

การศึกษาเปรียบเทียบระดับมิวซิน ระหว่างชิ้นเนื้อที่โดนแสงแดดเป็นประจำและไม่โดนแสงแดด
เป็นประจำ



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

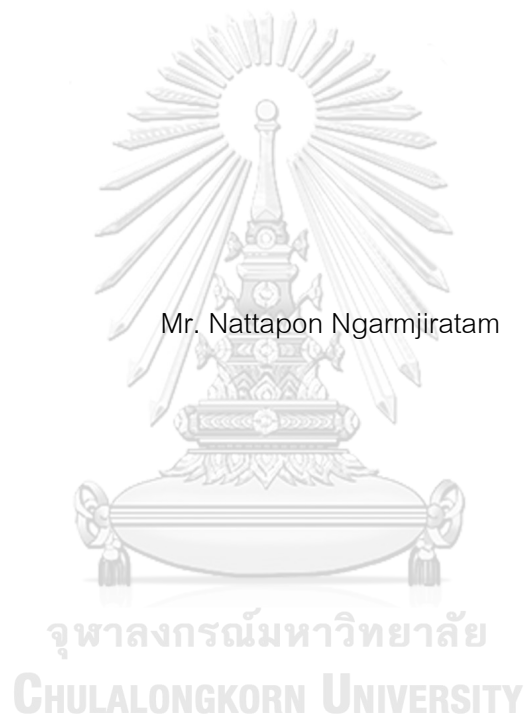
สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2561

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Comparison of mucin quantity between skin with chronic sun exposure and skin
without chronic sun exposure



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Medicine

Department of Medicine

Faculty of Medicine

Chulalongkorn University

Academic Year 2018

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาเปรียบเทียบระดับมิวซิน ระหว่างชั้นเนื้อที่โดน แสงแดดเป็นประจำและไม่โดนแสงแดดเป็นประจำ
โดย	นายณัฐพล งามจิรธรรม
สาขาวิชา	อายุรศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์เจตน์ วิทิตสุวรรณกุล

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

.....	คณบดีคณะแพทยศาสตร์
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์สุทธิพงษ์ วัชรสินธุ)	
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ประธานกรรมการ
.....	
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ประเดิมีชัย คงคำ)	
.....	อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์เจตน์ วิทิตสุวรรณกุล)	
.....	กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชนิดา วิษยานุวัติคุณ)	
.....	กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(พันตรีหญิง แพทย์หญิงชุติกา ศรีสุทธิยากร)	

ณัฐพล งามจิรธรรม : การศึกษาเปรียบเทียบระดับมิวซิน ระหว่างชั้นเนื้อที่โดนแสงแดดเป็นประจำ และไม่โดนแสงแดดเป็นประจำ. (Comparison of mucin quantity between skin with chronic sun exposure and skin without chronic sun exposure) อ.ที่ปรึกษาหลัก : ผศ. นพ.เจตน์ วิทิตสุวรรณกุล

Glycosaminoglycans เป็นองค์ประกอบของมิวซินในชั้นหนังแท้ จากการศึกษาในอดีต พบการเพิ่มขึ้นของระดับ glycosaminoglycans ในชั้นเนื้อที่ตัดจากบริเวณที่โดนแดดเป็นประจำ ปัจจุบัน การศึกษาผลของแสงแดดต่อการเปลี่ยนแปลงระดับมิวซินในชั้นหนังแท้ในด้านของ พยาธิวิทยา ยังมีอยู่น้อย

วัตถุประสงค์: เพื่อศึกษาเปรียบเทียบระดับมิวซินในชั้นหนังแท้ ระหว่างชั้นเนื้อที่โดนแดดเป็นประจำ และไม่โดนแดดเป็นประจำในทางพยาธิวิทยา

วิธีการศึกษา การวิจัยแบบวิเคราะห์ข้อมูลย้อนหลัง โดยศึกษาจากชิ้นเนื้อที่ตัดในช่วงปี 2556-2561 ณ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย โดยศึกษาจากชิ้นเนื้อที่ย้อมด้วยสี H&E เพื่อแยกกลุ่มของชิ้นเนื้อเป็น กลุ่มชั้นเนื้อที่โดนแสงแดดเป็นประจำ และ กลุ่มชั้นเนื้อที่ไม่ได้โดนแดดเป็นประจำ นำชิ้นเนื้อทั้งหมดมาย้อมสี alcian blue และประเมินระดับมิวซินจากชั้น papillary dermis, superficial reticular dermis, deep reticular dermis โดยให้คะแนน 0-3 ในแต่ละชั้น (mucin score) หลังจากนั้น จึงเปรียบเทียบการติดสีมิวซินระหว่าง ทั้ง 2กลุ่ม ทั้งคะแนนรวม และ คะแนนในแต่ละชั้น

ผลการศึกษา ชิ้นเนื้อที่ถูกนำมาศึกษาทั้งหมด 114 ชิ้น แบ่งเป็น 57 ชิ้นจากแต่ละกลุ่ม จากการประเมินคะแนนของมิวซิน พบว่า กลุ่มชั้นเนื้อที่โดนแสงแดดเป็นประจำ มีระดับมิวซินในชั้นแต่ละชั้น papillary dermis, superficial reticular dermis, deep reticular dermis และ ระดับมิวซินรวมทุกชั้น สูงกว่า กลุ่มชั้นเนื้อที่ไม่โดนแสงแดดเป็นประจำอย่างมีนัยสำคัญ $P < 0.001$ และพบว่า การพบลักษณะของการโดนแสงแดดอย่างเป็นประจำสัมพันธ์กับระดับมิวซินเมื่อได้กำจัดอิทธิพลจากปัจจัยอื่นออกไปแล้ว

สรุปผลการศึกษา พบการติดสีของมิวซินในชั้นหนังแท้ของชั้นเนื้อที่โดนแสงแดดเป็นประจำ มากกว่า ชิ้นเนื้อที่ไม่โดนแสงแดดเป็นประจำ

สาขาวิชา	อายุรศาสตร์	ลายมือชื่อนิติต
ปีการศึกษา	2561	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก

6074094930 : MAJOR MEDICINE

KEYWORD: Dermal mucin, chronic sun exposure, Non-chronic sun exposure, solar elastosis

Nattapon Ngarmjiratam : Comparison of mucin quantity between skin with chronic sun exposure and skin without chronic sun exposure . Advisor: Asst. Prof. JADE WITITSUWANNAKUL, M.D.

Background: Dermal mucin is composed of Glycosaminoglycans. Previous studies revealed the rising of Glycosaminoglycans in the skin tissue from sun exposed area. Histopathological study of the impact of sun exposure on dermal mucin level was limited.

Objective: To histopathologically comparative study amount of dermal mucin between skin with chronic sun exposure and skin without chronic sun exposure

Material and methods: An observational analytical retrospective study was conduct on skin tissues from 2013-2018 at King Chulalongkorn Memorial hospital. Tissues with H&E staining were evaluated to be categorized into 2 groups, chronic sun exposed group and non-chronic sun exposed group. Alcian blue staining was performed and evaluate on all tissues for dermal mucin level from papillary dermis, superficial reticular dermis and deep reticular dermis by scorring 0-3 (mucin score). Mucin score from each compartment and total mucin score were compared between these 2 groups

Result: 114 skin tissues were studied, 57 tissues from each group. The mucin score from all dermal layer; papillary dermis, superficial reticular dermis and deep reticular dermis revealed statistically higher in chronic sun exposed group, $P < 0.001$. Total mucin score was also higher in chronic sun exposed group, $P < 0.001$. After adjustment, chronic sun exposure was still associated with mucin score, $P < 0.001$.

Conclusion: Chronic sun exposed group show higher mucin score than non-chronic sun exposed group.

Field of Study: Medicine

Student's Signature

Academic Year: 2018

Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ คณาจารย์ ประจำหน่วยผิวน้ำ ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่เปิดโอกาสให้เข้ามาศึกษาต่อ ณ ที่แห่งนี้

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.นพ. เจตน์ วิทิตสุวรรณกุล ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ที่คอยให้ความเมตตาช่วยเหลือและให้คำปรึกษาเป็นอย่างดีเสมอมา อ.พญ.ชุตিকা ศรีสุทธิยากร จาก แผนกผิวน้ำ กองอายุรกรรม โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า ผศ.พญ.เพ็ญวดี พัฒนปรีชากุล จาก ภาควิชาตจวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล ที่ได้เสียสละเวลาในการประเมินผลชิ้นเนื้อในงานวิจัย รวมถึงให้คำแนะนำต่างๆที่เป็นประโยชน์อย่างมากต่องานวิจัย รวมถึง ศ.ดร.นพ.ประวิตร อัครวานนท์ และ อ.นพ.ชนันท์ กำธรรัตน์ ที่ร่วมให้คำแนะนำเพื่อแก้ปัญหาต่างๆที่เกิดขึ้นในงานวิจัย

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่หน่วยผิวน้ำ น.ส.เรืองรอง กลิ่นหอม, น.ส. พรเทพินทร์ จำปาพันธุ์, นาย พศณัฐ พิศินทิวัดต์, น.ส. จารุวรรณ เพิ่มเจริญ ตลอดจนผู้ที่ไม่ได้กล่าวชื่อนี้ ที่ให้ความร่วมมือในการค้นหาข้อมูล ค้นหาชิ้นเนื้อ ย้อมสีชิ้นเนื้อ ซึ่งมีส่วนให้งานสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ กราบขอบพระคุณบิดา มารดา พี่ชาย และ เพื่อนที่ให้การสนับสนุนในทุกๆด้าน และเป็นกำลังใจตลอดมา



ณัฐพล งามจิรธรรม

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ.....	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญภาพ	ฌ
สารบัญแผนภูมิ.....	ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญ และที่มาของปัญหาการวิจัย.....	1
1.2 คำถามของการวิจัย.....	2
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	3
1.4 สมมุติฐาน (HYPOTHESIS)	3
1.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย	4
1.6 ข้อตกลงเบื้องต้น.....	4
1.7 คำนิยามเชิงปฏิบัติการที่ใช้ในการวิจัย	5
1.8 รูปแบบการวิจัย	5
1.9 วิธีการดำเนินการวิจัยโดยย่อ	6
1.10 ข้อพิจารณาด้านจริยธรรม	6
1.11 ข้อจำกัดทางการวิจัย.....	7
1.12 ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย	7
1.13 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นและมาตรการแก้ไข	7

บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....	8
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	11
3.1 รูปแบบการวิจัย	11
3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย.....	11
3.3 ขนาดตัวอย่าง.....	12
3.4 ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัยโดยละเอียด	19
3.5. การรวบรวมข้อมูล.....	21
3.6 การวิเคราะห์ข้อมูล.....	23
บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล	26
4.1 ประชากรที่นำมาศึกษา	26
4.2 ผลการวิจัย	31
บทที่ 5 อภิปราย สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ.....	43
5.1 อภิปรายผล	43
5.2 สรุปผล.....	46
5.3 จุดแข็งของการวิจัย.....	46
5.4 ข้อจำกัดในการวิจัย.....	47
5.5 ข้อเสนอแนะ.....	47
บรรณานุกรม	48
ภาคผนวก.....	50
ภาคผนวก ก	51
ภาคผนวก ข	54
ประวัติผู้เขียน.....	59

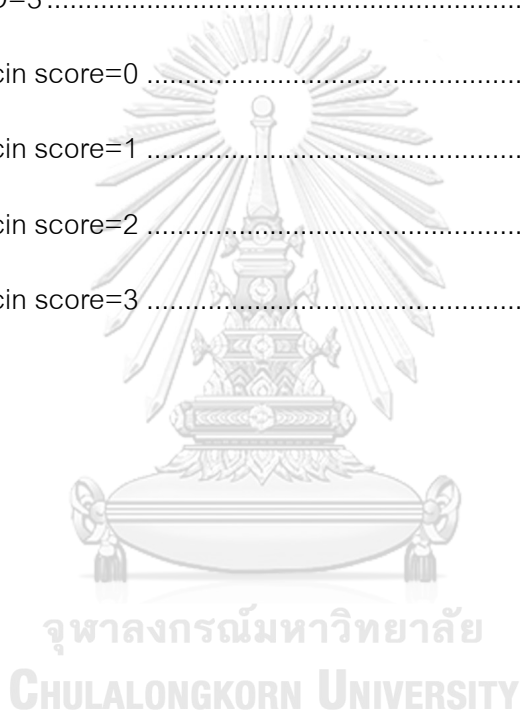
สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ตารางสรุปการทบทวนวรรณกรรม	10
ตารางที่ 2 แสดงการสรุปการรวบรวมข้อมูลและวิธีการรวบรวมข้อมูลทั้งหมด	22
ตารางที่ 3 แสดงการสรุปชนิดของข้อมูล.....	24
ตารางที่ 4 ตารางสรุปการวิเคราะห์ข้อมูล	25
ตารางที่ 5 ตารางแสดงคุณลักษณะของประชากร ระหว่างกลุ่มขึ้นเนื้อที่โดนแดดเป็นประจำ และ ขึ้นเนื้อที่ไม่โดนแดดเป็นประจำ	30
ตารางที่ 6 แสดงผลระดับ mucin ในแต่ละชั้น ระหว่างกลุ่มขึ้นเนื้อที่โดนแดดเป็นประจำ และ ขึ้นเนื้อที่ไม่โดนแดดเป็นประจำ	33
ตารางที่ 7 แสดง การวิเคราะห์แยกย่อยกลุ่ม (subgroup analysis) เพื่อหาความสัมพันธ์ของ ปัจจัยต่างๆต่อระดับ mucin.....	39
ตารางที่ 8 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัย การโดนแดดเป็นประจำ เพศ อายุ ตำแหน่งที่ตัดชิ้นเนื้อ และ ระดับสีผิว ต่อ ระดับmucinรวมทุกชั้น ด้วย การวิเคราะห์ การถดถอยพหุคูณเชิงเส้น	40
ตารางที่ 9 ตารางวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยต่างๆที่เกี่ยวข้อง ต่อ ระดับ mucin รวมทุกชั้น ด้วย การวิเคราะห์การถดถอยพหุคูณเชิงเส้น.....	42

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 (200X) CSD=0	14
ภาพที่ 2 (200X) CSD=1	14
ภาพที่ 3 (200X) CSD=2	15
ภาพที่ 4 (200X) CSD=3	15
ภาพที่ 5 (200X) Mucin score=0	17
ภาพที่ 6 (200X) Mucin score=1	17
ภาพที่ 7 (200X) Mucin score=2	18
ภาพที่ 8 (200X) Mucin score=3	18



สารบัญแผนภูมิ

	หน้า
แผนภูมิที่ 1 กรอบแนวคิดในการวิจัย	4
แผนภูมิที่ 2 แสดงการคัดเลือกประชากร	27
แผนภูมิที่ 3 แสดงระดับ mucin รวมทุกชั้น ของชั้นเนื้อที่โดนแดดเป็นประจำและไม่โดนแดด เป็นประจำ (Unpaired T-test)	31
แผนภูมิที่ 4 แสดงระดับ mucin ในชั้น papillary dermis ของชั้นเนื้อที่โดนแดดเป็นประจำ และไม่โดนแดดเป็นประจำ	33
แผนภูมิที่ 5 แสดงระดับ mucin ในชั้น Superficial reticular dermis ของชั้นเนื้อที่โดนแดด เป็นประจำและไม่โดนแดดเป็นประจำ	34
แผนภูมิที่ 6 แสดงระดับ mucin ในชั้น Deep reticular dermis ของชั้นเนื้อที่โดนแดด เป็นประจำและไม่โดนแดดเป็นประจำ	34
แผนภูมิที่ 7 แสดงผลระดับ mucin ระหว่างกลุ่มชั้นเนื้อที่ตัดจากผิวหนังบริเวณ sun exposed area และ กลุ่มชั้นเนื้อที่ตัดจากผิวหนังบริเวณ sun protected area (Unpaired T-test)	35

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญ และที่มาของปัญหาการวิจัย

มิวซิน (mucin) คือ สารกลุ่ม glycosaminoglycan ซึ่งเป็น ส่วนประกอบของ extracellular matrix โดยปกติ mucin เหล่านี้จะถูกสร้างในปริมาณเพียงเล็กน้อย จาก fibroblast โดย mucin ประกอบด้วย เป็น heparan sulfate, dermatan sulfate, chondroitin-6-sulfate, chondroitin-4-sulfate โดยมี hyaluronic acid ซึ่งเป็นส่วนประกอบหลัก โดยคุณสมบัติของ hyaluronic acid คือสามารถ ดูดซึ่มกักเก็บน้ำได้ถึง 1000 เท่าของน้ำหนัก ซึ่งด้วยคุณสมบัตินี้ hyaluronic acid จึงทำหน้าที่เป็น ตัวที่คอยควบคุม สมดุล น้ำและ เกลือแร่ ในชั้น dermis เต็มเต็ม รอยต่อระหว่าง cell รวมทั้ง ช่วยในการแพร่กระจายของ สารเคมี ต่างๆ และการเคลื่อนย้ายของ เซลล์ [1]

ในการศึกษาปริมาณ mucin ในทางพยาธิวิทยา ทำได้โดยการย้อม special stain คือ alcian blue ที่ pH 2.5 หรือ toluidine blue ที่ pH4 โดยสามารถติดสี hyaluronic acid, heparan sulfate, dermatan sulfate และ chondroitin sulfate ได้[1]

มีการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอายุและ ปริมาณของ glycosaminoglycan โดยพบว่า มีการเปลี่ยนแปลงทางสัดส่วน โดยพบว่า อายุที่มากขึ้น จะทำให้มีการสร้าง hyaluronic acid และ dermatan sulfate เพิ่มมากขึ้น แต่การสร้าง chondroitin sulfate ลดลง ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของ heparan sulfate พบการลดลงของการสร้าง glycosaminoglycan อย่างมีนัยสำคัญในกลุ่มอาสาสมัครที่อายุมากกว่า 60 ปีขึ้นไป [2] แต่ยังไม่มีการศึกษาในระดับของพยาธิวิทยาว่าขึ้นเนื้อจากคนที่อายุมาก มีการย้อมติดสี mucin ต่างจากคนที่อายุน้อยหรือไม่

ในภาวะปกติ สามารถพบ dermal mucin ได้ในบางตำแหน่ง เช่น dermis ของ nail bed และ nail matrix[3] ผิวหนังบริเวณอื่น ในบางสภาวะเมื่อ fibroblast อยู่ภายใต้ภาวะที่มี autoantibody, การอักเสบ cytokine ต่างๆ เช่น Interleukin-1, tumor necrosis factor และ transforming growth factor $-\beta$ [4] พบว่ามีการสร้าง mucin เพิ่มมากขึ้น โดยโรคที่พบการสร้าง

mucin เพิ่มมากขึ้น แบ่งได้ 2 กลุ่มคือ primary cutaneous mucinosis ได้แก่ โรค Scleredema, scleromyxedema, และ REM เป็นต้น และ โรคในกลุ่ม secondary cutaneous mucinosis ได้แก่ โรค Graves disease, dermatomyositis, lupus erythematosus, chronic venous insufficiency[5, 6]

ในอดีตมีการศึกษาผลของแสงแดดต่อการสร้าง mucin ที่ชั้น dermis ซึ่งแต่ละการศึกษาให้ผลที่ต่างกัน โดยบางการศึกษาพบว่า แสงแดดมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของ mucin[7, 8] แต่บางวิจัย ไม่พบการเพิ่มของ mucin[9] การศึกษาเกี่ยวกับผลของแสงแดดต่อระดับ mucin มีอยู่เพียงเล็กน้อย แต่ละการศึกษา มีข้อจำกัดที่ต่างกัน ทั้งในด้านการออกแบบการศึกษา หรือกลุ่มประชากรที่มีปริมาณน้อย ดังนั้นถึงปัจจุบัน ยัง ไม่เป็นที่แน่ชัดว่า แสงแดด มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของ mucin ที่ชั้น dermis หรือไม่ ดังนั้นผู้วิจัยจึงต้องการศึกษา ผลของแสงแดดต่อ ระดับ mucin ที่ชั้น dermis

การศึกษานี้ต้องการพิสูจน์ว่า การตรวจพบการเปลี่ยนแปลงของระดับ mucin ที่ชั้น dermis เป็นผลจากการโดนแสงแดดเป็นประจำ

1.2 คำถามของการวิจัย

คำถามหลัก (PRIMARY RESEARCH QUESTION)

ลักษณะทางพยาธิวิทยาของชั้นเนื้อที่โดนแดดเป็นประจำ มีระดับ mucin สูงกว่าชั้นเนื้อที่ไม่โดนแดดเป็นประจำ ใช่หรือไม่

คำถามรอง (SECONDARY RESEARCH QUESTION)

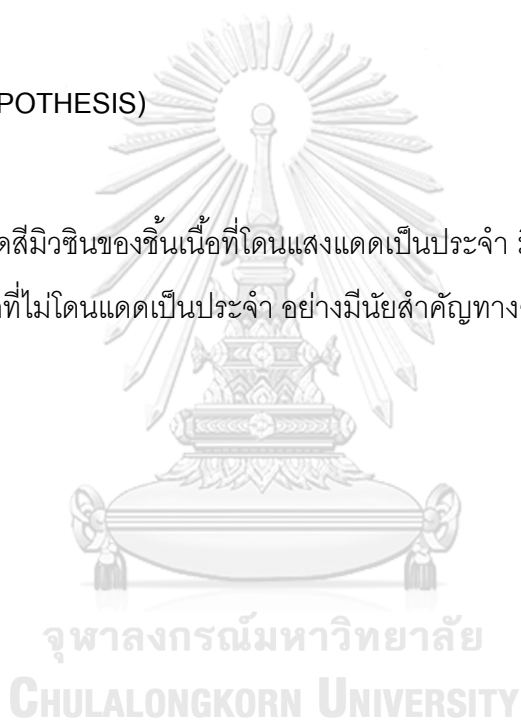
ชั้นเนื้อที่ตัดจาก sun exposed area มีระดับ mucin สูงกว่า ชั้นเนื้อที่ตัดจากบริเวณ sun protected area ใช่หรือไม่

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

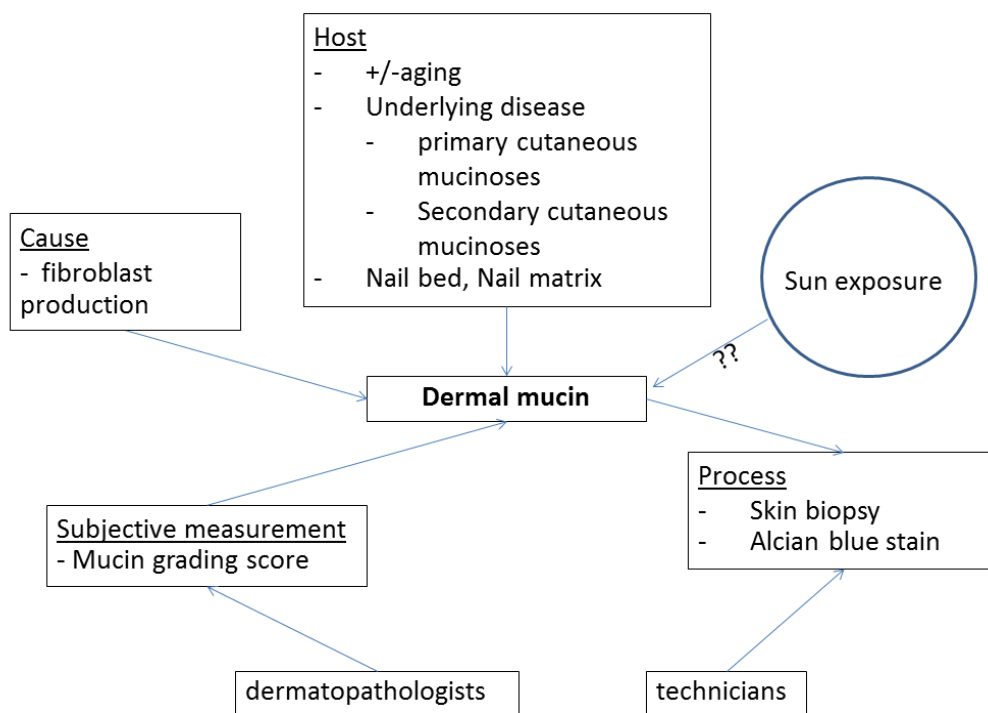
- เพื่อศึกษาเปรียบเทียบระดับ mucin ระหว่างชั้นเนื้อที่โดนแดดเป็นประจำและไม่โดนแดดเป็นประจำ
- เพื่อศึกษาเปรียบเทียบ ระดับ mucin ระหว่างชั้นเนื้อที่ตัดจาก sun exposed area และชั้นเนื้อที่ตัดจากบริเวณ sun protected area

1.4 สมมุติฐาน (HYPOTHESIS)

ระดับการติดสีมิวซินของชั้นเนื้อที่โดนแสงแดดเป็นประจำ มีความแตกต่างกับระดับการติดสีมิวซินของชั้นเนื้อที่ไม่โดนแดดเป็นประจำ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \text{ value} < 0.05$)



1.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย



แผนภูมิที่ 1 กรอบแนวคิดในการวิจัย



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CHULALONGKORN UNIVERSITY

1.6 ข้อตกลงเบื้องต้น

กำหนดให้ผิวหนังที่โดนแดดเป็นประจำ และไม่โดนแดดเป็นประจำตาม Chronic sun damage (CSD) classification ซึ่งประเมินโดยตจพยาภิแพทย์ โดยใช้ระดับของ solar elastosis เป็นเกณฑ์ (รายละเอียดในบทที่ 3 ขั้นตอนการวิจัย)

- ผิวหนังที่โดนแดดเป็นประจำ มีคะแนนประเมินด้วยลักษณะทางพยาธิวิทยาของ CSD ตั้งแต่ 2 ขึ้นไป

- ผิวหนังที่ไม่โดนแดดเป็นประจำ มีคะแนนประเมินด้วยลักษณะทางพยาธิวิทยาของ CSD น้อยกว่า 2

1.7 คำนิยามเชิงปฏิบัติการที่ใช้ในการวิจัย

- Solar elastosis คือ ภาวะที่ เส้นใยอีลาสติกใต้ผิวหนังเสื่อมลงเนื่องจากการโดนแดดเป็นประจำ ระดับของ solar elastosis ขึ้นกับการสะสมของการโดนแสง ultraviolet[10]
- Dermal mucin คือ สารกลุ่ม glycosaminoglycan ที่สามารถพบได้ใน ชั้น dermis สามารถย้อมติดได้ด้วยสี Alcian blue ที่ pH 2.5 ในบางสภาวะสามารถพบการเพิ่มขึ้นของ dermal mucin ได้ เช่น connective tissue disease เป็นต้น
- Sun exposed area: ตำแหน่ง โดยเฉพาะหน้าผาก ใต้ตา โหนกแก้ม ตำแหน่งรอบคอ เหนืออก หู หลังมือ และ แขนส่วนล่าง[11]
- Sun protected area: ตำแหน่งที่ไม่โดนแสง เช่น ใต้คาง ริมฝีปากบน ซอกหลังใบหู ลำตัว ขาส้นบน
- Chronic sun exposure: ผิวหนังที่มีลักษณะทางตจพยาธิวิทยาพบลักษณะของการโดนแดดเป็นประจำ คือ Solar elastosis โดยมีคะแนนประเมินตาม Chronic sun damage classification ตั้งแต่ 2 ขึ้นไป
- Non-chronic sun exposure: ผิวหนังที่ไม่พบลักษณะของการโดนแดดเป็นประจำ คือ ไม่พบ Solar elastosis หรือ พบ Solar elastosis โดยมีคะแนนประเมินตาม Chronic sun damage classification น้อยกว่า 2

1.8 รูปแบบการวิจัย

Observational analytical retrospective study

1.9 วิธีการดำเนินการวิจัยโดยย่อ

1. คัดกรองชิ้นเนื้อไฝ ในช่วง 1 มกราคม พ.ศ. 2556 – 31 พฤษภาคม พ.ศ. 2561 โดยพิจารณาตามเกณฑ์การคัดเลือกชิ้นเนื้อ เข้าร่วม และ ออกจากโครงการวิจัย (inclusion and exclusion criteria)

2. ชิ้นเนื้อที่ผ่านเกณฑ์การประเมินจะนำไปให้ตจพยาริแพทย์ 3 ท่าน ประเมิน ระดับของ solar elastosis เพื่อจัดกลุ่มของชิ้นเนื้อตาม chronic sun damage (CSD) classification อิงจากการศึกษาของ Landi MT และ คณะ โดยจะจัดแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มชิ้นเนื้อที่ตากแดดเป็นประจำ และชิ้นเนื้อที่ไม่ได้ตากแดดเป็นประจำ

3. นำชิ้นเนื้อที่แยกกลุ่มแล้ว มาสุ่มเลือกประชากรเข้าในการศึกษา

4. นำชิ้นเนื้อที่ได้ ทั้ง 2 กลุ่มไปย้อมสี Alcian blue

5. ประเมินการติดสี Alcian blue เพื่อบอกระดับ mucin โดย ตจพยาริแพทย์ 3 ท่าน โดยเลือกประเมินเฉพาะเนื้อส่วนปกติข้างเซลล์ไฝ

6. รวบรวมข้อมูล

7. นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ทางสถิติ

1.10 ข้อพิจารณาด้านจริยธรรม

หลักความเคารพในบุคคล (Respect for person) การวิจัยนี้เป็นการศึกษาจากเวชระเบียน และไม่มีการติดต่อเพื่อเก็บข้อมูลโดยตรงจากอาสาสมัคร ผู้วิจัยจะเก็บรักษาความลับของอาสาสมัครโดยในแบบบันทึกจะไม่มี identifier ที่จะระบุถึงตัวอาสาสมัคร

หลักการให้ประโยชน์ ไม่ก่อให้เกิดอันตราย (Beneficence/Non-maleficence) อาสาสมัคร จะไม่ได้รับประโยชน์ใดๆ อาจเกิดความเสี่ยงต่อตัวอาสาสมัครเพียงเล็กน้อย คือ ความลับของอาสาสมัครอาจถูกเปิดเผย โดยผู้วิจัยจะเก็บรักษาความลับของอาสาสมัคร

หลักความยุติธรรม (Justice) มีเกณฑ์คัดเข้าและ ออก ชัดเจน เมื่อพิจารณาถึงความเสี่ยงและ ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ ผู้วิจัยจึงจะขอยกเว้นการขอความยินยอมจาก อาสาสมัคร ทั้งนี้ผู้วิจัยจะขออนุญาตจากผู้อำนวยการโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

ผู้วิจัยจะเริ่มทำการค้นข้อมูล หลังจากได้รับหนังสืออนุญาตจากผู้อำนวยการโรงพยาบาล จุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย และผ่านข้อพิจารณาทางจริยธรรมแล้ว

1.11 ข้อจำกัดทางการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการวิจัยเชิงวิเคราะห์ โดยเก็บข้อมูลแบบ retrospective จึงมีข้อจำกัดคือ การเก็บรวบรวมข้อมูลอาจทำได้ไม่ครบถ้วนในส่วนของคุณสมบัติที่เก็บย้อนหลัง ผู้ป่วยอาจได้รับการ ชักประวัติ ตรวจร่างกาย จากแพทย์ต่างบุคคล ซึ่งมีผลต่อข้อมูลที่จะนำมาวิเคราะห์ได้

1.12 ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย

ชิ้นเนื้อที่มีลักษณะทางตจพยาวิทยาของการโดนแดดเป็นประจำมีระดับ mucin สูงกว่า ชิ้นเนื้อที่ไม่ได้มีลักษณะของการโดนแดดเป็นประจำหรือไม่ อาจนำไปพิจารณาร่วมในการ วินิจฉัยโรคที่ต้องอาศัย mucin เป็นเกณฑ์ในการวินิจฉัย ว่า ถ้าชิ้นเนื้อนั้นมีลักษณะของการโดน แดดเป็นประจำร่วมด้วย อาจต้องมีความระมัดระวังในการวินิจฉัยโรคมมากขึ้น

1.13 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นและมาตรการแก้ไข

การวิจัยมีทั้งในส่วนที่เก็บข้อมูลไปข้างหน้า และการเก็บข้อมูลย้อนหลัง ดังนั้นอาจมี ข้อมูลที่ไม่ครบถ้วน สูญหาย มาตรการการแก้ไข คือสืบค้นเพิ่มเติมจากระบบฐานข้อมูลของ หน่วยตจวิทยาภาควิชาอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ซึ่งมีการบันทึกข้อมูลของผู้ป่วยนอก ที่มาตรวจ ทั้งในแบบการเขียนบันทึกและระบบฐานข้อมูลคอมพิวเตอร์

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

วิธีการค้นคว้าและแหล่งการค้นคว้าหาวารสารที่เกี่ยวข้อง โดยอาศัย electronic searching จาก database ใน pubmed

หลักเกณฑ์ในการค้นคว้า คือ เลือกจากงานวิจัยที่เป็น published studies โดยเลือกจาก intervention ที่ใกล้เคียง หรือ เข้าได้กับการศึกษา เนื่องจากงานวิจัยที่ศึกษามีอยู่ไม่มากจึงไม่ได้เลือกเจาะจงว่ามาจากในช่วงปีไหน โดยเลือกใช้งานวิจัยที่ตีพิมพ์เป็นภาษาอังกฤษ และนำมาวิเคราะห์ความถูกต้องก่อน จากการค้นคว้า พบ 3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Takahashi Y และคณะ ได้ศึกษา ได้ทำการศึกษาโดยทำการตัดชิ้นเนื้อผิวหนังจาก 2 ตำแหน่งโดยกำหนดให้ตำแหน่งหน้า เป็น sun-exposed area และ ตำแหน่ง เิงกราน เป็น sun protected area จากนั้นจึงนำชิ้นเนื้อมาผ่านกระบวนการ เพื่อ ตรวจวัดระดับปริมาณของ disaccharide ซึ่งในที่นี้คือ hyaluronic, dermatan sulfate chondroitin sulfate ซึ่งก็คือ ส่วนประกอบของmucin ผลการศึกษาพบว่า ชิ้นเนื้อที่โดนแสงแดด มีค่าเฉลี่ยของ disaccharide เพิ่มขึ้น อย่างมีนัยสำคัญ โดยเพิ่มขึ้น ประมาณ 24% เมื่อเทียบกับผิวหนังส่วนที่เป็น sun protected area [8]ข้อจำกัดของการศึกษานี้ คือ มีประชากรค่อนข้างน้อย โดยมีกลุ่มประชากร เพียง 6 คน การออกแบบ โดยการกำหนดให้ ตำแหน่งหน้า เป็น sun-exposed area นั้น ยังไม่ได้เหมาะสม เนื่องจากบนใบหน้า ก็มีทั้งส่วนที่เป็น sun-exposed area และไม่เป็น sun-exposed area รวมทั้ง การใช้ชีวิตประจำวันของผู้ป่วยแต่ละคนต่างกัน บางคนอาจจะมี การใช้ sun protection ดี ดังนั้น ชิ้นเนื้อที่ถูกตัดมา อาจไม่ใช่ชิ้นเนื้อที่ผ่านการโดนแดดอย่างเป็นประจำได้ และการพบปริมาณ disaccharide มากขึ้น ไม่สามารถสรุปได้ว่า จะเห็นระดับของ mucin เพิ่มขึ้นในการศึกษาในรูปแบบตจพยาธิวิทยา ส่วนการศึกษาอื่นๆในรูปแบบที่คล้ายกัน พบการเพิ่มขึ้นของ ทั้ง dermal hyaluronic acid และ total sulfated glycosaminoglycan[12]

Bhawan J และคณะ ได้ทำการศึกษาโดยตัดชิ้นเนื้อ จากกลุ่มผู้เข้าร่วมงานวิจัยเพศหญิง อายุ 50-70 ปี โดยกำหนดให้ รอยตีนกาเป็น sun-exposed area และ หลังหูเป็น sun-protected area และนำชิ้นเนื้อที่ผ่านการย้อม special stain มาเปรียบเทียบ ความแตกต่างของลักษณะทาง

พยาธิวิทยา ระหว่าง photoaging และ skin aging ทั้งในชั้น epidermis และ dermis โดยในชั้น dermis ได้ศึกษาเกี่ยวกับ ปริมาณ mucin ประเมินโดยใช้ mucin score พบว่า ไม่มีความแตกต่างกัน ของ ปริมาณ mucin ระหว่าง ชั้นเนื้อที่ตัดจาก 2 ตำแหน่ง[9] ข้อจำกัดของการศึกษานี้ คือ การศึกษา ออกแบบโดยกำหนดให้ รอยตีนกา เป็น sun-exposed area ซึ่ง ในความเป็นจริง การเกิด รอยตีนกา มีปัจจัยค่อนข้างเยอะ ไม่ได้จำกัดอยู่แค่เรื่องของแสงแดด ดังนั้น การกำหนดให้รอยตีนกา เป็นตัวแทนของ sun exposed area อาจจะไม่เหมาะสม

Vincent JG และ คณะ ได้ทำการศึกษาถึงระดับ dermal mucin ของโรคต่างๆ เช่น SLE, โรคทางผิวหนังอื่นๆ รวมทั้ง ผิวหนังที่ไม่พบรอยโรค โดยในส่วนของผิวหนังที่ไม่พบรอยโรค ได้กำหนดให้ ผิวหนังที่พบ solar elastosis เป็น photodamaged skin และ ผิวหนังที่ไม่พบ solar elastosis เป็น non-photodamaged skin หลังจากนั้นจึงนำชิ้นเนื้อมาย้อม special stain เพื่อประเมินระดับmucin ในชั้นหนังแท้ ผลจากการศึกษา พบว่า ผิวหนังที่มีเป็น photodamaged skin มี ระดับ mucin score มากกว่า non-photodamaged skin อย่างมีนัยสำคัญ[7] ข้อจำกัดของการศึกษานี้ คือมีกลุ่มประชากรในส่วนของผิวหนังที่ไม่พบรอยโรคค่อนข้างน้อย เนื่องจากไม่ได้เป็นคำถามหลักของการศึกษา รวมทั้งการคัดเลือกกลุ่มที่เป็น photodamaged skin อาจจะไม่รัดกุมมากพอ เพราะ เนื่องจากการพบ solar elastosis ในปริมาณที่น้อยไม่จัดว่าเป็นกลุ่มที่เป็น chronic sun damage skin ระดับของsolar elastosis มีความจะเป็นในการจำแนกกลุ่ม

จากหลายๆการศึกษาข้างต้น แต่ละการศึกษา ศึกษาในแง่มุมที่ต่างกัน ให้ผลการศึกษาที่แตกต่างกัน รวมทั้งแต่ละการศึกษามีข้อจำกัดที่ต่างกันไป จึงยังไม่มีข้อสรุปที่ชัดเจนว่า แสงแดด ทำให้มีการเพิ่มของระดับ dermal mucin ได้หรือไม่ ดังนั้นผู้วิจัยจึงต้องการศึกษา ชั้นเนื้อผิวหนังที่มีลักษณะของการโดนแสงแดดเป็นประจำมีระดับ mucin สูงกว่าชั้นเนื้อชั้นเนื้อที่ไม่มีลักษณะของการโดนแดดเป็นประจำ

ตารางที่ 1 ตารางสรุปการทบทวนวรรณกรรม

	Takahashi Y et al	Bhawan J et al	Vincent JG et al
Mucin level between group	Significant	Not significant	Significant
Disadvantage	<p>1. small population size</p> <p>2. Categorized groups based on area of sun exposure or sun protection</p> <p>3. Disaccharide cannot definitely represent visible mucin</p>	<p>Categorized groups based on area of sun exposure or sun protection</p>	<p>1. Small population size</p> <p>2. Categorized groups based on solar elastosis detection (not concern the amount of solar elastosis)</p>

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 รูปแบบการวิจัย

Observational analytical retrospective study

3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย

- ประชากรที่ศึกษา (study population)

ชิ้นเนื้อของผู้ป่วยที่มารับการผ่าตัดชิ้นเนื้อไฝทั้งหมดที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ที่มีคุณสมบัติตามเกณฑ์ของการศึกษานี้ (inclusion และ exclusion criteria) ในช่วง 1 มกราคม พ.ศ. 2556 – 31 พฤษภาคม พ.ศ. 2561

- ประชากรเป้าหมาย (Target population)

ประชากรไทยทั่วไป

- เกณฑ์ในการคัดเลือกเข้ามาศึกษา (Inclusion criteria)

ชิ้นเนื้อของผู้ป่วยที่มารับการผ่าตัดชิ้นเนื้อไฝทั้งหมดที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ในช่วง 1 มกราคม พ.ศ. 2556 – 31 พฤษภาคม พ.ศ. 2561 โดยมีการลงชื่อยินยอมในการทำหัตถการและได้รับการวินิจฉัยทางตจพยาธิวิทยาเป็นไฝ

- กฎเกณฑ์ในการคัดเลือกออกจากการศึกษา (Exclusion criteria)

1. ไม่สามารถตามข้อมูลทางเวชระเบียนได้
2. ผู้ป่วยมีการบันทึกโรคประจำตัวอย่างอื่นที่มีสารมิวซินสะสมในชั้นหนังแท้ได้เช่นกัน (รายละเอียดในภาคผนวก)
3. ชิ้นเนื้อไฝ ไม่มีส่วนของผิวหนังปกตีสวมด้วย หรือมีน้อยจนเกินกว่าจะนำมาประเมินได้
4. ชิ้นเนื้อไฝที่ตัดจากส่วนของ nail matrix, nail bed

ในการศึกษานี้ได้เลือกชิ้นเนื้อไฝ เนื่องจากชิ้นเนื้อไฝ ไม่มี ปัจจัยต่างๆ เช่น auto-antibody การอักเสบ และ cytokine ต่างๆ ที่มีผลต่อการสร้าง mucin เพิ่มขึ้น เข้ามาเกี่ยวข้อง รวมทั้ง ในการตัดชิ้นเนื้อไฝ จะทำโดยการ excision ซึ่งจะได้ชิ้นส่วนของผิวหนังปกติ และได้ส่วนของ dermis ร่วมด้วย ซึ่งในการศึกษาจะใช้ชิ้นส่วนของผิวหนังปกติในการประเมินระดับ mucin

3.3 ขนาดตัวอย่าง

ใช้วิธีคำนวณตัวอย่างโดยใช้สูตร หาค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยกลุ่มตัวอย่าง 2 กลุ่มที่เป็นอิสระต่อกัน

Continuous data – two independent groups

$$n/\text{group} = 2 [(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta}) / \text{standardized mean difference effect size}]^2$$

$$\text{standardized mean difference effect size} = (M_1 - M_2) / S_p$$

จากการ review literature ยังไม่เคยมีงานวิจัยในรูปแบบใกล้เคียงกันจึงไม่สามารถคำนวณตัวเลขเพื่อหาขนาดตัวอย่างได้อย่างชัดเจน

จึงพิจารณาคำนวณ โดยใช้ effect size: cohen's rule of thumb

โดยกำหนด Standardised mean difference effect size ในระดับ medium = 0.5

- Type I error กำหนด ค่า $\alpha = 0.05$ จะได้ค่า $Z_{\alpha/2} = 1.96$, 95% CI

- Type II error กำหนด ค่า $\beta = 0.2$ โดยมีค่า power = 80% จะได้ค่า $Z_{\beta} = 0.84$

จากการแทนค่าในสูตร จะได้

$$n/\text{group} = 2[(1.96+0.84)/0.5]^2$$

จะได้ $n/\text{group} = 63$

โดยจะคิดเพิ่มอีก 10% เนื่องจาก ชิ้นเนื้อบางชิ้นอาจมีปัญหา ดังนั้นจะมี $n/\text{group} = 70$

การสังเกตและการวัด (OBSERVATION AND MEASUREMENT)

เนื่องจากการโดนแสงแดดของแต่ละคนไม่เท่ากัน การแบ่งกลุ่มโดยอิงจากตำแหน่งบนร่างกายอาจจะได้ข้อมูลที่ถูกตัดชัดเจน ดังนั้นจึงเลือก ชิ้นเนื้อที่ผ่านเกณฑ์คัดเลือกที่มีลักษณะทางตจพยาริวิทยาที่บ่งบอกถึงการเปลี่ยนแปลงจากการโดนแสงแดดเป็นประจำ ซึ่งลักษณะของการเปลี่ยนของผิวหนังเนื่องจากแสงแดดที่ชัดเจนที่สุดคือ solar elastosis[13] โดยมีการประเมินระดับ solar elastosis เพื่อจัดกลุ่มชิ้นเนื้อที่โดนแดดเป็นประจำ และชิ้นเนื้อที่ไม่ได้โดนแดดเป็นประจำ ตาม chronic sun damage (CSD) classification โดยอิงตาม การศึกษาของ Landi MT et al [14]

การประเมิน solar elastosis

การประเมินระดับของ solar elastosis จะประเมินจากชิ้นเนื้อที่ผ่านการย้อมสี hamatoxylin-eosin (H&E) โดยศึกษาที่กำลังขยาย 100-200x โดยประเมินตาม Chronic sun damage (CSD) classification โดยมีการให้คะแนนระดับของ chronic sun damage (CSD) คือ 0-3 คะแนน

CSD 0: ไม่พบเส้นใย elastosis

CSD 1: ลักษณะของเส้นใย elastosis ที่พบ จะอยู่เป็นเส้นเดี่ยวสีม่วงเทาแทรกระหว่างเส้นใย collagen เส้นใย elastosis จะไม่อยู่เกาะเป็นกลุ่มหนา

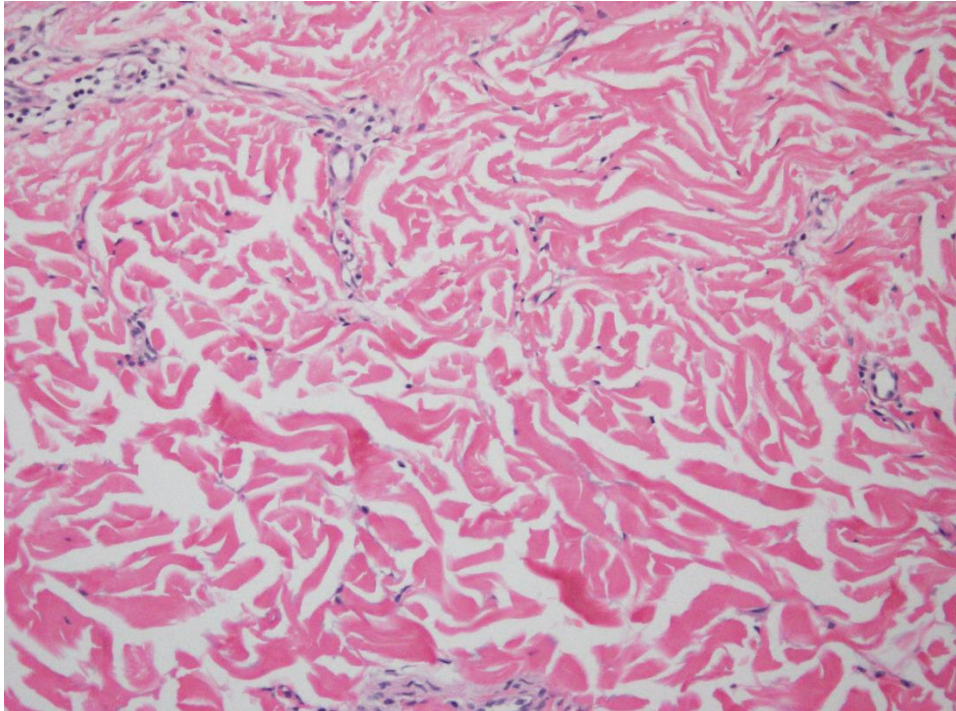
CSD 2: ลักษณะของเส้นใย elastosis ที่พบ จะอยู่เป็นเส้นหนาสีม่วงเทาในปริมาณที่มากกว่าอยู่เป็นเส้นเดี่ยว

CSD 3: ลักษณะของเส้นใย elastosis ที่พบ จะอยู่เป็นกลุ่มก้อนวัตถุสีม่วงเทาไร้รูปร่างที่ชัดเจน ในกลุ่มก้อนจะไม่เห็นลักษณะเป็นเส้นใย elastosis ที่ชัดเจน

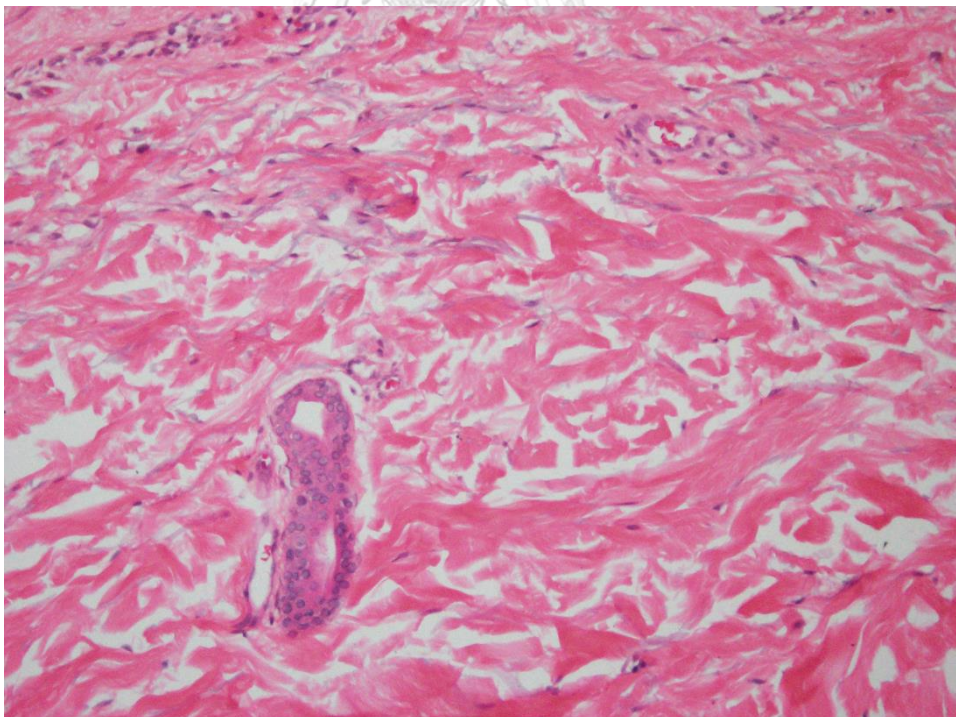
หลังจากการประเมินระดับของ solar elastosis แล้ว จะจำแนกกลุ่มชิ้นเนื้อโดย

CSD น้อยกว่า 2 = กลุ่มชิ้นเนื้อที่ไม่ได้โดนแดดเป็นประจำ

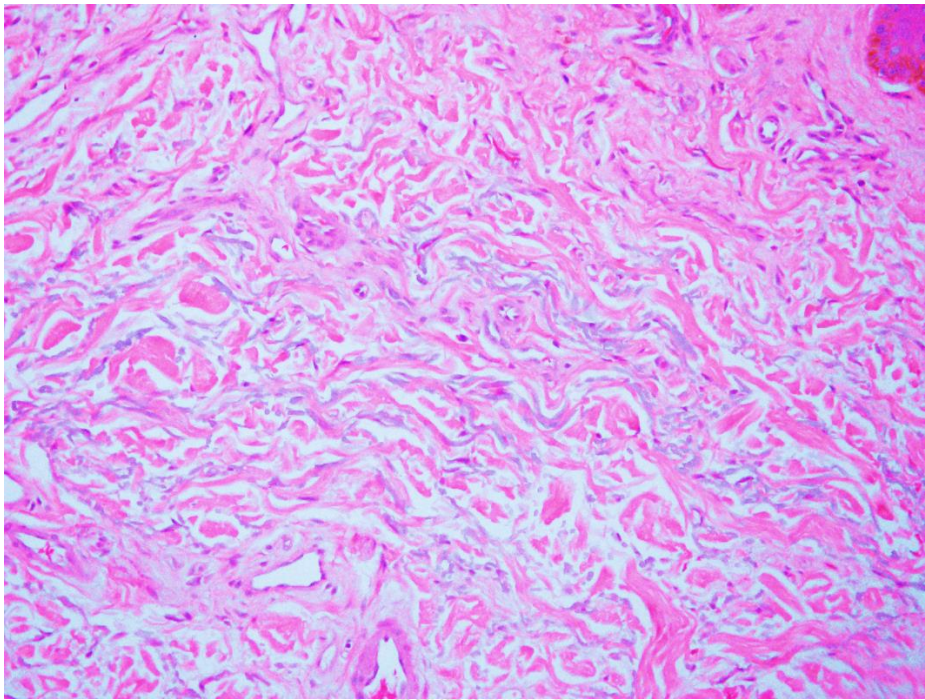
CSD ที่ระดับ 2 ขึ้นไป = กลุ่มชิ้นเนื้อที่โดนแสงแดดเป็นประจำ



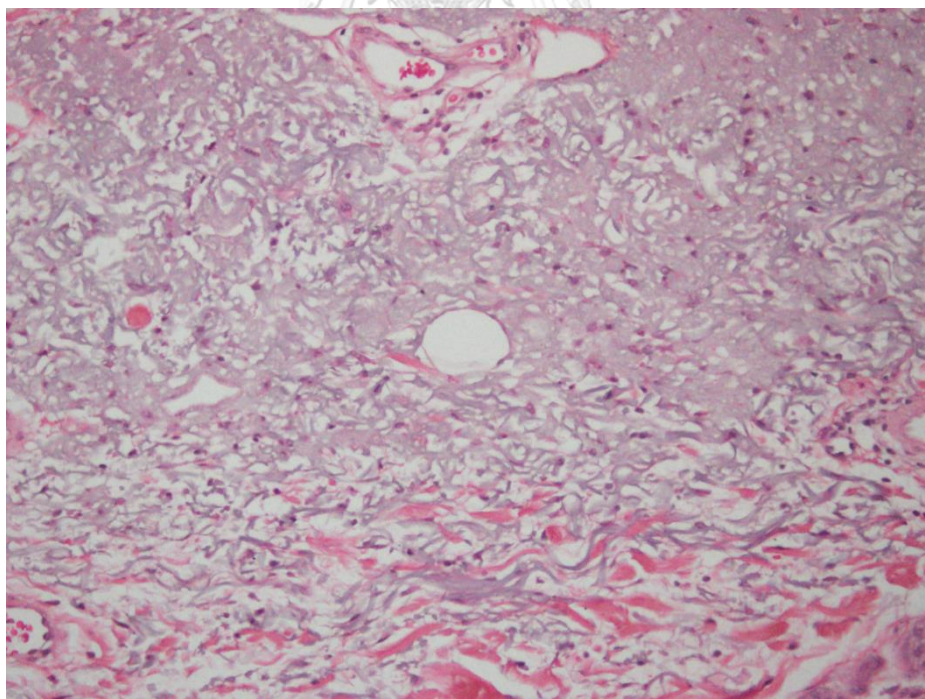
ภาพที่ 1 (200X) CSD=0



ภาพที่ 2 (200X) CSD=1



ภาพที่ 3 (200X) CSD=2



ภาพที่ 4 (200X) CSD=3

การติดสี alcian blue ของสาร mucin ในชั้นหนังแท้ (Dermis)

การติดสี alcian blue ของสาร mucin ในชั้นหนังแท้ (Dermis) ทั้ง 3 ระดับ คือ papillary dermis, superficial reticular dermis และ deep reticular dermis โดยมีเกณฑ์การให้เป็นคะแนน Mucin score โดยวิธีการให้คะแนน mucin score อิงตามการศึกษาของ Vincent JG et al[7] ดังนี้

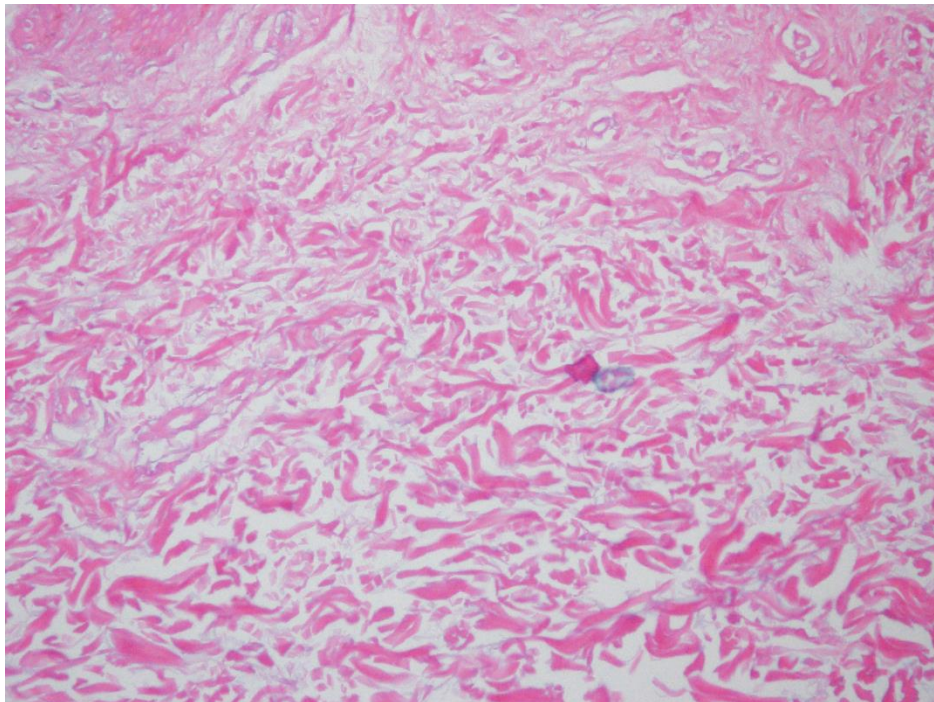
0 = ไม่ติดสีเลย

1 = ติดสีเล็กน้อยแทบสังเกตไม่ได้

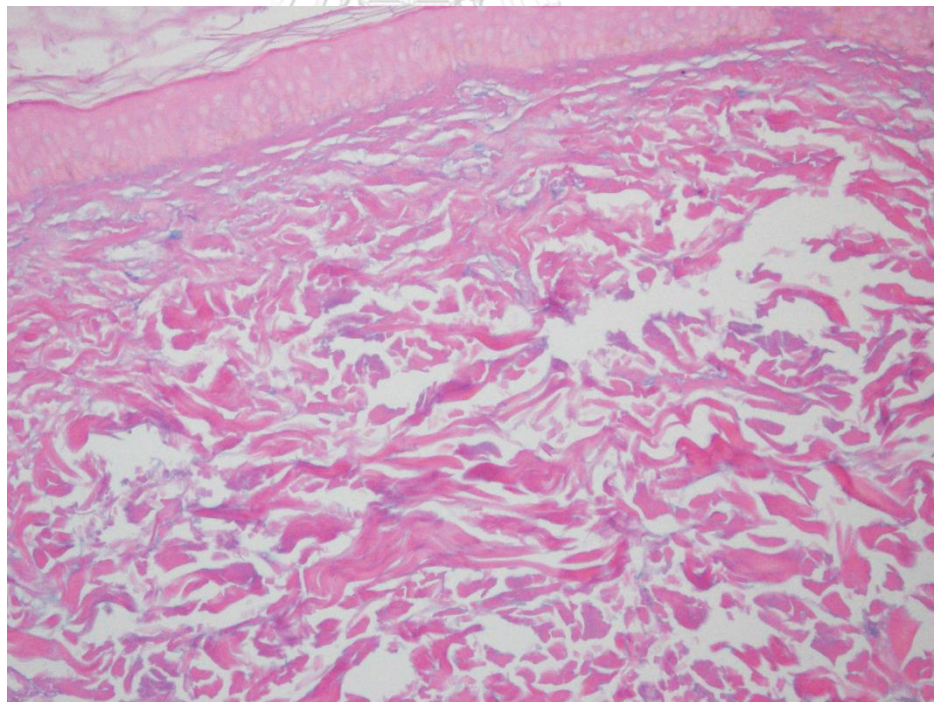
2 = ติดสีปานกลางแทรกระหว่างช่องว่างของเส้นใยคอลลาเจน

3 = ติดสีปริมาณมากเต็มช่องว่างของเส้นใยคอลลาเจน

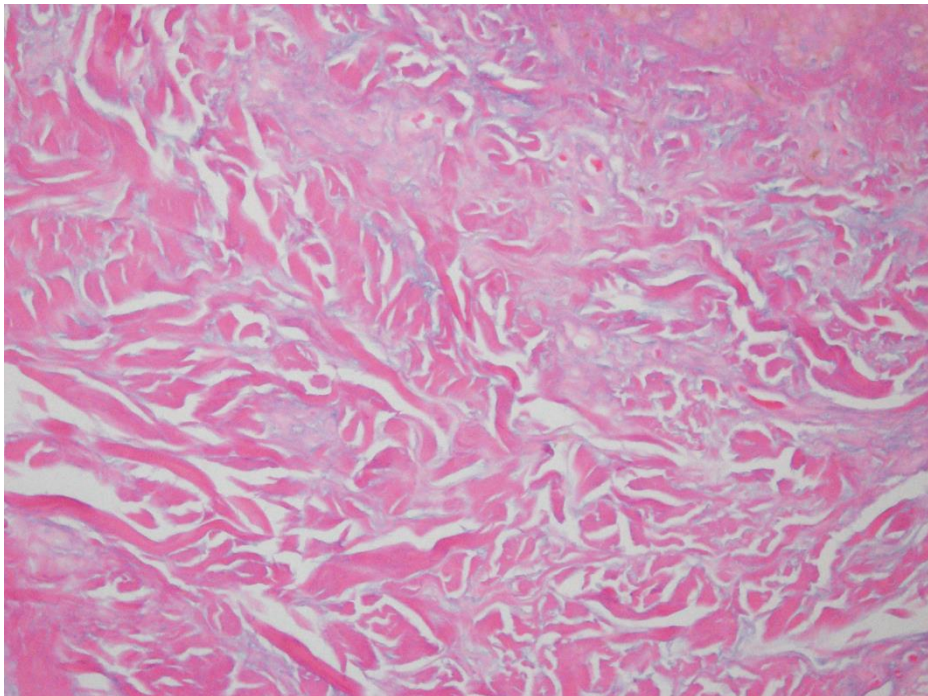
ในหนังแท้ (Dermis) แต่ละระดับโดยคะแนนจะอยู่ระหว่าง 0 – 3 คะแนน และนำคะแนนของแต่ละชั้นมารวมกัน คะแนนจะอยู่ในช่วง 0-9 คะแนน โดยใช้ ตจพยาริแพทย์ที่เป็นอิสระต่อกันในการประเมิน 3 ท่าน



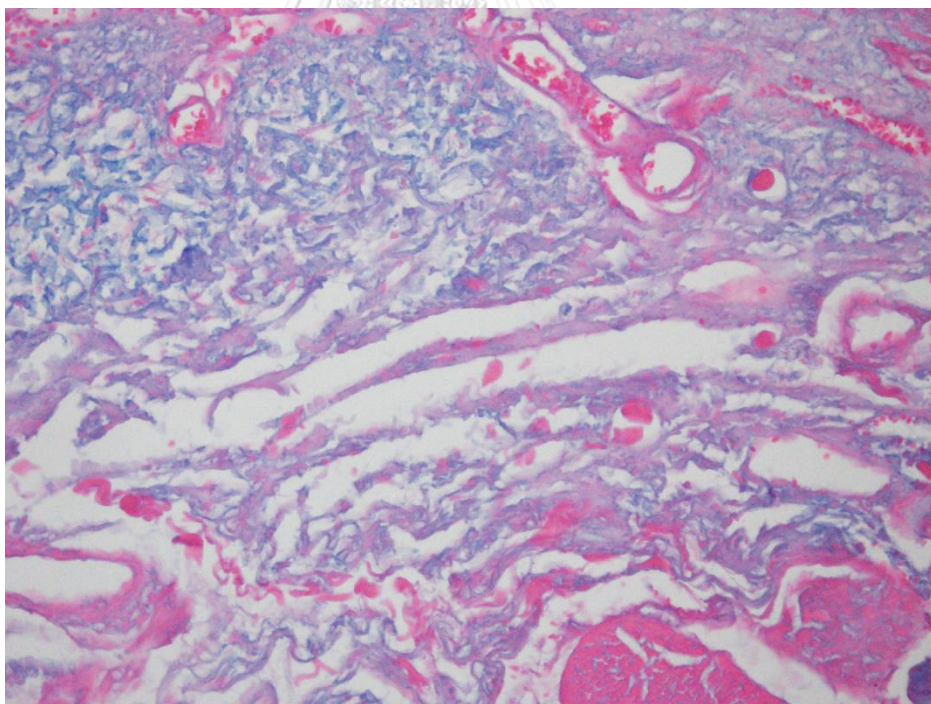
ภาพที่ 5 (200X) Mucin score=0



ภาพที่ 6 (200X) Mucin score=1



ภาพที่ 7 (200X) Mucin score=2



ภาพที่ 8 (200X) Mucin score=3

3.4 ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัยโดยละเอียด

1. ขอใบรับรองจริยธรรม จาก คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
2. ขออนุญาตทำวิจัยในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย จาก ผู้อำนวยการ โรงพยาบาลฯ
3. ตรวจสอบใบยินยอมการทำหัตถการจากเวชระเบียนที่มีการแจ้งวัตถุประสงค์ ข้อดี ข้อเสีย
4. เก็บข้อมูลผลพยาธิวิทยาจากระบบบันทึกข้อมูลผลตรวจทางตรวจทางจุลพยาธิวิทยา ของหน่วยโรคผิวหนัง โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย เฉพาะผู้ป่วยที่ได้ลงนามรับรองใน ใบยินยอมทำหัตถการแล้ว ตั้งแต่ 1 มกราคม พ.ศ. 2556 – 31 พฤษภาคม พ.ศ. 2561 ที่เข้าได้กับ เกณฑ์การคัดเลือกเข้าร่วมและการตัดออกจากการศึกษา (Inclusion and exclusion criteria)
5. นำสไลด์ชิ้นเนื้อของผู้ป่วยที่ผ่านเกณฑ์การคัดเลือก ที่ย้อมสี hematoxylin-eosin (H&E) มาทบทวนการวินิจฉัยอีกครั้ง และ ประเมิน ระดับ solar elastosis เพื่อแบ่ง กลุ่มชิ้นเนื้อที่ โดนแสงแดดเป็นประจำ และ ไม่โดนแสงแดดเป็นประจำ โดยตจพยาธิแพทย์ 3 ท่านที่เป็นอิสระ ต่อกัน โดยพิจารณาจากส่วนของชิ้นเนื้อปกติข้างไฟ
6. รวบรวมแบบบันทึกข้อมูล จาก ตจพยาธิแพทย์ ที่ให้การประเมินระดับของ solar elastosis เพื่อนำระดับของ solar elastosis มาคำนวณหาค่าเฉลี่ย และนำมาใช้ในการแบ่งกลุ่ม ชิ้นเนื้อเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่โดนแดดเป็นประจำ และ ไม่โดนแดดเป็นประจำ
7. สุ่มสไลด์จากแต่ละกลุ่มมาจำนวนเท่ากับ จำนวนที่คำนวณได้ ข้างต้นคือ กลุ่มละ 70 slide ด้วยวิธี simple random sampling
8. ค้นหาข้อมูลพื้นฐานของคนไข้จากประวัติในเวชระเบียน เพื่อบันทึกลงในแบบบันทึก ข้อมูล
9. นำสไลด์ มาย้อมสี alcian blue pH 2.5 (AB) เพิ่มเติม โดยทำการย้อมในหน่วยผิวหนัง โรงพยาบาล จุฬาลงกรณ์

วิธีการย้อมสี alcian blue

- 1) เตรียมสไลด์ขึ้นเนื้อ
- 2) จุ่มสไลด์ลงในภาชนะบรรจุสารละลาย 3% acetic acid ทิ้งไว้ 3 นาที
- 3) จุ่มสไลด์ลงในสีย้อม alcian blue เป็นระยะเวลา 30 นาที
- 4) ล้างสไลด์ด้วยน้ำประปาเป็นระยะเวลา 10 นาที
- 5) จุ่มสไลด์ลงในสารละลาย nuclear fast red เป็นระยะเวลา 5 นาที
- 6) ล้างสไลด์ด้วยน้ำประปาเป็นระยะเวลา 1 นาที
- 7) จุ่มสไลด์ลงใน 95% ethyl alcohol , absolute alcohol และ xylene จุ่มสไลด์ลงในแต่ละสารละลาย 2 ครั้ง ครั้งละ 2 นาที ตามลำดับ
- 8) ปิดสไลด์ด้วย cover slip

- ปัญหาของการย้อม Alcian blue

1. ความหนาของการตัด section มีผลต่อการติดสี alcian blue
2. Necrotic tissue สามารถติดสี แบบ Non-specific ได้

เพื่อลดปัญหาด้านการติดสี การตัดชิ้นเนื้อทุกชิ้นจึงตัดที่ความหนาเท่ากัน ที่ 4 micron รวมทั้ง ชิ้นเนื้อที่เลือกในงานวิจัย คือชิ้นเนื้อไฝ ซึ่งไม่มี necrotic tissue จึงไม่ได้ส่งผลกระทบต่อการแปลผล

เพื่อควบคุมคุณภาพในการย้อมให้เท่ากัน จึงใช้ เทคนิคการย้อมเดียวกัน โดยควบคุมให้ทุกๆขั้นตอนเหมือนกันสำหรับทุกชิ้นเนื้อและ ใช้สีย้อมเดียวกัน จากบริษัทเดียวกัน

10. ประเมินการติดสี alcian blue ของสาร mucin ในชั้นหนังแท้ (Dermis) ดังที่ได้กล่าวข้างต้น โดย ตจพยาธิแพทย์ 3 ท่าน ที่เป็นอิสระต่อกัน โดยพิจารณาจากชิ้นเนื้อปกติ ซ้ำกัน โดยแต่ละท่านจะไม่ทราบว่า สไลด์แต่ละแผ่น อยู่กลุ่ม ชิ้นเนื้อที่โดนแสงเป็นประจำ หรือ ไม่โดนแสงเป็นประจำ

11. รวบรวมแบบบันทึกข้อมูลจาก ตจพยาธิแพทย์ 3 ท่าน ที่ให้การประเมิน ระดับของ mucin เพื่อมาหาค่าเฉลี่ยและค่ารวม

3.5. การรวบรวมข้อมูล

- เก็บข้อมูลพื้นฐานของคนไข้จากเวชระเบียน โดยทำในหน่วยผิวหนัง โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์
- ประเมิน ระดับ solar elastosis และ ระดับ mucin โดย ตจพยาศิแพทย์ 3 ท่านที่เป็นอิสระต่อกัน และไม่ทราบผลการประเมิน ของตจพยาศิแพทย์ท่านอื่น โดยทำในต่างสถานที่กัน คือ
 - หน่วยผิวหนัง โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์
 - ภาควิชาตจวิทยา โรงพยาบาลศิริราช
 - แผนกผิวหนัง กองอายุรกรรม โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า
- รวบรวมข้อมูลจาก แบบบันทึกจาก ตจพยาศิแพทย์ ทั้ง 3 ท่าน โดยทำในหน่วยผิวหนัง โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์



ตารางที่ 2 แสดงการสรุปการรวบรวมข้อมูลและวิธีการรวบรวมข้อมูลทั้งหมด

Variables		Method
Demographic variables	Gender Age Skin type Area of tissue History of smoking, History of alcohol consumption Weight, Height and BMI	Extracting from records
Outcome variables	Mucin score in Papillary dermis Superficial reticular dermis Deep reticular dermis Total mucin score	Grading score Summation of mucin Score

3.6 การวิเคราะห์ข้อมูล

ผู้วิจัย ใช้โปรแกรม SPSS version 17 ในการวิเคราะห์ข้อมูลของคนไข้

ข้อมูลพื้นฐานทั่วไปของผู้ป่วย ได้แก่ เพศ อายุ สีผิว ตำแหน่งที่ตัดชิ้นเนื้อ ประวัติการสูบบุหรี่ ดัชนีมวลกาย น้ำหนัก ส่วนสูง และ BMI โดย ข้อมูลเชิงกลุ่ม (categorical data) จะแสดงเป็นจำนวนและร้อยละ และถูกนำมาทดสอบความแตกต่างระหว่างกลุ่มด้วย Chi-square test สำหรับข้อมูลเชิงปริมาณ จะถูกนำมาพิจารณาการแจกแจงของข้อมูล (normality) โดยใช้ Kolmogorov-Smirnov test ในการทดสอบ ว่าเป็น การแจกแจงแบบปกติ (normal distribution) หรือไม่ โดยข้อมูลที่เป็นข้อมูลเชิงปริมาณ และเป็นมีการแจกแจงแบบปกติ จะนำเสนอข้อมูลในรูปของ ค่าเฉลี่ย(mean) และ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) และหาความแตกต่างระหว่างกลุ่มด้วย unpair T-Test ส่วนข้อมูลที่มีการแจกแจงไม่เป็นปกติ จะนำเสนอข้อมูลในรูปของ ค่ามัธยฐาน (median) และ ค่าพิสัยระหว่างควอไทล์ (IQR) และหาความแตกต่างระหว่างกลุ่มด้วย non-parametric test โดยใช้สถิติ Mann-Whitney U Test

ผลระดับ mucin จะถูกนำมาวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างกลุ่มด้วย unpair T-Test สำหรับข้อมูลที่มีการแจกแจงตามปกติ หรือใช้ สถิติ Mann-Whitney U test สำหรับกรณีที่มีข้อมูลไม่ได้มีการแจกแจงแบบปกติ

สำหรับบางปัจจัยที่อาจจะเป็น confounding factor จะนำมาวิเคราะห์ต่อโดยใช้การวิเคราะห์แยกย่อยกลุ่ม (subgroup analysis) ผลระดับ mucin จะถูกนำมาวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างกลุ่มด้วย unpair T-Test สำหรับข้อมูลที่มีการแจกแจงตามปกติ หรือใช้ สถิติ Mann-Whitney U test สำหรับกรณีที่มีข้อมูลไม่ได้มีการแจกแจงแบบปกติ ร่วมกับ การวิเคราะห์การถดถอยพหุคูณเชิงเส้น (Multivariate linear regression) โดย ได้ใช้วิธีการแทนค่าแบบพหุ (multiple imputation) สำหรับ ข้อมูลที่หายไป (Missing value) ก่อนทำการวิเคราะห์การถดถอยพหุคูณเชิงเส้น

การวิเคราะห์ปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับ ระดับ mucin ได้เลือก การวิเคราะห์การถดถอยพหุคูณเชิงเส้น (Multivariate linear regression)

ตารางที่ 3 แสดงการสรุปชนิดของข้อมูล

Variables		Data summary		
		Type of data	Central tendency	Deviation
Demographic variables	Gender	Categorical	Percentage, proportion	Square root $[P(1-P)/N]$, 95%CI
	Age	Continuous	Mean or median	SD, 95%CI or IQR
	Skin type	Categorical	Percentage, proportion	Square root $[P(1-P)/N]$, 95%CI
	Area of tissue			
	History of smoking			
	History of alcohol consumption			
Weight, Height, BMI	Continuous	Mean or median	SD, 95%CI or IQR	
Outcome Variables	Mucin score in -papillary dermis -Superficial reticular dermis -Deep reticular dermis Total mucin score	Continuous	Mean or median	SD, 95%CI or IQR

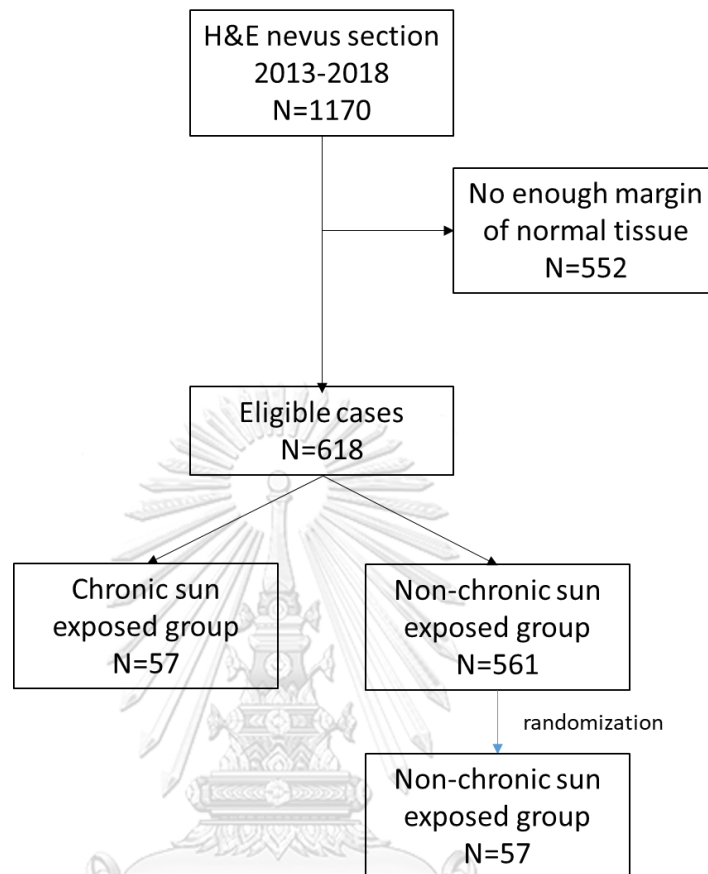
ตารางที่ 4 ตารางสรุปการวิเคราะห์ข้อมูล

Variables		Data analysis		
		Type of data	Statistical test	Data summary
Demographic variables	Gender	Categorical	Chi-square	P-value, 95% CI
	Age	Continuous	Unpaired T-test/ Mann-Whitney U test	P-value, 95% CI
	Skin type	Categorical	Chi-square	P-value, 95% CI
	Area of tissue			
	History of smoking			
	History of alcohol consumption			
Weight, Height, BMI	Continuous	Unpaired T-test/ Mann-Whitney U test	P-value, 95% CI	
Outcome Variables	Mucin score in -papillary dermis -Superficial reticular dermis -Deep reticular dermis Total mucin score	Continuous	Unpaired T-test/ Mann-Whitney U test	P-value, 95% CI

บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

4.1 ประชากรที่นำมาศึกษา

จากแผนภูมิที่ 2 ผู้ป่วยที่มารับการผ่าตัดชิ้นเนื้อไฝทั้งหมดที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ในช่วง 1 มกราคม พ.ศ. 2556 – 31 พฤษภาคม พ.ศ. 2561 โดยมีการลงชื่อยินยอมในการทำหัตถการและได้รับการวินิจฉัยทางตจพยาธิวิทยาเป็นไฝ จำนวนทั้งหมด 1170 ราย ชิ้นเนื้อ 552 ถูกคัดออกเนื่องจากมีพื้นที่ข้างชิ้นเนื้อไม่เพียงพอต่อการศึกษา หลังจากนั้นจึงนำชิ้นเนื้อมาศึกษาเพื่อแบ่งกลุ่ม ระหว่างชิ้นเนื้อที่ผ่านการโดนแดดเป็นประจำ และ ชิ้นเนื้อที่ไม่ได้ผ่านการโดนแดดเป็นประจำ พบว่า มีชิ้นเนื้อที่โดนแดดเป็นประจำ 57 ชิ้น และ ชิ้นเนื้อที่ไม่โดนแดดเป็นประจำ 561 ชิ้น และทำการ random sampling ชิ้นเนื้อ 57 ชิ้น จาก กลุ่มชิ้นเนื้อที่ไม่โดนแดดเป็นประจำ



แผนภูมิที่ 2 แสดงการคัดเลือกประชากร

1. ข้อมูลพื้นฐานของประชากรที่นำมาศึกษา

จากตารางที่ 5 ข้อมูลทั่วไปของประชากรที่ผ่านการคัดเลือกเข้าในการศึกษาคือ ชี้นเนื้อที่ผ่านการโดนแดดเป็นประจำ 57 ชี้น และไม่ได้ผ่านการโดนแดดเป็นประจำ 57 ชี้น

● เพศ

- ชี้นเนื้อจากกลุ่มโดนแดดเป็นประจำ เป็นชี้นเนื้อจากผู้ป่วยเพศชาย 21 ชี้น (ร้อยละ 36.84%) และ ชี้นเนื้อจากผู้ป่วยเพศหญิง 36 ชี้น (ร้อยละ 63.16%)
- ชี้นเนื้อจากกลุ่มไม่ได้โดนแดดเป็นประจำ เป็นชี้นเนื้อจากผู้ป่วยเพศชาย 10 ชี้น (ร้อยละ 17.54%) และ ชี้นเนื้อจากผู้ป่วยเพศหญิง 47 ชี้น (ร้อยละ 82.46%)
- เมื่อพิจารณาเทียบระหว่าง 2 กลุ่ม พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ
ค่า P-value =0.021

- อายุ
 - ขึ้นเนื่องจากกลุ่มโดนแดดเป็นประจำ เป็นขึ้นเนื่องจากผู้ป่วยอายุเฉลี่ย 62.33 ปี ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน คือ 11.47 ปี
 - ขึ้นเนื่องจากกลุ่มไม่ได้โดนแดดเป็นประจำ เป็นขึ้นเนื่องจากผู้ป่วยอายุเฉลี่ย 49.67 ปี ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน คือ 14.32 ปี
 - เมื่อพิจารณาเทียบระหว่าง 2 กลุ่ม พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ค่า P-value <0.001
- ตำแหน่งที่ตดขึ้นเนื้อ
 - ขึ้นเนื่องจากกลุ่มโดนแดดเป็นประจำ เป็นขึ้นเนื่องจากผู้ป่วยที่ตดขึ้นเนื้อจากผิวหนังส่วนบริเวณ sun protected area จำนวน 2 คน (ร้อยละ 3.5) เป็นขึ้นเนื่องจากผู้ป่วยที่ตดขึ้นเนื้อจากผิวหนังบริเวณ sun exposed area จำนวน 55 (ร้อยละ 96.5)
 - ขึ้นเนื่องจากกลุ่มไม่ได้โดนแดดเป็นประจำ เป็นขึ้นเนื่องจากผู้ป่วยที่ตดขึ้นเนื้อจากผิวหนังส่วนบริเวณ sun protected area จำนวน 26 คน (ร้อยละ 45.61) เป็นขึ้นเนื่องจากผู้ป่วยที่ตดขึ้นเนื้อจากผิวหนังบริเวณ sun exposed area จำนวน 31 (ร้อยละ 54.39)
 - เมื่อพิจารณาเทียบระหว่าง 2 กลุ่ม พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ค่า P-value <0.001
- ระดับสีผิว (Fitzpatrick skin types)
 - ขึ้นเนื่องจากกลุ่มโดนแดดเป็นประจำ เป็นขึ้นเนื่องจากผู้ป่วยที่มีสีผิวระดับ 4 (Fitzpatrick skin type IV) มีจำนวน 19 คน (ร้อยละ 63.33) เป็นขึ้นเนื่องจากผู้ป่วยที่มีสีผิวระดับ 5 (Fitzpatrick skin type V) มีจำนวน 11 คน (ร้อยละ 36.67)
 - ขึ้นเนื่องจากกลุ่มไม่ได้โดนแดดเป็นประจำ เป็นขึ้นเนื่องจากผู้ป่วยที่มีสีผิวระดับ 4 (Fitzpatrick skin type IV) มีจำนวน 8 คน (ร้อยละ 33.33) เป็นขึ้นเนื่องจากผู้ป่วยที่มีสีผิวระดับ 5 (Fitzpatrick skin type V) มีจำนวน 16 คน (ร้อยละ 66.67)
 - เมื่อพิจารณาเทียบระหว่าง 2 กลุ่ม พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ค่า P-value =0.028

- การสูบบุหรี่
 - ขึ้นเนื่องจากกลุ่มโดนแดดเป็นประจำ เป็นขึ้นเนื่องจากผู้ป่วยที่สูบบุหรี่ จำนวน 1 คน (ร้อยละ 3.75) เป็นขึ้นเนื่องจากผู้ป่วยที่ไม่สูบบุหรี่ จำนวน 27 คน (ร้อยละ 96.43)
 - ขึ้นเนื่องจากกลุ่มไม่ได้โดนแดดเป็นประจำ เป็นขึ้นเนื่องจากผู้ป่วยที่สูบบุหรี่ จำนวน 2 คน (ร้อยละ 8.33) เป็นขึ้นเนื่องจากผู้ป่วยที่ไม่สูบบุหรี่ จำนวน 22 คน (ร้อยละ 91.67)
 - เมื่อพิจารณาเทียบระหว่าง 2 กลุ่ม พบว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ค่า P-value =0.463
- การดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์
 - ขึ้นเนื่องจากกลุ่มโดนแดดเป็นประจำ เป็นขึ้นเนื่องจากผู้ป่วยที่ดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ จำนวน 0 คน (ร้อยละ 0) เป็นขึ้นเนื่องจากผู้ป่วยที่ไม่ดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ จำนวน 29 คน (ร้อยละ 100)
 - ขึ้นเนื่องจากกลุ่มไม่ได้โดนแดดเป็นประจำ เป็นขึ้นเนื่องจากผู้ป่วยที่ดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ จำนวน 2 คน (ร้อยละ 8.33) เป็นขึ้นเนื่องจากผู้ป่วยที่ไม่ดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ จำนวน 22 คน (ร้อยละ 91.67)
 - เมื่อพิจารณาเทียบระหว่าง 2 กลุ่ม พบว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ค่า P-value =0.113
- ส่วนสูงและน้ำหนัก
 - ขึ้นเนื่องจากกลุ่มโดนแดดเป็นประจำ เป็นขึ้นเนื่องจากผู้ป่วยที่มีส่วนสูง 159.3 เซนติเมตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 5.92 เซนติเมตร น้ำหนัก 58.79 กิโลกรัม ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 7.42 กิโลกรัม BMI 23.18 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 2.83
 - ขึ้นเนื่องจากกลุ่มไม่ได้โดนแดดเป็นประจำ เป็นขึ้นเนื่องจากผู้ป่วยที่มีส่วนสูง 158.75 เซนติเมตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 6.89 เซนติเมตร น้ำหนัก 58.27 กิโลกรัม ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 10.13 กิโลกรัม BMI 23.08 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 3.5
 - เมื่อพิจารณาระหว่าง 2 กลุ่ม พบว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของ ส่วนสูง ค่า P-value= 0.746 น้ำหนัก ค่า P-value=0.833 และ BMI ค่า P-value = 0.914

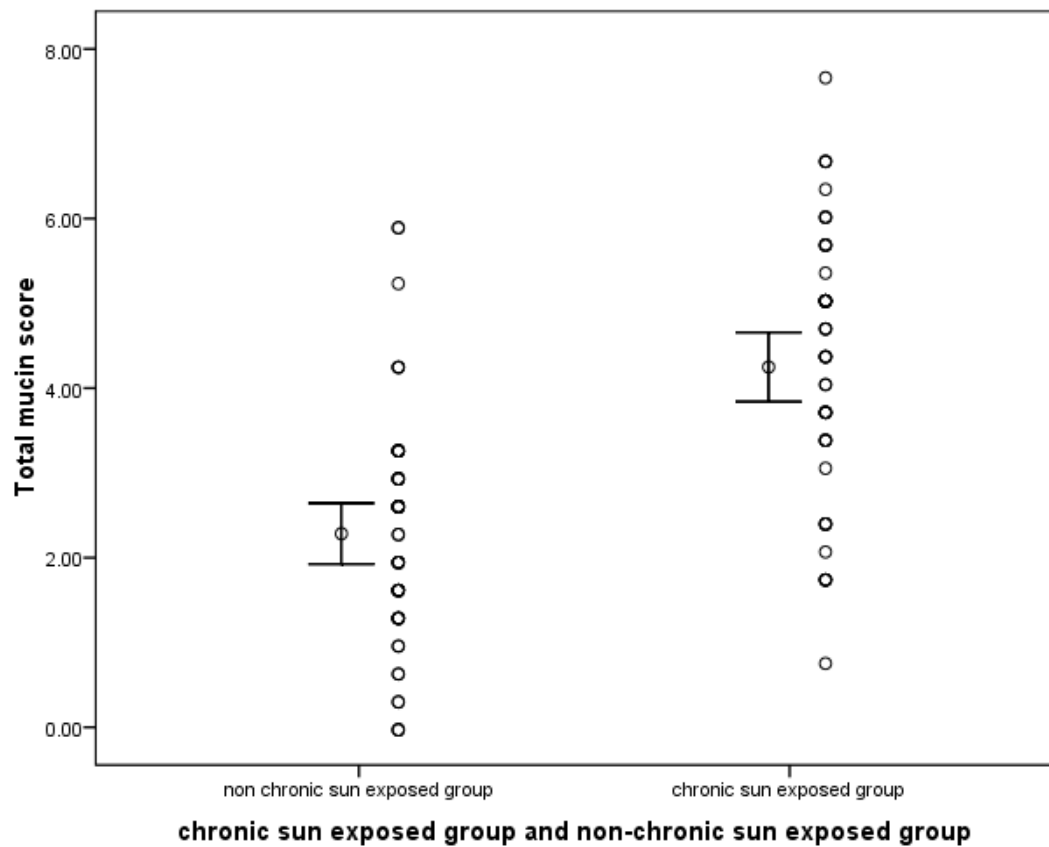
ตารางที่ 5 ตารางแสดงคุณลักษณะของประชากร ระหว่างกลุ่มขึ้นเนื้อที่โดนแดดเป็นประจำ และ
ขึ้นเนื้อที่ไม่โดนแดดเป็นประจำ

Characteristic	Chronic sun exposed group (n=57)	Non-chronic sun exposed group (n=57)	P-value
Male/Female	21 (36.84%)/36 (63.16)	10 (17.54)/47(82.46)	0.021 [†]
Age, years, mean (SD)	62.33 (11.47)	49.67 (14.32)	<0.001 [‡]
Area of tissue			<0.001 [†]
- Sun protected area	2 (3.50)	26 (45.61)	
- Sun exposed area	55 (96.5)	31 (54.39)	
Skin type	(n=30)	(n=24)	0.028 [†]
- Type IV	19 (63.33)	8 (33.33)	
- Type V	11 (36.67)	16 (66.67)	
History of smoking	(n=28)	(n=24)	0.463 [†]
- Smoke	1 (3.57)	2 (8.33)	
- Not smoke	27 (96.43)	22 (91.67)	
History of alcohol consumption	(n=29)	(n=24)	0.113 [†]
- Drink	0 (0)	2 (8.33)	
- Not drink	29 (100)	22 (91.67)	
	(n=27)	(n=24)	
Height (cm), mean (SD)	159.33(5.92)	158.75 (6.89)	0.746 [‡]
Weight (Kg), mean (SD)	58.79 (7.42)	58.27 (10.13)	0.833 [‡]
BMI, mean (SD)	23.18 (2.83)	23.08 (3.5)	0.914 [‡]

- Data are presented as n (%) unless otherwise noted.
- [†]Chi-squared test
- [‡]Unpaired t-test

4.2 ผลการวิจัย

จากแผนภูมิที่ 3 แสดงระดับ mucin เฉลี่ยรวมของทุกชั้น ในกลุ่มขึ้นเนื้อที่โดนแดดเป็นประจำ มีค่า 4.23 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 1.54 และ ระดับ mucin เฉลี่ยรวมของทุกชั้น ในกลุ่มขึ้นเนื้อที่ไม่โดนแดดเป็นประจำ มีค่า 2.3 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 1.35 เมื่อเปรียบเทียบค่าระหว่างทั้ง 2 กลุ่ม พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า P-value <0.001



แผนภูมิที่ 3 แสดงระดับ mucin รวมทุกชั้น ของขึ้นเนื้อที่โดนแดดเป็นประจำและไม่โดนแดดเป็นประจำ (Unpaired T-test)

เมื่อพิจารณาแยกชั้นในแต่ละชั้นของ dermis จากตารางที่ 6 แสดงการเปรียบเทียบ ระดับ mucin ระหว่างกลุ่มชั้นเนื้อที่โดนแดดเป็นประจำ และ กลุ่มชั้นเนื้อที่ไม่ได้โดนแดดเป็นประจำ ในแต่ละชั้น

จาก ตารางที่ 6 และ แผนภูมิที่ 4 พบว่า มัธยฐานของ ระดับ mucin ของชั้น papillary dermis ในกลุ่มชั้นเนื้อที่โดนแดดเป็นประจำ มีค่า 1.67 และ มัธยฐานของ ระดับ mucin ของชั้น papillary dermis ในกลุ่มชั้นเนื้อที่ไม่โดนแดดเป็นประจำ มีค่า 1 เมื่อเปรียบเทียบค่าระหว่างทั้ง 2 กลุ่ม พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า P-value <0.001

จาก ตารางที่ 6 และ แผนภูมิที่ 5 พบว่า มัธยฐานของ ระดับ mucin ของชั้น Superficial reticular dermis ในกลุ่มชั้นเนื้อที่โดนแดดเป็นประจำ มีค่า 1.67 และ มัธยฐานของ ระดับ mucin ของชั้น Superficial reticular dermis ในกลุ่มชั้นเนื้อที่ไม่โดนแดดเป็นประจำ มีค่า 1 ค่าเมื่อเปรียบเทียบค่าระหว่างทั้ง 2 กลุ่ม พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า P-value <0.001

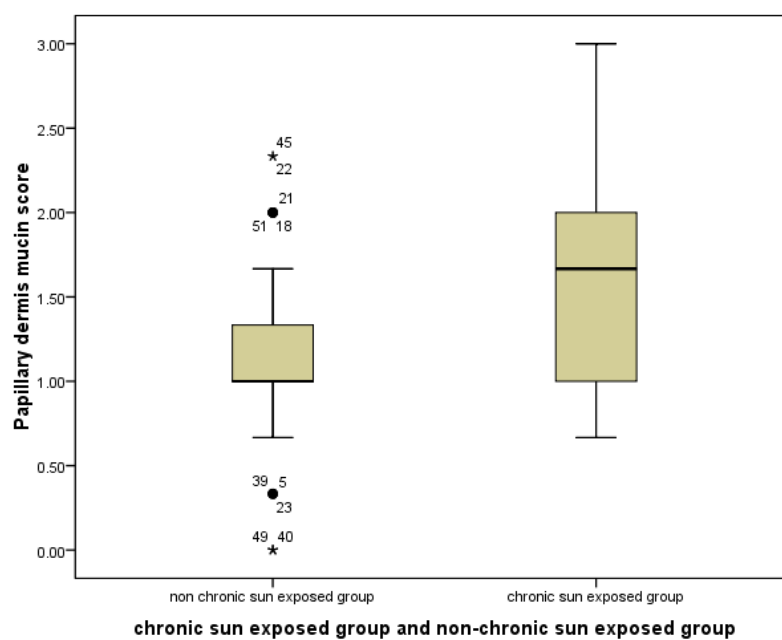
จาก ตารางที่ 6 และ แผนภูมิที่ 6 พบว่า มัธยฐานของ ระดับ mucin ของชั้น Deep reticular dermis ในกลุ่มชั้นเนื้อที่โดนแดดเป็นประจำ มีค่า 1 และ มัธยฐานของ ระดับ mucin ของชั้น Deep reticular dermis ในกลุ่มชั้นเนื้อที่ไม่โดนแดดเป็นประจำ มีค่า 0 เมื่อเปรียบเทียบค่าระหว่างทั้ง 2 กลุ่ม พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า P-value <0.001

ระดับ mucin ในทุกชั้น มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างทั้ง 2 กลุ่ม

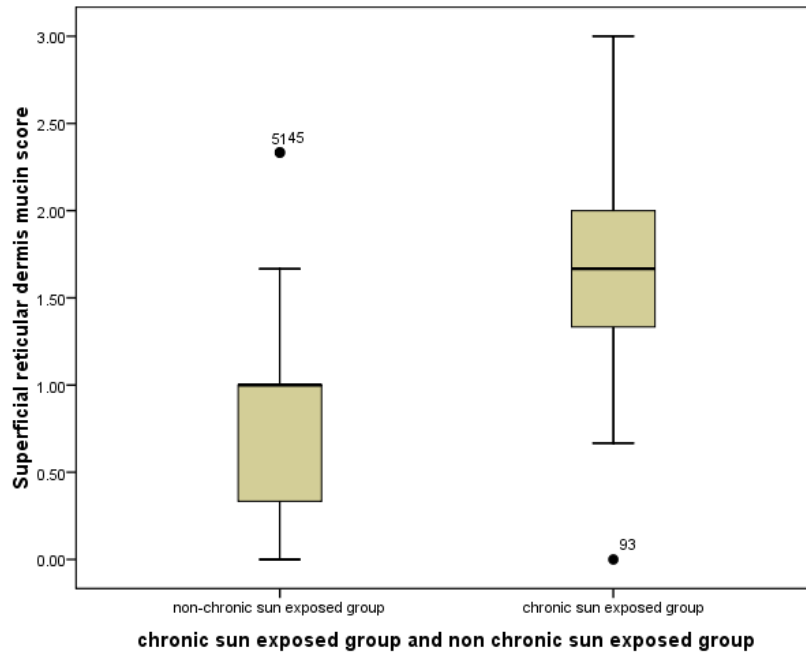
ตารางที่ 6 แสดงผลระดับ mucin ในแต่ละชั้น ระหว่างกลุ่มชั้นเนื้อที่โดนแดดเป็นประจำ และ ชั้นเนื้อที่ไม่โดนแดดเป็นประจำ

Dermal layer mucin score	Mucin score		P-value
	Chronic sun exposed group	Non-chronic sun exposed group	
Papillary dermis	1.67 (0.67-3)	1 (0-2.33)	<0.001 [‡]
Superficial reticular dermis	1.67 (0-3)	1 (0-2.33)	<0.001 [‡]
Deep reticular dermis	1.0 (0-2)	0 (0-1.67)	<0.001 [‡]

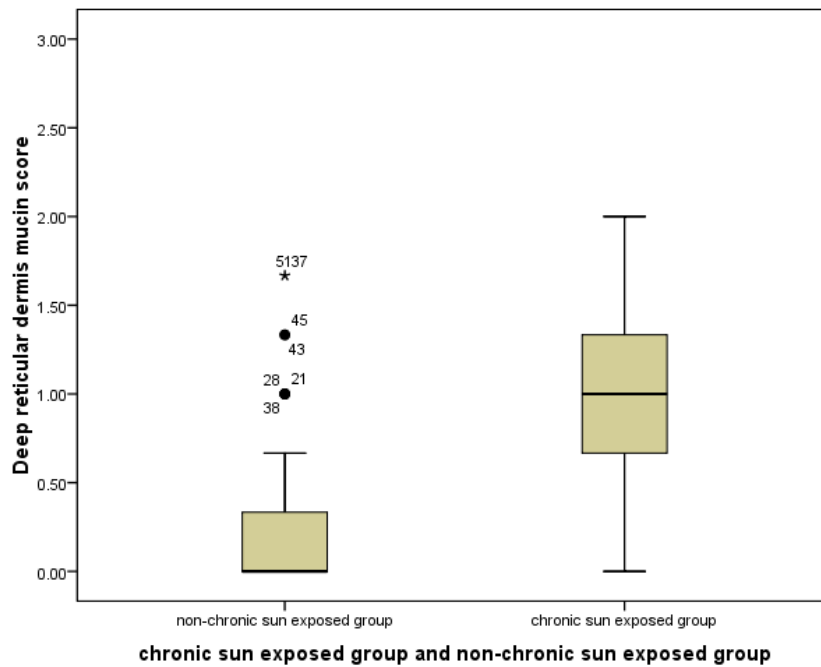
- All data are presented as median (min-max)
- [‡]Mann-Whitney U test



แผนภูมิที่ 4 แสดงระดับ mucin ในชั้น papillary dermis ของชั้นเนื้อที่โดนแดดเป็นประจำและไม่โดนแดดเป็นประจำ.



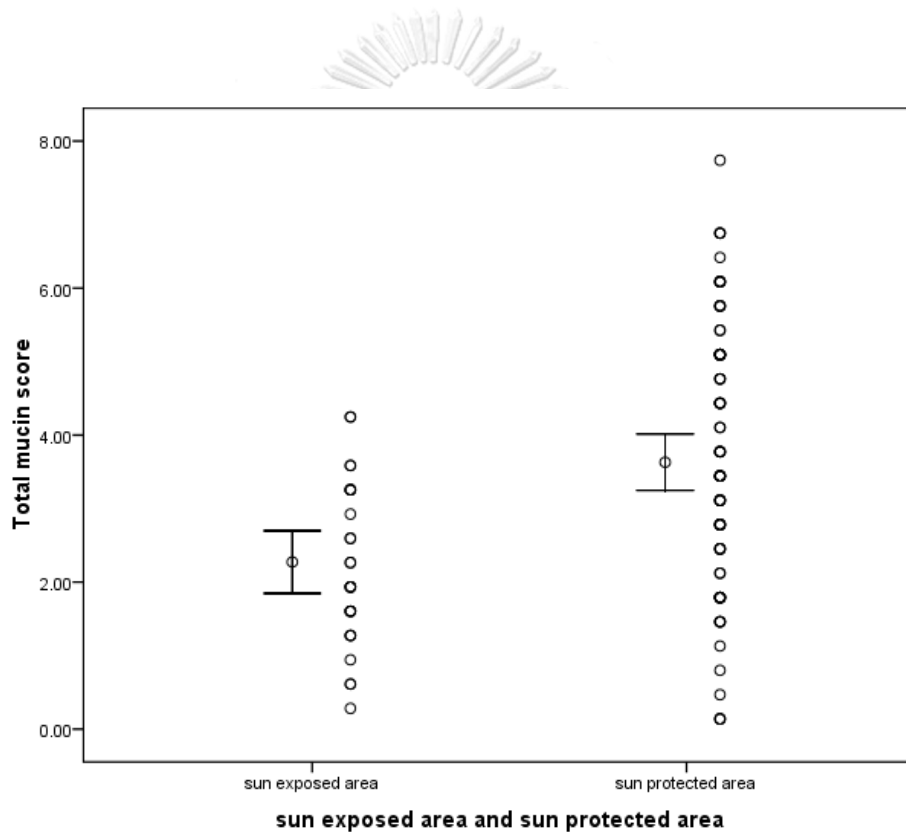
แผนภูมิที่ 5 แสดงระดับ mucin ในชั้น Superficial reticular dermis ของชั้นเนื้อที่โดนแดดเป็นประจำและไม่โดนแดดเป็นประจำ



แผนภูมิที่ 6 แสดงระดับ mucin ในชั้น Deep reticular dermis ของชั้นเนื้อที่โดนแดดเป็นประจำและไม่โดนแดดเป็นประจำ

ถ้าพิจารณาเฉพาะเรื่องของตำแหน่งที่ตัดชิ้นเนื้อ คือ sun exposed area และ sun protected area โดยไม่ได้คำนึงถึงระดับ solar elastosis

จากแผนภูมิที่ 7 แสดงการเปรียบเทียบระดับ mucin รวมทุกชั้น ระหว่างชิ้นเนื้อที่ตัดจาก sun exposed area (n=86) และ sun protected area (n=28) โดยพบว่า ชิ้นเนื้อที่มาจาก ตำแหน่ง sun exposed area มี ระดับ mucin เฉลี่ย 3.59 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 1.78 และ sun protected area มีระดับ mucin 2.27 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 1.1 พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า P-value <0.001



แผนภูมิที่ 7 แสดงผลระดับ mucin ระหว่างกลุ่มชิ้นเนื้อที่ตัดจากผิวหนังบริเวณ sun exposed area และ กลุ่มชิ้นเนื้อที่ตัดจากผิวหนังบริเวณ sun protected area (Unpaired T-test)

จากข้อมูลพื้นฐานของประชากร พบว่า อายุ เพศ ตำแหน่งที่ตัดชิ้นเนื้อ และ ระดับสีผิว ระหว่าง ทั้ง 2 กลุ่มมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จึง ได้นำข้อมูล มาศึกษา subgroup analysis

จากตารางที่ 7 แสดงการเปรียบเทียบ ระดับ mucin รวมทุกชั้น ระหว่างกลุ่มชิ้นเนื้อที่โดนแดดเป็นประจำ และ กลุ่มชิ้นเนื้อที่ไม่ได้โดนแดดเป็นประจำโดยแยกตาม parameter ต่างๆ คือ เพศ อายุ ตำแหน่งที่ตัดชิ้นเนื้อ และ ระดับสีผิว

- เพศ

- ชิ้นเนื้อที่ตัดจากผู้ป่วยเพศชาย

- มัธยฐานของระดับ mucin เฉลี่ยรวมของทุกชั้น ของชิ้นเนื้อที่ตัดจากส่วนที่โดนแดดเป็นประจำ มีค่า 5 มัธยฐานของระดับ mucin เฉลี่ยรวมของทุกชั้น ของชิ้นเนื้อที่ตัดจากส่วนที่ไม่โดนแดดเป็นประจำ มีค่า 3.17 เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม พบค่า P-value = 0.035

- ชิ้นเนื้อที่ตัดจากผู้ป่วยเพศหญิง

- มัธยฐานของระดับ mucin เฉลี่ยรวมของทุกชั้น ของชิ้นเนื้อที่ตัดจากส่วนที่โดนแดดเป็นประจำ มีค่า 3.83 มัธยฐานของระดับ mucin เฉลี่ยรวมของทุกชั้น ของชิ้นเนื้อที่ตัดจากส่วนที่ไม่โดนแดดเป็นประจำ มีค่า 2 เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม พบค่า P-value <0.001

- พบว่า ไม่มีความแตกต่างของระดับ mucin ระหว่างเพศชาย และ เพศหญิง

- อายุ

เนื่องจาก มีการศึกษา ที่ระบุถึงปริมาณการสร้าง glycosaminoglycan ที่ลดลง เมื่ออายุมากขึ้น เกิน 60 ปี[2] จึง พิจารณาทำ subgroup analysis โดยแบ่ง ผู้ป่วย เป็น 2 กลุ่มช่วงอายุ คือ อายุ น้อยกว่า 60 ปี และ อายุตั้งแต่ 60 ปี เป็นต้นไป

- ชิ้นเนื้อที่ตัดจากผู้ป่วยอายุน้อยกว่า 60 ปี

- มัธยฐานของระดับ mucin เฉลี่ยรวมของทุกชั้น ของชิ้นเนื้อที่ตัดจากส่วนที่โดนแดดเป็นประจำ มีค่า 4 มัธยฐานของระดับ mucin เฉลี่ยรวมของ

ทุกชั้น ของชั้นเนื้อที่ตัดจากส่วนที่ไม่โดนแดดเป็นประจำ มีค่า 2.33 เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม พบค่า P-value <0.001

- ชั้นเนื้อที่ตัดจากผู้ป่วยอายุ 60 ปีขึ้นไป
 - มัธยฐานของระดับ mucin เฉลี่ยรวมของทุกชั้น ของชั้นเนื้อที่ตัดจากส่วนที่โดนแดดเป็นประจำ มีค่า 4.5 มัธยฐานของระดับ mucin เฉลี่ยรวมของทุกชั้น ของชั้นเนื้อที่ตัดจากส่วนที่ไม่โดนแดดเป็นประจำ มีค่า 1.83 เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม พบค่า P-value <0.001
- พบว่า ไม่มีความแตกต่าง ของ ระดับ mucin ระหว่างผู้ป่วยที่อายุน้อยกว่า 60 ปี และ 60 ปีขึ้นไป

- ตำแหน่งที่ตัดชั้นเนื้อ

- ชั้นเนื้อจากผู้ป่วยที่ตัดชั้นเนื้อจากผิวหนังส่วน sun protected area
 - มัธยฐานของระดับ mucin เฉลี่ยรวมของทุกชั้น ของชั้นเนื้อที่ตัดจากส่วนที่โดนแดดเป็นประจำ มีค่า 3.67 มัธยฐานของระดับ mucin เฉลี่ยรวมของทุกชั้น ของชั้นเนื้อที่ตัดจากส่วนที่ไม่โดนแดดเป็นประจำ มีค่า 2 เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม พบค่า P-value = 0.048
- ชั้นเนื้อจากผู้ป่วยที่ตัดชั้นเนื้อจากผิวหนังส่วน sun exposed area
 - มัธยฐานของระดับ mucin เฉลี่ยรวมของทุกชั้น ของชั้นเนื้อที่ตัดจากส่วนที่โดนแดดเป็นประจำ มีค่า 4.33 มัธยฐานของระดับ mucin เฉลี่ยรวมของทุกชั้น ของชั้นเนื้อที่ตัดจากส่วนที่ไม่โดนแดดเป็นประจำ มีค่า 2.67 เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม พบค่า P-value <0.001
- พบว่า ไม่มีความแตกต่าง ของระดับ mucin ระหว่างชั้นเนื้อที่ตัดจากผิวหนังส่วน sun protected area และ sun exposed area

- ระดับสีผิว

- ชั้นเนื้อจากผู้ป่วยที่มีสีผิวระดับ 4 (Fitzpatrick skin type IV)
 - มัธยฐานของระดับ mucin เฉลี่ยรวมของทุกชั้น ของชั้นเนื้อที่ตัดจากส่วนที่โดนแดดเป็นประจำ มีค่า 4.3 มัธยฐานของระดับ mucin เฉลี่ยรวมของ

ทุกชั้น ของชั้นเนื้อที่ตัดจากส่วนที่ไม่โดนแดดเป็นประจำ มีค่า 2.5 เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม พบค่า P-value <0.001

○ ชั้นเนื้อจากผู้ป่วยที่มีสีผิวระดับ (Fitzpatrick skin type V)

- มัธยฐานของระดับ mucin เฉลี่ยรวมของทุกชั้น ของชั้นเนื้อที่ตัดจากส่วนที่โดนแดดเป็นประจำ มีค่า 4 มัธยฐานของระดับ mucinเฉลี่ยรวมของทุกชั้น ของชั้นเนื้อที่ตัดจากส่วนที่ไม่โดนแดดเป็นประจำ มีค่า 2.8 เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม พบค่า P-value = 0.039

○ พบว่า ไม่มีความแตกต่าง ของระดับ mucin ระหว่างระดับสีผิวระดับ 4 (Fitzpatrick skin type IV) และ ระดับ 5 (Fitzpatrick skin type V)



ตารางที่ 7 แสดง การวิเคราะห์แยกย่อยกลุ่ม (subgroup analysis) เพื่อหาความสัมพันธ์ของปัจจัยต่างๆต่อระดับ mucin

Subgroup	Chronic sun exposed group		Non-chronic sun exposed group		P-value
	n(%)	Total mucin score	n(%)	Total mucin score	
Sex	(n=57)		(n=57)		
- Male	21 (36.84)	5 (1.67-6.67)	10 (17.54)	3.17 (1.33-6.0)	0.035 ^δ
- Female	36 (63.16)	3.83 (0.67-7.67)	47 (82.46)	2 (0-6)	<0.001 ^δ
Age	(n=57)		(n=57)		
- <60 years old	25 (43.86)	4 (1.67-7.67)	45 (78.95)	2.33 (0-6)	<0.001 ^δ
- ≥60 years old	32 (56.14)	4.5 (0.67-6.67)	12 (21.05)	1.83 (0.67-6)	<0.001 ^δ
Area of tissue	(n=57)		(n=57)		
- Sun protected area	2 (3.5)	3.67 (3.67-3.67)	26 (45.61)	2 (0.33-4.33)	0.048 ^δ
- Sun exposed area	55 (96.5)	4.33 (0.67-7.67)	31 (54.39)	2.67 (0-6)	<0.001 ^δ
Skin types	(n=30)		(n=24)		
- Type 4	19 (63.33)	4.3 (2.33-6.67)	8 (33.33)	2.5 (0-3.3)	<0.001 ^δ
- Type 5	11 (36.67)	4 (1.67-6)	16 (66.67)	2.8 (0-6)	0.039 ^δ

● Data are presented as median (min-max)

● ^δ Mann-Whitney U test

จากข้อมูลพื้นฐานของประชากร (demographic data) พบว่า อายุ เพศ ตำแหน่งที่ตัดชิ้นเนื้อ และ ระดับสีผิว ระหว่าง ทั้ง 2 กลุ่มมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จึง ได้นำข้อมูลมาศึกษา โดยใช้ การวิเคราะห์การถดถอยพหุคูณเชิงเส้น (multivariate linear regressions) เพื่อกำจัดอิทธิพลของปัจจัยตัวแปรเหล่านี้

จากตารางที่ 8 หลังทำการ adjustment เพื่อกำจัดอิทธิพลจากตัวแปรรบกวน คือ เพศ อายุ ตำแหน่งที่ตัดชิ้นเนื้อ และ ระดับสีผิวพบว่า การโดนแดดเป็นประจำยังคงมีความสัมพันธ์กับระดับ mucin อย่างมีนัยสำคัญ P-value <0.001

ตารางที่ 8 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัย การโดนแดดเป็นประจำ เพศ อายุ ตำแหน่งที่ตัดชิ้นเนื้อ และ ระดับสีผิว ต่อ ระดับ mucin รวมทุกชั้น ด้วย การวิเคราะห์การถดถอยพหุคูณเชิงเส้น

Parameter	β	P-value
Chronic sun exposure and non-chronic sun exposure (1, chronic sun exposure; 0, non-chronic sun exposure)	0.503	<0.001
Sex (1, female; 0, male)	-0.250	0.002
Age (1, ≥ 60 years old; 0, <60 years old)	-0.072	0.396
Area of tissue (1, sun exposed area; 0, sun protected area)	0.068	0.431
Skin type (1, skin type 5; 0, skin type 4)	-0.003	0.967

- All data are presented as β and P-value
- R square = 0.37

ได้ทำการadjustment เพื่อกำจัดอิทธิพลจากทุกๆตัวแปรที่เกี่ยวข้องทั้งหมด โดย วิเคราะห์แบบการถดถอยพหุคูณเชิงเส้น

จากตารางที่9หลังทำการ adjustment เพื่อกำจัดอิทธิพลจากทุกๆตัวแปรที่เกี่ยวข้องทั้งหมด พบว่าการโดนแดดเป็นประจำยังคงมีความสัมพันธ์กับระดับ mucin อย่างมีนัยสำคัญ $P\text{-value} < 0.001$ และจากตารางนี้ มีเพียงการโดนแดดเป็นประจำและเพศ เป็นปัจจัยที่สัมพันธ์กับระดับ mucin

จากแผนภูมิที่7แสดงถึง กลุ่มชิ้นเนื้อที่ตัดจากบริเวณผิวหนังบริเวณ sun exposed area มีระดับ mucin สูงกว่า กลุ่มชิ้นเนื้อที่ตัดจากบริเวณผิวหนังบริเวณ sun protected area อย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อได้นำปัจจัยด้านตำแหน่งที่ตัดชิ้นเนื้อไปวิเคราะห์แบบการถดถอยพหุคูณเชิงเส้นแล้วเพื่อกำจัดอิทธิพลจากตัวแปรอื่นแล้วพบว่า ตำแหน่งที่ตัดชิ้นเนื้อ sun exposed area หรือ sun protected area ไม่ได้มีผลต่อระดับ mucin $P=0.431$



ตารางที่ 9 ตารางวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยต่างๆที่เกี่ยวข้อง ต่อ ระดับ mucin รวมทุก
ชั้น ด้วย การวิเคราะห์การถดถอยพหุคูณเชิงเส้น

Parameter	β	P-value
Chronic sun exposure and non-chronic sun exposure (1, chronic sun exposure; 0, non-chronic sun exposure)	0.503	<0.001
Sex (1, female; 0, male)	-0.250	0.002
Age (1, ≥ 60 years old; 0, <60 years old)	-0.072	0.396
Area of tissue (1, sun exposed area; 0, sun protected area)	0.068	0.431
Skin type (1, skin type 5; 0, skin type 4)	-0.003	0.967
History of smoking (1, smoker; 0, non-smoker)	-0.039	0.612
History of alcohol consumption (1, alcohol drinking; 0, no alcohol drinking)	0.105	0.194
Height (cm)	-0.036	0.638
Weight (kg)	-0.069	0.366
BMI	-0.028	0.713

- All data are presented as β and P-value
- R square = 0.37

บทที่ 5

อภิปราย สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

5.1 อภิปรายผล

กลไกการที่แสงแดดทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของ ระดับ mucin ในชั้น dermis ยังไม่มีข้อมูลที่แน่ชัด จากการศึกษาในอดีตพบว่า รังสีอัลตราไวโอเล็ตที่เกี่ยวข้องกับระดับ glycosaminoglycan ที่เพิ่มขึ้นคือ รังสี UVB (290-320 nm) โดย UVB[15] สามารถกระตุ้นให้เกิดการสร้าง cytokine ได้หลายชนิด โดยเฉพาะ IL-1 และ TNF- α ที่มีความสัมพันธ์กับระดับ glycosaminoglycan ที่เพิ่มขึ้น

จากผลการวิจัยเชิงวิเคราะห์ แบบ Observational analytical retrospective study เพื่อเปรียบเทียบระดับ mucin ของชั้นเนื้อที่ตัดจากบริเวณที่โดนแสงแดดเป็นประจำ และ ไม่โดนแสงแดดเป็นประจำ โดยศึกษาจาก ชั้นเนื้อ ที่ตัดจากผู้ป่วยที่มารับการผ่าตัดชั้นเนื้อใตทั้งหมดที่โรงพยาบาล จุฬาลงกรณ์ ในช่วงปี พ.ศ. 2556-2561 โดยรวบรวมชั้นเนื้อใต้ทั้งหมด 1170 ชิ้น นำมาศึกษาเพื่อแบ่งกลุ่มชั้นเนื้อที่โดนแสงแดดเป็นประจำ และ ไม่โดนแสงแดดเป็นประจำ โดยอ้างอิงจากการพบ solar elastosis ในชั้นเนื้อซึ่งอ่านโดย ตจพยาริแพทย์ 3 ท่าน และคัดชั้นเนื้อที่มีพื้นที่ของชั้นเนื้อปกติไม่เพียงพอต่อการประเมินผล ออกจากการศึกษา ได้ชั้นเนื้อเพื่อศึกษากลุ่มละ 57 ชิ้นเนื้อ (2 กลุ่มรวม 114 ชิ้น) หลังจากนั้นจึงนำชั้นเนื้อไปย้อมเพิ่มเติมด้วย สี Alcian blue เพื่อศึกษา ระดับ mucin ของแต่ละชั้นเนื้อโดยอาศัยตจพยาริแพทย์ 3 ท่านในการประเมินผล

ผลการประเมินจากชั้นเนื้อที่โดนแดดเป็นประจำ 57 ชิ้น และ ชั้นเนื้อที่ไม่โดนแดดเป็นประจำ 57 ชิ้น พบว่า ข้อมูลพื้นฐานของประชากร ระหว่างชั้นเนื้อทั้ง 2 กลุ่ม มี เพศ อายุ ตำแหน่งที่ตัดชั้นเนื้อ และ ระดับสีผิวที่แตกต่างกัน ผลการประเมินระดับ mucin พบว่าชั้นเนื้อที่ผ่านการโดนแดดเป็นประจำ มีระดับ mucin รวมทุกชั้น มากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้โดนแดดเป็นประจำ เมื่อพิจารณาการศึกษาแยกชั้น papillary dermis, superficial reticular dermis และ deep reticular dermis พบว่า ชั้นเนื้อที่ผ่านการโดนแดดเป็นประจำมี ระดับ mucin ของแต่ละชั้น มากกว่า ชั้นเนื้อที่ไม่ได้โดนแดดอย่างเป็นประจำ

เมื่อพิจารณาร่วมกับ ข้อมูลพื้นฐานของประชากร ที่พบว่า ระหว่างชั้นเนื้อทั้ง 2 กลุ่ม มี เพศ อายุ ตำแหน่งที่ตัดชั้นเนื้อ และ ระดับสีผิว ที่แตกต่างกัน จึงได้นำข้อมูลไป วิเคราะห์แยกรายกลุ่ม (subgroup analysis) ผลจากการวิเคราะห์แยกรายกลุ่ม ไม่พบความแตกต่างของระดับ

mucin ระหว่าง เพศชาย และ เพศหญิง ไม่พบความแตกต่างของระดับ mucin ระหว่างผู้ป่วยที่อายุน้อยกว่า 60 ปี และ อายุ 60 ปีขึ้นไป ไม่พบความแตกต่าง ของระดับ mucin ระหว่างพื้นที่ที่ตัดจากผิวหนังส่วน sun protected area และ sun exposed area และ ไม่พบความแตกต่าง ของระดับ mucin ระหว่างระดับสีผิวระดับ 4 (Fitzpatrick skin type IV) และ ระดับ 5 (Fitzpatrick skin type V) และทำการวิเคราะห์แบบพหุตัวแปร โดยใช้ การวิเคราะห์การถดถอยพหุคูณเชิงเส้น (Multiple linear regression) เพื่อกำจัดตัวอิทธิพลจากตัวแปรจากตัวแปรรบกวน คือ เพศ อายุ ตำแหน่งที่ตัดชิ้นเนื้อ และ ระดับสีผิว พบว่า การโดนแดดเป็นประจำยังคงมีความสัมพันธ์กับ ระดับ mucin

จากการวิเคราะห์การถดถอยพหุคูณเชิงเส้น สำหรับทุกตัวแปร พบว่า 2 ปัจจัยที่มีผลต่อระดับ mucin คือ การโดนแดดเป็นประจำ และ เพศ เมื่อพิจารณาจากข้อมูลพื้นฐานประชากร พบว่า ปัจจัยด้านเพศ มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มประชากรค่อนข้างมาก จึงทำให้ผลของการวิเคราะห์การถดถอยพหุคูณเชิงเส้นมีความแตกต่างกันด้วย

เนื่องจากไม่มีการศึกษาที่มีจุดประสงค์งานวิจัยหลักหรือรูปแบบชัดเจนที่คล้ายกันก่อนหน้า จึงได้ใช้การคำนวณประชากร โดยใช้ effect size: cohen's rule of thumb โดยกำหนด Standardized mean difference effect size ในระดับ medium = 0.5, $\alpha = 0.05$, ค่าระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 80 จากการคำนวณ จะได้กลุ่มประชากร กลุ่มละ 63 ชิ้นเนื้อ (เผื่อ drop out 10% คิดเป็น 7 ชิ้นเนื้อ รวมเป็น 70 ชิ้นเนื้อ) แต่เนื่องจากชิ้นเนื้อไฟทั้งหมดที่มี 1170 ชิ้น โดยเก็บจากฐานข้อมูลของ หน่วยผิวหนัง โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ในช่วง 1 มกราคม พ.ศ. 2556 – 31 พฤษภาคม พ.ศ. 2561 มี เพียง 57 ชิ้น ที่ผ่านเกณฑ์คัดเลือก จึงทำให้ได้ประชากรไม่ครบตามที่คำนวณไว้ในตอนแรก จึงทำให้ประชากรที่ได้รับการคัดเลือกเป็นกลุ่มตัวอย่าง คิดเป็น 90.5% ของประชากรที่กำหนดไว้ก่อนเริ่มทำการวิจัย ผู้วิจัยได้นำประชากรที่ได้จริงกลับไปคำนวณอีกครั้งเพื่อหา ค่าความเชื่อมั่น (Power) ที่เป็นจริง ณ ปัจจุบัน

$$n/\text{group} = 2 [(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta}) / \text{standardized mean difference effect size}]^2$$

$$Z_{\alpha/2} = 1.96, n/\text{group} = 57$$

$$\text{standardized mean difference effect size} = M1 - M2 / Sp$$

$$s_p^2 = \frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{n_1 + n_2 - 2}$$

M1 = 4.23, SD1= 1.54, M2 = 2.30, SD2=1.35

จากการคำนวณจะได้ $Z_\beta = 1.32$ ซึ่งคิดเป็น ค่าระดับความเชื่อมั่น ระหว่าง ร้อยละ 90-95 เนื่องจากค่าระดับความเชื่อมั่น ที่เป็นจริง ณ ปัจจุบัน ไม่ได้มีค่าน้อยกว่าค่าระดับความเชื่อมั่นเดิมที่กำหนดไว้ ดังนั้นกลุ่มประชากรใหม่ ไม่ได้ทำให้ความแม่นยำในการทำนายผลลัพธ์งานวิจัยลดลง

Y.Takahashi และ คณะ, ได้ศึกษาในแง่ของระดับโมเลกุล ของ ระดับ disaccharide ที่ผิวหนัง ซึ่ง disaccharide ประกอบด้วย hyaluronic acid, dermatan sulfate และ chondroitin sulfate ซึ่งคือส่วนประกอบของ mucin โดยการศึกษาในอดีตนี้ จะศึกษาเปรียบเทียบระหว่างระดับของ disaccharide ในผิวหนังที่ตัดจากบริเวณหน้า และ บริเวณเชิงกราน โดยกำหนดให้ผิวหนังจากหน้าเป็นตัวแทนของผิวหนังบริเวณ sun exposed area และ ผิวหนังบริเวณเชิงกรานเป็นผิวหนังบริเวณ sun protected area โดยทำการตัดชิ้นเนื้อจากประชากร 6 คน ในการศึกษาพบว่า ชิ้นเนื้อที่ตัดจากผิวหนังบริเวณหน้ามี ระดับของ disaccharide ที่สูงกว่า ชิ้นเนื้อที่ตัดจากผิวหนังบริเวณเชิงกราน 24% เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับการศึกษาที่ให้ผลที่ต่างออกไป โดยในการศึกษานี้หลังจากได้ วิเคราะห์แบบการถดถอยพหุคูณเชิงเส้น พบว่า ตำแหน่ง exposed area หรือ sun protected area ไม่ได้เป็นปัจจัยที่มีผลต่อระดับของ mucin หลังจากได้กำจัดอิทธิพลจากตัวแปรอื่นแล้ว แต่การศึกษานี้เป็นการศึกษาในแง่ของตจพยาธิวิทยา จึงทำให้ไม่สามารถนำมาเปรียบเทียบกับการศึกษาเดิมที่ทำในแง่ของระดับโมเลกุลได้ชัดเจน

J.Bhawan และ คณะ ได้ทำการศึกษาในแง่ของตจพยาธิวิทยา โดยเปรียบเทียบระดับ mucin ระหว่างชิ้นเนื้อที่ตัดจาก ตีนกา และ หลังหู โดยให้ตีนกาเป็นตัวแทนของตำแหน่ง sun exposed area และ บริเวณหลังหู เป็นตัวแทนบริเวณ sun protected area โดยทำการตัดชิ้นเนื้อจากกลุ่มตัวอย่างประชากร 158 คน ผลของการศึกษาพบว่า ระดับ mucin ของทั้ง 2 กลุ่ม ไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับการศึกษานี้ พบว่า เป็นไปในทางเดียวกัน โดยการศึกษานี้พบว่า ตำแหน่ง sun exposed area หรือ sun protected area ไม่ได้เป็นปัจจัยที่มีผลต่อระดับ mucin มีเพียงลักษณะที่แสดงถึงการโดนแดดเป็นประจำที่มีผลต่อระดับ mucin

Vincent และ คณะ ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบระดับ mucin ของชิ้นเนื้อในหลายๆแง่มุม ทั้งที่เป็นโรคและ ไม่เป็นโรค โดยหนึ่งในหลายๆการศึกษานี้คือการศึกษานี้เปรียบเทียบผลของ

แสงแดดต่อระดับ mucin โดยกำหนด ให้ ชั้นเนื้อที่พบ solar elastosis เป็นชั้นเนื้อที่ได้รับผลกระทบจากแสงแดด ส่วน ชั้นเนื้อที่ไม่พบ solar elastosis เป็นชั้นเนื้อที่ไม่ได้รับผลกระทบจากแสงแดด รวม 2 กลุ่ม 30 ชั้นเนื้อ ผลการวิจัยพบว่า ชั้นเนื้อที่พบ solar elastosis มีระดับของ mucin สูงกว่าชั้นเนื้อที่ไม่พบ solar elastosis อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับ การศึกษานี้พบว่า ให้ผลที่เป็นไปในแนวทางเดียวกัน แต่ การแบ่งกลุ่มของการศึกษาของ Vincent และคณะ แบ่งตามการพบของ solar elastosis โดยไม่ได้ระบุถึงระดับของ solar elastosis ที่ จำเป็นต่อการแบ่งแยกว่าเป็นชั้นเนื้อที่โดนแดดเป็นประจำหรือได้รับผลกระทบจากแสงแดด

5.2 สรุปผล

การศึกษานี้ แสดงให้เห็นว่า ชั้นเนื้อที่มีลักษณะทางตจพยาธิวิทยาของการโดนแดดเป็นประจำ จะมีระดับ mucin สูงกว่าชั้นเนื้อที่ไม่มีลักษณะทางตจพยาธิวิทยาของการโดนแดดเป็นประจำ ส่วนตำแหน่งของชั้นเนื้อที่ตัดจาก sun exposed area หรือ sun protected area ไม่ได้มี ผลต่อระดับของ mucin

ในทางตจวิทยา มีหลายรอยโรคทางผิวหนังที่ใช้ระดับ mucin เป็นหนึ่งในเกณฑ์เพื่อ วินิจฉัยโรค การใช้ ระดับ mucin ในการวินิจฉัยโรค อาจต้องมีความระวังมากขึ้นโดยเฉพาะชั้นเนื้อ ที่มีลักษณะทางตจพยาธิวิทยาว่ามีการโดนแดดอย่างเป็นประจำ

5.3 จุดแข็งของการวิจัย

1. งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยแรกที่มีการใช้เกณฑ์ของระดับ solar elastosis ในการแบ่งกลุ่ม ชั้นเนื้อว่าเป็นกลุ่มที่โดนแดดเป็นประจำ หรือ ไม่ได้โดนแดดเป็นประจำ เมื่อเปรียบเทียบกับ การศึกษาในอดีตที่แบ่งกลุ่มด้วย การพบ solar elastosis ไม่ได้ใช้ระดับของ solar elastosis ในการแบ่ง ซึ่งอาจทำให้ชั้นเนื้อในกลุ่มที่โดนแดดเป็นประจำหรือได้รับผลกระทบจากแสงแดด มีชั้นเนื้อที่มี solar elastosis เล็กน้อยปะปนเข้าไปได้
2. งานวิจัยนี้ได้ทำการเก็บรวบรวมข้อมูลย้อนหลัง 6 ปี และได้ชั้นเนื้อในปริมาณมาก ถึง 114 ชั้นเนื้อ เมื่อเทียบกับการศึกษาเดิมที่คล้ายกันมีเพียง 30 ชั้นเนื้อ ถึงแม้ว่าจะได้จำนวน ชั้นเนื้อไม่ครบตามประชากรที่คำนวณไว้ในตอนแรก ที่ค่าระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 80

แต่จำนวนชั้นเนื้อในปัจจุบัน เมื่อคำนวณแล้วจะมีค่าระดับความเชื่อมั่น อยู่ระหว่าง ร้อยละ 90-95

3. งานวิจัยนี้ ได้ใช้ ตจพยาธิแพทย์ 3 ท่าน จาก 3 สถาบัน ที่อิสระต่อกันในการอ่านผลชั้นเนื้อ ทั้งในขั้นตอนของการประเมินระดับ solar elastosis เพื่อนำมาแบ่งกลุ่มชั้นเนื้อ และ ในขั้นตอนการประเมินระดับ mucin (ลด Outcome reporting bias)

5.4 ข้อจำกัดในการวิจัย

1. การวิจัยนี้ทำการศึกษาเฉพาะชั้นเนื้อ ที่มีสีผิวระดับ 4 และ 5 (Fitzpatrick skin type IV-V) เท่านั้น จึงอาจมีข้อจำกัดในการนำไปใช้ในคนที่มียุคสีผิวที่ต่างออกไป
2. การวิจัยนี้ เป็นการศึกษาย้อนหลังทำให้ขาดข้อมูลประชากรชั้นพื้นฐานของผู้ป่วยที่ได้รับการตัดชั้นเนื้อไป

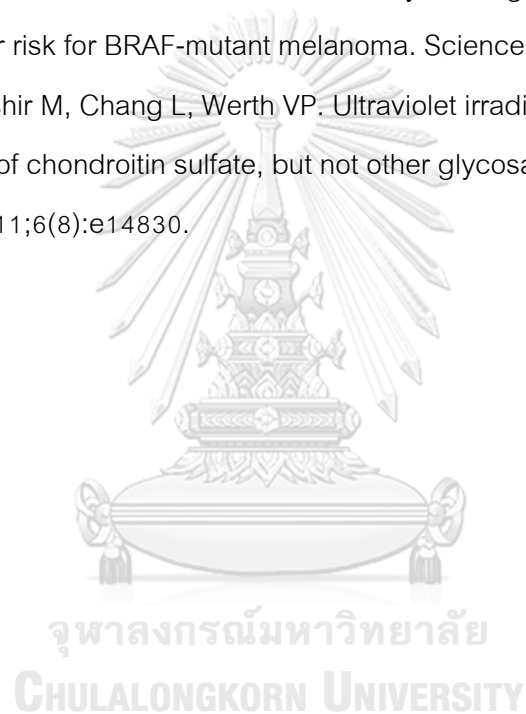
5.5 ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษา พบว่า การทำ retrospective analytical study ทำให้ข้อมูลพื้นฐานของ ประชากรขาดหายไป ดังนั้น การเก็บข้อมูลแบบ prospective study จะสามารถระบุปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับ ระดับ mucin ได้ดีขึ้นมากกว่านี้

บรรณานุกรม

1. Rongioletti F, Rebora A. Mucinoses. In: Bologna JL, Jorizzo JL, Schaffer JV, editors. *Dermatology*. 3rd ed: Elsevier; 2012. p. 687-98.
2. Vuillermoz B, Wegrowski Y, Contet-Audonneau JL, Danoux L, Pauly G, Maquart FX. Influence of aging on glycosaminoglycans and small leucine-rich proteoglycans production by skin fibroblasts. *Mol Cell Biochem*. 2005;277(1-2):63-72.
3. Lee DY, Park JH, Shin HT, Yang JM, Jang KT, Kwon GY, et al. The presence and localization of onychodermis (specialized nail mesenchyme) containing onychofibroblasts in the nail unit: a morphological and immunohistochemical study. *Histopathology*. 2012;61(1):123-30.
4. Falanga V, Tiegs SL, Alstadt SP, Roberts AB, Sporn MB. Transforming growth factor-beta: selective increase in glycosaminoglycan synthesis by cultures of fibroblasts from patients with progressive systemic sclerosis. *J Invest Dermatol*. 1987;89(1):100-4.
5. Pugashetti R, Zedek DC, Seiverling EV, Rajendran P, Berger T. Dermal mucinosis as a sign of venous insufficiency. *J Cutan Pathol*. 2010;37(2):292-6.
6. Rongioletti F, Rebora A. Cutaneous mucinoses: microscopic criteria for diagnosis. *Am J Dermatopathol*. 2001;23(3):257-67.
7. Vincent JG, Chan MP. Specificity of dermal mucin in the diagnosis of lupus erythematosus: comparison with other dermatitides and normal skin. *J Cutan Pathol*. 2015;42(10):722-9.
8. Takahashi Y, Ishikawa O, Okada K, Kojima Y, Igarashi Y, Miyachi Y. Disaccharide analysis of human skin glycosaminoglycans in sun-exposed and sun-protected skin of aged people. *J Dermatol Sci*. 1996;11(2):129-33.
9. Bhawan J, Andersen W, Lee J, Labadie R, Solares G. Photoaging versus intrinsic aging: a morphologic assessment of facial skin. *J Cutan Pathol*. 1995;22(2):154-9.
10. Heng JK, Aw DC, Tan KB. Solar elastosis in its papular form: uncommon, mistakable. *Case Rep Dermatol*. 2014;6(1):124-8.

11. Lehmann P, Schwarz T. Photodermatoses: diagnosis and treatment. *Dtsch Arztebl Int.* 2011;108(9):135-41.
12. Oh JH, Kim YK, Jung JY, Shin JE, Kim KH, Cho KH, et al. Intrinsic aging- and photoaging-dependent level changes of glycosaminoglycans and their correlation with water content in human skin. *J Dermatol Sci.* 2011;62(3):192-201.
13. Bilac C, Sahin MT, Ozturkcan S. Chronic actinic damage of facial skin. *Clin Dermatol.* 2014;32(6):752-62.
14. Landi MT, Bauer J, Pfeiffer RM, Elder DE, Hulley B, Minghetti P, et al. MC1R germline variants confer risk for BRAF-mutant melanoma. *Science.* 2006;313(5786):521-2.
15. Werth BB, Bashir M, Chang L, Werth VP. Ultraviolet irradiation induces the accumulation of chondroitin sulfate, but not other glycosaminoglycans, in human skin. *PLoS One.* 2011;6(8):e14830.





ภาคผนวก ก

โรคทางผิวหนังที่พบการเพิ่มขึ้นของ mucin (cutaneous mucinosis) แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม

Primary cutaneous mucinoses

Degenerative-inflammatory mucinoses

Dermal

1. Lichen myxedematosus (papular mucinosis)
 - Generalized (scleromyxedema)
 - Localized (discrete)
2. Reticular erythematous mucinosis
3. Scleredema
4. Dysthyroidotic mucinoses
 - Localized myxedema (pretibial)
 - Generalized myxedema
5. Papular-nodular mucinosis associated with lupus erythematosus
6. Self-healing juvenile cutaneous mucinosis
7. Toxic cutaneous mucinoses
 - Papular mucinosis of the toxic oil syndrome
 - Papular mucinosis of the myalgia-eosinophilia syndrome
8. Acral persistent papular mucinosis
9. Cutaneous mucinosis of infancy

10. Cutaneous focal mucinosis

11. Neuropathia mucinosa cutanea

12. Digital mucous cyst

13. Miscellaneous mucinoses

Follicular

1. Follicular mucinosis (Pinkus)

2. Urticaria-like follicular mucinosis

Neoplastic/hamartomatous mucinoses

1. Mucinous nevus

2. (Angio)myxoma

Secondary mucinosis (Disorders associated with histologic deposition of mucin)

Epithelial mucinosis

- Mycosis fungoides
- Spongiotic dermatitis
- Basal cell carcinoma
- Warts
- Keratoacanthoma
- Squamous cell carcinoma

Dermal mucinosis

- Lupus erythematosus
- Dermatomyositis
- Scleroderma

- Degos disease
- Granuloma annulare
- Pachydermoperiostosis
- UVA and PUVA
- Hypertrophic scar
- Actinic elastosis
- Acanthosis nigricans
- Hereditary progressive mucinous histiocytosis
- Epithelial tumors (e.g., basal cell carcinoma, eccrine tumors)
- Mesenchymal tumors (e.g., fibroma, malignant fibrous histiocytoma)
- Neural tumors (e.g., neurofibroma)

Follicular mucinosis

- Lymphoma
- Pseudolymphoma
- Cutaneous leukemia
- Spongiotic dermatitis
- Lupus erythematosus
- Hypertrophic lichen planus
- Insect bites
- Angiolymphoid hyperplasia with eosinophilia
- Lichen striatus
- Sarcoidosis
- Photo-induced eruptions
- Familial reticuloendotheliosis
- Pityrosporum folliculitis

ภาคผนวก ข
แบบบันทึกข้อมูล (Case record form)

No. _____

Demographic Data

Sex: Male/Female

Age: _____

Race: Thai/Other

Skin type: _____

History of smoke: Yes/no/no data

History of alcohol: Yes/no/no data

Underlying disease _____

Groups (Mark the group)

____ Non-chronic sun exposed group (CSD < 2)

____ Chronic sun exposed group (CSD ≥ 2)

Average mucin score from 3 dermatopathologists

Papillary dermis _____

Superficial reticular dermis _____

Deep reticular dermis _____

Total mucin score _____

No. _____

Location (circle the area)

Scalp

Face

Frontal head

Eyelid

Nose

Cheek

Jaw

Chin

Upper lip

Lower lip

Neck

Submental

Anterior

Occipital or posterior

V-shape of neck

Ear

Anterior pinna

Posterior pinna

Upper part of pinna



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

Upper extremities

Upper arm

Forearm

- Extensor side

- Flexor side

Back of hand

Palm

Lower extremities

Thigh

Lower leg

- Anterior side

- Posterior side

Trunk



No.____

Date____

Histological findings (for Dermatopathologists)

Solar elastosis score based on chronic sun damage (CSD) classification

(circle the score)

CSD 0

CSD 1

CSD 2

CSD 3



No.____

Date____

Histological findings (for Dermatopathologists part II)

Mucin score (circle the score)

Papillary dermis

0 1 2 3

Superficial reticular dermis

0 1 2 3

Deep reticular dermis

0 1 2 3

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นายณัฐพล งามจิรธรรม
วัน เดือน ปี เกิด	30 กันยายน 2528
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
วุฒิการศึกษา	- แพทยศาสตรบัณฑิต มหาวิทยาลัยมหิดล - ประกาศนียบัตรบัณฑิต ตจวิทยา คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาล รามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล
ที่อยู่ปัจจุบัน	800/91-92 ซอยตระกูลสุข ถนน อโศก-ดินแดง เขต ดินแดง กรุงเทพมหานคร 10400
ผลงานตีพิมพ์	<ul style="list-style-type: none"> • CME Patient II วารสารโรคผิวหนัง ปีที่ 31, ฉบับที่ 3, หน้า 196-200 (กรกฎาคม - กันยายน 2558) • Ngarmjiratam N, Wattanakrai P. Photoallergic contact dermatitis caused by Quisqualis indica (Combretum indicum). Contact Dermatitis. 2016 May;74(5):313-4.