Original Article

Songklanagarind Medical Journal

การเปรียบเทียบคุณภาพเกล็ดเลือดเข้มข้นที่เตรียมจาก platelet rich plasma-platelet concentrate และ buffy coat poor-platelet concentrate ที่เก็บไว้ 1 และ 5 วัน

Comparison of Platelet Concentrates Prepared from Platelet Rich Plasma-Platelet Concentrate and Buffy Coat Poor-Platelet Concentrate on Storage Days 1 and 5

ดารินต์ณัฏ บัวทอง, วท.ม.[1]*, จรินทร์ บัวแก้ว, วท.ม.[2], จุฑารัตน์ นักฟ้อน, วท.บ.[2]

Darinnat Buathong, M.Sc.[1]*, Jarin Buakaew, M.Sc.[2], Chutarat Nukfon, B.Sc.[2]

[1]คณะเทคนิคการแพทย์ [2]ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90110 ประเทศไทย

[1]Faculty of Medical Technology, [2]Department of Pathology, Faculty of Medicine,

Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90110, Thailand.

*E-mail: darinnat.b@psu.ac.th

Songkla Med J 2017;35(1):5-16

บทคัดย่อ:

วัตถุประสงค์: เพื่อเปรียบเทียบคุณภาพเกล็ดเลือดเข้มข้น จากการเตรียมแบบ platelet rich plasma-platelet concentrate (PRP-PC) และ buffy coat poor-platelet concentrate (BC-PC) หลังจากเก็บเป็นเวลา 1 และ 5 วัน ตามเกณฑ์คุณภาพมาตรฐานของ American Association of Blood Banks (AABB)

วัสดุและวิธีการ: เกล็ดเลือดเข้มข้น 120 ยูนิต เตรียมจากผู้บริจาคโลหิตโรงพยาบาลสงขลานครินทร์ วิธี PRP-PC และ BC-PC ใช้ถุงเจาะเก็บเลือด ชนิด triple bag และ quadruple AS-5 bag อย่างละ 60 ยูนิต เกล็ดเลือดทั้ง 2 กลุ่ม จะทำการทดสอบที่อายุ 1 และ 5 วัน โดยใช้ 5 พารามิเตอร์ดังนี้ ปริมาตรเกล็ดเลือด จำนวนเกล็ดเลือด จำนวนเม็ดเลือดขาวที่ปนเปื้อน ค่า pH การทดสอบ swirling phenomenon และตรวจ hypotonic shock response วิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรม SPSS (Statistical Package for Social Science for Windows) และใช้สถิติ independent t-test และ paired student t-test

ผลการศึกษา: เกล็ดเลือดเข้มข้นวิธี PRP-PC และ BC-PC ได้ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ดังนี้ (1) ปริมาตรเกล็ดเลือดวิธี PRP-PC และ BC-PC อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน (40-70 มิลลิลิตร) (2) จำนวนเกล็ดเลือดอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน ($\geq 5.5 \times 10^{10}$

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากเงินรายได้ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

รับต้นฉบับวันที่ 8 มิถุนายน 2559 รับลงตีพิมพ์วันที่ 7 ตุลาคม 2559

ต่อยูนิต) วิธี PRP-PC และ BC-PC (อายุ 1 วัน) มีค่า 6.820±1.480x10^{10} และ 7.010±1.300x10^{10} ต่อยูนิต (p-value=0.260) วิธี PRP-PC และ BC-PC (อายุ 5 วัน) มีค่า 6.620±1.160x10^{10} และ 6.720±1.150x10^{10} ต่อยูนิต (p-value=0.040) (3) การปนเปื้อนของเม็ดเลือดขาวอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน (<0.2x10^{10} ต่อยูนิต) วิธี PRP-PC และ BC-PC (อายุ 1 วัน) มีค่า 0.030±0.017x10^{10} และ 0.026±0.019x10^{10} ต่อยูนิต (p-value=0.040) วิธี PRP-PC และ BC-PC (อายุ 5 วัน) มีค่า 0.033±0.013x10^{10} และ 0.027±0.019x10^{10} ต่อยูนิต (p-value=0.580) (4) ค่า pH อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน (≥6.2) วิธี PRP-PC และ BC-PC (อายุ 1 วัน) มีค่า 7.430±0.330 และ 7.750±0.160 (p-value=0.006) วิธี PRP-PC และ BC-PC (อายุ 5 วัน) มีค่า 7.590±0.350 และ 7.620±0.280 (p-value=0.710) คะแนนจากการทดสอบ swirling และการวัด hypotonic shock response มีค่าตามเกณฑ์มาตรฐานและไม่แตกต่าง

สรุป: คุณภาพของเกล็ดเลือดที่เตรียมโดยวิธี PRP-PC และ BC-PC ที่อายุ 1 และ 5 วัน พบว่า (1) ปริมาตรเกล็ดเลือด วิธี PRP-PC และ BC-PC อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน (2) จำนวนเกล็ดเลือด วิธี PRP-PC และ BC-PC (อายุ 1 วัน) ไม่แตกต่างเช่นเดียวกับ วิธี PRP-PC และ BC-PC (อายุ 5 วัน) (3) จำนวนเม็ดเลือดขาวปนเปื้อน วิธี PRP-PC และ BC-PC (อายุ 1 วัน) มีความแตกต่าง ขณะที่วิธี PRP-PC และ BC-PC (อายุ 5 วัน) ไม่แตกต่าง (4) ค่า pH วิธี PRP-PC และ BC-PC (อายุ 1 วัน) มีความแตกต่าง ขณะที่วิธี PRP-PC และ BC-PC (อายุ 5 วัน) ไม่แตกต่าง ค่าคะแนนจากการทดสอบ swirling และการวัด hypotonic shock response วิธี PRP-PC และ BC-PC ไม่แตกต่าง เกล็ดเลือดที่เตรียมโดยทั้งสองวิธี ทั้งที่อายุ 1 และ 5 วัน ได้คุณภาพตามเกณฑ์มาตรฐาน AABB

คำสำคัญ: เกล็ดเลือดเข้มข้น, เกล็ดเลือดเข้มข้นที่มีพลาสมา, เกล็ดเลือดเข้มข้นที่มีเม็ดเลือดขาวน้อย

Abstract:

Objective: The purpose of this study is to assess the quality of platelet concentrates on storage days 1 and 5 prepared by platelet rich plasma-platelet concentrate (PRP-PC) and buffy coat poor-platelet concentrate (BC-PC) methods comparing to the American Association of Blood Banks (AABB) recommendations.

Material and Method: Totally of 120 platelet concentrates (PC) units on storage days 1 and 5 (60 of PRP-PC triple blood bag and 60 of BC-PC quadruple AS-5 blood bag) were separated from whole blood donations at Songklanagarind Hospital. The prepared PC were assessed with 5 parameters such as volume, platelet count, white blood cell count per unit, pH, swirling phenomenon score and hypotonic shock response. The independent t-tests, paired Student's t-tests and SPSS program were utilized in statistical analysis step.

Results: The mean±standard deviation (S.D.) of each parameter were as follow : (1) Volume of PRP-PC and BC-PC met the standard (40-70 ml). (2) All of the platelet concentrates met the standard (≥ 5.5x10^{10}/unit). The mean±S.D.: PRP-PC and BC-PC (day 1) were 6.820±1.480 x10^{10} and 7.010±1.300 x10^{10}/unit (p-value=0.260), while PRP-PC and BC-PC (day 5) were 6.620±1.160x10^{10} and 6.720±1.150x10^{10}/unit (p-value=0.040). (3) The white blood cell in platelet concentrates met the standard (<0.2x10^{10}/unit). The mean±S.D.: PRP-PC and BC-PC (day 1) were 0.030±0.017x10^{10} and 0.026±0.019x 10^{10}/unit (p-value=0.040), while PRP-PC and BC-PC (day 5) were 0.033±0.013x10^{10} and 0.027±0.019x10^{10}/unit (p-value=0.580). (4) The pH of all units (PRP-PC and BC-PC) met the standard (≥6.2). The mean±S.D.: PRP-PC and BC-PC (day 1) were 7.430±0.330 and 7.750±0.160 (p-value=0.006), while PRP-PC and BC-PC (day 5) were 7.590±0.350 and 7.620±0.280 (p-value=0.710). The swirling phenomenon score and hypotonic shock response were the same as standard AABB and were not statistically difference.

Conclusion: The quality of PRP-PC and BC-PC after storing on days 1 and 5 as follow (1) Volume of PRP-PC and BC-PC met the standard. (2) The platelet count per unit of PRP-PC and BC-PC (day 1), PRP-PC and BC-PC (day 5) were not statistically difference. (3) The white blood cell count per unit of PRP-PC and BC-PC (day 1) were statistically difference, while PRP-PC and BC-PC (day 5) were not statistically difference. (4) The pH of PRP-PC and BC-PC (day 1) were statistically difference, while PRP-PC and BC-PC (day 5) were not statistically difference. The swirling phenomenon score and hypotonic shock response of PRP-PC and BC-PC were not statistically difference. Platelet concentrates of both method storing on days 1 and 5 fulfilled the quality guideline of AABB.

Keywords: platelet concentrate, platelet rich plasma-platelet concentrate (PRP-PC), buffy coat poor-platelet concentrate (BC-PC)

บทนำ

เกล็ดเลือดเข้มข้นได้จากการปั่นแยก whole blood ด้วยเครื่อง refrigerate centrifuge ที่อุณหภูมิ 22 °ซ การปั่นแยกทำ 2 ครั้ง ครั้งแรก เป็นการปั่น light spin เกล็ดเลือดเข้มข้นที่ได้มีส่วนประกอบเป็นเกล็ดเลือดอย่างน้อย $5.5x10^{10}$ ต่อยูนิต เมื่อปั่นแยกเสร็จแล้วยังใช้ไม่ได้ทันที เพราะเกล็ดเลือดจะจับกลุ่มเป็นตะกอนที่ก้นถุง ควรวางที่อุณหภูมิห้องประมาณ 1-2 ชั่วโมง เพื่อให้เกล็ดเลือดกระจายตัว หลังจากนั้นจึงนำไปให้ผู้ป่วย หรือเก็บตามความต้องการ พลาสมาในเกล็ดเลือดเข้มข้นมีปริมาณแตกต่างกันขึ้นกับวิธีเก็บ เกล็ดเลือดเข้มข้นใช้สำหรับผู้ป่วยที่มีเลือดออก เนื่องจากเกล็ดเลือดน้อย หรือด้อยคุณภาพ (platelet dysfunction) การเพิ่มปริมาณเกล็ดเลือด จะได้ผลดีถ้าการขาดนั้นเกิดจากภาวะล้มเหลวของไขกระดูกมากกว่าในภาวะที่มีอัตราการเพิ่มการทำลายของเกล็ดเลือด ช่วยให้เลือดแข็งตัวตรงจุดที่มีบาดแผลหรือฉีกขาดของหลอดเลือด

กระบวนการเตรียมเกล็ดเลือด เตรียมได้ 2 วิธี คือ platelet rich plasma-platelet concentrate (PRP-PC) และ buffy coat poor-platelet concentrate (BC-PC)[1] โดยวิธี PRP-PC เริ่มจากการปั่นด้วยแรงปั่นเบาก่อน เกล็ดเลือดซึ่งแขวนลอยอยู่ใน platelet rich plasma ไม่ได้อัดแน่นกัน จึงสามารถนำไปปั่นในขั้นตอนต่อไปได้โดยไม่ต้องรอให้เกล็ดเลือดคลายตัว ส่วนวิธี BC-PC มีขั้นตอนการเตรียมที่ต้องใช้เครื่องมือพิเศษในการ แยกชั้น buffy coat เนื่องจากในขั้นตอนแรกเป็นการปั่นด้วยแรงปั่นหนัก ทำให้เกล็ดเลือดกระจายตัว buffy coat ไม่ดี จึงต้องวางไว้นิ่งๆ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จึงจะนำไปปั่นเบาในขั้นต่อไปได้

ในการทำวิจัยนี้ เพื่อประเมินคุณภาพเกล็ดเลือดเข้มข้นที่เตรียมจาก วิธี PRP-PC และ วิธี BC-PC ที่ อายุ 1 และ 5 วัน โดยเลือดที่นำมาเตรียมได้มาจากผู้บริจาคโลหิต จากหน่วยคลังเลือดและเวชศาสตร์บริการโลหิต โรงพยาบาลสงขลานครินทร์ ว่าได้ตามมาตรฐาน ตามการควบคุมของ American Association of Blood Banks (AABB) โดยดูตัวชี้วัดที่แสดงถึงคุณภาพเกล็ดเลือดที่เตรียมได้ (ตารางที่ 1) นอกจากจำนวนเกล็ดเลือดแล้ว ตัวชี้วัดอื่นๆ ที่สำคัญคือ จำนวนเม็ดเลือดขาวที่ยังหลงเหลืออยู่ในถุงเกล็ดเลือด ค่า pH การตรวจ hypotonic shock response และ swirling phenomenon ที่แสดงถึงความสามารถมีชีวิตอยู่ (viability) ของเกล็ดเลือด[3,5]

ทั้งนี้ในกระบวนการปั่นแยกเกล็ดเลือดเข้มข้นทั้ง 2 วิธี อาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเกล็ดเลือดได้ ดังนั้นการศึกษาปัจจัยที่จะส่งผลต่อคุณภาพของเกล็ดเลือด รวมถึงขั้นตอนการเตรียมเกล็ดเลือดที่เหมาะสมได้มาตรฐาน จึงมีความสำคัญต่อการถนอมชีวิตของเกล็ดเลือดไว้ให้นานที่สุด เพื่อประโยชน์ต่อการนำไปใช้รักษาผู้ป่วย[4,6]

ตารางที่ 1 แสดงเกณฑ์คุณภาพตามมาตรฐานของ American Association of Blood Banks (17th ed.)[2,3]

Parameters	Quality requirement for		Frequency of control
	Platelet-rich plasma	Buffy-coat	
Volume	40-70 ml	40-70 ml	All units
Platelet count/unit	$\geq 5.5 \times 10^{10}$ in 90% of unit tested		Monthly
WBC count/unit	$<0.2 \times 10^{10}$ in 90% of unit tested		Monthly
pH	≥6.2 at the end of maximum day of storage in 100% of unit tested		Monthly
Swirling phenomenon	Present		All units
Hypotonic shock response	0-0.2		All units

วัสดุและวิธีการ

1. ตัวอย่างทดสอบ: เกล็ดเลือดเข้มข้นชนิด PRP-PC และ BC-PC เตรียมจากผู้บริจาคโลหิตโรงพยาบาลสงขลานครินทร์ ที่มีคุณสมบัติตามเกณฑ์ของผู้บริจาคโลหิตทั่วไป และไม่มีประวัติการรับประทานยากลุ่มแอสไพรินภายใน 5 วัน ก่อนบริจาค[5,7] จำนวน 120 ยูนิต โดยแบ่งการเตรียมเกล็ดเลือดเข้มข้น วิธี PRP-PC และ BC-PC อย่างละ 60 ยูนิต ทำการปั่นแยกเกล็ดเลือดเข้มข้นหลังจากเจาะเก็บภายในเวลา 4 ชั่วโมง[8] การศึกษาครั้งนี้ได้ผ่านความเห็นชอบจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ สำนักงานคณะกรรมการจริยธรรมของคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ตามหมายเลขสำคัญโครงการ REC 59-031-19-2

2. เครื่องมือและวัสดุ

2.1 เครื่องปั่นเหวี่ยงชนิดควบคุมอุณหภูมิ (Heraeus Cryofuge 6000 i; Thermo Fisher Scientific,Germany)

2.2 ตู้เขย่าเกล็ดเลือด (Helmer; Helmer inc; USA)

2.3 เครื่องวัด pH (Precisa; Precisa instrument AG, Switzerland)

2.4 UV Spectrophotometer (Gene Quant 3130; Fisher scientific, UK)

2.5 เครื่องนับเม็ดเลือดอัตโนมัติ (Cell-DYN Ruby; Abbott Diagnostics, USA)

2.6 เครื่องแยกส่วนประกอบเลือด แบบกึ่งอัตโนมัติ T-ACE II+ (Terumo; Belgium)

2.7 อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Memmert, USA)

2.8 ถุงเจาะเก็บเลือดแบบ triple bag (TERUFLEX, Terumo, Japan) ขนาด 450 มิลลิลิตร สำหรับเตรียมเกล็ดเลือดเข้มข้นวิธี PRP-PC ประกอบด้วย ถุงสำหรับเจาะเลือดผู้บริจาค (primary bag) ซึ่งมีสารกันเลือดแข็ง citrate phosphate dextrose and alanine 1 (CPDA-1) ปริมาณ 63 มิลลิลิตร บรรจุอยู่ และถุงพ่วง (satellite bag) อีก 2 ถุง สำหรับใส่ส่วนประกอบของเลือดที่แยกได้

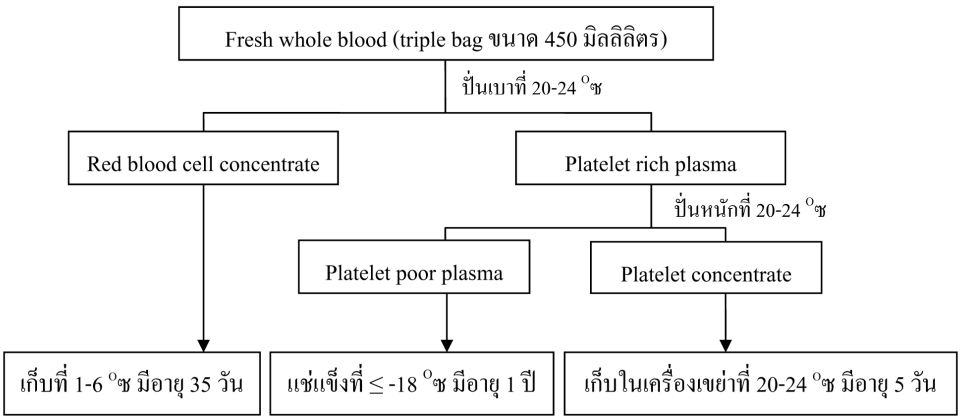
2.9 ถุงเจาะเก็บเลือดแบบ quadruple AS-5 (TERUFLEX, Terumo, Japan) ขนาด 450 มิลลิลิตร สำหรับเตรียมเกล็ดเลือดเข้มข้นวิธี BC-PC ประกอบด้วย ถุงสำหรับเจาะเลือดผู้บริจาค (primary bag) ซึ่งมีสารกันเลือดแข็ง citrate phosphate dextrose (CPD) ปริมาณ 63 มิลลิลิตร และถุงพ่วง (satellite bag) อีก 3 ถุง ได้แก่ ถุงที่บรรจุน้ำยา additive solution AS-5 สำหรับเติมในถุง primary bag หลังจากปั่นแยกได้เป็น packed red cell ส่วนถุงที่เหลือสำหรับใส่ส่วนประกอบเลือดที่แยกได้

3. วิธีการเตรียมเกล็ดเลือดเข้มข้น

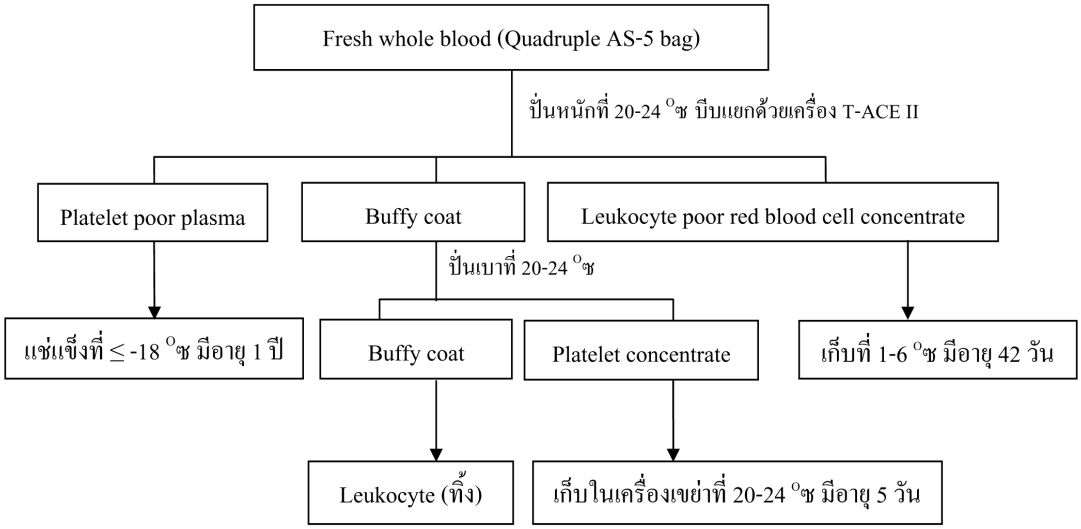
3.1 วิธี PRP-PC เตรียมโดยใช้ fresh whole blood ที่เจาะเก็บในถุงเลือดชนิด triple bag เมื่อเจาะเก็บแล้ววางไว้ที่อุณหภูมิ 20-24 °ซ และทำการปั่นแยกภายใน 4 ชั่วโมง

ซึ่งก่อนปั่น ต้องเขย่าเลือดกลับไปมา เพื่อให้เลือดเป็นเนื้อเดียวกัน นำถุง triple bag มาปั่นเบา (1,993 g 2,450 รอบต่อนาที) นาน 5 นาที ที่อุณหภูมิ 22 °ซ ด้วย เครื่องปั่นเหวี่ยงชนิดควบคุมอุณภูมิ จะได้ส่วนประกอบเลือดเป็น platelet-rich plasma และ packed red cell แยก platelet-rich plasma มาใส่ในถุงพ่วงที่ 1 ส่วนถุง packed red cell แยกเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 1-6 °ซ มีอายุ 35 วัน จากนั้นนำถุง platelet-rich plasma มาปั่นหนัก (3,131 g 3,850 รอบต่อนาที) นาน 5 นาที ที่อุณหภูมิ 20-24 °ซ ส่วนประกอบของเลือดที่ได้จะเป็นเกล็ดเลือดเข้มข้นและ platelet-poor plasma ตามลำดับ แยก platelet-poor plasma นำไปเก็บที่อุณหภูมิ ต่ำกว่า -18 °ซ เป็น fresh frozen plasma มีอายุ 1 ปี สำหรับถุงเกล็ดเลือดเข้มข้นจะต้องวางไว้ให้นิ่งที่อุณหภูมิห้อง 20-24 °ซ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงจะนำไปวางในเครื่องเขย่าเกล็ดเลือด ที่มีการควบคุมอุณหภูมิ 20-24 °ซ ซึ่งเกล็ดเลือดเข้มข้นจะมีอายุ 5 วัน (แผนภาพที่ 1)

3.2 วิธี BC-PC เตรียมโดยใช้ fresh whole blood ที่เจาะเก็บในถุงเลือดชนิด quadruple AS-5 ก่อนปั่นทำเช่นเดียวกับวิธี PRP-PC ปั่นหนัก (3,416 g 4,200 รอบต่อนาที) นาน 7 นาที ที่อุณหภูมิ 20-24 °ซ ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงชนิดควบคุมอุณหภูมิส่วนประกอบของเลือดที่ได้จะแยกเป็น 3 ส่วนคือ ส่วนบนสุด (top layer) จะเป็น platelet poor supernatant plasma (150-200 มิลลิลิตร) ส่วนกลาง (middle layer) จะเป็นส่วนของ buffy coat ซึ่งจะประกอบไปด้วย เกล็ดเลือด เม็ดเลือดขาว และเม็ดเลือดแดง และส่วนล่างสุด (bottom layer) จะเป็นส่วนของเม็ดเลือดแดงที่มีเม็ดเลือดขาวอยู่น้อย ที่เรียกว่า leukocyte poor red cell concentrate นำถุงเลือดที่ได้จากการปั่นหนัก มาเข้าเครื่องแยกส่วนประกอบเลือดแบบกึ่งอัตโนมัติ T-ACE II+ โดย platelet poor supernatant plasma ซึ่งเป็นส่วนบนสุดจะถูกแยกเก็บในถุงพ่วงสำหรับเก็บพลาสมา ส่วน buffy coat ซึ่งอยู่ส่วนกลางจะถูกแยกมาใส่ในถุงพ่วง mini bag พลาสมาจะถูกแบ่งมาเติมในถุงนี้ประมาณ 20-30 มิลลิลิตร ส่วนชั้นล่างสุดที่เป็น leukocyte poor red cell concentrate จะมีการเติมน้ำยา additive solution AS-5 จากถุงพ่วงที่บรรจุน้ำยาลงไปประมาณ 100 มิลลิลิตร ซึ่งจะรักษาสภาพให้เม็ดเลือดแดงมีอายุ 42 วัน ที่อุณหภูมิ 1-6 °ซ ส่วน platelet poor plasma ที่ได้นำไปเก็บที่อุณหภูมิต่ำกว่า -18 °ซ เป็น fresh frozen plasma สำหรับถุง buffy coat และถุงเปล่าที่เคยบรรจุ น้ำยา additive solution AS-5 นำมาปั่นเบา (381 g 1,000 รอบต่อนาที) นาน 5 นาที ที่อุณหภูมิ 22-24 °ซ ส่วนประกอบของเลือดที่ได้ จะแยกเป็นสองส่วน ส่วนบนจะเป็นเกล็ดเลือดเข้มข้น ส่วนล่างเป็นเม็ดเลือดขาวซึ่งจะถูกทิ้งไป สำหรับเกล็ดเลือดเข้มข้นที่ได้จะถูกแยกมาใส่ในถุงเปล่า ซึ่งจะต้องวางไว้ให้นิ่งที่อุณหภูมิห้อง 22-24 °ซ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึง จะนำไปวางไว้ในเครื่องเขย่าเกล็ดเลือดที่มีการควบคุมอุณหภูมิ 22-24 °ซ ซึ่งเกล็ดเลือดเข้มข้นจะมีอายุ 5 วัน (แผนภาพที่ 2)



แผนภาพที่ 1 แสดงขั้นตอนการเตรียมเกล็ดเลือดเข้มข้นวิธี platelet rich plasma-platelet concentrate (PRP-PC)



แผนภาพที่ 2 แสดงขั้นตอนการเตรียมเกล็ดเลือดเข้มข้นวิธี buffy coat poor-platelet concentrate (BC-PC)

4. การทดสอบคุณภาพเกล็ดเลือด

4.1 ปริมาตรเกล็ดเลือด: ชั่งน้ำหนักของถุงที่ใส่เกล็ดเลือดก่อนและหลังการแยกเกล็ดเลือด แล้วคำนวณปริมาตรของเกล็ดเลือดเข้มข้นเป็นมิลลิลิตร ดังนี้

$$\text{ปริมาตรของเกล็ดเลือดเข้มข้นเป็นมิลลิลิตร} = \frac{\text{น้ำหนักของเกล็ดเลือดเข้มข้น} - \text{น้ำหนักของถุง}}{\text{ความถ่วงจำเพาะ}}$$

ความถ่วงจำเพาะของ PRP-PC=1.03[2]

ความถ่วงจำเพาะของ BC-PC=1.06[3]

4.2 การตรวจนับจำนวนเกล็ดเลือดและเม็ดเลือดขาว: ตรวจนับจำนวนเกล็ดเลือดและเม็ดเลือดขาวจากเกล็ดเลือดเข้มข้นที่เตรียมได้จากทั้งสองวิธี ซึ่งไม่ได้เป็นชนิดเม็ดเลือดขาวต่ำ (leukocyte reduced) ด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ (Cell-DYN Ruby; Abbott Diagnostics, USA) ซึ่งมีช่วง linearity ของการตรวจนับเกล็ดเลือด 0.00-3,000x10^3 ต่อไมโครลิตร เม็ดเลือดขาว 0.02-246x10^3 ต่อไมโครลิตร โดยเจือจางตัวอย่างก่อนการตรวจวัดด้วยตัวทำละลาย (diluent) 1:26 หากผลการตรวจนับไม่อยู่ในช่วง linearity ของเครื่องจะทำการตรวจนับ residual ของเม็ดเลือดขาวตามมาตรฐาน AABB โดยใช้ในการนับเม็ดเลือดขาวในส่วนประกอบของเลือดชนิด leukocyte reduced คือ ย้อมตัวอย่างด้วยสี Turk's solution เข้มข้นร้อยละ 0.01 และนับด้วย Nageotte counting chamber จากนั้นจึงคำนวณดังนี้

$$\text{จำนวนเกล็ดเลือดต่อยูนิต} = \frac{\text{จำนวนเกล็ดเลือด} \times \text{ปริมาตรเป็นมิลลิลิตร}}{1{,}000}$$

$$\text{จำนวนเม็ดเลือดขาวต่อยูนิต} = \frac{\text{จำนวนเม็ดเลือดขาว} \times \text{ปริมาตรเป็นมิลลิลิตร}}{1{,}000}$$

4.3 วัดการเปลี่ยนแปลง pH: โดยใช้เครื่อง pH meter

4.4 การตรวจ swirling phenomenon: โดยแขวนถุงเกล็ดเลือดเข้าหาแหล่งกำเนิดแสง บีบบริเวณปลายถุงเกล็ดเลือดเบาๆ (gently squeeze) สังเกตการไหลเวียนของเกล็ดเลือดในถุงโดยการอ่านผล และให้ระดับคะแนน การมีชีวิตอยู่ของเกล็ดเลือด ดังนี้ 0=พลาสมาในถุงขุ่นไม่พบการไหลเวียนของเกล็ดเลือด 1+=เกล็ดเลือดบางส่วนไหลเวียน 2+=เกล็ดเลือดไหลเวียนทั่วถุง 3+=พบการไหลเวียนของเกล็ดเลือดในถุงเป็น streaming appearance อย่างละเอียดทั่วทั้งถุง

4.5 การตรวจ hypotonic shock response: เจือจางเกล็ดเลือดเข้มข้น 1:4 ใน platelet-poor plasma ที่ละลายจาก fresh-frozen plasma ซึ่งจะได้ความเข้มข้นของเกล็ดเลือดประมาณ 300,000 ต่อไมโครลิตร นำเกล็ดเลือดที่เจือจางแล้ว 1 มิลลิลิตร ใส่ในคิวเวท เติมน้ำปราศจากไอออน (deionized water) 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปวัดหาค่าการดูดกลืนแสงทันทีโดยใช้เครื่อง spectrophotometer ซึ่งสามารถวัดการดูดกลืนแสงแบบต่อเนื่อง (kinetic) และมีระบบ integral chart recorder ที่คลื่นแสง 420 นาโนเมตร โดยวัดทุก 30 วินาที เป็นเวลา 5 นาที ความแตกต่างของค่าการดูดกลืนแสงที่ 2 นาที หลังจากค่าการดูดกลืนแสงต่ำสุด (minimal absorbance) คือ hypotonic shock response

4.6 วิเคราะห์ข้อมูลความแตกต่าง แต่ละพารามิเตอร์ด้วยโปรแกรม SPSS version 16.0 สถิติ indepent t-test ใช้ในการเปรียบเทียบระหว่างวิธี PRP-PC กับวิธี BC-PC ส่วนสถิติ paired Student's t-tests ใช้ในการเปรียบเทียบระหว่างอายุการเก็บที่ 1 และ 5 วัน

ผลการศึกษา

คุณภาพของเกล็ดเลือดเข้มข้น (platelet concentrate; PC) ที่เตรียมจาก whole blood ของผู้บริจาคโลหิตจำนวน 120 ยูนิต โดยวิธี PRP-PC และ BC-PC อย่างละ 60 ยูนิต ประเมินคุณภาพตามมาตรฐานที่ได้กำหนด โดยพิจารณาจากปริมาตรของเกล็ดเลือดเข้มข้น จำนวนเกล็ดเลือด จำนวนเม็ดเลือดขาวที่ปนเปื้อน ค่า pH การทดสอบ swirling phenomenon โดยการสังเกตการไหลวนของเกล็ดเลือด และตรวจ hypotonic shock response โดยคำนวณค่าการดูดกลืนแสงได้ผลดังต่อไปนี้

1. ปริมาตรของเกล็ดเลือดเข้มข้น: จากการคำนวณ พบว่า PRP-PC และ BC-PC ที่เตรียมได้ มีปริมาตรเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน เป็น 59.770±7.140 มิลลิลิตร และ 63.730±6.010 มิลลิลิตร ตามลำดับ และพบว่าทั้ง PRP-PC และ BC-PC มีค่าตามเกณฑ์มาตรฐาน (ตารางที่ 1) อยู่ในช่วง 40-70 มิลลิลิตร ร้อยละ 100 (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 แสดงปริมาตรของเกล็ดเลือดเข้มข้น วิธี PRP-PC และ BC-PC

เกล็ดเลือดเข้มข้น (วิธี)	ปริมาตร (มิลลิลิตร) ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
PRP-PC	59.770±7.140
BC-PC	63.730±6.010

2. จำนวนเกล็ดเลือดต่อยูนิต: จากการตรวจนับเกล็ดเลือดและคำนวณค่าเกล็ดเลือดต่อยูนิต พบว่า PRP-PC และ BC-PC ที่อายุ 1 วัน มีค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน เป็น $6.820\pm1.480\times10^{10}$ ต่อยูนิต และ $7.010\pm1.300\times10^{10}$ ต่อยูนิต และจำนวนเกล็ดวิธี PRP-PC และ PC-BC ที่อายุ 5 วัน มีค่า $6.620\pm1.160\times10^{10}$ ต่อยูนิต และ $6.720\pm1.150\times10^{10}$ ต่อยูนิต (ตารางที่ 3) คิดเป็นร้อยละ 96.67 ทั้งสองวิธี และเมื่อเปรียบเทียบจำนวนเกล็ดเลือดต่อยูนิต PRP-PC ที่อายุ 1 และ 5 วัน โดยใช้ paired Student's t-tests พบว่าค่า p-value>0.050 ส่วนจำนวนเกล็ดเลือดต่อยูนิต วิธี BC-PC ที่อายุ 1 และ 5 วัน ค่า p-value<0.050 นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบจำนวนเกล็ดเลือดต่อยูนิต วิธี PRP-PC กับ BC-PC ที่อายุ 1 วัน พบว่าค่า p-value>0.050 และ PRP-PC กับ BC-PC ที่อายุ 5 วัน มีค่า p-value>0.050 เช่นกัน จำนวนเกล็ดเลือดทั้งวิธี PRP-PC และ BC-PC มีค่าตามเกณฑ์มาตรฐาน ($\geq5.5\times10^{10}$ ต่อยูนิต)

3. จำนวนเม็ดเลือดขาวที่ปนเปื้อน: จากการตรวจนับเม็ดเลือดขาว และคำนวณค่าเม็ดเลือดขาวที่ปนเปื้อนในแต่ละยูนิต พบว่า PRP-PC ที่มีอายุ 1 และ 5 วัน มีค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน เป็น $0.030\pm0.0170\times10^{10}$ ต่อยูนิต และ $0.033\pm0.013\times10^{10}$ ต่อยูนิต สำหรับ BC-PC ที่อายุ 1 และ 5 วัน มีค่า $0.026\pm0.019\times10^{10}$ ต่อยูนิต และ $0.027\pm0.019\times10^{10}$ ต่อยูนิต ซึ่งทั้ง PRP-PC และ BC-PC มีจำนวนเม็ดเลือดขาวตามเกณฑ์มาตรฐานทุกยูนิต ($<0.2\times10^{10}$) ร้อยละ 100 (ตารางที่ 3) และเมื่อเปรียบเทียบเม็ดเลือดขาวที่ปนเปื้อนในแต่ละยูนิตทั้งวิธี PRP-PC และ BC-PC ที่อายุ 1 และ 5 วัน โดยใช้ paired Student's t-tests พบว่ามีค่า p-value>0.050 นอกจากนี้

ตารางที่ 3 แสดงการเปรียบเทียบจำนวนเกล็ดเลือด จำนวนเม็ดเลือดขาวปนเปื้อน ค่า pH และ Hypotonic shock response (ค่า OD) ของเกล็ดเลือดเข้มข้น ระหว่างวิธี PRP-PC และ BC-PC ที่อายุ 1 และ 5 วัน

พารามิเตอร์	เกล็ดเลือดเข้มข้น (วิธี)	อายุของเกล็ดเลือดเข้มข้น		การเปรียบเทียบ	
		อายุ 1 วัน	อายุ 5 วัน	เปรียบเทียบระหว่างอายุการเก็บ (p-value)	เปรียบเทียบระหว่างวิธีการเตรียม (p-value)
จำนวนเกล็ดเลือดต่อยูนิต ($x10^{10}$)	PRP-PC	6.820±1.480	6.620±1.160	>0.050	>0.050
ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	BC-PC	7.010±1.300	6.720±1.150	<0.050	
จำนวนเม็ดเลือดขาวปนเปื้อนต่อยูนิต ($x10^{10}$)	PRP-PC	0.030±0.017	0.033±0.013	>0.050	<0.050
ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	BC-PC	0.026±0.019	0.027±0.019	>0.050	
ค่า pH	PRP-PC	7.430±0.330	7.590±0.350	<0.050	<0.050
ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	BC-PC	7.750±0.160	7.620±0.280	<0.050	
Hypotonic shock response (ค่า OD)	PRP-PC	0.144±0.016	0.173±0.019	<0.050	>0.050
ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	BC-PC	0.147±0.017	0.178±0.029	<0.050	

เมื่อเปรียบเทียบเม็ดเลือดขาวที่ปนเปื้อนในแต่ละยูนิตของเกล็ดเลือดเข้มข้นที่อายุ 1 วัน ระหว่าง PRP-PC กับ BC-PC พบว่ามีค่า p-value<0.050 ส่วนเม็ดเลือดขาวที่ปนเปื้อนในแต่ละยูนิตของเกล็ดเลือดเข้มข้นที่อายุ 5 วัน มีค่า p-value> 0.050

4. การวัด pH: พบว่า PRP-PC ที่มีอายุ 1 และ 5 วัน มีค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเป็น 7.430±0.330 และ 7.590±0.350 สำหรับ BC-PC ที่อายุ 1 และ 5 วัน มีค่า 7.750± 0.160 และ 7.620±0.280 และพบว่า PRP-PC และ BC-PC ที่อายุ 1 และ 5 วัน มีค่า pH ตามมาตรฐานทุกยูนิต (≥6.2) (ตารางที่ 3) และเมื่อเปรียบเทียบ pH ของ PRP-PC และ BC-PC ที่อายุ 1 และ 5 วัน โดยใช้ paired Student's t tests พบว่ามีค่า p-value<0.050 นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบ pH ที่อายุ 1 วัน ระหว่าง PRP-PC กับ BC-PC พบว่ามีค่า p-value<0.050 ส่วน pH ที่มีอายุ 5 วันมีค่า p-value>0.050

5. การทดสอบ swirling phenomenon score ของเกล็ดเลือดเข้มข้น: พบว่า เกล็ดเลือดเข้มข้นวิธี PRP-PC ที่อายุ 1 วัน มี swirling score 3+ จำนวน 58 ยูนิต คิดเป็นร้อยละ 96.67 มีเพียง 2 ยูนิตเท่านั้นที่มี swirling score 2+ คิดเป็นร้อยละ 3.33 สำหรับ PRP-PC ที่อายุ 5 วัน มี swirling score 3+ จำนวน 10 ยูนิต คิดเป็นร้อยละ 16.67 และมี swirling score 2+ จำนวน 50 ยูนิต คิดเป็นร้อยละ 83.33 ซึ่งได้ตามเกณฑ์มาตรฐานทุก ยูนิต คือมี swirling score 2+ ถึง 3+ คิดเป็นร้อยละ 100 สำหรับ BC-PC ที่อายุ 1 วัน มี swirling score 3+ จำนวน 60 ยูนิต คิดเป็นร้อยละ 100 และไม่มี swirling score 2+ สำหรับ BC-PC ที่อายุ 5 วัน มี swirling score 3+ จำนวน 56 ยูนิต คิดเป็นร้อยละ 93.33 และมี swirling score 2+ จำนวน 4 unit คิดเป็นร้อยละ 6.67 ซึ่งได้ตามเกณฑ์มาตรฐานทุกยูนิต คือ มี swirling score 2+ ถึง 3+ คิดเป็นร้อยละ 100 (ตารางที่ 4)

6. การตรวจ hypotonic shock response: จากการวัด hypotonic shock response และคำนวณค่า การดูดกลืนแสง พบว่า PRP-PC ที่อายุ 1 และ 5 วัน มีค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน เป็น 0.144±0.016 และ 0.173±0.019 ตามลำดับ สำหรับ BC-PC ที่อายุ 1 และ 5 วัน มีค่า 0.147±0.017 และ

ตารางที่ 4 แสดง swirling phenomenon score ของเกล็ดเลือดเข้มข้นวิธี PRP-PC และ BC-PC ที่อายุ 1 และ 5 วัน

เกล็ดเลือดเข้มข้น (วิธี)	Swirling phenomenon score			
	เกล็ดเลือดเข้มข้น score 3+ (ร้อยละ)		เกล็ดเลือดเข้มข้น score 2+ (ร้อยละ)	
	อายุ 1 วัน	อายุ 5 วัน	อายุ 1 วัน	อายุ 5 วัน
PRP-PC	96.67	16.67	3.33	83.33
BC-PC	100.00	6.67	0.00	93.33

0.178±0.029 ตามลำดับ ทั้ง PRP-PC และ BC-PC ที่อายุ 1 วัน มีค่าตามเกณฑ์มาตรฐานทุกยูนิต (0-0.2) ร้อยละ 100 สำหรับ PRP-PC และ BC-PC ที่อายุ 5 วัน มีค่าตามเกณฑ์มาตรฐาน 58 ยูนิต (ร้อยละ 96.67) และ 46 ยูนิต (ร้อยละ 76.67) ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบ hypotonic shock response ของ PRP-PC และ BC-PC ที่อายุ 1 และ 5 วัน โดยใช้ paired Student's t-tests พบว่ามีค่า p-value<0.050 นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบ hypotonic shock response ของเกล็ดเลือดเข้มข้นที่มีอายุ 1 วัน ระหว่าง PRP-PC กับ BC-PC โดยใช้ independent t-test พบว่ามีค่า p-value>0.050 เช่นเดียวกันกับอายุ 5 วัน มีค่า p-value>0.050

วิจารณ์

ผู้ป่วยที่มีภาวะ thrombocytopenia บางราย มีความจำเป็นต้องได้รับเกล็ดเลือดจากผู้บริจาคโลหิต เพื่อทำหน้าที่ทดแทนเทดเกล็ดเลือดเดิม โดยเกล็ดเลือดที่ได้จากการบริจาคคือ เกล็ดเลือดเข้มข้น สามารถเปลี่ยนแปลงได้ขึ้นกับผลกระทบจากการจัดเก็บ ซึ่งส่งผลทำให้การทำงานของเกล็ดเลือดลดลง ประกอบกับผลกระทบจากสภาวะภายในร่างกายของแต่ละคนสามารถส่งผลต่อประสิทธิภาพการได้รับเกล็ดเลือด (platelet transfusion) เช่นทำให้เกิด platelet recovery และ survival ของเกล็ดเลือดต่ำ พบว่าผลกระทบดังกล่าวมักเกิดจากกระบวนการจัดเก็บเกล็ดเลือด (platelet storage)[1-4] โดยระหว่างการเก็บเกล็ดเลือดจะทำให้การทำงานของเกล็ดเลือดและความมีชีวิตอยู่ของเกล็ดเลือดลดลง โดยปัจจัยที่ทำให้เกล็ดเลือดเปลี่ยนแปลง ได้แก่ เกล็ดเลือดถูกกระตุ้น metabolism ที่เปลี่ยนแปลงไป และความเก่าของเกล็ดเลือด ซึ่งความเก่าของเกล็ดเลือดจะมีผลน้อยที่สุด ในการเตรียมเกล็ดเลือด ควรมีการเตรียมแบบทะนุถนอม และควรให้กับผู้ป่วยทันทีหลังเตรียม (ภายใน 24-48 ชั่วโมง หลังบริจาค) จะทำให้ recovery สูง และ survival ดี ซึ่งจะทำให้เกล็ดเลือด ทำหน้าที่ได้ดี และการเก็บเกล็ดเลือดควรเก็บไว้ไม่เกิน 5 วัน[5-6,8]

ในการศึกษาปริมาตรของเกล็ดเลือดเข้มข้นที่เตรียมได้ จากทั้ง 2 วิธี ได้คุณภาพตามมาตรฐานทุกยูนิต ทำให้มั่นใจได้ว่าเมื่อผู้ป่วยได้รับเกล็ดเลือดเข้มข้นในขนาดที่เหมาะสมแล้วจะไม่เกิด volume overload ต่อผู้ป่วย และได้ผลดีกว่าการเก็บไว้ในพลาสมาปริมาณน้อยๆ จากการศึกษาของ Murphy และคณะ[8] เปรียบเทียบเกล็ดเลือดเข้มข้นที่เก็บไว้ในพลาสมา 30 และ 50 มิลลิลิตร เป็นเวลา 5 วัน พบว่าเกล็ดเลือดเข้มข้นที่เก็บในพลาสมา 50 มิลลิลิตร จะมีค่า post transfusion recovery ดีกว่าเกล็ดเลือดเข้มข้นที่เก็บในพลาสมา 30 มิลลิลิตร และจากการวิเคราะห์จำนวนเกล็ดเลือดเข้มข้นต่อยูนิต (ตารางที่ 3) พบว่า PRP-PC และ BC-PC ที่อายุ 1 และ 5 วัน มีค่า $\geq 5.5 \times 10^{10}$ ต่อยูนิต คิดเป็นร้อยละ 96.67 สำหรับยูนิตที่ไม่ได้มาตรฐาน อาจเกิดจากกระบวนการเก็บตัวอย่างเพื่อนำไปตรวจนับจำนวนเกล็ดเลือด หรืออาจมีการ clot ในระหว่างเจาะเก็บ ทำให้ค่าการตรวจนับจำนวนเกล็ดเลือดผิดพลาดไปได้ อย่างไรก็ตามจำนวนเกล็ดเลือดต่อยูนิต ยังคงได้ตามมาตรฐานคือ $\geq 5.5 \times 10^{10}$ ร้อยละ 90 ของจำนวนที่เตรียม

นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบจำนวนเกล็ดเลือดเข้มข้นระหว่างวิธี PRC-PC กับ BC-PC พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p-value>0.050) ถึงแม้ว่าจากการศึกษาของ Fijnheer และคณะ[10] พบว่า PRP-PC จะมีจำนวนเกล็ดเลือดสูงกว่า BC-PC แต่จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าวิธี BC-PC มีจำนวนเกล็ดเลือดมากกว่า PRP-PC แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ และจากการวิเคราะห์ผล จำนวนเม็ดเลือดขาวที่มีการปนเปื้อน พบว่า PRP-PC และ BC-PC ที่อายุ 1 และ 5 วัน มีจำนวนเม็ดเลือดขาวตามเกณฑ์มาตรฐานทุก ยูนิต คือ มีค่าไม่เกิน $0.2x10^{10}$ และมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้เหมือนกับการศึกษาของ Fijnheer และคณะ[9] ซึ่งพบว่า PRP-PC จะมีจำนวนเม็ดเลือดขาวมากกว่า BC-PC ถึงแม้ว่าในการศึกษานี้จะพบว่า BC-PC มีจำนวนเม็ดเลือดขาวปนเปื้อนน้อยกว่า PRP-PC แต่มีขั้นตอนการเตรียมที่ยุ่งยากและต้องใช้เครื่องมือพิเศษในการแยกชั้น buffy coat นอกจากนี้ยังต้องการเวลาในการเตรียมนานกว่า เพราะในขั้นตอนแรกเป็นการปั่นด้วยแรงปั่นหนัก ทำให้เกล็ดเลือดกระจายตัว buffy coat ไม่ดี จึงต้องวางไว้นิ่งๆ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จึงจะนำไปปั่นเบาในขั้นต่อไปได้ ในขณะที่ PRP-PC เริ่มจากการปั่นด้วยแรงปั่นเบาก่อน เกล็ดเลือดจึงแขวนลอยอยู่ใน platelet rich plasma ไม่ได้อัดแน่นกัน จึงสามารถนำไปปั่นในขั้นตอนต่อไปได้โดยไม่ต้องรอให้เกล็ดเลือดคลายตัวจาก pellet และทั้งนี้ไม่จำเป็นต้องใช้เครื่องมือพิเศษในการบีบแยกส่วนประกอบของเลือด จึงเป็นการประหยัดค่าใช้จ่ายได้มากกว่า เหมาะสมกับโรงพยาบาลขนาดเล็ก[11,12]

อย่างไรก็ตามในการเตรียม BC-PC สามารถนำ buffy coat ของผู้บริจาคโลหิต 4 คน มารวมกัน (pool) แล้วค่อยปั่นแยกเกล็ดเลือดได้ ซึ่งจะทำให้ได้ yield ของเกล็ดเลือด ≥$2.4x10^{11}$ ต่อ pool[5] ซึ่งสามารถให้ผู้ป่วยได้ 1 dose เป็นการลดการสัมผัสต่อผู้บริจาคหลายคน และลดความเสี่ยงต่อการติดเชื้อจากผู้บริจาคโลหิตได้อีกด้วย ซึ่งการเตรียมแบบ PRP-PC ไม่ได้ถูกออกแบบมาให้ pool ได้จึงเป็นข้อเสียเปรียบอีกประการหนึ่งของวิธีนี้ นอกจากนี้ในกระบวนการเตรียมเกล็ดเลือดเข้มข้นทำให้เกิดการกระตุ้นเกล็ดเลือดขึ้นได้ เมื่อเกล็ดเลือดถูกกระตุ้นจะปลดปล่อยสารจำพวกไซโตไคน์ (cytokine) จาก alpha granule โดยเฉพาะอย่างยิ่ง beta thromboglobulin ซึ่งใช้เป็น marker ที่ใช้ในการติดตามการถูกกระตุ้นของเกล็ดเลือด จะพบว่าเกล็ดเลือดที่เตรียมมาจากกระบวนการที่เกิด pellet จะมีปริมาณของ beta thromboglobulin มากกว่ากระบวนการเตรียมที่ไม่เกิด pellet ของเกล็ดเลือด[12] ซึ่ง PRP-PC เป็นกระบวนการเตรียมที่ทำให้เกล็ดเลือดเกิด pellete จึงอาจทำให้เกิดการกระตุ้นของเกล็ดเลือดได้มากกว่า BC-PC จะเห็นได้ว่าเกล็ดเลือดเข้มข้นที่อายุ 5 วัน จากการเตรียมทั้งสองวิธี มีค่าความเป็นกรดเพิ่มมากขึ้น มีการเคลื่อนที่ไหลเวียนในถุงบรรจุได้ลดลง และทนต่อ hypotonic solutionได้ลดลง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับอายุ 1 วัน โดยที่พบว่า แม้การวัด pH จาก PRP-PC และ BC-PC ที่อายุ 1 และ 5 วัน มีค่า pH ตามเกณฑ์มาตรฐานทุกยูนิต คือ มีค่า >6.2 ก็ตาม แต่จะเห็นว่าเกล็ดเลือดเข้มข้นที่อายุ 1 วัน จะมีค่า pH สูงกว่า 5 วัน ทั้งนี้เป็นเพราะว่าเมตาบอลิสมของกลูโคสจะได้กรดแลคติก bicarbonate ซึ่งจะจับกับ hydrogen เปลี่ยนเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำ จึงทำให้เกล็ดเลือดอายุ 1 วัน มี bicarbonate อย่างเพียงพอทำให้สามารถรักษา pH>6.8 แต่เกล็ดเลือดอายุ 5 วัน มีปริมาณกรดแลคติกจากปฏิกิริยา anaerobic glycolysis เพิ่มขึ้นมาก ทำให้ bicarbonate รักษาสมดุลได้น้อยลง ส่งผลให้ pH ของเกล็ดเลือดลดลง[9]

ส่วนการอ่านระดับคะแนน swirling phenomenon เป็นการตรวจรูปร่าง discoid ของเกล็ดเลือดทางอ้อม ถ้าเกล็ดเลือดยังคงรูปร่างดีจะมีการเคลื่อนที่ได้ดี โดยพบว่า PRP-PC และ BC-PC ที่อายุ 1 และ 5 วัน ทุกยูนิตมี swirling phenomenon score ตั้งแต่ 2+ ขึ้นไป แสดงว่าเกล็ดเลือดยังคงรูปร่าง discoid ซึ่งจะทำให้มีการไหลเวียนในถุงเป็น streaming appearance และมีความสัมพันธ์กับ in vivo viability ของเกล็ดเลือด โดยปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อ swirling phenomenon ของเกล็ดเลือด นอกจากความเร็วรอบในการปั่นที่แตกต่างกัน ระหว่าง PRP-PC และ BC-PC แล้ว ยังมีปัจจัยอื่นๆ อีกได้แก่ ปริมาณเกล็ดเลือดเริ่มต้นของผู้บริจาค อุณหภูมิ ระยะเวลาที่ใช้ในการเตรียม และการเก็บรักษา เป็นต้น[2,3,5] การตรวจดู swirling จึงมีความสำคัญในการควบคุมคุณภาพเกล็ดเลือดเข้มข้นด้วยตาเปล่า

การวิเคราะห์ผล hypotonic shock response โดยคำนวณค่าการดูดกลืนแสงพบว่า PRP-PC และ BC-PC ที่อายุ 1 วัน มีค่าตามเกณฑ์มาตรฐาน คือ มีค่า 0-0.2 ภาวะ osmotic shock ของเกล็ดเลือดมีความสัมพันธ์กับความอยู่รอดของเกล็ดเลือดศึกษาโดยดูการเปลี่ยนแปลงของค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงอย่างรวดเร็ว ซึ่งจะแปรผกผันกับความสมบูรณ์ของเกล็ดเลือดและเอนไซม์ในเกล็ดเลือด จะเห็นได้ว่าทั้ง PRP-PC และ BC-PC ที่อายุ 5 วัน จะมีค่าการดูดกลืนที่สูงขึ้น แสดงให้เห็นว่าความสามารถในการทนต่อ hypotonic solution (deionized water) น้อยลง เนื่องจากผนังของเกล็ดเลือดและเอนไซม์เริ่มลดลง ซึ่งถ้าดูรูปร่างของเกล็ดเลือดจะเห็นลักษณะ sphere shape หรือ balloon shape เพิ่มมากขึ้น แต่ในการศึกษาครั้งนี้ไม่ได้ศึกษารูปร่างของเกล็ดเลือด

สรุป

จากการศึกษาคุณภาพของเกล็ดเลือดเข้มข้นที่เตรียมจากหน่วยคลังเลือดและเวชศาสตร์บริการโลหิต โรงพยาบาลสงขลานครินทร์ จำนวน 120 ยูนิต แบ่งเป็นการเตรียมแบบ PRP-PC 60 ยูนิต และ BC-PC 60 ยูนิต พบว่าทั้ง PRP-PC และ BC-PC ที่อายุ 1 และ 5 วัน ได้คุณภาพตามมาตรฐาน AABB ทั้งปริมาตรปริมาณเกล็ดเลือดต่อยูนิต จำนวนเม็ดเลือดขาวที่ปนเปื้อน ค่า pH swirling phenomenon และ hypotonic shock response โดยที่ปริมาตรเกล็ดเลือด ทั้งวิธี PRP-PC และ BC-PC ได้ตามเกณฑ์มาตรฐาน (40-70 มิลลิลตร) ร้อยละ 100 จำนวนเกล็ดเลือดได้ตามเกณฑ์มาตรฐาน ($\geq 5.5 \times 10^{10}$ ต่อยูนิต) ร้อยละ 96.67 จำนวนเม็ดเลือดขาวที่ปนเปื้อนได้ตามเกณฑ์มาตรฐาน ($<0.2 \times 10^{10}$ ต่อยูนิต) ร้อยละ 100 ค่า pH ได้ตามเกณฑ์มาตรฐาน (≥6.2) ร้อยละ 100 ความเป็น discoid shape: swirling phenomenon score ได้ตามเกณฑ์มาตรฐาน (≥2+) ร้อยละ 100 และ hypotonic shock response ได้ตามเกณฑ์มาตรฐาน (≤0.2) ร้อยละ 96.67

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่หน่วยคลังเลือดและเวชศาสตร์บริการโลหิต โรงพยาบาลสงขลานครินทร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างในการทำวิจัย ขอบคุณ นายสรรพสิทธิ์ วงศ์ขอนแก่น และนายธวัชชัย บุญหาว นักศึกษาคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ช่วยในการทำวิจัย และขอบคุณคณะเทคนิคการแพทย์ที่ให้ความอนุเคราะห์เงินทุนและปัจจัยต่างๆ ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. Jain A, Marwaha N, Sharma RR, Kaur J, Thakur M, Dhawan HK. Serial changes in morphology and biochemical markers in platelet preparations with storage. J Transfusion Science 2015; 9: 41 – 7.
2. Kakaiya R. Whole blood collection and component processing at blood collection centers. In: Roback JD, Grossman BJ, Harris T, Hillyer CD, editors. Technical manual. 17th ed. Bethesda, MD: AABB; 2011: p.187 – 226.
3. Singh RP, Marwaha N, Malhotra P, Dash S. Quality assessment of platelet concentrates prepared by platelet rich plasma-platelet concentrate, buffy coat poor-platelet concentrate (BC-PC) and apheresis-PC. Asian J Transfusion Sci 2009; 3: 86 – 94.
4. Cardigan R, Turner C, Harrison P. Current methods of assessing platelet transfusion: relevance to transfusion medicine. J Vox Sang 2005; 88: 153 – 63.
5. National Blood Centre, Thai Redcross Society. Standards for blood banks and transfusion services. 4th ed. Bangkok: Thai Redcross Society; 2015.
6. National Blood Centre, Thai Redcross Society. The appropriate use of blood and blood components. Bangkok:Thai Redcross Society; 2011.
7. Wright PA. Donor selection and component preparation. In: Harmening DM, editor. Modern blood banking and transfusion practices. 3rd ed. Philadelphia: F.A. Davis; 1994.
8. Murphy S, Kahn RA, Holme S, Phillips GL, Sherwood W,

Davisson W, et al. Improved storage of platelets for transfusion in a new container. J Blood 1982; 60: 194 – 200.

9. Christy T. CELL-DYNE Ruby product details [homepage on the Internet]. Illinois (IL): Abbott diagnostics; 2016 [cited 2016 Sept 4]. Available from: http://www.captodayonline.com/productguides/instruments/hematology-analyzers-2015/abbott-hematology-cell-dyn-ruby-hematology-2015.html
10. Fijnheer R, Pietersz RNI, Korte DD, Roos D. Monitoring of platelet morphology during storage of platelet concentrates. J Transfusion 1989; 29: 36 – 40.
11. Panpisutchai Y. Blood component preparation. In: Klangsinsirikul P, editor. Immunohematology and blood banks. 2nd ed. Chiangmai: Thanabankarnpim; 2010; p.67 – 82.
12. Gulliksson H. Platelets from platelet-rich-plasma versus buffy-coat-derived platelets: what is the difference? Rev Bras Hematol Hemoter 2012; 34: 76 – 7.