

# Principle and Technique of Pathology

สมรมาศ กันเงิน

การให้บริการด้านพยาธิวิทยาภาคกายวิภาคโดยทั่วไปหมายถึง การให้บริการวินิจฉัยโรคจากอวัยวะหรือส่วนของอวัยวะ ของเหลวจากร่างกายผู้ป่วย รวมทั้งร่างผู้เสียชีวิต โดยอาศัยการตรวจด้วยตาเปล่าและการดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ รวมถึงการใช้เทคนิคอื่นๆ เช่น อิมมูโนฮิสโตเคมี และอณูชีวโมเลกุลเพื่อช่วยในการวินิจฉัย การให้บริการด้านพยาธิวิทยาภาคกายวิภาคอาจแบ่งออกได้เป็น การให้บริการด้านพยาธิวิทยาศัลยกรรม (surgical pathology) การให้บริการด้านเซลล์วิทยา (cytology) และการให้บริการตรวจศพวิชาการ (autopsy)

แม้การให้บริการทั้งด้านพยาธิวิทยาศัลยกรรมและเซลล์วิทยาจะเป็นบทบาทหลักของพยาธิแพทย์และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการพยาธิวิทยา แต่แพทย์ทุกสาขารวมทั้ง ศัลยแพทย์จำเป็นต้องเข้าใจหลักการเบื้องต้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งการเตรียมสิ่งส่งตรวจ เพื่อความสมบูรณ์ของผลการวินิจฉัย การเตรียมสิ่งส่งตรวจที่ไม่ถูกต้องอาจส่งผลให้การวินิจฉัยล่าช้าหรืออาจกระทำไม่ได้เลย

แนวปฏิบัติโดยทั่วไปสำหรับการส่งตรวจทางพยาธิวิทยาภาคกายวิภาคนั้น กำหนดให้ชิ้นเนื้อ ของเหลว หรือวัตถุที่นำออกจากตัวผู้ป่วยต้องได้รับการตรวจโดยพยาธิแพทย์ ทั้งนี้อาจมีความแตกต่างกันบ้างขึ้นอยู่กับข้อกำหนดและนโยบายของแต่ละสถาบัน สิ่งส่งตรวจที่ควรได้รับการตรวจวินิจฉัยทางพยาธิวิทยา ได้แก่

1. ของเหลว หรือเนื้อเยื่อทุกชนิดที่นำออกจากตัวผู้ป่วย ยกเว้นเส้นผมหรือเล็บที่นำออกเนื่องจากเหตุผลด้านความสวยงาม
2. products of conception
3. วัสดุทางการแพทย์ชนิดฝังถาวร อาทิ ลิ้นหัวใจเทียม

4. วัตถุแปลกปลอมที่เอาออกจากร่างกาย เช่น กระสุนปืน (ยกเว้นในบางสถาบันอาจเป็นบทบาทหน้าที่ของแพทย์นิติเวช)

### การวินิจฉัยทางพยาธิวิทยา ศัลยกรรม

การให้บริการด้านพยาธิวิทยา ศัลยกรรม เกี่ยวข้องกับการตรวจด้วยตาเปล่า การดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ รวมถึงการตรวจพิเศษอื่นๆ ที่จำเป็นในการให้การวินิจฉัยขั้นสุดท้ายของพยาธิแพทย์ สิ่งส่งตรวจเป็นได้ตั้งแต่ชิ้นเนื้อขนาดเล็กที่ได้จากการเจาะหรือตัดผ่านกล้อง จนถึงอวัยวะทั้งชิ้น

**กระแสนงาน (workflow) ของการให้บริการด้านพยาธิวิทยา ศัลยกรรม มีดังนี้**

- การตรวจด้วยตาเปล่า และการส้อมตัดชิ้นเนื้อ
- การให้คำปรึกษาระหว่างผ่าตัด (intraoperative consultation หรือ frozen section)
- การเตรียมชิ้นเนื้อเพื่อฝังในบล็อกพาราฟิน
- การผลิตสไลด์และการย้อมสี
- การตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์
- การตรวจพิเศษต่างๆ เช่น การย้อมฮีสโตเคมี อิมมูโนฮีสโตเคมี การตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน
- การรายงานผลการวินิจฉัยขั้นสุดท้าย
- การปรึกษาและการขอทบทวนผลการวินิจฉัย

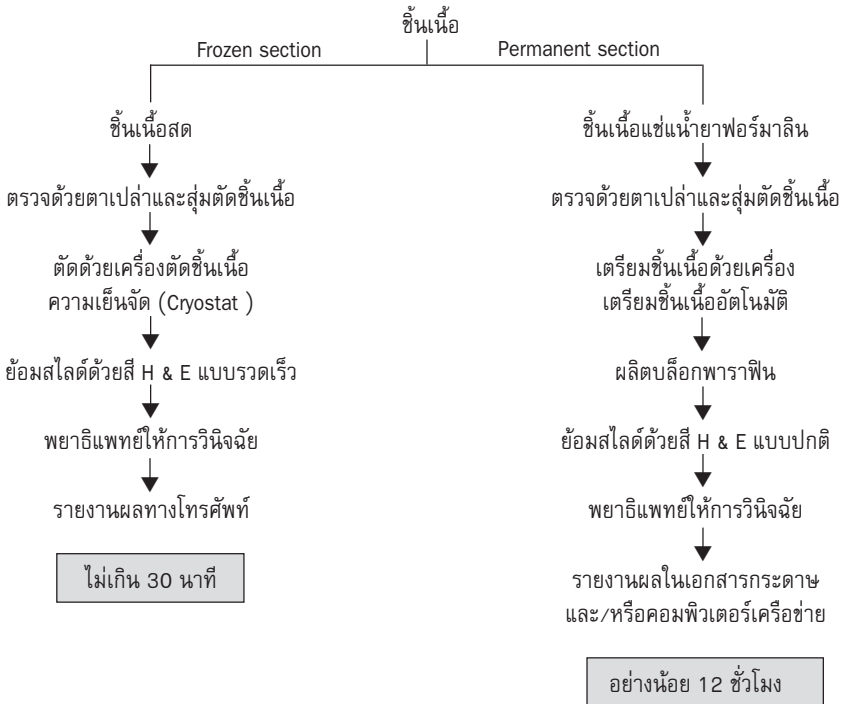
**หลักการทั่วไปที่สำคัญทางพยาธิวิทยา ศัลยกรรม อาจแบ่งได้ดังนี้**

#### การส่งสิ่งส่งตรวจ

#### ใบคำขอส่งตรวจทางพยาธิวิทยา

การส่งตรวจทางพยาธิวิทยา แพทย์ผู้ส่งตรวจต้องกรอรายละเอียดในใบคำขอส่งตรวจโดยอาจอยู่ในรูปเอกสารกระดาษ หรือเอกสารอิเล็กทรอนิกส์ก็ได้ ข้อมูลที่จำเป็นประกอบไปด้วย

1. ข้อมูลที่ระบุตัวผู้ป่วย (patient identification) อย่างน้อย ชื่อ นามสกุล เพศ อายุ เลขโรงพยาบาล (hospital number)



**แผนภูมิที่ 1** กระบวนการพยาธิวิทยาศัลยกรรม

2. ชื่อแพทย์ผู้ส่งตรวจหรือแพทย์ที่มีส่วนเกี่ยวข้องในการดูแลผู้ป่วยรายนั้นๆ ทั้งนี้ควรเป็นแพทย์ที่สามารถให้ข้อมูลเพิ่มเติมในกรณีที่พยาธิแพทย์มีข้อสงสัยได้
3. วันและเวลาที่ทำการตรวจ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง สิ่งส่งตรวจที่ระยะเวลาในการแช่แข็งยารักษาภาพมีผลต่อการวินิจฉัย เช่น ชิ้นเนื้อมะเร็งเต้านมที่ต้องการตรวจหา ER PR และ HER-2/neu เนื่องจากระยะเวลาการแช่แข็งยาสั้นหรือนานเกินไป อาจส่งผลให้เกิดผลบลวงของการทดสอบได้
4. ประวัติผู้ป่วยที่เกี่ยวข้องกับการส่งสิ่งส่งตรวจนั้นๆ
5. ข้อมูลของสิ่งส่งตรวจ อาทิ อวัยวะ หรือส่วนของอวัยวะที่ตัดออก ช้าง รวมทั้งวัตถุประสงค์ในการผ่าตัด ซึ่งมีส่วนช่วยพยาธิแพทย์ในขณะทำการตรวจด้วยตาเปล่าและส้อมตัดชิ้นเนื้อ อาทิ ชิ้นเนื้อเต้านมที่ถูกตัดออกด้วยวัตถุประสงค์เพื่อต้องการลดขนาด

ของเต้านม (reduction mammoplasty) พยาธิแพทย์อาจไม่จำเป็นต้องส้อมตัดแบบ มะเร็งเต้านมเป็นต้น นอกจากนี้การระบುವัยวะที่ถูกต้องและครบถ้วนยังมีผลต่อการเรียก เก็บเงินผู้ป่วยด้วย

6. ข้อมูลอื่นๆ อาทิ ชิ้นเนื้อที่ต้องการการวินิจฉัยโดยเร่งด่วนเพื่อตัดสินการ รักษา ชิ้นเนื้อที่ผู้ป่วยหรือญาติต้องการนำกลับเมื่อพยาธิแพทย์วินิจฉัยเสร็จสิ้นแล้ว เป็นต้น

### การแช่น้ำยารักษาสภาพชิ้นเนื้อ

การแช่น้ำยารักษาสภาพชิ้นเนื้ออย่างเหมาะสมถือว่าเป็นอีกกระบวนการหนึ่งที่สำคัญในการให้การวินิจฉัยทางพยาธิวิทยา โดยทั่วไปมีวัตถุประสงค์ดังนี้

1. คงสภาพของเนื้อเยื่อ โดยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ต่างๆ ในเซลล์ที่ทำให้เกิดการเสื่อมสภาพของเนื้อเยื่อ

2. ทำให้เนื้อเยื่อแข็งขึ้น เหมาะกับการตัดเป็นชิ้นเล็กๆ

3. ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียและราชนิดต่างๆ

4. ช่วยให้น้ำเยื่อเยื่อยึดติดสีดีขึ้น

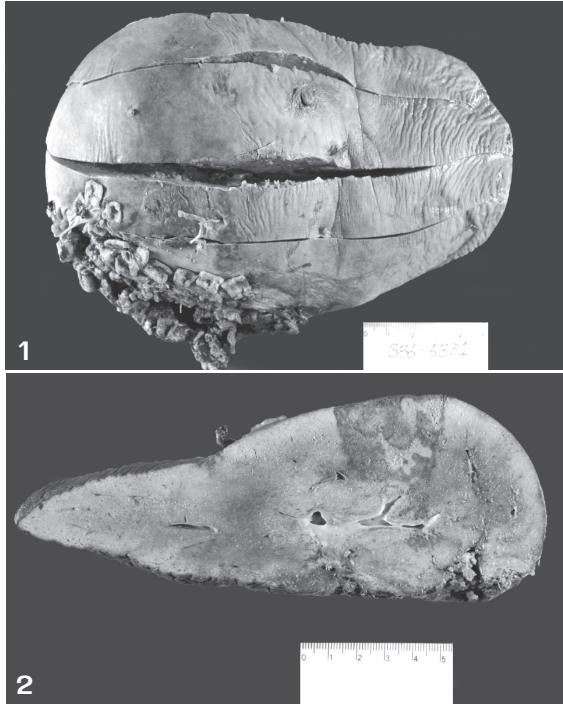
### ข้อแนะนำทั่วไปสำหรับการแช่น้ำยารักษาสภาพชิ้นเนื้อ

1. น้ำยาควรมีปริมาตร 15-20 เท่าของปริมาตรชิ้นเนื้อ

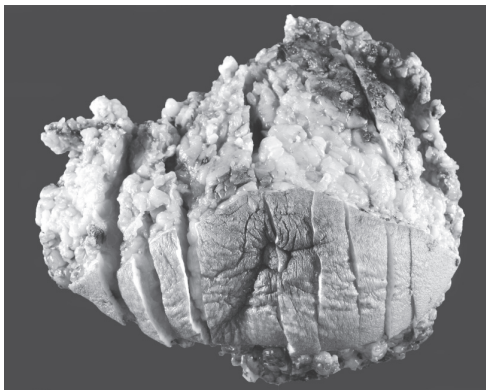
2. ชิ้นเนื้อขนาดใหญ่ หรือมีเยื่อหุ้ม (capsule) ควรผ่าเปิดเพื่อให้ น้ำยาเข้าไปได้อย่างทั่วถึง เนื่องจากน้ำยารักษาสภาพชิ้นเนื้อสามารถแทรกซึมเข้าไปในเนื้อเยื่อได้ในอัตราเพียง 1 มิลลิเมตรต่อชั่วโมงเท่านั้น การแช่ชิ้นเนื้อขนาดใหญ่หรือมีเยื่อหุ้มในน้ำยารักษาสภาพโดยไม่ผ่าเปิดจะทำให้เนื้อเยื่อตรงกลางเสื่อมสภาพเพราะน้ำยาเข้าไปไม่ถึง (รูปที่ 1 และ 2) กรณีชิ้นเนื้อขนาดใหญ่แนะนำให้ผ่าในแนวเดียวกันแต่ไม่ขาดออกจากกัน (รูปที่ 3) และเว้นระยะห่างประมาณ 1 เซนติเมตร ควรล้างหรือซับเลือดออกให้หมดก่อนแช่ในน้ำยา อวัยวะในระบบทางเดินอาหารควรได้รับการผ่าเปิด กำจัดอุจจาระและสิ่งตกค้าง ภายในออกให้หมดก่อนแช่น้ำยาเช่นกัน

3. ชิ้นเนื้อควรได้รับการแช่ในน้ำยารักษาสภาพอย่างน้อย 6-8 ชั่วโมง

4. ภาชนะบรรจุชิ้นเนื้อต้องติดฉลากที่ระบุข้อมูลผู้ป่วย ได้แก่ ชื่อ นามสกุล เพศ อายุ เลขโรงพยาบาล หน่วยงานที่นำส่ง ชื่อแพทย์ผู้ทำการผ่าตัด ตำแหน่งของชิ้นเนื้อว่า ตัดมาจากส่วนใดของร่างกาย โดยเขียนหรือพิมพ์บนวัสดุที่ติดแน่นกับภาชนะบรรจุสีส่ง



รูปที่ 1 และ 2 ตัวอย่างของชิ้นเนื้อตัดจาก right hepatectomy สังเกตว่ารอยผ่าตามแนวนอน ตื้น และห่างมากเกินไป (รูปที่ 1) ทำให้น้ำยารักษาสภาพไม่สามารถซึมเข้าไปตรง กลางตัดได้ (รูปที่ 2) เห็นว่าสีของเนื้อตัวยังเป็นสีแดงสดอยู่



รูปที่ 3 ชิ้นเนื้อเต้านมจาก modified radical mastectomy ที่ได้ รับการผ่าในแนวขนานกัน สม่่าเสมอ

ตารางที่ 1

ชนิดของน้ำยารักษาสภาพ	สี	ชนิดของเนื้อเยื่อ	ข้อดี	ข้อเสีย
10% phosphate-buffered formalin	ใส ไม่มีสี กลิ่นฉุน	ทุกชนิด	<ul style="list-style-type: none"> <li>- นิยมใช้อย่างแพร่หลาย</li> <li>- ขึ้นเนื้อสามารถนำไปตรึงเพิ่มเติมด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีและอนุชีวโมเลกุลบางอย่างได้</li> <li>- เก็บได้นาน</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- แอนติเจนในเนื้อเยื่อถูกทำลายเสียเช่นเดียวเป็นเวลานาน</li> <li>- ทำลายสลายดีเอ็นเอ และ โปรตีนในเซลล์ทำให้การตรวจด้วยวิธีทางอนุชีวโมเลกุลบางอย่างไม่สามารถทำได้</li> <li>- ไม่เหมาะสำหรับการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน</li> <li>- ระบายเคืองต่อผิวหนัง เยื่อตาและทางเดินหายใจ</li> <li>- ต้องเก็บในตู้เย็น 4 องศา</li> <li>- ซึมเข้าเนื้อเยื่อช้า ดังนั้น ควรตัดชิ้นเนื้อให้ขนาดเล็กระยะมา 1 ลูกบาศก์ลิตร</li> <li>- ไม่ค่อยนิยมใช้</li> <li>- ซึมเข้าเนื้อเยื่อช้า</li> <li>- ทำให้ชิ้นเนื้อแข็ง หด และอาจทำให้เซลล์มีรูปร่างผิดปกติ</li> <li>- ต้องล้างชิ้นเนื้อเพื่อกำจัดเอา picric acid ออกก่อนนำชิ้นเนื้อเข้าสู่กระบวนการเตรียมชิ้นเนื้อ</li> <li>- ทำลายสลายดีเอ็นเอ ทำให้การตรวจด้วยวิธีทางอนุชีวโมเลกุลบางอย่างไม่สามารถทำได้</li> <li>- เช่นเดียวกับ Bouin's solution</li> </ul>
2% Glutaraldehyde	ใส ไม่มีสี	ทุกชนิดที่ต่อการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน	<ul style="list-style-type: none"> <li>- คงสภาพของเซลล์ได้ดีมาก</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- เหมาะกับเนื้อเยื่อที่ต้องการตรวจทางอนุชีวโมเลกุล</li> <li>- กำจัดได้ง่าย</li> <li>- มองเห็นรายละเอียดของนิวเคลียสดีมากเมื่อ้อมด้วยสีมาตรฐาน (H&amp;E)</li> <li>- มีคุณสมบัติละลายแคลเซียมจึงนิยมใช้ในการรักษาสภาพชิ้นเนื้อไขกระดูก</li> <li>- เช่นเดียวกับ Bouin's solution แต่คงสภาพของเม็ดเลือดแดง eosinophils และ endocrine cells ได้ดีกว่า</li> </ul>
70%-100% ethanol	ใส ไม่มีสี กลิ่นเย็น	ทุกชนิดโดยเฉพาะชิ้นเนื้อที่ต้องการตรวจหาผลึกกรดยูริก	<ul style="list-style-type: none"> <li>- เหมาะกับเนื้อเยื่อที่ต้องการตรวจทางอนุชีวโมเลกุล</li> <li>- กำจัดได้ง่าย</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ทำให้ชิ้นเนื้อแข็ง หด และอาจทำให้เซลล์มีรูปร่างผิดปกติ</li> <li>- ต้องล้างชิ้นเนื้อเพื่อกำจัดเอา picric acid ออกก่อนนำชิ้นเนื้อเข้าสู่กระบวนการเตรียมชิ้นเนื้อ</li> <li>- ทำลายสลายดีเอ็นเอ ทำให้การตรวจด้วยวิธีทางอนุชีวโมเลกุลบางอย่างไม่สามารถทำได้</li> <li>- เช่นเดียวกับ Bouin's solution</li> </ul>
Bouin's solution	เหลือง กลิ่นฉุน เปรี้ยว	Hematopoietic and lymphoid tissue	<ul style="list-style-type: none"> <li>- มองเห็นรายละเอียดของนิวเคลียสดีมากเมื่อ้อมด้วยสีมาตรฐาน (H&amp;E)</li> <li>- มีคุณสมบัติละลายแคลเซียมจึงนิยมใช้ในการรักษาสภาพชิ้นเนื้อไขกระดูก</li> <li>- เช่นเดียวกับ Bouin's solution แต่คงสภาพของเม็ดเลือดแดง eosinophils และ endocrine cells ได้ดีกว่า</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ทำให้ชิ้นเนื้อแข็ง หด และอาจทำให้เซลล์มีรูปร่างผิดปกติ</li> <li>- ต้องล้างชิ้นเนื้อเพื่อกำจัดเอา picric acid ออกก่อนนำชิ้นเนื้อเข้าสู่กระบวนการเตรียมชิ้นเนื้อ</li> <li>- ทำลายสลายดีเอ็นเอ ทำให้การตรวจด้วยวิธีทางอนุชีวโมเลกุลบางอย่างไม่สามารถทำได้</li> <li>- เช่นเดียวกับ Bouin's solution</li> </ul>
Hollande's solution	เขียว กลิ่นฉุน	Gastrointestinal tract	<ul style="list-style-type: none"> <li>- คงสภาพของเซลล์ได้ดีมาก</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- เหมาะกับเนื้อเยื่อที่ต้องการตรวจทางอนุชีวโมเลกุล</li> <li>- กำจัดได้ง่าย</li> <li>- มองเห็นรายละเอียดของนิวเคลียสดีมากเมื่อ้อมด้วยสีมาตรฐาน (H&amp;E)</li> <li>- มีคุณสมบัติละลายแคลเซียมจึงนิยมใช้ในการรักษาสภาพชิ้นเนื้อไขกระดูก</li> <li>- เช่นเดียวกับ Bouin's solution แต่คงสภาพของเม็ดเลือดแดง eosinophils และ endocrine cells ได้ดีกว่า</li> </ul>

ตรวจ ไม่หลุดลอกง่ายและไม่ลบเลือนเมื่อโดนน้ำ ข้อมูลที่ปรากฏนี้ต้องเหมือนกันกับ ข้อมูลในใบคำขอส่งตรวจ

ชนิดของน้ำยารักษาสภาพชิ้นเนื้ออาจแบ่งออกได้เป็นกลุ่มใหญ่ๆ ได้ดังนี้

1. Aldehyde เช่น formaldehyde และ glutaraldehyde
2. อนุพันธ์ oxidizing เช่น osmium tetroxide, potassium permanganate
3. Acetic acid, methyl alcohol, ethyl alcohol
4. Mercuric chloride, picric acid

### การระบุทิศของสิ่งส่งตรวจ (specimen orientation)

การระบุทิศของสิ่งส่งตรวจมีความจำเป็นอย่างยิ่งโดยเฉพาะชิ้นเนื้อมะเร็งที่ต้องการทราบสถานะของขอบว่ามีมะเร็งเหลืออยู่หรือไม่ และไม่มีส่วนของอวัยวะที่สามารถอ้างอิงได้ติดมาด้วย อาทิ ก้อนมะเร็งเต้านม หรือมะเร็งผิวหนัง/เยื่อที่ผ่าตัด แบบ wide excision หรือส่วนของลำไส้ ยกเว้นลำไส้ที่ผ่าตัดแบบ right hemicolectomy และ abdominoperineal resection ซึ่งมี terminal ileum และ anus เป็นอวัยวะอ้างอิงเพื่อระบุทิศตามลำดับ การระบุทิศของสิ่งส่งตรวจให้ยึดตาม ตำแหน่งในทางกายวิภาคศาสตร์ (anatomical position) แนะนำให้ใช้ไหมเย็บแผลชนิดเดียวกัน แต่ตัดให้มีความยาว และจำนวนที่แตกต่างกันในการระบุทิศแต่ละทิศ และระบุอย่างน้อย 2 ทิศที่ตั้งฉากกัน อาทิ ระบุ superior margin ด้วยไหมเส้นยาวและระบุ lateral margin ด้วยไหมเส้นสั้น เป็นต้น (รูปที่ 4) ตำแหน่งที่ผูกไหมควรอยู่กึ่งกลางของทิศที่ต้องการระบุ ในกรณีที่คลัยแพทย์ไม่ต้องการระบุทิศบนสิ่งส่งตรวจ อาจตัดขอบจากแต่ละทิศแล้วแยกส่งในภาชนะต่างหากก็ได้ แต่ต้องระบุที่ภาชนะบรรจุด้วยว่าชิ้นเนื้อแต่ละชิ้นมาจากทิศไหนบ้าง

### การตรวจด้วยตาเปล่า (gross examination)

การตรวจด้วยตาเปล่าของพยาธิแพทย์มีวัตถุประสงค์ที่สำคัญคือ เพื่อสุ่มตัดรอยโรคสำหรับนำไปผลิตเป็นสไลด์สำหรับการวินิจฉัยขั้นสุดท้าย ข้อมูลที่สำคัญทางคลินิก การวินิจฉัยแยกโรค ผลการตรวจทางรังสีวิทยาและห้องปฏิบัติการ รวมทั้งการระบุทิศดัง

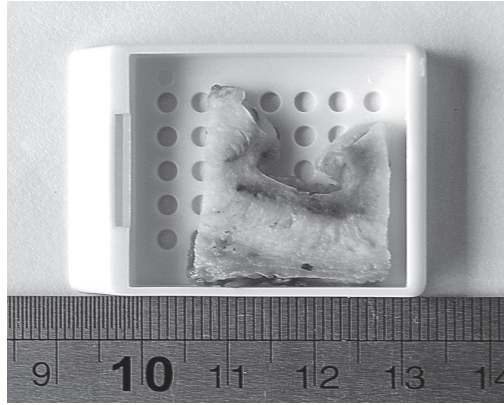


**รูปที่ 4** ชิ้นเนื้อผิวหนังที่ได้รับการทำ wide excision แสดงตัวอย่างการระบุทิศทางที่ตั้งฉากกัน (superior และ lateral) ด้วยไหมชนิดเดียวกันแต่ความยาวแตกต่างกัน

ที่กล่าวไปแล้ว มีส่วนช่วย ให้พยาธิแพทย์ตรวจด้วยตาเปล่าได้อย่างมีประสิทธิภาพ การปรึกษาหารือกับพยาธิแพทย์และพยาธิแพทย์อาจมีความจำเป็นสำหรับการวินิจฉัยโรคบางอย่าง อาทิ การวินิจฉัยโรคล้ามเนื้ออ่อนแรงกลุ่ม congenital myopathy เนื่องจากการวินิจฉัยโรคในกลุ่มนี้ ชิ้นเนื้อจำเป็นต้องได้รับการย้อมพิเศษด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีจาก ชิ้นเนื้อไม่แช่น้ำยารักษาสภาพหรือแม้กระทั่งตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนซึ่ง ชิ้นเนื้อที่แช่ในน้ำยาฟอรมาลินแล้วไม่สามารถทำได้ เป็นต้น

รูปแบบการส้อมตัดชิ้นเนื้อของพยาธิแพทย์มีรายละเอียดที่แตกต่างกันไปตาม ชนิดของอวัยวะและวัตถุประสงค์ที่พยาธิแพทย์ส่งตรวจ ซึ่งพยาธิแพทย์ผู้สนใจสามารถ ศึกษาได้จากแหล่งอ้างอิงต่างๆ หลักการโดยทั่วไปของการตรวจชิ้นเนื้อด้วยตาเปล่าคือ พยาธิแพทย์จะบันทึกลักษณะภายนอก ขนาดและ/หรือน้ำหนักชิ้นเนื้อที่ได้รับ บรรยาย รอยโรคที่พบทั้งขนาด สี ลักษณะหน้าตัด รวมทั้งระยะห่างจากขอบ กรณีที่เป็นมะเร็ง พยาธิแพทย์จะส้อมตัดชิ้นเนื้อจากก้อนมะเร็ง ขอบของการผ่าตัด (surgical margin) ทั้งหมด เนื้อเยื่อปกติที่อยู่ข้างเคียงกับก้อนมะเร็ง และต่อมน้ำเหลืองถ้าได้รับการเลาะออกมาด้วย หลังจากนั้น พยาธิแพทย์จึงบรรจุชิ้นเนื้อที่ส้อมตัดลงในตลับ (รูปที่ 5) เพื่อส่งให้เจ้าหน้าที่ ห้องปฏิบัติการนำเข้าเครื่องเตรียมชิ้นเนื้ออัตโนมัติซึ่งโดยทั่วไปต้องใช้เวลาน้อย 12 ชั่วโมง ก่อนที่ชิ้นเนื้อจะพร้อมสำหรับการทำบล็อกพาราฟินและตัดเป็นสไลด์ให้พยาธิ แพทย์วินิจฉัยในขั้นตอนสุดท้าย





รูปที่ 5

### การให้คำปรึกษาระหว่างผ่าตัด (intraoperative consultation or frozen section)

พยาธิแพทย์มักถูกร้องขอให้ตรวจชิ้นเนื้อระหว่างผ่าตัด เพื่อให้การวินิจฉัยสำหรับตัดสินว่าการผ่าตัดรักษาผู้ป่วยควรดำเนินการต่อหรือไม่ และอย่างน้อยแค่ไหน หลักการเบื้องต้นในการพิจารณาว่า ชิ้นเนื้อนั้นจำเป็นต้องส่งตรวจระหว่างผ่าตัดหรือไม่คือ ผลการวินิจฉัยระหว่างผ่าตัดที่ได้เปลี่ยนวิธีการรักษาผู้ป่วยหรือไม่ อาทิ ก้อนในช่องท้องที่สงสัย sarcoma แต่ศัลยแพทย์สามารถผ่าตัดก้อนออกได้หมด ในกรณีนี้ก็ไม่มีความจำเป็นต้องส่งตรวจระหว่างผ่าตัด

#### การส่งตรวจระหว่างผ่าตัดมีวัตถุประสงค์หลักๆ คือ

1. ยืนยันการวินิจฉัยว่าเป็นมะเร็ง หรือไม่ใช่มะเร็ง
2. จำแนกชนิดของมะเร็งบางชนิดที่การผ่าตัดมิใช่การรักษาหลัก อาทิ malignant lymphoma
3. ประเมินสถานะของขอบ (margin) ก้อนมะเร็งที่ตัดออก
4. ประเมินการแพร่กระจายของมะเร็งยังต่อมน้ำเหลือง
5. ยืนยันขึ้นเนื้อที่ได้ว่าเป็นส่วนที่ศัลยแพทย์ต้องการตัดออกหรือไม่ เช่น การตรวจต่อมพาราไทรอยด์ระหว่างผ่าตัด

### ข้อจำกัดของการให้คำปรึกษาระหว่างผ่าตัด

1. ปัญหาจากการสุ่มตัด เนื่องด้วยเวลาที่จำกัดในการวินิจฉัย (ส่วนใหญ่แล้วไม่เกิน 30 นาทีต่อรายตั้งแต่รับชิ้นเนื้อจนถึงรายงานผล) รวมทั้งข้อจำกัดของจำนวนและขนาดชิ้นเนื้อที่สามารถตัดทำสไลด์ได้ ทำให้อาจเกิดโอกาสสุ่มพลาดหรือสุ่มไม่เพียงพอ โดยเฉพาะรอยโรคขนาดเล็ก อาทิ ก้อนเนื้ออกเต้านมที่ส่วนใหญ่เป็น intraductal carcinoma และมีหย่อมของ invasive carcinoma ขนาดเล็ก อาจมีโอกาสนิววินิจฉัยระหว่างผ่าตัดพลาดว่าเป็นแค่ intraductal carcinoma ได้เนื่องจากส่วน invasive carcinoma ไม่ถูกสุ่มตัด

2. ปัจจัยรบกวนจากผลึกน้ำแข็งในชิ้นเนื้อ เนื่องจากการทำให้ชิ้นเนื้อแข็งพอที่จะตัดเป็นแผ่นบางๆ สำหรับทำเป็นสไลด์นั้นอาศัยการแช่แข็งชิ้นเนื้อด้วยความเย็นจัด (-20 องศาเซลเซียส) ดังนั้นจึงมักเกิดผลึกน้ำแข็งขนาดเล็กๆ ในชิ้นเนื้อซึ่งอาจบดบังทำให้วินิจฉัยได้ยาก หรือไม่ได้เลยโดยเฉพาะอย่างยิ่งในชิ้นเนื้อขนาดเล็ก

3. การวินิจฉัยบางโรค อาทิ ก้อนไทรอยด์ก้อนเดี่ยวที่ต้องการแยกแยะระหว่าง follicular adenoma และ follicular carcinoma มักไม่สามารถทำได้ในการวินิจฉัยระหว่างผ่าตัด

### อวัยวะหรือส่วนของอวัยวะที่มักถูกส่งตรวจระหว่างผ่าตัด

#### ชิ้นเนื้อจากเต้านม

จุดประสงค์หลักคือเพื่อวินิจฉัยว่าก้อนที่ตรวจพบเป็นมะเร็งหรือไม่ ส่วนใหญ่ก้อนมักต้องมีขนาดอย่างน้อย 1 เซนติเมตร การส่งตรวจระหว่างผ่าตัดไม่แนะนำในกรณีที่ก้อนผิดปกติมีขนาดน้อยกว่า 1 เซนติเมตร หรือชิ้นเนื้อเต้านมที่ไม่มีก้อนแต่มีหย่อมหินปูนผิดปกติที่เห็นจากภาพถ่ายทางรังสีวิทยา เนื่องจากปัจจัยรบกวนของผลึกน้ำแข็ง นอกจากนี้รอยโรคบางอย่างมีลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาคล้ายกันกับมะเร็งมาก เช่น sclerosing adenosis ซึ่งการวินิจฉัยระหว่างผ่าตัดอาจพลาดได้ กรณีเหล่านี้แนะนำให้ส่งตรวจทางพยาธิวิทยาแบบปกติ (แช่น้ำยารักษาสภาพ) จะดีกว่า

#### ต่อมน้ำเหลืองเซนติเนล

จุดประสงค์หลักคือเพื่อวินิจฉัยว่ามีการกระจายของมะเร็งมาที่ต่อมน้ำเหลือง

เซนติเนลหรือไม่เนื่องจากกรณีที่ตรวจพบหย่อมมะเร็งในต่อมน้ำเหลืองเซนติเนล ผู้ป่วยจำเป็นต้องได้รับการเลาะต่อมน้ำเหลืองรักแร้ออก ข้อจำกัดที่สำคัญของการตรวจต่อมน้ำเหลืองเซนติเนลระหว่างผ่าตัดคือ หย่อมการกระจายแบบ micrometastasis (<0.2 เซนติเมตร) และ isolated tumor cells (ITCs) มีอัตราผลลบสูง โดยอัตราการตรวจพบ micrometastasis ในต่อมน้ำเหลืองเซนติเนลที่ส่งตรวจระหว่างผ่าตัดอยู่ที่ร้อยละ 17 เท่านั้น นอกจากนี้ มะเร็งเต้านมชนิด invasive lobular carcinoma ที่กระจายมายังต่อมน้ำเหลืองอาจวินิจฉัยได้ยากเนื่องจากเซลล์มักอยู่เป็นเซลล์เดี่ยวทำให้สับสนกับ histiocyte หรือ macrophage ในต่อมน้ำเหลือง

**ขึ้นเนื้อจากบริเวณศีรษะและลำคอ**

ส่วนใหญ่มักมีจุดประสงค์เพื่อประเมินสถานะของขอบขึ้นเนื้อว่ามีมะเร็งเหลืออยู่หรือไม่ เนื่องจากผู้ป่วยมักได้รับการทำ reconstruction ในการผ่าตัดครั้งเดียวกัน ศัลยแพทย์จึงจำเป็นต้องแน่ใจว่าขอบของขึ้นเนื้อที่ตัดออกมาไม่มีมะเร็งเหลืออยู่ ทั้งนี้เนื่องจากหลังการทำ reconstruction แล้วกลับพบว่า ขอบของขึ้นเนื้อที่ตัดออกมีมะเร็งเหลืออยู่ การผ่าตัดใหม่อาจทำได้ยากหรือทำไม่ได้เลย รวมทั้งการฉายแสงบนส่วนของอวัยวะที่ได้รับการทำ reconstruction ไปแล้วอาจทำให้อวัยวะนั้นเสียสภาพอย่างถาวรก็ได้ แนะนำให้เลือกส่งเฉพาะขอบด้านที่สงสัยว่าจะมีหรืออยู่ใกล้ก้อนมะเร็ง เนื่องจากการส่งชิ้นเนื้อขอบหลายด้านมาตรวจระหว่างผ่าตัด ทำให้เวลาที่ใช้ในการตัดทำสไลด์และเวลาที่พยาธิแพทย์ใช้ในการวินิจฉัยเพิ่มขึ้น ซึ่งหมายถึงระยะเวลาที่ผู้ป่วยต้องดมยาสลบนานขึ้นตามไปด้วย

**ต่อมไทรอยด์**

การวินิจฉัยก่อนในต่อมไทรอยด์ระหว่างผ่าตัดอาจมีจุดประสงค์หลักๆ แยกตามผลการวินิจฉัยทางเซลล์วิทยาเบื้องต้นจากการเจาะดูดด้วยเข็มขนาดเล็ก (fine needle aspiration: FNA) ได้ดังนี้

1. FNA positive for papillary carcinoma ส่วนใหญ่เมื่อมีการวินิจฉัย papillary carcinoma จาก FNA แล้ว การวินิจฉัยระหว่างผ่าตัดมักไม่มีความจำเป็น เนื่องจากผลจาก FNA มีความถูกต้องถึงมากกว่าร้อยละ 95

2. FNA suspicious for papillary carcinoma ในกรณีนี้แนะนำให้ส่งตรวจระหว่างผ่าตัด เนื่องจากก้อนที่ลักษณะทางเซลล์วิทยาสงสัย papillary carcinoma มีโอกาสร้อยละ 30-50 ที่พบว่าเป็นมะเร็งชนิดนี้จริงจากการตรวจระหว่างผ่าตัด

3. FNA suggestive of follicular neoplasm ก้อนลักษณะแบบนี้ มีโอกาสร้อยละ 20-30 ที่พบว่าเป็นเนื้องอกจริงจากการตรวจระหว่างผ่าตัด ดังที่กล่าวไปแล้วว่าการวินิจฉัยแยก follicular adenoma และ follicular carcinoma ระหว่างผ่าตัดนั้นยากมาก เนื่องจากการวินิจฉัย follicular carcinoma อาศัยการตรวจพบการลุกลามของมะเร็งที่เยื่อหุ้มก้อนหรือหลอดเลือดเท่านั้น ซึ่งแม้แต่การวินิจฉัยขั้นสุดทำจากชิ้นเนื้อที่ส่งตรวจแบบปกติยังทำได้ยาก ต้องอาศัยการส้อมตัดชิ้นเนื้อจำนวนมาก ในกรณีนี้คล้ายแพทย์จึงควรตระหนักไว้เสมอว่าการวินิจฉัยระหว่างผ่าตัดอาจมีความคลาดเคลื่อนได้

4. FNA interpreted as benign ในกรณีนี้อาจไม่มีความจำเป็นต้องส่งก้อนไทรอยด์ตรวจระหว่างผ่าตัด เนื่องจากโอกาสที่จะเป็นมะเร็งต่ำ และใกล้เคียงกันกับอัตราความผิดพลาดที่ยอมรับได้ของการวินิจฉัยระหว่างผ่าตัด

5. FNA inadequate or not performed การวินิจฉัยระหว่างผ่าตัดมีประโยชน์ในการจำแนกก้อนมะเร็งและก้อนที่ไม่ใช่มะเร็ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งการวินิจฉัย papillary carcinoma ระหว่างผ่าตัดมีความไวถึงร้อยละ 95 และความจำเพาะเกือบร้อยละ 100

### ต่อมพาราไทรอยด์

การผ่าตัดต่อมพาราไทรอยด์อาจมีสาเหตุมาจากโรค primary hyperparathyroidism จาก parathyroid adenoma หรือ secondary hyperparathyroidism จากภาวะไตวายเรื้อรัง การจำแนกกว่าเป็น primary หรือ secondary hyperparathyroidism ต้องอาศัยข้อมูลทางคลินิก อาทิ ระดับแคลเซียมในเลือด ร่วมกับลักษณะการเปลี่ยนแปลงของต่อมพาราไทรอยด์ว่าโตต่อมเดียว หรือโตมากกว่า 2 ต่อม การส่งตรวจต่อมพาราไทรอยด์ระหว่างผ่าตัดมิได้มีจุดประสงค์เพื่อแยกภาวะทั้งสอง แต่เพื่อพิสูจน์ว่าชิ้นเนื้อที่คล้ายแพทย์ส่งมานั้นเป็นต่อมพาราไทรอยด์จริงหรือไม่ กรณีที่ไม่ใช่ต่อมพาราไทรอยด์ คล้ายแพทย์จำเป็นต้องดำเนินการหาต่อไป ชิ้นเนื้อที่คล้ายแพทย์มักสับสน

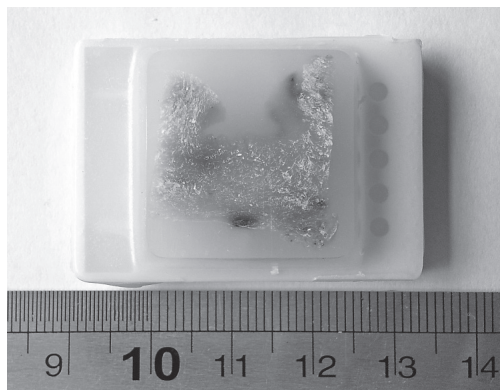
กับต่อมพาราไทรอยด์ระหว่างผ่าตัด ได้แก่ ต่อมไทรอยด์ และต่อมน้ำเหลือง

**ข้อควรระวังในการส่งตรวจระหว่างผ่าตัด**

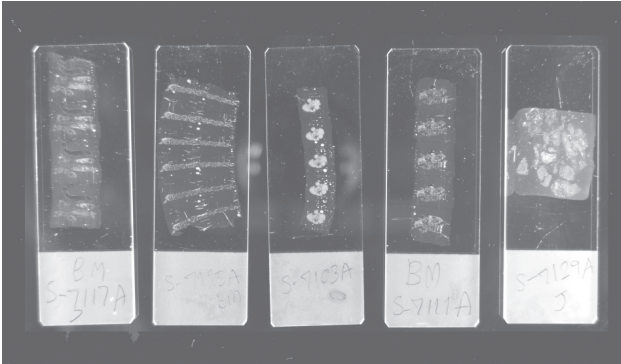
ชิ้นเนื้อจากผู้ป่วยเอชไอวี ไวรัสตับอักเสบบีหรือซี หรือผู้ป่วยวัณโรค อาจมีเชื้อซ้อห้ามเด็ดขาดในการส่งตรวจระหว่างผ่าตัด โดยเฉพาะการวินิจฉัยระหว่างผ่าตัดที่ช่วยศัลยแพทย์ในการตัดสินใจเลือกวิธีการรักษาผู้ป่วย อย่างไรก็ตาม ศัลยแพทย์ควรแจ้งพยาธิแพทย์และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการพยาธิวิทยาให้ทราบล่วงหน้า เนื่องจากเครื่องตัดชิ้นเนื้อด้วยความเย็นจัด (cryostat) ที่ผ่านการตัดชิ้นเนื้อปนเปื้อนเชื้อโรคดังกล่าวจำเป็นต้องได้รับการฆ่าเชื้อเมื่อเสร็จสิ้นการวินิจฉัยของพยาธิแพทย์

**การผลิตสไลด์ถาวร (permanent section หรือ paraffin-embedded section)**

ชิ้นเนื้อที่ผ่านเครื่องเตรียมชิ้นเนื้ออัตโนมัติจะถูกนำไปฝังในบล็อกพาราฟิน (รูปที่ 6) โดยเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการพยาธิวิทยา และตัดด้วยมีดชนิดพิเศษที่เรียกว่า microtome ซึ่งสามารถตัดชิ้นเนื้อให้มีขนาดบางเพียง 4-6 ไมครอนเพื่อวางบนสไลด์กระจกได้ ในขั้นตอนนี้ชิ้นเนื้อที่ได้จะไม่มีสี (รูปที่ 7) จึงจำเป็นต้องย้อมสีเพื่อให้สามารถมองเห็นรายละเอียดของเนื้อเยื่อและเซลล์ต่างๆ ในชิ้นเนื้อได้ (รูปที่ 8) สีที่นิยมใช้ย้อมชิ้นเนื้อสำหรับการวินิจฉัยทางพยาธิวิทยาได้แก่สี hematoxylin and eosin (H&E) โดยสี hematoxylin ให้สีน้ำเงิน/ม่วง และย้อมติดส่วนประกอบของเซลล์ที่มีความเป็นกรดเช่น



รูปที่ 6



รูปที่ 7



รูปที่ 8

นิวเคลียส ต่างกับสี eosin ที่ให้สีแดง/ชมพูและย้อมติดส่วนประกอบของเซลล์ที่มีคุณสมบัติเป็นเบสเช่น ซัยโตพลาสซึม

### การวินิจฉัยทางพยาธิวิทยาขั้นสุดท้าย

การวินิจฉัยทางพยาธิวิทยาขั้นสุดท้าย ถือเป็นขั้นตอนที่สำคัญมาก เนื่องจากผลการวินิจฉัยจะถูกนำไปใช้ในการดูแลรักษาผู้ป่วย ข้อแตกต่างที่สำคัญของการวินิจฉัยขั้นสุดท้ายและการวินิจฉัยระหว่างผ่าตัดดั่งที่กล่าวไปแล้วคือ การผลิตสไลด์ถาวรสำหรับใช้วินิจฉัยขั้นสุดท้าย ใช้เวลาอย่างน้อย 12-24 ชั่วโมงตั้งแต่ชิ้นเนื้อถูกส่งมาที่ห้องปฏิบัติการพยาธิวิทยาจนผลิตเป็นสไลด์ เนื่องจากชิ้นเนื้อต้องผ่านกระบวนการต่างๆ ตั้งแต่การตรวจด้วยตาเปล่าโดยพยาธิแพทย์ ผ่านเครื่องเตรียมชิ้นเนื้ออัตโนมัติ ผลิตเป็นบล็อก

พาราฟิน ย้อมสไลด์ด้วยสี H&E และส่งให้พยาธิแพทย์เพื่อทำการวินิจฉัย แต่มีข้อดีคือ สไลด์ถาวรให้รายละเอียดของเซลล์และเนื้อเยื่อดีกว่ามาก เนื่องจากชิ้นเนื้อได้รับการรักษาสภาพในน้ำยาและไม่มีปัจจัยรบกวนจากผลึกน้ำแข็ง รวมทั้งความหนาของชิ้นเนื้อบนสไลด์บางกว่าทำให้เซลล์ไม่ซ้อนทับกัน

การวินิจฉัยแยกโรคทางพยาธิวิทยา อาศัยหลักการเดียวกันกับการวินิจฉัยแยกโรคทางคลินิกกล่าวคือ รอยโรคจะถูกจำแนกเป็นกลุ่มตามสาเหตุ เช่น รอยโรคที่เกิดจากการอักเสบ การติดเชื้อเนื้อเยื่อผิดปกติ (ectopia หรือ heterotopia) hamartoma หรือเป็นเนื้องอก โดยอาศัยอาการทางคลินิกที่สำคัญของผู้ป่วยประกอบการวินิจฉัย ทำให้พยาธิแพทย์สามารถให้การวินิจฉัยสุดท้ายที่ถูกต้องได้ อย่างไรก็ตาม รอยโรคบางอย่างอาจถูกรบกวนด้วยปัจจัยอื่นทำให้การวินิจฉัยอาจคลาดเคลื่อนได้ อาทิ signet ring adenocarcinoma ที่ฝังตัวอยู่ในเนื้อเยื่อกระเพาะอาหารที่มีการอักเสบรุนแรง เซลล์เพิ่มจำนวนผิดปกติเนื่องจากการซ่อมแซมเยื่อต่างๆ เป็นต้น ดังนั้น การสื่อสารระหว่างคลีนิคแพทย์และพยาธิแพทย์จึงมีความสำคัญมาก กรณีที่มีข้อสงสัยหรือคำวินิจฉัยของพยาธิแพทย์ไม่สอดคล้องกับอาการทางคลินิก แนะนำให้ปรึกษาเพื่อขอพบทวนคำวินิจฉัยจากพยาธิแพทย์เสมอ

ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาที่สำคัญในการวินิจฉัยมะเร็ง

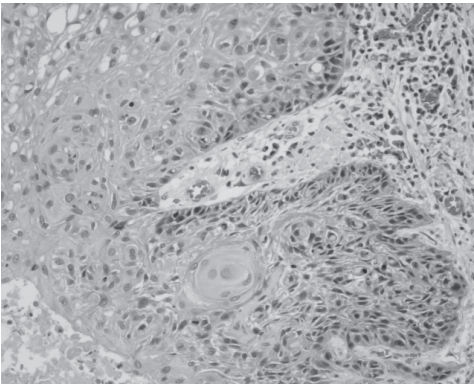
- การสูญเสียโครงสร้างปกติของเนื้อเยื่อในอวัยวะนั้นๆ
- การเจริญเติบโตของเซลล์ไม่เป็นระเบียบ
- การลุกลามไม่ว่าจะเป็นการลุกลามไปยังเนื้อเยื่อ/อวัยวะข้างเคียง หรือการลุกลามเข้าหลอดเลือดและ/หรือหลอดน้ำเหลือง
- เนื้อตาย
- การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ ได้แก่ ขนาดและรูปร่างของเซลล์มีความแตกต่างกัน (pleomorphism) เซลล์มีการพัฒนาตนเองน้อยลง (diminished degree of differentiation)
- นิวเคลียสผิดปกติ (nuclear atypia) ได้แก่ นิวเคลียสมีขนาดใหญ่ขึ้น ลัดส่วนนิวเคลียสต่อซัยโตพลาสซึมเพิ่มขึ้น ขอบนิวเคลียสขรุขระ โครมาตินในนิวเคลียสติดสีเข้มและไม่สม่ำเสมอ เห็นนิวคลีโอลัสชัดเจน

- การแบ่งตัวของเซลล์เพิ่มจำนวนขึ้น รวมทั้งพบการแบ่งตัวที่ผิดปกติ (atypical mitosis)

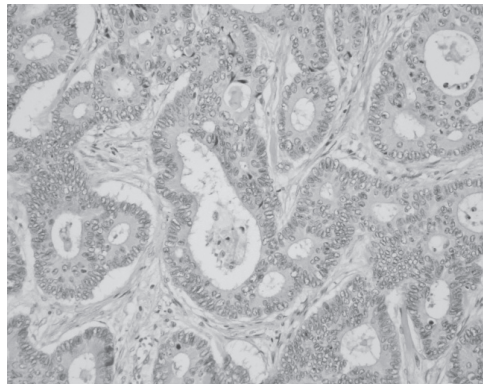
### ชนิดของมะเร็งที่พบบ่อย

1. squamous cell carcinoma (รูปที่ 9) : เซลล์มะเร็งจัดเรียงตัวกันเป็นชั้น มี intercellular bridge (ช่องว่างเล็กๆ) ระหว่างเซลล์ เซลล์มีรูปร่างหลายเหลี่ยม ซ้ายโต พลาสม่าสีชมพูอมส้ม ปริมาณมากแสดงถึงเคราตินที่เซลล์มะเร็งสร้าง อาจพบ keratin pearl โดยเฉพาะใน well differentiated carcinoma

2. adenocarcinoma (รูปที่ 10) : เซลล์มะเร็งจัดเรียงตัวกันเป็นท่อ ต่อม หรือ papillary อาจสร้างสารบางชนิดในปริมาณมากหรือลักษณะทางจุลพยาธิวิทยามีความ



รูปที่ 9



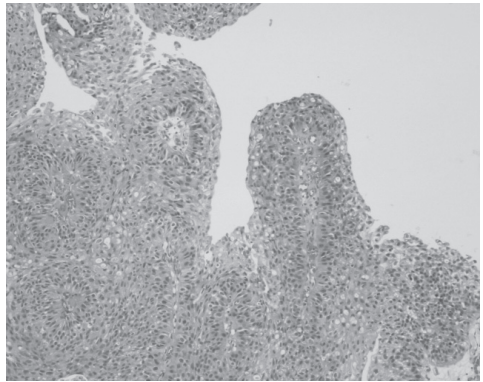
รูปที่ 10



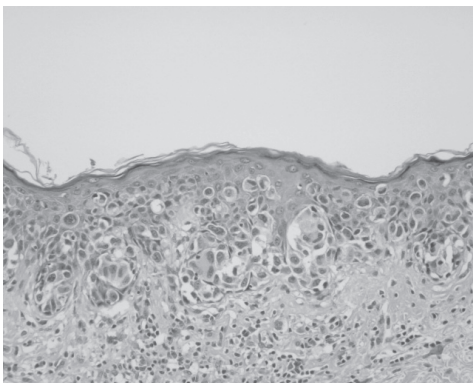
จำเพาะมากกับอวัยวะใดอวัยวะหนึ่งทำให้มีชื่อเรียกที่แตกต่างออกไป เช่น mucinous carcinoma, papillary thyroid carcinoma เป็นต้น

3. urothelial (transitional cell) carcinoma (รูปที่ 11) : มะเร็งของเยื่อหูทางเดินปัสสาวะ เซลล์มะเร็ง มักจัดเรียงตัวเป็น papillary นิวเคลียสของเซลล์ซ้อนกันหลายชั้น ความหมายของ transitional cell คือเซลล์ที่สามารถเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ได้ตามการยืดหดของอวัยวะ

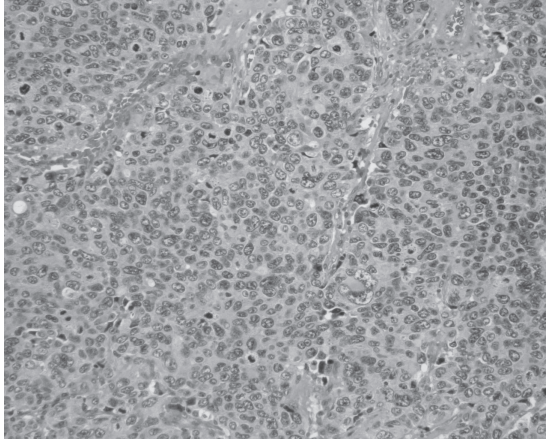
4. melanoma (รูปที่ 12) : มะเร็งของผิวหนัง อาจพบได้ที่เยื่ออวัยวะอื่นประปรายเช่น ทวารหนัก และเยื่อในลูกตา เซลล์มะเร็งอยู่กันเป็นกลุ่มและแทรกเข้าไประหว่างเซลล์ squamous เซลล์มะเร็งมีขนาดใหญ่ นิวคลีโอลัสเด่นชัด และลักษณะที่สำคัญคือ พบเมลานินในไซโตพลาสซึม



รูปที่ 11



รูปที่ 12



รูปที่ 13

5. undifferentiated carcinoma (รูปที่ 13) : เซลล์มะเร็งไม่มีลักษณะบ่งชี้ไปเป็นมะเร็งชนิดใดที่กล่าวมาข้างต้นเลย พบได้บ่อยที่ปอด และ nasopharynx

### การย้อมพิเศษด้วยเทคนิคฮีสโตเคมีและอิมมูโนฮีสโตเคมี

การวินิจฉัยทางพยาธิวิทยาจากสไลด์ถาวรที่ย้อมด้วยสี H&E ของพยาธิแพทย์เปรียบเหมือนการซักประวัติและตรวจร่างกายผู้ป่วย การย้อมสีพิเศษนอกเหนือจาก H&E จึงเปรียบเหมือนการส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการต่างๆ เพื่อช่วยให้การวินิจฉัยแม่นยำและจำเพาะมากยิ่งขึ้น

### การย้อมพิเศษด้วยวิธีฮีสโตเคมี (ตารางที่ 2)

การย้อมด้วยวิธีนี้มีความจำเพาะสูงเนื่องจากอาศัยหลักการของปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจนที่มีอยู่ในเนื้อเยื่อกับแอนติบอดีชนิดต่างๆ ที่เติมลงไป การย้อมด้วยวิธีนี้มีหลักการกว้างๆ คือ

1. จำแนกชนิดของเนื้องอก อาทิ carcinoma หรือ lymphoma, lymphoma ชนิด B-cell หรือ T-cell
2. บอกตำแหน่งของมะเร็งที่กระจายมา

ตารางที่ 2

ชนิดของการย้อม	สีที่ได้	การวินิจฉัยโรค
Acid-fast bacilli (Fite-Faraco, Ziehl-Neelsen, Kinyoun)	ตัวเชื้อติดสีแดง เนื้อเยื่อติดสีฟ้า-น้ำเงิน	การติดเชื้อ mycobacteria ทุกชนิด
Congo red	สาร amyloid ติดสีส้มแดง เมื่อดูผ่านเลนส์โพลาไรซ์ให้สีเขียว แอปเปิ้ล (apple green birefringence)	Amyloidosis
Mucicarmine	สาร mucin และเยื่อหุ้ม cryptococcus ติดสีแดง เนื้อเยื่อติดสีเหลือง-น้ำตาล	Adenocarcinoma, cryptococcosis
PAS	กลัยโคเจน สาร mucin คอลลอยด์ หรือสายรา/ยีสต์ ติดสีชมพูแดง	เนื้องอกที่มีกลัยโคเจน (Ewing/PNET, rhabdomyosarcoma), adenocarcinoma, โรคติดเชื้อรา
PAS-D	เหมือน PAS แต่กลัยโคเจนไม่ติดสี เนื่องจากถูกย่อยด้วย diastase	เนื้องอกที่มีกลัยโคเจน (+PAS, -PAS- D), โรคตับชนิด alpha 1-antitrypsin deficiency
Silver (GMS)	สายรา/ยีสต์, pneumocystis jirovecii ติดสีดำ เนื้อเยื่อติดสีเขียว	โรคติดเชื้อรา และ pneumocystis
Trichrome	คอลลาเจนติดสีน้ำเงิน นิวเคลียสติดสีดำ ซัยโตพลาสซึม กล้ามเนื้อติดสีแดง	Fibrosis โดยเฉพาะในโรคตับ
Warthin-Starry	Spirochete ติดสีดำ เนื้อเยื่อติดสีเหลืองหรือน้ำตาลอ่อน	กระเพาะอาหารอักเสบจาก Heli- cobacter pylori

3. แยกแยะรอยโรค in situ กับ invasive
4. พยากรณ์โรค เช่น Ki67
5. ทำนายการตอบสนองต่อการรักษาจำเพาะ เช่น KIT, ER, PR, HER2/neu

**ตารางที่ 3** การจำแนกกลุ่มของเนื้องอกด้วยแอนติบอดีที่ใช้บ่อย

ชนิดของเนื้องอก	แอนติบอดีที่ใช้บ่อย	หมายเหตุ
Carcinoma	Cytokeratin (AE1 /AE3), CAM5.2, EMA	มะเร็งบางชนิดที่ไม่ใช่ carcinoma อาจให้ผลบวกกับ แอนติบอดีกลุ่มนี้ เช่น epithelioid sarcoma, mesothelioma
Lymphoma	LCA (leukocyte common antigen)	ให้ผลบวกในเกือบทั้งหมดของ non-Hodgkin lymphoma ร้อยละ 30 ของ anaplastic large cell lymphoma ให้ผลลบต่อ LCA แต่ให้ผลบวกต่อ EMA
Melanoma	S100, HMB-45, Melan-A	S100 ให้ผลบวกในเกือบทั้งหมดของ melanoma มะเร็งชนิดอื่นอาจให้ผลบวกต่อ S100 เช่น breast carcinoma, sarcoma บางชนิด
Sarcoma	Vimentin	ให้ผลบวกในเกือบทั้งหมดของ sarcoma รวมทั้ง primitive tumor อาจให้ผลบวกใน lymphoma บางชนิด

**แอนติบอดีสำหรับวินิจฉัยแยกโรคใน tumors of unknown origin**

ชนิดของเนื้องอกที่สงสัย	แอนติบอดี	หมายเหตุ
Breast cancer	ER, PR HER-2/neu GCDFP-15	
Carcinoid tumor (neuroendocrine tumor)	Chromogranin Synaptophysin	การวินิจฉัยควรมีการย้อม Ki67 proliferative index เพื่อการให้เกรดที่ถูกต้อง
GIST	c-kit (CD117)	
Lung adenocarcinoma	TTF-1	
Lymphoma	LCA ร่วมกับ B- หรือ T-cell markers ขึ้นกับชนิด	
Thyroid carcinoma	Thyroglobulin TTF-1	
Prostate cancer	PSA (prostate specific antigen)	
Hepatocellular carcinoma	Hepar-1, Glypican-3	

## การตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

การตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนมีประโยชน์ในแง่การตรวจหาส่วนประกอบ ภายในเซลล์ที่มองไม่เห็นด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา เพื่อระบุชนิดของเซลล์ อาทิ การตรวจหา melanosome เพื่อระบุชนิดของเนื้องอกที่มีลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา เป็น “undifferentiated tumor” ว่าเป็น malignant melanoma และการวินิจฉัยโรคไตกลุ่ม glomerular disease อย่างไรก็ตามบทบาทของการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนในปัจจุบันลดน้อยลงไปมาก เพราะถูกทดแทนด้วยการตรวจทางอิมมูโนฮิสโตเคมีซึ่งทำได้เร็วกว่า และมีความจำเพาะสูง นอกจากนี้ลักษณะของเซลล์ที่มองเห็นจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนมิสามารถจำแนกเนื้องอกร้ายแรงกับเนื้องอกไม่ร้ายแรงออกจากกันได้

## การวินิจฉัยทางเซลล์วิทยา

การตรวจทางเซลล์วิทยามีบทบาทสำคัญทั้งในการคัดกรองโรค อาทิ การตรวจแปปสเมียร์สำหรับคัดกรองมะเร็งปากมดลูก รวมทั้งการวินิจฉัยเบื้องต้นสำหรับก้อนผิดปกติต่างๆ ข้อดีของการตรวจทางเซลล์วิทยาคือทำได้เร็ว และมีผลแทรกซ้อนต่อผู้ป่วยน้อย แต่มีข้อจำกัดที่สำคัญคือ ปริมาณของเซลล์หรือเนื้อเยื่อที่ได้น้อย ซึ่งอาจไม่เพียงพอต่อการวินิจฉัย นอกจากนี้ การวินิจฉัยทางเซลล์วิทยาให้ได้ถูกต้องและแม่นยำ จำเป็นต้องมีข้อมูลทางคลินิกที่สำคัญประกอบการวินิจฉัยเสมอ

### สิ่งส่งตรวจทางเซลล์วิทยา แบ่งออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ ได้แก่

1. ของเหลว หรือสารคัดหลั่งต่างๆ ของร่างกายเช่น ปัสสาวะ เสมหะ น้ำในช่องต่างๆ ของร่างกาย สิ่งส่งตรวจประเภทนี้ควรรีบนำส่งห้องปฏิบัติการทันที เพื่อป้องกันการเสื่อมสภาพของเซลล์ กรณีที่ไม่สามารถส่งตรวจได้ทันที แนะนำให้เก็บในภาชนะปิดฝาปิดสนิท และแช่ในตู้เย็นช่องธรรมดา (4 องศาเซลเซียส) แล้วรีบนำส่งเช่นกัน ห้ามเก็บไว้ในช่องแช่แข็งโดยเด็ดขาด

2. ของเหลวจากอวัยวะต่างๆ ที่ได้จากการเจาะดูดด้วยเข็มขนาดเล็ก (FNA) อาทิ จากต่อมไทรอยด์ ต่อม้ำเหลือง ก้อนในเต้านม เมื่อเจาะได้แล้วให้ป้ายลงบนสไลด์

และใช้สไลด์อีกแผ่นประกบแล้วดึงแยกจากกัน เซลล์ไลต์ลงใน 95% แอลกอฮอล์ทันที เพื่อป้องกันเซลล์บนสไลด์แห้ง

การวินิจฉัยทางเซลล์วิทยาโดยทั่วไปสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ลักษณะ ดังนี้

**1. Positive for malignancy:** การวินิจฉัยลักษณะนี้แสดงว่า พยาธิแพทย์พบลักษณะผิดปกติของเซลล์มะเร็งอย่างชัดเจน และมั่นใจว่าเป็นมะเร็งแน่นอน

**2. Suspicious for malignancy:** พยาธิแพทย์อาจพบเซลล์ผิดปกติที่น่าสงสัยว่าจะเป็นมะเร็ง แต่อาจมีปริมาณของเซลล์ผิดปกติ น้อย หรือพบการตายของเซลล์ปริมาณมาก การวินิจฉัยลักษณะนี้ ผู้ป่วยควรได้รับการตรวจเพิ่มเติม อาทิ การส่งตรวจทางเซลล์วิทยาซ้ำ หรือการตัดชิ้นเนื้อตรวจ ในบางกรณีศัลยแพทย์อาจตัดสินใจรักษาแบบมะเร็ง โดยไม่ส่งตรวจอย่างอื่นเพิ่มเติมเมื่ออาการทางคลินิกและภาพถ่ายทางรังสีวิทยาบ่งชี้ว่าเป็นมะเร็ง

**3. Atypia:** ในกรณีที่พยาธิแพทย์เห็นความผิดปกติของเซลล์ แต่ลักษณะก้ำกึ่งระหว่างเซลล์มะเร็งและเซลล์ที่ไม่ใช่มะเร็ง พยาธิแพทย์อาจให้การวินิจฉัยว่า ผิดปกติ ซึ่งการวินิจฉัยลักษณะนี้ ผู้ป่วยจำเป็นต้องได้รับการตรวจอย่างอื่นเพิ่มเติมเพื่อให้ได้การวินิจฉัยเฉพาะ เนื่องจากลักษณะ atypia ของเซลล์อาจพบได้ในสภาวะบางอย่างเช่น การอักเสบ หรือการเปลี่ยนแปลงตามหลังการฉายแสง เป็นต้น

**4. Negative:** การวินิจฉัยลักษณะนี้แสดงว่า พยาธิแพทย์ไม่เห็นเซลล์ผิดปกติที่น่าสงสัยว่าจะเป็นมะเร็ง อย่างไรก็ตาม ผลลบของเซลล์วิทยาอาจเกิดขึ้นได้จากการเก็บเซลล์ไม่เพียงพอ หรือไม่ถูกตำแหน่ง เช่น FNA จากต่อมน้ำเหลืองต่อมที่ไม่มีการกระจายของมะเร็ง โดยที่ต่อมน้ำเหลืองต่อมอื่นๆ ข้างเคียงมีมะเร็ง เป็นต้น

## การจัดเก็บชิ้นเนื้อ สไลด์กระจก บล็อกพาราฟิน และใบรายงานผล

ตามข้อกำหนดของราชวิทยาลัยพยาธิแพทย์แห่งประเทศไทย กำหนดให้เก็บเอกสาร และวัตถุทางพยาธิวิทยา ดังนี้

ใบรายงานผลการตรวจทางพยาธิวิทยา	ไม่น้อยกว่า 20 ปี
สไลด์กระจก	ไม่น้อยกว่า 5 ปี
บล็อกพาราฟิน	ไม่น้อยกว่า 5 ปี

ขึ้นเนื้อแช่น้ำยารักษาสภาพที่เหลือจากการส่องตรวจ อย่างน้อย 2 สัปดาห์หลัง  
เสร็จสิ้นการรายงานผล  
การวินิจฉัย

กรณีที่คล้ายแพทย์ต้องการทบทวนสไลด์เก่า ค้นประวัติการวินิจฉัยเดิม หรือ  
ต้องการทำวิจัยรวบรวมข้อมูลย้อนหลังที่เกี่ยวข้องกับการวินิจฉัยทางพยาธิวิทยา ก็  
สามารถทำได้โดยติดต่อกับหน่วยหรือภาควิชาพยาธิวิทยาในโรงพยาบาลนั้นๆ

### เอกสารอ้างอิง

1. Lester SC, editor. Manual of surgical pathology. 2nd ed. Elsevier; 2006.
2. Connolly JL, Schnitt SJ, Wang HH, Longtine AJ, Dvorak A, Dvorak HF. Role of the surgical pathologist in the diagnosis and management of the cancer patient. In: Kufe DW, Pollock RE, Weichselbaum RR, et al, editors. Holland-Frei cancer medicine. 6th edition. Hamilton (ON): BC Decker; 2003. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK13237/>
3. Rosai J. Introduction. In: Rosai and Ackerman's surgical pathology. 9th ed. St. Louis, MO: Mosby; 2004:1-23.
4. Porterfield RR. The pathologist's role in medical care; Part II: overview of surgical pathology. AMWA J 2009;24(2):54-61.
5. สมรมาศ กั้นเงิน. Current practice in pathological examination of sentinel lymph node in breast cancer: concept, trends and institutional experience. ใน: ลีริฟงศ์ ชิวธนากรณ์กุล, บรรณาธิการ. การผ่าตัดต่อมน้ำเหลืองเซนติเนลสำหรับผู้ป่วยมะเร็งเต้านม. สงขลา: คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์; 2550. หน้า 41-60.

