



**IN VITRO MODIFICATION OF RED CELL AND  
CYTOMETRIC ANALYSIS FOR CLASSIFICATION  
AND DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF ANEMIA**

**YUPIN JOPANG**

**With compliments  
of**

*ศาสตราจารย์ ดร. วิไลวรรณ*

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENTS FOR  
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE  
(CLINICAL PATHOLOGY)  
FACULTY OF GRADUATE STUDIES  
MAHIDOL UNIVERSITY**

**1997**

**ISBN 974-588-926-1**

**COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

TH  
Y951  
1997

3836030 RACP / M : MAJOR: CLINICAL PATHOLOGY; M. Sc. (CLINICAL PATHOLOGY

KEY WORD : FLOW CYTOMETRIC ANALYSIS / HEAT-INDUCED ERYTHROCYTE FRAGMENTATION TEST / ANEMIA / THALASSEMIA / IRON DEFICIENCY

YUPIN JOPANG: IN *VITRO* MODIFICATION OF RED CELL AND CYTOMETRIC ANALYSIS FOR CLASSIFICATION AND DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF ANEMIA. THESIS ADVISOR: AHNOND BUNYARATVEJ, Ph. D., SUPORN CHUNCHARUNEE, M.D. 163 p. ISBN 974-588-926-1

Red cell analysis is used for detection and classification of anemia by new technology of flow cytometric analysis. The study included red blood cell (RBC), hemoglobin (Hb), mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH), red blood cell distribution width (RDW), hemoglobin distribution width (HDW), cell hemoglobin concentration mean (CHCM), cell hemoglobin distribution width (CHDW), percentage of microcyte, percentage of macrocyte, percentage of hypochromic red cell, percentage of reticulocyte, mean corpuscular volume of reticulocyte (MCVr), cell hemoglobin content of reticulocyte (CHr), and cell hemoglobin concentration mean of reticulocyte (CHCMr). This study has linked red cell morphology and pathophysiology of anemia using these parameters. RBC-shape transformation test and heat-induced erythrocyte fragmentation test could be applied to aid in the differential diagnosis of anemia. The combination of these tests is useful for gaining better resolution on anemia diagnosis.

Cell hemoglobin distribution width parameter could identify patients who had either depleted iron storage and iron deficient subjects with non thalassemic conditions and from those with thalassemia trait as well. Decreased cell hemoglobin content of reticulocyte in iron deficient erythropoiesis was an indicator of progress to iron deficiency anemia. In the cases with " mixed " etiology, it is interesting to know the direction of red cell alteration. From this study, differentiation of normal from thalassemia disease and thalassemia trait was 100%, iron deficient erythropoiesis 87.2%, iron deficiency anemia 100%, and G6PD deficiency (no clinical manifestation) 92.9%.

3836030 RACP / M: MAJOR: พยาธิวิทยาคลินิก; วท.ม. (พยาธิวิทยาคลินิก)

ยุพิน ใจแปง: การวิเคราะห์เม็ดเลือดแดงโดยการดัดแปลงในหลอดทดลอง เพื่อการจัดกลุ่มและวินิจฉัยแยกประเภทโลหิตจาง ( *In vitro* modification of red cell and cytometric analysis for classification and differential diagnosis of anemia) อาจารย์ที่ปรึกษา: อานนท์ บุญยะรัตเวช Ph. D., สุภร จันท์จารุณี M.D. 163 หน้า. ISBN 974-588-926-1

ได้ศึกษาลักษณะพื้นฐานเม็ดเลือดแดงเพื่อนำมาวินิจฉัยและแยกชนิดโลหิตจาง โดยใช้เทคโนโลยี Flow cytometric analysis ของเครื่อง Hematology Analyzer ซึ่งได้ค่าวิเคราะห์เม็ดเลือดแดงที่เป็นประโยชน์ในการวินิจฉัย โลหิตจาง ได้แก่ ค่าปริมาณ เม็ดเลือดแดง (red blood cell) ค่าความเข้มข้นฮีโมโกลบิน (hemoglobin) ค่าเฉลี่ยปริมาตรเม็ดเลือดแดง (mean corpuscular volume) ค่าเฉลี่ยน้ำหนัก ฮีโมโกลบิน (mean corpuscular hemoglobin) ค่าการกระจายปริมาตรเม็ดเลือดแดง (red blood cell distribution width) ค่าการกระจายความกว้างฮีโมโกลบิน (hemoglobin distribution width) ค่าเฉลี่ยค่าความเข้มข้นฮีโมโกลบิน (cell hemoglobin concentration mean) ค่าการกระจายความกว้างน้ำหนักฮีโมโกลบิน (cell hemoglobin distribution width) ค่าร้อยละเม็ดเลือดแดงขนาดเล็ก (% microcyte) ค่าร้อยละเม็ดเลือดแดงขนาดใหญ่ (% macrocyte) ค่าร้อยละเม็ดเลือดแดงติดสีจาง ( % hypochromic) ค่าร้อยละเรติคูลocytes ( % reticulocyte) ค่าเฉลี่ยปริมาตรเรติคูลocytes (mean corpuscular volume of reticulocyte) ค่าเฉลี่ยน้ำหนักฮีโมโกลบินเรติคูลocytes (hemoglobin content of reticulocyte) ค่าเฉลี่ยค่าความเข้มข้นฮีโมโกลบินเรติคูลocytes (cell hemoglobin concentration mean of reticulocyte) จากการศึกษาสามารถที่จะเชื่อมโยงลักษณะพื้นฐานเม็ดเลือดแดงกับพยาธิสรีรวิทยาของการเกิดโลหิตจางได้ นอกจากนี้ได้ทำการศึกษาในหลอดทดลอง คือ การเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเม็ดเลือดแดงที่ pH ที่เป็นกรด และการใช้ความร้อนเพื่อให้เม็ดเลือดแดงแตกเป็นชิ้นส่วน แล้ววัดค่าวิเคราะห์เม็ดเลือดแดง ซึ่งพบว่าการวิเคราะห์เม็ดเลือดแดงโดยการดัดแปลงในหลอดทดลองช่วยในการจัดกลุ่มและวินิจฉัยแยกประเภทโลหิตจางได้มากขึ้น

นอกจากนี้ จากการศึกษายังพบว่า ค่าการกระจายความกว้างน้ำหนักฮีโมโกลบิน สามารถจะแยกความแตกต่างระหว่างธาลัสซีเมียที่เป็นพาหะออกจากกลุ่มที่ขาดเหล็ก (iron deficient erythropoiesis) และค่าเฉลี่ยน้ำหนักฮีโมโกลบินเรติคูลocytes ที่ลดต่ำลงใน กลุ่มที่ขาดเหล็ก ป่งบอกถึงการดำเนินของโรคไปสู่ภาวะโลหิตจาง เนื่องจาก การขาดเหล็ก (iron deficiency anemia) ในกลุ่มที่มีสาเหตุของโรคมักกว่าหนึ่ง เราสามารถที่จะเห็นทิศทางการเปลี่ยนแปลงลักษณะพื้นฐานเม็ดเลือดแดงได้ จากผลการศึกษา เราสามารถจะแยกโลหิตจางออกจากคนปกติได้โดย กลุ่มธาลัสซีเมียและพาหะแยกได้ 100 เปอร์เซ็นต์ กลุ่มขาดเหล็กแยกได้ 87.2 เปอร์เซ็นต์ กลุ่มโลหิตจางจากการขาดเหล็กได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มที่ขาดเอนไซม์ G6PD ที่ไม่มีอาการได้ 92.9 เปอร์เซ็นต์