

Interpretations of Peripheral Blood Smear in Children: Case Based Approach

ชาญชัย ไตรวาริ

บทนำ

การตรวจสเมียร์เลือด (peripheral blood smear) ถือว่าเป็นสิ่งจำเป็นอย่างยิ่ง ในการวินิจฉัยโรคทางโลหิตวิทยา โดยพบว่าส่วนใหญ่ของผู้ป่วยที่มีปัญหาทางโลหิตวิทยาสามารถให้การวินิจฉัยได้จากการตรวจสเมียร์เลือด ทั้งนี้ในบทความนี้จะขอกล่าวถึงความผิดปกติที่พบได้จากการตรวจสเมียร์เลือด ซึ่งประกอบไปด้วย เม็ดเลือดแดง, เม็ดเลือดขาว และเกล็ดเลือดตามลำดับรวมถึงความสัมพันธ์ของโรคและกรณีตัวอย่างที่พบได้ในผู้ป่วยเด็กที่มีความสำคัญต้องรู้

เม็ดเลือดแดง

โดยปกติขั้นแรกของการตรวจควรจะต้องดูด้วยกล้องด้วยกำลังขยายต่ำ ก่อนเสมอเพื่อดูคุณภาพของสไลด์ การติดสีโดยรวม หลังจากนั้นในส่วนของเม็ดเลือดแดง ให้พยายามสังเกตลักษณะของเม็ดเลือดแดงในส่วนที่เม็ดเลือดแดงกระจายไม่ซ้อนทับกัน ซึ่งส่วนใหญ่จะอยู่บริเวณกลางสไลด์ ซึ่งถ้าไปดูปลายสไลด์อาจจะพบเม็ดเลือดแดงติดสีเต็มไม่มีรอยจางตรงกลางทำให้เข้าใจผิดว่าเป็น spherocyte ได้ โดยลักษณะของเม็ดเลือดแดงที่ควรจะต้องตรวจจากการดูสเมียร์ประกอบด้วย

1. ขนาดของเม็ดเลือดแดง สามารถแบ่งได้เป็น 3 ลักษณะ

1.1 **Normocyte** จะเห็นเป็นเซลล์กลมโดยมีปริมาณตรงกลางเซลล์ติดสีซีดจางกว่าบริเวณรอบ ๆ ขนาดปกติมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 7 ไมครอน

1.2 **Microcyte** เป็นเม็ดเลือดแดงที่มีขนาดเล็กกว่าปกติโดยเฉลี่ย โดยเล็กกว่า 7 ไมครอน หรือมีปริมาตรน้อยกว่า 80 fl เป็นสิ่งที่แสดงถึง ความบกพร่องในการสร้าง hemoglobin (Hemoglobin formation defect) ซึ่งสามารถพบได้ในโรค iron deficiency anemia, thalassemia disease และ lead poisoning เป็นต้น

1.3 **Macrocyte** เป็นเม็ดเลือดแดงมีขนาดใหญ่กว่าปกติ โดยใหญ่กว่า 8 ไมครอนหรือมีปริมาตรมากกว่า 95 fl เป็นสิ่งที่แสดงถึงการทำงานที่ผิดปกติของระบบ erythropoiesis ซึ่งสามารถพบได้ในโรค megaloblastic anemia, aplastic anemia และ ทารกแรกเกิดในภาวะปกติ

2. การติดสีของเม็ดเลือดแดง สามารถแบ่งได้เป็น 4 ลักษณะ

2.1 **Normochromasia (normochromia)** เป็นเม็ดเลือดแดงที่ติดสีชมพูเนื่องจากมีฮีโมโกลบินอยู่ในช่วงอยู่ในเกณฑ์ปกติ

2.2 Hypochromasia (hypochromia) เป็นเม็ดเลือดแดงที่มีปริมาณฮีโมโกลบินน้อยกว่าปกติ โดยดูจากสเมียร์จะพบว่าส่วนกลางของเซลล์ติดสีชมพูจางเป็นลักษณะที่สำคัญที่พบในความบกพร่องของ hemoglobin content ซึ่งสามารถพบได้ในโรค iron deficiency anemia, thalassemia disease เป็นต้น

2.3 Hyperchromasia (hyperchromia) เป็นเม็ดเลือดแดงที่มีปริมาณฮีโมโกลบินมากกว่าปกติ โดยดูจากสเมียร์จะพบว่าเซลล์ติดสีชมพูเข้มทั้งเซลล์ (lack of central pallor) เป็นลักษณะที่สำคัญซึ่งต้องแยกจาก spherocyte สามารถพบได้ในโรค megaloblastic anemia และ ทารกแรกเกิดในภาวะปกติ

2.4 Polychromasia (polychrome) เป็นเซลล์เม็ดเลือดแดงตัวอ่อนติดสีชมพูอมน้ำเงิน เซลล์โตกว่าปกติเล็กน้อย เนื่องจากในไซโตพลาสซึมของเม็ดเลือดแดงยังมี ribonucleic acid เหลืออยู่ เป็นลักษณะของ sign of immaturity เป็นสิ่งที่แสดงถึงการทำงานมากขึ้นของระบบ erythropoiesis เช่น hemolytic anemia เป็นต้น

3. รูปร่างของเม็ดเลือดแดง

3.1 Anisocytosis (unequal in size) เป็นลักษณะของ เม็ดเลือดแดงที่มีขนาดใหญ่บ้าง เล็กบ้าง (unequal in size) หรือมีลักษณะของ dimorphic red cell population เป็นสิ่งที่แสดงถึงความบกพร่องในการสร้าง hemoglobin (hemoglobin formation defect) ซึ่งสามารถพบได้ในโรค iron deficiency anemia, anemia of chronic และผู้ป่วยที่ได้รับเลือด เป็นต้น

3.2 Poikilocytosis (unequal in shape) เป็นลักษณะของเม็ดเลือดแดงมีรูปร่างไม่กลม รูปร่างแปลก ๆ ออกไปตามรูปภาพที่ 1 เป็นสิ่งที่แสดงถึงการงานผิดปกติของระบบ erythropoiesis เช่น MDS, myelofibrosis นอกจากนั้นยังแสดงถึงการทำลายของเม็ดเลือดแดงมากขึ้น (damage to red cell after formation) ซึ่งสามารถพบได้ในกลุ่มโรค hemolytic anemia เช่น red cell membrane defect, enzyme defect และ thalassemia disease เป็นต้น

3.3 Spherocyte เป็นลักษณะของ เม็ดเลือดแดงติดสีเต็มไม่มีรอยจางตรงกลาง (less disc-like) มีรูปทรงกลม เห็นฮีโมโกลบินติดสีทึบเต็มเซลล์ไปหมดพร้อมทั้งมีขนาดเล็กกว่าปกติเล็กน้อย ความสำคัญคือต้องแยกให้ได้ระหว่าง spherocyte กับ microspherocyte ซึ่งพบ spherocyte ได้ในโรค autoimmune hemolytic anemia (AIHA), hereditary spherocytosis, ABO hemolytic disease of the newborn ในทารกแรกเกิด ในขณะที่ microspherocyte และ schistocyte จะแสดงถึง red cell fragmentation ที่พบได้ในภาวะ DIC, Hemolytic uremic syndrome (HUS) เป็นต้น

3.4 ลักษณะอื่นๆ ได้แก่ target cell ซึ่งพบได้ใน thalassemia disease ชนิดที่เป็น Hb E, liver disease หรือลักษณะของเม็ดเลือดแดงที่พบ elliptocyte หรือ ovalocyte เม็ดเลือดแดงมีรูปร่างไขซึ่งพบได้ในโรค hereditary elliptocytosis เป็นต้น หรือลักษณะของ tear drop ซึ่งเป็นเซลล์เม็ดเลือดแดงที่มีลักษณะรูปร่างเหมือนหยดน้ำ น่าจะเกิดจากเม็ดเลือดแดงผ่านช่องแคบเล็ก ๆ ในไขกระดูก จึงเกิดเป็นรูปร่างลักษณะยึดเป็นส่วนแหลมเหมือนหยดน้ำพบใน myelofibrosis หรือ ภาวะที่ไขกระดูกถูกแทนที่ด้วยเซลล์อื่นๆ เช่น เซลล์มะเร็ง

รูปภาพที่ 1

4. ส่วนประกอบภายในเม็ดเลือดแดง โดยปกติภายในเม็ดเลือดแดงจะไม่พบอะไร แต่ในบางครั้งสามารถพบเม็ดเลือดแดงเหล่านี้ได้ตามรูปภาพที่ 2

4.1 Cabot's ring (Nuclear remnants) มีลักษณะเป็นวง (ring) สีม่วงแดงเป็นรูปร่างแหวนอยู่ในซี่ง โทพลาสซึมของเม็ดเลือดแดง เชื่อว่าเป็นร่องรอยหลงเหลือของ spindle fiber ที่เกิดขึ้นในระหว่างการแบ่ง เซลล์ในตอนที่เม็ดเลือดแดงเซลล์อ่อนพบได้ในภาวะ lead poisoning, hemolytic anemia เป็นต้น

4.2 Howell-Jolly body (Nuclear remnants) เป็นก้อนกลมสีม่วงแดงขนาด 1-2 ไมครอน อยู่ในซี่ง โทพลาสซึมของเม็ดเลือดแดงใกล้กับขอบของเซลล์เม็ดเลือดแดง เข้าใจว่าเป็นเศษของนิวเคลียสของเม็ดเลือดแดงที่ยังเหลืออยู่ พบได้ในภาวะ post splenectomy, dyserythropoietic anemia และ iron deficiency anemia

4.3 Basophilic stippling (Aggregated ribosomes) เป็นเม็ดเลือดแดงที่มีจุดเล็ก ๆ ขนาดไม่เท่ากัน สีน้ำเงินเข้มผสมดำกระจายทั่ว ๆ ไปภายในเซลล์เม็ดเลือดแดง เนื่องจากการรวมตัวกันของ RNA ภาวะนี้สามารถพบได้ใน Thalassemia disease, iron deficiency anemia และ lead poisoning

4.4 Ring form ซึ่งสามารถพบได้ในผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อมาลาเรีย ทั้งนี้การดูมาลาเรียควรจะเลือกดูบริเวณที่เม็ดเลือดแดงเรียงกระจายไม่แน่นไม่ซ้อนกัน โดยพยายามดูเม็ดเลือดแดงที่มีขนาดโตกว่าตัวอื่น โดยเชื้อ Plasmodium falciparum มักพบ ring form มาก แต่ในเชื้อ Plasmodium vivax ดูยากเพราะมี ring form น้อย

รูปภาพที่ 2

เม็ดเลือดขาว

โดยปกติควรจะตรวจโดยใช้กำลังขยายต่ำก่อน ซึ่งจะทำให้สามารถเห็นเซลล์ที่ผิดปกติได้ง่าย เช่น lymphoblast เป็นต้น นอกจากนั้นในกรณีที่ผู้ป่วยมีจำนวนเม็ดเลือดขาวต่ำก็สามารถเห็นได้ชัดเจน ซึ่งโดยปกติควรจะพบจำนวนเม็ดเลือดขาว 2-4 ตัว ต่อ 1 field เมื่อใช้กำลังขยาย (x40) หรือโดยเฉลี่ย 1 ตัว ต่อ 1 field เมื่อใช้กำลังขยาย (x100)

ทั้งนี้บริเวณที่ควรเลือกดูสำหรับเม็ดเลือดขาวนั้นควรเลือกดูบริเวณตอนกลางของสเมียร์ก่อนเนื่องจากไม่มีเม็ดเลือดแดงซ้อนทับกันและค่อย ๆ เลื่อนไปดูที่ปลายสเมียร์เนื่องจากเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ เช่น neutrophil, monocyte อาจจะไปอยู่บริเวณนั้นได้ สำหรับชนิดของเม็ดเลือดขาวประกอบไปด้วย

1. Neutrophil มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12-14 ไมครอน ประมาณ 2 เท่าของเม็ดเลือดแดง นิวเคลียส มีจำนวน 3 lobes โคโรมาตินติดสีเข้มทึบ แกรนูโลมมีขนาดเล็กละเอียดติดสีชมพูอมม่วง สามารถพบได้ ประมาณ 40-60%
2. Lymphocyte มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 ไมครอน นิวเคลียสจะมีลักษณะเกือบเต็มเซลล์จนไม่พบ ไซโตพลาสซึม สามารถพบได้ประมาณ 25-35 % ทั้งนี้เซลล์ตัวอ่อน (lymphoblast) จะมีลักษณะ ใหญ่กว่า lymphocyte กล่าวคือขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 15-17 ไมครอน นิวเคลียสจะมีลักษณะ เกือบเต็มเซลล์โคโรมาตินติดสีอ่อน โดยแทบจะไม่เห็นไซโตพลาสซึม แต่สำหรับ burrkitt cell (L3) จะเห็นไซโตพลาสซึมติดสีเข้ม (deep blue) และมี vacuole ร่วมด้วยในขณะที่ myeloblast จะ เห็นนิวคลีโอลูสชัดเจนร่วมกับมีแกรนูโลในไซโตพลาสซึมตามรูปภาพที่ 3

รูปภาพที่ 3

3. Eosinophil มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12-17 ไมครอน นิวเคลียสมักมี 2 lobes โคโรมาตินติดสีเข้ม ทึบ แกรนูโลมมีขนาดใหญ่เท่า ๆ กันติดสีส้มแดง สามารถพบได้ประมาณ 1-5 %
4. Basophil มีขนาดใกล้เคียง neutrophil แต่จะมองเห็นนิวเคลียสไม่ชัดเพราะจะถูกบดบังด้วย แกรนูโล สามารถพบได้ประมาณ 1 %
5. Monocyte มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 15-18 ไมครอน มีไซโตพลาสซึมติดสีฟ้าสามารถพบได้ ประมาณ 3-7 %

เกล็ดเลือด

ลักษณะเกล็ดเลือดเป็นเซลล์ขนาดเล็กขนาด 2-4 ไมครอน ติดสีม่วงแดง รูปร่างยาว เกล็ดเลือดจะมี แกรนูโลติดสีม่วงแดง การดูสเมียร์เลือดเพื่อดูลักษณะการติดสีและขนาดของเกล็ดเลือดมีส่วนสำคัญในการ วินิจฉัย ในปัจจุบันการทำ CBC นั้นโรงพยาบาลส่วนใหญ่จะใช้เครื่อง automate และนับจาก EDTA – blood สำหรับในที่มีอากาศเย็น EDTA อาจทำให้เกล็ดเลือดจับกลุ่มมีผลทำให้นับได้จำนวนน้อย (pseudothrombocytopenia) หากสงสัยจำเป็นต้องดูจากสเมียร์เลือดหรืออาศัยการนับเกล็ดเลือดโดยตรง เพื่อการยืนยันภาวะเกล็ดเลือดต่ำ การประมาณปริมาณเกล็ดเลือดจากสเมียร์เลือดนั้นต้องดูให้ทั่วโดยเฉพาะที่ ช่วงปลายของสไลด์ บ่อยครั้งถ้าทำสเมียร์ไม่ค่อยดีเกล็ดเลือดจะไปรวมอยู่ที่ปลายสไลด์เห็นเป็นกลุ่ม (รูปภาพ ที่ 4) การประมาณเกล็ดเลือดต้องดูโดยใช้ หัวกล้องจุลทรรศน์ (x100) โดยดูมากกว่า 10 จุดขึ้นไปแล้วเฉลี่ย จำนวนเกล็ดเลือดต่อ 1 field คูณด้วย 10,000 จะเป็นจำนวนเกล็ดเลือดที่ใกล้เคียงกับการนับจำนวนเกล็ด เลือดโดยตรง ดังนั้นค่าปกติของจำนวนเกล็ดเลือดเท่ากับ 200,000 – 400,000/มคล. หรือ 10-20 /oil field ในภาวะปกติสเมียร์เลือดที่เตรียมเกล็ดเลือดจะเกาะกลุ่มกัน

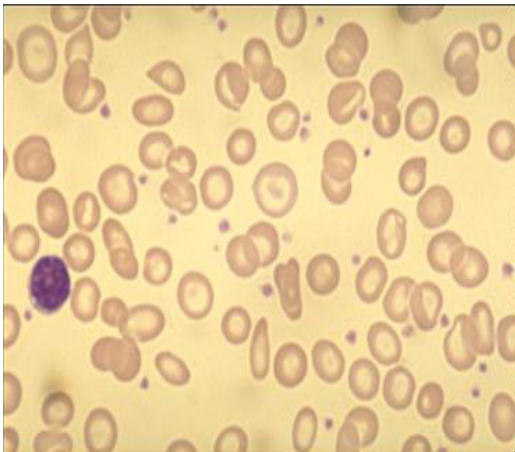
รูปภาพที่ 4

รูปร่างของเกล็ดเลือดที่ผิดปกติจากสเมียร์เลือดที่พบได้ เช่น เกล็ดเลือดขนาดใหญ่จะพบในโรคกลุ่ม macrothrombocytopenia เช่น กลุ่มอาการ Bernard-Soulier syndrome (GP Ib/IX/V deficiency) และ MYH-9 related disorder ซึ่งสังเกตพบความผิดปกติในcytoplasm ของนิวโทรฟิล ที่เรียกว่า Dohle-like body (รูปภาพที่ 4) ในกรณีที่พบเกล็ดเลือดขนาดเล็ก(<6 fl) พบได้ในโรค Wiskott- Aldrich syndrome หรือในกรณีเกล็ดเลือดติดสีจาง (pale-stained)จะพบในโรค platelet granule deficiency, acquired platelet dysfunction with eosinophilia (APDE) เป็นต้น

กรณีตัวอย่าง (Case based approach)

ตัวอย่างที่1 : ผู้ป่วยเด็กหญิงไทยอายุ 13 ปี มาด้วยเรื่องซีด และมีประจำเดือนมาก

มา 3 เดือน ไม่มีจําเลือดตามตัว ตรวจร่างกายพบว่ามี Marked pale, no hepatosplenomegaly ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ ดังรูป



1. จงบรรยาย Morphology ของ Peripheral blood smear
2. จงบอกการตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยันการวินิจฉัยโรคในผู้ป่วยรายนี้

คำตอบ

การบรรยาย peripheral blood smear ที่เห็น

1.1 RBC morphology:

1.1.1 hypochromic 3+ ถึง 4+ หรือ marked

1.1.2 microcytic 3+ ถึง 4+ หรือ marked

1.1.3 anisocytosis 1+ ถึง 4+

1.1.4 poikilocytosis 1+ ถึง 2+

1.1.5 target cell 1+ ถึง 2+

1.2 WBC morphology: จำนวน 1-2 /oil fields

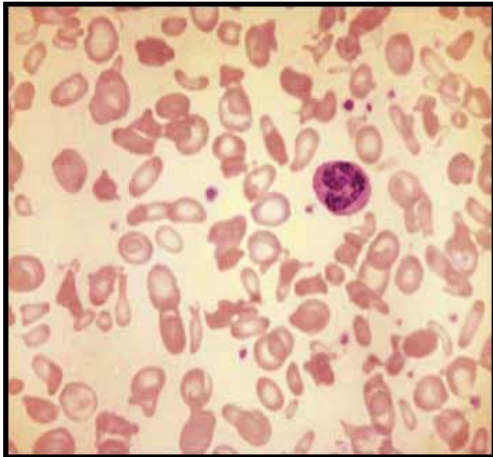
1.3 Platelet: จำนวน 15-20 /oil fields

จงบอกการตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยันการวินิจฉัยแยกโรคในผู้ป่วยรายนี้: Serum ferritin

ตัวอย่างที่ 2: ผู้ป่วยเด็กชายไทยอายุ 1 ปี มาด้วยเรื่องซีดและทานอาหารได้น้อยลงมา 1 เดือน ตรวจร่างกาย

พบว่า มี Marked pale, hepatosplenomegaly

ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ ดังรูป



1. จงบรรยาย Morphology ของ Peripheral blood smear

2. จงบอกการตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยันการวินิจฉัยโรคในผู้ป่วยรายนี้

คำตอบ

การบรรยาย peripheral blood smear ที่เห็น

1.1 RBC morphology:

1.1.1 hypochromic 3+ ถึง 4+ หรือ marked

1.1.2 microcytic 3+ ถึง 4+ หรือ marked

1.1.3 anisocytosis 3+ ถึง 4+

1.1.4 poikilocytosis 3+ ถึง 4+

1.1.5 Polychromasia 2+ ถึง 3+

1.2 WBC morphology: จำนวน 1-2 /oil fields

1.3 Platelet: จำนวน 10-13 /oil fields

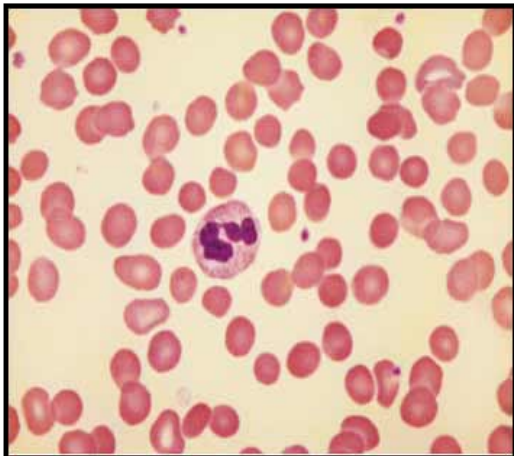
จงบอกการตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยันการวินิจฉัยแยกโรคในผู้ป่วยรายนี้: Hemoglobin typing

ตัวอย่างที่ 3 : ผู้ป่วยเด็กชายไทยอายุ 5 ปี มีประวัติ ซีดลงเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ตรวจร่างกายพบว่ามี

Marked pale and splenomegaly (2 cm below LCM)

ผล CBC ดังนี้ Hb 7.2 gm%, Hct 21%

ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ ดังรูป



1. จงบรรยาย Morphology ของ Peripheral blood smear
2. จงบอกการตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยันการวินิจฉัยโรคในผู้ป่วยรายนี้

คำตอบ

การบรรยาย peripheral blood smear ที่เห็น

1.1 RBC morphology:

1.1.1 normochromic

1.1.2 normocytic

1.1.3 anisocytosis few

1.1.4 poikilocytosis few

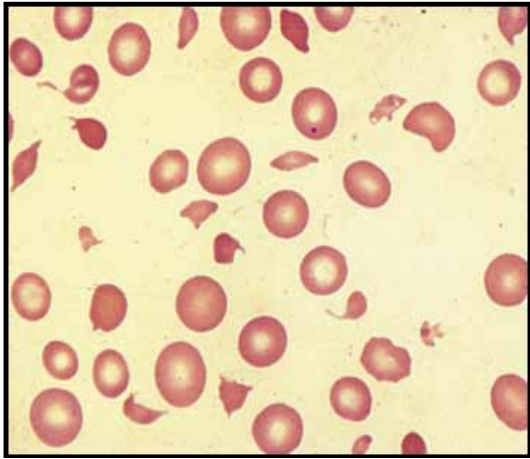
1.1.5 Spherocyte 3+ ถึง 4+

1.2 WBC morphology: จำนวน 1-2 /oil fields

1.3 Platelet: จำนวน 7-10 /oil fields

จงบอกการตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยันการวินิจฉัยแยกโรคในผู้ป่วยรายนี้: Direct coombs test

ตัวอย่างที่ 4: ผู้ป่วยเด็กหญิงไทยอายุ 12 ปี มาด้วยเรื่องซีด และมีอาการไข้ ซึม มา 3 วัน
ตรวจพบมีจ้ำเลือดตามตัว ตรวจร่างกายพบว่ามี Marked pale, no hepatosplenomegaly
ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ ดังรูป



1. จงบรรยาย Morphology ของ Peripheral blood smear
2. จงบอกการวินิจฉัยแยกโรคในผู้ป่วยรายนี้ มา 3 โรค

คำตอบ

การบรรยาย peripheral blood smear ที่เห็น

1.1 RBC morphology:

1.1.1 normochromic

1.1.2 normocytic

1.1.3 spherocytes 1+ ถึง 2+

1.1.4 schistocytes (fragmented red blood cells) 3+ ถึง 4+

1.2 WBC morphology: จำนวน 0-1 /oil fields

1.3 Platelet: จำนวน 0-2 /oil fields (thrombocytopenia)

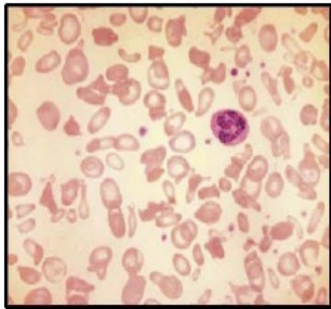
จงบอกการวินิจฉัยแยกโรคในผู้ป่วยรายนี้ มา 3 โรค

1. DIC
2. TTP
3. HUS

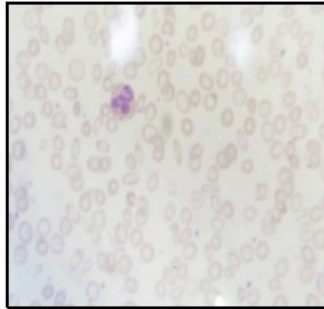
เอกสารอ่านเพิ่มเติม

1. Barbara JB. Blood cell morphology in health and disease. In: Lewis SM, Bain BJ, Bates I. Dacie and Lewis Practical hematology. 10th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier Ltd. 2006:79-113.
2. Bessis M. Red cell shapes: an illustrated classification and its rationale. *Nouvelle Revue Française d'Hematologie* 1972:721-745.
3. Bennett JM., Catovsky D., Daniel MT. Proposals (FAB cooperative group). *British Journal of Haematology* 1976:451-458.
4. Van Assendelft OW, McGrath C, Murphy RS. The differential distribution of leukocytes. In: Koepke JA (ed) CAP Aspen conference: differential leukocyte counting. College of American Pathologists, Northfield, IL. 1977: 97-120.

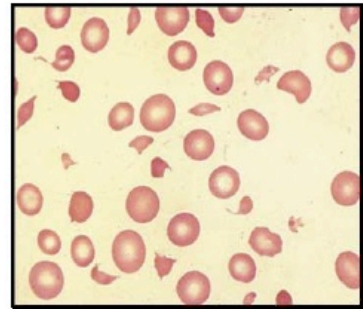
รูปที่ 1 แสดงรูปร่างของเม็ดเลือดแดงที่ตรวจพบได้ในผู้ป่วยเลือดจาง



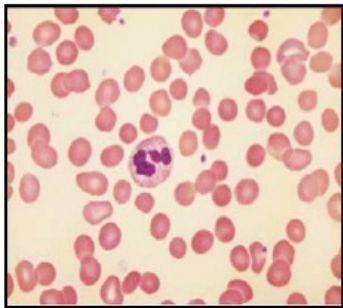
Poikilocytosis



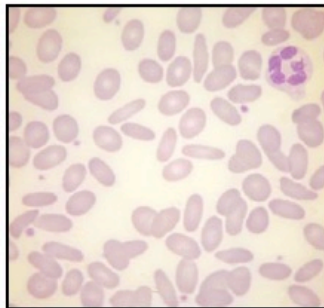
Microcytic-hypochromic



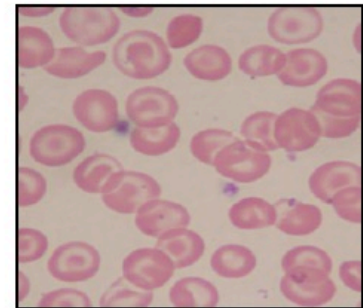
MAHA (shistocyte)



Spherocyte

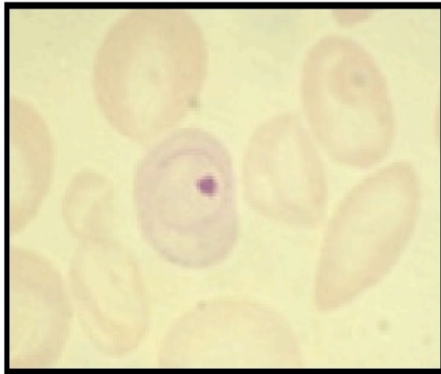


Elliptocyte

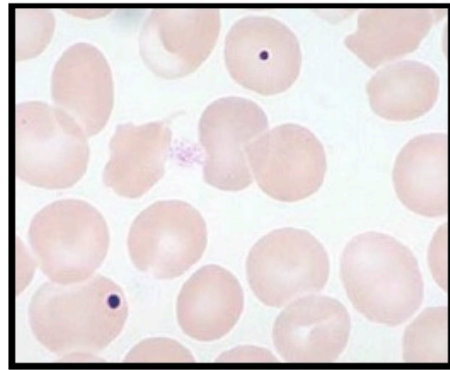


Target cell

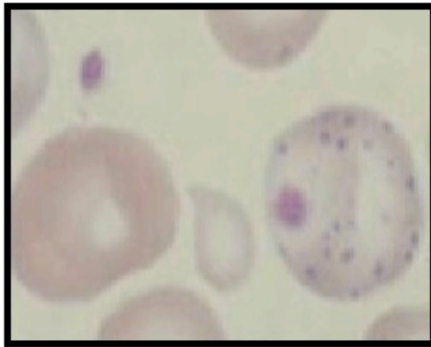
รูปที่ 2 แสดงส่วนประกอบภายในเม็ดเลือดแดงที่ตรวจพบได้



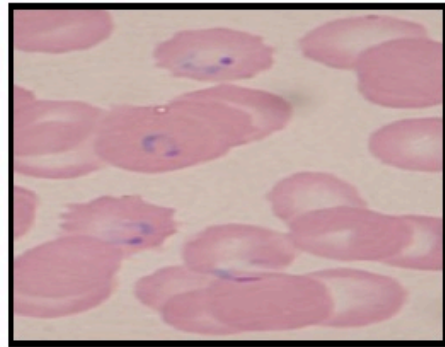
Cabot's ring



Howell-Jolly body

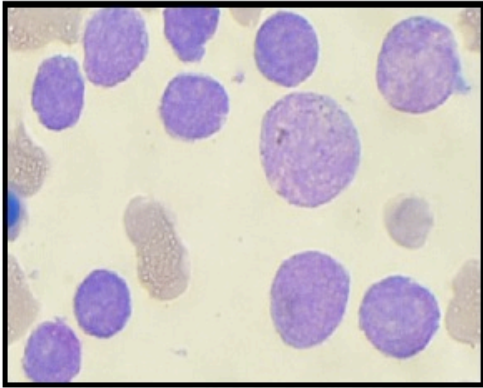


Basophilic stippling

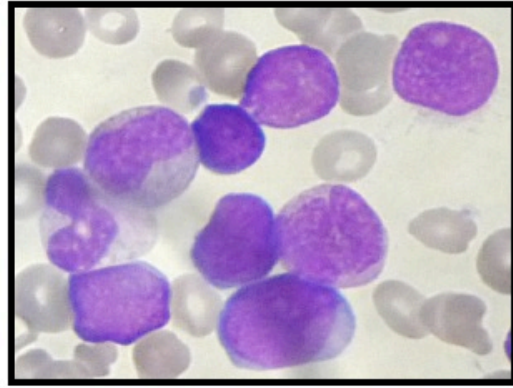


Ring form in malaria

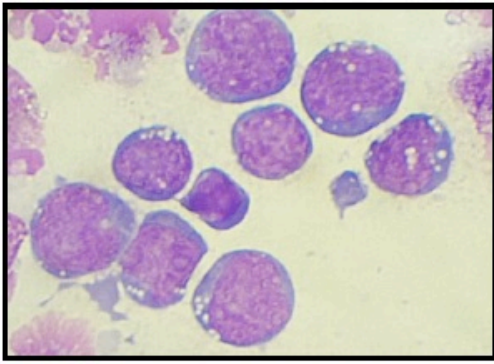
รูปที่ 3 แสดงเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวที่ตรวจพบได้



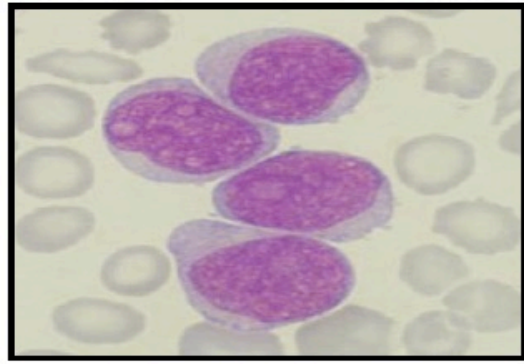
Lymphoblast(L1)



Lymphoblast(L2)

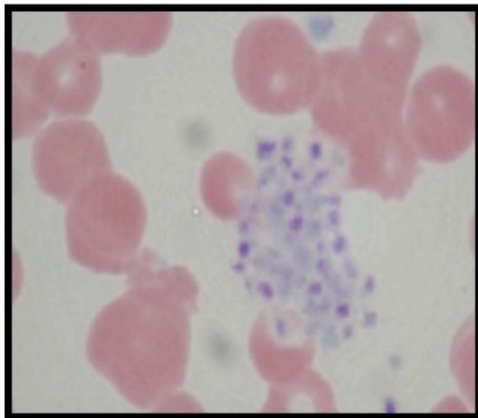


Lymphoblast(L3)

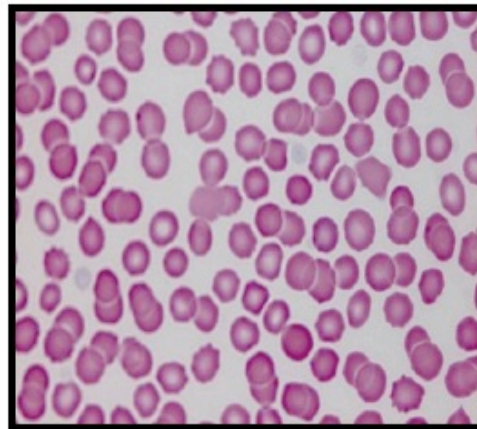


Myeloblast

รูปที่ 4 แสดงความผิดปกติของเกล็ดเลือดที่ตรวจพบได้



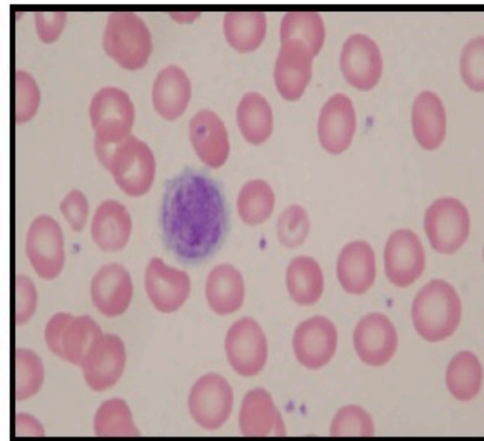
Platelet clumping



Pale-stained platelet



Dohle-like body in MYH-9



Giant platelet