นิพนธ์ต้นฉบับ

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเม็ดเลือด และปัจจัยสำหรับการแข็งตัวของเลือดในตัวอย่างที่ผสมสาร ACD หรือ CPD ซึ่งเก็บในธนาคารโลหิต*

พรเทพ เทียนสิวากุล** จำนง ภูมิภักดิ์**
นิภา ศาสตรสาธิต** บุญร่วม ยิ้มศิริ**
สนอง ศิริมงคลสกุล** วาริน แสงกิติโกมล**
เพ็ญนิภา บุญวิสุทธิ์*** พิณทิรา ตันเสถียร***

Tiensiwakul P, Bhumipugdi C, Sastarasadhit N, Yimisiri B, Sirimongkolsakul S, Sangkitikomol W, Bunvisuthi P, Tanthien P. Comparative study between ACD-and CPD stored blood for cellular and coagulation factor changes. Chula Med J 1987 Apr ; 31 (4) : 311-315

This study compares the cellular and coagulation factor changes between ACD-and CPD stored blood. Of samples obtained from a total of 40 blood donors, there were no differences in the white blood cell count, lymphocyte viability, red blood cell count, plasma hemoglobin, blood platelet count, prothrombin time, and partial thromboplastin time between ACD-and CPD stored blood for the duration of 35 days. The results obtained from this study, together with the data of chemical changes from our previous study may be used as a guide-line in the decision to replace ACD by CPD as the blood bank anticoagulant preservative.

* ได้รับทุนอุดหนุนจากศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

** ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

*** ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

จุดประสงค์ของการเก็บรักษาเลือดไว้ในธนาคารโลหิต เพื่อที่จะเก็บรักษาเม็ดเลือดให้มีชีวิตยืนยาวมากที่สุด โดยทั่วไปเม็ดเลือดแดงควรมีชีวิตอยู่ อย่างน้อย 80% ขณะเมื่อให้แก่คนไข้ ดังนั้นเลือดที่เก็บด้วย acid-citrate-dextrose (ACD) จึงใช้ได้นาน 21 วัน ต่อมาได้มีการเปลี่ยนแปลงสูตรเป็น citrate-phosphate-dextrose (CPD) ซึ่งสามารถยืดอายุของเม็ดเลือดแดงไปได้ถึง 28 วัน[1] นอกจากนั้นได้มีการปรับปรุงสูตร CPDA-1, CPDA-2, และ CPDA-3 ซึ่งสามารถเพิ่มอายุของเม็ดเลือดแดงออกไปได้ถึง 35 และ 42 วัน ตามลำดับ[2,3] นอกจากเม็ดเลือดแดงแล้วเม็ดเลือดขาวและเกร็ดเลือด ก็มีความสำคัญโดยเฉพาะการให้เม็ดเลือดขาว (granulocyte-concentrate) แก่คนไข้ที่เป็น acute leukemia เพื่อลดอัตราการตายจากโรคติดเชื้อ และการให้ platelets-concentrate เพื่อลดอาการเลือดออกง่าย (bleeding) ซึ่งเกิดจากการขาดเกร็ดเลือด

การศึกษาในครั้งนี้ เพื่อเปรียบเทียบ เลือดที่เก็บด้วยสาร ACD และสาร CPD ในแง่ของการเปลี่ยนแปลงทางเม็ดเลือดและปัจจัยสำหรับการแข็งตัวของเลือด (coagulation factors) โดยนับจำนวนเม็ดเลือดขาว และอัตราการมีชีวิตของลิมโฟไซท์ จำนวนเม็ดเลือดแดงและอัตราการแตกของเม็ดเลือดแดง โดยประเมินจากพลาสมาฮีโมโกบิน จำนวนเกร็ดเลือด และการวัดค่า prothrombin time (PT) รวมทั้ง partial thromboplastin time (PTT) ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้จะนำไปพิจารณารวมข้อมูลที่ได้จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางด้านสารเคมีในเลือด ซึ่งคณะของเราได้รายงานไว้แล้ว[4] สำหรับเป็นแนวทางในการพิจารณานำสาร CPD มาใช้แทนที่สาร ACD ในการเก็บรักษาเลือด สำหรับศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติสภากาชาดไทย

วัสดุและวิธีการ

แผนการวิจัย ขั้นตอนในการคัดเลือกตัวอย่างของคนไข้ วิธีการเก็บตัวอย่าง ตลอดจนการแบ่งตัวอย่างเลือดเพื่อนำมาวินิจฉัยได้รายงานไว้แล้ว[4] ส่วนการตรวจทางห้องปฏิบัติการมีดังนี้

1. การนับจำนวนเม็ดเลือดขาว

นำเลือดตัวอย่างมาเจือจางในน้ำยา Turk และนับเม็ดเลือดขาว โดยใช้ hemocytometer[5]

2. การนับอัตราการมีชีวิตของลิมโฟไซท์ ใช้วิธี Trypan blue dye exclusion assay[6]

3. การนับจำนวนเม็ดเลือดแดง นำเลือดตัวอย่างมาเจือจางในน้ำยา Gower แล้วนับโดยใช้ hemocytometer[5]

4. การวัดค่าพลาสมาฮีโมโกลบิน การศึกษาฮีโมโกลบินในพลาสมา ซึ่งเกิดจากการแตกของเม็ดเลือดแดง ใช้วิธีของ Crosby และ Furth[7]

5. การนับจำนวนเกร็ดเลือด ใช้วิธีเจือจางในน้ำยาแอมโมเนียมอ๊อกซาเลท และนับโดย phase contrast microscope[5]

6. การศึกษา prothrombin time ใช้น้ำยา Simplastin ของบริษัท General Diagnostics และวัดค่าโดยใช้ fibrometer[5]

7. การศึกษา partial thromboplastin time ใช้น้ำยา Actin activated cephaloplastin reagent ของบริษัท Dade และตรวจหาค่าโดยใช้ fibrometer[5]

การแสดงผลการทดลอง ผลที่ได้ แสดงโดย bar-chart ซึ่งเป็นค่าเฉลี่ยของเลือด 20 ตัวอย่าง ± 1standard error of the mean

ผล

จำนวนเม็ดเลือดขาวลดลงจาก 5,947 ± 327 และ 6,332 ± 276 เซลล์/ลบ.มม. เมื่อเริ่มเก็บจนถึง 1,872 ± 172 และ 1,840 ± 192 เซลล์/ลบ.มม. ในวันที่ 35 ของเลือดที่เก็บด้วย ACD และ CPD ตามลำดับ และเม็ดเลือดขาวลดลงเล็กน้อย ในอาทิตย์แรก แต่ลดลงอย่างรวดเร็วในอาทิตย์ที่ 2 และที่ 3 (รูปที่ 1) นอกจากนั้นจำนวนของเม็ดเลือดขาวที่ลดลง สอดคล้องกับการลดอัตราการมีชีวิตของลิมโฟไซม์ คือ เปอร์เซ็นต์มีชีวิตเริ่มจาก 97.9 ± 0.3% และ 98.5 ± 0.2% แต่ได้ลดลงถึง 11.6 ± 0.7% และ 10.1 ± 0.7% ในวันที่ 35 ของเลือดที่เก็บด้วย ACD และ CPD ตามลำดับดังแสดงใน รูปที่ 2

จาก รูปที่ 3 จำนวนของเม็ดเลือดแดงลดลงเล็กน้อยจากระดับ 3.79 ± 0.11 × 10^6 และ 4.09 ± 0.15 × 10^6 เซลล์/ลบ.มม. เมื่อเริ่มตรวจในเลือดที่เก็บด้วย ACD และ CPD ตามลำดับ และลดถึง 3.15 ± 0.13 × 10^6 และ 3.47 ± 14 × 10^6 เซลล์/ลบ.มม. ในวันที่ 35 จำนวนที่ลดลงนี้ เกิดจากการแตกสลายของเม็ดเลือดแดง เพราะมีความสอดคล้องกับระดับพลาสมาฮีโมโกลบิน ซึ่งเพิ่มจากระดับ 4.05 ± 0.41 และ 3.66 ± 0.47 mg/dl เมื่อแรกเริ่มเก็บ และเพิ่มสูงถึงระดับ 45.14 ± 1.73 และ 43.50 ± 3.10 mg/dl ในวันที่ 28 (รูปที่ 4)

จำนวนเกร็ดเลือด 204,900 ± 10,374 และ 211,750 ± 9,546 เซลล์/ลบ.มม. ของเมื่อแรกเก็บลดถึง 24,200 ± 2,258 และ 26,100 ± 2,165 เซลล์/ลบ.มม. ใน

วันที่ 35 ของเลือดเก็บด้วย ACD และ CPD ตามลำดับ (รูปที่ 5)

ส่วนการศึกษาด้านปัจจัยสำหรับการแข็งตัวของเลือด ในรูปที่ 6 พบระดับ prothrombin time (PT) สูงขึ้นจากเมื่อแรกเก็บที่ 11.8 ± 0.2 และ 12.3 ± 0.2 วินาที เป็น 20.3 ± 0.4 และ 19.8 ± 0.4 วินาที ในวันที่ 35 ส่วนระดับ partial thromboplastin time (PTT) ก็เช่นเดียวกันขึ้นสูงจากระดับ 30.0 ± 0.9 และ 29.1 ± 0.8 วินาที เมื่อแรกเริ่มเก็บจนถึง 99.0 ± 2.5 และ 96.7 ± 2.5 วินาที ในวันที่ 35 ของเลือดที่เก็บด้วย ACD และ CPD ตามลำดับ (รูปที่ 7)

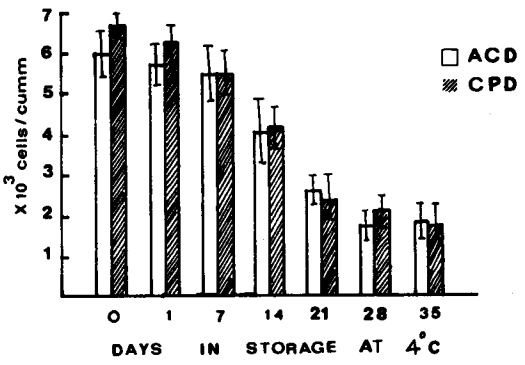

FIGURE 1 White blood cells

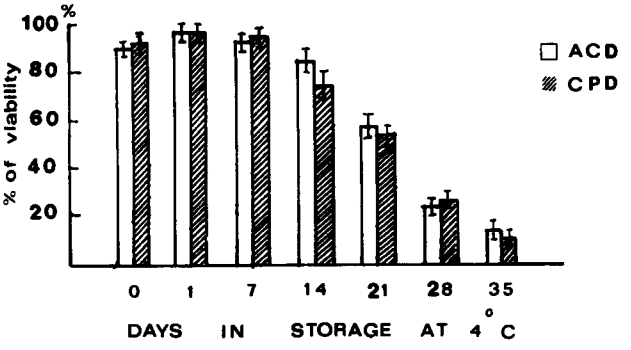

FIGURE 2 Lymphocyte viability

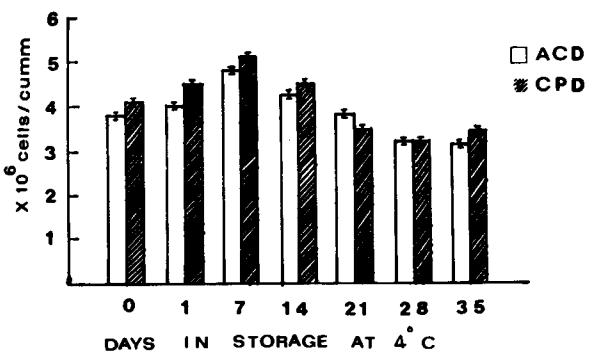

FIGURE 3 Red blood cells

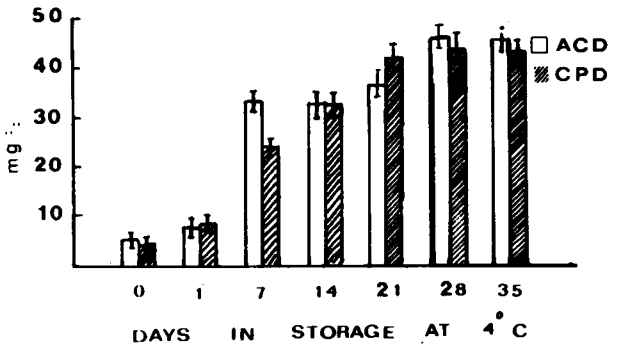

FIGURE 4 Plasma hemoglobin

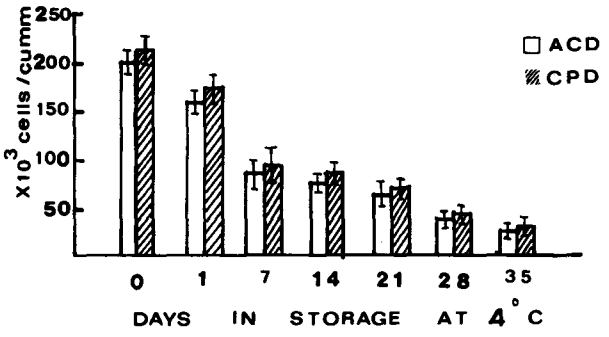

FIGURE 5 Blood Platelets

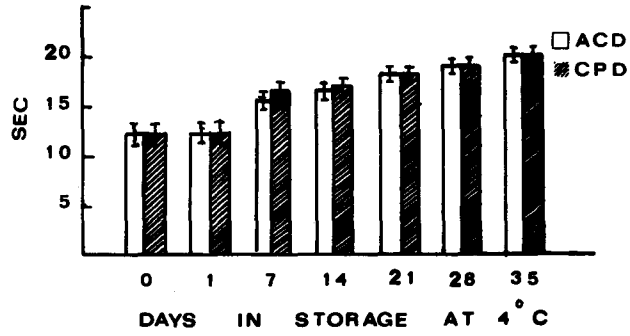

FIGURE 6 Prothrombin time

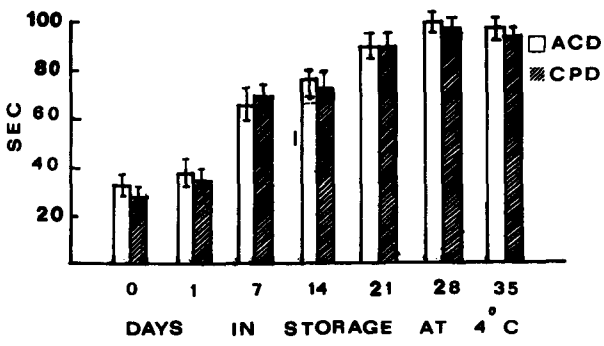

FIGURE 7 Partial thrombroplastin time

วิจารณ์ และสรุปผล

จำนวนเม็ดเลือดขาวอยู่คงที่ในระยะอาทิตย์แรก และลดลงอย่างรวดเร็วในวันที่ 14 ซึ่งพบว่าช่วงนี้อัตราการมีชีวิตลดลงอย่างรวดเร็ว เช่นเดียวกัน (รูปที่ 1 และ 2) น่าสังเกตว่าในวันที่ 28 ซึ่งเป็นวันที่หมดอายุของเลือดที่เก็บด้วย ACD จำนวนเม็ดเลือดขาวได้ลดลงเหลือ 32% ของเมื่อแรกเริ่มเก็บซึ่งน้อยกว่าที่เคยรายงานไว้เล็กน้อย[8] ดังนั้นทั้งปริมาณและคุณภาพของเม็ดเลือดขาวในเลือดทั้งหมด (whole blood) อาจไม่พอเพียงสำหรับการให้เลือดที่เก็บรักษาไว้นาน

ส่วนจำนวนเม็ดเลือดแดงลดลง เนื่องจากการแตกตัวเป็นอัตราส่วนกับความเข้มข้นของพลาสมาฮีโมโกลบิน พบว่าระดับพลาสมาฮีโมโกลบิน ในวันแรก เริ่มเก็บมีเพียงเล็กน้อย แต่สูงในวันที่ 7 ซึ่งแสดงถึงการแตกของเม็ดเลือดแดงอย่างมากในวันที่ 7 ซึ่งพบร่วมกับการลดลงอย่างมากของจำนวนเกร็ดเลือด (ลดลง 55% และ 54% ของเลือดที่เก็บด้วย ACD และ CPD ตามลำดับ) จนกระทั่งถึง วันที่ 35 ที่จำนวนเกร็ดเลือดได้ลดลงถึง 88% ซึ่งใกล้เคียงกับรายงานของ Limbird และคณะ[8]

ส่วนการศึกษาด้านปัจจัยสำหรับการแข็งตัวของเลือด พบว่า PT มี percent activity เพียง 27% และ 24%

ของระดับปกติในวันที่ 28 และ 35 ตามลำดับ ซึ่งใกล้เคียงกับระดับของ coagulation factor V โดยการศึกษาของ Limbird และ Silver[8] เช่นเดียวกันเราพบ PTT สูงมากถึง 3.34 และ 3.32 เท่าของระดับปกติ ในวันที่ 35 ดังนั้นในกรณีที่คนไข้ได้รับเลือดที่เก็บไว้นาน เป็นจำนวนมาก อาจจะทำให้คนไข้เกิดอาการเลือดออกเนื่องจากขาดเกร็ดเลือดและปัจจัยสำหรับการแข็งตัวของเลือด

จากผลการทดลองครั้งนี้สรุปได้ว่าเลือดที่เก็บด้วย ACD และ CPD ไม่แตกต่างกันในแง่ของการเปลี่ยนแปลงทางด้านเม็ดเลือดและปัจจัยสำหรับการแข็งตัวของเลือดแต่อย่างไรก็ตาม การที่พบว่าค่า pH ของเลือดที่เก็บด้วย CPD สูงกว่าของเลือดที่เก็บด้วย ACD อาจจะมีความสำคัญที่จะทำให้ระดับของ 2.3 diphosphoglycerate (2,3 DPG) ในเม็ดเลือดแดงที่เก็บด้วย CDP สูงกว่าที่เก็บด้วย ACD เนื่องจากระดับของ 2,3 DPG นี้มีความสัมพันธ์กับค่า pH ของเลือด[9] ดังนั้น ฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงของเลือดที่เก็บด้วย CPD น่าที่จะจับตัวกับอ๊อกซิเจนได้ดีกว่าของเลือดที่เก็บด้วย CPD ดังนั้น CPD จึงสามารถใช้เป็นสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดแทนที่ ACD

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้เขียนขอขอบคุณ คุณฉลอง จุลละศร, คุณสัมพันธ์ บุปผา และคุณผกา แสงรำไพ ในการนำส่งตัวอย่างและการเตรียมนิพนธ์ต้นฉบับ

อ้างอิง

1. Gibson JG II, Ress SB, McManus TJ, Scheitlin WA. A citrate-phosphate-dextrose solution for the preservation of human blood. Am J Clin Pathol 1957 Dec; 28(6) : 509-578
2. Zuck TF, Bensinger TA, Feck CC, Chiller KK, Bentler E, Button LN, McCurdy PR, Josephson AM, Greenwalt TJ. The in vivo survival of red blood cells stored in modified CPD with adenime : reports of a multi-institutional coorperative effort. Transfusion 1977 Jul-Aug; 17(4) : 374-382
3. Valeri CR, Valeri DA, Gray A, Melarago A, Dennis RC, Emmerson CP. Viability and function of red blood cell concentrates stored at 4° C for 35 days in CPDA-1, CPDA-2, or CPDA-3, Transfusion 1982 Nov-Dec; 22(6) 210-216
4. พรเทพ เทียนสิวากุล, สุพล พลธีระ, เทียนชัย ไชยเศรษฐ, จันทนี ไชยเศรษฐ, ประสาท อักษรวงศ์, จำนง ภูมิภักดิ์, สมคิด หมอกมืด, เพ็ญนิภา บุญวิสุทธิ์, พิณทิรา ตันเถียร. การศึกษาเพื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของเลือดในธนาคารโลหิตที่เก็บด้วยสาร ACD และ CPD (ส่งต้นฉบับเพื่อตีพิมพ์ใน จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2529 ตุลาคม; 30(10) : 983-995
5. Bauer JD. Clinical Laboratory Methods. St. Louis : C.V. Mosby, 1982. 1235
6. Hudson L, Hay FC. Practical Immunology. Oxford : Blackwell Scientific Publications, 1980. 29-31
7. Crosby WH, Furth FWA. A modification of the benzidine method for measurement of hemoglobin in plasma and urine. Blood 1956; 11 : 380.
8. Limbird TJ, Silver D. Sequential changes in the blood preserved with citrate-phosphate-dextrose. Surg Gynecol Obstet 1974 Mar; 138(3) : 401-405
9. Dawson RB, Jr, Kocholaty WF, Gray JL. Hemoglobin function and 2,3 DPG levels of blood stored at 4°C in ACD and CPD. Transfusion 1970 Nov-Dec; 10(6) : 299-204

จุฬาลงกรณ์เวชสารได้รับต้นฉบับเมื่อวันที่ 1 เดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2529