

การศึกษาการถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ร่วมกับการใช้สารเพิ่มความชัดภาพ และการ
กำเนิดหลอดเลือดในเนื้ออกช่องปากของสุนัข



บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาศัลยศาสตร์ทางสัตวแพทย์ ภาควิชาศัลยศาสตร์
คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2558
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

THE STUDY OF COMPUTED TOMOGRAPHIC CONTRAST ENHANCEMENT AND TUMOR
ANGIOGENESIS IN CANINE ORAL TUMORS

Miss Urapa Klansnoh



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Veterinary Surgery

Department of Veterinary Surgery

Faculty of Veterinary Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2015

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การศึกษาการถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์
ร่วมกับการใช้สารเพิ่มความชัดภาพ และการกำเนิดหลอด
เลือดในเนื้องอกช่องปากของสุนัข
โดย นางสาวอุรภา กลั่นเสนาะ
สาขาวิชา ศัลยศาสตร์ทางสัตวแพทย์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิง ดร.แนน ช้อยสุนิรชร
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.วิจิตร บรรณนารา

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัย
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโทบัณฑิต

.....คณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์
(ศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.รุ่งโรจน์ ธนาวงษ์นุเวช)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(ศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.มาริชศักดิ์ กัลป์ประวิทย์)
.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิง ดร.แนน ช้อยสุนิรชร)
.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.วิจิตร บรรณนารา)
.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ชรินทร์ กัลป์ประวิทย์)
.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(อาจารย์ สัตวแพทย์หญิง ดร.ทัศนีย์ เจริญทรง)

อุราภา กลั่นเสนาะ : การศึกษาการถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ร่วมกับการใช้สารเพิ่มความชัดภาพ และการกำเนิดหลอดเลือดในเนื้องอกช่องปากของสุนัข (THE STUDY OF COMPUTED TOMOGRAPHIC CONTRAST ENHANCEMENT AND TUMOR ANGIOGENESIS IN CANINE ORAL TUMORS) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผศ. สพ.ญ. ดร.แนน ช้อยสุนิรชร, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: รศ. น.สพ. ดร.วิจิตร บรรณารุรา, 73 หน้า.

ศึกษาระดับการเพิ่มขึ้นของสารเพิ่มความชัดภาพในภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์เปรียบเทียบกับระดับความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กเพื่อประเมินความรุนแรงของเนื้องอกช่องปากของสุนัขจากสุนัขป่วยตัวอย่างจำนวน 20 ตัว คณะศุข สุนัขมีอายุระหว่าง 8 ปีถึง 17 ปี น้ำหนักตัวอยู่ระหว่าง 3.6 กิโลกรัมถึง 40 กิโลกรัม พบเนื้องอกช่องปาก 4 ชนิด ได้แก่ มะเร็งเม็ดสี 13 ตัว มะเร็งเซลล์สความัสเซลล์ 4 ตัว และมะเร็งเส้นใย 3 ตัว พบว่าสารเพิ่มความชัดภาพเดินทางไปถึงจุดสนใจใช้เวลามากในสุนัขที่มีน้ำหนักตัวมาก โดยระยะเวลาที่สารเพิ่มความชัดภาพเดินทางไปถึงจุดสนใจมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับน้ำหนักตัวสุนัขอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) บริเวณเนื้อเยื่ออ่อนเนื้องอกมีค่าเฉลี่ยความหนาแน่นรังสีภายหลังการฉีดสารเพิ่มความชัดภาพเพิ่มขึ้นเฉลี่ยร้อยละ 127.09 ± 38.58 โดยกลุ่มมะเร็งเซลล์สความัสมีค่าความหนาแน่นรังสีบริเวณเนื้อเยื่ออ่อนของเนื้องอกหลังฉีดสารเพิ่มความชัดภาพเพิ่มขึ้นมากที่สุด รองลงมาคือกลุ่มมะเร็งเม็ดสี และกลุ่มมะเร็งเส้นใยคือเฉลี่ยร้อยละ 161.88 ± 23.47 , 122.78 ± 37.90 และ 99.37 ± 31.58 ตามลำดับ ค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กบนเนื้อเยื่อตัวอย่างจากสุนัขตัวอย่างทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 36.9 ± 11.7 หลอดเลือดต่อตารางมิลลิเมตร ค่าเฉลี่ยสูงสุดคือกลุ่มมะเร็งเซลล์สความัสรองลงมาคือกลุ่มมะเร็งเม็ดสี และกลุ่มมะเร็งเส้นใยคือ 47.58 ± 5.37 , 35.38 ± 11.64 และ 27.23 ± 6.59 หลอดเลือดต่อตารางมิลลิเมตร ตามลำดับ พบว่าค่าร้อยละความหนาแน่นรังสีที่เพิ่มขึ้นมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กบนเนื้อเยื่อตัวอย่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$)

ภาควิชา	ศัลยศาสตร์	ลายมือชื่อนิสิต
สาขาวิชา	ศัลยศาสตร์ทางสัตวแพทย์	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก
ปีการศึกษา	2558	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม

5575324631 : MAJOR VETERINARY SURGERY

KEYWORDS: CANINE / COMPUTED TOMOGRAPHY / CONTRAST ENHANCEMENT / MICROVESSEL DENSITY / ORAL TUMOR

URAPA KLANSNOH: THE STUDY OF COMPUTED TOMOGRAPHIC CONTRAST ENHANCEMENT AND TUMOR ANGIOGENESIS IN CANINE ORAL TUMORS.
 ADVISOR: ASST. PROF. DR. NAN CHOISUNIRACHON, D.V.M., M.Sc., Ph.D., D.T.B.V.S., CO-ADVISOR: ASSOC. PROF. DR. ASSOC. PROF. WIJIT BANLUNARA, D.V.M., Ph.D., D.T.B.V.P., 73 pp.

The correlation between intratumoral post-contrast houndfield unit (HU) enhancement on dynamic computed tomography (CT) and microvessel density (MVD) in canine oral tumor for predicting the tumor malignancy was investigated. Among 20 dogs with oral tumors of which age ranging from 8 to 17 years old and weight ranging from 3.6 to 40 kilograms, there were 13 dogs affected with melanoma (MM), 4 dogs affected with squamous cell carcinoma (SCC), 3 dogs affected with fibrosarcoma. The duration starting since contrast medium had injected until the contrast medium returned to the mid cervical external jugular vein was significantly correlated to the body weight ($p < 0.01$). The increased percentage of intratumoral HU at post-contrast enhancement was 127.09 ± 38.58 which the maximal HU was detected in SCC (161.88 ± 23.47), following by MM (122.78 ± 37.90) and fibrosarcoma (99.37 ± 31.58), respectively. The MVDs of overall tumors were 36.9 ± 11.7 vessel per millimeter² which the maximal value was detected in SCC (47.58 ± 5.37 vessel per millimeter²) following by MM (35.38 ± 11.64 vessel per millimeter²) and fibrosarcoma (27.23 ± 6.59 vessel per millimeter²), respectively. The increase of intratumoral MVD was significantly correlated to the increase of intratumoral HU on post-contrast CT enhancement ($p < 0.01$)

Department: Veterinary Surgery

Student's Signature

Field of Study: Veterinary Surgery

Advisor's Signature

Academic Year: 2015

Co-Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีเนื่องจากได้รับความช่วยเหลือเป็นอย่างดีจากผู้ช่วยศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิง ดร. แนน ซ้อยสุนิรชร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้กรุณาช่วยเหลือ ให้คำแนะนำ ตลอดจนการตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ มาโดยตลอด ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งและขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. มาริษศักดิ์ กัลป์ประวิทย์ รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. วิจิตร บรรลุนารา รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ชนิรินทร์ กัลป์ประวิทย์ และอาจารย์ สัตวแพทย์หญิง ดร. ทศนีย์ เจริญทรง คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาสละเวลา และให้คำแนะนำ ทำให้วิทยานิพนธ์มีคุณค่าและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณสัตวแพทย์หญิง นาฎทิพา ไชยววิทย์สกุล สัตวแพทย์หญิง ราไพภัทร ตั้งจิตเพียรพงศ์ สัตวแพทย์หญิงศิริรัตน์ นันทวิสัย สัตวแพทย์หญิงวรสิรา ดิษยางกูร นายสัตวแพทย์ เศกริน พลอยเพ็ช และสัตวแพทย์หญิงนพารี ศรีโสวรรณ ทีมสัตวแพทย์ รวมถึงบุคลากรแผนกศัลยกรรม และแผนกรังสีวิทยา โรงพยาบาลสัตว์เล็กจุฬาฯ ที่ให้ความช่วยเหลือในการดำเนินงานวิจัย

ขอขอบพระคุณสัตวแพทย์หญิง เบญจพร ลิ้มเจริญ นายสิทธิโชค ลาชโรจน์ และบุคลากรหน่วยพยาธิวิทยา ที่ให้คำแนะนำ และช่วยเหลือในการดำเนินงานวิจัย

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย และบัณฑิตศึกษา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัย

ขอขอบพระคุณเจ้าของสุนัขทุกท่านที่สละเวลา เตรียมตัวสุนัข และนำสุนัขมาเข้ารับการตรวจวินิจฉัย

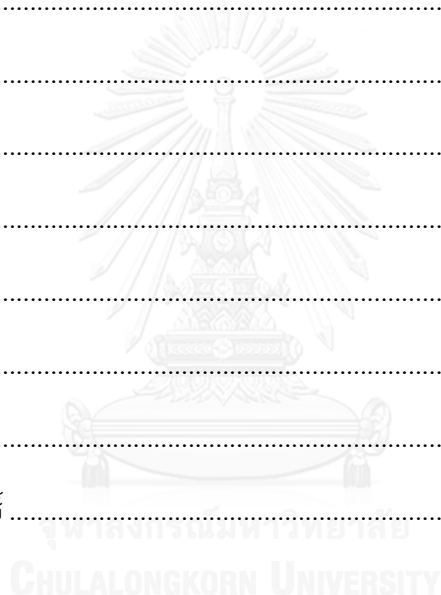
ขอขอบพระคุณบิดา มารดา ญาติ พี่น้อง และเพื่อนๆ ทุกท่าน ที่ให้กำลังใจ และให้การสนับสนุนมาโดยตลอด

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	9
สารบัญภาพ.....	10
บทที่ 1.....	13
บทนำ.....	13
ความเป็นมา และความสำคัญของปัญหา.....	13
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	14
คำถามสำหรับการวิจัย.....	15
คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย.....	15
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย.....	15
บทที่ 2.....	16
เอกสาร และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	16
แนวคิด และทฤษฎี.....	16
เอกสาร และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	16
เนื้องอกช่องปาก (oral tumors).....	16
บทที่ 3.....	28
วิธีดำเนินการวิจัย.....	28
สัตว์ที่ใช้ในการศึกษา.....	28
การตรวจช่องปาก และการถ่ายภาพรังสี.....	29

การเตรียมตัวสัตว์และการวางยาสลบสัตว์ เพื่อการถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ ..	30
การถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์	33
การประมวลผลภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์	36
การประเมินความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กในเนื้ออก	40
การวิเคราะห์ผลการศึกษา	42
บทที่ 4	43
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล	43
บทที่ 5	56
วิเคราะห์ผลการทดลอง	56
สรุปผลการวิจัย	56
อภิปรายผลการวิจัย	58
ข้อเสนอแนะ	62
รายการอ้างอิง.....	67
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์	73



สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1	ระยะต่างๆของเนื้องอกช่องปากสุนัขและแมว (Liptak JM and Withrow, 2007)..	19
ตารางที่ 2	ค่ามาตรฐานความหนาแน่นรังสีของเนื้อเยื่อที่แสดงเป็นเกณฑ์ของภาพรังสีส่วนตัด อาศัยคอมพิวเตอร์ หน่วยเป็น hounsfield unit (HU) (Ohlerth and Scharf, 2007).....	22
ตารางที่ 3	ค่าขอบเขตความกว้างของความหนาแน่นรังสี (window width; WW) และระดับของ ความหนาแน่นรังสี (window level; WL) ของสเกลสีเทาในการแสดงภาพรังสีส่วนตัดอาศัย คอมพิวเตอร์ หน่วยเป็น HU (Ohlerth and Scharf, 2007).....	23
ตารางที่ 4	แสดงจำนวนสุนัขที่เข้าร่วมการวิจัย แบ่งตามเพศ.....	43
ตารางที่ 5	แสดงจำนวนสุนัขในแต่ละชนิดของเนื้องอกที่พบในงานวิจัย.....	43
ตารางที่ 6	แสดงจำนวนสุนัขในแต่ละสายพันธุ์ที่พบเนื้องอก.....	44
ตารางที่ 7	แสดงจำนวนสุนัขตัวอย่างที่พบเนื้องอกช่องปากในตำแหน่งต่างๆ.....	45
ตารางที่ 8	แสดงจำนวนสุนัขตัวอย่างที่พบเนื้องอกช่องปาก แบ่งกลุ่มในแต่ละระยะของโรค ตาม หลักองค์การอนามัยโลก.....	46
ตารางที่ 9	แสดงน้ำหนักตัวของสุนัขป่วยตัวอย่าง และเวลาที่สารเพิ่มความชัดภาพเดินทางถึง บริเวณหลอดเลือดดำใหญ่ช่วงกระดูกสันหลังส่วนคอท่อนที่ 4	47
ตารางที่ 10	แสดงจำนวนที่พบอุบัติการณ์รุกรานไปยังเนื้อเยื่อกระดูกของเนื้องอกช่องปากแต่ละ กลุ่ม.....	49
ตารางที่ 11	แสดงความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กบนเนื้อเยื่อตัวอย่างแต่ละชนิดของเนื้อ อกต่อพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร ในแต่ละระยะของโรค	53

สารบัญญภาพ

หน้า

รูปที่ 1 ภาพแสดงหน้าที่ของหลอดเลือดกำเนิดใหม่ในเนื้องอก เช่น ขนส่งออกซิเจน สารอาหาร และปัจจัยที่ใช้ในการเจริญเติบโตต่างๆ.....	24
รูปที่ 2 ภาพแสดงกระบวนการกำเนิดหลอดเลือด และท่อน้ำเหลืองใหม่ไปยังเซลล์เนื้องอกโดยอิทธิพลของสาร VEGF (Hicklin and Ellis, 2005).....	26
รูปที่ 3 สุนัขตัวอย่างพันธุ์ซุกุที่ตรวจพบก้อนเนื้องอกบริเวณช่องปาก ทำการตรวจช่องปากและบันทึกข้อมูลต่างๆได้แก่ ตำแหน่ง และขนาด.....	28
รูปที่ 4 แสดงภาพรังสีส่วนหัว (skull radiograph) ของสุนัขป่วยที่มีเนื้องอกช่องปากในทิศรังสีด้านบนลงด้านล่าง (dorsoventral projection) เพื่อทำการประเมินขนาด และขอบเขตของเนื้องอกช่องปาก (ลูกศร).....	29
รูปที่ 5 แสดงภาพรังสีส่วนหัว (skull radiograph) ของสุนัขป่วยที่มีเนื้องอกช่องปากในทิศรังสีด้านข้าง (lateral projection) เพื่อทำการประเมินขนาด และขอบเขตของเนื้องอกช่องปาก (ลูกศร).....	30
รูปที่ 6 แสดงตำแหน่งการจัดวางอุปกรณ์ต่างๆขณะถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์.....	31
รูปที่ 7 แสดงการจัดท่าของสัตว์ป่วยเพื่อถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ โดยจัดให้สุนัขป่วยอยู่ในท่านอนคว่ำตามแนวยาวลำตัว โดยให้หัวอยู่ในทิศทางด้านแกนทรี (gantry) ของเครื่องถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ ขาทั้งสี่ข้างของสุนัขเหยียดตรงไปทางด้านหลัง และยกคอกให้ขนานแนวสันหลัง ตั้งขอบเขตการฉายรังสีครอบคลุมทั่วตัว เริ่มตั้งแต่ปลายจมูก (ลูกศรขาว) ยาวไปจนถึงสุดแนวสะโพก (ลูกศรดำ).....	32
รูปที่ 8 แสดงการจัดท่าของสัตว์ป่วยเพื่อทำการถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ โดยจัดให้แนวกลางลำตัวของสุนัขอยู่ตำแหน่งกึ่งกลางแนวฉายรังสี.....	33
รูปที่ 9 แสดงการตั้งค่า region of interest (ROI) ที่หลอดเลือดดำใหญ่บริเวณกระดูกสันหลังส่วนคอท่อนที่ 4 (ก) ภายหลังจากฉีดสารเพิ่มความชัดภาพเข้าทางหลอดเลือดดำของขาหน้า กระทั่งสารดังกล่าวเดินทางถึงหลอดเลือดดำใหญ่ส่วนคอ (ข) โปรแกรมวัดค่าความหนาแน่นรังสีบริเวณหลอดเลือดดำช่วงกระดูกสันหลังส่วนคอท่อนที่ 4 ในหน่วย houndfield unit	

- (HU) ได้ค่ามากกว่า 100 HU (ค และ ง) เครื่องถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์จะทำการถ่ายภาพบริเวณส่วนหัวที่ตั้งไว้โดยอัตโนมัติ..... 34
- รูปที่ 10 แสดงเครื่องฉีดสารเพิ่มความชัดภาพหัวฉีดอัตโนมัติ (auto injector) โดยตั้งค่าที่หน้าจอบควบคุมเครื่องฉีดสารเพิ่มความชัดภาพหัวฉีดอัตโนมัติ ภายในห้องควบคุมการถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ (รูปบนซ้าย)..... 35
- รูปที่ 11 แสดงภาพถ่ายรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ในบริเวณหัวของสัตว์ป่วยในท่าตัดขวาง (transverse plain) ที่กำหนดค่าขอบเขตความกว้างของความหนาแน่นรังสี และระดับความหนาแน่นรังสีสำหรับเนื้อเยื่ออ่อน (ซ้าย) และที่กำหนดค่าขอบเขตความกว้างของความหนาแน่นรังสี และระดับความหนาแน่นรังสีสำหรับกระดูก (ขวา)..... 36
- รูปที่ 12 แสดงภาพถ่ายรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ของสุนัขป่วยที่มีเนื้องอกช่องปากบริเวณกรามล่างในท่าตัดขวางก่อนฉีดสารเพิ่มความชัดภาพ (ซ้าย) และภาพถ่ายรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ของสุนัขป่วยที่มีเนื้องอกช่องปากบริเวณกรามล่างในท่าตัดขวางหลังฉีดสารเพิ่มความชัดภาพ (ขวา) ประมวลผลผ่านชุดคำสั่ง Osirix® 37
- รูปที่ 13 แสดงแผนภาพการประเมินความหนาแน่นของหลอดเลือดบนเนื้องอกจากสไลด์ตัวอย่าง ภายหลังจากย้อมสีอิมมูโนฮิสโตเคมี โดยส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง ที่กำลังขยาย 40 เท่า เพื่อเลือกจุดที่มีความหนาแน่นหลอดเลือดสูงสุด 5 ตำแหน่ง ก่อนการบันทึกภาพหลอดเลือดขนาดเล็กในแต่ละจุดที่กำลังขยาย 100 เท่า..... 40
- รูปที่ 14 แผนภาพสรุปขั้นตอนการปฏิบัติงานการตรวจเนื้องอกในช่องปาก โดยภายหลังจากตรวจและบันทึกข้อมูลความผิดปกติภายในช่องปาก (oral examination) สัตว์ป่วยตัวอย่างจะได้รับการถ่ายภาพรังสีส่วนหัว (x-ray) ทั้งในท่านอนคว่ำ และนอนตะแคงเพื่อช่วยประเมินขนาด และการรุกรานของเนื้องอก จากนั้นสัตว์ป่วยตัวอย่างจะเข้ารับการถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ เพื่อประเมินขนาด การรุกรานของก้อน (computed tomography) รวมถึงการฉีดสารเพิ่มความชัดภาพเพื่อประเมินองค์ประกอบภายใน และวัดระดับความหนาแน่นรังสีบริเวณเนื้องอกซึ่งเป็นหน่วยฮาวนด์ฟิลด์ (houndfield; HU) เพื่อทำการประเมินการเพิ่มขึ้นของสารเพิ่มความชัดภาพโดยเปรียบเทียบภาพก่อน และหลังการฉีดสารเพิ่มความชัดภาพ เพื่อประเมินความสามารถในการกำซาบสารเพิ่มความชัดภาพหลังจากการถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์เพื่อประเมินหาการแพร่กระจายความผิดปกติสู่อวัยวะอื่น สัตว์ป่วยตัวอย่างจะเข้ารับการผ่าตัดเก็บชิ้นเนื้อจากก้อน เพื่อนำมาตรวจสอบทางพยาธิวิทยาโดยการย้อมสีฮีมาท็อกซิลิน และอีโอซิน (hematoxylin and eosin; H&E) เพื่อวินิจฉัยแยกแยะ

ชนิดเนื้องอก และนำมาย้อมสีอิมมูโนฮิสโตเคมี (immunohistochemistry; IHC) ด้วยโปรตีน ที่จำเพาะต่อหลอดเลือดเพื่อตรวจวัดปริมาณหลอดเลือดขนาดเล็กในเนื้องอก (microvessel density; MVD).....	41
รูปที่ 15 กราฟผลการวิเคราะห์ระยะเวลาที่สารเพิ่มความชัดภาพเดินทางไปถึงจุดที่สนใจจาก ภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์สัมพันธ์กับน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นของสุนัขอย่างมีนัยสำคัญ	48
รูปที่ 16 แผนภาพแสดงค่าเฉลี่ยร้อยละการเพิ่มขึ้นของความหนาแน่นรังสีบริเวณเนื้อเยื่ออ่อนของ ก้อนเนื้องอกภายหลังการฉีดสารเพิ่มความชัดภาพในเนื้องอกแต่ละชนิด และส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐานของแต่ละกลุ่ม	50
รูปที่ 17 กราฟแสดงการเปรียบเทียบการเพิ่มขึ้นของความหนาแน่นรังสีหลังฉีดสารเพิ่มความชัด ภาพบริเวณเนื้อเยื่ออ่อนของช่องปากปกติ กับเนื้อเยื่ออ่อนของเนื้องอก.....	51
รูปที่ 18 แผนภาพแสดงค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาด เล็กบนเนื้อเยื่อตัวอย่างต่อตารางมิลลิเมตร	52
รูปที่ 19 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความหนาแน่นรังสีที่เพิ่มขึ้นกับความหนาแน่น ของหลอดเลือดที่นับได้จากชิ้นเนื้อในสไลด์ตัวอย่างต่อหน่วยพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร.....	54
รูปที่ 20 แสดงภาพเซลล์เนื้อเยื่อตัวอย่างของเนื้องอกแต่ละชนิดที่ผ่านการย้อมสีมาท็อกซิลิน และอีโอซิน (H&E) และเนื้อเยื่อตัวอย่างที่ผ่านการย้อมสีอิมมูโนฮิสโตเคมี (IHC) ส่องผ่านกล้อง จุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า และภาพถ่ายรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์บริเวณก้อนเนื้องอก (HU)	55

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมา และความสำคัญของปัญหา

ความผิดปกติภายในช่องปากที่เกิดจากเนื้องอก (tumor) จัดเป็นความผิดปกติที่สามารถพบได้มากถึงร้อยละ 5-7 เมื่อเทียบกับเนื้องอกอื่นๆ ในร่างกายของสุนัข (Kafka et al., 2004) เนื้องอกดังกล่าวสามารถพบได้ในส่วนต่างๆ ของช่องปาก อาทิเช่น เยื่อเมือกบุช่องปาก (mucosa) เหงือก (gingiva) เพดานปาก (palate) หรือ ลิ้น (tongue) (Vos and van der Gaag, 1987) ความผิดปกติที่เกิดขึ้นส่งผลให้ขัดขวางการทำงานของช่องปาก เช่น การเคี้ยวอาหาร และเกิดอาการทางคลินิกอื่นๆ ได้แก่ น้ำลายไหล น้ำลายมีสีผิดปกติ มีกลิ่นปาก ฟันหลุด เบื่ออาหารหรือกินไม่ได้เนื่องจากเคี้ยวลำบาก และมีอาการเจ็บปวด เนื้องอกที่เกิดขึ้นภายในช่องปากอาจส่งผลกระทบต่ออวัยวะข้างเคียง เช่น ทำให้เกิดอาการตาโปน (exophthalmos) เลือดกำเดาไหล (epitaxis) (Liptak JM and Withrow, 2007) ได้ ทั้งนี้อาการต่างๆ ที่พบได้ในทางคลินิกจะขึ้นอยู่กับประเภท ตำแหน่ง และความรุนแรงของเนื้องอก

การวางแผนการรักษา และการพยากรณ์โรคของสุนัขป่วยที่มีสาเหตุเกิดจากเนื้องอกภายในช่องปากของสุนัข จะขึ้นกับหลายๆ ปัจจัย เช่น ประเภทของความผิดปกติ โดยทั่วไป การจำแนกชนิดของเนื้องอกภายในช่องปากของสุนัข สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ เนื้องอกช่องปากชนิดไม่ร้ายแรง (benign tumors) และเนื้องอกช่องปากชนิดร้ายแรง (malignant tumors) นอกจากชนิดของความผิดปกติแล้ว ขนาดของเนื้องอกในช่องปาก การรุกราน (invasion) ของเนื้อเยื่อผิดปกติเข้าสู่เนื้อเยื่อบริเวณใกล้เคียง ทั้งในส่วนของเนื้อเยื่ออ่อน (soft tissue) และเนื้อเยื่อกระดูก (bone tissue) และการแพร่กระจาย (metastasis) ของเซลล์ผิดปกติสู่น้ำเหลืองบริเวณใกล้เคียง (regional lymph node) หรืออวัยวะอื่นๆ ยังเป็นปัจจัยร่วมสำหรับการวางแผนการรักษาและการพยากรณ์โรคของสัตว์ป่วยอีกด้วย

ในทางคลินิก การตรวจวินิจฉัยเพื่อการวางแผนการรักษา และพยากรณ์โรคสำหรับสัตว์ป่วยสามารถทำได้โดยการสืบประวัติสัตว์ป่วย (history taking) การตรวจช่องปาก (oral examination) การถ่ายภาพรังสี (radiography) บริเวณหัวของสุนัขป่วย รวมถึงการเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อ (tissue biopsy) หรือเจาะดูดตัวอย่างเซลล์จากก้อนเนื้อเพื่อตรวจทางห้องปฏิบัติการ (cytologic examination) ในปัจจุบันภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ (computed tomography) ได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้สำหรับการตรวจวินิจฉัยความผิดปกติต่างๆ ของสัตว์ป่วยเพิ่มขึ้น ภาพรังสีส่วนตัด

อาศัยคอมพิวเตอร์มีความไวในการตรวจวินิจฉัยหาความผิดปกติมากกว่าภาพรังสีทั่วไปที่มักแสดงการซ้อนทับกันของโครงสร้างอวัยวะ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในส่วนหัวของสุนัข (Ghirelli et al., 2013) นอกจากนี้ การถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ ร่วมกับการฉีดสารเพิ่มความชัดภาพ (contrast medium) เข้าทางหลอดเลือดดำ (intravenous injection) สามารถเปิดเผยให้เห็นขอบเขตการรุกรานของเนื้องอกสู่น้ำเยื่ออ่อนบริเวณใกล้เคียงได้ชัดเจนมากขึ้น โดยระดับการเพิ่มขึ้นของสารเพิ่มความชัดภาพดังกล่าวจะขึ้นอยู่กับจำนวนหลอดเลือดที่อยู่ภายในเนื้องอก Weidner (1995) รายงานว่า จำนวนหลอดเลือดขนาดเล็ก (microvessel density) ในเนื้อเยื่อมีค่าเพิ่มขึ้น และสัมพันธ์กับชนิดของเนื้องอก รวมถึงความรุนแรงของโรคในผู้ป่วยหรือสัตว์ป่วยโรคมะเร็ง และมีรายงานถึงการใช้การถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ ร่วมกับการฉีดสารเพิ่มความชัดภาพเพื่อประเมินความรุนแรงของโรค พบว่าการเพิ่มขึ้นของระดับสารเพิ่มความชัดภาพ สอดคล้องกับความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กในเนื้องอก (Preda et al., 2006) อย่างไรก็ตาม พบว่ายังไม่มีรายงานเกี่ยวกับข้อมูลดังกล่าว ทั้งในส่วนของ การเพิ่มขึ้นของระดับสารเพิ่มความชัดภาพ และจำนวนหลอดเลือดขนาดเล็กในเนื้องอกช่องปากของสุนัข เหตุผลดังกล่าวจึงเป็นเหตุจูงใจเพื่อทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับการเพิ่มขึ้นของสารเพิ่มความชัดภาพภายหลังการตรวจวินิจฉัยด้วยการถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ และการกำเนิดหลอดเลือดใหม่ในเนื้องอกช่องปากผ่านการตรวจนับจำนวนหลอดเลือดขนาดเล็ก เพื่อเป็นประโยชน์สำหรับการประเมินความผิดปกติของเนื้องอกช่องปากของสุนัขในทางคลินิกต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

ศึกษาลักษณะของภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ เพื่อประเมินความรุนแรงของเนื้องอกช่องปากของสุนัขจากระดับการเพิ่มขึ้นของสารเพิ่มความชัดภาพในภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ เปรียบเทียบกับระดับความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กและความรุนแรงของความผิดปกติทางคลินิก รวมถึง การถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์แบบพลวัต (Dynamic CT protocol) สำหรับการศึกษาระดับการเพิ่มขึ้นของสารเพิ่มความชัดภาพในภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ในการตรวจหาความผิดปกติบริเวณหัวของสุนัข

คำถามสำหรับการวิจัย

1. ระยะเวลาที่สารเพิ่มความชัดภาพเดินทางไปถึงบริเวณที่สนใจ ช่วงลำคอของสุนัข แตกต่างกันหรือไม่ และสัมพันธ์กับขนาดตัวของสุนัขหรือไม่
2. ระดับการเพิ่มขึ้นของสารเพิ่มความชัดภาพจากภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ สัมพันธ์กับความรุนแรงของโรคเนื้องอกช่องปากของสุนัขจากอาการทางคลินิกหรือไม่ อย่างไร
3. ระดับสารเพิ่มความชัดภาพจากภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์สัมพันธ์กับระดับความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กหรือไม่

คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย

สุนัข การถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ สารเพิ่มความชัดภาพ ความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็ก เนื้องอกช่องปาก

Canine, Computed tomography, Contrast enhancement, Microvessel density, Oral tumor

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

การระบุความรุนแรงของสุนัขป่วยด้วยโรคเนื้องอกช่องปากผ่านการวัดระดับการเพิ่มขึ้นของสารเพิ่มความชัดภาพภายหลังการตรวจด้วยการถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ ร่วมกับการตรวจวัดความหนาแน่นหลอดเลือดขนาดเล็ก มีประโยชน์สำหรับการตรวจวินิจฉัย การวางแผนการรักษา และการพยากรณ์โรคต่อไป

บทที่ 2

เอกสาร และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

แนวคิด และทฤษฎี

การประเมินระดับความรุนแรง และขอบเขตของเนื้องอกช่องปากในทางคลินิกด้วยการตรวจช่องปาก การเก็บตัวอย่างเซลล์จากบริเวณเนื้องอกเพื่อตรวจทางห้องปฏิบัติการ และภาพถ่ายรังสี ยังมีข้อจำกัดอยู่บางประการ ดังนั้นหากสามารถนำภาพถ่ายรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์มาประยุกต์เพื่อตรวจวินิจฉัยโรคเนื้องอกช่องปากสุนัข อาจช่วยเพิ่มความแม่นยำในการวินิจฉัย และเพิ่มประสิทธิภาพในการวางแผนการรักษาได้มากขึ้น

เอกสาร และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เนื้องอกช่องปาก (oral tumors)

เนื้องอกช่องปาก สามารถพบได้บ่อยในสุนัขหรือคิดเป็นร้อยละ 84 เมื่อเทียบกับอุบัติการณ์การเกิดเนื้องอกช่องปากในสัตว์ชนิดอื่นๆ เช่น แมว ม้า หรือวัว (Dorn and Priester, 1976) เมื่อเปรียบเทียบกับเนื้องอกบริเวณอวัยวะอื่นๆ ของร่างกาย พบว่าการเกิดเนื้องอกบริเวณช่องปากสุนัขสามารถพบได้มากถึงร้อยละ 5-7 (Kafka et al., 2004) ความผิดปกติประเภทนี้พบได้ในสุนัขที่มีช่วงอายุกลางถึงมาก หรืออายุเฉลี่ยประมาณ 8-12 ปี (Dorn and Priester, 1976) มีรายงานว่าสายพันธุ์ของสุนัขอาจสอดคล้องอุบัติการณ์การเกิดเนื้องอกช่องปาก เช่น มะเร็งเซลล์สความัส (squamous cell carcinoma) และมะเร็งเส้นใย (fibrosarcoma) จะพบมากในสุนัขพันธุ์ใหญ่ เช่น ลาบราดอร์ รีทรีฟเวอร์ (Labrador retriever) ซามอยด์ (Samoy) และมะเร็งเม็ดสี (melanoma) จะพบมากในสุนัขพันธุ์เล็ก เช่น คอกเกอร์ สแปเนียล (Cocker speniel) มินิเอเจอร์พุดเดิ้ล (Miniature Poodle) รวมทั้งสุนัขสายพันธุ์ที่มีสารสีเมลานินมาก เช่น เซาเซา (Chow Chow) เป็นต้น (Kafka et al., 2004)

เนื้องอกที่เกิดขึ้นภายในช่องปาก สามารถพบได้ในส่วนต่างๆ อาทิเช่น เยื่อช่องปาก เหงือก เพดานปาก ลิ้น ริมฝีปาก (lips) และต่อมทอนซิล (tonsil) แต่อุบัติการณ์ความผิดปกติที่เกิดขึ้น จะพบมากในบริเวณเหงือก และเยื่อเมือกช่องปาก (Vos and van der Gaag, 1987) อาการทางคลินิกที่พบได้ในสุนัขป่วย จะขึ้นอยู่กับประเภทและตำแหน่ง รวมถึงความรุนแรงของความผิดปกติ อาการโดยส่วนใหญ่มักเกิดเนื่องจากเนื้องอกรบกวนการทำงานของช่องปาก และกดเบียดอวัยวะข้างเคียง

ส่งผลให้สัตว์แสดงอาการต่างๆ อาทิเช่น ใบหน้าผิดปกติ เคี้ยวอาหารลำบาก น้ำลายไหล น้ำลายมีสี ผิดปกติ ปากและลมหายใจมีกลิ่นเหม็น ฟันหลุด เบื่ออาหาร น้ำหนักลด รวมถึงแสดงอาการเจ็บปวด ในกรณีรุนแรง เนื้องอกช่องปากอาจเจริญลุกลามเข้าสู่บริเวณด้านหลังนัยน์ตา หรือโพรงจมูก ส่งผลให้ สุนัขแสดงอาการตาโปน หรือเลือดกำเดาไหล เป็นต้น (Liptak JM and Withrow, 2007)

ประเภทของความผิดปกติของเนื้องอกในช่องปาก สามารถจำแนกออกได้เป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ เนื้องอกช่องปากชนิดไม่ร้ายแรง เช่น อีปูลิส (epulis) ที่เกิดจากการเจริญผิดปกติของเอ็นยึดปริทันต์ (periodontal ligament) อีปูลิสยังสามารถแบ่งแยกเป็นประเภทย่อยๆ ขึ้นอยู่กับการรุกรานสู่นเนื้อเยื่อโดยรอบ เช่น อีปูลิสที่ไม่รุกรานเนื้อเยื่อโดยรอบ และตอบสนองดีต่อการรักษาทางศัลยกรรม (surgery) ตัดเนื้องอกรวมกับการถอนฟันซึ่งที่อยู่ตำแหน่งรอยโรค ความผิดปกติประเภทนี้ อาจเป็นอีปูลิสที่เปลี่ยนสภาพไปเป็นกระดูก (ossifying epulis) หรืออีปูลิสเส้นใย (fibromatous epulis) (Reichart et al., 1989) สำหรับอแคนโตมาตัส อะมีโลบลาสโตมา (acantomatous ameloblastoma) จัดเป็นเนื้องอกที่มีการรุกรานเนื้อเยื่อปกติข้างเคียง แต่ไม่มีการแพร่กระจายของ เซลล์ผิดปกติไปตำแหน่งอื่นๆ ของร่างกาย อแคนโตมาตัส อะมีโลบลาสโตมา มักตอบสนองต่อการรักษาโดยการศัลยกรรมตัดเนื้องอกออกโดยครอบคลุมขอบเขตเนื้อเยื่อปกติโดยรอบประมาณ 1-2 เซนติเมตร ร่วมกับการใช้รังสีรักษา (radiotherapy) ซึ่งวิธีการรักษาดังกล่าวสามารถควบคุมโรคได้ถึง ร้อยละ 90 (Niemiec, 2008)

สำหรับเนื้องอกช่องปากในสุนัขชนิดร้ายแรงที่สามารถพบมากที่สุดคือ มะเร็งเม็ดสี รองลงมาคือ มะเร็งเซลล์สความัส (โดยไม่นับรวมมะเร็งของต่อมทอลซิลที่อยู่ในกลุ่ม มะเร็งเซลล์สความัส) และมะเร็งเส้นใย ตามลำดับ (Niemiec, 2008) เนื้องอกช่องปากชนิดร้ายแรงใน สุนัขกลุ่มอื่นๆ ได้แก่ มะเร็งกระดูก (osteosarcoma) มะเร็งมาสต์เซลล์ (mast cell tumor) มะเร็ง หลอดเลือด (hemangiosarcoma) มะเร็งปมน้ำเหลือง (lymphoma) มะเร็งพลาสมาเซลล์ (plasma cell tumor) และมะเร็งกระดูกชนิดหลายกลีบย่อย (multilobular tumor of bone) เป็นต้น (Todoroff and Brodey, 1979) การรักษาเนื้องอกช่องปากชนิดร้ายแรงสามารถทำได้โดยการรักษา ทางศัลยกรรม ร่วมกับการให้เคมีบำบัด (chemotherapy) และหรือรังสีรักษา อย่างไรก็ตาม ผลการรักษาขึ้นอยู่กับชนิด และระยะของความผิดปกติ

ในทางคลินิก การตรวจวินิจฉัยสัตว์ป่วยเบื้องต้นสามารถทำได้โดยการสืบประวัติสัตว์ป่วย ร่วมกับการตรวจอาการทั่วไปทางคลินิก (physical examination) และการตรวจทางห้องปฏิบัติการ ต่างๆ อาทิ การตรวจนับเม็ดเลือด (complete blood count) ค่าชีวเคมี (blood chemistry) และ การตรวจปัสสาวะ (urinalysis) (Bergman, 2007) แต่การวางแผนการรักษา และพยากรณ์โรค สำหรับสุนัขป่วยโรคเนื้องอกช่องปากที่ถูกต้องและแม่นยำจะขึ้นอยู่กับชนิดของความผิดปกติ และการ จัดระดับความรุนแรงหรือระยะของโรค การระบุชนิดของเนื้องอกช่องปากสามารถตรวจคัดแยกได้

จากการตรวจวินิจฉัยทางพยาธิวิทยา สำหรับการจัดระดับความรุนแรงและระยะของโรคสามารถทำได้ โดย

1. การตรวจช่องปาก เพื่อตรวจดูขนาดและตำแหน่งของเนื้องอก รวมถึงลักษณะของเยื่อเมือกบริเวณเนื้องอก
2. การถ่ายภาพรังสีบริเวณหัวของสุนัข เพื่อประเมินหารุกรานของเนื้องอกเข้าสู่เนื้อเยื่อบริเวณใกล้เคียง การรุกรานของเซลล์ผิดปกติเข้าสู่เนื้อเยื่อรอบข้างอาจพบได้ทั้งในส่วน of เนื้อเยื่ออ่อน และเนื้อเยื่อกระดูก
3. การตรวจหาการแพร่กระจาย ได้แก่ การตรวจหาการแพร่กระจายของเซลล์ผิดปกติไปสู่ปมน้ำเหลืองบริเวณใกล้เคียง ด้วยการเก็บตัวอย่างเซลล์เพื่อตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ และการแพร่กระจายของเซลล์ผิดปกติไปสู่อวัยวะอื่นๆ เช่น การตรวจเนื้อเยื่อปอดด้วยการถ่ายภาพรังสีทรวงอก หรือเนื้อเยื่ออวัยวะภายในช่องท้องโดยการตรวจด้วยภาพคลื่นเสียงความถี่สูง (ultrasonography)

การจัดกลุ่มและแบ่งระยะโรคของเนื้องอกช่องปากของสุนัข ตามหลักขององค์การอนามัยโลก (World Health Organization; Liptak and Withrow, 2007) ซึ่งจัดแบ่งตามขนาดของเนื้องอก (tumor; T) การแพร่กระจายไปยังปมน้ำเหลือง (node; N) และการแพร่กระจายไปยังอวัยวะอื่น (metastasis; M) ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ระยะต่างๆของเนื้องอกช่องปากของสุนัขและแมว (Liptak JM and Withrow, 2007)

พารามิเตอร์	การแบ่งระยะ
T: ขนาดของเนื้องอก	T1: เนื้องอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 2 เซนติเมตร T2: เนื้องอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 2-4 เซนติเมตร T3: เนื้องอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่า 4 เซนติเมตร T1a, T2a, T3a ไม่พบอุบัติการณ์การรุกรานไปยังกระดูก T1b, T2b, T3b พบอุบัติการณ์การรุกรานไปยังกระดูก
N: การแพร่กระจายไปยังปุ่มน้ำเหลือง	N0: ไม่พบการแพร่กระจายไปยังปุ่มน้ำเหลืองข้างเคียง (regional) N1: การแพร่กระจายไปยังปุ่มน้ำเหลืองข้างเดียวกัน (ipsilateral) N2: การแพร่กระจายไปยังปุ่มน้ำเหลืองด้านตรงข้าม (contralateral) N3: ยึดติดกับปุ่มน้ำเหลือง N1a, N2a ไม่พบอุบัติการณ์การแพร่กระจายไปยังปุ่มน้ำเหลือง N1b, N2b พบอุบัติการณ์การแพร่กระจายไปยังปุ่มน้ำเหลือง
M: การแพร่กระจายไปยังอวัยวะอื่น	M0: ไม่พบการแพร่กระจายไปยังอวัยวะอื่น M1: พบการแพร่กระจายไปยังอวัยวะอื่น

โดยการจัดกลุ่ม และระยะของโรคเนื้องอกช่องปากของสุนัขสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ระยะได้แก่

ระยะที่ 1 : T1, N0 หรือ N1a หรือ N2a, M0 หมายถึง

เนื้องอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 2 เซนติเมตร และไม่พบการแพร่กระจายไปยังปุ่มน้ำเหลืองใดๆ หรืออวัยวะอื่นๆ

ระยะที่ 2 : T2, N0 หรือ N1a หรือ N2a, M0 หมายถึง

เนื้องอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 2-4 เซนติเมตร และไม่พบการแพร่กระจายไปยังปุ่มน้ำเหลืองใดๆ หรืออวัยวะอื่น ๆ

ระยะที่ 3 : T3, N0 หรือ N1a หรือ N2a, M0 หมายถึง

เนื้องอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่า 4 เซนติเมตร และไม่พบการแพร่กระจายไปยังปุ่มน้ำเหลืองใดๆ หรืออวัยวะอื่นๆ

ระยะที่ 4 : any T, any N, M0 หมายถึง

เนื้องอกทุกขนาด พบอุบัติการณ์การรุกรานของเนื้องอกเข้าสู่กระดูก การแพร่กระจายไปยังปุ่มน้ำเหลืองข้างเคียง ข้างเดียวกัน ด้านตรงข้าม หรือมีการยึดติดกับปุ่มน้ำเหลือง แต่ไม่พบการแพร่กระจายไปยังอวัยวะอื่น

หรือ any T, any N, M1 หมายถึง

เนื้องอกทุกขนาด พบอุบัติการณ์การรุกรานของเนื้องอกเข้าสู่กระดูก การแพร่กระจายไปยังปุ่มน้ำเหลืองข้างเคียง ข้างเดียวกัน ด้านตรงข้าม หรือมีการยึดติดกับปุ่มน้ำเหลือง และพบการแพร่กระจายไปยังอวัยวะอื่นๆ

การประเมินขอบเขตและการรุกรานของเนื้องอกในช่องปากก่อนการรักษาทางศัลยกรรมหรือวิธีอื่นๆ สามารถทำได้โดยถ่ายภาพรังสีบริเวณหัว อย่างไรก็ตาม ภาพรังสีบริเวณหัวของสัตว์จะให้ข้อมูลรอยโรคที่ไม่ชัดเจนนัก ทั้งนี้เนื่องจากการซ้อนทับกันของโครงสร้างกระดูกบริเวณหัว ส่งผลให้ความแม่นยำในการประเมินความผิดปกติของกระดูกและเนื้อเยื่ออ่อนบริเวณใกล้เคียงจากภาพถ่ายรังสีมีค่าต่ำ (Ghirelli et al., 2013) ปัจจุบัน มีการใช้ภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์มาเป็นส่วนหนึ่งในการวินิจฉัยความผิดปกติต่างๆ ของสัตว์เป็นอย่างแพร่หลาย โดยข้อมูลที่ได้สามารถช่วยในการวินิจฉัยโรคหรือความผิดปกติต่างๆ ในสุนัขและแมว เช่น ประสาทวิทยา (neurology) มะเร็งวิทยา (oncology) และศัลยกรรมกระดูก (orthopedics) (Ohlerth and Scharf, 2007) รวมทั้ง ยังเป็นเครื่องมือที่ใช้ในการวางแผนก่อนการรักษาด้วยวิธีทางศัลยกรรมหรือรังสีรักษา (Kafka et al., 2004) นอกจากนี้ การถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ยังสามารถนำมาประยุกต์ใช้เพื่อพยากรณ์โรคในระยะยาวได้อีกด้วย ทั้งนี้เป็นเพราะภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์สามารถจัดข้อจำกัดเรื่องภาพซ้อนทับในภาพรังสีได้ โดยแสดงผลเป็นภาพตัดขวางในแต่ละบริเวณที่สนใจ (region of interest; ROI) รวมถึงภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ให้ภาพรังสีเนื้อเยื่อเปรียบต่าง (tissue contrast) ได้เหนือกว่าภาพรังสี (Ohlerth and Scharf, 2007)

Ghirelli และคณะ (2013) ได้ศึกษาการวินิจฉัยความผิดปกติจากภาพรังสีส่วนหัวและทรวงอก (thorax) ในสุนัข 21 ตัว โดยเปรียบเทียบระหว่างผลการตรวจวินิจฉัยด้วยภาพรังสีและภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ทั้งก่อนและหลังฉีดสารเพิ่มความชัดภาพ พบว่าภาพรังสีเผยให้เห็นการเปลี่ยนแปลงของกระดูกได้เพียงร้อยละ 80.9 ในขณะที่ภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์เผยให้เห็นรอยโรคได้ถึงร้อยละ 95.2 และยังเปิดเผยให้เห็นการรุกรานโครงสร้างหรืออวัยวะใกล้เคียง เช่น โพรงจมูก (nasal sinus) โพรงอากาศหน้าผาก (frontal sinus) โพรงกระดูกสฟินอยด์ (sphenoidal sinus) โพรงขากรรไกรบน (maxillary recess) เบ้าตา (orbit) และคอหอยส่วนจมูก (nasopharynx) ได้ถึง

ร้อยละ 90.4 ขณะที่ภาพรังสีเปิดเผยให้เห็นการรุกรานของพยาธิสภาพเข้าสู่บริเวณต่างๆ ดังกล่าวข้างต้นได้เพียงร้อยละ 30 เท่านั้น ภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์จึงเป็นเครื่องมือสำคัญสำหรับการตรวจวินิจฉัยความผิดปกติ ที่ช่วยระบุการเปลี่ยนแปลงของกระดูก หรือการรุกรานของเนื้องอก อีกทั้งยังมีความไว และจำเพาะต่อการตรวจหาความผิดปกติ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเนื้องอกหรือมะเร็งช่องปาก (Handschel et al., 2012)

การระบุขอบเขตของอวัยวะ รวมถึงการตรวจหาการรุกรานของเนื้องอกสู่น้ำเยื่อปกติกติบริเวณข้างเคียง สามารถตรวจบันทึกได้จากภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ที่อยู่ในรูปแบบสเกลสีเทา (grey scale) ที่ขึ้นอยู่กับความหนาแน่นของรังสี สเกลสีเทาดังกล่าวสามารถแยกได้หลายระดับ และมีหน่วยวัดเป็น หน่วยฮาวนส์ฟิลด์ (hounsfield unit; HU) ซึ่งมีระยะตั้งแต่ -1000 HU จนถึง 1000 HU และน้ำจะมีความหนาแน่นรังสีเท่ากับ 0 HU ค่าความหนาแน่นของเนื้อเยื่อต่างๆ จะมีความแตกต่างกันขึ้นกับลักษณะของเนื้อเยื่อแต่ละชนิด (Ohlerth and Scharf, 2007) ดังแสดงในตารางที่

2



ตารางที่ 2 ค่ามาตรฐานความหนาแน่นรังสีของเนื้อเยื่อที่แสดงเป็นเฉดสีเทาของภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ หน่วยเป็น hounsfield unit (HU) (Ohlerth and Scharf, 2007)

ชนิดของเนื้อเยื่อ	ค่ามาตรฐาน (HU)
กระดูกเนื้อแน่น (compact substance)	>250
กระดูกฟ้าม (spongy bone)	50-300
เลือดที่จับเป็นลิ่ม (coagulated blood)	70-90
ต่อมไทรอยด์ (thyroid gland)	60-80
ตับ	50-70
เลือด	50-60
สมองเนื้อเทา (gray matter)	37-41
กล้ามเนื้อ	35-50
ตับอ่อน	30-50
ไต	20-40
สมองเนื้อขาว (white matter)	20-34
น้ำเลือด (plasma)	27±2
สิ่งซึมเยิ้มข้น (exudates)	>18±2
สิ่งซึมเยิ้มใส (transudate)	<18±2
น้ำเกลือ	12±2
น้ำหล่อสมองไขสันหลัง (CSF)	5-10
ไขมัน	-80 ถึง -100
ปอด	-950 ถึง -550

นอกจากนั้น การกำหนดค่าขอบเขตความกว้างของความหนาแน่นรังสี (window width; WW) และ ระดับของความหนาแน่นรังสี (window level; WL) ที่แตกต่างกันจะช่วยให้เห็นโครงสร้างของอวัยวะต่างๆ ได้ชัดเจนมากขึ้น (Ohlerth and Scharf, 2007) (ตารางที่ 3) ข้อมูลที่ได้จากภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์จึงเหมาะสมกับการตรวจบันทึกรอยโรคของแต่ละเนื้อเยื่อ เช่น เนื้อเยื่ออ่อน และเนื้อเยื่อกระดูก

ตารางที่ 3 ค่าขอบเขตความกว้างของความหนาแน่นรังสี (window width; WW) และระดับของความหนาแน่นรังสี (window level; WL) ของสเกลสีเทาในการแสดงภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ หน่วยเป็น HU (Ohlerth and Scharf, 2007)

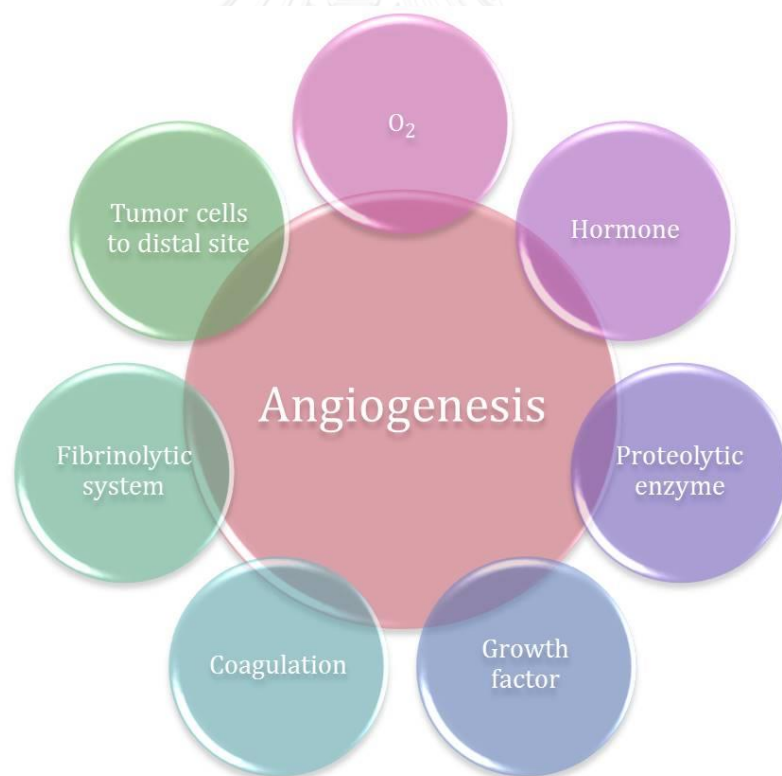
ช่วงกว้างของ	WW (HU)	WL (HU)
กระดูก	400-500	>1500
เนื้อเยื่ออ่อน	40-50	400-500
สมอง	35	150
ต่อมใต้สมอง	80	250
ผนังกลางคั่นระหว่างปอด (mediastinum)	-50	400
ปอด	-500	1500

ในการศึกษาขอบเขตของความผิดปกติด้วยภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ร่วมกับการฉีดสารเพิ่มความชัดภาพเข้าทางหลอดเลือดดำ ช่วยเปิดเผยให้เห็นขอบเขตการรุกรานของเนื้องอกเข้าสู่เนื้อเยื่ออ่อนบริเวณใกล้เคียงได้ชัดเจนมากขึ้น ดังการศึกษาของ Hanschel และคณะ (2012) โดยศึกษาในผู้ป่วยที่พบมะเร็งช่องปากชนิดเซลล์สควมัสจำนวน 107 คนที่ได้รับการตัดขากรรไกรล่าง และได้รับการตรวจวินิจฉัยการรุกรานกระดูกด้วยการถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์เพิ่มสมรรถนะด้วยสารเพิ่มความชัดภาพ (contrast-enhanced multi-detector CT) เปรียบเทียบกับผลทางจุลพยาธิวิทยา (histopathology) พบว่าภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ให้ผลที่มีความจำเพาะ และความไวสูง โดยพบผลบวกลวง (false-positive) 8 คน และผลลบลวง (false-negative) 8 คน จากการศึกษานี้ได้ผลความไว (sensitivity) ในการวินิจฉัยโรคของภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์คือ ร้อยละ 82.6 ความจำเพาะ (specificity) ร้อยละ 86.9 ค่าทำนายทางบวก (positive predictive value) ร้อยละ 82.6 และค่าทำนายทางลบ (negative predictive value) ร้อยละ 86.9

ระดับการเพิ่มขึ้นของสารเพิ่มความชัดภาพภายหลังการฉีดสารเพิ่มความชัดภาพเข้าทางหลอดเลือดดำจะขึ้นอยู่กับจำนวนหลอดเลือดที่อยู่ภายในเนื้องอก มีรายงานการศึกษาพบว่าระดับการเพิ่มขึ้นของสารเพิ่มความชัดภาพในการตรวจวินิจฉัยด้วยภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ (Van Camp et al., 2000) และการถ่ายภาพสะท้อนคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (magnetic resonance imaging) (Preda et al., 2006) สามารถใช้เป็นเครื่องมือวิเคราะห์ปริมาณหลอดเลือดที่มาเลี้ยง ลักษณะเฉพาะของหลอดเลือดขนาดเล็กในเนื้องอก รวมถึงการซึมผ่านได้ของเนื้อเยื่อหลอดเลือด (vascular

endothelial permeability) ซึ่งสิ่งเหล่านี้ จะมีบทบาทสำคัญในการบ่งบอกถึงการตอบสนองของเนื้องอกต่อการรักษาด้วยวิธีรังสีรักษา

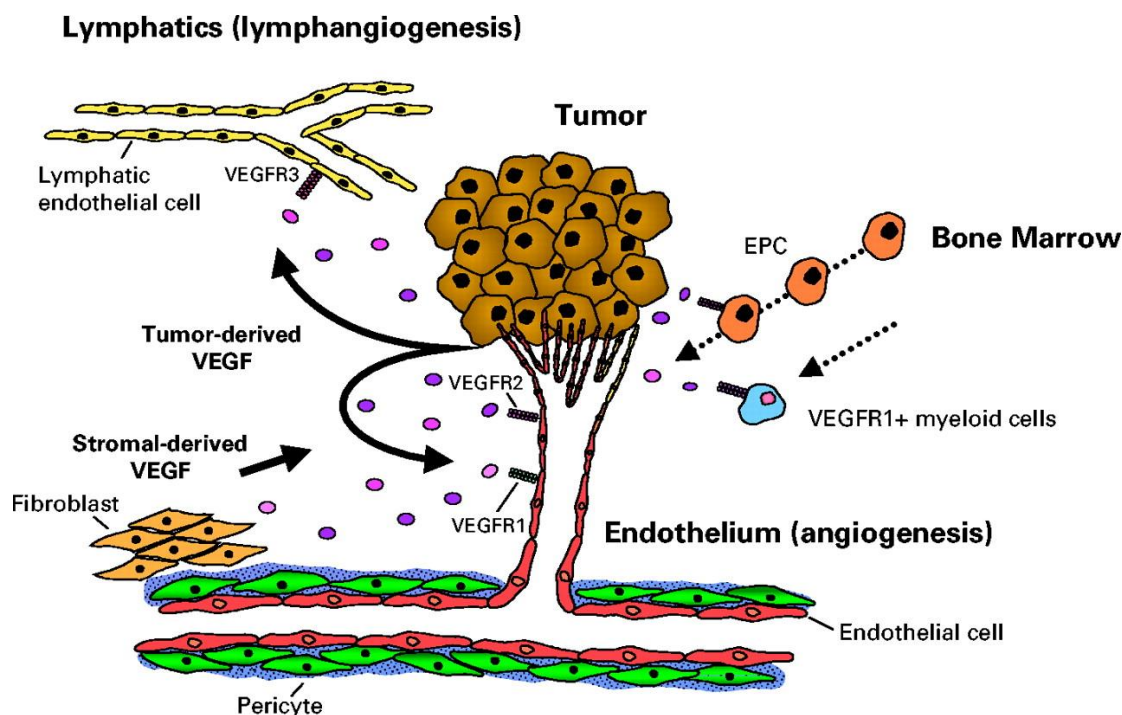
การกำเนิดหลอดเลือดใหม่ในเนื้องอก เป็นกระบวนการสำคัญสำหรับการเจริญเติบโตและการแพร่กระจายของเซลล์ผิดปกติสู่อวัยวะอื่นๆ หลอดเลือดที่เจริญขึ้นใหม่ในเนื้องอก จะทำหน้าที่เพื่อช่วยในการขนส่งออกซิเจน สารอาหาร ปัจจัยที่ใช้ในการเจริญเติบโตต่างๆ อาทิ ฮอโมน เอนไซม์ที่ช่วยย่อยโปรตีน สารที่เกี่ยวข้องกับระบบการแข็งตัวของเลือด และระบบการสลายไฟบริน (รูปที่ 1) นอกจากนี้ หลอดเลือดใหม่ที่เจริญขึ้นยังเป็นสื่อกลางที่ช่วยในการกระจายตัวของเซลล์ผิดปกติสู่ส่วนอื่น (Hicklin and Ellis, 2005) มีรายงานการศึกษาพบว่า เนื้องอกจะไม่สามารถเติบโตได้มากกว่าขนาด 2-4 มิลลิเมตร หากขาดการกำเนิดหลอดเลือดใหม่ (Weidner, 1995) โดยในเนื้องอกที่มีความรุนแรงสูงหรือเนื้องอกที่มีการแบ่งตัวและเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว จะส่งผลให้เลือดและเซลล์ภายในเนื้องอกมีสภาวะออกซิเจนน้อย (hypoxia) (Hicklin and Ellis, 2005) สภาวะดังกล่าว จะกระตุ้นให้เซลล์เนื้องอกสร้างสารเร่งการเจริญเติบโตของเยื่อหลอดเลือด (vascular endothelial growth factor; VEGF) (Luong et al., 2006)



รูปที่ 1 ภาพแสดงหน้าที่ของหลอดเลือดกำเนิดใหม่ในเนื้องอก เช่น ขนส่งออกซิเจน สารอาหาร และปัจจัยที่ใช้ในการเจริญเติบโตต่างๆ

VEGF เป็นสารกลุ่มไกลโคโปรตีนโมเลกุลคู่ชนิดเดียว (homodimeric glycoprotein) ในสภาวะปกติของร่างกาย VEGF จะเป็นสารควบคุมพื้นฐานในการเจริญของร่างกาย เช่น การแบ่งตัวของตัวอ่อน (Carmeliet et al., 1996) การหายของบาดแผล (Dvorak et al., 1995) และการเจริญของอวัยวะในระบบสืบพันธุ์ (Goede et al., 1998) รวมทั้งอาจตรวจพบสาร VEGF มีค่าเพิ่มสูงขึ้นในสภาวะพยาธิสภาพอื่นๆ เช่น การแบ่งตัวผิดปกติของจอประสาทตา (proliferation retinopathy) (Aiello et al., 1994; Malecaze et al., 1994) การเสื่อมสภาพของจุดภาพชัดตามวัย (age-related macular degeneration) (Chen et al., 1999) โรครูมาตอยด์ (rheumatoid arthritis) (Koch et al., 1994) และโรคเนื้องอกหรือมะเร็ง (Kim et al., 1993; Fukumura et al., 1998; Gerber et al., 2000; Tsuzuki et al., 2000; Taylor et al., 2007) เป็นต้น การเพิ่มขึ้นของสาร VEGF จะกระตุ้นให้เกิดการสร้างไมโทเจิน (mitogenesis) การย้ายที่ (migration) การแบ่งตัวของเซลล์เยื่อบุหลอดเลือด (endothelial cell proliferation) ซึ่งเป็นขบวนการหลักสำหรับการสร้างหลอดเลือดใหม่เข้าสู่บริเวณที่มีพยาธิสภาพ นอกจากนี้ VEGF ยังส่งผลต่อกลไกการควบคุมการซึมผ่านของหลอดเลือดบริเวณเนื้อเยื่อพยาธิสภาพ (รูปที่ 2) (Cross et al., 2003)

ในการประเมินความรุนแรงของเนื้องอกหรือมะเร็ง สามารถใช้การประเมินการสร้างหลอดเลือดใหม่ผ่านการตรวจวัดระดับสาร VEGF ในพลาสมา (plasma) (Taylor et al., 2007) หรือในเนื้อเยื่อ (Hicklin and Ellis, 2005) เพื่อมาทำนายการกำเนิดหลอดเลือดใหม่และพฤติกรรมของโรคได้ โดยพบว่า การเพิ่มขึ้นของการกำเนิดหลอดเลือดขนาดเล็กมีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรคและระยะเวลาการอยู่รอด (survival period) ของผู้ป่วยหรือสัตว์ป่วยโรคมะเร็งหลายๆ ชนิดเช่น มะเร็งเต้านมในคน (breast carcinoma) (Weidner, 1995) มะเร็งมาสต์เซลล์ที่เกี่ยวข้องกับผิวหนังในสุนัข (Preziosi, 2004) มะเร็งส่วนเนื้อเยื่ออ่อนในสุนัข (soft tissue sarcomas) (Luong et al., 2006) และมะเร็งเม็ดสีในสุนัข (Cuitiño et al., 2012) เป็นต้น



รูปที่ 2 ภาพแสดงกระบวนการกำเนิดหลอดเลือด และท่อน้ำเหลืองใหม่ไปยังเซลล์เนื้องอกโดยอิทธิพลของสาร VEGF (Hicklin and Ellis, 2005)

นอกจากการตรวจวัดระดับสาร VEGF แล้วพบว่าการตรวจวัดความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กในเนื้องอก ภายหลังจากการย้อมเนื้อเยื่อด้วยวิธีทางอิมมูโนฮิสโตเคมี (immunohistochemistry) ยังเป็นอีกตัวแปร (parameter) หนึ่งที่เกี่ยวข้องกับการสร้างหลอดเลือดใหม่ และสามารถนำมาใช้สำหรับการประเมินโรคได้เช่นกัน (Luong et al., 2006) การย้อมเนื้อเยื่อด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีเพื่อการวิเคราะห์ความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กในเนื้อเยื่อนั้นเกี่ยวข้องกับระดับการสร้างหลอดเลือดใหม่ในเซลล์เนื้องอกและมะเร็ง รวมถึงความรุนแรง และความสามารถในการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งสู่เนื้อเยื่อปกติ ดังนั้นจึงนิยมใช้ในการพยากรณ์โรคสำหรับผู้ป่วยมะเร็งหลายชนิดเช่น โรคมะเร็งกระเพาะ (gastric tumors) ในคน (Aurello et al., 2009) ซึ่งในทางอิมมูโนฮิสโตเคมีมีการใช้กลัยโคโปรตีนจำเพาะหลายชนิดเป็นเครื่องบ่งชี้เซลล์เยื่อหลอดเลือดกันอย่างแพร่หลาย เช่น วอน วิลลีแบรนต์ แฟคเตอร์ (Von Willebrand Factor; vWF) CD31 และ CD34 เป็นต้น ซึ่ง Puztaszeri และคณะ(2006) ได้กล่าวว่า โดยทั่วไป วอน วิลลีแบรนต์ แฟคเตอร์ ใช้ในการชี้วัดเซลล์เยื่อหลอดเลือดที่เกิดใหม่ของโรคมะเร็ง ส่วน CD31 มักตรวจพบมากที่สุด ซึ่งแสดงออกชัดเจน (strongly homogenous) ในเซลล์เยื่อหลอดเลือดของปอด ในขณะที่ CD34 และวอน วิลลีแบรนต์ แฟคเตอร์ จะพบได้ไม่เท่ากันในแต่ละส่วน CD34 นั้นเป็นตัวชี้วัดที่แสดงออกชัดเจนในเซลล์เยื่อหลอดเลือดฝอย ทั้งหลอดเลือดแดง (arteries) หลอดเลือดดำ (veins) หลอดเลือดแดงจิว

(arterioles) และหลอดเลือดดำเล็ก (venules) ส่วน วอน วิลลีแบรนต์ แพคเตอร์พบว่าการแสดงออกมากที่สุดที่หลอดเลือดดำ จากนั้นเป็น หลอดเลือดแดง หลอดเลือดแดงจิ๋ว หลอดเลือดฝอย และ หลอดเลือดดำเล็ก ตามลำดับ

วอน วิลลีแบรนต์ แพคเตอร์ เป็นโมเลกุลกลุ่มกลัยโคโปรตีนที่ถูกสร้างขึ้นในเซลล์เยื่อบุหลอดเลือด และ ถูกสังเคราะห์ขึ้นในไซโตพลาสซึมของเมกาคาริโอไซท์ (megakaryocytes cytoplasm) จากนั้นจะถูกนำไปเก็บไว้ที่ weibel-Palade bodies (Meyer et al., 1991) โดยวอน วิลลีแบรนต์ แพคเตอร์ มีทำหน้าที่เกี่ยวกับกระบวนการห้ามเลือดของร่างกายโดยเป็นสื่อกลางให้เกล็ดเลือดมายึดติดกับผนังเยื่อบุหลอดเลือดบริเวณที่มีความเสียหาย รวมถึงเข้าจับกับแฟคเตอร์แปด (factor VIII antigen) ที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับการแข็งตัวของเลือด วอน วิลลีแบรนต์ แพคเตอร์ทำให้แฟคเตอร์แปดในระบบเลือดมีความคงตัวและทำงานได้ (Yamamoto et al., 1998)

ทั้งนี้ถึงแม้ว่าจะมีการใช้วอน วิลลีแบรนต์ แพคเตอร์เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพกันอย่างแพร่หลาย แต่ก็ยังมีข้อมูลเกี่ยวกับกลไกที่วางระเบียบการแสดงออกของสารนี้ภายในร่างกาย ซึ่งการกระจายตัวของวอน วิลลีแบรนต์ แพคเตอร์นั้นขึ้นกับระดับอาร์เอ็นเออาร์เอส (vWF-mRNA) ในแต่ละที่ (Page et al., 1992) มีการทดลองตรวจหาปริมาณของ วอน วิลลีแบรนต์ แพคเตอร์ ด้วยอาร์เอ็นเออาร์เอสในปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสตามเวลาจริง (real time polymerase reaction; RT-PCR) พบว่าตัวอย่างที่ได้จากเยื่อบุผนังลำไส้ใหญ่ในส่วนที่เป็นมะเร็งนั้น ตรวจพบระดับสารอาร์เอ็นเออาร์เอสของ วอน วิลลีแบรนต์แพคเตอร์ สูงกว่าส่วนเยื่อบุผนังลำไส้ใหญ่ปกติ จึงสามารถใช้ระดับของวอน วิลลีแบรนต์ แพคเตอร์เป็นสัญญาณบ่งชี้การกระตุ้นการสร้างเยื่อบุผนังหลอดเลือดมากขึ้นเพื่อนำมาใช้ในการตรวจวินิจฉัยภาวะมะเร็งได้ตั้งแต่ระยะต้น (Zanetta et al., 2000)

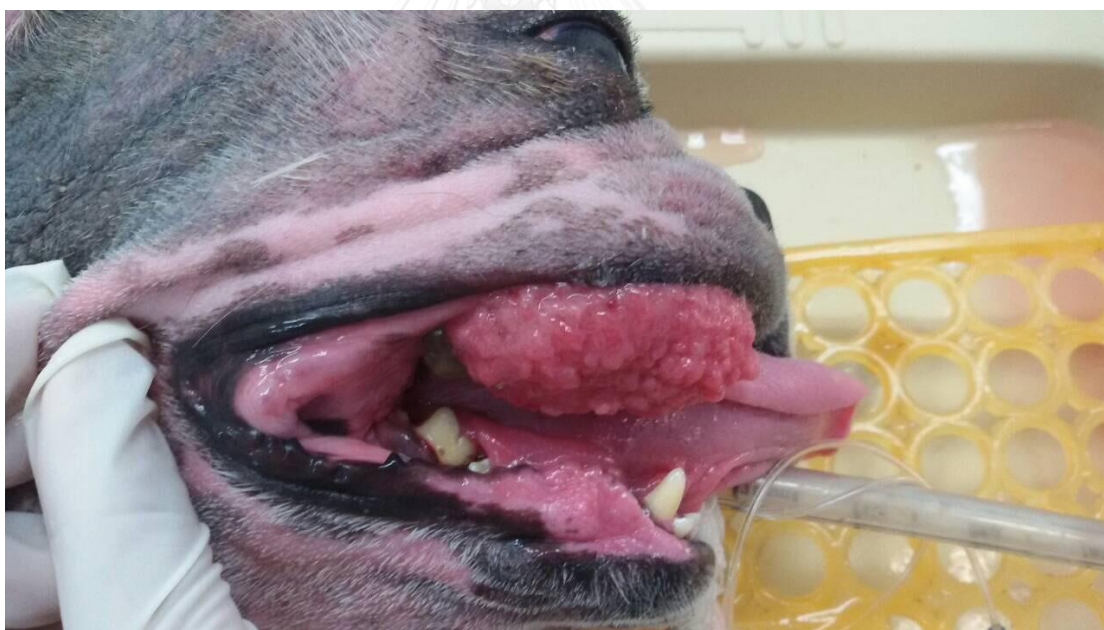
อย่างไรก็ตาม จากข้อมูลเบื้องต้นพบว่าจะยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับข้อมูลดังกล่าว ทั้งส่วนของการเพิ่มขึ้นของระดับสารเพิ่มความชัดภาพ และความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กที่สัมพันธ์กับความรุนแรงและระยะเวลาการอยู่รอดของสุนัขป่วยด้วยโรคเนื้องอกในช่องปาก ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับการเพิ่มขึ้นของสารเพิ่มความชัดภาพ ภายหลังการตรวจวินิจฉัยด้วยภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ และการกำเนิดหลอดเลือดใหม่ในเนื้องอกช่องปากของสุนัขผ่านการตรวจนับจำนวนหลอดเลือดขนาดเล็ก เพื่อเป็นประโยชน์สำหรับการประเมินความผิดปกติและการวางแผนการรักษาของเนื้องอกช่องปากของสุนัขในทางคลินิกต่อไป

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

สัตว์ที่ใช้ในการศึกษา

สุนัขป่วยตัวอย่างจำนวน 20 ตัว ที่มาเข้ารับการรักษาที่แผนกศัลยกรรมช่องปาก โรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ระหว่างเดือนมีนาคม พ.ศ. 2557 ถึงเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2558 โดยสุนัขป่วยได้รับการตรวจวินิจฉัยทางคลินิกว่าเป็นเนื้องอกชนิดความรุนแรงต่ำ หรือความรุนแรงสูงในช่องปากจากการตรวจช่องปาก (รูปที่ 2) ไม่เคยได้รับการรักษาทางรังสีบำบัด หรือเคมีบำบัด การตรวจร่างกายทั่วไป การตรวจนับเม็ดเลือดอย่างสมบูรณ์ เกล็ดเลือด ค่าชีวเคมี และตรวจปัสสาวะ มีค่าอยู่ในเกณฑ์ปกติ



รูปที่ 3 สุนัขตัวอย่างพันธุ์ซิวส์ที่ตรวจพบก้อนเนื้องอกบริเวณช่องปาก ทำการตรวจช่องปากและบันทึกข้อมูลต่างๆได้แก่ ตำแหน่ง และขนาด

การตรวจช่องปาก และการถ่ายภาพรังสี

ตรวจวัดขนาดหรือขอบเขตเนื้องอกจากการตรวจช่องปากและจากภาพรังสี (รูปที่ 4 และ 5) โดยวัดความกว้าง และความยาว นอกจากนั้นทำการประเมินการรุกราน ประเมินหาการแพร่กระจายของความผิดปกติสู่อวัยวะอื่นๆ ด้วยการถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ และแบ่งระยะของความผิดปกติในสุนัขตามเกณฑ์กำหนดขององค์การอนามัยโลก



รูปที่ 4 แสดงภาพรังสีส่วนหัว (skull radiograph) ของสุนัขป่วยที่มีเนื้องอกช่องปากในทิศรังสีด้านบนลงด้านล่าง (dorsoventral projection) เพื่อทำการประเมินขนาด และขอบเขตของเนื้องอกช่องปาก (ลูกศร)



รูปที่ 5 แสดงภาพรังสีส่วนหัว (skull radiograph) ของสุนัขป่วยที่มีเนื้องอกช่องปากในทิวทัศน์ด้านข้าง (lateral projection) เพื่อทำการประเมินขนาด และขอบเขตของเนื้องอกช่องปาก (ลูกศร)

การเตรียมตัวสัตว์และการวางยาสลบสัตว์ เพื่อการถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์

สุนัขได้รับการอดอาหารและน้ำอย่างน้อย 12 และ 6 ชั่วโมงตามลำดับ สุนัขจะได้รับการสารน้ำเกลืออะซีเตท (acetar®) อัตราเร็ว 10 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อชั่วโมง เข้าทางหลอดเลือดดำของขาหน้า (cephalic vein) สุนัขจะได้รับการยานำสลบชนิดไดอาซีแพม (diazepam) ขนาด 0.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว ตามด้วยยาชักนำสลบชนิดโพรโปโฟล (propofol) ขนาด 6 - 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวเข้าทางหลอดเลือดดำ

สอดท่อช่วยหายใจและรักษาภาวะสลบด้วยยาดมสลบไอโซฟลูเรน (isoflurane) ความเข้มข้น 2 - 5% และออกซิเจนผ่านเครื่องช่วยหายใจ (ventilator; Soarmed®) ฝ้าระวังสัญญาณชีพผ่านภาพคลื่นไฟฟ้าหัวใจ (electrocardiogram) ความดันเลือด (blood pressure) และระดับการอิ่มตัวของออกซิเจน (oxygen saturation) ในเลือด ตลอดการถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ สัตว์ป่วยจะถูกจัดท่าในท่านอนคว่ำตามแนวยาวลำตัวหันหน้าเข้าหาแกนทรี (gantry) ของเครื่องถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ จัดขาทั้ง 4 ข้างเหยียดตรงไปทางด้านหลัง (รูปที่ 6)

จัดให้แนวกลางลำตัวของสุนัขอยู่ตำแหน่งกึ่งกลางแนวฉายรังสี (isocenter) และตั้งขอบเขตการฉายรังสีครอบคลุมทั่วตัว เริ่มตั้งแต่ปลายจมูกยาวไปจนถึงสุดแนวสะโพก (รูปที่ 7)



รูปที่ 6 แสดงตำแหน่งการจัดวางอุปกรณ์ต่างๆขณะถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์



รูปที่ 7 แสดงการจัดท่าของสัตว์ป่วยเพื่อถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอวัยวะคอมพิวเตอร์ โดยจัดให้สุนัขป่วยอยู่ในท่านอนคว่ำตามแนวยาวลำตัว โดยให้หัวอยู่ในทิศทางด้านแกนทรี (gantry) ของเครื่องถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอวัยวะคอมพิวเตอร์ ขาทั้งสี่ข้างของสุนัขเหยียดตรงไปทางด้านหลัง และยกคอให้ขนานแนวสันหลัง ตั้งขอบเขตการฉายรังสีครอบคลุมทั่วตัว เริ่มตั้งแต่ปลายจมูก (ลูกศรขาว) ยาวไปจนถึงสุดแนวสะโพก (ลูกศรดำ)



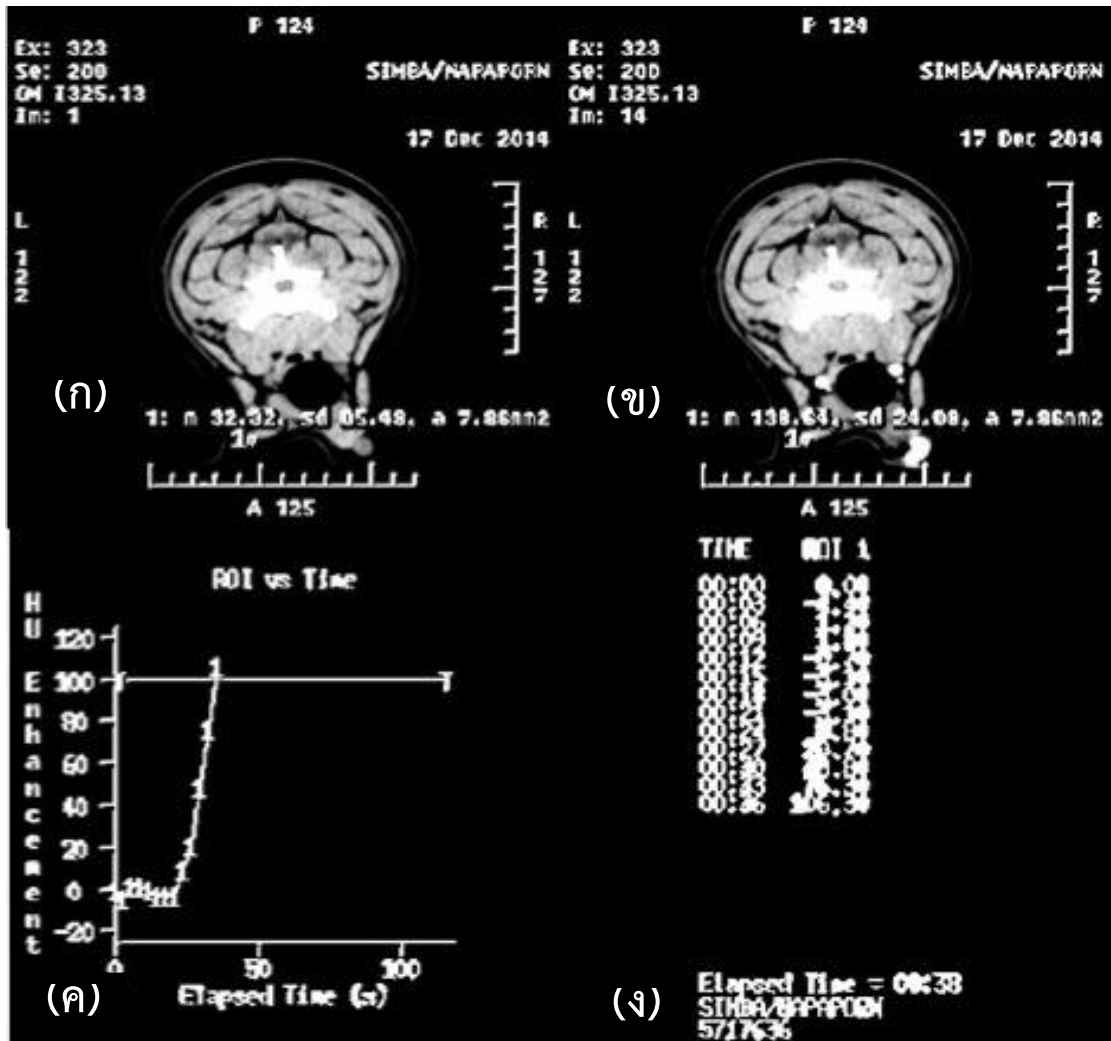
รูปที่ 8 แสดงการจัดท่าของสัตว์ป่วยเพื่อทำการถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ โดยจัดให้แนวกลางลำตัวของสุนัขอยู่ตำแหน่งกึ่งกลางแนวฉายรังสี

การถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์

ภายหลังการจัดท่าสุนัขป่วยให้สมมาตรกันทุกแนว แล้วตั้งค่า isocenter ให้ตรงกับแกนกลางลำตัว (รูปที่ 8) กำหนดขอบเขตการฉายรังสีตั้งแต่ปลายจมูกจนถึงสุดแนวสะโพก ทำการกราดภาพ (scan) โดยใช้เครื่องถ่ายภาพรังสีส่วนตัด อาศัยคอมพิวเตอร์แบบหมุนเกลียว 64 แผ่น (64-slice helical CT unit; Optima CT660[®], GE Thailand) เพื่อให้เห็นภาพรวมทั้งหมด (scout phase) จากนั้นเลือกบริเวณที่สนใจคือ บริเวณหัวตั้งแต่ปลายจมูกจนถึงคอที่ตำแหน่งกระดูกสันหลังส่วนคอท่อนที่ 6 (the 6th cervical vertebrae)

ใช้พารามิเตอร์การสร้างภาพเนื้อเยื่ออ่อนและรายละเอียดโดยรอบ (soft tissue detail reconstruction) ความหนาของแผ่นตัดบางแต่ละแผ่นเท่ากับ 1.25 มิลลิเมตร ระยะที่เคลื่อนไปตามแนวยาว (pitch) 0.531 มิลลิเมตรต่อรอบการหมุนของหลอดฉายรังสีกับตัวรับสัญญาณรังสี 1 รอบ ซึ่งตั้งอัตราการผลิตของหลอดฉายรังสีและตัวรับ 1 รอบต่อวินาที ฉายรังสีด้วยการตั้งค่าไฟฟ้าขนาด 120 กิโลโวลต์ และ 100 มิลลิแอมแปร์ ตั้งค่าบริเวณที่สนใจตามขนาดตัวสุนัข โดยให้ขอบเขตภาพครอบคลุมตั้งแต่ส่วนหัวตำแหน่งปลายจมูกลงมาถึงคอที่ตำแหน่งกระดูกคอท่อนที่ 6 หลังจาก

ถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์สำรวจครั้งแรกแล้ว ตั้งค่าบริเวณที่สนใจไว้ตรงหลอดเลือดดำใหญ่ (external jugular) ช่วงกระดูกสันหลังส่วนคอท่อนที่ 4 (the 4th cervical vertebrae) เพื่อให้โปรแกรมอัตโนมัติวัดค่าความหนาแน่นรังสีในบริเวณที่สนใจ (รูปที่ 9)



รูปที่ 9 แสดงการตั้งค่า region of interest (ROI) ที่หลอดเลือดดำใหญ่บริเวณกระดูกสันหลังส่วนคอท่อนที่ 4 (ก) ภายหลังจากฉีดสารเพิ่มความชัดภาพเข้าทางหลอดเลือดดำของขาหน้ากระทั้งสารดังกล่าวเดินทางถึงหลอดเลือดดำใหญ่ส่วนคอ (ข) โปรแกรมวัดค่าความหนาแน่นรังสีบริเวณหลอดเลือดดำช่วงกระดูกสันหลังส่วนคอท่อนที่ 4 ในหน่วย houndfield unit (HU) ได้ค่ามากกว่า 100 HU (ค และ ง) เครื่องถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์จะทำการถ่ายภาพบริเวณส่วนหัวที่ตั้งไว้โดยอัตโนมัติ



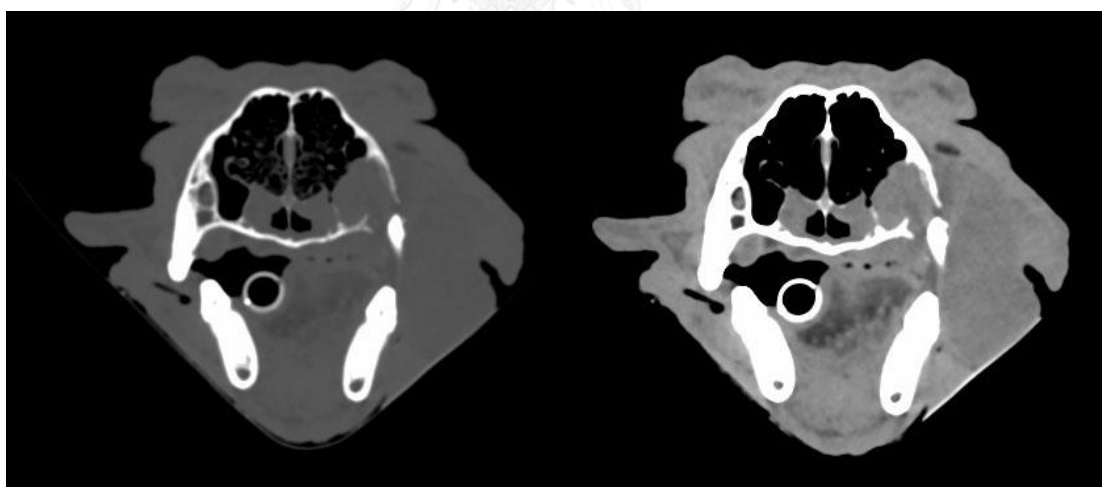
รูปที่ 10 แสดงเครื่องฉีดสารเพิ่มความชัดภาพหัวฉีดอัตโนมัติ (auto injector) โดยตั้งค่าที่หน้าจอ ควบคุมเครื่องฉีดสารเพิ่มความชัดภาพหัวฉีดอัตโนมัติ ภายในห้องควบคุมการถ่ายภาพรังสีส่วนตัด อาศัยคอมพิวเตอร์ (รูปบนซ้าย)

หลังจากนั้นทำการฉีดสารเพิ่มความชัดภาพชนิดไม่มีประจุ ละลายน้ำได้ไอโอดีน (iohexol; Omnipaque 300[®]) ขนาด 600 มิลลิกรัมไอโอดีนต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว เข้าทางหลอดเลือดดำของขาหน้า (cephalic vein) ด้วยหัวฉีดอัตโนมัติ (auto injector) (รูปที่ 10) โดยอัตราเร็วสำหรับการฉีดสารเพิ่มความชัดภาพในสุนัขป่วยคือ 2 มิลลิลิตรต่อวินาที เมื่อสารเพิ่มความชัดภาพเคลื่อนผ่านเนื้อเยื่อบริเวณหัว และไหลย้อนกลับเข้าสู่หลอดเลือดดำใหญ่ส่วนคอ (jugular vein) ใน

ตำแหน่งกระดูกสันหลังส่วนคอที่ 4 โปรแกรมจะทำการวัดค่าความหนาแน่นรังสีบริเวณที่ตั้งค่าไว้ เมื่อความหนาแน่นรังสีบริเวณที่สนใจเพิ่มขึ้นมากกว่า 100 HU ทำการกราดภาพอีกครั้ง จะได้ภาพถ่ายรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์หลังฉีดสารเพิ่มความชัดภาพ จากนั้นทำการกราดภาพ บริเวณทรวงอกและช่องท้องเพื่อนำภาพถ่ายรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์มาช่วยในการแบ่งระยะ ของความผิดปกติในสุนัขตามเกณฑ์กำหนดขององค์การอนามัยโลก

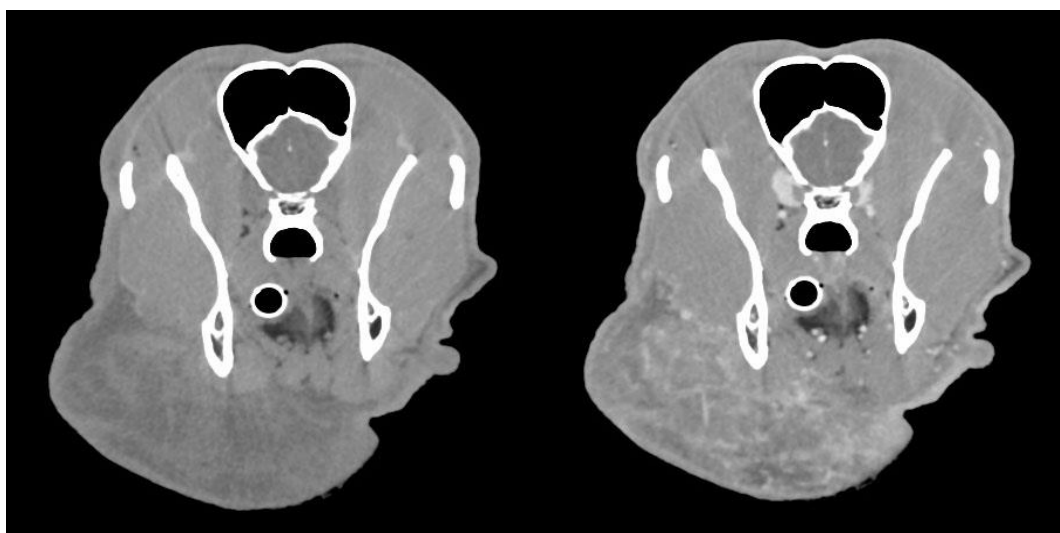
การประมวลผลภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์

จัดเก็บภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ในรูปแบบไฟล์ภาพดิจิทัลสำหรับการสื่อสารทาง การแพทย์ (digital imaging and communications in medicine; DICOM) และประมวลผลโดย ชุดคำสั่งโอสิริกซ์ (Osirix[®]) โดยประมวลและบันทึกผลภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ในช่วงกว้าง สำหรับกระดูก ซึ่งกำหนดค่าขอบเขตความกว้างของความหนาแน่นรังสีเท่ากับ 500 HU และกำหนด ระดับของความหนาแน่นรังสี เป็น 2500 HU และในค่าช่วงกว้างสำหรับเนื้อเยื่ออ่อน โดยกำหนดค่า ขอบเขตความกว้างของความหนาแน่นรังสี เป็น 70 HU และระดับของความหนาแน่นรังสี เป็น 450 HU (รูปที่ 11)



รูปที่ 11 แสดงภาพถ่ายรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ในบริเวณหัวของสัตว์ป่วยในท่าตัดขวาง (transverse plain) ที่กำหนดค่าขอบเขตความกว้างของความหนาแน่นรังสี และระดับความหนาแน่น รังสีสำหรับเนื้อเยื่ออ่อน (ซ้าย) และที่กำหนดค่าขอบเขตความกว้างของความหนาแน่นรังสี และระดับ ความหนาแน่นรังสีสำหรับกระดูก (ขวา)

ระบุตำแหน่งของเนื้องอกโดยแบ่งเป็นบริเวณต่างๆ ได้แก่ เยื่อเมือกบุช่องปาก ลิ้น เพดานปาก กรามบน (maxilla) และกรามล่าง (mandible) นอกจากนี้ทำการบันทึกข้อมูลต่างๆ จากภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ที่ได้ภายหลังจากการฉีดสารเพิ่มความชัดภาพเช่น ขนาด ขอบเขต และการรุกรานของเนื้องอกสู่เนื้อเยื่อบริเวณใกล้เคียง (รูปที่ 12)



รูปที่ 12 แสดงภาพถ่ายรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ของสุนัขป่วยที่มีเนื้องอกช่องปากบริเวณกรามล่างในท่าตัดขวางก่อนฉีดสารเพิ่มความชัดภาพ (ซ้าย) และภาพถ่ายรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ของสุนัขป่วยที่มีเนื้องอกช่องปากบริเวณกรามล่างในท่าตัดขวางหลังฉีดสารเพิ่มความชัดภาพ (ขวา) ประมวลผลผ่านชุดคำสั่ง Osirix®

บันทึกข้อมูลทั้งในส่วนของเนื้อเยื่ออ่อน และเนื้อเยื่อกระดูกประเภทต่างๆ เช่น การสลายกระดูก (osteolysis) รวมถึงบันทึกลักษณะการเพิ่มขึ้นของสารเพิ่มความชัดภาพในเนื้องอก ซึ่งแบ่งเป็นกลุ่มที่สารเพิ่มความชัดภาพเพิ่มขึ้นเท่าๆ กันในแต่ละจุดและดูเป็นเนื้อเดียวกัน (homogenous) กลุ่มที่สารเพิ่มความชัดภาพเพิ่มขึ้นแค่บริเวณขอบ (rim enhancement) ของเนื้องอก หรือกลุ่มที่สารเพิ่มความชัดภาพเพิ่มขึ้นแต่ดูไม่เป็นเนื้อเดียวกัน (heterogenous)

สุ่มบันทึกการเพิ่มขึ้นของความหนาแน่นรังสีภายหลังจากการฉีดสารเพิ่มความชัดภาพบริเวณเนื้อเยื่ออ่อนของเนื้องอกจำนวน 5 ตำแหน่งและเปรียบเทียบกับค่าความหนาแน่นรังสีบริเวณเดียวกันจากภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ก่อนการฉีดสารเพิ่มความชัดภาพ รายงานผลเป็นร้อยละของค่าผลต่างความหนาแน่นรังสีจากภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ก่อน และหลังฉีดสารเพิ่มความชัดภาพ

$$\left[\frac{\text{ความหนาแน่นรังสีหลังฉีดสารเพิ่มความชัดภาพ} - \text{ความหนาแน่นรังสีก่อนฉีดสารเพิ่มความชัดภาพ}}{\text{ความหนาแน่นรังสีก่อนฉีดสารเพิ่มความชัดภาพ}} \times 100 \right]$$

การตรวจทางพยาธิวิทยา

ภายหลังการศัลยกรรมตัดเนื้องอกช่องปาก ก้อนเนื้อตัวอย่างจะถูกตัดแบ่งให้มีขนาด 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร และถูกนำไปตรึงเนื้อเยื่อในสารละลายบัฟเฟอร์ฟอร์มาลินเข้มข้นร้อยละ 10 (10% neutral buffered formalin solution) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำไปผ่านกระบวนการเตรียมเนื้อเยื่อทางพยาธิวิทยาฝังลงในก้อนพาราฟิน

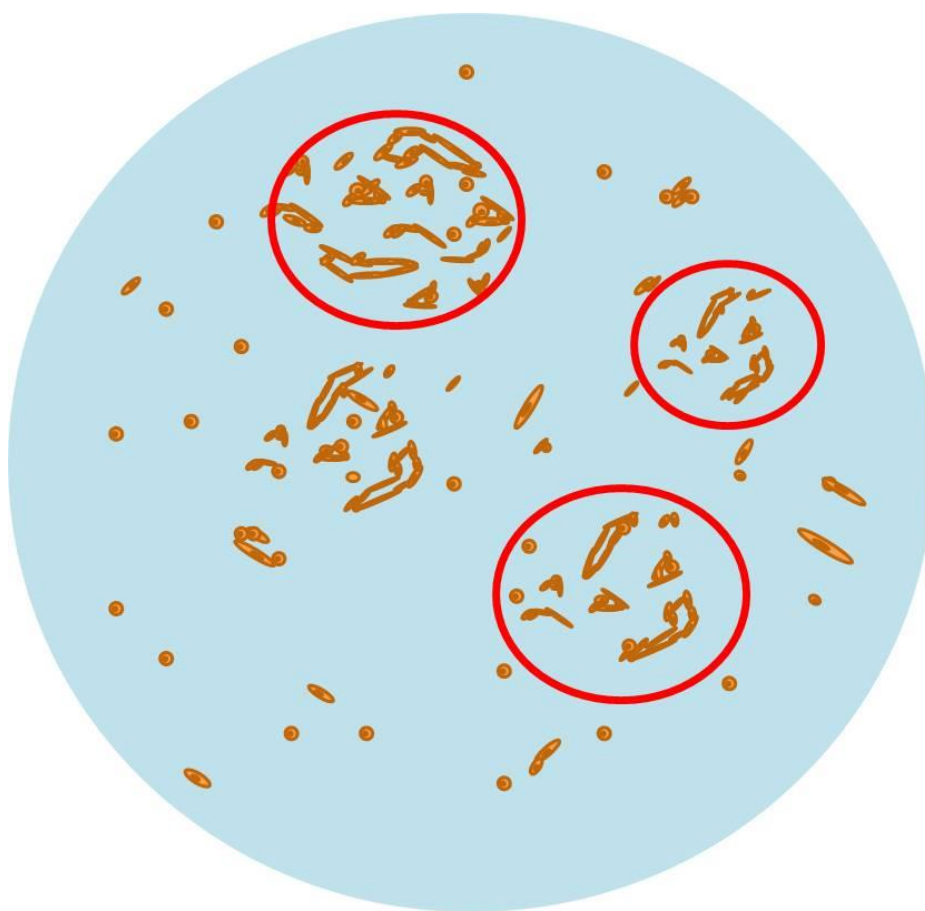
จากนั้น ชิ้นเนื้อตัวอย่างจะถูกตัดให้เป็นแผ่นบางที่ความหนา 4 ไมโครเมตรและแผ่นชิ้นเนื้อบางลงบนสไลด์ ก่อนนำไปย้อมสีฮีมาทอกซีลินและอีโอซิน (hematoxylin and eosin; H&E) เพื่อตรวจทางพยาธิวิทยา และย้อมสีอิมมูโนฮิสโตเคมีด้วยโปรตีนที่จำเพาะกับหลอดเลือด คือ โปรตีนวอน วิลลีแบรนต์ แพคเตอร์ สำหรับการตรวจหาหลอดเลือดขนาดเล็ก ซึ่งกระบวนการย้อมสีอิมมูโนฮิสโตเคมีจะเป็นขั้นตอนต่างๆดังต่อไปนี้

- ละลายพาราฟิน (deparaffinization) โดยการแช่สไลด์ตัวอย่างในไซลีน (xylene) 3 ครั้ง ครั้งละ 10 นาที
- คืนน้ำให้เนื้อเยื่อ (rehydration) โดยแช่สไลด์ตัวอย่างในสารละลายเอทานอลผสมไซลีน 5 นาทีจากนั้นแช่ในสารละลายเอทานอลบริสุทธิ์ 2 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที และแช่ในเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ร้อยละ 80 และร้อยละ 70 ความเข้มข้นละ 5 นาที ตามลำดับ ก่อนนำไปแช่ในน้ำที่เปิดไหลผ่านเป็นเวลา 5 นาที (ในกรณีสไลด์ตัวอย่างเป็นมะเร็งเม็ดสี สไลด์ตัวอย่างจะถูกนำมาผ่านกระบวนการล้างเม็ดสีเมลานินก่อน โดยแช่ในสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต (potassium permanganate) ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 เป็นเวลา 45 นาที จากนั้นล้างสไลด์ตัวอย่างด้วยน้ำสะอาดและแช่ในสารละลายกรดออกซาลิก (oxalic acid solution) นาน 3 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่นก่อนเริ่มกระบวนการต่อไป)
- ล้างสไลด์ตัวอย่างในน้ำกลั่นเป็นเวลา 5 นาที และสารละลายเกลือบัฟเฟอร์ฟอสเฟต (phosphate buffer saline; PBS) อีก 5 นาทีตามลำดับ
- ดึงแอนติเจนกลับ (antigen retrieval method) ด้วยการแช่สารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมซิเตรต (Sodium citrate buffer) ความเข้มข้นร้อยละ 1 (1% tris solution) ในไมโครเวฟที่ระดับความร้อน 800 วัตต์ เป็นเวลา 5 นาที

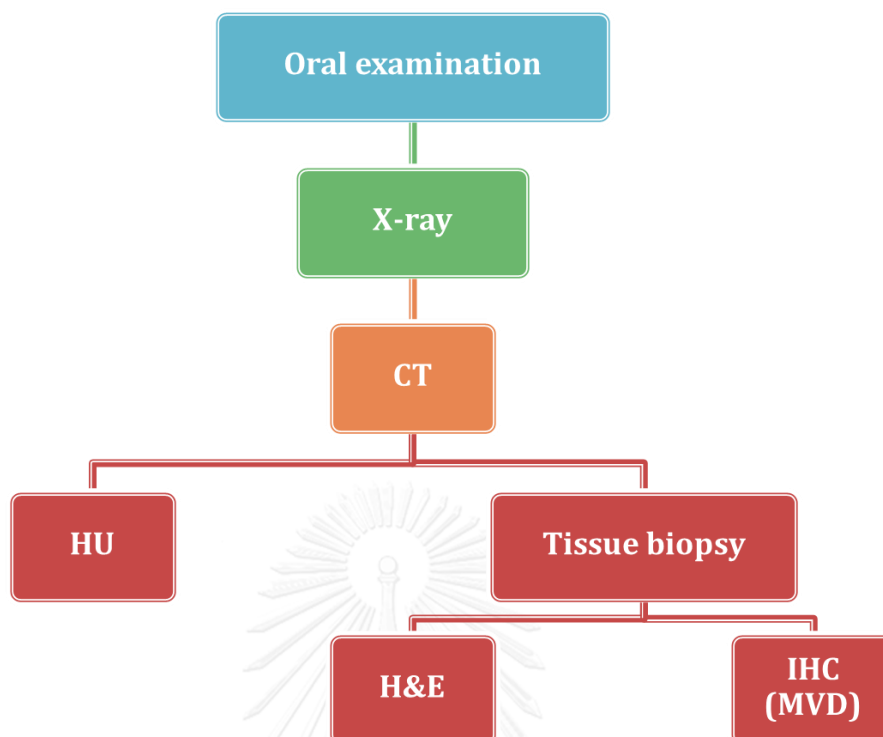
- ล้างเนื้อเยื่อใน PBS นานเวลา 5 นาที จำนวน 3 ครั้ง ก่อนการขจัดปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดส (blocking endogenous peroxidase reaction) ด้วยการแช่สไลด์ตัวอย่างลงในสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) เข้มข้นร้อยละ 3
- ล้างสไลด์ตัวอย่างใน PBS อีกจำนวน 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที ก่อนการแช่สไลด์ตัวอย่างในสารละลายยับยั้งปฏิกิริยา (normal blocking serum) โดยใช้หางนม (skim milk) ความเข้มข้นร้อยละ 8 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที
- เทสารละลายยับยั้งออกจากสไลด์ตัวอย่าง ก่อนหยดสารละลายแอนติบอดีปฐมภูมิ (primary antibody) ของโปรตีนวอน วิลลีแบรนต์ แพคเตอร์ใน PBS โดยความเข้มข้นของโปรตีนวอน วิลลีแบรนต์ แพคเตอร์ที่ใช้เท่ากับ 1:200
- เก็บสไลด์ตัวอย่างที่แช่สารละลายแอนติบอดีปฐมภูมิไว้ในกล่องเก็บความชื้น และเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลาข้ามคืน (12 - 16 ชั่วโมง)
- ล้างสไลด์ตัวอย่างด้วย PBS เป็นเวลา 5 นาที จำนวน 3 ครั้ง จากนั้นแช่สไลด์ตัวอย่างตัวอย่างในสารละลายแอนติบอดีทุติยภูมิ (secondary antibody) (Envision[®] polymer, Dako) ที่จำเพาะต่อแอนติบอดีปฐมภูมิมบนสไลด์ตัวอย่าง เป็นเวลา 45 นาที ในกล่องเก็บความชื้นที่อุณหภูมิห้อง
- ล้างสไลด์ตัวอย่างด้วย PBS เป็นเวลา 5 นาที จำนวน 3 ครั้ง แช่สไลด์ตัวอย่างในสารละลายที่ช่วยพัฒนาให้เกิดสีบนเนื้อเยื่อ (DAB substrate) 1 - 3 นาที จนได้ความเข้มสีที่ต้องการจึงหยุดปฏิกิริยาด้วยน้ำกลั่น
- ย้อมเนื้อเยื่อพื้นหลังบนสไลด์ตัวอย่างด้วยสีฮีมาทอกซิลิน ขจัดน้ำออกจากสไลด์ตัวอย่างด้วยสารละลายเอทานอลจัดลำดับ และไซลีน
- ปิดตัวอย่างเนื้อเยื่อบนสไลด์ตัวอย่างด้วยแผ่นปิดสไลด์ (cover slide)

การประเมินความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กในเนื้ออก

ประเมินความหนาแน่นของหลอดเลือดบนเนื้ออกจากสไลด์ตัวอย่างภายหลังการย้อมสีอิมมูโนฮิสโตเคมี โดยส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง (light microscope) ตรวจสอบจุดของหลอดเลือดขนาดเล็กที่มีความหนาแน่นมากที่สุด (hot spot) แบบสุ่ม 5 จุดที่กำลังขยาย 40 เท่า จากนั้นทำการบันทึกภาพหลอดเลือดขนาดเล็กในแต่ละจุดที่กำลังขยาย 100 เท่า ทำการตรวจนับหลอดเลือดขนาดเล็กบนเนื้อเยื่อที่ย้อมติดสีน้ำตาลจากโปรตีนวอน วิลลีแบรนต์ แพคเตอร์ แสดงผลความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กบนเนื้อเยื่อตัวอย่างในหน่วยของจำนวนหลอดเลือดต่อพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร (รูปที่ 13)



รูปที่ 13 แสดงแผนภาพการประเมินความหนาแน่นของหลอดเลือดบนเนื้ออกจากสไลด์ตัวอย่างภายหลังการย้อมสีอิมมูโนฮิสโตเคมี โดยส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง ที่กำลังขยาย 40 เท่า เพื่อเลือกจุดที่มีความหนาแน่นหลอดเลือดสูงสุด 5 ตำแหน่ง ก่อนการบันทึกภาพหลอดเลือดขนาดเล็กในแต่ละจุดที่กำลังขยาย 100 เท่า



รูปที่ 14 แผนภาพสรุปขั้นตอนการปฏิบัติงานการตรวจเนื้องอกในช่องปาก โดยภายหลังการตรวจและบันทึกข้อมูลความผิดปกติภายในช่องปาก (oral examination) สัตว์ป่วยตัวอย่างจะได้รับการถ่ายภาพรังสีส่วนหัว (x-ray) ทั้งในท่านอนคว่ำ และนอนตะแคงเพื่อช่วยประเมินขนาด และการรุกรานของเนื้องอก จากนั้นสัตว์ป่วยตัวอย่างจะเข้ารับการถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอักษย์คอมพิวเตอร์ เพื่อประเมินขนาด การรุกรานของก้อน (computed tomography) รวมถึงการฉีดสารเพิ่มความชัดภาพเพื่อประเมินองค์ประกอบภายใน และวัดระดับความหนาแน่นรังสีบริเวณเนื้องอกซึ่งเป็นหน่วยฮาวนด์ฟิลด์ (houndfield; HU) เพื่อทำการประเมินการเพิ่มขึ้นของสารเพิ่มความชัดภาพโดยเปรียบเทียบภาพก่อน และหลังการฉีดสารเพิ่มความชัดภาพ เพื่อประเมินความสามารถในการกำซาบสารเพิ่มความชัดภาพหลังจากการถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอักษย์คอมพิวเตอร์เพื่อประเมินหาการแพร่กระจายความผิดปกติสู่อวัยวะอื่น สัตว์ป่วยตัวอย่างจะเข้ารับการผ่าตัดเก็บชิ้นเนื้อจากก้อน เพื่อนำมาตรวจสอบทางพยาธิวิทยาโดยการย้อมสีฮีมาท็อกซิลิน และอีโอซิน (hematoxylin and eosin; H&E) เพื่อวินิจฉัยแยกแยะชนิดเนื้องอก และนำมาย้อมสีอิมมูโนฮิสโตเคมี (immunohistochemistry; IHC) ด้วยโปรตีนที่จำเพาะต่อหลอดเลือดเพื่อตรวจวัดปริมาณหลอดเลือดขนาดเล็กในเนื้องอก (microvessel density; MVD)

การวิเคราะห์ผลการศึกษา

เปรียบเทียบความสัมพันธ์ของขนาดของสุนัขโดยวัดจากน้ำหนักตัว กับระยะเวลาที่สารเพิ่มความชัดภาพเดินทางไปถึงบริเวณที่สนใจช่วงลำคอของสุนัขด้วย Pearson correlation test, เปรียบเทียบระดับการเพิ่มขึ้นของความหนาแน่นหลอดเลือดขนาดเล็กในก้อนเนื้องอก และร้อยละของการเพิ่มขึ้นของสารเพิ่มความชัดภาพระหว่างกลุ่มสุนัขที่มีเนื้องอกช่องปากต่างชนิดกันด้วย Kruskal - Wallis test และทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างระดับการเพิ่มขึ้นของความหนาแน่นหลอดเลือดขนาดเล็กและการเพิ่มขึ้นของสารเพิ่มความชัดภาพในเนื้องอกด้วย Pearson correlation test รวมถึงทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างการเพิ่มขึ้นของสารเพิ่มความชัดภาพในเนื้องอกและเนื้อเยื่อปกติด้วย Wilcoxon Signed Rank test ด้วยโปรแกรม GraphPad Prism 7 ของบริษัท GraphPad Software แคลิฟอร์เนีย สหรัฐอเมริกา และให้ค่าความเชื่อมั่นที่ $p < 0.05$



บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการวิเคราะห์

สุนัขป่วยตัวอย่างจำนวน 20 ตัว เป็นสุนัขเพศผู้จำนวน 15 ตัว ทำหมันแล้ว 3 ตัว และเป็นสุนัขเพศเมียจำนวน 5 ตัว ทำหมันแล้ว 3 ตัว (ตารางที่ 4) ทั้งนี้เป็นสุนัขพันธุ์พุดเดิ้ล 6 ตัว สุนัขพันธุ์ผสม 4 ตัว สุนัขพันธุ์ปัก 2 ตัว สุนัขพันธุ์โกลเด้นรีทรีฟเวอร์ 2 ตัว สุนัขพันธุ์ไทย 2 ตัว สุนัขพันธุ์ชิทสุ 1 ตัว สุนัขพันธุ์ร็อตไวเลอร์ 1 ตัว สุนัขพันธุ์อัลเซเชียน 1 ตัว และสุนัขพันธุ์เทอร์เรีย 1 ตัว โดยสุนัขทั้งหมดมีน้ำหนักตัวอยู่ระหว่าง 3.6 - 40 กิโลกรัม และมีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 15.5 ± 12 กิโลกรัม สุนัขมีอายุระหว่าง 8 - 17 ปี และมีอายุเฉลี่ยเท่ากับ 12 ± 2.3 ปี โดยพบว่าเป็นเนื้องอกช่องปากชนิดมะเร็งเม็ดสี 13 ตัว มะเร็งเซลล์สความัส 4 ตัว และมะเร็งเส้นใย 3 ตัว (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 4 แสดงจำนวนสุนัขที่เข้าร่วมการวิจัย แบ่งตามเพศ

เพศ	จำนวน (ตัว)
ผู้ยังไม่ทำหมัน	12
ผู้ทำหมัน	3
เมียยังไม่ทำหมัน	2
เมียทำหมัน	3

ตารางที่ 5 แสดงจำนวนสุนัขในแต่ละชนิดของเนื้องอกที่พบในงานวิจัย

ชนิดของเนื้องอกช่องปาก	จำนวน (ตัว)
มะเร็งเม็ดสี	13
มะเร็งเซลล์สความัส	4
มะเร็งเส้นใย	3

ตารางที่ 6 แสดงจำนวนสุนัขในแต่ละสายพันธุ์ที่พบเนื้องอก

สายพันธุ์	จำนวน(ตัว)	มะเร็งเม็ดสี	มะเร็ง เซลล์สความัส	มะเร็งเส้นใย
พุดเดิ้ล	6	4	1	1
พันธุ์ผสม	4	3	-	1
ปัก	2	2	-	-
โกลเด้นรีทริฟเวอร์	2	1	1	-
ไทย	2	1	1	-
ร็อตไวเลอร์	1	1	-	-
ชิห์สุ	1	-	1	-
อัลเซเชียน	1	1	-	-
เทอร์เรีย	1	-	-	1
รวม	20	13	4	3

กลุ่มสุนัขที่เป็นมะเร็งเม็ดสีจำนวน 13 ตัว เป็นสุนัขเพศผู้จำนวน 11 ตัว ทำหมันแล้วจำนวน 2 ตัว เป็นสุนัขเพศเมียยังไม่ได้ทำหมันจำนวน 2 ตัว สุนัขกลุ่มนี้มีน้ำหนักตั้งแต่ 3.6 - 40 กิโลกรัม โดยมีความเฉลี่ยเท่ากับ 16.57 ± 12.82 มีอายุระหว่าง 8 - 17 ปีหรือเฉลี่ยเท่ากับ 12.23 ± 2.48 ปี โดยพบว่าสายพันธุ์ในสุนัขกลุ่มนี้เป็นเป็นพันธุ์พุดเดิ้ลจำนวน 4 ตัว พันธุ์ปักจำนวน 2 ตัว พันธุ์ผสมจำนวน 3 ตัว พันธุ์ไทยจำนวน 1 ตัว พันธุ์โกลเด้นรีทริฟเวอร์จำนวน 1 ตัว พันธุ์อัลเซเชียนจำนวน 1 ตัว และพันธุ์ร็อตไวเลอร์จำนวน 1 ตัว (ตารางที่ 6)

กลุ่มสุนัขที่เป็นมะเร็งเซลล์สความัสจำนวน 4 ตัว เป็นสุนัขเพศผู้จำนวน 4 ตัว ทำหมันแล้วจำนวน 1 ตัว สุนัขกลุ่มนี้มีน้ำหนักตั้งแต่ 4.8 - 30 กิโลกรัม โดยมีความเฉลี่ยเท่ากับ 16.65 ± 13.21 มีอายุระหว่าง 8 - 11 ปีหรือเฉลี่ยเท่ากับ 10.25 ± 1.3 ปี โดยพบว่าสายพันธุ์ในสุนัขกลุ่มนี้เป็นเป็นพันธุ์พุดเดิ้ลจำนวน 1 ตัว พันธุ์ชิห์สุจำนวน 1 ตัว พันธุ์ไทยจำนวน 1 ตัว และพันธุ์โกลเด้นรีทริฟเวอร์จำนวน 1 ตัว (ตารางที่ 6)

กลุ่มสุนัขที่เป็นมะเร็งเส้นใยจำนวน 3 ตัว เป็นสุนัขเพศเมียจำนวน 3 ตัว ทำหมันแล้วทั้ง 3 ตัว สุนัขกลุ่มนี้มีน้ำหนักตั้งแต่ 5 - 16.8 กิโลกรัม โดยมีความเฉลี่ยเท่ากับ 9.13 ± 6.64 มีอายุระหว่าง 10 - 14 ปีหรือเฉลี่ยเท่ากับ 12.33 ± 2.08 ปี โดยพบว่าสายพันธุ์ในสุนัขกลุ่มนี้เป็นเป็นพันธุ์พุดเดิ้ลจำนวน 1 ตัว พันธุ์ผสมจำนวน 1 ตัว และพันธุ์เทอร์เรียจำนวน 1 ตัว (ตารางที่ 6)

ตำแหน่งที่พบเนื้องอกช่องปาก ได้แก่ ก้อนเนื้อบริเวณช่องปากด้านบน (dorsal arcade) จำนวนทั้งสิ้น 13 ตัว พบเนื้องอกบริเวณริมฝีปากบนจำนวน 2 ตัว บริเวณเยื่อช่องปาก 1 ตัว บริเวณเพดานแข็งจำนวน 1 ตัว และบริเวณเหงือกจำนวน 9 ตัว ทั้งนี้พบก้อนเนื้อบริเวณช่องปากด้านล่าง (ventral arcade) จำนวนทั้งสิ้น 7 ตัว โดยพบเนื้องอกบริเวณริมฝีปากล่างจำนวน 3 ตัว และบริเวณเหงือกของจำนวน 4 ตัว โดยจากสุนัขป่วยตัวอย่างทั้งหมด ไม่พบอุบัติการณ์ของเนื้องอกบริเวณลิ้น (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 แสดงจำนวนสุนัขตัวอย่างที่พบเนื้องอกช่องปากในตำแหน่งต่างๆ

ตำแหน่งของก้อนเนื้อ	บริเวณช่องปากด้านบน (ตัว)	บริเวณช่องปากด้านล่าง (ตัว)	รวม
ริมฝีปาก	2	3	5
เยื่อช่องปาก	1	0	1
เหงือก	9	4	13
เพดานแข็ง	1	-	1
ลิ้น	0	0	0
รวม	13	7	20

จากสุนัขป่วยตัวอย่างจำนวน 20 ตัว จัดกลุ่มระยะของโรคเนื้องอกช่องปากในสุนัขตามหลักองค์การอนามัยโลกได้เป็น ระยะที่ 2 จำนวน 5 ตัวเป็นมะเร็งเม็ดสีจำนวน 2 ตัว มะเร็งเซลล์สความัสจำนวน 2 ตัว และมะเร็งเส้นใยจำนวน 1 ตัว ระยะที่ 3 จำนวน 1 ตัวเป็นกลุ่มมะเร็งเม็ดสี และระยะที่ 4 จำนวน 14 ตัว เป็นกลุ่มมะเร็งเม็ดสีจำนวน 10 ตัว มะเร็งเซลล์สความัสจำนวน 2 ตัว และมะเร็งเส้นใยจำนวน 2 ตัว (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 แสดงจำนวนสุนัขตัวอย่างที่พบเนื้องอกช่องปาก แบ่งกลุ่มในแต่ละระยะของโรค ตามหลักองค์การอนามัยโลก

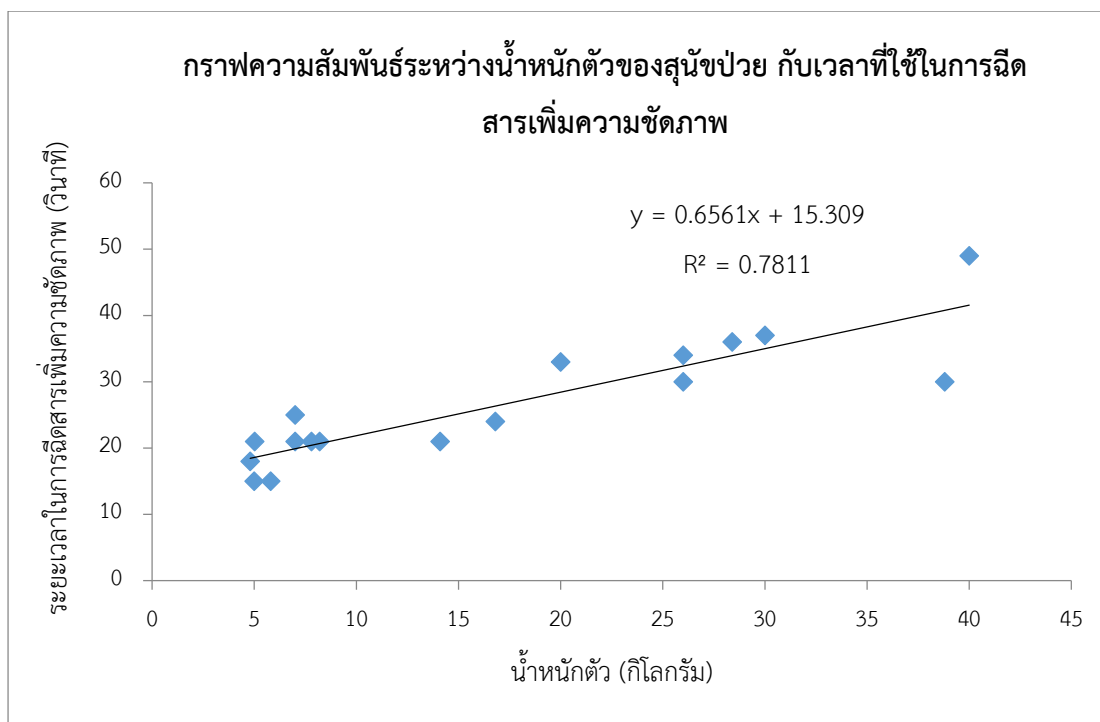
ระยะของโรค	มะเร็งเม็ดสี (ตัว)	มะเร็งเซลล์สความัส (ตัว)	มะเร็งเส้นใย (ตัว)
1	0	0	0
2	2	2	1
3	1	0	0
4	10	2	2
รวม	13	4	3

การวิเคราะห์ระยะเวลาที่สารเพิ่มความชัดภาพเดินทางไปถึงจุดที่สนใจ

ระยะเวลาที่สารเพิ่มความชัดภาพเดินทางไปถึงจุดสนใจวิเคราะห์ข้อมูลจากสุนัขทั้งหมด 17 ตัวที่เข้าร่วมการวิจัย พบว่าระยะเวลาที่สารเพิ่มความชัดภาพเดินทางไปถึงจุดสนใจใช้เวลามากที่สุดเท่ากับ 49 วินาที และใช้น้อยที่สุดเท่ากับ 15 วินาที มีค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 26.53 ± 9.1 และน้ำหนักตัวสุนัขมีค่าน้อยที่สุดเท่ากับ 3.8 กิโลกรัม มากที่สุดเท่ากับ 40 กิโลกรัม โดยมีค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 17.11 ± 12.26 โดยระยะเวลาที่สารเพิ่มความชัดภาพเดินทางไปถึงจุดสนใจมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับน้ำหนักตัวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) โดยมีสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ที่ 0.78 (รูปที่ 15)

ตารางที่ 9 แสดงน้ำหนักตัวของสุนัขป่วยตัวอย่าง และเวลาที่สารเพิ่มความชัดภาพเดินทางถึงบริเวณ
หลอดเลือดดำใหญ่ช่วงกระดูกสันหลังส่วนคอท่อนที่ 4

สุนัขป่วยตัวที่	น้ำหนักตัวสุนัขป่วยตัวอย่าง (กิโลกรัม)	เวลาที่สารเพิ่มความชัดภาพเดินทางถึงหลอดเลือดดำใหญ่ช่วงกระดูกสันหลังส่วนคอท่อนที่ 4 (วินาที)
1	5	15
2	5.8	15
3	4.8	18
4	7	21
5	8.2	21
6	5.02	21
7	7.8	21
8	14.1	21
9	16.8	24
10	7	25
11	26	30
12	38.8	30
13	20	33
14	26	34
15	28.4	36
16	30	37
17	40	49
เฉลี่ย	17.11	26.53



รูปที่ 15 กราฟผลการวิเคราะห์ระยะเวลาที่สารเพิ่มความชัดภาพเดินทางไปถึงจุดที่สนใจจากภาพรังสี ส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์สัมพันธ์กับน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นของสุนัขอย่างมีนัยสำคัญ

การประมวลผลภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์

การประเมินผ่านภาพถ่ายรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ พบว่าลักษณะการเพิ่มขึ้นของสารเพิ่มความชัดภาพในเนื้อเยื่ออ่อนบริเวณเนื้องอกช่องปากเท่าๆ กันในแต่ละจุด และดูเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneous appearance) มีจำนวน 8 ตัว และสารเพิ่มความชัดภาพเพิ่มขึ้นแต่ดูไม่เป็นเนื้อเดียวกัน (heterogeneous appearance) มีจำนวน 12 ตัว และมีการเพิ่มขึ้นของสารเพิ่มความชัดภาพที่ขอบมากกว่าจุดอื่น (rim enhancement) จำนวน 9 ตัว นอกจากนี้ยังพบบริเวณที่เป็นเนื้อตาย (necrosis area) คือ ไม่มีการเพิ่มขึ้นของสารเพิ่มความชัดภาพจำนวน 11 ตัว และไม่พบบริเวณที่เป็นเนื้อตายจำนวน 9 ตัว โดยกลุ่มมะเร็งเม็ดสีพบลักษณะการเพิ่มขึ้นของสารเพิ่มความชัดภาพในเนื้อเยื่ออ่อนเท่าๆ กันในแต่ละจุด และดูเป็นเนื้อเดียวกันจำนวน 3 ตัว และมีสารเพิ่มความชัดภาพเพิ่มขึ้นในเนื้อเยื่ออ่อนแต่ดูไม่เป็นเนื้อเดียวกันมีจำนวน 10 ตัวจากสุนัขกลุ่มนี้ทั้งหมดจำนวน 13 ตัว และมีการเพิ่มขึ้นของสารเพิ่มความชัดภาพที่ขอบมากกว่าจุดอื่นจำนวน 6 ตัว โดยจากทั้งหมด 13 ตัว พบบริเวณที่เป็นเนื้อตายจำนวน 9 ตัว และไม่พบบริเวณที่เป็นเนื้อตายจำนวน 3 ตัว กลุ่มมะเร็งเซลล์สความัสพบลักษณะการเพิ่มขึ้นของสารเพิ่มความชัดภาพในเนื้อเยื่ออ่อนเท่าๆ กันในแต่ละจุด และดูเป็นเนื้อเดียวกันทั้ง 4 ตัว และไม่พบตัวที่มีสารเพิ่มความชัดภาพเพิ่มขึ้นในเนื้อเยื่ออ่อนแต่ดูไม่เป็นเนื้อ

เดียวกัน แต่มีการเพิ่มขึ้นของสารเพิ่มความชัดภาพที่ขอบมากกว่าจุดอื่นจำนวน 2 ตัวจากทั้งหมด 4 ตัว และทั้ง 4 ตัวไม่พบบริเวณที่เป็นเนื้อตาย

สำหรับกลุ่มมะเร็งเส้นใยพบลักษณะการเพิ่มขึ้นของสารเพิ่มความชัดภาพในเนื้อเยื่ออ่อนเท่าๆกันในแต่ละจุด และดูเป็นเนื้อเดียวกันจำนวน 1 ตัว และมีสารเพิ่มความชัดภาพเพิ่มขึ้นในเนื้อเยื่ออ่อนแต่ดูไม่เป็นเนื้อเดียวกันมีจำนวน 2 ตัวจากสุนัขกลุ่มนี้ทั้งหมดจำนวน 3 ตัว และมีการเพิ่มขึ้นของสารเพิ่มความชัดภาพที่ขอบมากกว่าจุดอื่นจำนวน 1 ตัว โดยพบบริเวณที่เป็นเนื้อตายจำนวน 2 ตัว และไม่พบบริเวณที่เป็นเนื้อตายจำนวน 1 ตัว

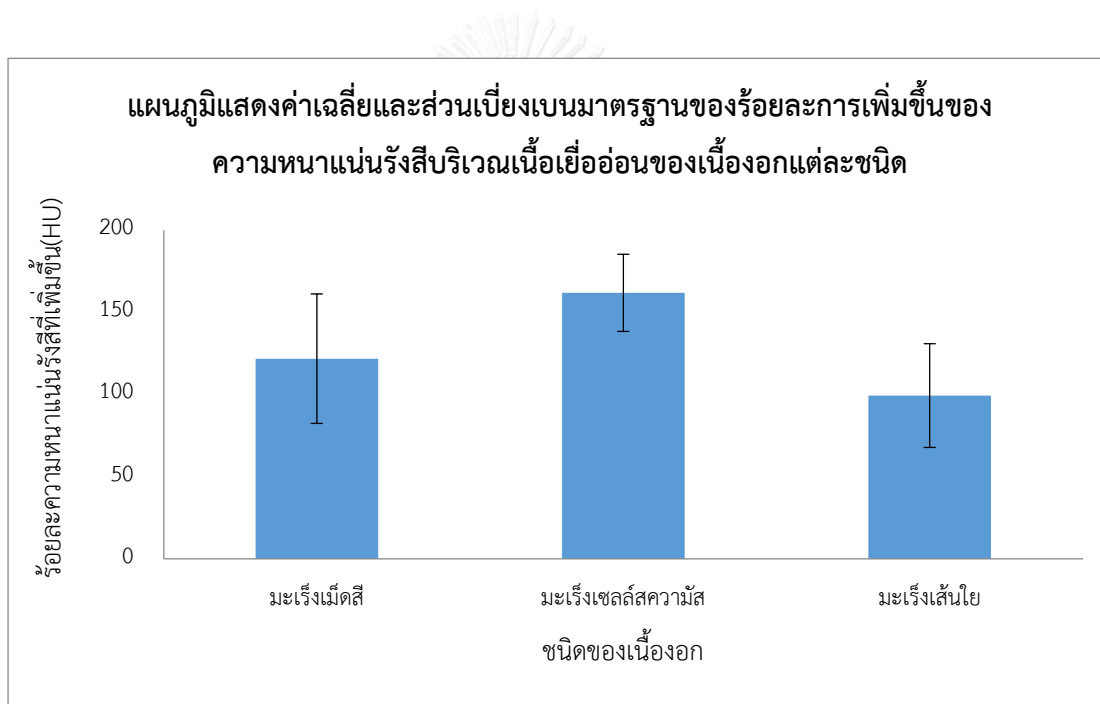
การประเมินจากภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์พบสุนัขมีอุบัติการณ์การรุกรานของเนื้องอกไปยังเนื้อเยื่อกระดูกจำนวน 13 ตัว และไม่พบอุบัติการณ์การรุกรานของเนื้องอกไปยังเนื้อเยื่อกระดูกจำนวน 7 ตัว โดยในกลุ่มมะเร็งเม็ดสีพบว่าอุบัติการณ์การรุกรานของเนื้องอกไปยังเนื้อเยื่อกระดูกจำนวน 9 ตัว และไม่มีอุบัติการณ์การรุกรานของเนื้องอกไปยังเนื้อเยื่อกระดูกจำนวน 4 ตัว กลุ่มมะเร็งเซลล์สความัสพบว่าอุบัติการณ์การรุกรานของเนื้องอกไปยังเนื้อเยื่อกระดูกจำนวน 2 ตัว และไม่มีอุบัติการณ์การรุกรานของเนื้องอกไปยังเนื้อเยื่อกระดูกจำนวน 2 ตัว กลุ่มมะเร็งเส้นใยพบว่าอุบัติการณ์การรุกรานไปยังเนื้อเยื่อกระดูกจำนวน 2 ตัว และไม่มีอุบัติการณ์การรุกรานไปยังเนื้อเยื่อกระดูกจำนวน 1 ตัว (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 10 แสดงจำนวนที่พบอุบัติการณ์การรุกรานไปยังเนื้อเยื่อกระดูกของเนื้องอกช่องปากแต่ละกลุ่ม

ชนิดของก้อนเนื้อ	พบการสลายเนื้อเยื่อกระดูก (ตัว)	ไม่พบการสลายเนื้อเยื่อกระดูก (ตัว)
มะเร็งเม็ดสี	9	3
มะเร็งเซลล์สความัส	2	2
มะเร็งเส้นใย	2	1
รวม	13	7

ผลการสุ่มบันทึกการเพิ่มขึ้นของความหนาแน่นรังสีภายหลังการฉีดสารเพิ่มความชัดภาพบริเวณเนื้อเยื่ออ่อนของเนื้องอกจำนวน 5 ตำแหน่งและเปรียบเทียบกับค่าความหนาแน่นรังสีบริเวณเดียวกันจากภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ก่อนการฉีดสารเพิ่มความชัดภาพ รายงานผลเป็นร้อยละของค่าผลต่างความหนาแน่นรังสี พบว่าภายหลังการฉีดสารเพิ่มความชัดภาพบริเวณเนื้อเยื่ออ่อนเนื้องอกมีความหนาแน่นรังสีเพิ่มขึ้นเฉลี่ยร้อยละ 127.09 ± 38.58 และมีค่าความหนาแน่นเพิ่มขึ้น

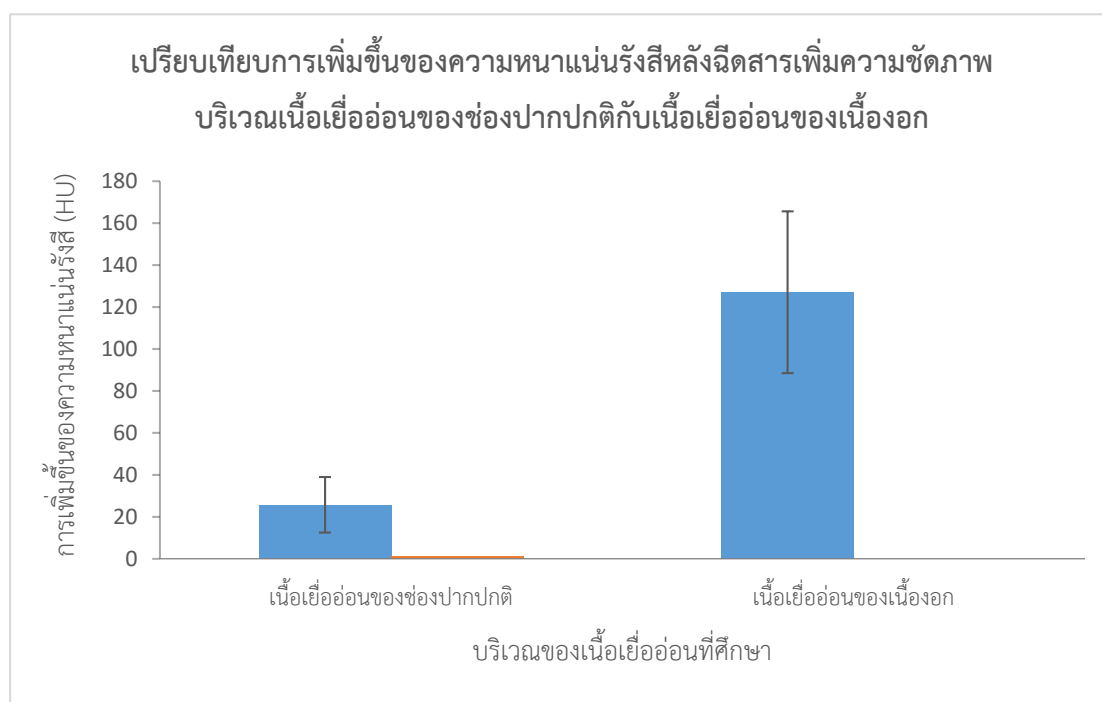
สูงสุดที่ร้อยละ 196 ซึ่งอยู่ในกลุ่มมะเร็งเซลล์ความมันและต่ำสุดที่ร้อยละ 62.9 ซึ่งอยู่ในกลุ่มมะเร็งเส้นใย โดยกลุ่มมะเร็งเม็ดสีมีค่าความหนาแน่นรังสีบริเวณเนื้อเยื่ออ่อนของเนื้องอกหลังฉีดสารเพิ่มความชัดภาพเพิ่มขึ้นเฉลี่ยร้อยละ 122.78 ± 37.90 กลุ่มมะเร็งเซลล์ความมันมีค่าความหนาแน่นรังสีบริเวณเนื้อเยื่ออ่อนของเนื้องอกหลังฉีดสารเพิ่มความชัดภาพเพิ่มขึ้นเฉลี่ยร้อยละ 161.88 ± 23.47 และกลุ่มมะเร็งเส้นใยมีค่าความหนาแน่นรังสีบริเวณเนื้อเยื่ออ่อนของเนื้องอกหลังฉีดสารเพิ่มความชัดภาพเพิ่มขึ้นเฉลี่ยร้อยละ 99.37 ± 31.58 โดยเมื่อเปรียบเทียบค่าร้อยละการเพิ่มขึ้นของค่าความหนาแน่นรังสีบริเวณเนื้อเยื่ออ่อนของเนื้องอกหลังฉีดสารเพิ่มความชัดภาพในกลุ่มมะเร็งเม็ดสี กลุ่มมะเร็งเซลล์ความมัน และกลุ่มมะเร็งเส้นใยพบว่าแต่ละกลุ่มมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (รูปที่ 16)



รูปที่ 16 แผนภาพแสดงค่าเฉลี่ยร้อยละการเพิ่มขึ้นของความหนาแน่นรังสีบริเวณเนื้อเยื่ออ่อนของก้อนเนื้องอกภายหลังการฉีดสารเพิ่มความชัดภาพในเนื้องอกแต่ละชนิด และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของแต่ละกลุ่ม

ทั้งนี้ระยะโรคของกลุ่มสุนัขตัวอย่างเมื่อจัดตามหลักขององค์การอนามัยโลกพบว่าเป็นกลุ่มเนื้องอกชนิดรุนแรงที่มีความผิดปกติระยะที่ 3 และ 4 มากถึงร้อยละ 75 และเป็นความผิดปกติระยะที่ 2 ร้อยละ 25 โดยไม่พบโรคในระยะที่ 1 และไม่มีกลุ่มสุนัขตัวอย่างที่พบเนื้องอกชนิดไม่รุนแรง จึงไม่สามารถเปรียบเทียบความแตกต่างของการเพิ่มขึ้นของความหนาแน่นรังสีหลังฉีดสารเพิ่มความชัดภาพระหว่างกลุ่มเนื้องอกชนิดรุนแรงระยะกับกลุ่มเนื้องอกชนิดไม่รุนแรงได้ ทางผู้วิจัยจึงทำการ

เปรียบเทียบการเพิ่มขึ้นของความหนาแน่นรังสีหลังฉีดสารเพิ่มความชัดภาพในเนื้อเยื่อบริเวณที่พบเนื้องอก กับเนื้อเยื่อปกติที่อยู่อีกด้านหนึ่งในสุนัขตัวเดียวกันแทน พบว่าบริเวณความหนาแน่นรังสีบริเวณเนื้อเยื่ออ่อนของเนื้องอกเพิ่มขึ้นจากก่อนฉีดสารเพิ่มความชัดภาพ มากกว่าบริเวณเนื้อเยื่ออ่อนปกติที่อยู่อีกด้านอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) (รูปที่ 17)

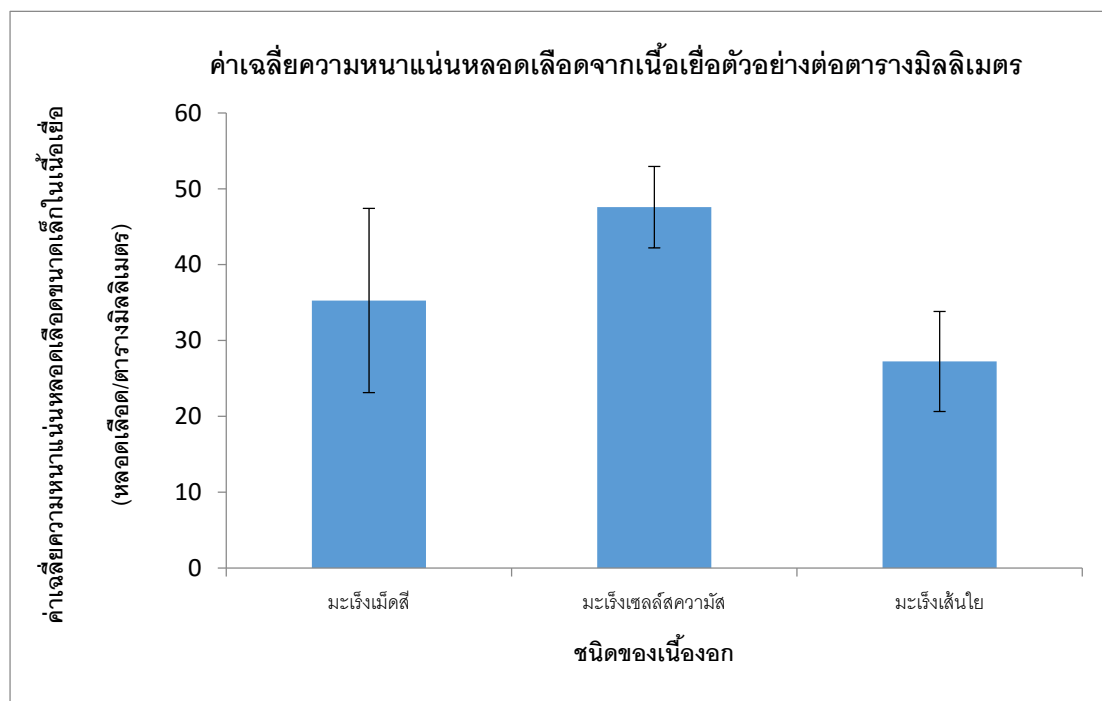


รูปที่ 17 กราฟแสดงการเปรียบเทียบการเพิ่มขึ้นของความหนาแน่นรังสีหลังฉีดสารเพิ่มความชัดภาพบริเวณเนื้อเยื่ออ่อนของช่องปากปกติ กับเนื้อเยื่ออ่อนของเนื้องอก

การประเมินความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กในเนื้องอก

ผลประเมินความหนาแน่นของหลอดเลือดบนเนื้องอกจากสไลด์ตัวอย่างภายหลังการย้อมสีอิมมูโนฮิสโตเคมี โดยส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง แสดงผลความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กบนเนื้อเยื่อตัวอย่างในหน่วยของจำนวนหลอดเลือดต่อพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร พบว่ามีค่าความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กบนเนื้อเยื่อตัวอย่างสูงสุดเท่ากับ 54.6 หลอดเลือดต่อตารางมิลลิเมตร อยู่ในกลุ่มมะเร็งเม็ดสี และมีค่าความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กบนเนื้อเยื่อตัวอย่างต่ำสุดเท่ากับ 19.7 หลอดเลือดต่อตารางมิลลิเมตรซึ่งอยู่ในกลุ่มมะเร็งเส้นใย ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กบนเนื้อเยื่อตัวอย่างจากสุนัขตัวอย่างทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 36.9 ± 11.7 หลอดเลือดต่อตารางมิลลิเมตร โดยกลุ่มมะเร็งเม็ดสีมีค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กบนเนื้อเยื่อตัวอย่างจากสุนัขตัวอย่าง

ทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 35.38 ± 11.63 หลอดเลือดต่อตารางมิลลิเมตร กลุ่มมะเร็งเซลล์สความัสมีค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กบนเนื้อเยื่อตัวอย่างจากสุนัขตัวอย่างทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 47.58 ± 5.37 หลอดเลือดต่อตารางมิลลิเมตร และกลุ่มมะเร็งเส้นใยมีค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กบนเนื้อเยื่อตัวอย่างจากสุนัขตัวอย่างทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 27.23 ± 6.59 หลอดเลือดต่อตารางมิลลิเมตร แต่เมื่อเปรียบเทียบค่าความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กบนเนื้อเยื่อตัวอย่างในกลุ่มมะเร็งเม็ดสี กลุ่มมะเร็งเซลล์สความัส และกลุ่มมะเร็งเส้นใย พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (รูปที่ 18)



รูปที่ 18 แผนภาพแสดงค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กบนเนื้อเยื่อตัวอย่างต่อตารางมิลลิเมตร

ซึ่งหากเปรียบเทียบความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กบนเนื้อเยื่อตัวอย่างตามระยะของโรคโดยจัดกลุ่มเป็นระยะที่ 1 และ 2 เปรียบเทียบกับระยะที่ 3 และ 4 พบว่าความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กบนเนื้อเยื่อตัวอย่างในกลุ่มมะเร็งระยะที่ 1 และ 2 มีค่าเท่ากับ 38.26 ± 13.25 ส่วนค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กบนเนื้อเยื่อตัวอย่างในกลุ่มมะเร็งระยะที่ 3 และ 4 มีค่าเท่ากับ 36.48 ± 11.63 หลอดเลือดต่อตารางมิลลิเมตร (ตารางที่ 11)

ในกลุ่มมะเร็งเม็ดสีพบว่าความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กบนเนื้อเยื่อตัวอย่างในกลุ่มมะเร็งเม็ดสีระยะที่ 1 และ 2 มีค่าเท่ากับ 36.4 ± 9.76 หลอดเลือดต่อตารางมิลลิเมตร และระยะที่ 3 และ 4 มีค่าเท่ากับ 38.11 ± 12.83 หลอดเลือดต่อตารางมิลลิเมตร (ตารางที่ 11)

ความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กบนเนื้อเยื่อตัวอย่างในกลุ่มมะเร็งเซลล์สความัสระยะที่ 1 และ 2 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 49.4 ± 2.68 หลอดเลือดต่อตารางมิลลิเมตร และค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กบนเนื้อเยื่อตัวอย่างในกลุ่มมะเร็งเซลล์สความัสระยะที่ 3 และ 4 มีค่าเท่ากับ 45.75 ± 8.13 หลอดเลือดต่อตารางมิลลิเมตร (ตารางที่ 11)

ความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กบนเนื้อเยื่อตัวอย่างในกลุ่มมะเร็งเส้นใยระยะที่ 1 และ 2 มีค่าเท่ากับ 19.7 หลอดเลือดต่อตารางมิลลิเมตร และค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กบนเนื้อเยื่อตัวอย่างในกลุ่มมะเร็งเส้นใยระยะที่ 3 และ 4 มีค่าเท่ากับ 31.01 ± 1.26 หลอดเลือดต่อตารางมิลลิเมตร (ตารางที่ 11)

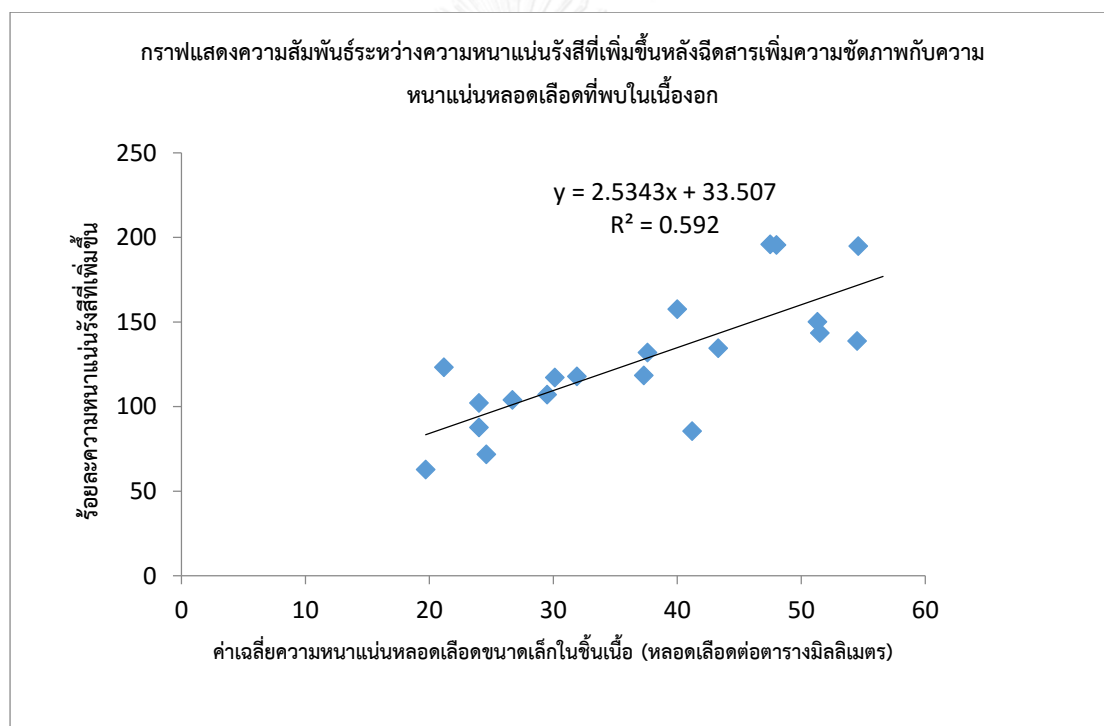
ตารางที่ 11 แสดงความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กบนเนื้อเยื่อตัวอย่างแต่ละชนิดของเนื้องอกต่อพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร ในแต่ละระยะของโรค

ชนิดของก้อนเนื้อ	ระยะของโรค	จำนวน (ตัว)	ความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กบนเนื้อเยื่อตัวอย่าง (หลอดเลือดต่อตารางมิลลิเมตร)
มะเร็งเม็ดสี	1 และ 2	2	36.4 ± 9.76
	3 และ 4	11	38.11 ± 12.83
มะเร็งเซลล์สความัส	1 และ 2	2	49.4 ± 2.68
	3 และ 4	2	45.75 ± 8.13
มะเร็งเส้นใย	1 และ 2	1	19.7
	3 และ 4	2	31.01 ± 1.26

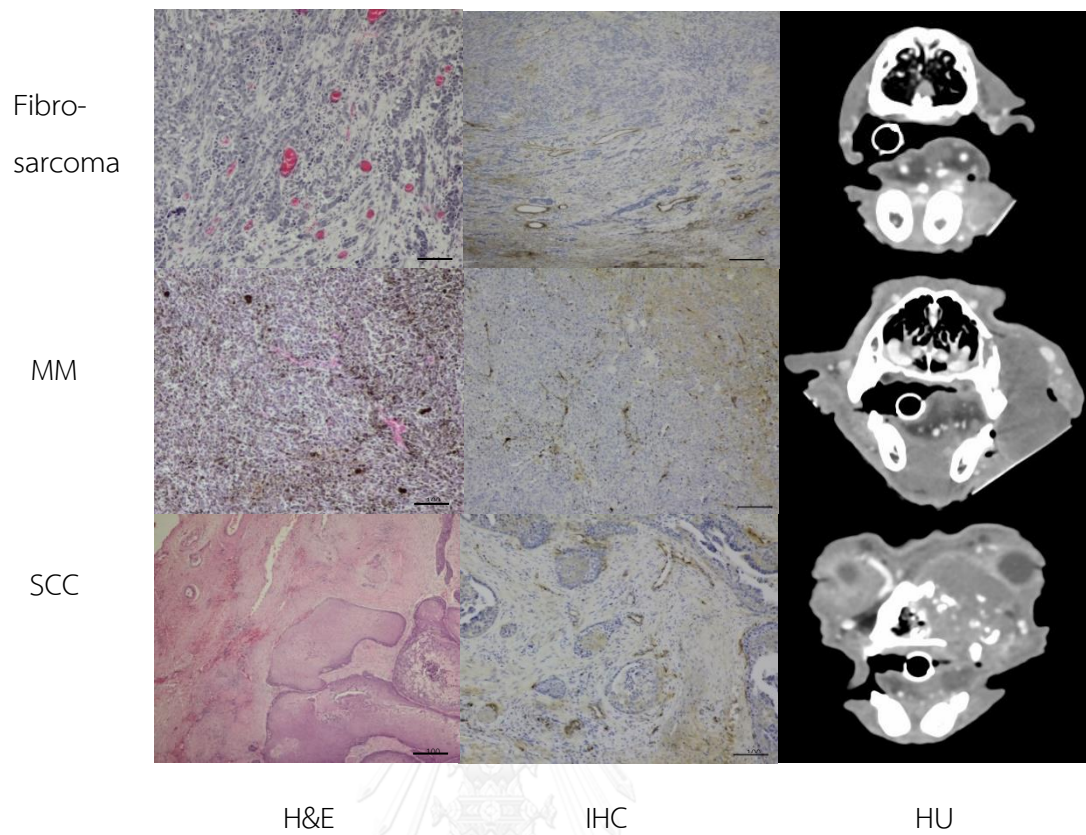
ดังนั้นพบว่าความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กบนเนื้อเยื่อตัวอย่างทั้งหมดในกลุ่มระยะของโรคระยะที่ 1 และ 2 เปรียบเทียบกับระยะที่ 3 และ 4 นั้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ความสัมพันธ์ระหว่างความหนาแน่นรังสีที่เพิ่มขึ้น กับความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กบนเนื้อเยื่อตัวอย่าง

ภาพหลังการเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างความหนาแน่นรังสีที่เพิ่มขึ้น กับความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กบนเนื้อเยื่อตัวอย่างพบว่าค่าร้อยละความหนาแน่นรังสีที่เพิ่มขึ้นมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กบนเนื้อเยื่อตัวอย่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) โดยมีสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์เท่ากับ 0.59 (รูปที่ 19) ซึ่งกลุ่มมะเร็งเซลล์สความีค่าความหนาแน่นรังสีบริเวณเนื้อเยื่ออ่อนของเนื้องอกหลังฉีดยาเพิ่มความชัดภาพเพิ่มขึ้นมากที่สุดและมีค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กบนเนื้อเยื่อตัวอย่างจากสุนัขตัวอย่างสูงที่สุด รองลงมาคือกลุ่มมะเร็งเม็ดสี และกลุ่มมะเร็งเส้นใย ตามลำดับ



รูปที่ 19 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความหนาแน่นรังสีที่เพิ่มขึ้นกับความหนาแน่นของหลอดเลือดที่นับได้จากชิ้นเนื้อในสไลด์ตัวอย่างต่อหน่วยพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร



รูปที่ 20 แสดงภาพเซลล์เนื้อเยื่อตัวอย่างของเนื้องอกแต่ละชนิดที่ผ่านการย้อมสีมาท็อกซิลินและอีโอซิน (H&E) และเนื้อเยื่อตัวอย่างที่ผ่านการย้อมอิมมูโนฮิสโตเคมี (IHC) ส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า และภาพถ่ายรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์บริเวณก้อนเนื้องอก (HU)

บทที่ 5

วิเคราะห์ผลการทดลอง

สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความรุนแรงของเนื้องอกช่องปากในสุนัขจากระดับการเพิ่มขึ้นของสารเพิ่มความชัดภาพในภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ เปรียบเทียบกับระดับความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็ก และความรุนแรงของความผิดปกติทางคลินิก เพื่อนำกระบวนการถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์มาช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการวินิจฉัยโรคเนื้องอกช่องปากในสุนัข

ชนิดของเนื้องอกช่องปาก

กลุ่มสุนัขป่วยตัวอย่างจำนวน 20 ตัว พบมะเร็งเม็ดสีมากที่สุด ตามด้วยมะเร็งเซลล์สความัส และมะเร็งเส้นใย ตามลำดับ ซึ่งมะเร็งเม็ดสีพบที่เกิดในสุนัขสายพันธุ์พุดเดิ้ลมากที่สุด รองลงมาคือพันธุ์ปัก และพบในสุนัขเพศผู้มากกว่าเพศเมีย ส่วนมะเร็งเซลล์สความัสพบเนื้องอกในสุนัขคละสายพันธุ์ โดยพบในสุนัขเพศผู้มากกว่าเพศเมีย และมะเร็งเส้นใยพบเนื้องอกในสุนัขคละสายพันธุ์ เช่นเดียวกันแต่พบในเพศเมียมากกว่าเพศผู้ สำหรับระยะของโรคที่พบเมื่อจัดตามหลักขององค์การอนามัยโลกพบว่าเป็นความผิดปกติระยะที่ 4 ร้อยละ 70 เป็นความผิดปกติระยะที่ 3 ร้อยละ 5 และเป็นความผิดปกติระยะที่ 2 ร้อยละ 25

ตำแหน่งที่พบเนื้องอก ได้แก่ ก้อนเนื้อบริเวณช่องปากด้านบนจำนวนทั้งหมด 13 ตัว โดยพบบริเวณเหงือกมากที่สุดเป็นจำนวน 9 ตัว บริเวณริมฝีปากบนจำนวน 2 ตัว บริเวณเยื่อช่องปากจำนวน 1 ตัว และบริเวณเพดานแข็งจำนวน 1 ตัว และพบก้อนเนื้อบริเวณช่องปากด้านล่างจำนวนทั้งหมด 7 ตัว โดยพบบริเวณเหงือกมากที่สุดเช่นกันเป็นจำนวน 4 ตัว และบริเวณริมฝีปากล่างจำนวน 3 ตัว

ระยะเวลาที่สารเพิ่มความชัดภาพเดินทางไปถึงจุดที่สนใจ

กลุ่มสุนัขป่วยตัวอย่างจำนวน 20 ตัว พบว่าสารเพิ่มความชัดภาพเดินทางไปถึงจุดสนใจใช้เวลาในสุนัขที่มีน้ำหนักตัวมาก โดยระยะเวลาที่สารเพิ่มความชัดภาพเดินทางไปถึงจุดสนใจมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับน้ำหนักตัวสุนัขอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$, สัมประสิทธิ์สัมพันธ์เท่ากับ 0.78)

การเพิ่มขึ้นของสารเพิ่มความชัดภาพจากภาพถ่ายรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์

บริเวณเนื้อเยื่ออ่อนเนื้ออกมีค่าเฉลี่ยความหนาแน่นรังสีเพิ่มขึ้นเฉลี่ยร้อยละ 127.09 ± 38.58 ภายหลังการฉีดสารเพิ่มความชัดภาพ พบว่ามะเร็งเซลล์สความัสมีค่าความหนาแน่นรังสีบริเวณเนื้อเยื่ออ่อนของเนื้ออกหลังฉีดสารเพิ่มความชัดภาพเพิ่มขึ้นมากที่สุดคือ เพิ่มขึ้นเฉลี่ยร้อยละ 161.88 ± 23.47 รองลงมาคือกลุ่มมะเร็งเม็ดสีมีค่าความหนาแน่นรังสีบริเวณเนื้อเยื่ออ่อนของเนื้ออกหลังฉีดสารเพิ่มความชัดภาพเพิ่มขึ้นเฉลี่ยร้อยละ 122.78 ± 37.9 และกลุ่มมะเร็งเส้นใยมีค่าความหนาแน่นรังสีบริเวณเนื้อเยื่ออ่อนของเนื้ออกหลังฉีดสารเพิ่มความชัดภาพเพิ่มขึ้นเฉลี่ยร้อยละ 99.37 ± 31.58 ตามลำดับ ซึ่งแต่ละกลุ่มมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ซึ่งบริเวณเนื้อเยื่ออ่อนของเนื้ออกมีค่าเฉลี่ยความหนาแน่นรังสีเพิ่มขึ้นมากกว่าบริเวณเนื้อเยื่ออ่อนของช่องปากปกติที่พบว่ามีค่าความหนาแน่นรังสีเพิ่มขึ้นเฉลี่ยเพียง 25.75 ± 13.22 ภายหลังฉีดสารเพิ่มความชัดภาพอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$)

ความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กในเนื้ออก

ความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กบนเนื้อเยื่อตัวอย่างจากสุนัขตัวอย่างทั้งหมดมีค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 36.9 ± 11.7 หลอดเลือดต่อตารางมิลลิเมตร โดยพบค่าสูงสุดในกลุ่มมะเร็งเซลล์สความัสที่มีค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กบนเนื้อเยื่อตัวอย่างเท่ากับ 47.58 ± 5.37 หลอดเลือดต่อตารางมิลลิเมตร รองลงมาคือกลุ่มมะเร็งเม็ดสีที่มีค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กบนเนื้อเยื่อตัวอย่างเท่ากับ 35.38 ± 11.63 หลอดเลือดต่อตารางมิลลิเมตร และกลุ่มมะเร็งเส้นใยที่มีค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กบนเนื้อเยื่อตัวอย่างเท่ากับ 27.23 ± 6.59 หลอดเลือดต่อตารางมิลลิเมตร ตามลำดับ

ค่าร้อยละความหนาแน่นของรังสีที่เพิ่มขึ้นมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กบนเนื้อเยื่อตัวอย่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) โดยมีสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์เท่ากับ 0.59

อภิปรายผลการวิจัย

ในปัจจุบันมีการใช้ภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์มาเป็นส่วนหนึ่งในการวินิจฉัยความผิดปกติต่างๆ ของสัตว์เป็นอย่างแพร่หลาย อาทิเช่น การวินิจฉัยโรคกลุ่มประสาทวิทยา (Iwamoto et al., 1993; Axlund and Hudson, 2003; Garden et al., 2005) การศัลยกรรมกระดูก (Gemmill et al., 2005; Holsworth et al., 2005) รวมถึงการวินิจฉัยโรคกลุ่มเนื้องอก และมะเร็ง (McCulloch et al., 2006) โดยข้อมูลที่ได้จากภาพถ่ายรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์สามารถช่วยในการวินิจฉัยโรคหรือความผิดปกติต่างๆ ในสุนัขและแมว สามารถจัดข้อจำกัดเรื่องภาพซ้อนทับในภาพรังสีได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งโครงสร้างกระดูกบริเวณหัวของสัตว์ ทั้งนี้ เนื่องจากมีการแสดงผลเป็นภาพตัดขวางในแต่ละบริเวณที่สนใจ รวมถึงให้ภาพรังสีที่มีเนื้อเยื่อเปรียบต่างได้เหนือกว่าภาพรังสี (Ohlerth and Scharf, 2007) ทั้งนี้มีการใช้สารเพิ่มความชัดภาพฉีดเข้าทางหลอดเลือดดำร่วมกับการถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์เพื่อเป็นเครื่องมือสำคัญสำหรับการตรวจวินิจฉัยความผิดปกติ เนื่องจากการใช้สารเพิ่มความชัดภาพช่วยเปิดเผยให้เห็นขอบเขตการรุกรานของเนื้องอกเข้าสู่เนื้อเยื่ออ่อนบริเวณใกล้เคียงได้ชัดเจนมากยิ่งขึ้น (Handschel et al., 2012) จึงสามารถช่วยระบุการเปลี่ยนแปลงของกระดูก หรือการรุกรานของเนื้องอก อีกทั้งยังมีความไว และจำเพาะต่อการตรวจหาความผิดปกติ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเนื้องอกหรือมะเร็งบริเวณหัวของสัตว์ อาทิ เนื้องอกช่องปาก ที่สามารถวินิจฉัยได้ยากจากภาพวินิจฉัยชนิดอื่นๆ นอกจากนั้น ในทางการแพทย์มีการประยุกต์ใช้การถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ร่วมกับการฉีดสารเพิ่มความชัดภาพเพื่อประเมินปริมาณหลอดเลือดขนาดเล็กในเนื้องอก เนื่องจากระดับของสารเพิ่มความชัดภาพที่เพิ่มขึ้นให้ผลสัมพันธ์กับความหนาแน่นหลอดเลือดขนาดเล็กที่อยู่ในเนื้องอก (Preda et al., 2006) ทั้งนี้เนื่องจากจำนวนหลอดเลือดขนาดเล็กที่เพิ่มขึ้นมีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรคในผู้ป่วยมะเร็ง และชนิดของเนื้องอก (Weidner, 1995) ดังนั้นผู้ศึกษาจึงมีความสนใจในการประยุกต์ใช้ภาพถ่ายรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ร่วมกับการฉีดสารเพิ่มความชัดภาพเพื่อช่วยในการวินิจฉัยขอบเขตของเนื้องอกช่องปากเพิ่มเติมจากการประเมินทางคลินิกด้วยการตรวจช่องปาก การเก็บตัวอย่างเซลล์จากบริเวณเนื้องอกเพื่อตรวจทางห้องปฏิบัติการ และภาพถ่ายรังสี รวมทั้งประเมินระดับความรุนแรงของโรคผ่านการศึกษาค่าความสัมพันธ์ระหว่างระดับการเพิ่มขึ้นของสารเพิ่มความชัดภาพต่อระดับความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กในเนื้องอก

ในปี 2008, Niemiec ได้ทำการศึกษาโรคเกี่ยวกับเนื้องอกช่องปากสุนัขพบว่า เนื้องอกช่องปากสุนัขชนิดร้ายแรงที่สามารถพบได้มากที่สุดได้แก่ มะเร็งเม็ดสี รองลงมาได้แก่ มะเร็งเซลล์สความัส ซึ่งได้ผลสอดคล้องกันกับการศึกษาครั้งนี้โดยจากสุนัขตัวอย่างทั้งหมดจำนวน 20 ตัว พบมะเร็งเม็ดสีมากที่สุด รองลงมาได้แก่มะเร็งเซลล์สความัส รวมถึงยังพบมะเร็ง และเนื้องอกชนิดอื่นจากการศึกษา

ครั้งนี้ก็คือ มะเร็งเส้นใยร่วมด้วย และสุนัขตัวอย่างทั้งหมดในการศึกษารังนี้พบสุนัขในกลุ่มสุนัขเพศผู้มากกว่าเพศเมีย รวมทั้งเมื่อแยกตามกลุ่มชนิดของเนื้องอกเช่น กลุ่มมะเร็งเม็ดสี และกลุ่มมะเร็งเซลล์สความัสก็พบในสุนัขเพศผู้มากกว่าเพศเมียเช่นเดียวกัน แต่ในกลุ่มมะเร็งเส้นใยไม่พบในสุนัขเพศผู้ แต่กลับพบในสุนัขเพศเมียทั้งหมด ซึ่งการศึกษาพบมะเร็งในสุนัขเพศผู้มากกว่าเพศเมียนั้นเคยมีรายงานของ Dorn และ Priester ในปี 1979 พบว่าสุนัขเพศผู้มีความเสี่ยงที่จะเป็นมะเร็งเม็ดสี และมะเร็งเส้นใยมากกว่าสุนัขเพศเมียอย่างมีนัยสำคัญ แต่ในการศึกษาภายหลังพบว่าเพศไม่ได้เป็นปัจจัยโน้มนำแต่อย่างใด (Ramos-Vara et al., 2000) สำหรับช่วงอายุที่พบในการศึกษารังนี้พบในสุนัขอายุปานกลางถึงมากซึ่งมีค่าเฉลี่ยของอายุสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ที่พบว่ากลุ่มของสุนัขที่พบเนื้องอกช่องปากสุนัขนั้นมีอายุกลางถึงมาก หรือประมาณ 8-12 ปี (Dorn and Priester, 1976; Kafka et al., 2004) นอกจากนี้การศึกษาก่อนหน้านี้มีรายงานว่าสายพันธุ์ของสุนัขที่พบมะเร็งเม็ดสีเป็นกลุ่มสุนัขพันธุ์เล็กมากกว่าสุนัขพันธุ์ใหญ่ โดยพันธุ์ที่พบมากที่สุดได้แก่ สุนัขพันธุ์พุดเดิ้ล (Dorn and Priester, 1976; Kafka et al., 2004; Dobson, 2013) ซึ่งการศึกษารังนี้กลุ่มมะเร็งเม็ดสีก็พบในสุนัขพันธุ์พุดเดิ้ลมากที่สุดเช่นเดียวกัน อันดับที่สองรองลงมาได้แก่สุนัขพันธุ์ผสม สุนัขพันธุ์โกลเด้นรีทริฟเวอร์ สุนัขพันธุ์ไทย สุนัขชิทสุ สุนัขเทอร์เรีย สุนัขพันธุ์รอตไวเลอร์ และสุนัขพันธุ์อัลเซเชียนตามลำดับ สำหรับกลุ่มมะเร็งเซลล์สความัส มีการศึกษาพบมากในสุนัขพันธุ์ใหญ่ ได้แก่ สุนัขพันธุ์โกลเด้นรีทริฟเวอร์ (Kafka et al., 2004) แต่ในการศึกษานี้พบในสุนัขพันธุ์โกลเด้นรีทริฟเวอร์ เท่ากับที่พบใน สุนัขพันธุ์ชิทสุ สุนัขพันธุ์พุดเดิ้ล และสุนัขพันธุ์ไทย ส่วนกลุ่มมะเร็งเส้นใย Dorn และ Priester รายงานไว้ในปี 1976 ว่าอุบัติการณ์การเกิดในสุนัขพันธุ์เล็กมากกว่าสุนัขพันธุ์ใหญ่ แต่ในปี 2004 Kafka และคณะพบอุบัติการณ์ในสุนัขพันธุ์ใหญ่มากกว่าพันธุ์เล็ก ซึ่งจากการศึกษารังนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Dorn และ Priester ที่พบมะเร็งเส้นใยในสุนัขพันธุ์เล็กมากกว่าสุนัขพันธุ์ใหญ่เนื่องจากสุนัขตัวอย่างในกลุ่มนี้พบในสุนัขพันธุ์พุดเดิ้ล สุนัขพันธุ์เทอร์เรีย และสุนัขพันธุ์พันธุ์ไทย นอกจากนี้สายพันธุ์อาจขึ้นอยู่กับว่าแต่ละพื้นที่นิยมเลี้ยงสุนัขสายพันธุ์ใดด้วย ดังนั้นการศึกษาประวัติทางรูปพรรณสัณฐาน อายุ และสายพันธุ์ของสุนัขในแต่ละพื้นที่จะสามารถนำมาใช้ในการช่วยเพิ่มเติมสำหรับการพยากรณ์แนวโน้มของการเกิดเนื้องอกช่องปาก และชนิดของเนื้องอกช่องปากได้ เพื่อช่วยในการวินิจฉัย และพยากรณ์โรคที่แม่นยำมากขึ้น

ตำแหน่งของเนื้องอกช่องปากที่เคยมีรายงานไว้ว่ามีอุบัติการณ์การเกิดเนื้องอกช่องปากพบมากที่สุดได้แก่ บริเวณเหงือก (Vos and van der Gaag, 1987) และเยื่อปริมฝีปาก (Ramos-Vara et al., 2000) ซึ่งการศึกษารังนี้พบที่ตำแหน่งสอดคล้องกัน กล่าวคือพบบริเวณเหงือกมากที่สุด และรองลงมาคือ บริเวณริมฝีปาก โดยการศึกษาครั้งนี้พบที่กรามบนมากกว่ากรามล่าง และสำหรับระยะของโรคที่พบนั้นพบระยะที่ 4 มากที่สุด เนื่องจากเนื้องอกที่อยู่ในช่องปากอาจพบเห็นได้ยากหากเจ้าของไม่ได้เลี้ยงดูใกล้ชิดกับสุนัขมากนักจึงทำให้ไม่ได้เปิดสำรวจช่องปากเป็นประจำ รวมถึงเนื้องอก

ที่มีขนาดเล็กอาจสังเกตเห็นได้ยาก ซึ่งเนื่องจากในช่องปากที่มีการขยายขนาดใหญ่ขึ้นก็มักพบมีการรุกรานอย่างรวดเร็ว ดังนั้นถึงแม้เจ้าของจะสังเกตเห็นแต่หากพามาพบสัตวแพทย์ล่าช้าเนื่องจากก็มักขยายขนาดมากกว่าระยะแรกของโรคแล้ว ในกรณีดังกล่าวจึงมักพบว่ามีการรุกรานเข้าสู่อวัยวะข้างเคียงเช่น จมูก และตาด้วย ทำให้สุนัขกลุ่มตัวอย่างที่พบนั้นส่วนมากอยู่ในระยะท้ายของโรค

นอกจากการถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์จะสามารถเพิ่มความสามารถของภาพถ่ายรังสีให้เห็นโครงสร้างของร่างกายสุนัขได้ดี และจัดข้อจำกัดเรื่องภาพซ้อนทับในภาพถ่ายรังสีแล้วนั้นยังมีการนำสารเพิ่มความชัดภาพมาใช้ร่วมด้วยเพื่อช่วยให้เห็นขอบเขตของเนื้อเยื่อความผิดปกติต่างๆ รวมถึงการรุกรานของเนื้องอกเข้าสู่เนื้อเยื่ออ่อนบริเวณใกล้เคียงได้อย่างชัดเจนมากยิ่งขึ้น (Handsichel et al., 2012) ในการศึกษาครั้งนี้ผู้ศึกษาได้ตั้งเกณฑ์กำหนดให้การกราดภาพด้วยเครื่องถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์เริ่มต้นขึ้นภายหลังการฉีดสารเพิ่มความชัดภาพเข้าทางหลอดเลือดดำบริเวณขาหน้า และให้สารเพิ่มความชัดภาพเคลื่อนที่ขึ้นไปตามระบบไหลเวียนโลหิตส่วนหัวของสัตว์จนกระทั่งไหลเวียนกลับเข้าสู่หลอดเลือดดำใหญ่บริเวณกลางลำคอ หรือประมาณช่วงกระดูกสันหลังส่วนคอท่อนที่ 4 โดยหวังผลให้สารเพิ่มความชัดภาพมีการไหลเวียนผ่านก้อนเนื้องอกมาก่อนที่จะมีการกราดภาพในระยะหลังการฉีดสารเพิ่มความชัดภาพ อีกทั้งการระบุตำแหน่งเพื่อเป็นจุดเริ่มต้นการกราดภาพจะยังช่วยให้สามารถเปรียบเทียบระยะเวลาการไหลเวียนของตัวสัตว์ เมื่อสัตว์ป่วยมีขนาดแตกต่างกัน โดยพบว่าระยะเวลาที่สารเพิ่มความชัดภาพเดินทางไปถึงจุดที่สนใจ หรือหลอดเลือดดำใหญ่บริเวณส่วนกลางลำคอ วิเคราะห์จากสุนัขทั้งหมด 17 ตัวที่เข้าร่วมการวิจัย โดยผลที่ได้จากสุนัขอีก 3 ตัวเกิดความผิดพลาดทางด้านการบันทึกข้อมูลของระบบคอมพิวเตอร์ที่เชื่อมต่อกับเครื่องฉีดสารเพิ่มความชัดภาพอัตโนมัติ ทำให้ไม่สามารถเรียกกลับข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการจับเวลาที่สารเพิ่มความชัดภาพเดินทางได้ถึงจุดที่สนใจเป็นตัวเลขที่แม่นยำได้ ซึ่งจากผลการวิเคราะห์พบว่า ระยะเวลาที่สารเพิ่มความชัดภาพใช้เดินทางไปถึงจุดที่สนใจนั้นเพิ่มขึ้นโดยมีความสัมพันธ์กับน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นด้วย เมื่อมีการควบคุมอัตราเร็วในการฉีดสารเพิ่มความชัดภาพเข้าทางหลอดเลือด เหมือนกับการศึกษาในผู้ป่วย (Bae et al., 2007) ซึ่งจะทำให้สามารถประเมินเวลาที่ใช้ในการถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ และเวลาที่ต้องเริ่มการกราดภาพของสุนัขในแต่ละช่วงน้ำหนักได้อย่างเหมาะสม ประสิทธิภาพการใช้สารเพิ่มความชัดภาพร่วมกับภาพถ่ายรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ในการพยากรณ์โรคเนื้องอกช่องปากในสุนัขได้ดีมากยิ่งขึ้น

จากการประมวลผลภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์พบว่าการเพิ่มขึ้นของสารเพิ่มความชัดภาพบริเวณเนื้องอกของแต่ละกลุ่มมีลักษณะที่แตกต่างกัน กลุ่มมะเร็งเม็ดสี และกลุ่มมะเร็งเส้นใยมีการเพิ่มขึ้นของสารเพิ่มความชัดภาพในเนื้อเยื่ออ่อนแต่ดูไม่เป็นเนื้อเดียวกันมากกว่าที่ดูเป็นเนื้อเดียวกัน พบบริเวณที่เป็นเนื้อตายมากกว่าจำนวนที่ไม่พบเนื้อตาย และพบการรุกรานของเนื้องอกไปยังเนื้อเยื่อกระดูกจำนวนมากกว่จำนวนที่ไม่พบการรุกรานของเนื้องอกไปยังเนื้อเยื่อกระดูก แต่ใน

กลุ่มมะเร็งเซลล์สความัสเซลล์พบลักษณะการเพิ่มขึ้นของสารเพิ่มความชัดภาพในเนื้อเยื่ออ่อนและดูเป็นเนื้อเดียวกันทั้งหมด ไม่พบบริเวณที่เป็นเนื้อตายแม้แต่ตัวเดียว รวมถึงพบการรุกรานของเนื้องอกไปยังเนื้อเยื่อกระดูกเท่ากับจำนวนที่ไม่พบการรุกรานของเนื้องอกไปยังเนื้อเยื่อกระดูก ทั้งนี้การเพิ่มขึ้นของสารเพิ่มความชัดภาพที่ขอบมากกว่าจุดอื่นในกลุ่มมะเร็งเม็ดสี และมะเร็งเซลล์สความัสพบครึ่งหนึ่งจากทั้งหมด ส่วนมะเร็งเส้นใยพบ 1 ตัวจากทั้งหมด 3 ตัว ดังนั้นลักษณะของการเพิ่มขึ้นของสารเพิ่มความชัดภาพจากภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์สามารถช่วยพยากรณ์ชนิดของเนื้องอกช่องปากได้

ค่าความหนาแน่นรังสีบริเวณเนื้อเยื่ออ่อนของเนื้องอกหลังฉีดสารเพิ่มความชัดภาพเพิ่มขึ้นไม่เท่ากันในแต่ละกลุ่มชนิดเนื้องอก โดยกลุ่มมะเร็งเซลล์สความัสเซลล์มีค่าความหนาแน่นรังสีบริเวณเนื้อเยื่ออ่อนของเนื้องอกหลังฉีดสารเพิ่มความชัดภาพเพิ่มขึ้นมากที่สุด รองลงมาได้แก่ กลุ่มมะเร็งเม็ดสี และกลุ่มมะเร็งเส้นใยตามลำดับ รวมถึงผลการศึกษาพบว่าค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กบนเนื้อเยื่อตัวอย่างมีค่าสูงสุดในกลุ่มมะเร็งเซลล์สความัสเซลล์ รองลงมาได้แก่กลุ่มมะเร็งเม็ดสี และมะเร็งเส้นใยตามลำดับเช่นกัน เคยมีรายงานการตรวจหาสารเร่งการเจริญเติบโตของเยื่อบุหลอดเลือด พบว่ามะเร็งเซลล์สความัส พบสารเร่งการเจริญเติบโตของเยื่อบุหลอดเลือดมากที่สุด รองลงมาได้แก่ มะเร็งเม็ดสี และพบสารเร่งการเจริญเติบโตของเยื่อบุหลอดเลือดต่ำสุด ได้แก่ มะเร็งเส้นใย (Sobczynska-Rak et al., 2014) ดังนั้นแนวโน้มความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กในมะเร็งเซลล์สความัสเซลล์จะมีมากกว่ามะเร็งเม็ดสี โดยเมื่อเปรียบเทียบเชิงสถิติแล้วพบว่าร้อยละการเพิ่มขึ้นของความหนาแน่นรังสีบริเวณเนื้อเยื่ออ่อนของเนื้องอกหลังฉีดสารเพิ่มความชัดภาพมีความสัมพันธ์กับความหนาแน่นของหลอดเลือดในเนื้องอกแต่ละชนิดอย่างมีนัยสำคัญกล่าวคือเมื่อพบความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กบนเนื้อเยื่อตัวอย่างมากก็พบความหนาแน่นรังสีบริเวณเนื้อเยื่ออ่อนของเนื้องอกหลังฉีดสารเพิ่มความชัดภาพเพิ่มขึ้นมากด้วยเช่นกัน จึงสามารถใช้ภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ และการฉีดสารเพิ่มความชัดภาพในการช่วยพยากรณ์แนวโน้มชนิดของเนื้องอกช่องปากได้ก่อนจะวินิจฉัยทางพยาธิวิทยา

ข้อเสนอแนะ

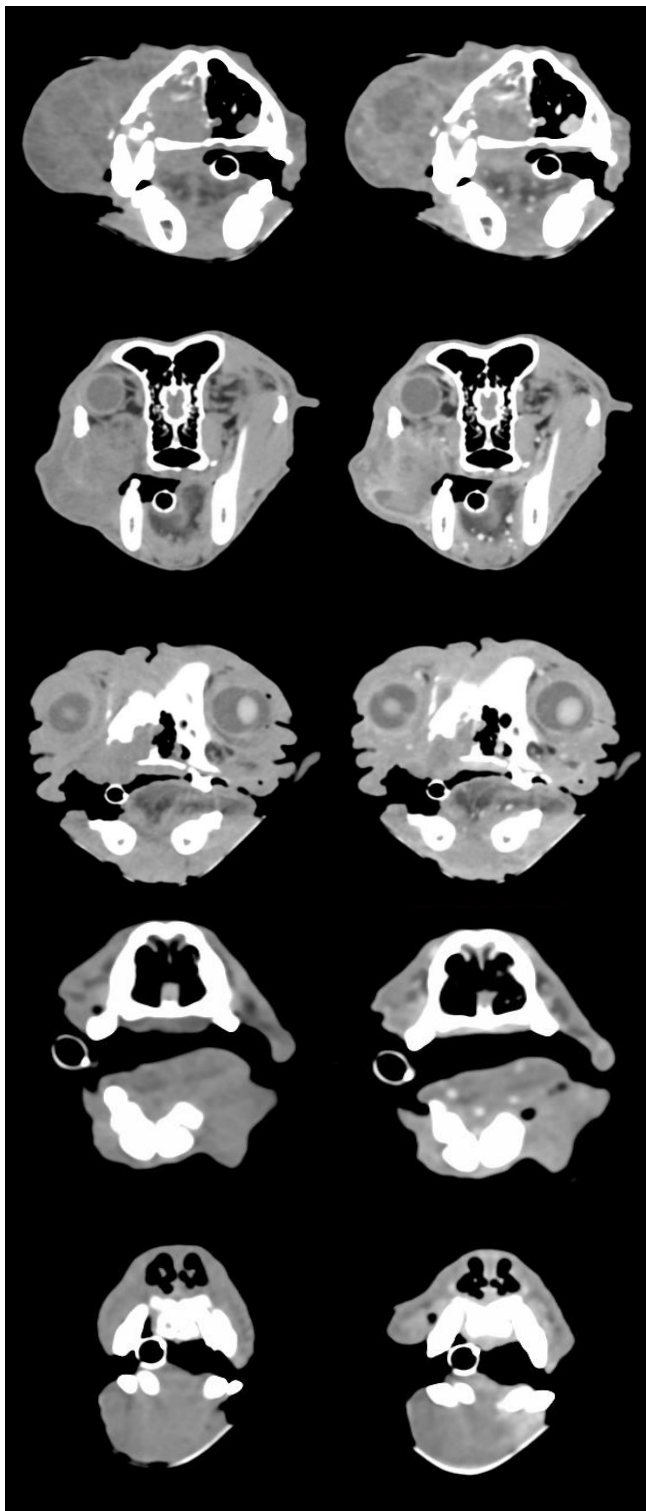
ข้อมูลจากการศึกษาครั้งนี้จะเป็นประโยชน์ในการนำไปศึกษาต่อยอด เพื่อใช้ในการสร้างระเบียบการในการวิเคราะห์ หรือพยากรณ์แนวโน้มชนิด และความรุนแรงของเนื้องอกช่องปากในสุนัข โดยสามารถนำเกณฑ์วิธี (protocol) ในการฉีดสารเพิ่มความชัดภาพเข้าทางหลอดเลือดดำขาหน้า ด้วยเครื่องฉีดสารเพิ่มความชัดภาพอัตโนมัติ และเริ่มกราดภาพถ่ายรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์เมื่อสารเพิ่มความชัดภาพไหลย้อนกลับมาในหลอดเลือดดำใหญ่ส่วนคอช่วงกระดูกสันหลังส่วนคอท่อนที่ 4 นั้นมาประยุกต์ใช้ในศึกษาความผิดปกติอื่นๆใน ส่วนหัวของสุนัข เช่น โพรงจมูก ตา ช่องหู เป็นต้น เพื่อลดความผิดพลาดของเวลาการถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอาศัยหลังฉีดสารเพิ่มความชัดภาพ และเพิ่มความแม่นยำในการวินิจฉัยการกำซาบสารเพิ่มความชัดภาพของเนื้อเยื่ออ่อนบริเวณส่วนหัว รวมถึงผลการศึกษาปริมาณหลอดเลือดขนาดเล็กในเนื้องอกช่องปากสุนัข สามารถนำข้อมูลความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กในเนื้องอก และมะเร็งชนิดต่างๆมาเป็นข้อมูลในการวางแผนการรักษาเนื้องอกช่องปาก อาทิเช่น การรักษาเนื้องอกช่องปากโดยใช้ยากลุ่มที่มีความสามารถยับยั้งการสร้างสารเร่งการเจริญเติบโตของเยื่อหลอดเลือดต่อไป

ภาคผนวก

ภาพแสดงภาพถ่ายรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ก่อน และหลังฉีดสารเพิ่มความชัดภาพของสุนัข
ตัวอย่างจำนวน 20 ตัว

ก่อน

หลัง



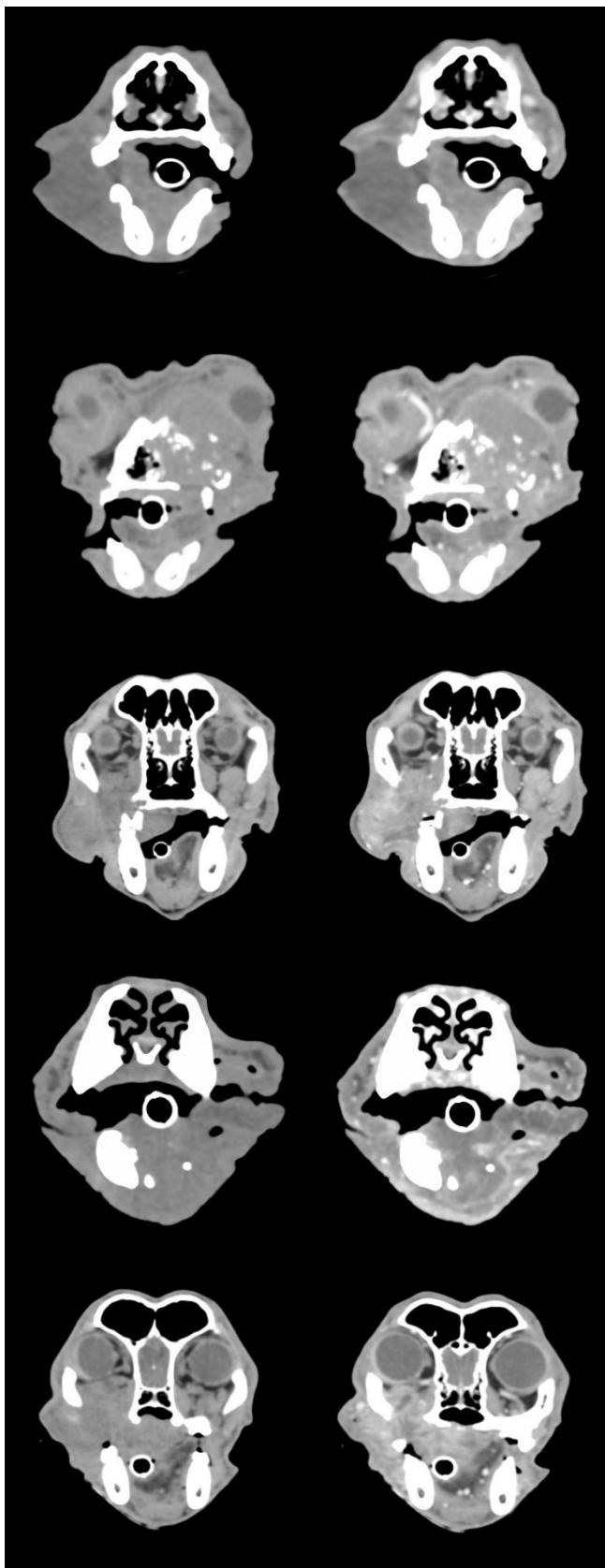
สุนัขพันธุ์พุดเดิ้ล เพศผู้ อายุ 17 ปี เป็น
มะเร็งเม็ดสี

สุนัขพันธุ์ผสม เพศเมียทำหมัน อายุ 10
ปี เป็นมะเร็งเส้นใย

สุนัขพันธุ์บี๊ก เพศผู้ทำหมัน อายุ 11 ปี
เป็นมะเร็งเม็ดสี

สุนัขพันธุ์พุดเดิ้ล เพศผู้ อายุ 11 ปี เป็น
มะเร็งเซลล์สความัส

สุนัขพันธุ์พุดเดิ้ล เพศผู้ อายุ 15 ปี เป็น
มะเร็งเม็ดสี



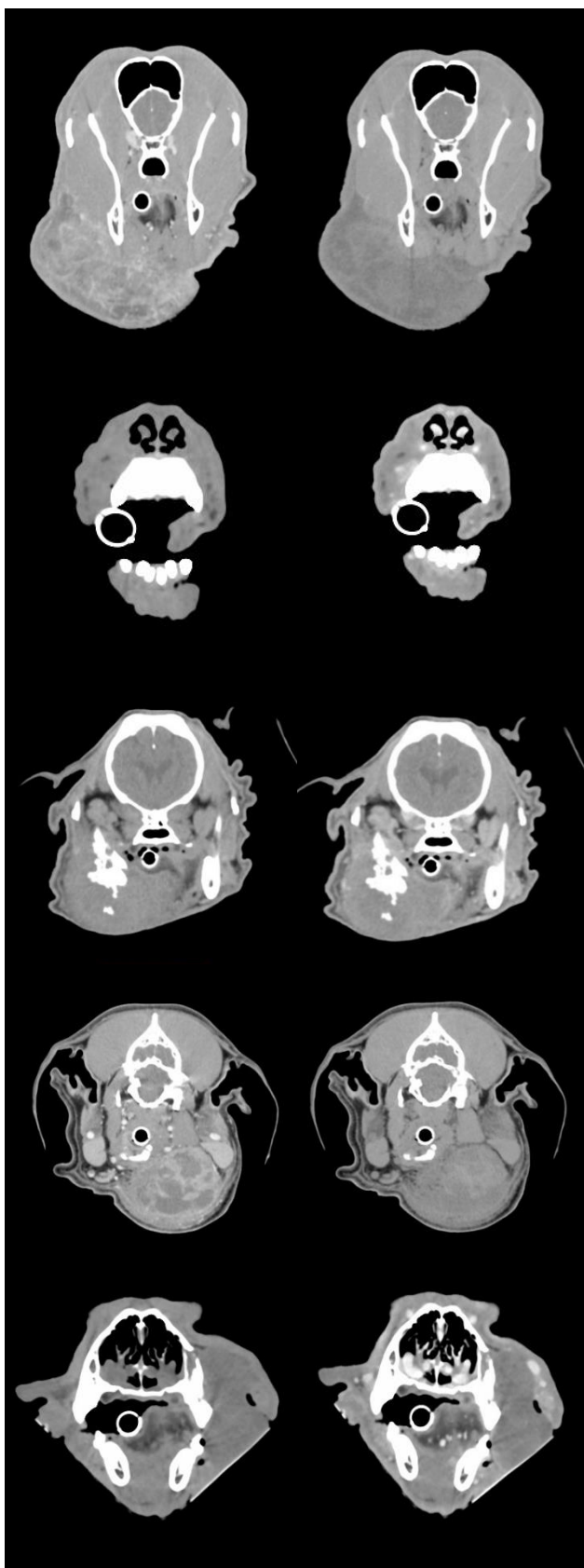
สุนัขพันธุ์พุดเดิ้ล เพศเมียทำหมัน อายุ
14 ปี เป็นมะเร็งเส้นใย

สุนัขพันธุ์ชิทสุ เพศผู้ทำหมัน อายุ 11 ปี
เป็นมะเร็งเซลล์สความัส

สุนัขพันธุ์ไทย เพศผู้ทำหมัน อายุ 13 ปี
เป็นมะเร็งเม็ดสี

สุนัขพันธุ์ไทย เพศผู้ อายุ 11 ปี เป็น
มะเร็งเส้นใย

สุนัขพันธุ์ผสม เพศผู้ อายุ 13 ปี เป็น
มะเร็งเม็ดสี



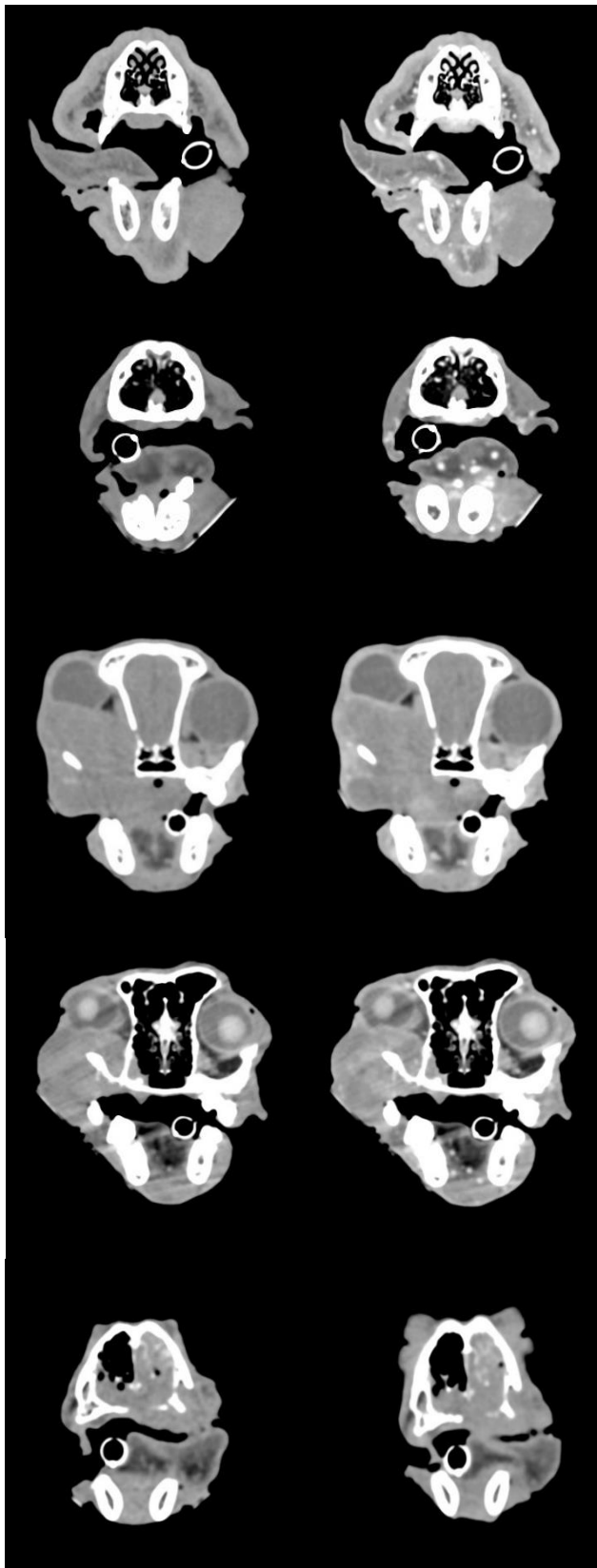
สุนัขพันธุ์อัลเซเชียน เพศผู้ อายุ 10 ปี
เป็นมะเร็งเม็ดสี

สุนัขพันธุ์โกลเด้นรีทรีฟเวอร์ เพศผู้ อายุ
8 ปี เป็นมะเร็งเซลล์สความัส

สุนัขพันธุ์ปัก เพศผู้ อายุ 12 ปี เป็น
มะเร็งเม็ดสี

สุนัขพันธุ์ผสม เพศผู้ อายุ 11 ปี เป็น
มะเร็งเม็ดสี

สุนัขพันธุ์โกลเด้นรีทรีฟเวอร์ เพศผู้ อายุ
9 ปี เป็นมะเร็งเม็ดสี



สุนัขพันธุ์พุดเดิ้ล เพศเมียทำหมัน อายุ
14 ปี เป็นมะเร็งเส้นใย

สุนัขพันธุ์ชิทสุ เพศผู้ทำหมัน อายุ 11 ปี
เป็นมะเร็งเซลล์สความัส

สุนัขพันธุ์ไทย เพศผู้ทำหมัน อายุ 13 ปี
เป็นมะเร็งเม็ดสี

สุนัขพันธุ์ไทย เพศผู้ อายุ 11 ปี เป็น
มะเร็งเส้นใย

สุนัขพันธุ์ผสม เพศผู้ อายุ 13 ปี เป็น
มะเร็งเม็ดสี

รายการอ้างอิง



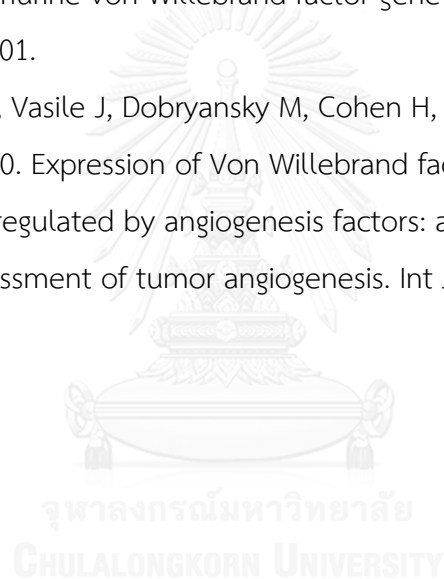
- Aiello LP, Avery RL, Arrigg PG, Keyt BA, Jampel HD, Shah ST, Pasquale LR, Thieme H, Iwamoto MA, Park JE, Nguyen HV, Aiello LM, Ferrara N and King GL 1994. Vascular Endothelial Growth Factor in Ocular Fluid of Patients with Diabetic Retinopathy and Other Retinal Disorders. *New England Journal of Medicine*. 331(22): 1480-1487.
- Aurello P, Bellagamba R, Rossi Del Monte S, D'Angelo F, Nigri G, Cicchini C, Ravaioli M and Ramacciato G 2009. Apoptosis and microvessel density in gastric cancer: correlation with tumor stage and prognosis. *Am Surg*. 75(12): 1183-1188.
- Axlund TW and Hudson JA 2003. COMPUTED TOMOGRAPHY OF THE NORMAL LUMBOSACRAL INTER VERTEBRAL DISC IN 22 DOGS. *Veterinary Radiology & Ultrasound*. 44(6): 630-634.
- Bae KT, Tao C, Gurel S, Hong C, Zhu F, Gebke TA, Milite M and Hildebolt CF 2007. Effect of patient weight and scanning duration on contrast enhancement during pulmonary multidetector CT angiography. *Radiology*. 242(2): 582-589.
- Bergman PJ 2007. Canine oral melanoma. *Clin Tech Small Anim Pract*. 22(2): 55-60.
- Carmeliet P, Ferreira V, Breier G, Pollefeyt S, Kieckens L, Gertsenstein M, Fahrig M, Vandenhoeck A, Harpal K, Eberhardt C, Declercq C, Pawling J, Moons L, Collen D, Risau W and Nagy A 1996. Abnormal blood vessel development and lethality in embryos lacking a single VEGF allele. *Nature*. 380(6573): 435-439.
- Chen Y, Wiesmann C, Fuh G, Li B, Christinger HW, McKay P, de Vos AM and Lowman HB 1999. Selection and analysis of an optimized anti-VEGF antibody: crystal structure of an affinity-matured Fab in complex with antigen. *J Mol Biol*. 293(4): 865-881.
- Cross MJ, Dixelius J, Matsumoto T and Claesson-Welsh L 2003. VEGF-receptor signal transduction. *Trends Biochem Sci*. 28(9): 488-494.
- Cuitiño MC, Massone AR and Idiart JR 2012. Lack of Prognostic Significance of Angiogenesis in Canine Melanocytic Tumours. *Journal of Comparative Pathology*. 147(2-3): 147-152.

- Dobson JM 2013. Breed-Predispositions to Cancer in Pedigree Dogs. *ISRN Veterinary Science*. 2013: 23.
- Dorn CR and Priester WA 1976. Epidemiologic analysis of oral and pharyngeal cancer in dogs, cats, horses, and cattle. *J Am Vet Med Assoc*. 169(11): 1202-1206.
- Dvorak HF, Brown LF, Detmar M and Dvorak AM 1995. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability, and angiogenesis. *The American Journal of Pathology*. 146(5): 1029-1039.
- Fukumura D, Xavier R, Sugiura T, Chen Y, Park EC, Lu N, Selig M, Nielsen G, Taksir T, Jain RK and Seed B 1998. Tumor induction of VEGF promoter activity in stromal cells. *Cell*. 94(6): 715-725.
- Garden OA, Reubi JC, Dykes NL, Yeager AE, McDonough SP and Simpson KW 2005. Somatostatin receptor imaging in vivo by planar scintigraphy facilitates the diagnosis of canine insulinomas. *J Vet Intern Med*. 19(2): 168-176.
- Gemmill TJ, Mellor DJ, Clements DN, Clarke SP, Farrell M, Bennett D and Carmichael S 2005. Evaluation of elbow incongruity using reconstructed CT in dogs suffering fragmented coronoid process. *J Small Anim Pract*. 46(7): 327-333.
- Gerber H-P, Kowalski J, Sherman D, Eberhard DA and Ferrara N 2000. Complete Inhibition of Rhabdomyosarcoma Xenograft Growth and Neovascularization Requires Blockade of Both Tumor and Host Vascular Endothelial Growth Factor. *Cancer Research*. 60(22): 6253-6258.
- Ghirelli CO, Villamizar LA and Pinto AC 2013. Comparison of standard radiography and computed tomography in 21 dogs with maxillary masses. *J Vet Dent*. 30(2): 72-76.
- Goede V, Schmidt T, Kimmina S, Kozian D and Augustin HG 1998. Analysis of blood vessel maturation processes during cyclic ovarian angiogenesis. *Lab Invest*. 78(11): 1385-1394.
- Handschel J, Naujoks C, Depprich RA, Kubler NR, Kropil P, Kuhlemann J, Jansen TM, Boeck I and Sproll KC 2012. CT-scan is a valuable tool to detect mandibular involvement in oral cancer patients. *Oral Oncol*. 48(4): 361-366.
- Hicklin DJ and Ellis LM 2005. Role of the vascular endothelial growth factor pathway in tumor growth and angiogenesis. *J Clin Oncol*. 23(5): 1011-1027.

- Holsworth IG, Wisner ER, Scherrer WE, Filipowicz D, Kass PH, Pooya H, Larson RF and Schulz KS 2005. Accuracy of Computerized Tomographic Evaluation of Canine Radio-Ulnar Incongruence In Vitro. *Veterinary Surgery*. 34(2): 108-113.
- Iwamoto KS, Norman A, Freshwater DB, Ingram M and Skillen RG 1993. Diagnosis and treatment of spontaneous canine brain tumors with a CT scanner. *Radiother Oncol*. 26(1): 76-78.
- Kafka UC, Carstens A, Steenkamp G and Symington H 2004. Diagnostic value of magnetic resonance imaging and computed tomography for oral masses in dogs. *J S Afr Vet Assoc*. 75(4): 163-168.
- Kim KJ, Li B, Winer J, Armanini M, Gillett N, Phillips HS and Ferrara N 1993. Inhibition of vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis suppresses tumour growth in vivo. *Nature*. 362(6423): 841-844.
- Koch AE, Harlow LA, Haines GK, Amento EP, Unemori EN, Wong WL, Pope RM and Ferrara N 1994. Vascular endothelial growth factor. A cytokine modulating endothelial function in rheumatoid arthritis. *J Immunol*. 152(8): 4149-4156.
- Liptak JM and Withrow SJ 2007. Chapter 21 - Cancer of the Gastrointestinal Tract A2 - Withrow, Stephen J. In: *Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology (Fourth Edition)*. David M. Vail (ed). Saint Louis: W.B. Saunders. 455-510.
- Luong RH, Baer KE, Craft DM, Ettinger SN, Scase TJ and Bergman PJ 2006. Prognostic significance of intratumoral microvessel density in canine soft-tissue sarcomas. *Vet Pathol*. 43(5): 622-631.
- Malecaze F, Clamens S, Simorre-Pinatel V, Mathis A, Chollet P, Favard C, Bayard F and Plouet J 1994. Detection of vascular endothelial growth factor messenger RNA and vascular endothelial growth factor-like activity in proliferative diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol*. 112(11): 1476-1482.
- McCulloch M, Jezierski T, Broffman M, Hubbard A, Turner K and Janecki T 2006. Diagnostic accuracy of canine scent detection in early- and late-stage lung and breast cancers. *Integr Cancer Ther*. 5(1): 30-39.
- Meyer D, PiÉTu G, Fressinaud E and Girma J-P 1991. Von Willebrand Factor: Structure and Function. *Mayo Clinic Proceedings*. 66(5): 516-523.
- Niemiec BA 2008. Oral pathology. *Top Companion Anim Med*. 23(2): 59-71.

- Ohlerth S and Scharf G 2007. Computed tomography in small animals--basic principles and state of the art applications. *Vet J.* 173(2): 254-271.
- Page C, Rose M, Yacoub M and Pigott R 1992. Antigenic heterogeneity of vascular endothelium. *The American Journal of Pathology.* 141(3): 673-683.
- Preda A, van Vliet M, Krestin GP, Brasch RC and van Dijke CF 2006. Magnetic resonance macromolecular agents for monitoring tumor microvessels and angiogenesis inhibition. *Invest Radiol.* 41(3): 325-331.
- Pusztaszeri MP, Seelentag W and Bosman FT 2006. Immunohistochemical expression of endothelial markers CD31, CD34, von Willebrand factor, and Fli-1 in normal human tissues. *J Histochem Cytochem.* 54(4): 385-395.
- Ramos-Vara JA, Beissenherz ME, Miller MA, Johnson GC, Pace LW, Fard A and Kottler SJ 2000. Retrospective study of 338 canine oral melanomas with clinical, histologic, and immunohistochemical review of 129 cases. *Vet Pathol.* 37(6): 597-608.
- Reichart PA, Philipsen HP and Dürr U-M 1989. Epulides in dogs. *Journal of Oral Pathology & Medicine.* 18(2): 92-96.
- Sobczynska-Rak A, Polkowska I and Silmanowicz P 2014. Elevated Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) levels in the blood serum of dogs with malignant neoplasms of the oral cavity. *Acta Vet Hung.* 62(3): 362-371.
- Taylor KH, Smith AN, Higginbotham M, Schwartz DD, Carpenter DM and Whitley EM 2007. Expression of vascular endothelial growth factor in canine oral malignant melanoma. *Vet Comp Oncol.* 5(4): 208-218.
- Todoroff RJ and Brodey RS 1979. Oral and pharyngeal neoplasia in the dog: a retrospective survey of 361 cases. *J Am Vet Med Assoc.* 175(6): 567-571.
- Tsuzuki Y, Fukumura D, Oosthuyse B, Koike C, Carmeliet P and Jain RK 2000. Vascular endothelial growth factor (VEGF) modulation by targeting hypoxia-inducible factor-1 α --> hypoxia response element--> VEGF cascade differentially regulates vascular response and growth rate in tumors. *Cancer Res.* 60(22): 6248-6252.

- Van Camp S, Fisher P and Thrall DE 2000. Dynamic CT measurement of contrast medium washin kinetics in canine nasal tumors. *Vet Radiol Ultrasound*. 41(5): 403-408.
- Vos JH and van der Gaag I 1987. Canine and Feline Oral-Pharyngeal Tumours. *Journal of Veterinary Medicine Series A*. 34(1-10): 420-427.
- Weidner N 1995. Current pathologic methods for measuring intratumoral microvessel density within breast carcinoma and other solid tumors. *Breast Cancer Res Treat*. 36(2): 169-180.
- Yamamoto K, de Waard V, Fearn C and Loskutoff DJ 1998. Tissue distribution and regulation of murine von Willebrand factor gene expression in vivo. *Blood*. 92(8): 2791-2801.
- Zanetta L, Marcus SG, Vasile J, Dobryansky M, Cohen H, Eng K, Shamamian P and Mignatti P 2000. Expression of Von Willebrand factor, an endothelial cell marker, is up-regulated by angiogenesis factors: a potential method for objective assessment of tumor angiogenesis. *Int J Cancer*. 85(2): 281-288.



ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวอุราภา กลั่นเสนาะ เกิดเมื่อวันที่ 10 เมษายน พ.ศ. 2529 สำเร็จการศึกษา
ระดับปริญญาตรี จากคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2553
จากนั้นเข้าทำงานที่โรงพยาบาลสัตว์ทองหล่อ สาขารังสิต และเริ่มเข้าศึกษาต่อในหลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์ทางสัตวแพทย์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อ
พ.ศ. 2555



