

การฟื้นฟูบทบาทของการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Electron microscopy) ในการวินิจฉัยทางศัลยพยาธิวิทยา

วรรณช ปัญญาารวดี *

ในปี 1934 Technical University of Berlin โดย Max Knoll และ Ernst Ruska ได้เริ่มนำเรื่องของประจุลบของอิเล็กตรอนมาใช้สร้างสนามไฟฟ้า ต่อมาเริ่มพัฒนาและผลิตเป็นกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน และได้เริ่มนำมาใช้งานทางด้านจุลชีววิทยาในปี 1934 ในปี 1968 โดย Juan Rosai และ Hector Rodriquiz ได้ริเริ่มสำหรับการนำไปใช้ประโยชน์ในการช่วยวินิจฉัยสำหรับงานทางพยาธิวิทยาที่เป็นปัญหาในกรณีที่ตรวจโดย H&E แล้วยังไม่สามารถหาคำตอบได้ จากจุดนี้เองกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนเริ่มมีบทบาทเพิ่มมากขึ้น ๆ จนกระทั่งในปี 1980 อิมมูโนฮิสโตเคมีเริ่มเกิดขึ้น และพบว่ามีความสำคัญและแพร่หลายสำหรับงานวินิจฉัยทางพยาธิวิทยา สืบเนื่องมาจากเทคนิคในการทำซึ่งเป็นการตรวจหาโปรตีนที่อยู่ในเนื้อเยื่อโดยใช้แอนติบอดีที่เชื่อมต่อกับโครโมเจน (Chromogen) ซึ่งสามารถที่จะตรวจสอบได้ในชิ้นเนื้อซึ่งมีขนาดเท่า ๆ กับการตรวจโดย H&E และสามารถจัดตั้งห้องปฏิบัติการดังกล่าวโดยมีการลงทุนที่ต่ำกว่า ซึ่งประเด็นนี้เป็นข้อแตกต่างอย่างเห็นได้ชัดกับกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนซึ่งเครื่องมือมีราคาแพงมาก นอกจากนั้นจะต้องมีแพทย์และบุคลากรชำนาญการทางด้านนี้โดยเฉพาะ ส่วนข้อจำกัดอื่น ๆ คือชิ้นเนื้อที่ใช้ตรวจซึ่งจะต้องมีขนาดเล็ก (<1 ตารางมิลลิเมตร) และจะต้องทำการคัดเลือกหาบริเวณที่จะเป็นตัวแทนของสิ่งที่ต้องการตรวจและสามารถแปรผลได้

จากเหตุผลดังกล่าวนี้ทำให้ความนิยมในการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนเพื่อใช้ในงานวินิจฉัยลดลงจนเกิดคำถามที่ว่า "จริงหรือไม่ที่การใช้งานของกล้องจุลทรรศน์

อิเล็กตรอนในการวินิจฉัยทางพยาธิวิทยากำลังจะสูญหายไป ? "หรือคำถามที่ว่า " อิมมูโนฮิสโตเคมีสามารถที่จะเข้ามาแทนที่กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนในการช่วยวินิจฉัยทางพยาธิวิทยาหรือไม่ ? " ซึ่งคำถามดังกล่าวนี้ทำให้พยาธิแพทย์ควรจะทบทวนบทบาทในการใช้งานของแต่ละวิธีที่นำมาช่วยในการวินิจฉัย ซึ่งแต่ละวิธีมีข้อดี ข้อเสียและมีข้อจำกัดที่แตกต่างกันตัวอย่างเช่น วิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีนอกจากจะมีข้อดีซึ่งได้กล่าวไว้แล้วข้างต้นยังมีข้อเสียและข้อจำกัดดังนี้คือ

1. การจัดตั้งห้องปฏิบัติการทางอิมมูโนฮิสโตเคมีจะต้องมีการควบคุมคุณภาพที่เชื่อถือได้ มิฉะนั้นการแปรผลจะขาดความเชื่อถือ
2. ผลจาก Cross reactivity และ Unexpected (aberrant) immunostaining ซึ่งทำให้ความจำเพาะของแอนติบอดีแต่ละตัวลดลง (less specific) เช่น ในช่วงเริ่มต้นพบว่า Cytokeratin ตรวจพบเฉพาะใน Epithelial cell และ Desmin พบเฉพาะในเซลล์กล้ามเนื้อเท่านั้น เป็นต้น แต่ปัจจุบันมีรายงานเพิ่มมากขึ้นถึงความไม่จำเพาะของการติดของแอนติบอดีต่อเซลล์หรือมะเร็งบางชนิดทำให้การแปรผลยาก และจะต้องเพิ่มความระมัดระวังสำหรับ False positive and False negative ซึ่งบางครั้งทำให้ไม่สามารถวินิจฉัยโรคได้ถูกต้องถึงแม้ว่าจะใช้แอนติบอดีร่วมในการวินิจฉัยมากมายหลายชนิดก็ตาม
3. การตรวจโดยใช้ชุดของแอนติบอดี (Panel of antibodies) ซึ่งจะมีหลายตัวและการส่งหรือนำไปใช้งานจะต้องอยู่ในกลุ่มที่เหมาะสมกับการแยกวินิจฉัยโรคซึ่งปัญหา

* ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การที่จะต้องใช้แอนติบอดีหลายตัวทำให้ค่าใช้จ่ายเพิ่มมากขึ้น นอกจากนั้นการสังเคราะห์ของแอนติบอดีที่ผิดทางจะนำไปสู่การวินิจฉัยที่ผิดพลาดได้

ถึงแม้ว่าจะมีการนำอิมมูโนฮิสโตเคมีมาช่วยในงานวินิจฉัยแล้วก็ตามพบว่าในงานทางศัลยพยาธิวิทยา ยังมี case ที่มีปัญหาเหลืออีกประมาณ 3 - 15 % ที่ยังไม่มีความตอบท้ายสุดสำหรับการวินิจฉัย ดังนั้น ณ จุดนี้เองกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนจึงเข้ามามีบทบาทในการวินิจฉัยซึ่งพยาธิแพทย์ไม่สามารถจะมองข้ามไป ยกตัวอย่างเช่น

1. กลุ่มที่เป็น Undifferentiated หรือ Poorly differentiated neoplasm

2. กลุ่มที่เป็นมะเร็งแพร่กระจาย (Metastasis) ช่วยบ่งบอกจุดกำเนิดต้น (primary site)

3. กลุ่มมะเร็งเนื้อเยื่ออ่อนช่วยในการวินิจฉัยและ subclassification

4. กลุ่มมะเร็งสมอง เช่น Ependymal, neuronal, glial or meningeal differentiation

5. กลุ่ม Neuroendocrine neoplasm

6. กลุ่มเซลล์ที่มีรูปร่างกลมและขนาดเล็ก เช่น small round cell neoplasm in adult and children

7. ช่วยในการวินิจฉัยแยกโรคในกลุ่มที่มีข้อโต้แย้ง จาก H&E และ อิมมูโนฮิสโตเคมี เช่น

- Mesothelioma กับ Adenocarcinoma

- Adrenocortical neoplasm กับ Renal cell carcinoma

- Smooth muscle neoplasm กับ Nerve sheath tumor

- Langerhan's cell granulomatosis กับ neoplastic or reactive infiltrative lesion

นอกเหนือจากกลุ่มมะเร็งดังกล่าวแล้วกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนยังมีบทบาทที่สำคัญสำหรับกลุ่มที่ไม่ใช่มะเร็ง (Non - neoplastic) ได้แก่

1. โรคไต (Kidney disease) โดยเฉพาะ Glomerular disease

2. ตรวจหาเชื้อที่ทำให้เกิดโรค โดยเฉพาะ Opportunistic infection ในกลุ่มผู้ป่วยเอดส์

3. Metabolic storage disease

4. Autoimmune disease

5. Cutaneous disease

จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นจะเห็นได้ว่าบทบาทของการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนซึ่งตรวจหาการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อในระดับเซลล์และองค์ประกอบของเซลล์นั้น ยังคงมีบทบาทที่สำคัญมากซึ่งอิมมูโนฮิสโตเคมีไม่สามารถที่จะเข้ามาแทนที่ได้ทั้งหมด ดังนั้นแพทย์ผู้ทำการรักษาและพยาธิแพทย์ควรจะต้องมีความเข้าใจร่วมกันในการเตรียม และจัดส่งชิ้นเนื้อจากผู้ป่วยเพื่อส่งตรวจโดยเลือกใช้ fixative (3 % glutaraldehyde) ที่เหมาะสม ซึ่งสามารถติดต่อขอรับน้ำยาได้ที่ห้องปฏิบัติการ โดยปกติขั้นตอนในการจัดเตรียมชิ้นเนื้อเพื่อตรวจโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนจะใช้เวลานานเป็นสัปดาห์แต่ปัจจุบันนี้ได้มีการพัฒนาเพื่อย่นระยะเวลาในการเตรียมชิ้นเนื้อ ซึ่งจะขึ้นอยู่กับขีดความสามารถของแต่ละห้องปฏิบัติการนั้น ๆ ว่ามีความพร้อมเพียงใด แต่อย่างไรก็ตามแพทย์ควรจะต้องเข้าใจถึงแนวทางการวินิจฉัยชิ้นเนื้อเพื่อให้ได้คำตอบท้ายสุดเพื่อการรักษาผู้ป่วย ในกรณีที่ผลจากการ Biopsy และย้อมอิมมูโนฮิสโตเคมีเบื้องต้นแล้วยังไม่สามารถให้คำวินิจฉัยท้ายสุด การพิจารณาใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนเพื่อตรวจในบริเวณที่สงสัยโดยส่งชิ้นเนื้อสดหรือแช่ใน fixative ที่เหมาะสมจะส่งผลทำให้การแปรผลได้ง่าย, ถูกต้อง และมีประโยชน์โดยที่ไม่ต้องกลับไปนำชิ้นเนื้อมาตรวจใหม่ทางกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนจากชิ้นเนื้อที่ผ่านการแช่ในฟอร์มาลินมาแล้ว

ดังนั้นจากบทความดังกล่าวข้างต้นจะเห็นได้ว่ากล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนยังคงมีบทบาทที่สำคัญเมื่อนำมาใช้งานในบางกลุ่มโรค หรือในกรณีที่การตรวจโดยใช้วิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีร่วมด้วยแล้วยังไม่สามารถให้การวินิจฉัยที่แท้จริงได้