บทที่ 3
หลักการตรวจนับเม็ดเลือด

3.1 นิยามของเม็ดเลือด

เลือดเป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันชนิดหนึ่งซึ่งมีสารระหว่างเซลล์ เป็นของเหลวเป็นตัวกลางติดต่อระหว่างเซลล์ของร่างกาย และมีเม็ดเลือดเป็นเซลล์ล่องลอยอยู่ ในร่างกายมีเลือดอยู่ประมาณ 7–8 % ของน้ำหนักตัว ปริมาณของเลือดแตกต่างกันไปตาม อายุ ขนาด น้ำหนักตัว เพศ และ สภาวะของสุขภาพ เลือดมีสีแดงเมื่ออยู่ในหลอดเลือดแดง มีสีคล้ำลงเล็กน้อยเมื่ออยู่ในหลอดเลือดดำ มีความหนืดกว่าน้ำ 5 เท่า มีอุณหภูมิประมาณ 37.8°C มีฤทธิ์เป็นด่างเล็กน้อย มีกลิ่นคาว หน้าที่ของเลือดคือ

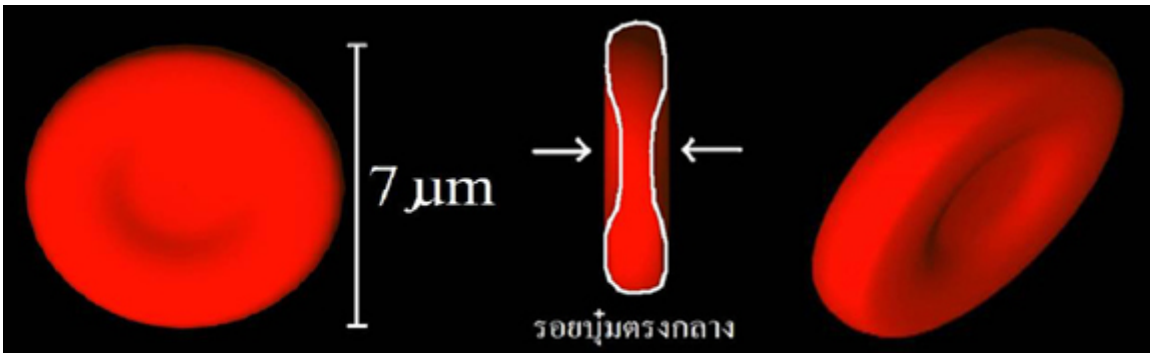
1. ระบบการขนส่ง ออกซิเจน อาหาร ภูมิต้านทน โปรตีน ระบบป้องกันตัวเอง การทำลายของเสีย
2. ระบบป้องกันด้วยระบบภูมิคุ้มกัน
3. ควบคุมความสมดุลของร่างกาย โดยการควบคุมอุณหภูมิของร่างกาย

เลือดมีองค์ประกอบ 2 ส่วน คือ

1. เม็ดเลือด (Blood cell) มีประมาณ 45 %
2. พลาสมา (Plasma) มีประมาณ 55 %

1. เม็ดเลือด (Blood cell) ประกอบด้วย เม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว และ เกร็ดเลือด

1.1 เม็ดเลือดแดง (Red Blood Cell : RBC)



รูปที่ 3.1 แสดงรูปร่างและขนาดของเม็ดเลือดแดง

เม็ดเลือดแดงมีรูปร่างด้านหน้าเป็นรูปกลมคล้ายจาน ตรงกลางมีรอยบุ๋มลึกลงไปคล้ายโดนัท แต่ไม่มีรูทะลุถึงกัน มีเส้นผ่าศูนย์กลางขนาดประมาณ 7 ไมครอน ซึ่งมีขนาดเล็กกว่าเซลล์อื่นๆ ของร่างกายมากเม็ดเลือดแดงจะถูกสร้างที่บริเวณไขกระดูกของร่างกายตามที่ต่าง ๆ ไม่เท่ากัน ไขกระดูกที่มีประสิทธิภาพในการสร้าง ได้แก่ **ไขกระดูกหน้าอก กระดูกซี่โครง กระดูกสันหลัง และกระดูกกะโหลกศีรษะ** อัตราการสร้างเปลี่ยนแปลงได้ขึ้นกับปริมาณออกซิเจนในเลือด ถ้าออกซิเจนต่ำ หรือร่างกายสูญเสียเลือด จะมีผลเร่งให้ไขกระดูกสร้างเม็ดเลือดแดงเพิ่มขึ้นภายในเม็ดเลือดแดงมีฮีโมโกลบิลเป็นสารสำคัญในการพาออกซิเจนที่รับจากปอดไปยังเซลล์ต่างๆ ทั่วร่างกาย ฮีโมโกบิลประกอบด้วยส่วนประกอบที่เรียกว่า ฮีม (Heme) และส่วนที่เป็นโปรตีนซึ่งเรียกว่า โกบิล (Globin) ฮีมมีธาตุเหล็กเป็นองค์ประกอบสำคัญ ถ้าร่างกายขาดธาตุเหล็ก จะทำให้สร้างฮีมได้ไม่พอ ซึ่งส่งผลต่อไปยังการสร้างฮีโมโกลบิน และการสร้างเม็ดเลือดแดง ทำให้สร้างได้ปริมาณน้อย และคุณภาพของเม็ดเลือดแดงด้อยลง

เม็ดเลือดแดงจะมีอายุประมาณ 120 วัน เมื่อหมดอายุการใช้งานแล้วจะถูกทำลายที่ม้าม โดยแยกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่เป็นธาตุเหล็กร่างกายจะเก็บไว้ใช้อีก และ ส่วนที่ไม่ใช่ธาตุเหล็กจะถูกนำไปที่ตับเพื่อขับออกทางน้ำดี และบางส่วนถูกขับออกทางไต จำนวนเม็ดเลือดแดงในผู้ชายมีปริมาณมากกว่าผู้หญิง ในผู้ชายมีประมาณ 5 ล้านเซลล์ต่อเลือด 1 ลบ.ซม. ผู้หญิงมีประมาณ 4.5 ล้านเซลล์ต่อเลือด 1 ลบ.ซม.

หน้าที่ของเม็ดเลือดแดง

1. นำออกซิเจนไปเลี้ยงเซลล์ทั่วร่างกาย
2. นำคาร์บอนไดออกไซด์ออกจากเซลล์ไปสู่ปอด
3. ทำให้เลือดมีสีแดง โดยฮีโมโกลบินรวมกับออกซิเจน

1.2 เม็ดเลือดขาว (White Blood Cell : WBC)

เม็ดเลือดขาวมีขนาดใหญ่กว่าเซลล์เม็ดเลือดแดงคือมีขนาดประมาณ 10-20 ไมครอน เป็นเซลล์ที่มีนิวเคลียส ไม่มีฮีโมโกลบิน มีการเคลื่อนไหวแบบการคืบตัวคล้ายอะมีบา สามารถลอดผ่านผนังเลือดฝอยได้ จำนวนเม็ดเลือดขาวปกติประมาณ 5,000 – 7,000 เซลล์ต่อเลือด 1 ลบ.ซม. จำนวนเม็ดเลือดขาวเปลี่ยนแปลงได้ตาม อายุ เพศ และ สภาวะอื่นๆ เม็ดเลือดขาวมีการสร้างออกมาตลอดเหมือนเม็ดเลือดแดง มีอายุประมาณ 13 วัน อวัยวะสำหรับสร้างเม็ดเลือดขาว ได้แก่ ไขกระดูก ต่อมน้ำเหลือง ต่อมทอมซิล ต่อมไทมัส เป็นต้น

หน้าที่เม็ดเลือดขาว

ทำลายเชื้อโรค เมื่อมีสิ่งแปลกปลอมเข้าสู่ร่างกาย เม็ดเลือดขาวจะถูกผลิตเพิ่มขึ้นโดยอัตโนมัติ เพื่อเตรียมพร้อมที่จะทำลายสิ่งแปลกปลอมโดยวิธี

1. การสะกดกลืนกิน (phagocytosis) เป็นวิธีทำลายเชื้อโรคโดยการกินและย่อยสลายเชื้อโรค
2. การสร้างเสริมภูมิคุ้มกันโรค (immunization) เม็ดเลือดขาวบางชนิดจะสร้างสารพวกโปรตีนที่มีคุณสมบัติต่อต้านสิ่งแปลกปลอมและเชื้อโรค

1.3 เกร็ดเลือด (Platelets)

เกร็ดเลือด มีรูปร่างกลมแบน ไม่มีนิวเคลียส ขนาด 2-4 ไมครอน เล็กกว่าเม็ดเลือดขาว และเม็ดเลือดแดง ปกติจะมีเกร็ดเลือดประมาณ 250,000 – 300,000 เซลล์ต่อเลือด 1 ลบ.ซม.

หน้าที่ของเกร็ดเลือด

การรักษาความสมดุลภายในหลอดเลือด (hemostasis) และ ช่วยในการอุดรอยรั่ว เมื่อเกิดการฉีกขาดของผนังเส้นเลือดได้ ช่วยทำให้เลือดแข็งตัว โดยผลิตแอนไซน์ทรอมโบพลาสตินอ (Thromboplastin) ซึ่งเป็นสารที่ทำให้เลือดแข็งตัว ดังนั้นการมีปริมาณของเกร็ดเลือดที่มากเกินไปทำให้เกิดการแข็งตัวของเลือดได้ง่าย และนำไปสู่การเกิดก้อนลิ่มเลือดอุดตันเส้นเลือดได้ ในทางตรงกันข้ามหากมีปริมาณของเกร็ดเลือดน้อยเกินไปก็จะส่งผลให้เกิดความผิดปกติในกระบวนการห้ามเลือด เกิดเลือดไหลหยุดช้า หรือเลือดไหลไม่หยุดได้

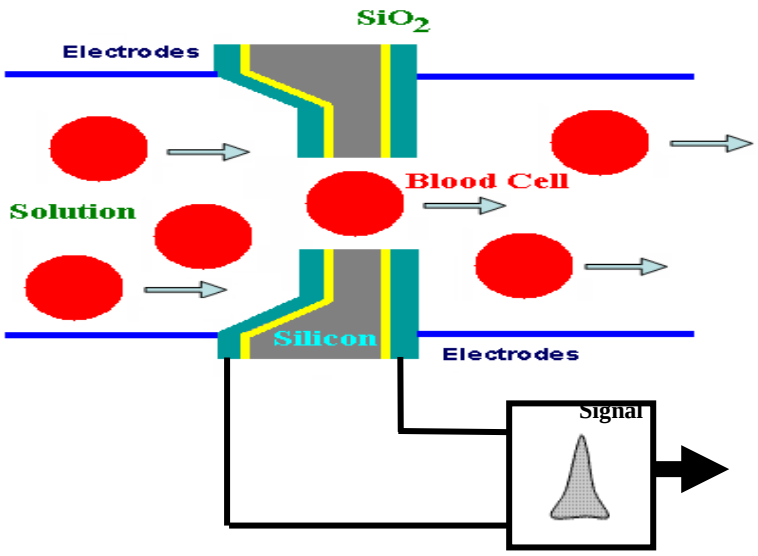
2. พลาสมา (Plasma) เป็นส่วนที่เป็นของเหลวในเลือด มีสีเหลืองใส มีฤทธิ์เป็นด่างเล็กน้อย

หน้าที่ของพลาสมา ในพลาสมามีส่วนประกอบที่สำคัญและหน้าที่ ดังนี้

ส่วนประกอบ	หน้าที่
1. ปริมาณ 90-93% ของน้ำเลือดทั้งหมด	- ทำละลายของอาหาร ก๊าซ ของเสียต่างๆในเลือด - ช่วยลดความหนืดของเลือด ทำให้เลือดไหลเวียนได้ง่าย
2. โปรตีนชนิดต่างๆ 6-8% - albumin(อัลบูมิน) - globulin (แกรมมาโกลบูลิน) - fibrinogen (ไฟบริโรเจน)	 - ทำให้เกิดแรงดันออสโมซิสในน้ำเลือด รักษาปริมาตรของเลือด และ รักษาความสมดุลของน้ำในร่างกาย - เป็นตัวพาสารต่างๆ และ สร้าง antibody - ช่วยทำให้เลือดแข็งตัว
3. เกลือแร่ที่สำคัญ ได้แก่ โซเดียมคาร์บอเนต โซเดี่ยมคลอไรด์ และ เกลือแคลเซี่ยม	- ถ้าเป็นของเสียจะถูกกำจัดออก ถ้าเป็นสารอาหารจะอยู่ในน้ำเลือด เพื่อส่งไปเลี้ยงส่วนต่างๆ ของเซลล์

3.2 หลักการวัดความต้านทานทางไฟฟ้า (Electrical impedance)

จากลักษณะของเซลล์เม็ดเลือดที่มีคุณสมบัติเป็นสื่อนำกระแสไฟฟ้าที่ไม่ดี (Poor conductivity) จะขัดขวางการไหลของกระแสไฟฟ้าทำให้เกิดสัญญาณทางไฟฟ้าขึ้นได้ โดยเราสามารถบันทึกการเปลี่ยนแปลงนี้ได้ วิธีการก็คือการสร้างสนามกระแสไฟฟ้าโดยมีขั้วไฟฟ้า (electrode) 2 ขั้ว คือ ขั้วบวกและขั้วลบ กระแสไฟฟ้าสามารถวิ่งถึงกันระหว่างสองขั้วนี้โดยอาศัยสื่อซึ่งเป็นสารละลาย โดยมีวัสดุปิดกั้นกระแสไฟฟ้าระหว่างขั้วไฟฟ้าทั้งสองขั้ว ซึ่งในงานวิจัยนี้ใช้แผ่นผลึกซิลิคอนที่มีช่องเล็กๆ (aperture) ที่สามารถทะลุไปยังแผ่นซิลิคอนด้านตรงข้ามได้ ซึ่งช่องเล็กๆนี้ถูกสร้างขึ้นจากกระบวนการกัดทางไฟฟ้าเคมี ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของช่องอยู่ในช่วงประมาณ 10-25 ไมครอน (อาจใหญ่หรือเล็กกว่านี้ได้ตามการออกแบบสำหรับการนับเซลล์เม็ดเลือดแต่ละชนิด) ดังนั้นกระแสไฟฟ้าสามารถวิ่งถึงกันระหว่างสองขั้วไฟฟ้าโดยผ่านเฉพาะช่องเล็กๆนี้เท่านั้น การไหลของกระแสไฟฟ้าจะอาศัยน้ำยาที่เป็นสื่อตัวนำ ดังแสดงในรูปที่ 3.2



วงจรนับและตรวจวัดระดับสัญญาณ

รูปที่ 3.2 แสดงโครงสร้างและหลักการนับเซลล์เม็ดเลือดแบบ Electrical impedance

โดยเซลล์เม็ดเลือดที่ต้องการนับ จะต้องถูกนำมาเจือจางด้วยน้ำยาที่เป็นสารละลายบัฟเฟอร์ฟอสเฟต (Phosphate Buffered Saline:PBS) ที่มีค่า pH ประมาณ 7 ทั้งนี้ก็เพื่อให้เซลล์เม็ดเลือดลอยแขวนในน้ำยาอัตราส่วนที่พอเหมาะ แล้วทำการนำเอาน้ำยาที่มีเซลล์เม็ดเลือดลอยแขวนอยู่ไปใส่ในภาชนะเพื่อเตรียมฉีดเข้าระบบ โดยการฉีดให้น้ำยาให้ท่วมบริเวณช่องเล็กๆ (aperture) ที่อยู่ระหว่างขั้วไฟฟ้าทั้งสองขั้ว ส่วนอีกด้านของเซ็นเซอร์จะดูดเซลล์เม็ดเลือดในน้ำยาด้วยแรงดัน negative pressure เซลล์เม็ดเลือดและน้ำยาจะวิ่งผ่านเข้ารูช่องเล็กๆ จากขั้วไฟฟ้าหนึ่งไปสู่ขั้วไฟฟ้า

อีกขั้วหนึ่ง ในขณะที่เซลล์เม็ดเลือดวิ่งไหลผ่านรูช่องเล็กๆ นั้น จะเกิดการกระตุกของกระแสไฟฟ้าระหว่างขั้วทั้งสอง อันเนื่องมาจากช่องซึ่งมีขนาดเล็ก จะถูกเซลล์เม็ดเลือดที่มีคุณสมบัติเป็นสื่อกระแสไฟฟ้าที่ไม่ดีมาขวางทางวิ่งของกระแสไฟฟ้า ทำให้เหลือช่องว่างในรูที่จะให้กระแสไฟฟ้าวิ่งผ่านน้อยลง (บริเวณรูจะมีความเข้มข้นของกระแสไฟฟ้าสูงกว่าบริเวณอื่น) และเมื่อเซลล์เม็ดเลือดนั้นวิ่งหลุดออกจากบริเวณช่องเล็กๆ ไป กระแสไฟฟ้าจะไหลผ่านน้ำยาเป็นปกติเหมือนเดิม จากการที่มีการกระตุกของกระแสไฟฟ้าในขณะที่เซลล์เม็ดเลือดวิ่งไหลผ่านช่องเล็กๆนี้เอง ทำให้เกิดสัญญาณ **(pulse)** ที่เกิดขึ้นเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงความต้านทานระหว่างขั้วไฟฟ้าทั้งสอง ซึ่งสามารถที่จะบันทึกได้ โดยจำนวนครั้งของการกระตุกของกระแสไฟฟ้าจะเท่ากับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดที่วิ่งไหลผ่านช่องเล็กๆนั้น ดังนั้นจึงทำให้เราสามารถบอกจำนวนเซลล์เม็ดเลือดที่นับได้นั่นเอง ขนาดของความเปลี่ยนแปลงของกระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นจะแปรผันตรงกับปริมาตรของเซลล์เม็ดเลือด และทำให้สัญญาณ (pulse) ซึ่งแปลงเป็นจำนวนเซลล์และขนาดของเม็ดเลือด สำหรับการนับจำนวนเม็ดเลือดเมื่อนำมาหาค่าเฉลี่ย จะได้ค่าปริมาตรเม็ดเลือดแดงโดยเฉลี่ย (MCV)