



THE HEMATOLOGIC STUDIES OF ANEMIA IN THE PATIENT
WITH PROTEIN-CALORIE MALNUTRITION
II LEUKOCYTE AND DIFFERENTIAL COUNTS

สุรเชษฐ์ ทวีพัฒนา *

ปัญญา กุลพงษ์, พ.บ., Am. Board of Ped. **

บทนำ

ในปัจจุบันปัญหาที่เด่นและสำคัญต่อมวลมนุษยชาติอันหนึ่ง คือ Malnutrition ซึ่งสาเหตุอาจเนื่องจากปัญหาทางด้านสังคม, เศรษฐกิจ, สุขภาพ, การศึกษา, การผลิตอาหาร การขนส่งและปัญหาการเกิดของประชากร Cumulative effect ของ negative balance ของ factors เหล่านี้มีผลต่อลักษณะทางสรีรวิทยา และสังคมวิทยาของภาวะ chronic deficiency เพราะอาหารไม่พอเพียง พบว่าภาวะ chronic starvation ที่พบในบริเวณประเทศที่กำลังพัฒนาทั้งหลายในโลกเป็นปัญหาที่ถ่วงความเจริญของสังคม ภาวะ malnutrition มีความสำคัญคือมันเป็นโรคขั้นมูลฐานที่มีโอกาสเป็นโรคอื่นต่อไปได้

คำจำกัดความของ malnutrition

เป็น pathologic state ของ varying severity และ clinical features ซึ่งมีสาเหตุเนื่องจากการขาดจำนวนที่พอเพียงของ essential nutrients จากคำจำกัดความนี้จะเห็นได้ว่า Etiology ของการเปลี่ยนแปลงเช่นนี้ พอดีเกิดได้เนื่องจากสิ่งต่างๆที่ไป interrupt ต่อขบวนการย่อยอาหารอันสลับซับซ้อน ซึ่งเริ่มต้นโดยการกินอาหารและผลสุดท้าย cells ก็นำไป utilize

สาเหตุของ malnutrition อาจแบ่งออกเป็นสอง 2 อย่างคือ (1)

(1) Primary causes : แม้ว่าในประเทศที่มีมาตรฐานการครองชีพสูงก็ยังพบว่าเป็น malnutrition ชนิดนี้⁽²⁾ สาเหตุก็คือได้รับอาหาร (ซึ่งอาจจะมีความผิดปกติ) ในปริมาณที่ไม่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย

(2) Secondary causes : เกิดขึ้นเมื่อมี

* นักศึกษาปีที่ 4 ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

** ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

cellular assimilation defect พบว่าในเด็กอาจมีสาเหตุเนื่องจาก

1. Interference digestion and absorption of food อาจเนื่องจากขาด digestive secretions เช่นใน fibrocystic disease of pancreas, Achlorhydria, Biliary duct atresia อาจเนื่องมาจากโรคต่างๆ ของระบบทางเดินอาหาร ซึ่ง accelerate ต่อทางเดินของอาหารในลำไส้ หรือการเปลี่ยน surface ของ absorption เช่นใน Esophageal stenosis, Pylorus hypertrophy, large intestinal resection หรือ chronic diarrhea

(2) Nutritional requirements เพิ่มขึ้น เช่นใน Accelerated tissue destruction อาจโดย protracted febrile disease และการเปลี่ยนอุณหภูมิของสิ่งแวดล้อม หรือการใช้ยาต่างๆ

(3) Interference of utilization เนื่องจากการขาด enzyme เช่นใน diabetes, mellitus, Hypopituitarism, Hypothyroidism หรืออาจเนื่องจาก impaired oxygenation เช่นใน chronic pulmonary disease, congenital heart disease

ผลสุดท้ายของ malnutrition ชนิดใดๆ ก็ตามทำให้เกิด deficient cellular utilization ของ nutritional elements และทำให้เกิด

การเปลี่ยนแปลงของ metabolism ต่างๆ ดังนั้นจะเห็นได้ว่า malnutrition เป็น aggregated syndrome ของ etiology หลายอย่าง แต่ทำให้เกิดพยาธิสภาพอันเดียว infections ใน chronic undernourished children อาจมีอิทธิพลต่อความรุนแรงของ malnutrition

สำหรับทาง practical เราอาจแบ่ง malnutrition เป็น 3 ระยะ คือ first, second และ third degrees สาเหตุสำคัญของ malnutrition ในประเทศต่างๆ ที่กำลังพัฒนา คือ chronic deficient food consumption ซึ่งเกี่ยวโยงไปถึงทางเศรษฐกิจ Davis⁽³⁾ ได้รายงานไว้ว่า malnutrition ในพจนานุกรมเป็น normal stage ใน development ในเด็ก

First degree malnutrition ไม่มี appreciable wasting แต่น้ำหนักตัวลดลงไม่มี improved nutrition หรือมี secondary cause ของ malnutrition พบว่าน้ำหนักตัวลดลงทำให้เกิด second degree malnutrition ในขั้นนี้ผู้ป่วยบางรายอาจแสดง vague symptom ส่วนอาการอื่นๆ ได้แก่ malaise, มี intolerance ต่อ certain foods, มี muscular flaccidity อาการในตอนแรกนั้นค่อยๆ หายไป และร่างกายเด็กจะปรับตัวต่อ inadequate food supply ตอนนี้นักชณะที่เปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีคือ extracellular fluid เพิ่มขึ้น จากการศึกษา

อย่างละเอียดใน third degree malnutrition⁽⁴⁾ พบว่า 90% ของเด็กที่อยู่ในภาวะนี้ระหว่างอายุ 6 เดือน ถึง 5 ปี

อาการ edema จะพบได้ถึง 71% ส่วนอีก 29% ไม่มี edema ในทารกอายุต่ำกว่า 6 เดือน จะพบว่ามี edema น้อยมาก นอกจากนั้นอาจจะมี lesions ของ skin, mucosa และ accessory structure ในผู้ป่วยที่ไม่มี edema จะมี skin แห้งและ hyperchromic ชั้นนอกสุดของ skin มักจะเป็น fissure ส่วนในผู้ป่วยที่มี edema มักจะพบ pleomorphic dermatoses ตอนแรกจะมีลักษณะเป็น erythematous lesion ภายหลังกลายเป็น violaceous tinge แล้วกลายเป็นสีน้ำตาลแดงชั้นที่ชายขอบ จากนั้น skin จะ split และเริ่ม exfoliate ออกเป็นชั้นๆ บางครั้งชั้น epidermis ถูก denuded และพบว่า dyschromic area ก็ยังคงอยู่

ผู้ป่วย third degree malnutrition 6% จะมีอาการของ hepatomegaly และ mental disturbance เป็น diarrhea มากกว่า 91% อาจจะมีลักษณะเป็นสีเขียวหรือเทา ซึ่งประกอบด้วยพวก mucus และบางทีก็มีเลือดออกมาด้วย gross steatorrhea ไม่ค่อยพบ ยกเว้นในเด็กซึ่งได้รับอาหารที่มี fat มาก ผลของ stool culture จะ negative ใน 72% ของผู้

ป่วย 321 ราย มีการพบเชื้อ Shigella 14.3% Salmonella 9.4% และ pathologic organisms อื่นๆ 4.5% ซึ่งพบว่าการเกิด diarrhea เนื่องจากเชื้อ bacteria มีความสำคัญมาก

Complication ของ infection ในระบบหายใจ ได้แก่ bronchopneumonia และ otitis media แต่ทั้ง symptom และ signs ของ infection นี้ต่างจากภาวะปกติอย่างชัดเจน อาจไม่มีอาการไข้เลย หรืออาจเกิด perforation ของ intestine และ generalized peritonitis ขึ้นโดยปราศจากอาการของ acute abdominal condition เลย

ลักษณะทางชีวเคมี ค่าของ serum protein ในผู้ป่วยที่เป็นเด็ก 395 ราย และในเด็กที่อยู่ในภาวะปกติ พบว่า total protein, albumin, globulin ในเด็กทั้ง 2 พวกจะต่างกันอย่างชัดเจน ภาวะที่เป็น dysproteinemia อาจเกิดขึ้นเนื่องจากมีระดับ albumin และ Beta-globulin ลดลง แต่พบว่า Gamma-globulin เพิ่มขึ้น ในผู้ป่วยส่วนมากถ้าหากไม่คำนึงว่ามีหรือไม่มี edema แล้วพบว่าค่า total protein จะลดลงทั้งนั้น ในขณะที่ระดับ albumin ลดลง

พบวาระดับ Gamma-globulin เพิ่มขึ้น⁽⁵⁾ ซึ่งมักจะพบในพวกที่มี edema มากกว่าพวกที่ไม่มี edema ค่าของ serum protein จะต่ำ

ในเด็กที่มี edema ส่วนพวกที่ไม่มี edema จะมีค่าสูงกว่า พบว่า clinical edema จะเกิดขึ้นในผู้ป่วยทุกรายที่มีค่าของ serum albumin น้อยกว่า 2 gm% พบว่าค่าของ albumin จะลดลงเสมอ และระหว่าง recovery จะมีค่า total protein สูงขึ้น ที่เกิดภาวะ hypoalbuminemia ในผู้ป่วยเหล่านี้เชื่อว่าเนื่องจาก deficient protein intake ส่วนเรื่อง electrolytes พบว่าระดับ inorganic phosphate ลดลงแต่ระดับของ calcium จะเป็นปกติ ส่วน sodium จะมีค่าไม่แน่นอน ค่า potassium จะต่ำมากใน severe dehydration มีผู้เชื่อว่า enzymatic activity ของ duodenal contents จะมีค่าลดลงในภาวะ malnutrition และจะเพิ่มขึ้นพร้อมกับ improvement ของ nutritional status แต่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่าง serum albumin กับ pancreatic enzyme ได้ทำการศึกษาลูกที่ป่วยในระยะเฉียบพลันพบว่า alkaline phosphatase มีค่าต่ำพร้อมกับ pseudocholinesterase และ amylase เมื่อเริ่มมี recovery พวก enzymes เหล่านี้จะกลับมาสู่ค่าปกติ พบว่า high protein diet อาจทำให้ค่า enzymes เป็นปกติได้

Anemia in malnourished children:

จากการศึกษาพบว่าพวก malnourished children และ adults มีอาการซีด เชื่อว่าเนื่องมา

จาก anemia ในเด็กจะมี moderate anemia ค่าของ hemoglobin โดยเฉลี่ย 7-11 gm.% จำนวนเม็ดเลือดแดง ที่นับได้ 3,000,000 - 4,000,000 cells/cu. mm. ⁽⁶⁾ โดยทั่วไป anemia มักเป็นชนิด normochromic normocytic anemia ในผู้ป่วยบางรายอาจเป็นแบบ macrocytic anemia หรือ microcytic anemia ซึ่งจะพบใน complicated malnutrition

Schlesinger (1903) กล่าวว่า blood dilution เป็นสาเหตุของ moderate normochromic normocytic anemia และ hypervolemic anemia ⁽⁶⁾ ที่เกิดขึ้นนี้มีผลเนื่องจากการมี plasma volume เพิ่มขึ้น และผลที่คิดมาคือระดับ hemoglobin และจำนวนเม็ดเลือดแดงต่ำลง

Wintrobe et al (1947) ได้ทำการศึกษา anemia จากการติดเชื้อในผู้ป่วย ⁽⁷⁾ โดยเฉพาะอิทธิพลของ cobalt ต่อ anemia ซึ่งเนื่องมาจาก inflammation ได้ทำการทดลองในหนู 108 ตัว พบว่า เมื่อให้ cobalt พร้อมกับการฉีด Turpentine จะสามารถป้องกันการเกิด inflammation และเกิดภาวะ polycythemia ขึ้นขณะเดียวกันก็เกิด hypoferremia และราชที่เป็นมี erythrocyte protoporphyrin เพิ่มขึ้นเหมือนกับที่พบในรายที่เป็น anemia เนื่อง

จาก inflammation มีการลดลงของ plasma albumin ในหนูที่ฉีดด้วย cobalt หรือ turpentine จากการสังเกตการณ์ที่อ้างตรงกับ hypothesis ที่ว่า cobalt มีอิทธิพลสนับสนุนการใช้เหล็กในการสร้าง hemoglobin

Gomez et al (1954) ได้ทำการศึกษา anemia in malnourished children 51 คน⁽⁶⁾ โดยการหาค่า hemoglobin และนับจำนวนเม็ดเลือดให้สัมพันธ์กับ blood volume เพื่อจะหาชนิดของ anemia พบว่ามี moderate anemia ที่เกี่ยวข้องกับ infantile malnutrition ชนิดของ anemia ที่พบบ่อยที่สุดคือ normochromic normocytic เนื่องจากผู้ป่วยมี plasma volume เพิ่มขึ้นจึงให้ชื่อว่า hypervolemic anemia ในรายที่เป็น severe anemia ซึ่งไม่ได้สัมพันธ์กับ blood volume จะมี pathologic process นอกเหนือจาก malnutrition ซึ่ง accentuate intensity ของ anemia.

Circulation eosinophils ในผู้ป่วยที่เป็น severe malnutrition พบว่ามีค่าต่ำมาก ค่าเริ่มสูงในผู้ป่วยบางรายที่มี recovery และ marked eosinophilia การ response ต่อ corticotropin เป็นปกติพบว่าไม่มี affect เลยในการที่พวก intestinal parasites และได้มีการพบค่าปกติในเด็กและผู้ใหญ่ที่เป็น chronic malnutrition⁽⁸⁾ initial eosinopenia อาจ

ถูก attributed ต่อ adreno-cortical activation ซึ่งเป็นผลของ serious stress ที่ impose ต่อ malnutrition มันไม่มีความหมายอะไรเลยที่ว่า adrenal cortex แสดงทั้ง absolute และ relative growth ในผู้ป่วยที่เป็น acute และ chronic malnutrition⁽⁹⁾ จากการศึกษาใน malnourished adult พบว่ามี exaggerated formation of folds, มี small adenomas, มี loss of lipids, มี cloudy swelling และมี fibrosis of glomerulosa and capsule

Eosinophilic response in chronic disease & malnutrition ซึ่งรายงานในปี 1951 โดย Brenner et al⁽¹⁰⁾ ได้ทำการศึกษาดัง eosinophilic response ต่อ epinephrine stress ในผู้ป่วยที่เป็น chronic malnourished เพื่อวัด index ของ activity ของ adrenal cortex

ผู้ป่วยที่ศึกษามี physical และ laboratory signs ของภาวะ malnutrition มี hypoproteinemia นอกจากนั้นยังมี weight loss, anemia และ general debility พบว่าระดับ serum albumin ต่ำกว่า 4.1 gm% ผู้ป่วยมีอาการของ endocrinopathies, hepatic disease, cardiac disease, diabetes mellitus, carcinoma, tuberculosis และ renal

disease นอกจากนั้นผู้ป่วยยังมี chronic leg ulcers, osteomyelitis, และ chronic rheumatoid arthritis และ vitamin deficiency disease ทำการ treat ผู้ป่วยเหล่านี้ด้วย standardized diet หรือบางรายให้ additional meat พบว่าจะได้ eosinophilic response ใน fasting patients 16 คน โดยใช้ epinephrine 0.3 mg. เป็น stimulus เปรียบเทียบ response ในผู้ป่วยเหล่านี้กับ response ที่เกิดในคนปกติ 4 คน ในการทดลองนี้ใช้ venous blood มี oxalate เป็น anticoagulant แล้ว dilute blood เป็น 1:20 ด้วย diluting fluid ใน WBC diluting pipette ทำการนับ eosinophils ภายใน 4 ชม. ของ bleeding โดยนับทั้งหมด 2 ครั้งแล้วใช้ค่าเฉลี่ย

ผลที่ได้ปรากฏว่า initial count ของ eosinophil ของผู้ป่วยแต่ละคน มี large scatter ในขณะที่ control group มีค่า uniform repetition ผลของ response พบว่ามี mark variability ในการ response ของผู้ป่วยแต่ละคน ส่วน control group มีค่าสม่ำเสมอ เหตุผลที่ว่า inconstancy of response ในผู้ป่วยที่เป็น chronic malnutrition ยังไม่ทราบแน่ชัด ผู้ป่วยพวกนี้มี slight diminution ในการขับพวก 17-ketosteroids และผู้ป่วยไม่มี

ความสามารถในการ response ต่อ stress เพราะว่า eosinophilic response มีความสัมพันธ์กับ adrenal cortex function ผลที่ได้เหล่านี้จึงแสดงถึง evidence of alternation ใน function ของ adrenal cortex ในผู้ป่วย chronic malnutrition เช่น adrenal gland ไม่สามารถ response ต่อ stress เหมือนในภาวะปกติ

Brenner et al จึงสรุปความเห็นว่าการ circulating eosinophil จะ response ต่อ epinephrine 0.3 mg. ใน chronic malnourished patient 16 คน และใน control group 4 คน

ทั้งหมดที่กล่าวมานี้ เป็นการกล่าวอย่างกว้างๆของ malnutrition ซึ่งได้แก่ความเปลี่ยนแปลงต่างๆในผู้ป่วย รวมทั้งอุปนิสัย (Etiology), พยาธิสภาพ (Pathogenesis) ลักษณะทางคลินิกทางพยาธิวิทยา (Pathology-clinical features) ลักษณะทางชีวเคมีคลินิก (Biochemical characteristic), ภาวะ anemia ที่เกิดในผู้ป่วยรวมทั้ง eosinophilic response ในผู้ป่วยพวกนี้ด้วย

ผู้รายงานได้ทำการศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงต่างๆในทางโลหิตวิทยาในผู้ป่วยคนหนึ่ง ซึ่งถูกวินิจฉัยว่าเป็น protein-caloric malnutrition และยังมี parasitic infestation

ซึ่งอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในทางโลหิตวิทยาและพยาธิวิทยา ยังผลให้ blood picture เปลี่ยนไป

วัตถุประสงค์

ในการทำ Term paper ครึ่งนี้ เพื่อที่จะศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ทางโลหิตวิทยาคลินิกในผู้ป่วยที่เป็น protein-caloric malnutrition ตลอดเวลาที่มารักษาที่ศูนย์วิจัยโลหิตวิทยา

วัตถุและวิธีการ

ผู้ป่วยเป็นเด็กหญิงไทย อายุ 13 เดือนได้ถูกนำมารักษาที่ศูนย์วิจัยโลหิตวิทยา และหุโภชนาการ 1 เดือนก่อนที่จะถูกนำมารักษา ผู้ป่วยมีประวัติท้องร่วงและมีไข้สูง อาการท้องร่วงวันละ 3-4 ครั้ง แต่ไม่มีเลือดออก อาการไข้เกิดทุก 2-3 วัน มีอาการไอ พร้อมกับมีโรคผิวหนังร่วมด้วย และผู้มีการบวมประมาณ 1 สัปดาห์ก่อนถูกนำมารักษาพบว่า มีพยาธิตัวกลมออกมาจากจมูกของผู้ป่วย ผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยว่าเป็น Kwashiorkor-Marasmus

วิธีการที่นำมาศึกษากับผู้ป่วย

- 1) การนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาว (White blood count)
- 2) การนับแยก ชนิดเซลล์เม็ดเลือดขาว (Differential count)

1. การนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาว

หลักการ :

- 1) ทำให้เลือดเจือจาง
- 2) บรรจุเลือดที่เจือจางแล้วลงใน Counting chamber
- 3) นับเม็ดเลือดภายในปริมาตรที่ทราบ

อุปกรณ์

1) Pipette สำหรับนับเม็ดเลือดขาว ต้องใช้แบบมาตรฐานที่นิยมใช้กันคือ ชนิด Thoma เมื่อดูดเลือดถึงขีด 0.5 และดูดน้ำยาเจือจางถึงขีด 11 การเจือจางจะเป็น 20 เท่า

2) น้ำยาที่ใช้สำหรับเจือจางมี

ก. 0.1 N HCl มีส่วนประกอบ
กรดเกลืออย่างเข้มข้น 12 CC.

น้ำกลั่น 988 CC.

ข. น้ำยา Turks มีส่วนประกอบ

Glacial Acetic Acid 3 cc.

Gentian Violet 1 cc.

เติมน้ำกลั่นครบ 100 cc.

3. Counting chamber ใช้ชนิดที่คิด

ปรับปรุงโดย Neubauer (1924) เป็นแผ่นแก้วและมีร่องแบ่งเป็นตารางใหญ่ 9 ตาราง แต่ละตารางมีเนื้อที่ 1 ตารางมิลลิเมตร แต่ละตารางใหญ่ที่มุม 4 มุมแบ่งตารางย่อย 16 ตาราง ตารางใหญ่ตรงกลางแบ่งเป็นตารางย่อย 25 ตาราง

หรือบาง เป็นสันขึ้นมาซึ่งเมื่อวาง cover slip ลงไปแล้ว จะมีความลึกจาก chamber ขึ้นมาถึงผิวล่างของ cover slip 0.1 มิลลิเมตรพอดี

วิธีการ

1) ใช้ pipette นับเม็ดเลือดขาว ตูดเลือดจากนิ้วผู้ป่วยขึ้นมาจนถึงขีด 0.5 ถ้าเกินขีดออกด้วยสำลีหรือกระดาษ เช็ดเลือดที่ติดอยู่นอก pipette

2) คัดน้ำ 0.1 N HCl หรือ turks ขึ้นมาจนถึงขีด 11

3) ใช้หัวนิ้วมือและนิ้วกลางบีบปลายทั้ง 2 ข้างของ pipette คว่ำมือหงายไปมาเร็วๆ เป็นเวลา 3 นาที เพื่อให้เม็ดเลือดขาวกระจายสม่ำเสมอในน้ำยา โดยทั่วไปนิยมใช้เครื่องเขย่าอัตโนมัติ

4) วาง cover slip บน counting chamber ให้เสมอ

5) ปล่อยน้ำจาก pipette ทั้งหลาย หยดเพื่อกำจัดส่วนที่คาอยู่ในกัน ซึ่งไม่ผสมเข้ากันกับส่วนในกระเปาะ ตั้งลำ pipette ให้ตั้งฉากกับพื้นหรืออาจเฉียงก็ได้ จ่อปลายที่ด้านข้างระหว่าง cover slip กับ chamber ใช้น้ำซูดปลายบนของ pipette และเขยอน้อยๆ ให้น้ำ pipette ไหลเข้า chamber ด้วยความเร็วสม่ำเสมอและเต็มแทนพอดีโดยไม่ขาด และไม่เอ้อล้น

6) ตั้งทิ้งไว้ 2-3 นาที แล้วนับเม็ดเลือดในกล้องจุลทรรศน์ด้วยหัวกำลังขยายสูงที่ไม่ใช้น้ำมัน การนับเม็ดเลือดขาวนับใน 4 ช่องใหญ่ที่มุม

7) การคำนวณจำนวนเม็ดเลือดขาวต่อ 1 ลูกบาศก์มิลลิเมตร นับ 4 ช่องใหญ่ที่มุม ปริมาตรของเนื้อที่ที่นับ $= 1 \times 1 \times 0.1 \times 4 = 0.4$ ลบ.มม. ความเจือจาง 20 เท่า เพราะฉะนั้นตัวคูณ $= 20 / 0.4 = 50$ เช่นถ้านับ 4 ช่องได้ 400 เซลล์

จำนวนเม็ดเลือดขาว $= 400 \times 50 = 20,000$ เซลล์/ลบ.มม.

8) ล้าง chamber และ cover slip ด้วย running water ห้ามใช้แปรงขัด ชำ chamber ให้แห้งด้วยผ้าสะอาด ห้ามใช้ผ้าถูไปบนตาราง เพราะจะทำให้เส้นสึก

DIFFERENTIAL COUNT

1) การเตรียม slide

ต้องใช้ slide ใหม่ไม่มีรอยขีดข่วน เรียบและสะอาดที่สุด ควรทำความสะอาดทำดังนี้

ก. การทำความสะอาดอย่างหยาบ มี 2 วิธี

1) ล้างด้วยน้ำและสบู่ และต่อมาด้วยน้ำร้อนและน้ำกลั่น แล้วแช่ไว้ใน 95 % แอลกอฮอล์ในภาชนะที่มีฝาปิด

2) ใช้ cleaning solution (100 กรัม

ของผล $K_2Cr_2O_7$ ในน้ำ 200 cc. และค่อยๆ เติม H_2SO_4 technical grade ลงไป 800cc.)

ข. การทำความสะอาดอย่างละเอียดจาก slide ที่แช่ในแอลกอฮอล์เอาออกมา เช็ด และขัดด้วยผ้าที่สะอาดปราศจากฝุ่นและไขมัน หลังจากนั้นจับ slide ได้แต่ที่ขอบ ห้ามแตะต้องด้านบนของ slide เป็นอันขาด เพราะ slide ที่สกปรกจะทำให้เลือดกระจายบนผิว slide ไม่สม่ำเสมอ

2) การทำ Smear

หยดเลือดเล็กๆ ลงปลายข้างหนึ่งของ slide ในการทำเลือดจากปลายนิ้ว ควรระวังให้ slide แตะแต่หยดเลือดเท่านั้น อย่าให้แตะถึงผิวหน้า เพราะไขมันอาจติดมาบน slide ใช้ slide แผ่นที่สองที่สะอาดและเรียบตะไปบน slide แผ่นแรกและหยดเลือดให้ทั่ว 30 - 40 องศา กับ slide แผ่นแรก รอให้เลือดกระจายมาถึงริม slide แล้วจึงไถไปอย่างสม่ำเสมอ หยดเลือดจะต้องเล็กพอที่ปลาย smear สั้นสุดกลาง slide

3) การย้อมสี

สีที่นิยมใช้ย้อมคือ Wright's stain

การเตรียม Wright's stain

อาจซื้อน้ำยาสำเร็จรูป หรือเตรียมเองโดยเอาผง wright's 0.1 กรัม ใส่กรวด เติม absolute methyl alcohol อย่างบริสุทธิ์ไม่มี

acetone และไม่มีน้ำ บดครึ่งละ 60 cc. บดให้เข้ากันอย่างน้อย 20-30 นาที เก็บใส่ขวดไว้ 1-2 วันก่อนใช้ ต้องกรองก่อน ภาชนะที่ใส่สี ต้องสะอาดและแห้งสนิท และมีจุลอุดกั้นระเหย และกันไอน้ำเข้าไปหาแอลกอฮอล์

การเตรียม Buffer ประกอบการย้อมสี

การติดสีของ wright's stain ขึ้นอยู่กับความเป็นกรดต่างอย่างมาก การเป็นกรดจะทำให้ติดสีแดงอย่างมากของ eosin การเป็นด่างจะทำให้ติดสีน้ำเงินของ methylene blue มาก ดังนั้นจึงต้องจัดความเป็นกรดต่างให้เหมาะสม คือให้มี pH 6.8 บางครั้งก็ให้มี pH 6.4 ในการเจือจางควรใช้ buffer มากกว่าน้ำกลั่น

Buffer ที่ใช้มีหลายอย่างได้แก่

เติม 0.006 M Sorensen's buffer (pH 6.8) 50 CC. ลงในทุกๆ ลิตรของน้ำกลั่นที่ใช้

ส่วนประกอบของ Sorensen buff

KH_2PO_4 0.91 % 50.8 CC.

Na_2HPO_4 0.95 % 49.2 CC.

วิธีการย้อม

1. หาย slide ให้ขนานกับพื้นโดยพาดบนแท่งแก้ว 2 อัน

2. หยดสีลงไปจนท่วมบริเวณที่ต้องการย้อม เป็นเวลา 1-3 นาที ระยะนี้เป็น การ fix เม็ดเลือดด้วย methanol ที่อยู่ในสี

3. หยดน้ำ buffer pH 6.8 ลงไปปริมาณ
เท่าๆ กับสี ต้องระวังอย่าให้ล้น และหล่นจาก
slide ระยะนี้เป็นระยะย้อม ใช้เวลา 3-5
นาที

4. ล้างด้วยน้ำกลั่น แล้วทิ้งไว้ให้แห้งใน
อากาศหรือกระดาษซับ

การแปลผลของ Differential Count

นำเอา slide ที่ได้ย้อมสีเรียบร้อยแล้วมาดู
ด้วยกล้องจุลทัศน์ ก่อนอื่นต้องตรวจ slide

ด้วยหัวกำลังขยายต่ำก่อนใช้หัว oil immersion
ทำการนับเม็ดเลือดขาวแยกเป็นชนิดต่าง ๆ ออก
เป็น % ของ semented cell. bands, lympho-
cyte และอื่นๆ ควรตรวจดู toxic granulation
ถ้าพบต้องบอก degree ของมันว่าเป็น mild,
moderate หรือ marked นอกจากนั้นศึกษา
เม็ดเลือดแดงและบอก degree ของ anisocy-
tosis, poikilocytosis polychromatophilia
และอื่นๆ ด้วย อนึ่ง ควรตรวจดู platelet บ้าง
แล้วรายงานว่า adequate หรือ inadequate

RESULT

Hosp. Day	Date	Leukocyte Count	Neutro phil	Bands	Lympho cyte	Mono cyte	Eosi nophil	Baso phil	Platelet
1	Nov. 24,69	17,850	52	15	23	10	-	-	ADEQ
2	Nov. 25,69	30,000	50	21	26	3	-	-	ADEQ
3	Nov. 26,69	30,350	26	19	46	9	-	-	ADEQ
4	Nov. 27,69	29,500	42	10	46	2	-	-	ADEQ
5	Nov. 28,69	20,500	36	16	46	2	-	-	ADEQ
6	Nov. 29,69	-	-	-	-	-	-	-	-
7	Nov. 30,69	-	-	-	-	-	-	-	-
8	Dec. 1, 69	38,900	57	20	20	3	-	-	ADEQ
9	Dec. 2, 69	30,600	47	15	37	1	-	-	ADEQ

NOTE	HOSP. DAY 2	METAMYELOCYTE	1
		MYELOCYTE	3
	HOSP. DAY 8	ANISOCYTOSIS	1+
		HYPOCHROMIA	1+
		TOXIC GRANULATION OF SEGMENT	1+
	HOSP. DAY 9	METAMYELOCYTE	3

วิจารณ์

จากผลงานที่ได้ศึกษาในผู้ป่วยคนนี้ ตลอดเวลาที่ถูกนำมารักษาที่ศูนย์วิจัยโลหิตวิทยา พบว่าจำนวนเม็ดเลือดขาวในกระแสโลหิตยังคงสูงอยู่เรื่อย ๆ วันแรกที่มา admitted นับได้ 17,800 cells/cu.mm. และวันสุดท้ายก่อนที่ผู้ป่วยตายนับได้ 30,600 cells/cu.mm. ซึ่งจัดว่าอยู่ในระดับสูงมาก เมื่อทำการนับแยกชนิดของเม็ดเลือดขาว ปรากฏว่า neutrophils ค่อนข้างต่ำ แต่ bands กลับพบว่ามีความมากกว่าปกติ พร้อมกันนี้ยังมีเซลล์พวก meta-myelocyte และ myelocyte ออกมาด้วย เป็นการแสดงให้เห็นว่าผู้ป่วยคนนี้มี marked shift to the left ซึ่งหมายถึงการที่เซลล์อ่อนในสาย myelocytic series ออกมาสู่กระแสโลหิตมาก นอกจากนี้ใน blood smear ยังพบ toxic granulation of segments ด้วย ซึ่งเป็นคำบอกถึงการติดอย่างรุนแรง

ส่วนเซลล์เม็ดเลือดขาวพวก lymphocytes และ monocytes มีจำนวนค่อนข้างปกติซึ่งก็ไม่ได้แสดงถึงอาการแต่อย่างใด แต่พวก basophil กลับพบว่าไม่มีเลย เข้าใจว่าอาจเนื่องมาจากภาวะ stress เช่นภาวะที่มีการอักเสบอย่างเฉียบพลันภายในอวัยวะของร่างกาย^(11,12)

ผู้ป่วยคนนี้มีพยาธิ์ตัวกลมชนิด ascaris

lumbricoides อยู่ในร่างกายอย่างมากมาย ซึ่ง confirm diagnosis ได้โดยการตรวจพบไข่ของพยาธิ์ในอุจจาระ ตามความจริงที่เป็นที่ยอมรับทั่วไปแล้วว่าในผู้ป่วยที่มี parasitic infestation จะมี eosinophil เพิ่มขึ้นจากค่าปกติอย่างเห็นได้ชัด พวก parasites ที่มีบทบาทสำคัญได้แก่ พยาธิ์ตัวกลม เช่น ascaris lumbricoides เมื่อพยาธิ์ผ่านเข้าไปใน tissues ของ organs ต่าง ๆ จะทำให้มีสาร histamine ออกมามากในบริเวณนั้น คือบริเวณที่ tissue ถูกทำลายเนื่องจากว่า eosinophilia เกิดขึ้นเพราะสาร histamine เป็นตัวชักพาไป eosinophiles จะเข้าไปใน tissue บริเวณที่มีสาร histamine มากเพื่อทำลายฤทธิ์ ถ้าในเลือดมีสาร histamine มากจะทำให้ eosinophil ในเลือดสูง^(11,12) แต่ผลปรากฏว่าในผู้ป่วยรายนี้กลับไม่มี eosinophil เลยในเลือดทั้งๆที่มี parasitic infestation ผู้รายงานมีความเข้าใจว่าอาจเนื่องจากผู้ป่วยเป็นเด็กอ่อนอยู่ คือ มีอายุ 13 เดือน จึงอาจยังไม่มี response ต่อ eosinophil หรืออาจมีแต่เป็น weak response สาเหตุอีกประการหนึ่งจาก observation พบว่าค่า eosinophil จะต่ำลงทุกครั้งที่มีระดับ total protein ลดลง เนื่องจากผู้ป่วยรายนี้เป็น protein-calorie malnutrition การขาด

อาหารที่มี protein อาจเป็นสาเหตุที่ทำให้ circulating eosinophil ต่ำลง ความจริงข้อนี้ได้มาจากการสังเกตการณ์ในผู้ป่วย protein-calorie malnutrition ซึ่งพบว่ามี eosinophil ต่ำหรือไม่มีเลย ไม่ว่าผู้ป่วยนั้นจะมีหรือไม่มี parasitic infestation ก็ตาม

นอกจากนี้ใน blood smear ยังพบ anisocytosis+ และมี hypochromia ด้วยภาวะ anisocytosis เป็นภาวะที่เม็ดเลือดแดงในคนเดียวกันมีขนาดต่างกัน พบได้เล็กน้อยในคนปกติ แต่เมื่อเป็นโรคที่รบกวนการสร้างเม็ดเลือดแดง จะพบภาวะ anisocytosis มากขึ้น ส่วน hypochromia เป็นภาวะที่เม็ดเลือดแดงคิดต่ำกว่าธรรมดา ซึ่งพบได้ในพวก anemia เช่น Iron deficiency anemia หรือในพวก thalassemia^(11,12)

ค่า hemoglobin, hematocrit และ reticulocyte ในผู้ป่วยรายนี้ค่อนข้างปกติ แต่ค่า hemoglobin มีความโน้มเอียงลดลงในวันท้ายๆ ซึ่งหากทำการศึกษาต่อไปเรื่อยๆ อาจเห็นการลดลงอย่างชัดเจน แต่เป็นที่น่าเสียดายที่ผู้ป่วยได้ตายเสียก่อน ที่จะได้ข้อมูลอันสมบูรณ์ จึงเป็นการยากที่จะบอกว่า ผู้ป่วยอยู่ในภาวะ anemia หรือไม่ ปกติแล้วจำนวนเม็ดเลือดแดงจะคงที่ เพราะมีดุลยภาพระหว่างการสร้างและ

การทำลาย เพื่อมีการเสียสมดุลย์แล้วก็ทำให้เกิดภาวะ anemia ซึ่งอุบัติการของ anemia ได้แก่การสร้างเม็ดเลือดแดงไม่เพียงพอ มีการทำลายเม็ดเลือดแดงเพิ่มขึ้น และการเสียเลือดออกไปจากร่างกาย การที่มองเห็นว่าผู้ป่วยมีอาการชืดเป็นการปรากฏที่ตัดสินด้วยสายตาจากคนที่ชืดอาจไม่มี anemia ส่วนคนที่ไม่มี anemia อาจไม่ชืดสามารถวัดได้แน่นอนด้วยค่า 3 อย่าง คือ จำนวนเม็ดเลือดแดง/cu. mm., ความเข้มข้นของ hemoglobin และค่า hematocrit หรือ packed cell volume

ดังนั้น สำหรับรายนี้จึงไม่สามารถและศึกษาถึงภาวะ anernia อย่างละเอียดได้เนื่องจากเวลาที่ใช้ศึกษาน้อย ต่อมาผู้ป่วยได้ตายลง ผู้รายงานเข้าใจว่าสาเหตุอาจเนื่องมาจาก parasitic infestation พยาธิแทรกเข้าไปในอวัยวะต่างๆ ของร่างกาย มีการทำลายเนื้อเยื่อต่างๆ ทำให้อวัยวะนั้นๆ หมด function หรือมี hypofunction ส่วนสาเหตุที่แท้จริงอาจเป็น complex etiology ซึ่งยังไม่ทราบแน่ชัด

สรุปและข้อเรื่อง

ผู้ป่วยรายนี้เป็นเด็ก อาจไม่มีความต้านทานหรือ response ต่อสิ่งต่างๆ หรืออาจมีแต่ค่อนข้างอ่อน เช่น ไม่มี eosinophilic response ใดๆ ที่ผู้ป่วยเองอยู่ในภาวะ parasitic

infestation ผู้ป่วยมีระดับ hemoglobin ก่อน
ข้างลดลงเล็กน้อย แต่ hematocrit จัดว่าปกติ
เนื่องจากเวลาที่ใช้ในการศึกษาผู้ป่วยน้อย จึง
ไม่สามารถรู้ถึงรายละเอียดของ anemia มาก
มายนัก อย่างไรก็ตามโดยทั่วไปแล้ว มักเป็น
ชนิด normochromic normocytic anemia
มากกว่าชนิดอื่น

อนึ่ง ในการตรวจ blood smear พบ

เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด bands มีมากกว่า ปกติ
และยังตรวจพบ metamyelocyte และ mye-
locyte ออกมาในเลือดด้วย พบ toxic gra-
nulation of sements ซึ่งแสดงภาวะการติด
เชื้ออย่างรุนแรง จากการนับเม็ดเลือดขาวพบ
ว่าสูงขึ้นเรื่อยๆ ชนิดของเซลล์เม็ดเลือดขาวที่
สูงมากคือ band form เป็นการสนับสนุนว่า
ผู้ป่วยนี้มี Marked shift to the left.

REFERENCES

- 1) Jolliffe, N.; Handbook of nutrition : XXV. Conditioned malnutrition, J.A.M.A. 122:229, 1943
- 2) Lynch, H.D. and Snively, W.D, Jr. : Hypoproteinososis of childhood, J.A.M.A. 147:115, 1951
- 3) Davies, J.N.P. : Nutrition and nutritional disease, Ann. Rev. Med. 3:99, 1952
- 4) Trowell, H.C. ; Davies, J.N.P. ; and Dean, R.F.A. : Kwashiorkor : II Clinical picture, pathology and differential diagnosis, Brit. M.J. 2:298, 1952
- 5) Chow, B.F. : Correlation between the albumin and alpha globulin contents of plasma, J. clin. Invest, 26:883, 1948
- 6) Gomez F., et al : Studies on the malnourished child XII: Anemia in malnourished children, A.M.A. Am. Jl Dis. Child. 87:673-683, June, 1954
- 7) Wintrobe, M.M., et al. : Anemia of infection, Blood J of Haemat. 2:323, 1947
- 8) Hain, K: Circulating eosinophils in children in health and disease, Pediatrics 7:408, 1951
- 9) Rivero-fontan, J , et al : Influence of diferent dietary protein levels in starvation on the endocrine system of male and female rats, Endocrinology 51 :100 1952
- 10) Brenner, L.O ; Waife, S. O., and Wohl, M.G. : Eosinophilic response in chronic disease and malnutrition, J. Lab & Clinical medicine, 37 : 593, 1951
- 11) Wintrobe, M.M. : Clinical Hematology, 5 th. ed., Lea & Febiger, Philadelphia, 1961
- 12) ณ นคร, สภา, และ วะสี, ประเวศ โสฬิตวิทยา เดือนมีนาคม, 1968.

ABSTRACT

**THE HEMATOLOGIC STUDIES OF ANEMIA IN THE PATIENT
WITH PROTEIN-CALORIE MALNUTRITION
II LEUKOCYTE AND DIFFERENTIAL COUNTS**

Surachet Taweepattana *

Punja Kulapongs, M.D., Am. Board of Ped. **

A 13 month old Thai female, admitted with a history of diarrhea, inadequate dietary intake, and possible round worm infestation, was followed for 8 days. Daily white blood count and differentials showed a marked leukocytosis with a "shift to the left". Stools showed *Ascaris* ova. On the hospital day 9 the patient expired. Possible causes of death and autopsy finding are given.

* Fourth Year Student, Dept. of Medical Technology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University.

** Dept. of Pediatrics, Faculty of Medicine, Chiang Mai University.