

การใช้เทคนิคไมโครเวฟในกระบวนการทางจุลพยาธิวิทยา

วิมลรัษฎ์ หงส์วิไล วท.บ. ชีววิทยาประยุกต์*

สุจิตรา ต้นทวนิช วท.ม. พยาธิชีววิทยา*

ศิริวรรณ ตั้งจิตกมล ภ.บ., พ.บ., ว.ว. พยาธิวิทยากายวิภาค, ว.ว. สูติศาสตร์-นรีเวชวิทยา**

บทคัดย่อ

การนำไมโครเวฟมาใช้ในกระบวนการทางจุลพยาธิวิทยา เพื่อเตรียมเนื้อเยื่อสำหรับตรวจพยาธิสภาพได้รับการยอมรับมานานกว่า 2-3 ทศวรรษแล้ว เนื่องจากมีข้อดีคือสามารถลดเวลาในขั้นตอนต่าง ๆ ลงเป็นอันมาก เป็นผลให้การวินิจฉัยโรคเร็วขึ้นเมื่อเทียบกับวิธีมาตรฐาน (conventional method) ลดความวิตกกังวลของผู้ป่วยในการรอผลการวินิจฉัยโรค คุณภาพของสไลด์เนื้อเยื่อที่ผ่านการย้อมโดยเทคนิคไมโครเวฟไม่มีความแตกต่างจากสไลด์ที่ผ่านการย้อมโดยวิธีมาตรฐาน นอกจากนั้นยังทำให้สภาพแวดล้อมภายในห้องปฏิบัติการดีขึ้น เนื่องจากไม่ได้ใช้ฟอร์มาลีน และไซลีน ซึ่งมีฤทธิ์ระคายเคืองต่อเยื่อทางเดินหายใจและผิวหนังในขั้นตอนการเตรียมเนื้อเยื่อเช่นในวิธีเตรียมแบบมาตรฐาน

Abstract

Microwave Technique For Histopathology Processing

Wimonrath Hongwilai BSc (Applied biology)*

Sujitra Tanvanich MSc (Pathobiology)*

Siriwan Tangjitgamol MD**

* Department of Anatomical Pathology

** Department of Obstetrics and Gynecology

Faculty of Medicine Vajira Hospital, University of Bangkok Metropolis

Implementation of histopathological processing by microwave has been recognized for more than two to three decades. It's main advantage is a considerable reduction of processing time. This ultimately results in a faster diagnosis compared to the conventional method, therefore reducing anxiety of the patients. The quality of the dye staining of the slides through microwave technique is not different from that using conventional method. Furthermore, microwave technique also improves the laboratory environment because it does not involve formalin or xylene normally used in the conventional method, which are mucosal and dermatological irritant.

Keywords: conventional tissue processing, microwave tissue processing

บทนำ

ไมโครเวฟเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า เช่นเดียวกับแสงสว่าง โดยอยู่ในช่วงของคลื่นวิทยุความถี่สูง (high frequency radio wave) เมื่อรังสีมีความถี่สูงขึ้น ความยาวคลื่นจะลดลง หรือสั้นมาก ดังนั้นคลื่นชนิดนี้จึงได้ชื่อว่าไมโครเวฟ ส่วนประกอบสำคัญของเตาไมโครเวฟ คืออุปกรณ์ที่เรียกว่าแมกนีตรอน (magnetron) ซึ่งจะเป็นตัวเปลี่ยนพลังงานไฟฟ้าให้เป็นคลื่นไมโครเวฟ โดยพลังงานไฟฟ้าที่เป็นต้นกำเนิดจะเป็นไฟฟ้ากระแสสลับแรงดันต่ำ ประมาณ 3-4 โวลต์ ซึ่งจะทำให้ไส้หลอดร้อนและเมื่อไฟฟ้ามีแรงดัน สูงมากกว่า 4,000 โวลต์ที่ขั้วใดขั้วหนึ่งของไส้หลอดซึ่งทำหน้าที่เป็น คาโทดซึ่งจะปล่อยอิเล็กตรอนออกมาและถูกบังคับให้เคลื่อนที่ภายใต้ อิทธิพลของสนามไฟฟ้าและสนามแม่เหล็กถาวรไปยังขั้วแอโนดและ ทำให้แมกนีตรอนสามารถปล่อยคลื่นไมโครเวฟออกมาได้โดยความถี่ ของคลื่นไมโครเวฟจะมีค่าเท่ากับ 2.45 GHz

คลื่นไมโครเวฟจะพุ่งเข้าสู่วัตถุทุกทิศทางจากรอบผนัง เตาด้านในแล้วแผ่กระจายไปสู่วัตถุ เมื่อคลื่นกระทบวัตถุทำให้ โมเลกุลน้ำในวัตถุเกิดการสั่นสะเทือนและเสียดสีกัน เป็นผลให้เกิด พลังงานความร้อนอย่างรวดเร็ว ฉะนั้นไมโครเวฟจึงเป็นคลื่นไมโครเวฟ รังสี มีการสลายตัว ไมโครกระจาย และไมโครผสมในร่างกาย จึงไม่เป็น อันตรายต่อมนุษย์ ด้วยคุณสมบัติดังกล่าวจึงมีการพัฒนามาเตา ไมโครเวฟมาใช้ในกิจกรรมหลายประเภททั้งในครัวเรือน เช่น การปรุงอาหารให้สุกได้อย่างรวดเร็ว และในห้องปฏิบัติการทาง วิทยาศาสตร์ ได้แก่ การเตรียมสไลด์เนื้อเยื่อทางจุลพยาธิวิทยา^{1,2}

ตั้งแต่เริ่มมีการค้นคว้ามากกว่า 20 ปี เกี่ยวกับการใช้ ไมโครเวฟในงานจุลพยาธิวิทยา³ พบว่ามีการนำประโยชน์จาก ไมโครเวฟมาใช้ตามห้องปฏิบัติการหลายแห่งโดยลดเวลาที่ใช้ใน การเตรียมเนื้อเยื่อและขั้นตอนการย้อมสีฮิสโตเคมี ไมโครเวฟ เพิ่มความเร็วของการปฏิบัติงานโดยลดเวลาในหลายขั้นตอน ได้แก่ การตรึงสภาพ (fixative) โดยเร่งปฏิกิริยาในการตรึงสภาพ เนื้อเยื่อ ทำให้สามารถตรึงสภาพสิ่งส่งตรวจที่มีขนาดใหญ่หรือสมอง ได้ในเวลาอันสั้น กระบวนการเตรียมเนื้อเยื่อ โดยการดึงน้ำออกจาก เซลล์ของเนื้อเยื่อ (dehydration) การทำให้ใส (clearing) และการแทนที่สารเคมีที่ทำให้ใสด้วยพาราฟิน

การเตรียมเนื้อเยื่อ

กระบวนการเตรียมเนื้อเยื่อนั้นมีขั้นตอนต่าง ๆ กัน การ เตรียมด้วยวิธีมาตรฐานซึ่งเป็นวิธีที่ใช้กันมานานกว่า 100 ปีมาแล้ว จะใช้เวลาในการเตรียมเนื้อเยื่อนานกว่า 10 ชั่วโมง จำนวนสารเคมี ที่ใช้ในขั้นตอนต่าง ๆ มีปริมาณมาก และยังคงใช้สารเคมีที่เป็น อันตรายเช่น ฟอรัมาลิน และไซลีน ส่วนวิธีการเตรียมเนื้อเยื่อโดยใช้

ไมโครเวฟนั้นมีการนำมาใช้ครั้งแรกในปี ค.ศ. 1985 โดย Kok และ คณะ⁴ วิธีการนี้อาศัยคุณสมบัติการทะลุทะลวงของคลื่นไมโครเวฟ เมื่อสารละลายดูดซับพลังงานไมโครเวฟเข้าไป จะทำให้โมเลกุล สั่นสะเทือนและเกิดการเสียดสีกัน เป็นผลให้สารละลายและเนื้อเยื่อ เกิดพลังงานความร้อนอย่างรวดเร็วภายในเซลล์ของเนื้อเยื่อ ความ ร้อนนี้จะช่วยลดความหนืดของสารละลาย ทำให้การแพร่ของสาร ละลายเข้าสู่เซลล์เกิดได้เร็วขึ้น⁵ ปริมาณของสารเคมีที่ใช้น้อยกว่าวิธี มาตรฐาน และสามารถใส่สารเคมีอื่น ๆ ที่มีคุณสมบัติดีกว่าหรือ เทียบเท่าทดแทนสารเคมีที่เป็นอันตรายได้

ขั้นตอนต่าง ๆ ในการเตรียมเนื้อเยื่อ ได้แก่

1. การตรึงสภาพเนื้อเยื่อ (fixation) เพื่อให้คงรูปคล้ายกับ สภาพเดิมสุดท้ายที่อยู่ในร่างกายโดยการทำให้เนื้อเยื่อแข็งตัว ในกรณี ที่ตรึงสภาพไม่สมบูรณ์จะเกิดการไม่จับตัวกันของโครงสร้างเนื้อเยื่อ เกิดฟองอากาศในเซกชันเนื้อเยื่อที่ตัดออกมา การติดสีย้อมไม่ สม่าเสมอ การหดตัวของเซลล์ การรวมตัวกันเป็นก้อนของไซโท- พลาซึม และการแตกของเซลล์เม็ดเลือดแดง⁶ การตรึงสภาพ เนื้อเยื่อด้วยวิธีมาตรฐาน คือ การใช้บัพเฟอร์ฟอรัมาลินซึ่งต้องใช้ เวลานาน และยังมีรายงานว่ามากกว่าร้อยละ 40 ของโปรตีนจะ หายไปหลังจากแช่เนื้อเยื่อในฟอรัมาลิน⁷ ส่วนวิธีการเตรียมด้วย ไมโครเวฟมีข้อดีกว่าวิธีมาตรฐาน คือใช้เวลาสั้นกว่าและไม่ต้องใช้ ฟอรัมาลิน โดยใช้สารละลายอื่น เช่น ketone, aldehyde, al-cohol, acetic acid, chromic acid, picric acid เป็นต้น⁸
- การตรึงสภาพเนื้อเยื่อโดยวิธีมาตรฐานจะแช่เนื้อเยื่อใน บัพเฟอร์ฟอรัมาลินนาน 1 ชั่วโมง⁹ หากตรึงสภาพเนื้อเยื่อโดยใช้ เทคนิคไมโครเวฟ จะแช่เนื้อเยื่อใน normal saline ที่ 55 องศา-เซลเซียส เป็นเวลา 5-20 นาที¹⁰
2. การดึงน้ำออกจากเซลล์ของเนื้อเยื่อ (dehydration) โดยใช้สารเคมีที่มีหน้าที่ดูดน้ำ ทั้งนี้เพื่อเตรียมเนื้อเยื่อให้พร้อม ที่จะยอมให้ embedding media ซึมผ่านเข้าไปได้ สารเคมีที่ใช้ใน การเอาน้ำออกเรียกว่า dehydrant ได้แก่ ethyl alcohol, me- thyl alcohol, butyl alcohol, isopropyl alcohol, acetone, dioxane, tetrahydrofuran, cellusolve และ triethyl phos- phate วิธีมาตรฐานโดยทั่วไปนิยมใช้ ethyl alcohol ซึ่งเป็น สารเคมีที่ดูดเอาน้ำออกจากเนื้อเยื่อได้อย่างรวดเร็วโดยไม่ทำให้เนื้อเยื่อ แข็งหรือเปราะ และไม่เป็นที่ต่อสูสภาพ แต่มีข้อเสียคืออาจทำให้ เนื้อเยื่อเหี่ยวย่นได้หากแช่เป็นเวลานาน การดูดเอาน้ำออกกระทำ โดยผ่านชั้นเนื้อเยื่อในแอลกอฮอล์ที่มีความเข้มข้นจากน้อยไปมาก คือ ร้อยละ 70 ร้อยละ 80 ร้อยละ 95 ไปจนถึงร้อยละ 100 ถ้าเริ่มจากความเข้มข้นมากกว่าร้อยละ 80 จะทำให้เนื้อเยื่อแข็งและ เปราะ ถ้าแช่ในแอลกอฮอล์ความเข้มข้นต่ำกว่าร้อยละ 70 นาน ๆ

จะทำให้เนื้อเยื่อละลายได้^{11,12} ส่วนวิธีการดึงน้ำออกจากเซลล์ของเนื้อเยื่อโดยวิธีไมโครเวฟ สารละลายที่ใช้จะต้องระเหยกลายเป็นไอได้อย่างรวดเร็ว จึงลดเวลาในขั้นตอนต่อไปคือขั้นตอนการทำเนื้อเยื่อให้ใส สารเคมีที่ใช้ในกระบวนการนี้ เช่น methanol, ketone, dioxane, alkylene glycols, polyalkylene glycols เป็นต้น¹³

การดึงน้ำออกจากเซลล์ของเนื้อเยื่อโดยวิธีมาตรฐานจะแช่เนื้อเยื่อใน ethyl alcohol เริ่มจากความเข้มข้นต่ำไปหาสูงด้วยคือ ร้อยละ 80 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ร้อยละ 95 ครั้งละ 1 ชั่วโมง จำนวน 2 ครั้ง และความเข้มข้นร้อยละ 100 ครั้งละ 1 ชั่วโมง จำนวน 3 ครั้ง รวมเวลาในขั้นตอนนี้ทั้งหมด 6 ชั่วโมง⁹ ส่วนวิธีการดึงน้ำออกจากเซลล์ของเนื้อเยื่อโดยใช้เทคนิคไมโครเวฟ จะแช่เนื้อเยื่อใน methanol ความเข้มข้นร้อยละ 100 ที่อุณหภูมิ 35-40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที¹⁴

3. การทำให้ใส (clearing) คือการนำสารเคมีตัวใหม่มาแทนที่ dehydrant และสารเคมีตัวนี้เป็นตัวกลางที่ยอมให้ embedding media แทรกซึมเข้าสู่เซลล์และเนื้อเยื่อได้ ตัวกลางนี้เรียกว่า clearing reagent โดยวิธีมาตรฐานได้แก่ ไซลีน, chloroform, toluene, benzene, dioxane เป็นต้น^{11,12} สารเคมีที่ใช้ในการทำใสด้วยเทคนิคไมโครเวฟ คือ isopropyl alcohol เนื่องจากมีคุณสมบัติในการซึมสู่เซลล์ได้ดีเมื่อทำให้เกิดความร้อนจากการได้รับคลื่นไมโครเวฟ และระเหยเป็นไอได้ง่าย มีความเป็นพิษน้อยกว่าไซลีน และราคาถูกกว่าไซลีน และ chloroform¹⁵

การทำให้ใสโดยวิธีมาตรฐานจะแช่เนื้อเยื่อในไซลีน ครั้งละ 1 ชั่วโมง จำนวน 2 ครั้ง⁹ ส่วนการทำใสโดยเทคนิคไมโครเวฟ จะแช่เนื้อเยื่อใน isopropyl alcohol ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ความดัน 700 hPa เป็นเวลา 2 ชั่วโมง¹⁴

4. การแทนที่ clearing reagent ด้วยพาราฟิน (impregnation) เพื่อให้พาราฟินซึ่งเป็น embedding media สามารถแทรกซึมเข้าไปในเนื้อเยื่อได้ โดย embedding media นี้จะช่วยให้เซลล์และเนื้อเยื่อ ตลอดจนโครงสร้างภายในของเซลล์และเนื้อเยื่อคงรูปและแข็งแรงที่จะตัดเป็นสไลด์ได้¹¹ พาราฟินเป็นที่นิยมในการนำมาใช้ฝังเนื้อเยื่อมากกว่า 100 ปีแล้ว เพราะเป็นตัวกลางที่ดีที่สุดสำหรับการฝังเนื้อเยื่อ เนื่องจากสามารถแทรกซึมเข้าเซลล์เนื้อเยื่อในรูปแบบของของเหลวเมื่ออุณหภูมิสูง และจะแข็งตัวที่อุณหภูมิห้อง¹⁶ ในขั้นตอนนี้เมื่อเตรียมด้วยวิธีมาตรฐานมีข้อเสียคือ ไซลีน ซึ่งเป็น clearing reagent จะแพร่ออกจากเนื้อเยื่ออย่างช้า ๆ ทำให้การแทรกซึมเข้าแทนที่ของพาราฟินจะเป็นไปอย่างค่อยเป็นค่อยไป ส่วนการใช้เทคนิคไมโครเวฟมีข้อดีก็คือ isopropyl alcohol จะมีคุณสมบัติในการระเหยเป็นไอได้ง่าย พาราฟินจึงแทรกซึมเข้าสู่เนื้อเยื่อได้ง่าย และใช้เวลาน้อยกว่าการเตรียมด้วยวิธีมาตรฐาน¹⁰

การแทนที่ clearing reagent โดยวิธีมาตรฐานจะแช่เนื้อเยื่อในพาราฟินหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 56-58 องศาเซลเซียส ครั้งละ 1 ชั่วโมง จำนวน 2 ครั้ง⁹ ส่วนการแทนที่ clearing reagent โดยใช้เทคนิคไมโครเวฟในขั้นตอนนี้อุณหภูมิของพาราฟินจะสูงกว่าจุดเดือดของน้ำ methanol และ isopropyl alcohol ซึ่งเป็น reagent ที่ตกค้างในเนื้อเยื่อจะถูกระเหยออกไป ทำให้พาราฟินสามารถแทรกซึมเข้าไปในเนื้อเยื่อได้ง่ายขึ้นโดยใช้เวลา 20 นาที¹⁴

5. การเอาเนื้อเยื่อฝังลงในบล็อก (embedding) คือการนำเอาเนื้อเยื่อที่ผ่านกระบวนการข้างต้น มาฝังในพาราฟิน (embedding media) ที่เหลวและหล่อให้เป็นบล็อกด้วยแม่พิมพ์ เมื่อทำให้อุณหภูมิของพาราฟินลดลง บล็อกที่ได้จะมีความแข็งแรงที่จะนำไปตัดเป็นแผ่นบาง ๆ ได้ด้วยเครื่องตัดชิ้นเนื้อ และสามารถรักษาเนื้อเยื่อไม่ให้ถูกแมลงกัด หรือถูกกระทบกระแทก¹¹

ในกรณีต้องมีการขจัดเอาหินปูนหรือสารประกอบแคลเซียมออก (decalcification) เช่น ในกรณีของ bone marrow biopsy หรือเนื้อเยื่อที่เป็นกระดูก หรือมีแคลเซียมเป็นส่วนประกอบ โดยขั้นตอนตามวิธีมาตรฐาน จะต้องแช่เนื้อเยื่อในกรดไนตริกความเข้มข้นร้อยละ 5 เพื่อขจัดเอาหินปูนหรือสารประกอบแคลเซียมออกเป็นเวลาหลายชั่วโมง ขึ้นอยู่กับความหนาและความทึบกระดูกที่ทึบตันและฟัน จะใช้เวลามากกว่ากระดูกที่โปร่งพรุน หากใช้เทคนิคไมโครเวฟ จะแช่เนื้อเยื่อในกรดฟอร์มิกความเข้มข้นร้อยละ 5 ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส¹⁷ ซึ่งจะใช้เวลาในการขจัดเอาหินปูนหรือสารประกอบแคลเซียมออกจากไขกระดูกเพียง 10 นาที

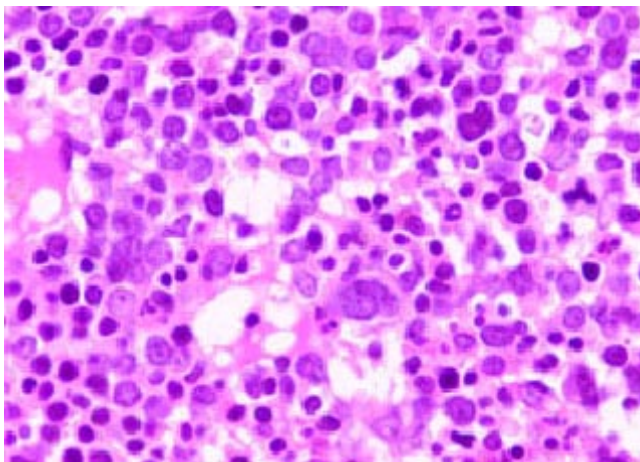
โดยสรุปแล้วการเตรียมเนื้อเยื่อโดยวิธีมาตรฐานมีข้อเสียคือ ต้องใช้เวลาในการเตรียมการนาน โดยใช้เวลาในแต่ละขั้นตอนประมาณ 2-6 ชั่วโมงซึ่งกว่าจะเสร็จสิ้นกระบวนการทั้งหมดก็ใช้เวลามากกว่า 10 ชั่วโมง⁵ ในขณะที่เทคนิคไมโครเวฟใช้เวลาลดลงเหลือเพียง 3 ชั่วโมง (ตารางที่ 1) นอกจากนั้นการเตรียมเนื้อเยื่อโดยวิธีมาตรฐาน บุคลากรทางห้องปฏิบัติการต้องสัมผัสกับสารเคมีที่เป็นอันตราย โดยเฉพาะฟอร์มาลินและไซลีน ซึ่งมีฤทธิ์ระคายเคือง เยื่อเมือก เยื่อเมือกทางเดินหายใจ ผิวหนัง ก่อให้เกิดอาการผิวหนังอักเสบ โรคหืด และเป็นสาเหตุของโรคมะเร็งทางเดินหายใจได้ ในกรณีที่ได้รับหรือสัมผัสเป็นระยะเวลายาวนาน⁸

การย้อมสีพิเศษฮิสโตเคมี

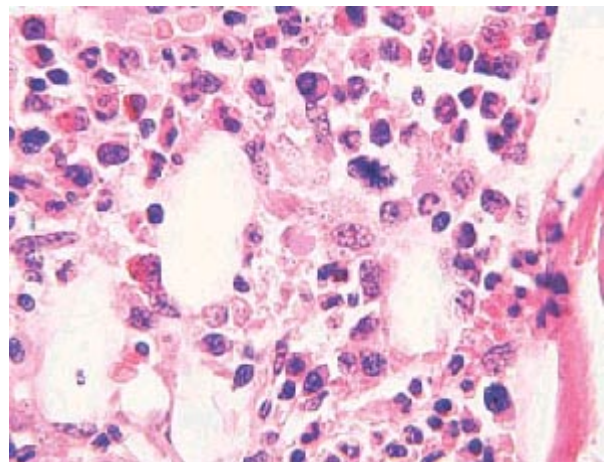
การคิดสีของเนื้อเยื่อจะขึ้นอยู่กับ 2 ปัจจัยคือ การแพร่ของสีลงสู่เซลล์ และการจับกันของสีกับ substrate¹⁸ การแพร่เป็นกระบวนการทางกายภาพ สามารถเร่งความเร็วของการแพร่ได้โดยใช้ไมโครเวฟ การจับกันของสีกับเซลล์ substrate เป็นกระบวนการ

ตารางที่ 1 เวลาที่ใช้ในกระบวนการเตรียมเนื้อเยื่อด้วยวิธีมาตรฐานและวิธีการเตรียมโดยเทคนิคไมโครเวฟ

กระบวนการ	วิธีมาตรฐาน	เทคนิคไมโครเวฟ
การตรึงสภาพชิ้นเนื้อด้วยน้ำยาตรึงสภาพ (fixation)	1 ชั่วโมง	20 นาที
การดูดเอาน้ำออกจากชิ้นเนื้อ (dehydration)	6 ชั่วโมง	20 นาที
การทำให้ชิ้นเนื้อใส (clearing)	2 ชั่วโมง	20 นาที
การแทนที่ clearing reagent ด้วยพาราฟิน (impregnation)	3 ชั่วโมง	120 นาที
รวมเวลา	12 ชั่วโมง	3 ชั่วโมง

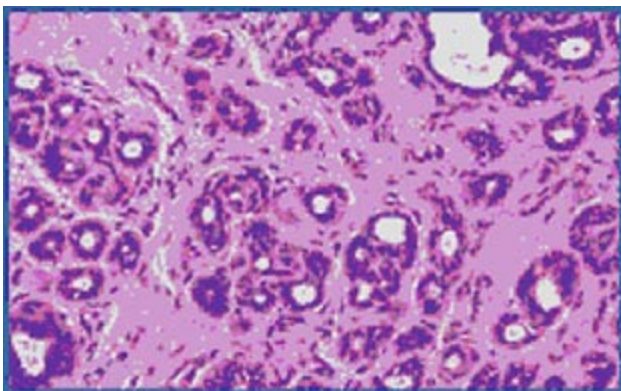


วิธีมาตรฐาน

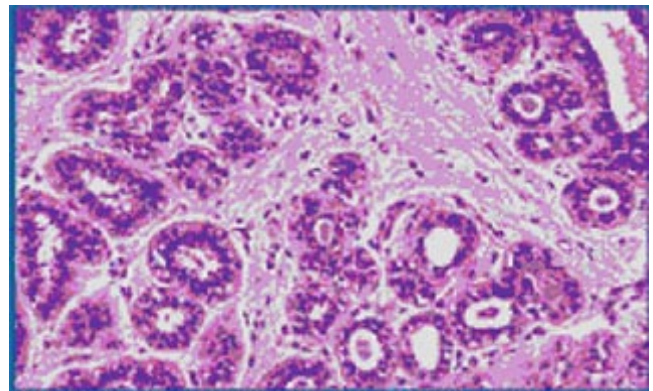


เทคนิคไมโครเวฟ

รูปที่ 1 ตัวอย่างสไลด์กระจาก bone marrow biopsy (ย้อม H&E) ที่เตรียมเนื้อเยื่อด้วยวิธีมาตรฐานและวิธีเตรียมเนื้อเยื่อโดยใช้เทคนิคไมโครเวฟ



วิธีมาตรฐาน



เทคนิคไมโครเวฟ

รูปที่ 2 ตัวอย่างสไลด์กระจาก เนื้อเยื่อจากไต (ย้อม H&E) ที่เตรียมเนื้อเยื่อด้วยวิธีมาตรฐานและเตรียมเนื้อเยื่อโดยใช้เทคนิคไมโครเวฟ

การทางเคมี การย้อมสีพิเศษฮิสโตเคมีโดยใช้เทคนิคไมโครเวฟจะต่างจากการย้อมโดยวิธีมาตรฐานที่ต้องใช้ความร้อนโดยอาศัยความร้อนจาก water bath หรือตู้อบซึ่งดำเนินไปอย่างช้า ๆ โดยได้รับความร้อนแบบค่อยเป็นค่อยไป ทำให้การแทรกซึมของสารละลายเกิดค่อนข้างช้า อุณหภูมิที่พอเหมาะกับการย้อมด้วยสารละลายของโลหะอยู่ระหว่าง

75-95 องศาเซลเซียส¹⁹ และย้อมด้วยสารละลายของโลหะอุณหภูมิไม่เกิน 60 องศาเซลเซียส⁷ สามารถลดเวลาย้อมสไลด์เนื้อเยื่อโดยวิธี Methanamine silver nitrate จากวิธีมาตรฐานที่ใช้เวลาย้อมประมาณ 180 นาที เหลือประมาณ 15 นาที²⁰ และสามารถลดเวลาย้อมวิธี Masson Fontana และ Perls

นอกจากนี้ได้มีการนำเตาไมโครเวฟมาย้อมสีสไลด์เนื้อเยื่ออีกหลายวิธี เช่น alcian blue-periodic acid-Schiff stain²¹, Grocott's methanamine silver nitrate^{22,23}, acid and alcohol fast staining²⁴, Warthin starry metho²⁵, methanamine silver stain, PAS stain และสามารถย้อมสีสไลด์เนื้อเยื่อด้วยวิธี colloid silver nitrate staining for melanin เสร็จในเวลา 45 วินาที²⁶

คุณภาพของสไลด์

จากการตรวจสอบสไลด์ด้วยกล้องจุลทรรศน์เมื่อเปรียบเทียบเนื้อเยื่อที่ผ่านกระบวนการเตรียมเนื้อเยื่อด้วยวิธีมาตรฐานและการเตรียมโดยใช้เทคนิคไมโครเวฟ โดยรวมแล้วรูปร่างของเซลล์ รายละเอียดของไซโทพลาซึมและนิวเคลียส ความสมบูรณ์ของเม็ดเลือดแดง ลักษณะของเม็ดเลือดขาว ที่ผ่านกระบวนการเตรียมเนื้อเยื่อด้วยไมโครเวฟจะดีกว่า เนื่องจากการเตรียมด้วยวิธีมาตรฐานจะทำให้เนื้อเยื่อเหี่ยว จากการดูดเอาน้ำออกด้วยแอลกอฮอล์เป็นเวลานาน ส่วนเนื้อเยื่อที่มีกระดูกเป็นส่วนประกอบ การขจัดเอาหินปูนหรือสารประกอบแคลเซียมออกจากกระดูกด้วยกรดฟอร์มิกเข้มข้นร้อยละ 5 จะมีจุดเด่นกว่าวิธีมาตรฐานที่ใช้กรดไนตริก คือกรดฟอร์มิก จะทำให้คุณสมบัติของเซลล์เปลี่ยนแปลงน้อยมาก ทำให้เห็นรายละเอียดในส่วนของไซโทพลาซึม นิวเคลียส ความสมบูรณ์ของเม็ดเลือดแดง และเม็ดเลือดขาวได้ดีกว่า¹⁴ (รูปที่ 1)

เนื้อเยื่อที่ผ่านกระบวนการทำให้อิมมัลด้วยพาราฟินโดยใช้ไมโครเวฟ เมื่อย้อมสีจะติดสีได้ดีกว่า รอยโรคที่เป็นเนื้อร้ายจะเด่นชัดมากกว่าวิธีมาตรฐาน เนื้อเยื่อที่เป็นไขมัน เช่น เนื้อเยื่อจากเต้านม จะสามารถตัดได้บางกว่า ทำให้เห็นรายละเอียดทางสัณฐานวิทยาต่าง ๆ ของเซลล์ได้ดีกว่า²⁷ (รูปที่ 2) คุณภาพของสไลด์จากการย้อมสีพิเศษฮิสโตเคมี พบว่าการติดสีไม่มีความแตกต่างจากการย้อมด้วยวิธีมาตรฐานเลย เนื่องจากขั้นตอนและสารเคมีที่ใช้ไม่แตกต่างจากวิธีมาตรฐานเลย เพียงแต่ใช้คลื่นไมโครเวฟเพื่อช่วยเร่งการเกิดปฏิกิริยาการติดสีของเนื้อเยื่อให้เกิดขึ้นเร็วกว่าเดิม

ข้อดีและข้อจำกัดในการใช้เทคนิคไมโครเวฟในงานจุลพยาธิวิทยา

- ข้อดี**
- 1.1 สภาพแวดล้อมในการทำงานดีขึ้น
 - 1.2 ลดปริมาณการใช้สารเคมี และค่าใช้จ่ายในการกำจัดสารเคมีที่เป็นพิษ
 - 1.3 ลดเวลาในแต่ละขั้นตอนการทำงาน
 - 1.4 พยาธิแพทย์สามารถรายงานผลการวินิจฉัยโรคได้ในเวลาที่น้อยลงกว่าเดิม
 - 1.5 ลดความกังวลและความเครียดของผู้ป่วยในการรอผลการวินิจฉัยโรค

ข้อจำกัด

- 2.1 ไมโครเวฟสำหรับห้องปฏิบัติการมีราคาแพง
- 2.2 เนื้อเยื่อต้องมีขนาดไม่เกิน 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร หลังจากผ่านการคงสภาพแล้ว เนื่องจากจะมีผลต่อภาวะลู่ทะลวงสู่เนื้อเยื่อของคลื่นไมโครเวฟ¹⁴

สรุป

กระบวนการเตรียมเนื้อเยื่อโดยใช้ไมโครเวฟนั้น เป็นวิธีที่ใช้เวลาในแต่ละขั้นตอนน้อยกว่าวิธีมาตรฐานมาก ทั้งยังลดปริมาณการใช้ยา และลดการใช้สารเคมีที่เป็นพิษ เช่น ฟอร์มัลดีน และไซลีน เมื่อเปรียบเทียบคุณภาพของสไลด์ที่ได้จากทั้งวิธีมาตรฐาน และวิธีไมโครเวฟจะพบว่าการใช้เทคนิคไมโครเวฟ สไลด์จะเห็นความเด่นชัดของไซโทพลาซึม รายละเอียดของนิวเคลียส รูปร่างของเม็ดเลือดขาว และความสมบูรณ์ของเม็ดเลือดแดงมากกว่า ทำให้การตรวจพบเนื้อเยื่อผิดปกติเพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับวิธีมาตรฐาน การรายงานผลการวินิจฉัยโรคก็สามารถทำได้ในระยะเวลาที่สั้นลง

เอกสารอ้างอิง

1. สมาคมนิวเคลียร์แห่งประเทศไทย. รังสีจากเตาไมโครเวฟ. Available at: <http://www.nst.or.th/article/article494/article49401.html>. Retrieved April 1, 2010.
2. Wisegeek. What is a magnetron. Available at: <http://www.wisegeek.com/what-is-a-magnetron.html>. Retrieved April 1, 2010.
3. Leong AS-Y, Leong FJ. Principles, applications and protocols of microwave technology for morphological analysis. In: Gu J, editor. Analytical morphology: theory, applications and protocols. Boston: Birkhauser; 1997. p. 69-86.
4. Kok LP, Visser PE, Boon ME. Histoprocessing with the microwave oven: an update. Histochem J 1988; 20: 323-8.
5. Kayser K, Bubbenzer J. Microwave-assisted staining procedures in routine histopathology. Histochem J 1990; 22: 365-70.

6. Panja P, Sriram G, Saraswathi TR, Sivapathasundharam B. Comparison of three different methods of tissue processing. *J Oral Maxillofac Pathol* 2007; 11: 15-7.
7. McArdle P. The microwave companion for histology. Available at: http://www.ebsciences.com/pdf/ebs_mw_companion.pdf. Retrieved January 8, 2010.
8. Morales AR, Essensfeld H, Essensfeld E, Duboue MC, Vincek V, Nadji M. Continuous-specimen-flow, high-throughput, 1-hour tissue processing - a system for rapid diagnostic tissue preparation. *Arch Pathol Lab Med* 2002; 126: 583-90.
9. Gridley MF, editor. Manual of histologic and special staining techniques. Washington DC: Armed Forces Institute of Pathology; 1957. p. 61.
10. Chaudhari K, Chattopadhyay A, Dutta SK. Microwave technique in histopathology and its comparison with the conventional technique. *Indian J Pathol Microbiol* 2000; 43: 387-94.
11. ชานินทร์ การวัฒนาศิริกุล. วิธีการทางห้องปฏิบัติการเซลล์วิทยาและจุลกายวิภาคศาสตร์. เชียงใหม่: หน่วยวารสารวิชาการ คณะแพทยศาสตร์; 2538. หน้า 90-2.
12. Carson FL. *Histotechnology: a self instructional text*. 2nded. Chicago: American Society of Clinical Pathology; 1997. p. 32.
13. Essensfeld E, Essensfeld H, Morales A. High quality, continuous throughput, tissue fixation-dehydration-fat removal-impregnation method. Available at: <http://www.patentstorm.us/patents/6207408/fulltext.html>. Retrieved January 10, 2010.
14. Mathai AM, Naik R, Pai MR, Rai S, Baliga P. Microwave histoprocessing versus conventional histoprocessing. *Indian J Pathol Microbiol* 2008; 51: 12-6.
15. Kok LP, Boon ME. The intermedium in microwave cookbook for microscopists. 3rded. Columb Press Leyden; 1992. p. 168-9.
16. Molares A. Comparative usefulness of standard and microwave-assisted tissue processing methods. *Histologic J* 2002; 35: 40-6.
17. Energy Beam Sciences Inc. Microwaving processing techniques for microscopy. Available at: <http://www.ebsciences.com/papers/mw-tech.thm>. Retrieved November 12, 2009.
18. Suurmeijer AJ, Boon ME, Kok LP. Notes on the application of microwaves in histopathology. *Histochem J* 1990; 22: 341-6.
19. Brinn NT. Rapid metallic histological staining using the microwave oven. *Histotechnol J* 1983; 6: 125-9.
20. Matthews K, Kelly JK. A microwave oven method for the combined alcian blue-periodic acid schiff stain. *Histotechnol J* 1989; 12: 295-303.
21. Loughman NT. *Pneumocystis carinii*: rapid diagnosis with the microwave oven. *Acta Cytol* 1989; 33: 416-7.
22. Vemuganti GK, Naidu C, Gopinathan U. Rapid detection of fungal filaments in corneal scrapings by microwave heating-assisted Grocott's methenamine silver staining. *Indian J Ophthalmol* 2002; 50: 326-8.
23. Hafiz S, Spencer RC, Lee M, Gooch H, Duerden BI. Use of microwaves for acid and alcohol fast staining. *J Clin Pathol* 1985; 38: 1073-4.
24. Churukian CJ, Scherk EA. A Warthin Starry method for spirochetes and bacteria using a microwave oven. *Histotechnol J* 1988; 11: 149-51.
25. Leong AS. Microwave irradiation-application in tissue fixation, processing and staining for light microscopy and electron microscopy. Proceeding of World Health Organization Biregional Training Course on Electron Microscopy in Biomedical Research and diagnosis of Human Diseases. 28 October-1 November 1991 Faculty of Medicine. Chulalongkorn University. Bangkok, Thailand. 47-53.
26. Mary FA, Andrea W. Fatty tissue. *Histologic J* 2005; 38: 3-6.
27. Pathos Advantages: The breakthrough in histoprocessing. Available at: <http://www.milestonemed.com/poverview.htm>. Retrieved November 12, 2009.