

## Frozen section

ศิริโรจน์ นาคฉ่ำ

ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์

มหาวิทยาลัยนเรศวร

Frozen section เป็นวิธีการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยอุณหภูมิเยือกแข็ง จนกลายเป็นน้ำแข็งและสามารถตัดชิ้นเนื้อเป็นแผ่นบางได้ เพื่อนำไปศึกษาในระดับจุลพยาธิวิทยา ซึ่ง frozen section เป็นเทคนิคการเตรียมชิ้นเนื้อที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในการให้คำปรึกษาระหว่างทำการผ่าตัด (Intraoperative consultation or Operating room consultations) เทคนิคการเตรียมชิ้นเนื้อนี้สามารถย่นระยะเวลาในการเตรียมชิ้นเนื้อเพื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ได้กว่าวิธีการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยวิธีปกติ (permanent section) มาก ทำให้พยาธิแพทย์สามารถตรวจรอยโรคจากชิ้นเนื้อได้ในขณะที่ผู้ป่วยยังอยู่ระหว่างการผ่าตัด นำไปสู่การให้การวินิจฉัยเบื้องต้นหรือข้อมูลเฉพาะบางประการเพื่อให้ผู้ทำการผ่าตัด (surgeon) นำไปประกอบการตัดสินใจในระหว่างการผ่าตัดได้ โดยทั่วไปมักกำหนดระยะเวลาไว้ว่า พยาธิแพทย์จะรายงานผลภายใน 30 นาที นับตั้งแต่ชิ้นเนื้อมาถึงห้องปฏิบัติการ และระยะการรอคอยนี้ใช้สำหรับการตรวจชิ้นเนื้อแช่แข็งปกติ 1 ครั้ง ในกรณีที่มีการตรวจต่อเนื่องหลายๆ ครั้งในสิ่งส่งตรวจเดียวกัน เช่น surgical margin หรือ ต้องดูภาพถ่ายทางรังสีประกอบ อาจทำให้ระยะเวลารอคายนานกว่านี้ได้

ความเป็นมาของ Frozen section และ intraoperative consultation นั้น เป็นสิ่งที่มีความเกี่ยวข้องกันมาตั้งแต่ช่วงปลายศตวรรษที่ 19 จากการพัฒนาความรู้ด้านพยาธิวิทยาและความเฉพาะทางทางคลินิก โดยช่วงแรกได้ทำการศึกษาการตรวจด้วยตาเปล่าเปรียบเทียบกับลักษณะต่างๆ ก่อนและหลังที่ผู้ป่วยจะเสียชีวิต จนในศตวรรษที่ 20 จึงได้พัฒนามาใช้ในการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาร่วมด้วย

การให้คำปรึกษาระหว่างทำการผ่าตัด (Intraoperative consultation or Operating room consultations) มีวัตถุประสงค์หลัก ดังนี้

1. เพื่อให้คำวินิจฉัยจากการที่ตรวจด้วยตาเปล่า (gross examination) หรือการตรวจทางจุลพยาธิ (microscopic examination) นำไปประกอบการวางแผนการผ่าตัด โดยการวินิจฉัยที่ต้องการและพบ บ่อย ได้แก่
  - การบอกพยาธิสภาพที่อาจจะยังไม่ทราบแน่ชัด (unknown pathologic process)
  - การประเมินขอบเขตการผ่าตัด (margins)
  - การแพร่กระจายของมะเร็งสู่ต่อมน้ำเหลือง (lymph node metastases)
  - การบอกชนิดของชิ้นเนื้อหรือเนื้อเยื่อนั้นๆ
2. เพื่อประเมินความเพียงพอหรือเหมาะสมของชิ้นเนื้อ แล้วนำไปตรวจด้วยวิธีพิเศษ (special studies) นำไปสู่การให้การวินิจฉัย การรักษา หรือการวิจัย
3. เพื่อยืนยันว่ามีรอยโรคในชิ้นเนื้อ และนำชิ้นเนื้อนั้นเข้าสู่กระบวนการ permanent section และ/หรือ การตรวจด้วยวิธีพิเศษ (special studies) อื่นต่อไป

ความแตกต่างระหว่าง Frozen section และ Permanent section

- การสุ่มตรวจ (Sampling) เนื่องจากเวลาที่จำกัดในการให้คำปรึกษาระหว่างการผ่าตัด และต้องใช้เวลาส่วนหนึ่งเพื่อให้ชิ้นเนื้อแข็งตัวเป็นน้ำแข็ง ทำให้มีความจำเป็นที่จะต้องสุ่มตรวจ หรือเลือกชิ้นเนื้อ บางส่วนนำไปตรวจทางจุลพยาธิ ซึ่งปริมาณที่เลือกสุ่มใน frozen section จะเป็นปริมาณที่น้อยกว่า การตรวจ permanent section
- ปัจจัยรบกวนจากผลึกน้ำแข็ง (Ice crystal artifact) การทำให้ชิ้นเนื้อแข็งตัวเป็นน้ำแข็งจะก่อให้เกิด ลักษณะที่ทำให้ยากต่อการวินิจฉัย โดยลักษณะที่เกิดขึ้นจะคงอยู่ถาวร ซึ่งหากเป็นชิ้นเนื้อที่มีพยาธิ สภาพขนาดเล็กและต้องการการวินิจฉัยที่สำคัญเป็นครั้งแรก ไม่ควรส่งตรวจด้วยกระบวนการที่ทำให้ ชิ้นเนื้อแข็งตัวเป็นน้ำแข็ง
- การตรวจ Frozen section นำไปศึกษาด้วยวิธีพิเศษอื่นๆ ได้ค่อนข้างน้อย (Lack of special studies) เช่นการย้อมพิเศษ (special stain) หรือการย้อม immunohistochemical stain เนื่องจาก เวลาที่จำกัด

- ขาดการให้คำปรึกษาระหว่างพยาธิแพทย์ด้วยกัน (Lack of consultation) ด้วยเวลาที่จำกัดทำให้บางห้องปฏิบัติการไม่สามารถมีพยาธิแพทย์ที่สามารถให้ความเห็นเพิ่มเติมในเวลานั้นๆ ได้ โดยเฉพาะชิ้นเนื้อที่มีความยากในการวินิจฉัยหรือเป็นพยาธิสภาพที่พบได้ไม่บ่อย
- อื่นๆ เช่น เนื้อเยื่อบางชนิดแข็งตัวเป็นน้ำแข็งได้ไม่ค่อยดี เช่น เนื้อเยื่อไขมัน (adipose tissue) หรือในกรณีที่ชิ้นเนื้อประเภทกระดูกหรือมีหินปูนจับอยู่ในเนื้อเยื่อมาก จะไม่สามารถตัดด้วยใบมีดได้ แม้จะทำให้ชิ้นเนื้อกลายเป็นน้ำแข็งแล้ว ซึ่งในกระบวนการปกติจะต้องใช้สารละลายประเภทกรดช่วยให้ชิ้นเนื้อมีความอ่อนนุ่มขึ้น และสามารถใช้ใบมีดตัดให้บางได้

ซึ่งจากความแตกต่างที่กล่าวมาทั้งหมด ทำให้เป้าหมายในการให้คำปรึกษาระหว่างการผ่าตัดจำกัดอยู่บนเงื่อนไขความเป็นไปได้และความน่าเชื่อถือ ซึ่งโดยส่วนใหญ่แล้ว พยาธิแพทย์มักจะสามารุให้ข้อมูลที่จำเป็นสำหรับการผ่าตัดให้ผู้ผ่าตัดวางแผนทำการผ่าตัดได้

นอกเหนือจากการใช้วิธี frozen section แล้ว การตรวจทางเซลล์วิทยา (cytology) ก็ถูกนำมาใช้ในกระบวนการการให้คำปรึกษาระหว่างการผ่าตัดด้วยเช่นกัน ข้อดีของ Intraoperative cytology มีหลายประการ เช่น สามารถทำได้รวดเร็ว ไม่เกิด ice crystal artifact มีความง่ายในการเตรียมสไลด์ทางเซลล์วิทยา ชิ้นเนื้อที่เหลือ สามารถนำไปทำ permanent section หรือ special studies อื่นได้ และสามารถสุ่มเลือกมาได้จากบริเวณที่กว้างกว่า นอกจากนี้ การดูลักษณะทางเซลล์วิทยา จะทำให้ได้ข้อมูลในแง่ของการเกาะกลุ่มกันของเซลล์ (cell-cell cohesiveness) เช่น แยกระหว่าง carcinoma กับ lymphoma หรือดูลักษณะของนิวเคลียส เช่น ลักษณะเฉพาะของนิวเคลียสมะเร็งชนิด papillary thyroid carcinoma ซึ่งลักษณะนี้ไม่สามารถดูได้จากชิ้นเนื้อที่เตรียมด้วยวิธี frozen section ได้

การให้คำปรึกษาระหว่างการผ่าตัดที่พบได้บ่อย ได้แก่

- ให้การวินิจฉัยเบื้องต้น (แยกระหว่างโรคมะเร็งและเนื้องอกที่ไม่ใช่มะเร็งหรือพยาธิสภาพอื่น) เพื่อให้แพทย์ผู้ผ่าตัดสามารถตัดสินใจเลือกวิธีทำการผ่าตัดได้อย่างเหมาะสม เช่น ก้อนที่รังไข่เป็นเนื้องอกรังไข่หรือมะเร็งรังไข่ (benign ovarian tumor versus malignant ovarian tumor), ก้อนที่ต่อมไทรอยด์เป็นมะเร็งหรือไม่ (Rule out papillary thyroid carcinoma), การตรวจการแพร่กระจายของมะเร็งเต้านมมาที่ต่อมน้ำเหลืองบริเวณรักแร้ (sentinel lymph node in breast cancer), ยืนยันการวินิจฉัยรอยโรคในกระดูกเป็นเนื้องอกหรือพยาธิสภาพที่ไม่ใช่มะเร็ง เพื่อเลือกวิธีขูดออกเฉพาะรอยโรค (curettage and packing) และเก็บรักษารยางค์ของผู้ป่วยไว้ (limb preservation)

- การดูขอบเขตการผ่าตัด เช่น มะเร็งผิวหนัง (เช่น basal cell carcinoma หรือ squamous cell carcinoma ที่ใบหน้าของผู้ป่วย เป็นต้น) มะเร็งท่อน้ำดีหรือมะเร็งระบบทางเดินอาหาร มะเร็งเต้านม มะเร็งท่อไต (transitional cell carcinoma or urothelial carcinoma ในการผ่าตัด nephrectomy, cystectomy หรือ ureterectomy) เป็นต้น
- ยืนยันการวินิจฉัย เช่น ก้อนเนื้ออกที่ไม่ใช่มะเร็งในกล้ามเนื้อชนิด leiomyoma บางครั้งมีขอบเขตที่ไม่ชัดเจน หรือมีลักษณะน่าสงสัยไปทางมะเร็งกล้ามเนื้อ (an irregular border or cystic areas in ultrasound findings) สูตินรีแพทย์ที่ทำการผ่าตัด จะส่งมดลูกให้พยาธิแพทย์ ประเมินพยาธิสภาพเพื่อยืนยันการวินิจฉัยว่าไม่ใช่เนื้องอกที่เป็นมะเร็ง เพื่อเลือกวิธีทำการผ่าตัดได้อย่างเหมาะสม
- เพื่อประเมินการสร้างสเปิร์มในอัณฑะ ว่าเป็นภาวะการสร้างสเปิร์มในอัณฑะที่ผิดปกติหรือเกิดจากการอุดตันในท่อน้ำเชื้อ (azoospermia from primary failure of spermatogenesis or an obstructed of vas deferens) โดย urologist อาจส่งสารน้ำจากส่วนต้นของ vas deferens ก่อนทำ anastomosing surgery เพื่อรักษาภาวะอุดตันของท่อน้ำเชื้อ
- ยืนยันรอยโรคในชิ้นเนื้อที่ส่งตรวจในบริเวณที่ทำการผ่าตัดได้ยาก เช่น รอยโรคในสมองที่อยู่ลึกอย่างตำแหน่ง thalamus แพทย์จะใช้วิธีการทำ stereotactic brain biopsy ให้ได้ชิ้นเนื้อ แต่อาจจะไม่สามารถทำ open surgical biopsy เพื่อ resection ได้ หรือกรณีที่เป็นผู้ป่วยโรคเอดส์มีรอยโรคจาก toxoplasmosis ที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วย empiric treatment หรือ กรณีที่สงสัยเนื้องอกที่ไม่จำเป็นต้องผ่าตัดออกหมดแต่ใช้วิธีการรักษาด้วยเคมีบำบัด เช่น lymphoma ซึ่งจากกรณีเหล่านี้ แพทย์ผู้ทำการผ่าตัดจะค่อยๆ ตัดชิ้นเนื้อออกมาชิ้นเล็กๆ แล้วส่งประเมิน frozen section หรือ intraoperative consultation เพื่อให้ได้ชิ้นเนื้อบริเวณที่เป็นรอยโรคจริงๆ และมีปริมาณเพียงพอที่จะส่งตรวจพิเศษบางอย่าง (เช่น EM, cytogenetics หรือ microbiologic culture) และนำไปสู่การวินิจฉัยสุดท้าย
- ยืนยันชนิดของชิ้นเนื้อและ/หรือบอกพยาธิสภาพที่เกิดขึ้น เช่น การผ่าตัดต่อมพาราไทรอยด์ (parathyroid surgery) ในกรณีที่สงสัย primary หรือ secondary hyperparathyroidism

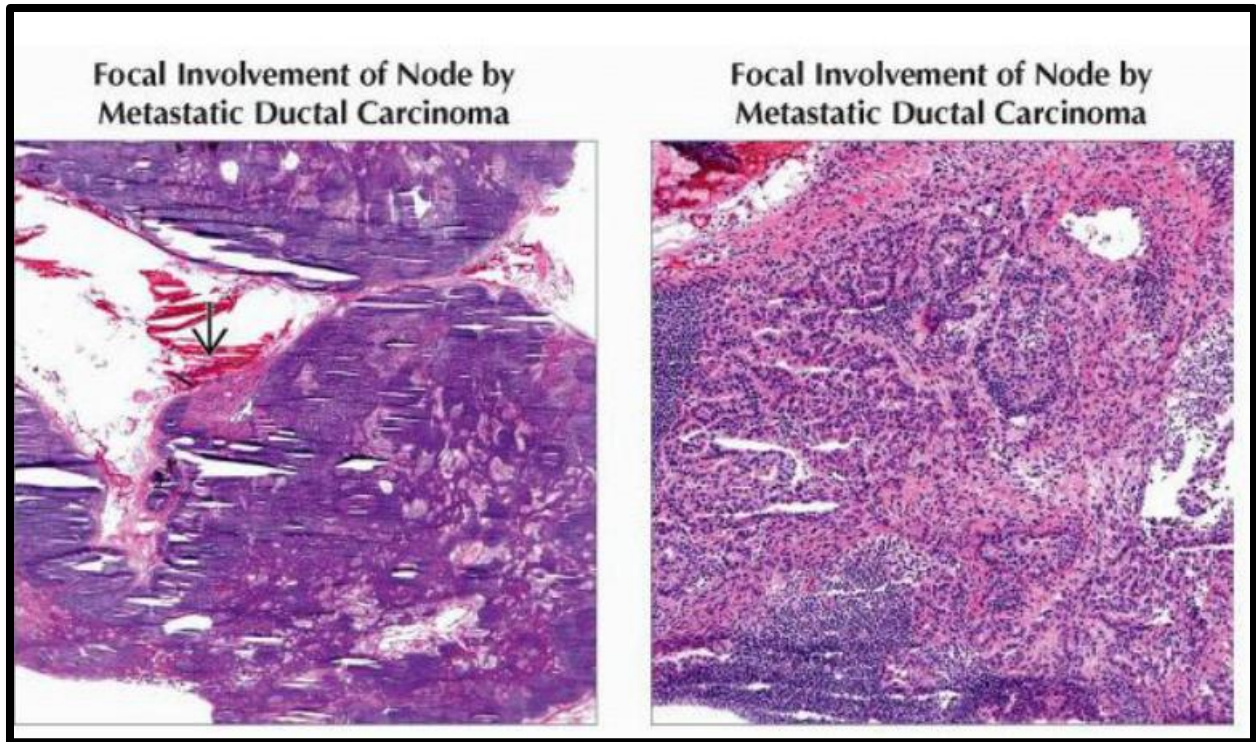
โดยสรุป Frozen section เป็นกระบวนการทางพยาธิวิทยาที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย ถึงแม้จะมีข้อจำกัดบางประการ แต่ก็มีประโยชน์ในแง่การให้คำปรึกษาระหว่างทำการผ่าตัด (Intraoperative consultation or Operating room consultations) เพื่อให้ผู้ทำการผ่าตัดนำไปประกอบการตัดสินใจหรือวางแผนการผ่าตัดในระหว่างทำการผ่าตัดได้หลายกรณี ดังที่ได้ยกตัวอย่างไปข้างต้น



เครื่อง cryostat จะตั้งอุณหภูมิไว้ที่ประมาณ  $-20^{\circ}\text{C}$  เพื่อให้คงสภาพชิ้นเนื้อในสถานะแข็งตัวเป็นน้ำแข็ง และเหมาะสมกับการตัดเป็นแผ่นบาง



ชิ้นเนื้อจะแข็งตัวอยู่ในน้ำยาเฉพาะ (frozen embedding medium) บนแผ่นโลหะ และถูกยึดเพื่อให้ตัดเป็นแผ่นบางได้



ภาพถ่าย: การประเมินการแพร่กระจายของมะเร็งเต้านมมาที่ต่อมน้ำเหลือง (บริเวณลูกศร)

ภาพขวา: ภาพขยายของกลุ่มเซลล์มะเร็งที่แพร่กระจายมาที่ตำแหน่งใต้แคปซูลของต่อมน้ำเหลือง

(Alberto M. Marchevsky, et al. *Intraoperative Consultation*; 2015)

### เอกสารอ้างอิง

Alberto M. Marchevsky, Fadi W. Abdul-Karim, Bonnie Balzer. **Intraoperative Consultation.**

Elsevier Saunders, Philadelphia, 2015

Jerome B. Taxy, Aliya N. Husain, Anthony G. Montag. **BIOPSY INTERPRETATION: THE FROZEN SECTION**, 2<sup>nd</sup> edition. Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business, Philadelphia, 2014

Susan C. Lester, MD PhD, Christopher A. French, MD, Shogun G. Curtis, BA. **Manual of Surgical Pathology, Third edition.** Elsevier Saunders, Philadelphia, 2010