



บทที่ 2

วิธีดำเนินการวิจัย

วัสดุและวิธีการ

กลุ่มประชากรที่จะทำการศึกษาคือชิ้นเนื้อของผู้ป่วยด้วยโรค Discoid lupus erythematosus และ Lichen planus ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2527 ถึง ปี พ.ศ. 2532 ที่ทำการศึกษาที่ห้องตรวจโรคผู้ปวยนอกแผนกผิวหนัง ภาควิชาอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ โดยทำการตัดชิ้นเนื้อ บริเวณรอยโรค ซึ่งอาจเป็นที่ผิวหนัง หรือเยื่อช่องปาก โดยการใช้ punch biopsy ขนาดประมาณ 4 mm แล้ว fix ชิ้นเนื้อด้วยน้ำยา 10% Formalin ต่อจากนั้นเข้า ขบวนการย้อม tissue ดังนี้

1. Dehydrate tissue ด้วย Alcohol ตั้งแต่ 70% -> 95% -> Absolute
2. ล้าง Alcohol ด้วย Xylene
3. Embedding tissue ด้วย paraffin
4. ตัด section ด้วยเครื่อง microtome ขนาดประมาณ 6micron
5. ย้อม section ด้วย Routine Hematoxylin และ Eosin
6. mount ปิด slide

ขั้นตอนวิธีการดำเนินการวิจัย

1. นำชิ้นเนื้อผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรค Discoid lupus erythematosus (DLE) และ โรค Lichen planus (LP) เลือกเอา เฉพาะที่มีพยาธิสภาพเป็นแบบ lichenoid คือลักษณะที่มี inflammatory cell infiltrate เป็นแบบ band like ในชั้น upper dermis

2. ทำการศึกษาทางพยาธิสภาพของชั้นเนื้อที่ได้จากข้อ 1. โดยผู้ทำการศึกษาจะไม่ทราบการวินิจฉัยทางคลินิกและผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการอื่นๆ ของชั้นเนื้อแต่ละราย

3. ทำการศึกษาโดยใช้หลักเกณฑ์เดิม และให้การวินิจฉัยโรคแต่ละชั้นเนื้อ (slide) โดยชั้นแรกผู้ทำการศึกษาจะพยายามใช้การเปลี่ยนแปลงที่ตรวจพบเพื่อให้การวินิจฉัยว่าชั้นเนื้อนั้นเป็นโรค Discoid lupus erythematosus (DLE) หรือ โรค Lichen planus (LP) โดยอาศัยหลักเกณฑ์ทางพยาธิสภาพที่ยอมรับโดยทั่วไป(9-11, 35-37)

4. ทำการศึกษาโดยดูการเปลี่ยนแปลงอย่างละเอียดของพยาธิสภาพของผิวหนังในแต่ละชั้น โดยดูการเปลี่ยนแปลงดังต่อไปนี้

Stratum corneum	1. Hyperkeratosis
	2. Parakeratosis
	3. Follicular plugging
	orthokeratosis
	parakeratosis
Stratum granulosum	1. Hypergranulosis
	focal
	confluent
Stratum malphigii	1. Acanthosis
	regular
	irregular
	2. Epidermal atrophy
	3. Spongiosis
	4. Necrotic keratinocyte
	basal
	suprabasal
Basal cell layer	1. Liquefaction degeneration

**Dermoepidermal
junction**

1. Interface change
 - confluent
 - focal

2. Subepidermal separation
3. Basement membrane thickening

Dermis

1. Colloid body
2. Subepidermal edema
3. Level of infiltration
 - superficial
 - deep
4. Periappendageal involvement
5. Type of inflammatory cell
 - lymphohistiocyte
 - plasma cell
 - polymorphonuclear cell
 - eosinophil

6. Red blood cell extravasate
7. Dermal melanosis
8. Vascular dilatation
9. Fibrinoid change at vss. wall
10. Increase of blood vessel
11. Dermal fibrosis
12. solar elastosis

การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพที่เกิดขึ้นแบ่งตามความมากน้อย ดังนี้

- 0 = absent
- 1 = mild
- 2 = moderate
- 3 = marked

5. นำชิ้นเนื้อ (slide) ทั้งหมดมาศึกษาทางคลินิก และการตรวจทางห้องปฏิบัติการอื่น ๆ เพื่อให้การวินิจฉัยที่ถูกต้องว่าเป็น โรค Discoid lupus erythematosus (DLE) หรือ โรค Lichen planus (LP)

6. นำผลการวินิจฉัยทางพยาธิสภาพโดยใช้หลักเกณฑ์เดิม มาเปรียบเทียบกับการวินิจฉัยทางคลินิก การติดตามคนไข้ การรักษา การศึกษาทางพยาธิภูมิคุ้มกัน เรื่องแสง และการตรวจทางห้องปฏิบัติการอื่นๆ เพื่อทดสอบความแม่นยำของหลักเกณฑ์การวินิจฉัยเดิม

7. นำผลการศึกษาทางพยาธิสภาพอย่างละเอียด ของแต่ละชิ้นของผิวหนังมาเปรียบเทียบกับการวินิจฉัยทางคลินิก และพยาธิภูมิคุ้มกัน เรื่องแสงและการตรวจทางห้องปฏิบัติการอื่นๆ มาวิเคราะห์ผลโดยวิธีการทางสถิติ เพื่อศึกษาว่าการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพที่เกิดขึ้น สามารถช่วยในการวินิจฉัยแยกโรกระหว่างสองโรคนี้ได้หรือไม่

8. นำหลักเกณฑ์การวินิจฉัยแยกโรคที่ได้จากข้อ 7 มาทดสอบเปรียบเทียบกับชิ้นเนื้อที่ใช้ในการศึกษาเพื่อทดสอบความแม่นยำ

9. นำข้อมูลที่ได้มาจากการศึกษาทางพยาธิสภาพมาวิเคราะห์ผลและเขียนรายงาน