นิพนธ์ต้นฉบับ

การใช้เกร็ดเลือดเข้มข้นจากผู้บริจาคโลหิต 1 คน เพื่อพัฒนาการรักษา

สืบสันต์ มหาสันทนะ* สุภาภรณ์ รตานนท์*
พัชรา มงคลสมัย** สุรีย์ ทีฆายุโก**
อรทัย กังวาลชิรธาดา*** ปรียาจิต เจริญวงศ์***

Mahasadana S, Ratananda S, Mongkolsamai P, Teekajugo S, Kangwanshiratada O, Charoenwongse P. Single donor platelets transfusion therapy. Chula Med J 1989 Apr; 33(4) : 269-277

The platelet yield from 60 single blood donors (age 17-55 yr.) prepared by continuous flow system of blood cell separator ranged between 2.3-6.5×10^{11} with the mean ± S.D. of 4.2 ± 1.6×10^{11} (7.7 ± 1.9 units). Single donor platelet transfusion with compatible HLA cross-match had been demonstrated successfully as a therapeutic and prophylactic blood component to stop/prevent bleeding in 2 clinical problems. The first one was chronic aplastic anemia with alloimmunization of platelets. The second was a group of patients with thrombocytopenia from inadequate bone marrow production and platelet dysfunction who underwent surgery. Without this blood component these 2 clinical conditions will be very difficult to manage appropriately.

Reprint request : Mahasadana S, Department of Internal of Medicine, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10500, Thailand.
Received for publication. March 2, 1989.

* ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
** ธนาคารเลือด โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย
*** ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การให้เลือดแบบครบส่วน (whole blood) เพื่อแก้ไขภาวะเลือดออกในผู้ป่วยที่มีเกร็ดเลือดต่ำ เริ่มครั้งแรกในปี ค.ศ. 1910[1] ต่อมาได้เปลี่ยนเป็นการให้เกร็ดเลือดเข้มข้น (Platelet concentrates หรือ PC) เมื่อปี ค.ศ. 1960 พบว่าได้ผลดีช่วยให้ผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลันที่เกิดภาวะเลือดออกร่วมด้วยมีอัตราตายลดลง[2,3] และมีการใช้เกร็ดเลือดเข้มข้นรักษาภาวะเลือดออกเนื่องจากเกร็ดเลือดต่ำในโรคไขกระดูกฝ่อ (aplastic anemia หรือ AA) เพิ่มมากขึ้น[4] ก่อให้เกิดปัญหาเกี่ยวกับการไม่ตอบสนองต่อเกร็ดเลือดเข้มข้นที่ได้รับ (refractoriness) ซึ่งส่วนใหญ่เป็นผลมาจาก alloimmunization ต่อ HLA antigen[5-7] และส่วนน้อยเป็นผลจาก non-immune platelet consumption[8,9] เมื่อมี alloimmunization ต่อเกร็ดเลือดเกิดขึ้นผู้ป่วยจะมีการไม่ตอบสนองต่อเกร็ดเลือดเข้มข้นที่ได้รับจาก random-donor นอกเสียจากการได้รับเกร็ดเลือดจาก compatible donor จึงมีผู้คิดเตรียม PC จากผู้บริจาคโลหิตเพียง 1 คน (single donor) โดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่า blood cell separator[10,11] ซึ่งเป็นผลทำให้มีการใช้ PC จากผู้บริจาคโลหิตเพียงคนเดียวพร้อมกับการทำ HLA cross-matching ก่อนการให้ PC และพบว่าสามารถแก้ไขปัญหาภาวะดังกล่าวได้อย่างมีประสิทธิภาพ[12-15]

จุดประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้คือ 1) หาค่าเฉลี่ยของจำนวนเกร็ดเลือดที่เตรียมได้จากผู้บริจาคโลหิต 1 คน โดยใช้เครื่อง blood cell separator (ทำการศึกษาตั้งแต่ กรกฎาคม พ.ศ. 2527 - ธันวาคม 2530) และ 2) การใช้ PC จาก single donor ในการรักษาโรคทางคลินิก (ทำการศึกษาตั้งแต่ กรกฎาคม 2527 - ธันวาคม 2531) ในผู้ป่วย 2 กลุ่มคือ

2.1 กลุ่มผู้ป่วยโรคไขกระดูกฝ่อที่มีภาวะเลือดออกผิดปกติ และมี alloimmunization ต่อ pool random - donor platelet transfusion.

2.2 กลุ่มผู้ป่วยที่เกร็ดเลือดต่ำจากไขกระดูกสร้างไม่เพียงพอ (aplastic anemia, acute leukemia) และกลุ่มโรค platelet dysfunction ซึ่งมีความจำเป็นต้องรับการผ่าตัด

วัสดุและวิธีการ

1. ผู้บริจาคโลหิตก่อนจะบริจาคได้รับการตรวจ Complete blood count (ตรวจจำนวนเม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว เกร็ดเลือด) หมู่เลือด ABO, Rh (ต้องเหมือนกับผู้ป่วย) และได้รับการตรวจระบบ HLA ซึ่งเข้ากันได้ (Compatibility) กับผู้ป่วย[16] ผู้บริจาคมีทั้งพี่น้องของผู้ป่วย (Relative) และผู้บริจาคอาสาสมัคร (unrelated donor) ซึ่งมีคุณสมบัติพร้อมที่จะเป็นผู้บริจาคโลหิต[17] จากนั้นเตรียม PC โดยใช้เครื่อง blood cell separator ชนิด continuous flow system แบบ CELLTRIFUGE II(R) ภายหลังเตรียมจาก PC ได้แล้วผู้บริจาคจะได้รับการตรวจ complete blood count อีกครั้ง

2. เครื่อง CELLTRIFUGE II(R) เป็นเครื่อง blood cell separator ซึ่งแยก blood components โดยใช้ระบบ differential centrifugation (celltrifuge II, Fenwal Laboratories, Illinois, USA) จากนั้นก็ collect เฉพาะ PC และคืน components ที่เหลือให้กับผู้บริจาค

3. การศึกษาระบบ Human Leucocyte Antigen (HLA)

3.1 ตรวจหา HLA lymphocytotoxic antibody จากน้ำเหลืองผู้ป่วย เพื่อพิสูจน์ว่าผู้ป่วยอยู่ในภาวะ alloimmunization ถ้าพบว่าเปอร์เซ็นต์ของ HLA antibody ที่ทำปฏิกิริยากับกลุ่ม Known cell ที่เรียกว่า Panel cell เกิน 5% ขึ้นไป[6]

ในการทดสอบครั้งนี้ได้จัดกลุ่ม Panel 20 คนซึ่งตรวจพบมีแอนติเจนที่พบบ่อย ๆ เช่น A2, A9, A11, Aw19, B12, B15, B40 เป็นต้น โดยวิธี lymphocytotoxicity assay[16] แล้วนำมาคำนวณค่าของ Cytotoxic antibody จากสูตรคือ

$$\% \text{ Cytotoxic antibody} = \frac{\text{จำนวนของ Panel cell ให้ผลบวกกับ serum ผู้ป่วย}}{\text{จำนวน Panel cell ทั้งหมด (20 คน)}} \times 100$$

นอกจากนี้ยังตรวจสอบดูความแรงของแอนติบอดีย์ (Strength of reaction) ควบคู่ไปด้วย อ่านผลของปฏิกิริยาเป็นเปอร์เซ็นต์ของเซลล์ที่ตายจาก lymphocytotoxic assay ดังนี้

ถ้าเซลล์ตาย น้อยกว่า 20% เป็นปฏิกิริยาลบ

ถ้าเซลล์ตาย มากกว่า 20% เป็นปฏิกิริยาบวก

3.2 HLA crossmatching โดยทำการศึกษาจากน้ำเหลืองผู้ป่วยทำปฏิกิริยากับเซลล์ lymphocyte ของ

ผู้บริจาค เพื่อคัดเลือกผู้เหมาะสมในการบริจาคโดยวิธี lymphocytotoxicity assay เช่นกัน[16]

4. เกณฑ์ (Criteria) ของการไม่ตอบสนองต่อ pool random-donor platelet transfusion คือเมื่อได้รับ PC ด้วยจำนวนที่ไม่ต่ำกว่า 1 ยูนิต/นน. 10 กก./ครั้ง แล้วเลือดไม่หยุดและการนับเกร็ดเลือด 1 ชั่วโมงภายหลังการให้ PC แล้ว มีจำนวนน้อยกว่า 10×10^9/l และตรวจทางห้องปฏิบัติการพบว่ามี HLA antibody โดยใช้วิธี lymphocytotoxic assay.

5. เมื่อเตรียม PC ได้แล้วให้ทันทีทางหลอดเลือดดำโดยผ่านเครื่องกรองสำหรับผู้ป่วยกลุ่มที่มี alloimmunization ต่อเกร็ดเลือด และจดบันทึกภาวะเลือดออกผิดปกติว่าหยุด หรือไม่ ภายหลังได้รับเกร็ดเลือดแล้วในเวลา ½-1 ชั่วโมง และคำนวณค่า CCI (corrected count increment)[18] ทุกรายโดยใช้สูตร

$$\text{CCI} = \frac{\text{(1hr) Post transfusion platelet no.} - \text{Pre transfusion platelet no.} \times \text{BSA}}{\text{Platelet yield } (10^{11})}$$

- Platelet count นับโดยใช้ phase contrast microscope[19]
- BSA = Body surface area in square meter[20]
- Platelet yield = จำนวนเกร็ดเลือดที่เตรียมได้จากผู้บริจาค 1 คน โดยใช้เครื่อง blood cell separator

ถ้า CCI $> 10\times10^9$/L แสดงว่าไม่มี strong cytotoxic antibody เป็นการพิสูจน์ว่าสามารถคัดเลือก donor ที่เหมาะสมให้แก่ผู้ป่วยได้[16]

6. สำหรับผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัดเมื่อเตรียม PC แล้วให้ทันที (หรือเก็บไว้ 4°C ไม่เกิน 12 ชั่วโมง) ทางหลอดเลือดดำโดยผ่านเครื่องกรองระหว่าง induction of anesthesia 1 ครั้ง หลังผ่าตัดเสร็จทันที 1 ครั้ง หลังผ่าตัดให้ทุก 24-72 ชั่วโมง (โดยใช้จำนวนเกร็ดเลือดเป็นหลัก ถ้าจำนวนเกร็ดเลือด $< 50\times10^9$/L จะให้ transfusion) จนกระทั่งแผลติด และได้รับการตัดไหม

การประเมินผล

1. การคำนวณ PC ที่เตรียมได้ตามวิธีการของ Buchholz[21] และหาค่าเฉลี่ยของ PC และหาความแตกต่างของ CBC ก่อนและหลังการเตรียม component ของ donor โดยใช้ paired T-test.

2. เกณฑ์ที่ตอบสนองดีต่อ PC transfusion คือ เลือดหยุดภายหลังให้ไม่เกิน 1 ชั่วโมง และ CCI มากกว่า 10×10^9/L

3. กรณีทำผ่าตัดเลือดไม่ออกมากกว่าคนปกติ หลังผ่าตัดควบคุมแผลผ่าตัดไม่ให้เลือดออกผิดปกติจนกระทั่งแผลติด และตัดไหมได้โดยปลอดภัย

ผล

1. ผลการศึกษาการเตรียม PC จาก single donor ในผู้บริจาค 60 ราย (Table 1) ระยะเวลาของ collection time มีค่าเฉลี่ย (mean ± S.D.) เท่ากับ 87.77 ± 11.97 นาที จำนวนเลือดที่ใช้ในการทำมีค่าเฉลี่ย (mean ± S.D.) เท่ากับ 3.79 ± 0.65 ลิตร ลักษณะของเกร็ดเลือดเข้มข้นที่เตรียมได้ (Table 2) มีดังนี้ จำนวนเกร็ดเลือดที่เตรียมได้จากผู้บริจาคโลหิต 1 คน มีค่าเฉลี่ย (mean ± S.D.) เท่ากับ $4.2 \pm 1.6 \times 10^{11}$ ตัวหรือเท่ากับ 7.7 ± 1.9 ยูนิต และปริมาณเฉลี่ยของแต่ละยูนิตเท่ากับ 267 ± 51.3 ลบซม. ผลของการตรวจ CBC ของผู้บริจาคทั้งก่อนและหลังการเตรียมอยู่ใน Table ที่ 3 อาการแทรกซ้อนหลังจากการเตรียม PC พบมีอาการเวียนศีรษะ 1 ราย และชารอบปาก 1 ราย ซึ่งได้รับการรักษาตามอาการ ผู้บริจาคโลหิตทุกรายปลอดภัยดี

2. ผลการศึกษาการใช้ PC ในผู้ป่วย aplastic anemia ซึ่งมี alloimmunization รายละเอียดอยู่ใน Table 4 เป็นชาย 4 คน หญิง 8 คน Previous blood components transfusion สำหรับการรักษาแบบประคับประคองจำนวนที่ทราบแน่นอนเพียง 5 ราย ที่เหลืออีก 7 ราย ได้รับเพิ่มเติมจากโรงพยาบาลต่างจังหวัด ทุกรายมีปัญหา active bleeding ซึ่งส่วนใหญ่เป็นเลือดซึมออกจากเหงือกตลอดเวลา ภาย

Table 1. General data of Single donor PC collection (N=60)

Sex M:F = 49 : 11 (4.5 : 1)
Age = 17 - 55 yr ($\bar{x}$ 31.1 ± 7.4 yr)
Blood group = A (19), B (12), O (24), AB (5)

	Mean ± S.D.	Range
Blood volume processed (liter)	3.79 ± 0.65	2.2 - 5.2
Collection time (min)	87.77 ± 11.97	65 - 115
Platelet yield/liter	1.13 ± 0.32	0.5 - 2.1
Collection efficiency (%)	43.7 ± 12.1	21.1 - 82.8

Table 2. Characteristic of PC (N = 60)

PC	Mean ± S.D.	Range
Volume (ml)	267.5 ± 51.3	150 - 350
Yield ($\times 10^{11}$)	4.2 ± 1.6	2.3 - 6.5
Unit (5.5×10^{10})	7.7 ± 1.9	4.2 - 13.6
Hct (%)	1.8 ± 1.3	0.5 -5.0

Table 3. CBC of the donors (N = 60) before and after plateletpheresis

Parameter	Before*	After*	t-value	P-value**
Hct %	43.3 ± 3.8	42.4 ± 4.1	3.18	< 0.002
Wbc ($\times 10^9$/L)	7.7 ± 2.3	6.8 ± 1.8	3.65	< 0.001
Platelet ($\times 10^9$/L)	320 ± 74.5	213 ± 58.5	11.23	< 0.0001

* Mean ± S.D
** Paired t-test

หลังได้รับ single donor platelet transfusion มี clinical response ทุกรายและมีค่า CCI > 10×10^9/L จำนวน 15 ครั้ง จากจำนวนการให้เกร็ดเลือดเข้มข้น 19 ครั้ง ผลของการรักษาผู้ป่วยสามารถกลับบ้านได้ 5 ราย ถึงแก่กรรม 7 ราย (ผู้ป่วย # 8 ได้กลับบ้านไปก่อน และถึงแก่กรรม 1 เดือนต่อมาจากเลือดออกในสมอง) ในจำนวนผู้ป่วยที่เสียชีวิต 7 รายพบว่า 4 รายมีเลือดออกในสมอง (ซึ่ง 3 ใน 4 รายนี้มีภาวะติดเชื้อร่วมด้วย) 3 รายเสียชีวิตจากภาวะติดเชื้อ จำนวนผู้บริจาคโลหิต 19 รายเป็นญาติ 9 ราย อีก 10 ราย เป็นอาสาสมัคร การตอบสนองต่อจำนวนเกร็ดเลือดจากญาติหรืออาสาสมัครไม่แตกต่างกัน ในแง่ของ anti-HLA antibody เมื่อทำการจำแนกประเภทของแอนติบอดีย์ตามความจำเพาะต่อแอนติเจน สามารถแบ่งได้เป็น 3 ประเภท คือ Unidentified Antibodies (หมายถึง แอนติบอดีย์ที่ให้ผลบวกกับเซลล์ panel ประมาณร้อยละ 50 ของจำนวนทั้งหมด แต่ยังไม่สามารถวิเคราะห์ได้ว่าเป็นแอนติบอดีย์ชนิดใด เนื่องจากเซลล์ panel เหล่านี้ยังมี Unknown Antigen หรือ blank อยู่ทั้ง HLA-A และ HLA-B โลคัส เนื่องจากขาดแคลน typing sera ในการตรวจสอบแอนติเจนบางชนิด) พบ 3 ราย ใน 12 รายคิดเป็นร้อยละ 25 Multispecific antibodies (หมายถึง แอนติบอดีย์ที่มีความจำเพาะต่อแอนติเจนมากกว่า 1 ชนิดขึ้นไปเช่น Anti A1+A2+A9 (# 12 ตาราง 4) เป็นต้น) พบ 7 ราย ใน 12 รายคิดเป็นร้อยละ 58 และ Monospecific antibodies (หมายถึง แอนติบอดีย์ที่

มีความจำเพาะต่อแอนติเจนเพียง 1 ชนิด เช่น Anti HLA-A11 (# 2, # 11 ตาราง 4) เป็นต้น) พบ 2 รายใน 12 รายคิดเป็นร้อยละ 17 ปฏิกิริยาไม่พึงประสงค์ขณะได้รับ platelet transfusion มีเพียง urticaria 2 รายเกิดขึ้น 1-2 ชั่วโมง ภายหลังซึ่งสามารถควบคุมได้ด้วย antihistamine.

Table 4. Aplastic anemia patients (clinical data)

Patient		Blood support ‡ (ū)		Indication (bleeding)	Anti - HLA			Donor	CCI	
No.	Sex/Age (yr)/Duration of illness/Hospital #	RBC	Platelets		% of cytotoxi-city	Strenght of reaction	Specifi-city	(No)	$\times 10^9$/L	Reaction/Disposal
1.	F/28/6 mo. 508577 - 25	24^+	80^+	Vagina	75	100	U	R (1) Un (1)	5.0 6.0	Dead from sepsis
2.	M/20/8 mo. 058976 - 27	10^+	5^+	Gum Gum	65	100	Mo	Un (1) Un (1)	15.1 27.2	Dead from sepsis + CNS bleeding 5 wk after T_x
3.	F/26/4 mo. 062288 - 28	4^+	6^+	Gum Gum	90	75-100	M	Un (1) R (1)	9.0 58.5	Urticaria/D
4.	M/64/1 yr 004114 - 29	9	44	Gum Gum Gum	40	45-100	U	R (1) Un (1) Un (1)	44.0 20.6 17.4	D
5.	M/25/1 yr 048873 - 28	15	58	Gum	90	80-100	M	Un (1)	44.5	D
6.*	F/26/2 mo. 096365 - 24	149	42	Epistaxis CNS	90	80-100	M	R (1)	41.5	Death from sepsis + CNS Bleeding
7.	M/47/2 mo. 085171 - 29	3^+	25^+	Gum	5	75	U	R (1)	55.4	D
8.	F/30/5 yr 000686 - 30	22^+	91^+	Gum Hyphema CNS	80	30-100	M	R (1) R (1)	22.5 35.0	D:, 1 mo later dead from CNS bleeding
9.*	F/27/2 mo. 018434 - 26	91	135	Gum	60	100	M	R (1)	33.2	D
10.	F/18/4 mo. 511230 - 30	30	79	Vagina	75	100	M	R (1)	23.8	Urticaria/Death from CNS bleeding 11 days after T_x
11.	F/28/1 yr 091749 - 30	17^+	14^+	Stump after A/K amputation Rebleeding	50	80-100	Mo	Un (1) Un (1)	42.1 17.3	Death from sepsis
12.	F/24/4 yr 109291 - 31	40^+	50^+	hematuria	50	85-100	M	Un (1)	9.0	Death from sepsis

* Known Pure red cell aplasia for 6 yrs.
** Known PNH for 4 yrs.
\+ Exact numbers of blood support donot know (referred from other hospital)
\+\+ Number of blood support in this hospital

A/K = Above knee D = Discharge M = Multispecificity Un = Un - related
R = Related U = Unidentified u = unit Mo = Monospecificity
T_x = platelet transfusion (single donor)

Table 5. Single donor Platelet Transfusion in surgery

Patient		Indication of surgery	Pre - op				Type of operation	Donor (No)	CCI ($\times 10^9$/L)	Results
			Platelet no ($\times 10^9$/L)	Anti - HLA						
No.	Sex/Age (yr)/Diagnosis Hospital # ,Duration			% of cytotoxicity	Strength of reaction	Specificity				
1.	M/20/ANLL 006256-31,10 mo.	myonecrosis of abdominal wall	18.0	neg			debridement of abdominal wall	Un (7)	+	Debridement twice → complete remission
2.	M/23/AA 036470-31,2 mo.	Ac. appendicitis	2.0	75	75-100	M	Appendectomy	R (2) Un (6)	+	D
3.	M/24/AA 079008-27,1 mo.	Dental caries	2.0	neg			tooth extraction	R (1)	+	D
4.	F/27/AA 092329-29,5 mo.	Empyema thoracis (L)	4.0	90	90-100	M	Rib resection intercostal drainage	R (2) Un (1)	+	D
5.	F/34/AA 059538-26,3 yr.	Chr. appendicitis	7.0	neg			Appendectomy	R (1) Un (6)	+	D
6.	M/35/ALL 088403-31,6 mo.	perianal infection	20.0	neg			Colostomy	Un (4)	+	2 wks later expired from disease
7.	M/43/ALL 083777-27,1 yr.	Ac. appendicitis	6.0	neg			Appendectomy	R (2) Un (8)	+	Dead from sepsis 1 mo. after operation
8.	F/36/Storage pool disease 031936-30	Acoustic Neuroma (L)	380.0	neg			Removal of tumor	Un (5)	ND	D

+ = CCI $> 10\times10^9$/L D = Discharge R = Relative
Un = Unretated ND = Not determine AA = Aplastic anemia
ANLL = Acute non lymphoblastic leukemia ALL = Acute lymphoblatic leukemia

3. ผลการศึกษากลุ่มที่มีเกร็ดเลือดต่ำจากภาวะไขกระดูกสร้างน้อยกว่าปกติ และโรคที่พบหน้าที่ของเกร็ดเลือดเสียซึ่งจำเป็นต้องได้รับการผ่าตัด (Table 5) จำนวนทั้งหมด 8 ราย ในกลุ่มที่ไขกระดูกสร้างเกร็ดเลือดน้อยกว่าปกติมีจำนวนเกร็ดเลือดก่อนผ่าตัดอยู่ระหว่าง 2-20.0$\times10^9$/L ทุกรายไม่มีปัญหาเรื่องเลือดออกมากกว่าปกติ ในแง่ HLA-antibody ตรวจพบ 2 ราย (# 2 และ 4) เป็นชนิด Multispecificity ทั้งคู่นอกนั้น negative ปฏิกิริยาอันไม่พึงประสงค์ได้แก่ urticaria 1 ราย (# 2) และ chill 1 ราย (# 4) ซึ่งได้รับการรักษาตามอาการด้วย antihistaminc และยาลดไข้จำนวนผู้บริจาคทั้งหมด (Table 4 และ 5) รวม 64 ราย อัตราส่วนของญาติต่ออาสาสมัคร = 1:2.8

วิจารณ์

การเตรียมเกร็ดเลือดเข้มข้นโดยใช้เครื่องมือ blood cell separator นั้นเป็น application of hemapheresis อย่างหนึ่ง[12] โดยใช้หลักการ centrifugation ชนิดของเครื่องมือที่ใช้ในการศึกษานี้เป็นระบบ continuous-flow system. สามารถเตรียมเกร็ดเลือดเข้มข้นมีค่า mean $\pm$ S.D = 4.2 $\pm$ 1.6 $\times$ 10^{11} ตัว ซึ่งเทียบเท่ากับการเตรียมจาก pool random-donor ประมาณ 7-8 คน และคุณภาพของเกร็ดเลือดเข้มข้นที่เตรียมได้สามารถใช้ในการรักษาเรื่องภาวะเลือดออกได้ตามจุดมุ่งหมาย (Table 4 และ 5) การเตรียมเกร็ดเลือดเข้มข้นจากผู้บริจาคโลหิต 1 คน ตามรายงานอื่น ๆ ได้จำนวนเกร็ดเลือดมีค่าเฉลี่ยอยู่ในระหว่าง 2.84 - 4.7 $\times$

10^{11} ตัว[21-24] สำหรับความปลอดภัยของผู้บริจาคจะเห็นว่า parameter ของ CBC ก่อนและหลังทำมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแต่ก็อยู่ในระดับที่ปลอดภัย ไม่มีผู้บริจาคโลหิตคนใดได้รับอันตรายจากการเตรียมเกร็ดเลือดเข้มข้นวิธีนี้ อาการแทรกซ้อนขณะที่เตรียมมีเพียง circum oral pallor และชารอบปากซึ่งอาจเกิดจากได้รับ citrate จากยากันเลือดแข็งตัวปริมาณมากไปได้แก้ไขโดยลดจำนวน ACD solution ลง อีกรายเป็นเพียงเวียนศีรษะซึ่งอาจเนื่องจาก vasovagal reflex หรือความกลัวขณะที่ทำแพทย์ได้เฝ้าระวังอาการตลอดเวลา และให้ความมั่นใจในความปลอดภัยของผู้บริจาค

ส่วนการคัดเลือกผู้บริจาค จำเป็นจะต้องเลือกผู้ที่มี Platelet cross match เข้ากันได้กับผู้ป่วย การทำ platelet cross match มีหลายแบบ เช่น complement fixation technique,[25] radiolabelled staphyllococcal protein A (125I - SPA)[26], Enzyme linked immunospecific assay (ELISA)[27] และ lymphocytotoxicity assay (LCT)[16] ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมทำกันมากที่สุด เพราะขั้นตอนการทำไม่ยุ่งยาก ค่าใช้จ่ายน้อยและได้ผลดี ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงได้เลือกวิธีนี้เพื่อคัดเลือก platelet donor และพิสูจน์ว่าผู้ป่วยอยู่ในภาวะ alloimmunization โดยตรวจพบ HLA - class I antibody ในน้ำเหลืองผู้ป่วย แต่ไม่สามารถแยกชนิดได้ชัดเจน เนื่องจากจำนวนผู้ป่วยมีจำนวนน้อย

จากการศึกษาการใช้ blood component นี้เพื่อเป็นการรักษา (therapeutic) ภาวะเกร็ดเลือดต่ำ และมีปัญหาทาง alloimmunization ต่อเกร็ดเลือดในผู้ป่วย chronic aplastic anemia นั้น ทุกรายภาวะเลือดออกหยุดภายในเวลา ½ - 1 ชั่วโมง ภายหลังให้เกร็ดเลือดและการตรวจทางห้องปฏิบัติการ (CCI) เพื่อพิสูจน์ว่า HLA cross-match ที่ใช้นั้นเป็นวิธีที่เหมาะสม คือได้ค่า CCI มากกว่า 10×10^9/L ใน 15 ครั้งต่อ 19 ครั้งของการให้เกร็ดเลือดเข้มข้น ส่วนอีก 4 รายค่า CCI ไม่ถึงมาตรฐาน แต่ก็ไม่มีปัญหาทางคลินิกเพราะเลือดหยุดทุกราย การที่ CCI ไม่ขึ้นอาจเนื่องจากมี alloimmunization ต่อระบบอื่นของเกร็ดเลือดนอกจากระบบ HLA เช่นต่อ platelet specific antigen[28,29] เป็นที่ทราบกันดีว่าในผู้ป่วย chronic aplastic anemia นั้นมีปัญหาเรื้อรังจาก pancytopenia ซึ่งมีความจำเป็นจะต้องให้ blood components ได้แก่เม็ดเลือดแดงและเกร็ดเลือดเข้มข้นเป็นระยะเวลานาน blood support เหล่านี้สามารถกระตุ้นให้มี alloimmunization ต่อเกร็ดเลือดได้มีรายงานพบได้ตั้งแต่ 34% ถึง 48%[6,30] จำนวนของ blood component (เม็ดเลือดแดงหรือเกร็ดเลือดเข้มข้น) ที่สามารถกระตุ้นให้เกิด alloimmunization ไม่ได้คำตอบที่แน่นอนในกลุ่มผู้ป่วยที่ทำการศึกษาครั้งนี้เนื่องจากกลุ่มผู้ป่วยยังมีจำนวนน้อย แต่มีรายงานของการเกิด platelet antibody เป็นสัดส่วนกับจำนวนเกร็ดเลือดที่ให้[31] การตรวจจำนวนเกร็ดเลือด 24 ชั่วโมงภายหลังได้รับ พบว่าจำนวนอาจจะต่ำลงเร็ว หรือช้าขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่น ๆ เช่น ม้ามโต ภาวะเลือดออก มีภาวะติดเชื้อ หรือ DIC[9] เพราะว่าในโรค AA นี้มักจะมีภาวะติดเชื้อร่วมด้วยเสมอ การใช้เกร็ดเลือดเข้มข้นโดยวิธีนี้สามารถลดปัญหาทางคลินิกให้กับผู้ป่วยได้ และบางรายสามารถ discharge ผู้ป่วยได้ แม้ว่าจะมีผู้ป่วยเสียชีวิต 7 ใน 12 ราย (Table 4) ทั้ง 7 รายมีภาวะติดเชื้อเป็นสาเหตุสำคัญอีก 4 ราย มีภาวะเลือดออกในสมองร่วมด้วย แต่เป็นภาวะที่เลือดออกภายหลังที่หยุดการให้เกร็ดเลือดเข้มข้น ภาวะแทรกซ้อนเช่น urticaria พบเพียง 2 ครั้งใน 19 ครั้งคิดเป็นร้อยละ 10 โดยประมาณของการใช้ blood component 5 รายสามารถให้ผู้ป่วยกลับบ้านได้อย่างปลอดภัย ถ้าไม่มีการให้เกร็ดเลือดด้วยวิธีนี้ ผู้ป่วยเหล่านี้อาจมีเลือดออกอีกเป็นระยะเวลานาน หรือถึงแก่ชีวิตได้ ในด้านการศึกษาเพื่อวัตถุประสงค์ทั้งป้องกัน และรักษาเลือดออกในกลุ่มผู้ป่วยที่มีเกร็ดเลือดต่ำ เนื่องจากไขกระดูกสร้างไม่เพียงพอหรือ platelet dysfunction ซึ่งมีความจำเป็นจะต้องผ่าตัด (Table 5) ทุกรายได้รับการผ่าตัดอย่างปลอดภัย พบภาวะแทรกซ้อนเพียง 2 ครั้ง (urticaria และ chill) ในจำนวน 45 ครั้งคิดเป็นร้อยละ 4 ของการให้เกร็ดเลือดเข้มข้น และมีเพียง 1 ราย (# 7 Table 5) ที่เสียชีวิตจากภาวะติดเชื้อเพราะรายนี้มีจำนวนเม็ดเลือดขาวต่ำมากอยู่ระหว่าง 0.3 - 0.5 $\times 10^9$/L

จะเห็นได้ว่า single donor platelet transfusion เป็นการพัฒนาการรักษาภาวะเกร็ดเลือดต่ำใน chronic aplastic anemia ที่เกิดภาวะ alloimmunization ต่อเกร็ดเลือดได้อย่างมีประสิทธิภาพ เป็นการลดปัญหาแก่แพทย์ผู้รักษาสามารถ discharge ผู้ป่วยได้ ประโยชน์สูงสุดอีกอย่างคือสามารถทำให้ผู้ป่วยเหล่านี้ซึ่งจำเป็นต้องได้รับการผ่าตัดสามารถเตรียมการผ่าตัดได้ และมีชีวิตอยู่ได้พร้อมทั้งมีคุณภาพของชีวิตที่ดีพอสมควร ดังนั้นวิธีการรักษานี้จึงเป็นทั้ง therapeutic และ life saving ของผู้ป่วยดังกล่าว ข้อบ่งชี้ในการที่ใช้ โดยวิธีนี้ควรจะต้องยังอยู่ในวงจำกัดเนื่องจากภาวะค่าใช้จ่ายสูงมาก และเสียเวลานานพอสมควรในการตรวจและคัดเลือกผู้บริจาค ดังนั้นจึงมีผู้เสนอแนวทางการป้องกัน

platelet sensitization โดยการจัดเตรียม leucocyte depleted blood component ให้กับผู้ป่วยเพื่อหลีกเลี่ยงการเกิด delayed sensitization ซึ่งมีรายงานสนับสนุนว่าวิธีดังกล่าวได้ผลดี[32,33]

สรุป

การเตรียมเกร็ดเลือดเข้มข้น จากผู้บริจาคโลหิตคนเดียวจำนวน 60 คน โดยใช้เครื่อง blood cell separator ระบบ continuous flow system ได้จำนวนของเกร็ดเลือดเข้มข้นระหว่าง 2.3 - 6.5 $\times$ 10^{11} ตัว ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 4.2 $\pm$ 1.6 $\times$ 10^{11} ตัว (7.7 $\pm$ 1.9 ยูนิต) และจำเป็นต้องตรวจ HLA cross match ก่อนเพื่อให้ได้ผลที่สมบูรณ์ดังที่ได้กล่าวไว้ใน 2 กรณีคือ กลุ่มผู้ป่วย AA ที่เกิดภาวะ alloimmunization ต่อเกร็ดเลือด และกลุ่มผู้ป่วย AA, Acute leukemia และ platelet dysfunction ซึ่งต้องทำการผ่าตัด พบว่า single donor platelet transfusion นี้สามารถแก้ปัญหาทั้ง 2 กรณีดังกล่าวได้เป็นอย่างดี และมีความปลอดภัยทั้งผู้บริจาคและผู้ที่ได้รับ

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณแพทย์ เจ้าหน้าที่ธนาคารเลือดโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ที่ให้ความร่วมมือเป็นอย่างดีในการศึกษานี้ และคุณจิราพร จินายน สำหรับการคำนวณทางสถิติ

อ้างอิง

1. Duke WW. The relation of blood platelet to hemorrhagic disease. JAMA 1910 Oct; 55(4) : 1185-92
2. Alvorado J, Djerassi I, Farber S. Transfusion of fresh platelet concentrates to children with acute leukemia. J Pediatr 1965 Jul; 67(1) : 13-22
3. Cavin JA, Farbar S, Roy AJ. Transfusion of fresh platelet concentrates to adult patients with thrombocytopenia. Transfusion 1968 Jan-Feb; 8(1) : 24-7
4. Freireich EJ. Effectiveness of platelet transfusion in leukemia and aplastic anemia. Transfusion 1966 Jan-Feb; 6(1) : 50-4
5. Grumet PC, Yankee RA. Long-term platelet support of patients with aplastic anemia: effect of splenectomy and steroid therapy. Ann Intern Med 1970 Jul; 73(1) : 1-7
6. Klingemann HG, Self S, Banaji M, Deej HJ, Doney K, Slichter SJ, Thomas ED, Storb R. Refractoriness to random donor platelet transfusion in patients with aplastic anemia: a multivariate analysis of data from 264 cases. Br J Haematol 1987 May; 66(1) : 115-21
7. Howard JE, Perkins HA. The natural history of alloimmunization to platelets. Transfusion 1978 Jul-Aug; 16(4) : 496-503
8. Pegels JG, Bruynes ECE, Engelfriet CP, Kr Vondem Borne AEG. Serological studies in patients on platelet and granulocyte-substitution therapy. Br J Haematol 1982 Sep; 52(1) : 59-68
9. Menitove JE, Aster RH. Transfusion of platelet and plasma products. Clin Haematol 1983 Feb; 12(1) : 239-206
10. Oon CJ, Hobbs JR. Clinical applications of the continuous flow blood separator machine. Clin Exp Immunol 1975 Apr; 20(1) : 1-16
11. Pineda AA, Klein HG. Application of hemapheresis. In: Greenwald TJ, ed. Blood Transfusion. London: Churchill livingstone, 1988. 211-33
12. Yankee RA, Grdumet FC, Rogentine GN. Platelet transfusion therapy: the selection of compatible platelet donors for refractory patients by lymphocyte HL-A typing. N Engl J Med 1969 Nov 27;281(22) : 1208-12
13. Yankee RA, Graff KS, Dowling R, Henderson ES. Selection of unrelated compatible platelet donors by lymphocyte HL-A matching. N Engl J Med 1973 Apr 12;288(15) : 760-64
14. Lohrmann HP, Bull MI, Decter JA, Yankee RA, Graw RG. Platelet transfusions from HL-A compatible unrelated donors to alloimmuniz ation patients. Ann Intern Med 1974 Jan; 80(1) : 9-14
15. Heal JM, Blumberg N, Masel D. An evaluation of crossmatching HLA and ABO matching for platelet transfusion to refractory patients. Blood 1987 Jul; 70(1) : 23-30
16. Daly PA, Schiffer CA, Aisner J, Wiernik PH. Platelet transfusion therapy: one-hour post transfusion increments are valuable in predicting the need for HLA-matched preparations. JAMA 1980 Feb 1; 243(5) : 435-8
17. พิมล เชี่ยวศิลป์. การให้เลือด. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์พิฆเนศ, 2526.4-7
18. Eisenstaedt R. Blood component therappy in the

treatment of platelet disorders. Semin Hematol 1986 Jan; 23(1) : 1-7

19. Brecher G, Cronkite EP. Morphology and enumeration of human blood platelets. J Appl Physiol 1950 Dec; 3:365-77
20. Nomogran for determination of body surface are from height and weight (adults). In: Devita VT, Hellman S, Rosenberg SA eds. Cancer : Princeples and Practice of Oncology. Philadelphia: Lippincottt, 1982. 1785
21. Buchholz DH, Porten JH, Menitove JE, Rzad L, Bucheger RR, Aster RH, Lin AT, Smith J. Description and use of the CS-3000 blood cell separator for single - donor paltelet collection. Transfusion 1983 May-Jun; 23(3) : 190-6
22. พิมลพรรณ ตาดทอง, พิมล เชี่ยวศิลป์, สุณี สถาบันสวัสดิการ, สิริพรรณ กิจกรพรรณ, อานนท์ บุณยะรัตเวช. การเตรียมเกร็ดเลือดเข้มข้นจากผู้บริจาคคนเดียวโดยใช้เครื่อง cell separator, รามาธิบดีเวชสาร 2530 เมษายน - มิถุนายน ; 10(2) : 35-9
23. Kurtz SR, Mc Mican A, Carciero R, Melaragno A, Abdu W, Katchis R, Valeri CR. Platelet pheresis experience with the haemongetics blood processor 30, the IBM Blood processor 2997 and the Fenwal CS-3000 blood processor. Vox sang 1981; 41(4) : 212-8
24. Katz AJ, Genco PV, Blumberg N, Snyder EL, Camp B, Morse EE. Paltelet collection and transfusion using the Fenwal CS-3000 cell separator. Transfusion 1981 Sep-Oct; 21(5) : 560-3
25. Aster RH, Levin RH, Cooper H, Freireich EJ. Complement fixing platelet isoantibodies in serum of transfused person: correlation of antibodies with platelet survival in thrombocytopenic patients. Transfusion 1964 Nov-Dec; 4(6) : 428-40
26. Yam P, Petz LD, Scott EP, Santos S. Platelet cross match tests using radiolabelled staphyllococcal protein A or peroxidase antiperoxidase in alloimmunized patients. Br J Haematol 1984 Jun; 57(2) : 337-47
27. Brubaker DB, Duke JC, Romine M. Predictive value of enzymelinked immunoassay platetet cross matching for transfusion of platelet concentrates to alloimmunized recipients. Am J Haematol 1987 Apr; 24(4) : 375-87
28. Brand A, Van Leeuwen A, Eernisse JG, van Rood JJ. Platelet transfusion therapy: optimal donor selection with a combination of lymphocytotoxicity test and platelet fluorescence tests. Blood 1978 May; 51(5) : 781-8
29. Brubaker DB, Romine M. Relationship of HLA and plateletreactive antibodies in alloimmunized patients refraetory to platelet therapy. Am J Hematol 1987 Dec; 26(4) : 341-52
30. Murphy MP, Metcalfe P, Thomas H, Eve J, Ord J, Liste TA Waters AH. Use of leucocyte-poor blood components and HLA-metched platelet donors to prevent HLA alloimmunization. Br J Haematiol 1986 Mar; 62(3) : 529-34
31. Shulman NR. Immunological considerations attending platelet transfusions. Transfusion 1966 Jan-Feb; 6(1) : 39-49
32. Sniecinski I, O'Donnell MR, Nowicki B, Hill LR. Prevention of refractoriness and HLA-alloimmunization using filtered blood products. Blood 1988 May; 71(5) : 1402-7
33. Frangoulis B, Besluau D, Chopin M, Degos L, Pla M. Immune response to H-2 class I antigens on platelets I.Immunogenicity of platelet class I antigens. Tissue Antigens 1988 Jul, 32(1) : 46-54