

STUDY OF TRIPHENYL TETRAZOLIUM CHLORIDE STAINING OF SUSPECTED ISCHEMIC HUMAN HEART

การศึกษาการย้อมไตรเฟนิลเตตระโซเลียมคลอไรด์ในหัวใจมนุษย์ ที่สงสัยว่าเกิดภาวะหัวใจขาดเลือด

Umaporn Kowong M.Sc. *, Somboon Thamtakerngkit M.D.**, Wichai Wongchanapai M.D.**

**Forensic Science, Faculty of Graduate Studies, Mahidol University, **Department of Forensic medicine, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University Bangkok 10700, Thailand*

อุมาพร โควงษ์*, สมบูรณ์ ชรรวมถิงกิจ พ.บ.††, วิชัย วงศ์ชนะภัย พ.บ.††

†สาขานิติวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล, ††ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพฯ 10700, ประเทศไทย

Abstract

Objective: To compare diagnostic efficiency of acute myocardial infarction by triphenyl tetrazolium chloride(TTC) staining, troponin t level, and H&E staining in autopsy cases which reveal coronary artery occlusion of 70 % and over.

Materials and Methods: Heart and femoral blood were collected from 80 autopsy cases. The hearts were sliced transversely at 1 cm. thick and incubated in 1% TTC in phosphate buffer. Selected areas of unstained and stained heart tissue were removed and processed for H&E staining. The femoral blood specimens were tested by TROPT sensitive rapid assay.

Results: Statistically significant diagnostic values of TTC staining in this study when microscopic examination was at the gold standard, the sensitivity and specificity at 77.3 % and 72.4%, respectively. When the results of TTC staining were combined with TROPT sensitive rapid assay to create a new gold standard other than microscopic examination to prove ischemic change at an early stage, the sensitivity increased from 77.3 to 86.1%, and specificity increased from 72.4 to 95.5 %.

Conclusion: TTC staining is a rapid technique to prove ischemic change at an earlier stage and allows the investigator to select proper areas for microscopic examination.

Keywords: myocardial ischemia, postmortem, triphenyltetrazolium, troponin t

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการวินิจฉัยภาวะหัวใจขาดเลือดเฉียบพลันระหว่างการย้อมไตรเฟนิลเตตระโซเลียมคลอไรด์ ระดับโทรโปนินที และการย้อม H&E ในศพผ่าพิสูจน์ที่พบเส้นเลือดหัวใจตีบร้อยละ 70 ขึ้นไป

วัสดุและวิธีการศึกษา: เก็บตัวอย่างหัวใจหน้าตามขวางความหนา 1 cm. และ เลือดจากหลอดเลือดดำที่มอรอลจากศพที่พบว่ามีอาการหลอดเลือดหัวใจตีบจำนวน 80 ตัวอย่าง ขึ้นเนื้อหัวใจนำไปปั่นในสารละลาย 1 % ไตรเฟนิลเตตระโซเลียมคลอไรด์ในโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ แล้วจึงตัดชิ้นเนื้อที่ติดสีและไม่ติดสีไปผ่านกระบวนการย้อมด้วย H&E ตัวอย่างเลือดนำไปวัดระดับโทรโปนินทีด้วย TROPT sensitive rapid assay

ผลการศึกษา: ค่าความไว และความจำเพาะในการวินิจฉัยภาวะกล้ามเนื้อหัวใจตายเฉียบพลันของการย้อมไตรเฟนิลเตตระโซเลียมคลอไรด์เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับ การย้อมด้วย H&E พบว่าเท่ากับ 77.3 และ 72.4 % ตามลำดับ เมื่อเพิ่มผลการทดสอบที่ตรงกันของ TROPT sensitive rapid assay และการย้อมไตรเฟนิลเตตระโซเลียมคลอไรด์เพิ่มเข้าไปเพื่อรองรับการเกิดภาวะกล้ามเนื้อหัวใจตายเฉียบพลันในระยะแรกๆ พบว่าค่าความไวเพิ่มขึ้นจาก 77.3 เป็น 85.1 % ค่าความจำเพาะเพิ่มขึ้นจาก 72.4 เป็น 95.5 %

สรุป: การย้อมไตรเฟนิลเตตระโซเลียมคลอไรด์เป็นวิธีที่รวดเร็วในการช่วยยืนยันว่าเกิดการขาดเลือดในระยะต้นๆ ช่วยให้แพทย์สามารถเลือกบริเวณที่เหมาะสมในการนำไปตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์

คำสำคัญ: ภาวะหัวใจขาดเลือดภายหลังตาย, ไตรเฟนิลเตตระโซเลียมคลอไรด์, โทรโปนิน ที

บทนำ

โรคหัวใจเป็นสาเหตุการตายอันดับต้นๆของประชากรไทย ข้อมูลจากใบมรณบัตรบ่งชี้ว่า โรคหัวใจขาดเลือดเกี่ยวข้องกับการเสียชีวิตของคนไทยมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับโรคหัวใจชนิดอื่น¹ อาการกล้ามเนื้อหัวใจตายเฉียบพลัน ซึ่งเป็นหนึ่งกลุ่มอาการของโรคหัวใจขาดเลือดเป็นสาเหตุการตายที่พบบ่อยครั้งในการผ่าพิสูจน์ศพที่ตายโดยไม่ปรากฏเหตุ การวินิจฉัยโรคกล้ามเนื้อหัวใจตายเฉียบพลันในการผ่าพิสูจน์ศพมีหลายวิธี วิธีแรกคือการสังเกตด้วยตาเปล่า โดยบริเวณที่เกิดกล้ามเนื้อหัวใจตายเป็นเวลาตั้งแต่ 6 - 12 ชั่วโมงขึ้นไปจะมีสีแดงคล้ำ (reddish blue) เมื่อเปรียบเทียบกับส่วนที่ปกติ วิธีที่สองคือการย้อมด้วย H&E แล้วนำมาตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจด้วยกล้องจุลทรรศน์ ซึ่งจะเริ่มสังเกตเห็นได้หลังเกิดอาการตั้งแต่ 6 ชั่วโมงขึ้นไป แต่ในกรณีที่การตายเกิดขึ้นหลังจากเริ่มเกิดอาการไม่นาน จะไม่สามารถตรวจพบด้วยตาเปล่า และการส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ได้ แพทย์นิติเวชจะลงความเห็นโดยอาศัยพยานแวดล้อมได้แก่ ประวัติการเจ็บป่วย และการพบการอุดตันของหลอดเลือดแดงเลี้ยงหัวใจชั้นรุนแรง²

ดังนั้นจึงมีการศึกษาเพื่อนำวิธีการอื่นมาช่วยให้สามารถตรวจพบอาการกล้ามเนื้อหัวใจตายในระยะต้นๆได้ โดยอาศัยหลักการที่ว่า เมื่อเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจขาดออกซิเจนและสารอาหารที่จะนำมาใช้ในกิจกรรมต่างๆภายในเซลล์ โดยเฉพาะการสร้าง ATP อันจะส่งผลให้กลไกการควบคุมคุณสมบัติในการเลือกผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์สูญเสียการทำงาน จนทำให้โมเลกุลที่มีขนาดใหญ่เช่น เอนไซม์ และโคเอนไซม์ต่างๆหลุดรอดออกมาออกเซลล์³ โมเลกุลขนาดใหญ่เหล่านี้จะถูกตรวจจับเพื่อยืนยันว่าเกิดกล้ามเนื้อหัวใจตายซึ่งสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในงาน

ด้านนิติพยาธิได้ โดยวิธีที่น่าสนใจ มีผู้นิยมนำมาศึกษากันมาก และทำได้ง่าย คือ การบ่มชิ้นเนื้อหัวใจในสารละลายไตรเฟนิลเตตระโซเลียมคลอไรด์ (triphenyl tetrazolium chloride/TTC) และการตรวจหา cardiac troponin t ในเลือด

เตตระโซเลียมคลอไรด์เป็นวัตถุติดในปฏิกิริยาของเอนไซม์ lactate dehydrogenase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีอยู่ในเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ เอนไซม์ lactate dehydrogenase จะเปลี่ยนเตตระโซเลียมคลอไรด์จากสารไม่มีสีเป็นสารสีซึ่งไม่ละลายน้ำเกาะอยู่ที่ผิวชิ้นเนื้อในบริเวณที่เซลล์กล้ามเนื้อหัวใจปกติ ในส่วนที่เซลล์กล้ามเนื้อหัวใจตายจะไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง ผลการทดลองในสัตว์ทดลองพบว่า เทคนิคนี้สามารถตรวจพบกล้ามเนื้อหัวใจตายหลังเกิดการขาดเลือด 2 – 4 ชั่วโมง^{4,5,6} ข้อดีของเทคนิคนี้คือ ไม่มีผลกระทบเมื่อนำชิ้นเนื้อไปย้อม H&E จึงสามารถตัดชิ้นเนื้อบริเวณที่มีข้อสงสัยไปเข้ากระบวนการตามปกติได้เลย และยังมีการศึกษาที่ยืนยันว่าเทคนิคนี้ไม่ถูกรบกวนมากนักจากกระบวนการเสื่อมสลายซึ่งอาจเกิดขึ้นระหว่างการเก็บรักษาศพเพื่อรอการผ่าพิสูจน์^{5,6}

Cardiac troponin t คือ 1 ใน 3 โปรตีนที่ประกอบกันเพื่อทำหน้าที่จับกับแคลเซียมในกลไกกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อหัวใจ โปรตีนชนิดนี้กว่า 90% จะถูกจับยึดอยู่ภายในเซลล์กล้ามเนื้อ ส่วนที่เหลือจะละลายอยู่ใน cytosol เมื่อเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจเสียหายจากการขาดเลือด cardiac troponin t จะไหลออกจากเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจเข้าสู่กระแสเลือดเช่นเดียวกับโมเลกุลขนาดใหญ่ชนิดอื่นตามกลไกที่ได้กล่าวถึงแล้ว cardiac troponin t ในกระแสเลือดจะเพิ่มขึ้นหลังเกิดกล้ามเนื้อหัวใจตายประมาณ 3 – 4 ชั่วโมง^{7,8} โดยวิธีการตรวจหา cardiac troponin t ที่ใช้ในปัจจุบันคือ การใช้ monoclonal antibodies ที่จำเพาะกับ cardiac troponin t โดยเทคนิคที่นำมาใช้ในการศึกษาค้างนี้ คือ TROPT sensitive rapid assay ซึ่งเป็นชุดตรวจสอบหา cardiac troponin t ในเลือด (whole blood) ซึ่งให้ผลเชิงคุณภาพ โดยมีค่า cut off อยู่ที่ ≥ 0.08 ng/mL โดยค่าที่ตรวจพบในคนที่มีความผิดปกติคือ ≤ 0.05 ng/mL⁸

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ คือ เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพวิธีการวินิจฉัยกล้ามเนื้อหัวใจตายเฉียบพลัน 3 วิธี คือ การย้อมด้วยไตรเฟนิลเตตระโซเลียมคลอไรด์, TROPT sensitive rapid assay และย้อมด้วย H&E แล้วนำไปตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ ในศพที่พบการอุดตันในหลอดเลือดแดงเลี้ยงหัวใจตั้งแต่ 70 % ขึ้นไป

วัสดุและวิธีการศึกษา

ตัวอย่างและการเก็บตัวอย่าง

กลุ่มตัวอย่าง ศพที่พบว่าเป็นโรค coronary atherosclerotic disease ที่มีการตีบรุนแรงตั้งแต่ 70 % ขึ้นไป จำนวน 80 ราย โดยเก็บตัวอย่างจากห้องผ่าพิสูจน์ศพของสาขานิติพยาธิ ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล

วิธีการเก็บตัวอย่าง

- ตัวอย่างชิ้นเนื้อหัวใจ หั่นหัวใจตามขวางความหนาประมาณ 1 cm โดยเก็บอย่างน้อย 3 ชิ้น/ราย

- ตัวอย่างเลือด จะเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำ femoral ใส่ลงใน EDTA tube

วิธีการศึกษา

2.1 TROPT sensitive rapid assay

นำเลือด 150 μ L จาก EDTA tube มาค่อยๆหยดลงในหลุมใส่ตัวอย่างของ TROPT sensitive rapid assay แล้วปิดทับด้วยสติ๊กเกอร์ อ่านผลภายใน 15 – 20 นาที

ปรากฏเส้นในตำแหน่ง test และ control + cardiac troponin t \geq 0.08 ng/mL

ปรากฏเส้นในตำแหน่ง control - cardiac troponin t $<$ 0.08 ng/mL

2.2 การบ่มชิ้นเนื้อหัวใจในสารละลายไตรเฟนิลเตตระโซเลียมคลอไรด์

นำมาล้างเอาเลือดและเศษเนื้อส่วนเกินออก แล้วนำมาใส่ลงในภาชนะเซรามิกที่บ่มแสงซึ่งบรรจุสารละลาย 1 % ไตรเฟนิลเตตระโซเลียมคลอไรด์ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8.5 แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 - 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 40 นาที โดยเปิดภาชนะเพื่อกลับชิ้นเนื้อ 1 ครั้งเมื่อครบ 20 นาที เมื่อบ่มครบตามเวลาที่กำหนดไว้ให้นำชิ้นเนื้อออกมา นำกระดาษมาซับสารละลายส่วนเกินออก นำไปถ้ำยรูป หลังจากนั้น fix ชิ้นเนื้อใน 10 % ฟอรัมาลิน



ภาพที่ 1 ซ้าย แสดงชิ้นเนื้อหัวใจปกติ ซึ่งพบว่าติดสีแดงของไตรเฟนิลเตตระโซเลียมคลอไรด์ทั่วทั้งชิ้น
ขวา แสดงชิ้นเนื้อหัวใจที่พบความผิดปกติ ซึ่งมีบางส่วนไม่ติดสี(ในวงกลม)

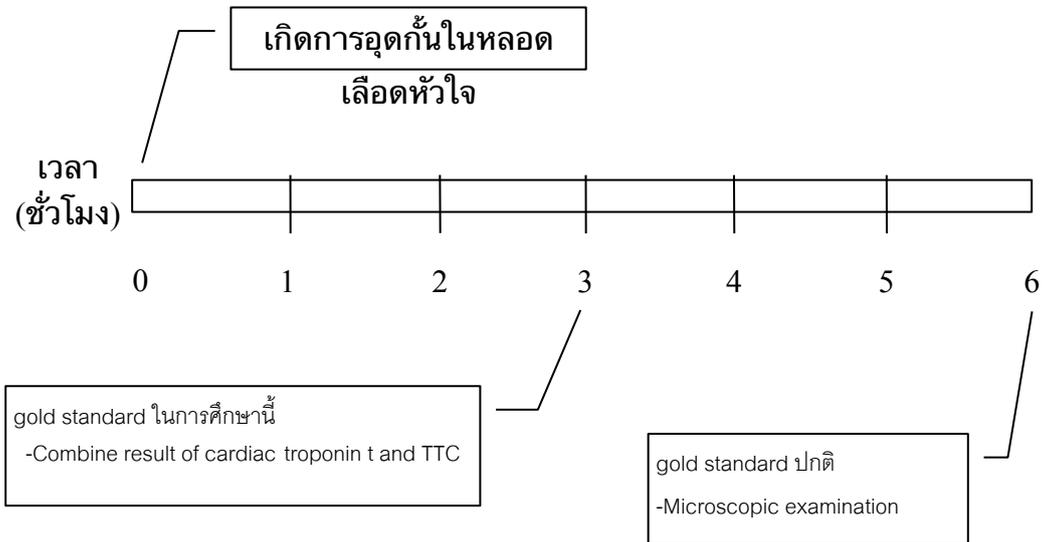
2.3 การย้อม H&E

นำชิ้นเนื้อหัวใจที่ fix ใน 10% ฟอรัมาลินได้ที่แล้วมาตัดชิ้นเนื้อตามตำแหน่งที่พบการอุดตันในหลอดเลือดแดงเลี้ยงหัวใจ และตำแหน่งที่ไม่ติดสีแดงจากขั้นตอนในข้อ 2.2 นำไปเข้ากระบวนการย้อม H&E ตามปกติ เมื่อนำสไลด์มาตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์แล้วพบ coagulative necrosis with hemorrhage, pyknosis of nuclei, ischemic contraction band necrosis, myocytolysis, infiltration of the interstitium by polymorphonuclear leucocytes จึงจะสรุปว่าเกิดภาวะกล้ามเนื้อหัวใจตาย

การคำนวณทางสถิติ

การตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ซึ่งเป็น gold standard ตามปกติไม่สามารถตรวจพบภาวะกล้ามเนื้อหัวใจตายที่มีอายุไม่เกิน 6 ชั่วโมง จึงไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้เปรียบเทียบในการศึกษานี้ ดังนั้นจึงมีการกำหนด gold standard คือ ผลที่ตรงกันของ TROPT sensitive rapid assay และ

ไตเฟนิลเตตระโซเลียมคลอไรด์ เพิ่มเข้ามานอกเหนือจากการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงด้วยกล้องจุลทรรศน์ เพื่อเติมเต็มช่องว่างดังกล่าวในการเปรียบเทียบ(ภาพที่ 2) หลังจากนั้นจะนำผลการเปรียบเทียบมาคำนวณหา sensitivity, specificity และ accuracy ตามวิธีในตารางที่ 1



ภาพที่ 2 อธิบายเกณฑ์ที่ใช้ในการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการศึกษา

TTC Test	Gold standard	
	infarct	No infarct
Positive	TP ¹	FP ³
Negative	FN ⁴	TN ²

sensitivity	=	TP/(TP+FN)
specificity	=	TN/(FP+TN)
Accuracy	=	(TP+TN)/(TP+FP+FN+TN)

ตารางที่ 1 วิธีการคำนวณ sensitivity, specificity และ Accuracy

1 True positive (TP) = ผลของ TTC บ่งชี้ว่าเกิดกล้ามเนื้อหัวใจตายซึ่งตรงกับผลสรุปที่ได้จาก gold standard

2 True negative (TN) ผลของ TTC แสดงว่าไม่พบกล้ามเนื้อหัวใจตายซึ่งตรงกับผลสรุปที่ได้จาก gold standard

3 False positive (FP) ผลของ TTC บ่งชี้ว่าเกิดกล้ามเนื้อหัวใจตายเฉียบพลัน ซึ่งขัดแย้งกับผลของ Troponin T และกล้องจุลทรรศน์

4 False negative (FN) Negative TTC ผลของ TTC บ่งชี้ว่าไม่พบกล้ามเนื้อหัวใจตายซึ่งขัดแย้งกับผลจากกล้องจุลทรรศน์

ผลการศึกษา

ลักษณะโดยทั่วไปของตัวอย่างที่นำมาศึกษาในการทดลองนี้มีทั้งหมด 80 ราย เป็นเพศชาย 66 ราย เพศหญิง 14 ราย อายุตั้งแต่ 21 – 74 ปี (ค่าเฉลี่ย 51.57) เสียชีวิตโดยไม่ปรากฏเหตุ 74 ราย เสียชีวิตด้วยสาเหตุอื่น 6 ราย โดยส่วนใหญ่จะพบการอุดตันที่หลอดเลือด left anterior descending coronary artery มากที่สุด ที่ระดับความรุนแรงโดยเฉลี่ยคือ 84.69 % โดยผลการศึกษา และค่าประสิทธิภาพของการบ่มชิ้นเนื้อหัวใจในสารละลาย

ไตรเฟนิลเตตระโซเลียมคลอไรด์โดยเปรียบเทียบกับ gold standard ทั้ง 3 แบบดังแสดงในตารางที่ 2 และ 3 ตามลำดับ

ผลการทดสอบ			จำนวน
Cardiac troponin t	TTC	การย้อม H&E	
Positive	Positive	Positive	12
Positive	Positive	Negative	14
Negative	Positive	Positive	5
Negative	Negative	Positive	2
Positive	Negative	Positive	3
Negative	Positive	Negative	2
Positive	Negative	Negative	16
Negative	Negative	Negative	26

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบ TROPT sensitive rapid assay, การบ่มด้วยสารละลายไตรเฟนิลเตตระโซเลียมคลอไรด์ และการย้อม H&E

Gold standard	Sensitivity	Specificity	Accuracy
การตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์	17 of 22 (77.3%)	42 of 58 (72.4%)	59 of 80 (73.8%)
ผลรวมของ cardiac troponin t และ TTC	31 of 33 (86.1%)	42 of 47 (95.5%)	73 of 80 (91.3%)

ตารางที่ 3 แสดงค่า Sensitivity, specificity และ accuracy ของการบ่มชิ้นเนื้อหัวใจในสารละลายไตรเฟนิลเตตระโซเลียมคลอไรด์ เมื่อเปรียบเทียบกับ gold standard 2 แบบ

อภิปรายผลการศึกษาและสรุป

จากผลการศึกษาในตารางที่ 1 พบว่าผลที่ได้สอดคล้องกับกลไกการเปลี่ยนแปลงระดับเซลล์ดังต่อไปนี้ กลุ่มที่ได้ผลลบทั้ง 3 วิธี กลุ่มนี้น่าจะเสียชีวิตเร็วเกินกว่าที่การเปลี่ยนแปลง, cardiac troponin t ให้ผลบวกเร็วกว่า ไตรเฟนิลเตตระโซเลียมคลอไรด์น่าจะเป็นเพราะตำแหน่งที่อยู่และขนาดของ cardiac troponin t เชื้อต่อการเคลื่อนผ่านเยื่อหุ้มเซลล์สู่กระแสเลือดได้เร็วกว่า เอนไซม์ dehydrogenase

นอกจากผลที่สอดคล้องกับทฤษฎีที่ได้กล่าวไปข้างต้น ในการศึกษาครั้งนี้ยังพบผลลวงด้วย ในวิธีการบ่มชิ้นเนื้อด้วยไตรเฟนิลเตตระโซเลียมคลอไรด์มีรายที่ผลบ่งชี้ว่าเกิดกล้ามเนื้อหัวใจตายที่ขัดแย้งกับอีก 2 วิธี ซึ่งกรณีเช่นนี้อาจเกิดขึ้นได้ในกรณีที่เซลล์ยังมี เอนไซม์ และ โคเอนไซม์หลงเหลืออยู่ในเซลล์มากพอที่จะย้อมติดสี⁹ ส่วนเทคนิค TROPT sensitive rapid assay ก็พบผลลวงเช่นเดียวกับการศึกษาก่อนหน้า¹⁰ ซึ่งน่าจะเป็นผลจากระดับ cardiac troponin t ในยามปกติอยู่ในระดับต่ำกว่าปรกติมาก¹¹ บอกกับตอนใกล้เสียชีวิตการทำงานของหัวใจแย่งทำให้ระดับ cardiac troponin t ในเลือดไม่ถึงค่า cut off

ค่า sensitivity กับ specificity ของเตตระโซเลียมคลอไรด์กับการศึกษาก่อนหน้าของ Adegboyega ซึ่งใช้การตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์เป็น gold standard พบว่าค่า sensitivity และ specificity เท่ากับ 77.4 % และ 92.6 % ตามลำดับ¹² เมื่อนำผลดังกล่าวมาเปรียบเทียบกับผลที่ได้จากการทดลองครั้งนี้พบว่า ค่า sensitivity ใกล้

เคียงกัน แต่ค่า specificity ของการศึกษานี้น้อยกว่าการศึกษาที่แล้ว สันนิษฐานว่าเป็นผลมาจากกลุ่มตัวอย่างที่แตกต่างกัน โดยในการศึกษาก่อนใช้ประชากรเป็นศพที่เข้ามารับการผ่าชันสูตรทั้งหมด ในขณะที่การศึกษานี้คัดเลือกเฉพาะกลุ่มเสี่ยงเท่านั้น

จากตารางที่ 2 พบว่าเมื่อเพิ่ม gold standard เพื่อรองรับการตรวจพบกล้ามเนื้อหัวใจตายในระยะต้น พบว่าค่า sensitivity เพิ่มขึ้นจาก 77.4% เป็น 86.1% เช่นเดียวกับค่า specificity ที่เพิ่มขึ้นจาก 72.4% เป็น 95.5 % ซึ่งเป็นหลักฐานแสดงให้เห็นว่า TTC สามารถตรวจพบภาวะกล้ามเนื้อหัวใจตายเฉียบพลันในระยะต้นที่ไม่สามารถตรวจพบด้วยกล้องจุลทรรศน์

จากการศึกษานี้สรุปได้ว่าไทเฟนิลเตตระโซเลียมคลอไรด์สามารถนำมาใช้ในการยืนยันการเกิดภาวะกล้ามเนื้อหัวใจตายเฉียบพลันในระยะต้น รวมถึงช่วยให้การเลือกตัดชิ้นเนื้อเพื่อนำมาตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์มีความแม่นยำมากขึ้นซึ่งช่วยอำนวยความสะดวกให้แพทย์นิติเวชสามารถสรุปผลการผ่าพิสูจน์ แต่เนื่องจากวิธีนี้อาจเกิดผลลวงดังที่ได้อธิบายไปแล้วจึงควรประยุกต์ใช้ร่วมกับการตรวจวัดระดับ cardiac troponin t ในกระแสเลือด โดยทดสอบด้วย TROPT sensitive rapid assay ซึ่งเป็น kit ที่ทำการทดสอบได้ง่ายและให้ผลรวดเร็วก่อน เมื่อให้ผลบวกค่อยเพิ่มการบ่มชิ้นเนื้อด้วยสารละลายไทเฟนิลเตตระโซเลียมคลอไรด์เพิ่ม หากตรวจสอบด้วยตาเปล่าไม่พบ

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ได้รับการสนับสนุนโดยทุนวิทยานิพนธ์คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาลในการสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์

เอกสารอ้างอิง

1. Bureau of Health Policy and Strategy, Ministry of Public health. Statistic death [online]. [cited 2011 Feb 8]; Available from: URL:<http://bps.ops.moph.go.th/index.php?mod=bps&doc=5>
2. Kumar V, Abbas A, Fausto N, Aster JC. Robbins and cotran pathologic basic of disease. 8thed. Philadephia(USA). Saunders Elsevier;2010. p. 530-59.
3. Stevens A, Lowe J. Pathology. 2nd ed. Edinburgh: Mosby; 2000. p. 23-33.
4. Lie JT, Pairolero PC, Holley KE, Titus JL. Macroscopic enzyme-mapping verification of large, homogeneous, experimental myocardial infarcts of predictable size and location in dog. J thoracic and cardiovascular surgery. 1975 Apr;6(4):599-605.
5. Vivaldi MT, Kloner RA, Schoen FJ. Thiphenyltetrazolium staining of irreversible ischemic injury following coronary artery occlusion in rat. Am J pathol.[serial online] 1985 [cited 2008 May 7];121:522-530. Available from: URL:<http://www.pubmedcentral.nih.gov>
6. Ramkissoon RA. Macroscopic identification of early myocardial infarction by dehydrogenase alterations. J clinpathol. [serial online] 1966 [cited 2008 June 12];19:479-81. Available from:URL:<http://www.pubmedcentral.nih.gov>
7. KoranankulB, Jaruruk N, Krittayaphong R. Cardiac marker. Bangkok(Thailand):Text and Jomal publication; 1998. p. 39 – 54.
8. TROP T sensitive rapid assay [package insert].
9. Klein HH, Puchmann S, Schaper J, Schaper W. The mechanism of the tetrazoliumReaction in identifying experimental myocardial infarction. Virchow Arch [PatholAnat][serial online] 1981 [cited 2011April 28];393:287-97. Available from: URL:<http://www.pubmedcentral.nih.gov>

10. Kluakamkao G, Narongchai P, Narongchai S, Mahanupab P. Diagnosis of acutemyocardial infraction in sudden unexplained death by a troponin T sensitive rapid assay. Chiang Mai Med Bull [serial online] 2004 Jun [cite 2008 Apr 8]; 43(2):57-65. Available from: URL:<http://medicine.cmu.ac.th/secret/edser/journal>
11. Omland T, Sabastine MS, Rice MM, Domonski MJ, Rouleau JL. A sensitive cardiac Troponin t assay in stable coronary artery disease. N ENGL J MED [serial online] 2009 Dec [cite 2008 Apr 8];361:2538-47. Available from:URL:<http://nejm.org>
12. Adegboyega PA, Adesokan A, Haque AK, Boor PJ. Sensitivity and specificity of triphenyltetrazolium chloride in the gross diagnosis of acute myocardial infarcts. Arch pathol lab med. 1997;121:1063-68.