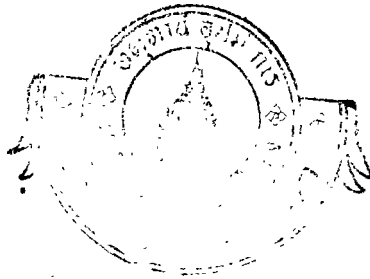


000024



SCANNING ELECTRON MICROSCOPIC STUDY OF THE ERYTHROCYTES
IN VARIOUS TYPES OF THALASSEMIA AND ABNORMAL HEMOGLOBIN :
A QUALITATIVE AND QUANTITATIVE STUDY IN RELATION TO SOME
CLINICAL FEATURES

BY

AHNOND BUNYARATVEJ

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
DOCTOR OF PHILOSOPHY
(PATHOBIOLOGY)

IN THE

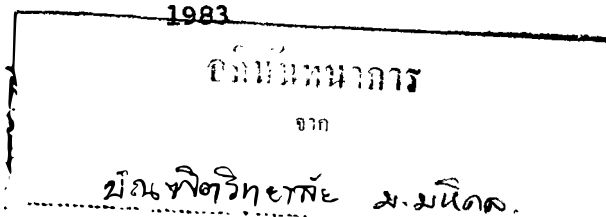
FACULTY OF GRADUATE STUDIES

OF

MAHIDOL UNIVERSITY

Copyright by Mahidol University

1983



This title Scanning electron microscopic study of the erythrocytes in various types of thalassemia and abnormal hemoglobin : A qualitative and quantitative study in relation to some clinical features.

Author Mr. Ahnond Bunyaratvej

Degree Doctor of Philosophy (Pathobiology)

Thesis Advisor Professor Natth Bhamarapravati, M.D., D.Sc.

Department Pathobiology

Date of graduation June 6, 1983

ABSTRACT

Qualitative and quantitative investigation on red cell morphology by using scanning electron microscope (SEM) were performed on at least 500 erythrocytes in each case of normal adults, patients with abnormal hemoglobin, heterozygous thalassemia and homozygous or double heterozygous thalassemia.

In normal adult group, majority of red cell is biconcave or discocyte having mean \pm SEM = $78.2 \pm 1.07\%$. Echinocyte and Stomatocyte, some forms of physiological change in red cell shape were found approximately 5% for each of them. Other cell prototypes showed the negligible proportions.

In abnormal hemoglobin group, greater proportion of red cell shape in process of cell fragmentation was found comparing to the normal group. Cells with pits on the membrane were found in

homozygous HbCS cases with mean \pm SEM = $0.95 \pm 0.55\%$

In heterozygous thalassemia, α -thalassemia trait and β -thalassemia trait showed a wide spectrum of red cell shape which was markedly different from normal subjects as well as between each other. Cells with pits found in α -thalassemia trait (mean \pm SEM = 0.34 ± 0.16) were morphologically indistinguishable from those found in homozygous HbCS. Degree of red cell abnormality in β -trait was higher than the α -trait group.

The homozygous and double heterozygous groups : HbH disease (α -thal 1/ α -thal 2 and α -thal 1/HbCS), homozygous β -thalassemia and β -thalassemia/HbE exhibited different degree and pattern of morphological change. Abnormalities seemed to be closely associated with the severity of disease rather than the difference in the types of α - and β -thalassemia. Various forms of pit, hole and shaggy lesion or 'laceration' on the cell membrane were found.

In relation to some clinical features of patients, higher proportion of cell shapes resulting from cell fragmentation and lower proportion of cell shapes having high surface area to cell volume ratio was found in the nonsplenectomized patients as compared to splenectomized cases. This was also true in comparing between the case of patients with higher degree of splenomegaly and those with higher degree of splenomegaly and those with mild splenomegaly. Hepatomegaly showed no significant change in relative quantity in

these red cell shapes.

As for hematological values, percentage of discocyte showed positive correlation to Hb, PCV and RBC values in both normal subjects and nonsplenectomized patients. Torocyte, showed inverse correlation to Hb value in both splenectomized and nonsplenectomized patients.

Positive correlation in discocyte percentage and inverse correlation in percentage of codocyte to the years after splenic removal was also found in thalassemic patients.

Serum bilirubin level in nonsplenectomized patients correlated well with percentages of daoryocyte, keratocyte and schizocyte. This implied that increased cell in process of fragmentation reflected the degree of jaundice of the patients.

Transmission electron microscopic study on experimentally induced inclusion bodies within erythrocytes in the two type of HbH disease showed two different patterns of electron-dense materials, the marginated and the floating types. Marginated electron-dense materials which apparently attached to cell membrane, were found in a higher proportion in α -thal 1/HbCS than those of α -thal 1/ α -thal 2 whereas the floating type showed a reverse pattern.

ชื่อวิทยานิพนธ์

การศึกษาเม็ดเลือดแดงโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบ
สแกนในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย และ ฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดต่าง ๆ
เปรียบเทียบความผิดปกติทางคุณภาพและปริมาณกับลักษณะ
ทางคลินิก

ชื่อ

นายอานนท์ บุญยะรัตเวช

ปริญญา

ดุษฎีบัณฑิต (พยาธิชีววิทยา)

อาจารย์ที่ปรึกษา

ศาสตราจารย์ นายแพทย์ณัฐ ภมรประวัติ, M.D., D.Sc.

ภาควิชา

พยาธิชีววิทยา

คณะ

บัณฑิตวิทยาลัย

วันสอบป้องกันวิทยานิพนธ์

6 มิถุนายน 2526

บทคัดย่อ

ทำการศึกษาวงแหวนความผิดปกติทางรูปร่างของเม็ดเลือดแดงโดยใช้กล้อง
จุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน ทั้งด้านความผิดปกติในรูปร่างและด้านปริมาณความผิดปกติ
กลุ่มที่ทำการศึกษาแบ่งออกได้เป็น 4 กลุ่มใหญ่ คือ กลุ่มคนที่มีสุขภาพดี กลุ่มผู้ป่วยที่มี
ฮีโมโกลบินผิดปกติ กลุ่มผู้ป่วยโรคธาลัสซีเมียชนิด heterozygous และ กลุ่มผู้ป่วย
โรคธาลัสซีเมียชนิด homozygous หรือ double heterozygous

ในกลุ่มคนปกติ เม็ดเลือดแดงส่วนใหญ่มีรูปร่างเว้า 2 ด้าน ซึ่งเรียกว่า
discocyte มีค่าเฉลี่ย $78.2 \pm 1.07\%$ เม็ดเลือดแดงชนิด echinocyte และ
stomatocyte ซึ่งเป็นรูปแบบที่เปลี่ยนแปลงได้ทางสรีระ พบประมาณ 5% ในแต่ละชนิด
ส่วนเม็ดเลือดแดงรูปร่างอื่น ๆ มีจำนวนน้อยมาก

ในกลุ่มผู้ป่วยที่มีฮีโมโกลบินผิดปกติอัตราส่วนของเม็ดเลือดแดงที่มีรูปร่างที่เกิด
จากขบวนการแตกชิ้นของเซลล์สูงกว่าของกลุ่มคนปกติ และปรากฏเม็ดเลือดแดงที่มีรู

(pit) ในผนังเม็ดเลือดแดงด้วย ซึ่งพบค่าเฉลี่ยของเซลล์ดังกล่าวนี้ $0.95 \pm 0.55\%$
 ในผู้ป่วยที่มีฮีโมโกลบิน Constant Spring

ในกลุ่มผู้ป่วยโรคธาลัสซีเมียชนิด heterozygous ทั้งชนิด α -trait และ β -trait พบว่ามีเม็ดเลือดแดงรูปร่างต่าง ๆ ผิดจากกลุ่มคนปกติมาก และยังพบว่า ระหว่าง 2 ชนิดนี้ก็ยังพบความแตกต่างกันเองด้วย ใน α -trait ก็พบเม็ดเลือดแดงที่มี pit ด้วยเช่นกัน ซึ่งลักษณะเช่นเดียวกับที่พบในผู้ป่วยฮีโมโกลบิน Constant Spring ซึ่งมีค่าเฉลี่ย $0.34 \pm 0.16\%$ ความผิดปกติของเม็ดเลือดแดงในผู้ป่วย β -trait มีมากกว่าในผู้ป่วยชนิด α -trait

ในกลุ่มผู้ป่วยโรคธาลัสซีเมียชนิด homozygous หรือ double heterozygous ซึ่งประกอบด้วย HbH disease (α -thal 1/ α -thal 2 และ α -thal 1/HbCS) homozygous β -thalassemia และ β -thalassemia/HbE พบว่ามีความเปลี่ยนแปลงทางรูปร่างเม็ดเลือดแดงแตกต่างกันทั้งในด้านความมากน้อยและรูปแบบ ความผิดปกติของเม็ดเลือดแดงมีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรคมากกว่าเกิดจากความแตกต่างทางด้านชนิดของโรคที่แยกเป็น α และ β -thalassemia ในกลุ่มผู้ป่วยนี้พบว่ามีเม็ดเลือดแดงที่มีรูปร่างผิดปกติหลายลักษณะ ได้แก่ pit hole หรือ laceration

เมื่อเปรียบเทียบสัมพันธ์กับลักษณะทางคลินิกของผู้ป่วย พบว่าในกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่ได้รับการตัดม้ามมีอัตราส่วนของเม็ดเลือดแดงที่มีรูปร่างอื่นเกิดจากขบวนการแตกชั้นมาก แต่พบเม็ดเลือดแดงที่มีอัตราส่วนพื้นผิวของเซลล์ต่อปริมาตรของเซลล์สูง ปริมาณน้อยกว่ากลุ่มของผู้ป่วยที่ผ่านการตัดม้ามมาแล้ว เมื่อเปรียบเทียบกลุ่มผู้ป่วยที่มีม้ามโตมากกับกลุ่มผู้ป่วยที่มีม้ามโตน้อย ก็พบความแตกต่างเป็นไปในลักษณะเดียวกันกับอันแรก ส่วนการโตของตับในผู้ป่วยไม่พบว่ามีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวนี้เลย

จากการศึกษาเทียบเคียงกับค่าทางโลหิตวิทยาพบว่าเปอร์เซ็นต์ของ
มีความสัมพันธ์กับค่า Hb PCV และ RBC ในทั้งกลุ่มคนปกติและผู้ป่วยที่ไม่ได้รับการตัดม้าม
เม็ดเลือดแดงชนิด torocyte มีความสัมพันธ์ในทางกลับกันกับค่า Hb ในผู้ป่วยทั้งที่
การตัดม้ามและไม่ได้อตัดม้าม

จำนวนปีหลังการตัดม้ามมีความสัมพันธ์กับเปอร์เซ็นต์ของ discocyte และ
มีความสัมพันธ์ทางกลับกันกับเปอร์เซ็นต์ของ codocyte คอย

ในผู้ป่วยที่ไม่ได้รับการตัดม้ามพบว่าเม็ดเลือดแดง dacryocyte keratocyte
และ schizocyte มีความสัมพันธ์กับระดับของบิลิรูบินในซีรัมของผู้ป่วย ซึ่งบ่งความ
หมายถึงความเป็นไปได้ที่การพบเซลล์ที่เกิดจากขบวนการแตกชิ้นสะท้อนให้เห็นถึงความ
รุนแรงของคีซันในผู้ป่วย

การศึกษากการกระจายตัวของเม็ด inclusion ภายในเม็ดเลือดแดงในผู้ป่วย
Hb H disease ทั้งสองชนิดโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่าเม็ด inclusion ที่
เกาะติดกับผนังด้านในของเม็ดเลือดแดงมีอัตราส่วนสูงในผู้ป่วย α -thal 1/HbCS
กว่าผู้ป่วย α -thal 1/ α -thal 2 และในทางตรงกันข้ามเม็ด inclusion ที่ลอย
แขวนตัวในเม็ดเลือดแดงกลับพบสูงกว่าในผู้ป่วย α -thal 1/ α -thal 2

