23 $\pm$ 0.06	0.067
E/F	0.84 $\pm$ 0.12	0.81 $\pm$ 0.10	0.206
D/F	0.63 $\pm$ 0.17	0.79 $\pm$ 0.20	0.001

* = Significance ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม normal (ปกติ)

ตารางที่ 11 แสดงค่าเฉลี่ย peak ratio เปรียบเทียบค่าที่ได้จากเซลล์ปกติ และเซลล์ผิดปกติ (ขอนแก่น 2)

Peak ratio	Normal (n = 174)	Abnormal (n = 67)	P-Value
A/B	1.50 $\pm$ 0.16	*1.28 $\pm$ 0.23	0.000
D/C	0.26 $\pm$ 0.04	*0.72 $\pm$ 0.49	0.000
D/G	0.32 $\pm$ 0.22	0.34 $\pm$ 0.19	0.366
E/F	0.86 $\pm$ 0.10	0.86 $\pm$ 0.11	0.937
D/F	0.66 $\pm$ 0.13	*0.86 $\pm$ 0.23	0.000

* = Significance ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม normal (ปกติ)

ตารางที่ 12 แสดงค่าเฉลี่ย peak ratio เปรียบเทียบค่าที่ได้จากเซลล์ปกติ และผิดปกติ (เชียงใหม่)

Peak ratio	Normal (n = 80)	Abnormal (n = 9)	P-Value
A/B	1.62 ± 0.10	★1.32 ± 0.25	0.007
D/C	0.27 ± 0.03	★0.79 ± 0.46	0.009
D/G	0.33 ± 0.23	0.32 ± 0.09	0.905
E/F	0.87 ± 0.13	0.86 ± 0.26	0.908
D/F	0.76 ± 0.12	0.89 ± 0.35	0.282

★ = Significance ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม normal (ปกติ)

ตารางที่ 13 แสดงผลรวมของค่าเฉลี่ย peak ratio จากตัวอย่างเซลล์ขอนแก่น และเชียงใหม่ และเปรียบเทียบค่าที่ได้ของเซลล์ปกติ และผิดปกติ

Peak ratio	Normal (n = 395)	Abnormal (n = 100)	P-Value
A/B	1.55 ± 0.16	★1.29 ± 0.23	0.000
D/C	0.26 ± 0.04	★0.77 ± 0.55	0.000
D/G	0.28 ± 0.19	0.32 ± 0.17	0.065
E/F	0.85 ± 0.11	0.85 ± 0.13	0.587
D/F	0.67 ± 0.15	★0.84 ± 0.23	0.000

★ = Significance ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม normal (ปกติ)

การอภิปรายผล

การตรวจเซลล์ปากมดลูกด้วยวิธี FTIR นั้น การเก็บเซลล์ตัวอย่างให้เพียงพอที่จะทำการทดลองได้นับว่ามีส่วนสำคัญมากประการหนึ่ง โครงการนี้ต้องการที่จะได้จำนวนตัวอย่างประมาณ 1,500 ราย เพื่อเป็นตัวแทนของชุมชนส่วนภูมิภาค ในอันที่จะทดสอบความเป็นไปได้ที่จะใช้เทคนิค FTIR ตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกระยะเริ่มแรก งานวิจัยนี้ได้ตัวอย่างทั้งหมด 1,652 ราย จาก โรงพยาบาลแม่และเด็ก ศูนย์ส่งเสริมสุขภาพ เขต 6 (จังหวัด ขอนแก่น) และ เขต 10 (จังหวัดเชียงใหม่) แต่มีเพียง 495 ราย (30%) ที่ตรวจได้ด้วยวิธี FTIR (ตารางที่ 1) เพื่อให้ตัวอย่างที่เก็บทุกตัวอย่างเพียงพอที่ใช้ตรวจได้ทั้งหมด ควรต้องมีการสาธิต หรือแนะนำวิธีการเก็บเซลล์ที่ถูกต้อง

ผลการตรวจตัวอย่าง 495 ราย ด้วยวิธี FTIR และ Pap smear พบว่าให้ผลบวก ร้อยละ 20.2 และ 1.0 ตามลำดับ (ตารางที่ 2-4) วิธี Pap smear ให้ผลบวกเพียงร้อยละหนึ่งเป็นเพราะวิธีนี้ไม่สามารถตรวจมะเร็งในระยะเริ่มแรกได้ มีความไวของการตรวจประมาณ 70-80% (รัตนา และคณะ 2546) ในขณะที่วิธี FTIR มีความไวของการตรวจ สูงกว่า 90% (Fung และคณะ 1997; รัตนา และคณะ 2546; Sindhuphak และคณะ 2003) วิธี FTIR ให้ผลบวกสูงกว่าวิธี Pap smear อาจเนื่องมาจาก

1. วิธี FTIR สามารถตรวจพบการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโมเลกุลของเซลล์ จากเซลล์ปกติไปเป็นเซลล์มะเร็ง ซึ่งไม่สามารถเห็นได้ด้วยตาเปล่า ซึ่งจะเกิดขึ้นก่อนการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์นั้นๆ (Yazdi และคณะ 1996; Lowry 1998) ถ้าได้มีการติดตามผลของคนไข้ก็จะพบว่าผลบวกที่เกิดขึ้นเป็นผลบวกจริง (Fung และคณะ 1997; Wong และคณะ 2002)

2. วิธี FTIR จะมีความไวในการตรวจพบเซลล์ประเภทอื่นๆ ที่ไม่ใช่เซลล์ปากมดลูกด้วยเช่นกัน เช่น เซลล์เม็ดเลือดขาว (polymorphs) เซลล์ที่เสียไปจากการเก็บไม่ถูกต้อง (cell degradation) หรือมีเซลล์อื่นๆ ปนอยู่เป็นจำนวนมาก (endocervical columnar cells, metaplastic cells, cervical mucus, red cells และ debris) ซึ่งจะทำให้ได้ผลบวกลวงเพิ่มขึ้น วิธีการแก้ไขจะต้องนำ สเปคตรัม ของเซลล์ที่ได้ดังกล่าวไว้ข้างต้นมาลบ (subtract) ออก (Wong และคณะ 2002)

พลสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จากการทดลองพบว่า สเปคตรัม ของเซลล์ที่เป็นมะเร็ง (malignant) มีตำแหน่งของ peak และความถี่เปลี่ยนไปจากเซลล์ปกติอย่างชัดเจน (รูปที่ 5) โดยพบ peak ที่ความถี่ 972 cm^{-1} ในเซลล์ผิดปกติ ผลการทดลองนี้ยืนยันผลที่ได้กับผลการทดลองที่ทำที่ มหาวิทยาลัยออตตาวา ประเทศคานาดา และที่จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประเทศไทย ซึ่งพบ peak นี้ในเซลล์มะเร็งเท่านั้น (Morris และคณะ 1995; รัตนา และคณะ 2541; Sindhuphak และคณะ 2003) ดังนั้นสามารถใช้เป็นเครื่องบ่งชี้ของเซลล์มะเร็งได้

Peak A คือ Glycogen มีความถี่ปกติอยู่ที่ 1024 cm^{-1} peak นี้อาจเคลื่อนที่ไปอยู่ที่ความถี่สูงขึ้น ส่วน peak C มีความถี่ปกติ 1155 cm^{-1} จะเคลื่อนที่ไปอยู่สูงกว่าในเซลล์ผิดปกติ (ตารางที่ 6-9) ซึ่งพบได้ในทุกการทดลอง

Peak ratio A/B ในเซลล์ผิดปกติ จะมีค่าต่ำกว่าเซลล์ปกติ (รัตนา และคณะ 2541; Sindhuphak และคณะ 2003) แสดงว่า Glycogen ในเซลล์มะเร็งปากมดลูกลดลง ซึ่งตรงข้ามกับเซลล์มะเร็งที่ช่องคลอด และที่ตับจะมี Glycogen เพิ่มขึ้น (Gregoir และคณะ 1971; Gregoir และคณะ 1973) ส่วน Peak ratio D/C ในเซลล์ผิดปกติจะสูงกว่าเซลล์ปกติ เนื่องจากในเซลล์มะเร็งมี Hydrogen bond ของ Phosphodiester group ของ Nucleic acid (Peak D) เพิ่มขึ้น ผลของความแตกต่างที่ได้สอดคล้องกับที่ได้มีรายงานไว้ (Wong และคณะ 1991; รัตนา และคณะ 2541; Sindhuphak และคณะ 2003) การวินิจฉัยผลจึงต้องนำความแตกต่างของ Parameter ต่างๆ ที่มีอยู่ทั้งหมดมาเป็นส่วนประกอบในการพิจารณาด้วย

คุณสมบัติพิเศษของเทคนิคนี้ คือวัดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโมเลกุลเซลล์ จากเซลล์ปกติไปเป็นเซลล์มะเร็ง ซึ่งไม่สามารถเห็นได้ด้วยกล้องจุลทัศน์ การวิจัยขณะนี้พบว่าการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโมเลกุลของเซลล์ที่ผิดปกติ จะเกิดขึ้นก่อนการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์นั้นๆ (Yazdi และคณะ 1996; Lowry 1998) ถ้าเทคนิคนี้สามารถนำมาใช้เป็นวิธีตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกแทน วิธี Pap smear ได้ จะช่วยลดปัญหาในการอ่านแผ่นสไลด์ Pap smear เนื่องจากการอ่านแผ่นสไลด์ Pap smear ต้องดูรูปร่างที่เปลี่ยนแปลงของเซลล์มะเร็งภายใต้กล้อง

จุลทรรศน์ โดยผู้ที่ได้รับ การอบรมด้านเซลล์วิทยาโดยเฉพาะและผู้อ่านแผ่นสไลด์สามารถอ่านได้จำนวนจำกัดต่อวัน จึงทำให้มีสไลด์ที่ต้องรออ่านอยู่เป็นจำนวนมาก คนไข้ต้องรอผลนานเป็นเวลาหลายๆ เดือน มีหลายรายที่ลืมไปฟังผล กว่าจะทราบผลก็ต่อเมื่อเป็นมะเร็งในระยะลุกลามแล้ว ซึ่งไม่สามารถรักษาให้หายขาดได้ นอกจากนี้ยังเกิดความผิดพลาดจากการใช้สายตาอ่านแผ่นสไลด์ Pap smear (รัตนา 2539) ดังนั้นเทคนิคอินฟราเรดจะช่วยลดปัญหานี้ลงได้ เพราะเป็นเทคนิคที่ทำง่าย ได้ผลเร็ว เนื่องจากมีคอมพิวเตอร์ และโปรแกรมสำเร็จรูปที่จะบันทึก คำนวณผล และวินิจฉัยผลได้รวดเร็ว มีค่าใช้จ่ายที่ถูก จึงน่าจะเป็นวิธีที่เหมาะสม ในการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกระยะเริ่มแรกให้กับประชาชนจำนวนมากๆ ได้

ข้อได้เปรียบของการใช้เทคนิคอินฟราเรด

1. ให้ผลลบลวงต่ำประมาณ 0.3-4 เปอร์เซนต์ (Fung และคณะ 1997; Sindhuphak และคณะ 2003)

2. ไม่ขึ้นกับการตัดสินใจของผู้ตรวจ สามารถลดงานประจำของแพทย์และนักเซลล์วิทยา

3. ทำได้รวดเร็ว เมื่อนำเซลล์ตัวอย่างที่จะตรวจใส่ในเครื่องอินฟราเรด เพื่อวัดการดูดกลืนแสง โดยสามารถตรวจตัวอย่าง 1 ตัวอย่าง เสร็จในเวลาประมาณ 2-3 นาที เนื่องจากเครื่องมือนี้ต่อกับเครื่องคอมพิวเตอร์ จึงสามารถบันทึกผล คำนวณ และแปลผลที่ได้อย่างรวดเร็ว และสามารถตรวจตัวอย่างอื่นๆ ต่อเนื่องกันได้

4. มีค่าใช้จ่ายถูก โดยมีราคาต่ำกว่าการตรวจด้วยวิธี Pap smear ประมาณ 4-5 เท่า

5. ไม่ต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญพิเศษ สามารถฝึกบุคลากรได้ในเวลาอันสั้น

6. สามารถประยุกต์ใช้ตรวจมะเร็งในที่อื่นๆ ได้ด้วย เช่น มะเร็งที่รังไข่ เป็นต้น (Sindhuphak และคณะ 2003)

ข้อเสียเปรียบของเทคนิคนี้คือ ซอร์ฟแวร์ที่ใช้ยังไม่สามารถพัฒนาโดยคนไทยเองได้ และเครื่อง FTIR มีราคาแพง การดูแลรักษาต้องใช้ผู้ที่ชำนาญเท่านั้น

ขณะนี้ Professor Patrick T T Wong แห่งมหาวิทยาลัยออตตาวา ประเทศคานาดา ได้พัฒนาโปรแกรมสำเร็จรูปเพื่อการวินิจฉัยผลเรียบร้อยแล้วในระดับหนึ่ง พร้อมที่จะนำมาใช้ในประเทศที่กำลังพัฒนา เช่น ประเทศไทย และจีน เป็นต้น คณะผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่าถ้าสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ และกระทรวงสาธารณสุข ได้ร่วมมือกันดำเนินการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกด้วยเทคนิคอินฟราเรดนี้ได้ ก็จะเป็นทางเลือกใหม่ในการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกระยะเริ่มแรกของประเทศไทยได้ เพราะสามารถให้บริการประชาชนได้ทั่วทุกภาคของประเทศ เพื่อลดอุบัติการของมะเร็งปากมดลูกในระยะลุกลาม และลดอุบัติการของการตายด้วยมะเร็งปากมดลูกลงได้

ข้อสรุป

เทคนิคอินฟราเรด (Infrared technology) เป็นวิธีการตรวจหาเซลล์ปากมดลูกวิธีใหม่ ซึ่งใช้แสงอินฟราเรดผ่านเซลล์ที่ต้องการตรวจ วิธีการนี้ไม่ต้องพึ่งพากล้องจุลทรรศน์ และสายตาของมนุษย์ ให้ความแม่นยำสูงในการตรวจค้นหาเซลล์มะเร็งโดยอาศัยซอร์ฟแวร์และคอมพิวเตอร์ช่วยในการวิเคราะห์ ลดความผิดพลาดที่เกิดจากผู้อ่านที่ขาดทักษะและความชำนาญ สามารถอ่านสไลด์ได้หลายร้อยสไลด์ต่อวันซึ่งเท่ากับงานที่ต้อใช้คนอ่านถึงหลายคน เป็นการเพิ่มผลผลิต และลดค่าใช้จ่ายลงอย่างมากถ้าสามารถนำเทคนิคนี้มาใช้รณรงค์ในการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกจะสามารถสนองความต้องการของประเทศ ในอันที่จะลดอัตราการเสียชีวิตจากโรคมะเร็งปากมดลูกได้มากที่สุด จึงสมควรมีการเผยแพร่เพื่อนำไปใช้ประโยชน์

ข้อเสนอแนะ

1. เนื่องจากเทคนิค FTIR นี้เป็นเทคนิคใหม่ที่ยังไม่แพร่หลายในประเทศไทย การดำเนินการในด้านการเก็บตัวอย่างยังไม่มีใครเคยทำมาก่อน ผลจึงพบว่าตัวอย่างที่เก็บได้ส่วนมากไม่มีเซลล์ปากมดลูกเลย หรือมีเซลล์น้อยมากไม่เพียงพอ (Inadequacy) ในการตรวจวิเคราะห์ ดังนั้นเพื่อลดความผิดพลาดนี้ จึงควรต้องมีข้อกำหนด หรือฝึกภาคปฏิบัติ ให้กับ แพทย์ พยาบาล หรือเจ้าหน้าที่สาธารณสุข ในการเก็บตัวอย่าง เพื่อให้ได้เซลล์ปากมดลูกที่เพียงพอ

2. ควรมีการติดตามผลคนไข้ที่ FTIR ให้ผลบวก แต่วิธี Pap smear ให้ผลลบ เพื่อจะได้เป็นข้อมูลว่าวิธี FTIR สามารถตรวจมะเร็งปากมดลูกระยะเริ่มแรกได้ก่อนวิธีตรวจคัดกรองวิธีอื่นๆ จริง โดยอาจใช้เทคนิค RT-PCR (-Polymerase Chain Reaction) ช่วยในการตรวจความผิดปกติในระดับโมเลกุลอีกวิธีหนึ่ง เพื่อช่วยให้การตรวจวินิจฉัยสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

รัตนา สินธุภัค การใช้เทคโนโลยีใหม่สำหรับตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกระยะเริ่มแรก วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ 2539; 10(2): 151-56

รัตนา สินธุภัค ไพลิน ศรีสุขโข ศรีริน สินธุภัค วีนัส อุดมประเสริฐกุล เริงศักดิ์ บุญบรรดาลชัย นิกร ดุสิตสิน การตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกด้วยเทคนิคอินฟราเรดสเปคโตรมิเตอร์ วารสารกรมการแพทย์ 2541; 23(1): 3-9

รัตนา สินธุภัค สมชาย อิสระวาณิชย์ ศรีริน สินธุภัค วีนัส อุดมประเสริฐกุล ไพลิน ศรีสุขโข เริงศักดิ์ บุญบรรดาลชัย นิกร ดุสิตสิน ทางเลือกใหม่สำหรับการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกโดยเทคนิค FTIR วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ 2546; 17(1): 1-10

Cancer Statistics, Planning & Statistic Division, National Cancer Institute, Department of Medical Service, Ministry of Public Health. 1989-1994 และ 2001

Chiriboga L, Xie P, Yee H, Zarou D, Zakim D, Diem M. 1998. Infrared spectroscopy of human tissue. IV. Detection of dysplastic and neoplastic changes of human cervical tissue via infrared microscopy. Cell Mol biol (Noisy-le-grand). Fec; 44(1): 219-29.

Deerasamee S, Martin N, Sontipong S, *et al.* Cancer in Thailand Vol.II. 1992-1994. IARC Technical Report No. 34. International Agency for Research on Cancer. Lyon. France. 1999

Dehner LP. Cervicovaginal cytology, false-negative results and standards of practice (Review) Am *J Clin Pathol* 1993; 99(1): 45-47

Fung MFK, Senterman M, Eid P, Faught W, Mikhael NZ, Wong PTT. Comparison of Fourier-Transform Infrared Spectroscopic Screening of Exfoliated Cervical Cells with Standard Papanicolaou Screening. Gynecologic Oncology 1997; 66: 10-15

Gregoir AT, Kandil O, Ledger WJ. The glycogen content of human vaginal epithelial tissue. Fertil Steri 1971; 22(1): 64-8

Gregoir AT, Ledger WJ, Moran MJ. The glycogen content of the human female gentital tract in cycling, menopausal and women with endometrial and cervical carcinoma. Fertil Steri 1973; 24(3): 198-201

Kritpetcharat O, Suwanrungruang K, Sriamporn S, Kamsa-ard S, Kritpetcharat P, Pengsaa P. The Coverage of Cervical Cancer Screening in Khon Kaen, Northeast Thailand. Asiean Pacific J Cancer Prev 2003; 4: 103-5.

Lowry SR. The analysis of exfoliated cervical cells by infrared microscopy. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand) 1998; 44(1): 169-177

Menashi A, Cohenford MA, Rigas B. Cytologically normal cells from neoplastic cervical samples display extensive structural abnormalities on IR spectroscopy: Implications for tumor biology. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1998; 95 (26): 15327-32.

Morris BJ, Lee C, Nightingale BN, Molodysky E, Morris LJ, Appio R. Fourier transform infrared spectroscopy of dysplastic, papillomavirus - positive cervicovagianl lavage speciens. Gynecologic Oncology 1995; 56(2); 245-9

Neviliappan S, Fang Kan L, Tiang Lee Walter T, Arulkumaran S, Wong PT. Infraed spectral features of exfoliated cervical cells, cervical adenocarcinoma tissue, and an adenocarcinoma cell line (SiSo). Gynecol Oncol. Apr 2002; 85(1): 170-4.

Nuovo J, Melnikow J, Howell LP. New tests for cervical cancer screening. Am Fam Physician 2001; 64: 780-6

Pairwuti S. False-negative Papanicolaou smears from women with cancerous and precancerous lesions of the uterine cervix. *Acta Cyto* 1991; 35(1): 40-46

Sherman ME, Kelly D. High grade squamous intraepithelial lesions and invasive carcinoma following the report of three negative Papanicolaou smears: screening failures or rapid progression? *Mod Pathol* 1992; 5(3): 277-285

Sindhuphak R, Issaravanich S, Udomprasertgul V, Srisookho P, Warakamin S, Sindhuphak S, Boobundarlchai R, Dusitsin N. A new approach for the detection of cervical cancer in Thai women. Gynecol Oncol 2003; 90: 10-14

Van der Graaf Y, Voojis GP, Gaillard HLJ, Go DMDS. Screening errors in cervical cytologic screening. *Acta Cytol* 1987; 31(4): 434-438

Vatanasapt V, Sriamporn S, Vatanasapt P. Cancer control in Thailand. JJCO 2002; 35: S82-S91

Wong PTT, Wong RK, Caputo TA, Godwin TA, Rigas B. Infrared spectroscopy of exfoliated human cervical cells: Evidence of extensive structural changes during carcinogenesis. Proc Natl Acad Sci USA 1991; 88(24);10988-92

Wong PTT, Lacelle S, Fung MFK, Senterman M, Mikhael NZ. Characterization of exfoliated cell and tissues from human endocervix and ectocervix by FTIR and ATR/FTIR Spectroscopy. Biospectroscopy 1995; 1:357-64

Wong PTT, Senterman MK, Jackli P, Wong RK, Salib S, Campbell CE, Feigel R, Faught W, Kee Fung MF. Detailed account of confounding factors in interpretation of FTIR spectra of exfoliated cervical cells. Biopolymers. 2002; 67(6): 376-86.

Yazdi HM, Bertrand MA, Wong PT. Detecting structural changes at the molecular level with Fourier transform infrared spectroscopy. A potential tool for prescreening preinvasive lesions of the cervix. Acta Cytol 1996; 40(4): 664-8

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย