

บทความพิเศษ

Platelet Function Analyzer (PFA)-100

คัชริน อายุไชย และ พันธุ์เทพ อังชัยสุขศิริ

สาขาวิชาโลหิตวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล

บทนำ

เมื่อมีการฉีกขาดของหลอดเลือดและเริ่มมีเลือดออก เกล็ดเลือดจะมีบทบาทสำคัญในการห้ามเลือดโดยไปเกาะติดตรงบริเวณที่มีบาดแผลและจับกลุ่มกันเองโดยมี von Willebrand factor (vWF) เป็นตัวเชื่อมในการเกาะติดกับผนังหลอดเลือด ในการจับกลุ่มของเกล็ดเลือดจะมี vWF และไฟบริโนเจน (fibrinogen) เป็นตัวเชื่อมที่สำคัญ หลังจากนั้นเกล็ดเลือดจะหลั่งสารออกมากระตุ้นให้มีการจับกลุ่มระหว่างกันมากขึ้นและช่วยสนับสนุนการสร้างไฟบริน (fibrin) เพื่อเสริมให้ลิ่มเลือดซึ่งประกอบด้วยเกล็ดเลือดและเม็ดเลือดแดง แข็งแรงและติดแน่นตรงรอยฉีกขาดเพื่อปิดปากแผลให้เลือดหยุด ถ้ามีความบกพร่องเกิดขึ้นกับหน้าที่หรือจำนวนของเกล็ดเลือดอาจทำให้มีความเสี่ยงในการมีเลือดออกผิดปกติ ในทางตรงกันข้ามถ้าเกล็ดเลือดมีจำนวนหรือมีความไวมากเกินไปจะทำให้เกิดลิ่มเลือดขึ้นในกระแสเลือด ซึ่งถ้าไปอุดตันในเส้นเลือดของอวัยวะที่สำคัญ อาจทำให้เสี่ยงต่อการเสียชีวิตได้ ผู้ป่วยกลุ่มนี้จึงต้องการยาต้านเกล็ดเลือด ความสำคัญของการตรวจการทำงานของเกล็ดเลือดเพื่อประเมินว่าเกล็ดเลือดสามารถทำหน้าที่ได้ดีเพียงใด ซึ่งจะช่วยประเมินหรือวินิจฉัยผู้ป่วยที่มีภาวะเลือดออกง่ายผิดปกติหรือความเสี่ยงต่อภาวะหลอดเลือดอุดตัน

หลักการ

Platelet Function Analyzer (PFA)-100 เป็นเครื่องตรวจวิเคราะห์ที่จำลองกระบวนการห้ามเลือดที่เกิดขึ้นในร่างกายจากการทำหน้าที่ของเกล็ดเลือด ภายใต้สภาวะการกดตัวอย่างเลือดจะถูกดูดผ่านท่อขนาดเล็ก (capillary tube) ซึ่งจะกระตุ้นเกล็ดเลือดผ่านทาง shear force ที่เกิดขึ้น เลือดจะไหลต่อมาถึงช่องขนาดเล็ก (aperture) เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 150 μm ผนังของช่องนี้จะถูกเคลือบไว้ด้วย collagen (Col) กับ epinephrine (EPI) หรือ Col กับ adenosine 5'-diphosphate (ADP) การที่เกล็ดเลือดมาเกาะติดกับผนังนี้ ในระยะแรกเป็นการทำงานของ high shear rate ที่สร้างขึ้นมาในเครื่อง PFA-100 และเป็นผลจากการเชื่อมต่อกันระหว่าง glycoprotein (GP) Ib receptor ที่อยู่บนผิวเกล็ดเลือดและ vWF ในพลาสมา ต่อมาเมื่อมีการหลั่งสารออกมาจากแกรนูล (granule) ของเกล็ดเลือดร่วมกับมีตัวกระตุ้น เช่น EPI หรือ ADP ที่อยู่บนผนังจะทำให้มีการเกาะกลุ่มกันของเกล็ดเลือดเกิดขึ้น¹⁻⁴ (Figure 1)

จากการใช้กล้องจุลทรรศน์แบบอิเล็กตรอน พบว่าเกล็ดเลือดเริ่มไปเกาะติดที่ผิวของช่องของ aperture ภายในเวลา 15 วินาที และเกาะทั่วไปหมดจนเห็นได้ชัดเจนภายในเวลา 45 วินาที เกล็ดเลือด

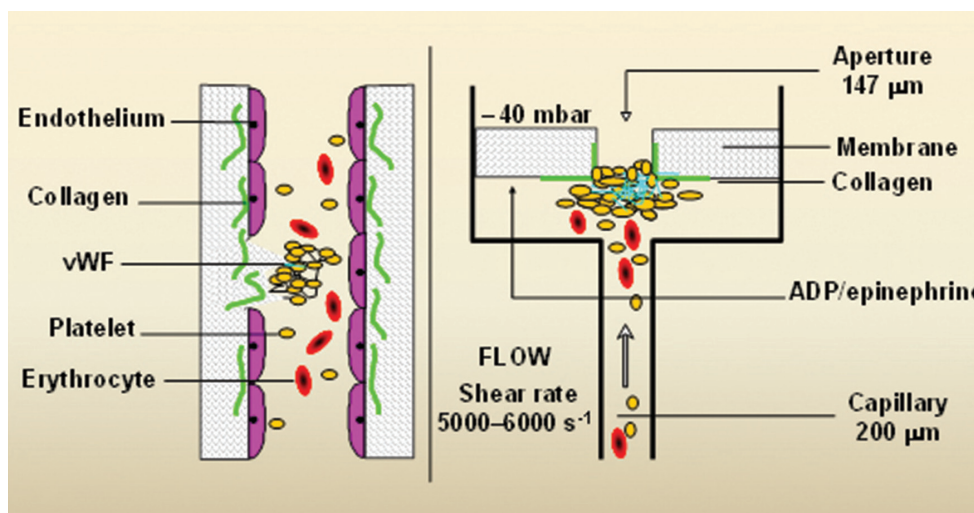


Figure 1 Principle of the platelet function analyzer (PFA)-100

ได้รับต้นฉบับ 21 พฤษภาคม 2557 รับลงตีพิมพ์ 4 กรกฎาคม 2557

ต้องการสำเนาต้นฉบับ ติดต่อ ศาสตราจารย์ นายแพทย์พันธุ์เทพ อังชัยสุขศิริ สาขาวิชาโลหิตวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล ถนนพระราม 6 แขวงทุ่งพญาไท เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400 E-mail: pantep.ang@mahidol.ac.th

จะจับกลุ่มกันและยื่นเข้ามาปิดช่อง aperture จะเห็นได้ภายในเวลา 80 วินาที หลังจากนั้นช่อง aperture จะถูกปิดโดยสมบูรณ์และเลือดจะหยุดไหลผ่านช่องนี้ภายในเวลา 110 วินาที⁵ เรียกว่า closure time (CT)⁴ ถ้าค่า CT มากกว่า 300 วินาที เรียกว่า non-closure ถือว่าผิดปกติ

วิธีการตรวจวัดตัวอย่างเลือดโดยเครื่อง PFA-100 (Siemens, Deerfield, USA) มี 3 วิธีคือ

1. Single test
2. Duplicate or two test types ในผู้ป่วยรายเดียวกัน
3. Two test types ในผู้ป่วยต่างราย

ขั้นตอนการตรวจวัด

1. นำ test cartridge ออกมาวางไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 15 นาที
2. ลอกฝาด้านบนออกและวาง test cartridge ในตำแหน่ง A หรือทั้งตำแหน่ง A และ B ของ cassette
3. วาง cassette พร้อม test cartridge ลงใน incubation well ของเครื่อง (Figure 2)
4. ใส่ 3.2% Sodium citrated blood 800 μ L ลงในช่อง sample reservoir ของ test cartridge
5. จากหน้าจอ System Ready กดปุ่ม Run เพื่อเข้าสู่หน้าจอ Enter ID #

5.1 Single test: ในกรณีที่ใส่ test cartridge 1 อัน ในตำแหน่ง A ที่หน้าจอ Enter ID # for position A จะมีคำสั่ง Then press Run ให้ป้อน patient ID แล้วกดปุ่ม Run เครื่องจะเริ่มต้นทำการตรวจวัด

5.2 Duplicate or two test types (ผู้ป่วยรายเดียวกัน): ในกรณีที่ใส่ test cartridge 2 อันในตำแหน่ง A และ B สำหรับผู้ป่วยรายเดียวกัน ที่หน้าจอ Enter ID # for position A จะมีคำสั่ง Press Run or Run duplicate ให้ป้อน ID ของผู้ป่วย แล้วกดปุ่ม Run duplicate เครื่องจะเริ่มต้นทำการตรวจวัด

5.3 Two test types (ผู้ป่วยต่างราย): ในกรณีที่ใส่ test cartridge 2 อัน ในตำแหน่ง A และ B สำหรับผู้ป่วยต่างราย

5.3.1 ที่หน้าจอ Enter ID # for position A จะมีคำสั่ง Press Run or Run duplicate ให้ป้อน ID ของผู้ป่วย รายที่ 1 แล้วกดปุ่ม Run

5.3.2 เครื่องจะแสดงหน้าจอ Enter ID # for position B จะมีคำสั่ง Then Press Run ให้ป้อน ID ของผู้ป่วยรายที่ 2 แล้วกดปุ่ม Run เครื่องจะเริ่มต้นทำการตรวจวัด

6. เมื่อเสร็จเรียบร้อยเครื่องจะแสดงผลที่หน้าจอคอมพิวเตอร์และพิมพ์ผล

7. นำ cassette ออกจาก carousel และนำ test cartridge ที่ใช้แล้วออกจาก cassette เพื่อนำไปกำจัดอย่างเหมาะสมต่อไป

การแปลผล

การทดสอบ PFA-100 จะเริ่มด้วยการตรวจวัด collagen-epinephrine (CEPI) cartridge ก่อนซึ่ง CEPI membrane จะมีความไวมากต่อ platelet function defects ทุกประเภทรวมทั้ง aspirin-induced platelet dysfunction ในขณะที่ collagen-ADP cartridge (CADP) ไม่มีความไวต่อยาแอสไพริน (aspirin) ที่ใช้รักษาในระยะสั้นๆ แต่อาจจะทำให้เกิด moderate prolongation

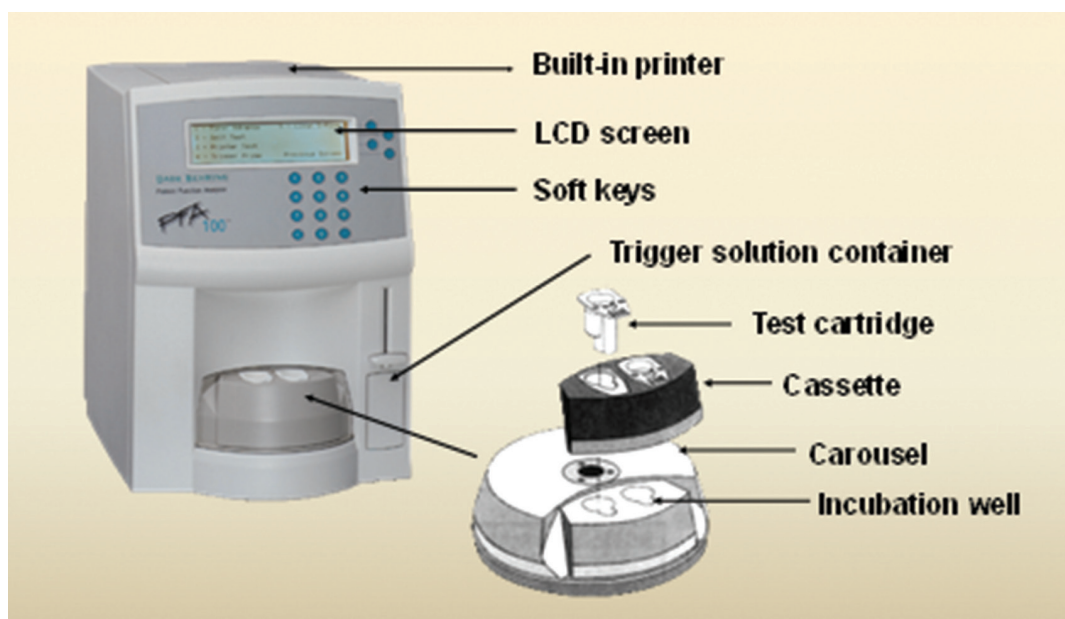


Figure 2 The front and composition of the platelet function analyzer (PFA)-100

ถ้าเป็นการรักษาในระยะยาว⁶⁻⁹ หลักการแปลผลมีดังนี้คือ

- ถ้า CEPI-CT ปกติแสดงว่าไม่มีความผิดปกติในการทำงานของเกล็ดเลือดอย่างมีนัยสำคัญ⁶
- ถ้า CEPI-CT ผิดปกติจะทำการตรวจวัดต่อด้วย CADP⁶
- ถ้า CEPI-CT ผิดปกติ/CADP-CT ปกติ สาเหตุที่พบบ่อยที่สุดคือ aspirin-induced platelet dysfunction^{7,10} ถ้าผู้ป่วยไม่ได้รับยาแอสไพรินควรตรวจสอบต่อไปสำหรับ platelet storage และ release defect⁶
- กรณีที่ CEPI-CT ปกติแต่ CADP-CT ผิดปกตินั้นพบได้น้อยมาก¹¹ อาจพบได้ในผู้ป่วย type 1 vWD หรือ intrinsic platelet disorder⁸ ดังนั้นจึงต้องตรวจการทำงานของเกล็ดเลือดต่อไปเพื่อหาสาเหตุของความผิดปกติ
- ถ้า CEPI-CT และ CADP-CT ผิดปกติทั้งสองอย่างควรพิจารณาตรวจวินิจฉัยเพิ่มเติม เช่น platelet aggregation test เพื่อหาสาเหตุของ platelet dysfunction⁶
- ห้องปฏิบัติการแต่ละแห่งควรมีค่า reference range ของตนเอง

ปัจจัยที่มีผลต่อ Closure time (CT)

- 1. Platelet count** ความผิดปกติของเกล็ดเลือดทั้งด้านปริมาณและคุณภาพจะมีผลต่อ CT ถ้าเกล็ดเลือดต่ำจนถึง $50 \times 10^9/L$ ⁵ จะทำให้ CT จะยาวผิดปกติ และจะไม่สามารถวัด CT ได้ถ้าเกล็ดเลือดต่ำถึง $10 \times 10^9/L$ ¹¹
- 2. Hematocrit (Hct)** CT จะยาวมากขึ้นถ้า Hct ลดลง^{5,17} ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะทางคลินิกที่พบในผู้ป่วยที่มีภาวะโลหิตจาง เมื่อปริมาณเม็ดเลือดแดงในกระแสเลือดลดลงทำให้หน้าที่ของเกล็ดเลือดลดลงไปด้วย¹⁹ ค่า Hct ที่มีผลกระทบต่อ CT จะผันแปรไปตามบุคคล เนื่องจากการทำงานของเกล็ดเลือดของแต่ละคนจะแตกต่างกัน CT จะยาวผิดปกติ ถ้า Hct ต่ำกว่า 25% และจะวัดไม่ได้ถ้าต่ำกว่า 10%¹¹
- 3. Hemolysis** ตัวอย่างเลือดที่มี hemolysis จะทำให้ CT ยาว ถ้ามี hemolysis มากจะเกิด flow obstruction กับ PFA-100 cartridge ทั้งสองชนิดและค่า CT จะยาวมาก¹⁹
- 4. Age and gender** CT ของ PFA-100 ระหว่างชายและหญิง ระหว่างคนที่อายุมากกว่าหรือน้อยกว่า 55 ปี ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ^{20,21} ถึงแม้ว่าผู้ชายสูงอายุอาจมีความโน้มเอียงที่ CT จะสั้นกว่า²¹ ส่วนทารกแรกเกิดมีความโน้มเอียงที่ CT จะสั้นซึ่งอาจเนื่องจากมีระดับ Hct สูงและระดับ vWF สูง²³ เด็กที่โตขึ้นมาจะมี CT ใกล้เคียงกับผู้ใหญ่²³

5. Diurnal variation CT ของ PFA-100 จะสั้นในตอนเช้าและค่อยๆ ยาวขึ้นตลอดทั้งวัน โดยเฉพาะกับค่าที่วัดโดยใช้ CEPI cartridge²⁴ ในกรณีที่มิวัตุประสงค์จะศึกษาเปรียบเทียบควรเจาะเลือดตรวจในเวลาเดียวกันของแต่ละวัน

6. Anticoagulant concentration เลือดที่เจาะโดยใช้ 3.8% sodium citrate เป็น anticoagulant จะให้ CT ยาวกว่าเลือดที่เจาะโดยใช้ 3.2% sodium citrate¹⁴

7. Time of testing after blood collection ผลของ CT จะยังคง stable ในเลือดที่เจาะไว้นานถึง 5 ชั่วโมง¹⁴ ในขณะที่บริษัทเครื่องมือแนะนำไว้แค่ 4 ชั่วโมง ในเลือดคนปกติอาจจะ stable จนถึง 6 ชั่วโมง แต่ยังไม่มีความชัดเจนเพียงพอที่จะบอกได้ว่าในคนที่มิเกล็ดเลือดผิดปกติ CT จะ stable ได้นานเท่าไร

8. von Willebrand factor (vWF) ในคนปกติและในคนที่ขาด vWF ค่า CT จะผันผวนกับระดับของ plasma vWF^{8,25,26} ในคนหมู่เลือด O ค่า CT จะยาวขึ้นประมาณร้อยละ 10-20 เนื่องจาก plasma vWF ของคนเหล่านี้มีระดับต่ำกว่าหมู่เลือดอื่น²⁷ มีหลักฐานว่า platelet vWF และ vWF multimers มีผลต่อ CT เนื่องจากสังเกตพบว่า CT จะยาวในผู้ป่วยที่เป็น type 1 "platelet low", type 1 "platelet discordant", type 2A และ type 3 vWD^{28,29} เนื่องจากผู้ป่วยเหล่านี้มีระดับ vWF ต่ำทั้งในพลาสมาและในเกล็ดเลือดเปรียบเทียบกับผู้ป่วย acquired vWD ซึ่งมี CT สั้นกว่าจะมีระดับ vWF ต่ำเฉพาะในพลาสมา แต่ในเกล็ดเลือด vWF จะปกติ ส่วนในผู้ป่วย severe aortic stenosis และ acquired vWD จะมีลักษณะเฉพาะ คือมีการหายไปของ large multimer vWF ทำให้ CT ในผู้ป่วยเหล่านี้ยาวและจะกลับมาสั้นลงหลังการผ่าตัดพร้อมกับมีการกลับมาของ large multimer vWF³⁰

9. ปัจจัยอื่นๆ ถ้า platelet collagen receptor $\alpha_2\beta_1$ มีความหนาแน่นต่ำร่วมกับมีระดับ vWF activity ต่ำ หรืออยู่ที่ borderline จะทำให้ความสามารถในการเกาะติดของเกล็ดเลือดต่ำไปด้วยมีผลทำให้ CT ยาว³¹ การรับประทานอาหารที่มี flavonoid สูง เช่น ไวน์แดง โกโก้ และช็อกโกแลต จะทำให้ CEPI-CT ยาวได้³²

ข้อดีและข้อด้อยของการทดสอบ PFA-100 (Table 1)

การใช้ PFA 100 CT ในการตรวจหา congenital disorder ของ primary hemostasis

1. Congenital platelet function disorder

Glanzmann's thrombasthenia (GT) ในผู้ป่วยเหล่านี้มีความบกพร่องหรือขาดหายไปของ glycoprotein (GP) IIb/IIIa ซึ่งเป็น receptor สำหรับไฟบริโนเจน จึงทำให้เกล็ดเลือดไม่มีการ

Table 1 Advantages and disadvantages of PFA-100

ข้อดีของ PFA-100	ข้อด้อยของ PFA-100
1. เป็น whole blood test ไม่มีขั้นตอนปั่นเลือดให้ยุ่งยาก ใช้เวลาตรวจไม่นานประมาณ 10 นาที ใช้ปริมาณเลือดไม่มากและให้ผลใกล้เคียงกันเมื่อทำซ้ำ ^{6-9,12,13}	1. ระบบการทำงานของเครื่องมีข้อจำกัด ปัจจุบันนี้วัดได้เพียง 2 cartridge เท่านั้น
2. สามารถเก็บตัวอย่างเลือดไว้ที่อุณหภูมิห้องได้ถึง 4 ชั่วโมง ทำให้สะดวกในการขนส่ง ^{14,15}	2. สามารถวัดได้สูงสุด 300 วินาที แต่บางโรคอาจมีค่าผิดปกติมากกว่านั้น
3. ให้ผลสอดคล้องกับผลที่ตรวจโดยวิธี platelet aggregation แต่มีราคาถูกกว่าและใช้เวลาน้อยกว่า ^{6,7,13}	3. เป็นการทดสอบอย่างคร่าวๆ และไม่ได้ใช้สำหรับวินิจฉัย platelet dysfunction ชนิดใดๆ ¹²
4. ให้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ทางคลินิกมากกว่า bleeding time และสามารถชี้แทนที่ได้ ^{6,8,15,16}	4. ถ้ามีข้อสงสัยทางคลินิกสูงไม่ว่าผลการตรวจจะผิดปกติหรือไม่ ต้องใช้การตรวจที่เฉพาะเจาะจงหาความผิดปกติต่อไป เนื่องจากผู้ป่วยที่มีความผิดปกติในการทำงานของเกล็ดเลือดไม่รุนแรงค่า CT อาจปกติ ^{6,12}

จับกลุ่มกัน หรือจับกลุ่มน้อยลง จากการศึกษาของ Fressinaud E et al⁸, Kerenyi A et al¹⁵ และ Harrison P et al¹³ พบค่า CT > 250 วินาที (nonclosure) ในทั้งสอง cartridge ส่วนอีกการศึกษาหนึ่งรายงานเพียงว่าพบ CT ยาวผิดปกติในทั้งสอง cartridge เท่านั้น³³ ดูเหมือนว่า nonclosure จะเป็นลักษณะเด่นของโรคนี้

Bernard-Soulier syndrome (BSS) มีความผิดปกติของ platelet membrane GP Ib/IX/V receptor ซึ่งเป็น receptor สำหรับ vWF มีผลให้เกล็ดเลือดไม่ไปเกาะกับผิวของหลอดเลือดที่สึกขาดหรือเกาะได้น้อย Harrison P et al³⁴ พบค่า CT > 300 วินาที (nonclosure) ในทั้งสอง cartridge ในผู้ป่วย BSS ทั้ง 6 ราย

Storage pool diseases (SPD) ผู้ป่วยมีปัญหาเกี่ยวกับแกรนูลที่อยู่ภายในเกล็ดเลือดซึ่งอาจขาดหายไปหรือหลังสารออกมาไม่ได้ จากรายงานของ Fressinaud ET et al⁸ ในผู้ป่วย SPD 5 รายพบค่า CT > 250 วินาที (nonclosure) ในทั้งสอง cartridge Cattaneo M et al⁹ ศึกษาในผู้ป่วย alpha-granule SPD (n = 7) และ primary secretion defect (n = 10) พบ median CEPI-CT ของผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มยาวผิดปกติอย่างมีนัยสำคัญ แต่ median CADP-CT ไม่แตกต่างจากคนปกติอย่างมีนัยสำคัญ ในทำนองเดียวกัน Harrison P et al¹³ ก็พบว่า CEPI-CT ยาวผิดปกติแต่ CADP-CT ปกติในกลุ่มผู้ป่วย Hermansky Pudlak syndrome, SPD, release defect, Wiskott Aldrich syndrome และ grey platelet syndrome ล่าสุด Sladky JL et al³⁵ ศึกษาในผู้ป่วย delta-granule SPD จำนวน 105 ราย ในช่วงอายุ 0-18 ปีพบ CT ยาวผิดปกติใน CEPI cartridge ร้อยละ 41.4 ใน CADP cartridge ร้อยละ 20.2 และยาวในทั้งสอง cartridge ร้อยละ 16 ไม่พบว่าผลของ PFA-100 มีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรค

2. von Willebrand disease (vWD)

มีการศึกษาจำนวนมากเกี่ยวกับการใช้ PFA-100 ในการตรวจหา vWD จากรายงานของ Fressinaud E et al⁸ ในผู้ป่วย vWD ทั้งหมด 60 รายพบว่าผู้ป่วยที่เป็น type 1 vWD (n = 36) ผล CEPI-CT ยาวผิดปกติ 34 ราย ปกติ 2 ราย (mild type 1) ขณะที่ผล CADP-CT ผิดปกติหมดทุกราย ส่วนผู้ป่วยที่เป็น type 2A (n = 10), type 2B (n = 3), type 3 (n = 3) และ acquired vWD (n = 5) มีผลผิดปกติทั้งสอง cartridge ในทางตรงกันข้ามผู้ป่วยที่เป็น type 2N (n = 2) ผลกลับปกติในทั้งสอง cartridge ถ้าตัด type 2N ออก ความไว (sensitivity) ของ CEPI-CT จะเป็นร้อยละ 96.5 และ CADP-CT จะเป็นร้อยละ 100 Cattaneo M et al²⁸ ศึกษาในผู้ป่วย vWD 52 ราย พบความผิดปกติทั้ง CEPI-CT และ CADP-CT ในผู้ป่วยเกือบทุกราย ยกเว้นผู้ป่วย type 1 "platelet normal" บางรายที่มีผลปกติ ความไวของ CEPI-CT และ CADP-CT เท่ากับร้อยละ 87 และร้อยละ 88 ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่า bleeding time (ร้อยละ 65) อีกการศึกษาหนึ่ง Akin M et al³⁶ รายงานในผู้ป่วยเด็ก 112 รายที่มีประวัติเลือดออกพบว่าผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็น mild type 1 vWD (n = 34) หรือ moderate type 1 vWD (n = 29) ค่า CEPI-CT จะปกติถึงยาวผิดปกติปานกลางขณะที่ CADP-CT มีค่าปกติถึงยาวผิดปกติเล็กน้อย ผู้ป่วยทุกรายที่เป็น severe type 1 vWD (n = 12), type 2 (n = 23) และ type 3 vWD (n = 23) จะมี CEPI-CT ยาวผิดปกติมาก ส่วน CADP-CT ยาวปานกลางถึงยาวมาก Podda GM et al³³ ศึกษาในผู้ป่วย 128 ราย ที่ตรวจหาภาวะเลือดออกง่ายผิดปกติได้รายงานความไวของ PFA-100 ต่อ vWD ในทั้งสอง cartridge ที่ร้อยละ 71 ขณะที่ bleeding time มีความไวร้อยละ 29 จากการรวบรวม

ข้อมูลของ Favaloro EJ¹² สรุปว่า PFA-100 มีความไวสูงต่อโรค vWD ถ้าเป็น type 2A, 2B, 2M และ 3 vWD โดยจะมีความไวมากกว่าร้อยละ 98 แต่ถ้ารวม type 1 เข้าไว้ด้วยความไวจะประมาณร้อยละ 85-90 ในการใช้ PFA-100 สำหรับตรวจหา vWD ผลของ C'T ขึ้นอยู่กับชนิดและความรุนแรงของโรค โดยผู้ป่วยที่มีความรุนแรงของโรคมากค่า C'T จะยาวผิดปกติมาก ถ้าผู้ป่วยที่มีความรุนแรงของโรคน้อยค่า C'T จะผิดปกติไม่มาก

PFA-100 ยังใช้ในการติดตามผลของการรักษา vWD ด้วยยา 1-deamino 8D-arginin vasopressin (DDAVP) ซึ่งจะออกฤทธิ์โดยกระตุ้นให้มีการหลั่ง vWF ออกจาก endothelial cell จากรายงานของ Cattaneo M et al²⁸ เมื่อให้ DDAVP แก่ผู้ป่วย vWD 26 คน หลังจากนั้น 30 นาทีผลของ C'T จะกลับมามากปกติ ในผู้ป่วยทุกรายที่เป็น type 1 “platelet normal” หรือ type 2M Vicenza ส่วนในผู้ป่วย type 1 “platelet low”, type 1 “platelet discordance” หรือ type 2A vWD ผลของ C'T ไม่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนผล vWF antigen (vWF: Ag) และ activity (vWF:ristocetin cofactor, RCo) ของผู้ป่วยส่วนใหญ่มีค่าเพิ่มสูงขึ้นมาอยู่ในช่วงปกติ ยกเว้นในผู้ป่วย type 1 “platelet low”, type 1 “platelet discordance” หรือ type 2A vWD บางคนที่มีค่าต่ำเช่นเดิมหรือเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยซึ่งยังต่ำกว่าค่าปกติ จากการศึกษาของ Akin M et al³⁶ พบว่าหลังจากให้ DDAVP ผู้ป่วยที่เป็น mild หรือ moderate type 1 vWD ค่าเฉลี่ย (mean) ของ C'T, vWF:Ag, vWF:RCo และ FVIII:C จะกลับมามากปกติ ส่วนผู้ป่วยที่เป็น severe type 1 และ type 2 vWD ที่ไม่ตอบสนองต่อ DDAVP ค่าเฉลี่ยของ C'T จะยังคงยาวผิดปกติเช่นเดิม แต่ผู้ที่ตอบสนองต่อ DDAVP ค่าเฉลี่ยของ C'T จะกลับมามากปกติ ส่วนผลของ vWF:Ag, vWF: RCo และ FVIII:C ของผู้ป่วยทั้งที่ตอบสนองและไม่ตอบสนองต่อ DDAVP ค่าเฉลี่ยจะเพิ่มขึ้นมากกว่าค่า baseline และส่วนใหญ่กลับมามากปกติยกเว้นผู้ป่วยที่มีค่า baseline ต่ำมากถึงแม้ค่าจะเพิ่มขึ้นแต่ยังไม่กลับมามากปกติ จากการรายงานของ Fressinaud E et al²⁹ ก็ได้ผลคล้ายๆ กัน ผู้ป่วยที่เป็น type 1 vWD (n = 23) หลังจากได้รับ DDAVP ผลของ CEPI-CT และ CADP-CT จะกลับมามากปกติทุกราย ส่วนในผู้ป่วย type 2 vWD 11 ราย ผลของ CEPI-CT จะกลับมามากปกติเป็นส่วนใหญ่ ส่วนผลของ CADP-CT มี 7 รายที่กลับมามากปกติยกเว้น type 2B vWD 2 ราย, type 2A และ 2M vWD อย่างละ 1 ราย ส่วนผลของ vWF:Ag และ vWF:RCo ของผู้ป่วย type 1 และ type 2 vWD เกือบทุกรายเพิ่มขึ้นจาก baseline กลับมามากปกติยกเว้นผู้ป่วย type 2M และ type 2A vWD ซึ่งค่า vWF:Ag และ vWF:RCo เพิ่มขึ้นไม่มากและยังต่ำกว่าค่าปกติ

จะเห็นว่าผลของ PFA-100 สะท้อนถึงผลการรักษาผู้ป่วย vWD ด้วย DDAVP ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดและความรุนแรงของโรค ร่วมกับการตอบสนองต่อยาของผู้ป่วยแต่ละราย

การใช้ PFA-100 ในการติดตามผลการรักษาโรค vWD โดย FVIII/vWF concentrate หรือ vWF concentrate มีการศึกษาโดย Cattaneo M et al²⁸ รายงานการให้ FVIII/vWF concentrate (Alphanate) ขนาด 60 U/kg ในผู้ป่วย type 3 vWD จำนวน 4 ราย พบว่าหลังจากให้ยา 1 ชั่วโมง ผลของ C'T สั้นลงเล็กน้อยแต่ยังยาวผิดปกติอยู่ ส่วนระดับ vWF:Ag และ vWF:RCo สูงขึ้นมากจากค่า baseline และกลับมามากปกติ Fressinaud E et al²⁹ ได้รายงานในผู้ป่วย vWD 9 ราย ซึ่งไม่ตอบสนองต่อ DDAVP (type 3 vWD 4 ราย, type 2M 2 ราย, type 2A 2 ราย และ type 1 “platelet low” 1 ราย) พบว่าผู้ป่วย type 3 vWD หลังจากให้ FVIII/vWF concentrate (Innobrand) ขนาด 60 U/kg ระดับของ vWF ทั้ง antigen และ activity กลับมามากปกติ BT สั้นลงเล็กน้อยแต่ยังผิดปกติอยู่ ส่วน C'T ยังคงยาวเช่นเดิม สำหรับผู้ป่วย type 2M และ type 2A vWD หลังจากได้รับ highly purified vWF concentrate (Facteur Willebrand) ขนาด 60 U/kg การตอบสนองออกมาในลักษณะเดียวกันกับผู้ป่วย type 3 vWD ข้างต้น ส่วนผู้ป่วย type 1 “platelet low” หลังจากได้รับ Facteur Willebrand ขนาด 40 U/kg ระดับของ vWF ทั้ง antigen และ activity กลับมามากปกติ BT และ C'T สั้นลงแต่ยังไม่กลับมามากปกติ ผู้วิจัยให้ข้อคิดเห็นว่าการที่ค่า C'T ยังไม่กลับมามากปกติทั้งๆ ที่ค่า vWF:Ag และ vWF:RCo ในพลาสมากลับมามากปกติแล้ว มีข้อสันนิษฐานที่อาจอธิบายได้คือ ใน vWF concentrate ที่ให้แก่ผู้ป่วยสามารถชดเชยได้เฉพาะ plasma vWF ไม่ใช่ platelet vWF และส่วนประกอบของแฟกเตอร์เข้มข้นดังกล่าวไม่มี vWF multimer ซึ่งทั้ง platelet vWF และ vWF multimer จำเป็นสำหรับ primary hemostasis

van Vliet et al³⁷ ได้รายงานการให้ Haemate-P (FVIII/vWF concentrate) ซึ่งมีอัตราส่วนของ vWF ที่ตรวจวัดโดย collagen binding assay (vWF CB) และ vWF:Ag (vWF CB/Ag ratio) เฉลี่ย 0.70 U/mL แก่ผู้ป่วย type 1 และ type 2 vWD พบว่าผลของ PFA-100 ของผู้ป่วย type 1 vWD (n = 26) ส่วนใหญ่กลับมามากปกติมีบางรายเท่านั้นที่ยังไม่ปกติ ส่วนผู้ป่วย type 2 vWD (n = 12) มี 6 รายที่ไม่ตอบสนอง ค่า C'T ยังคงยาวผิดปกติเช่นเดิม vWF CB/Ag ratio (ตัวแทนการวัด large vWF multimer ในพลาสมา) ไม่เพิ่มขึ้นขณะที่ vWF:Ag ในพลาสมากลับมามากปกติชี้ให้เห็นว่า vWF multimer distribution ไม่กลับมามากปกติ ในทางตรงกันข้ามผู้ป่วย 6 รายที่ตอบสนองดีค่า C'T ที่กลับมามากปกติ

สัมพันธ์กับ vWF CB/Ag ที่เพิ่มขึ้น เมื่อทดลองโดยการเติม Haemate-P (vWF CB/Ag >0.80 U/mL) ลงในเลือดของผู้ป่วย type 1 และ type 2 vWD พบว่า vWF CB และ vWF CB/Ag กลับมาอยู่ในช่วงปกติทั้งหมดสัมพันธ์กับ CT ที่กลับมาปกติ ในทางตรงกันข้ามเมื่อเติม Immunate (FVIII/vWF concentrate) ที่ไม่มี vWF multimer เป็นส่วนประกอบ vWF CB/Ag <0.60 U/mL พบว่า vWF CB/Ag มีค่าต่ำผิดปกติขณะที่ CT และ vWF CB เพิ่มขึ้นเล็กน้อยแต่ยังไม่กลับสู่ค่าปกติ จากการศึกษาทั้งใน *in-vivo* และ *in-vitro* แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่า ผลของ PFA-100 CT ขึ้นอยู่กับระดับ vWF ในพลาสมาและ vWF CB/Ag ratio ดังนั้นการที่ CT ไม่กลับมาปกติในผู้ป่วย type 2 หรือแม้แต่ type 1 vWD หลังจากให้ FVIII/vWF concentrate อาจเนื่องมาจากแฟกเตอร์เข้มข้นที่ให้ขาด large vWF multimer

การใช้ PFA 100 CT ในการตรวจหา acquired platelet function disorder

1. Drug-induced platelet dysfunction

มียาหลายชนิดที่มีผลต่อค่า CT จึงทำให้มีการใช้ PFA-100 เพื่อแสดงและติดตามผลการรักษาด้วยยาเหล่านี้ แอสไพรินเป็นยาต้านเกล็ดเลือดที่ใช้กันอย่างแพร่หลายโดยไปยับยั้งการทำงานของ cyclo-oxygenase (COX) enzyme ซึ่งเปลี่ยน arachidonic acid ให้เป็น thromboxane A2 มีฤทธิ์กระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดเมื่อไม่มี thromboxane A2 เกล็ดเลือดจึงจับตัวกันไม่ได้ มีการศึกษาเกี่ยวกับเรื่องนี้มากมายทั้งในคนปกติและในผู้ป่วย Mammen EF et al⁷ รายงานการศึกษาในผู้ป่วยที่มี platelet dysfunction (vWD, GT หรือ ASA ingestion) 176 ราย และคนปกติ 206 ราย พบว่าในกลุ่ม platelet dysfunction ที่มีสาเหตุจาก ASA มีความผิดปกติของ CEPI-CT ร้อยละ 94.5 ส่วนในกลุ่มคนปกติ 206 รายมี 127 รายที่ได้รับ ASA 325 mg หลังจากนั้น 2-3 ชั่วโมงจึงตรวจ PFA-100 และพบรูปแบบ aspirin effect (CEPI-CT ผิดปกติ แต่ CADP-CT ปกติ) จำนวน 91 ราย (ร้อยละ 71.7) Alberts MJ et al³⁸ ศึกษาในผู้ป่วย cerebrovascular disease จำนวน 129 รายที่ได้รับ ASA และใช้ PFA-100 (CEPI-CT) เพื่อประเมิน platelet function พบว่ากลุ่มที่ได้รับ low-dose ASA (≤ 162 mg/day) มีผล PFA-100 ปกติร้อยละ 56 เทียบกับกลุ่มที่ได้รับ ASA ≥ 325 mg/day ซึ่งมีผลปกติร้อยละ 28 ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับ enteric-coated ASA ผล PFA-100 ปกติร้อยละ 65 เทียบกับกลุ่มที่ได้รับ uncoated preparation ASA ที่มีผล PFA-100 ปกติร้อยละ 25 การเปรียบเทียบของยาทั้งสองคู่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ อีกการศึกษาหนึ่ง Roller RE et al³⁹

รายงานผู้ป่วย peripheral arterial disease (PAD) 26 รายที่ใช้ PFA-100 ติดตามผลรักษาพบว่าหลังจากได้รับ ASA 100 mg/day เป็นเวลา 7 วัน CADP-CT ไม่แตกต่างจากค่าที่ตรวจก่อนได้รับยา ขณะที่ CEPI-CT ของผู้ป่วยทุกคนจะยาวมากขึ้นเมื่อเทียบกับค่าที่ตรวจก่อนได้รับยา แยกเป็น 12 รายมี CEPI-CT > 300 sec และอีก 4 รายมี CEPI-CT > upper limit ซึ่งจัดเป็นกลุ่ม responder ที่เหลือ 10 รายที่ค่า CEPI-CT ต่ำกว่า upper limit จัดเป็นกลุ่ม non-responder ซึ่งในกลุ่มหลังนี้ 5 ราย ได้รับ ASA 300 mg/day เป็นเวลา 3 สัปดาห์ เมื่อตรวจ PFA-100 พบว่าทุกคนมี CEPI-CT < upper limit ซึ่งแสดงว่าการตอบสนองต่อ ASA ยังไม่ดีขึ้น จากรายงานเหล่านี้จะเห็นว่าเมื่อรักษาด้วย ASA จะมีผู้ป่วยบางส่วนที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษา

มีการศึกษามากมายที่รายงานภาวะ aspirin resistance Gum PA et al⁴⁰ ศึกษาในผู้ป่วย stable cardiovascular disease 325 ราย โดยให้ ASA 325 mg/day เป็นเวลา ≥ 7 วันพบว่าผู้ป่วยมีผล CEPI-CT ปกติ (หมายถึงมีภาวะ aspirin resistance) ร้อยละ 9.5 การใช้ PFA-100 ประเมินภาวะ aspirin resistance ในผู้ป่วยโรคต่างๆ ที่ใช้ low-dose ASA (75-150 mg/day) พบว่าความซุกของผู้ที่ไม่ตอบสนองต่อ ASA มีหลากหลาย Aikel S et al⁴¹ รายงานภาวะ aspirin resistance ร้อยละ 27.5 ในผู้ป่วยที่ได้รับการเปลี่ยนไต 40 รายที่ได้รับ ASA ขนาด 80 mg/day และพบว่ากลุ่มที่เป็น non-responders มี total cholesterol, low-density lipoprotein cholesterol, triglyceride, C-reactive protein และไฟบริโนเจนสูงกว่ากลุ่ม responder อย่างมีนัยสำคัญ Boncoraglio GB et al⁴² พบ ASA non-responder ร้อยละ 20.1 ในผู้ป่วย stable ischemic cerebrovascular disease 129 ราย เมื่อติดตามต่อไปอีก 56 เดือน พบ thrombotic event ใหม่พอๆ กันทั้งในกลุ่มที่ตอบสนองหรือไม่ตอบสนองต่อ ASA ยังมีรายงานพบว่าเมื่อผู้ป่วยได้รับ ASA เป็นเวลานานการตอบสนองอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงได้โดย Linnemann B et al⁴³ ศึกษาในผู้ป่วย stable peripheral arterial occlusive disease 98 รายที่ได้ ASA 100 mg/day พบภาวะ aspirin resistance ร้อยละ 12.2 เมื่อติดตามต่อไปอีกเป็นเวลาโดยเฉลี่ย 17 เดือนในผู้ป่วย 57 รายพบว่าใน 6 รายที่เป็น non-responder มี 3 ราย ที่ยังคงเป็นเช่นเดิม ส่วนอีก 3 รายกลับมาเป็น responder ส่วนที่เป็น responder 51 รายมี 12 รายกลับเปลี่ยนเป็น non-responder ภาวะ aspirin resistance อาจเกิดจากปัจจัยต่างๆ หลายอย่าง⁴⁴ จึงควรพิจารณาหาสาเหตุและปัจจัยที่มาเกี่ยวข้องก่อนระบุว่าเป็น non-responder ต่อแอสไพริน

PFA-100 CT ไม่ค่อยจะมีความไวต่อยา ticlopidine และ clopidogrel ซึ่งเป็นยาต้านเกล็ดเลือดเช่นกันโดยยาทั้งสองชนิดจะไปยับยั้งการจับของ ADP บน platelet receptor (P2Y₁₂ receptor) เป็นผลทำให้ ADP ไม่สามารถกระตุ้นการเปลี่ยนแปลงที่ glycoprotein IIb/IIIa receptor ซึ่งเป็น receptor สำหรับไฟโบรโนเจน เมื่อขั้นตอนนั้นถูกยับยั้งทำให้ไฟโบรโนเจนไม่สามารถทำหน้าที่ให้เกล็ดเลือดมารวมตัวกันได้ ผู้ป่วยที่ได้รับยาทั้งสองชนิดให้ผล CEPI-CT และ CADP-CT ปกติ^{45,46} ในปัจจุบันมีการพัฒนา cartridge ที่มีความไวมากขึ้นสำหรับใช้ตรวจหาความผิดปกติของเกล็ดเลือดภายหลังจากการใช้ยาในกลุ่ม P2Y₁₂ receptor inhibitor (INNOVANCE P2Y cartridge) ซึ่ง cartridge นี้มีช่อง aperture เล็ก (100 μ m) และผนังของ aperture จะถูกเคลือบด้วย ADP, PGE1 และแคลเซียม

ส่วนยาต้านเกล็ดเลือดอีกชนิดหนึ่งคือ abciximab ซึ่งออกฤทธิ์ยับยั้ง glycoprotein IIb/IIIa receptor มีผลทำให้เกล็ดเลือดจับตัวกันไม่ได้เช่นกัน ผู้ป่วยที่ได้รับยานี้ค่า CEPI-CT และ CADP-CT จะยาวทั้งคู่⁴⁷ ยาในกลุ่ม NSAIDs นอกจาก ASA เช่น dexketoprofen และ dipyronne จะให้ผล CEPI-CT ยาว⁴⁸ ส่วน ibuprofen, naproxen และ flurbiprofen นั้น ผู้ป่วยที่ได้รับยา ibuprofen จะให้ผล CEPI-CT ยาวเล็กน้อย ขณะที่ผู้ป่วยที่ได้รับยา naproxen และ flurbiprofen จะให้ผล CEPI-CT ยาวปานกลางถึงยาวมาก⁴⁹ และ meloxicam ซึ่งเป็น NSAIDs เช่นกัน จะพบ CEPI-CT ยาวเพียงเล็กน้อยเท่านั้น⁵¹ สำหรับ heparin มีรายงานว่าไม่มีผลต่อ CT⁴⁷

2. Cardiopulmonary bypass

ความผิดปกติในหน้าที่ของเกล็ดเลือดน่าจะเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้มีเลือดออกมากหลังจากทำ cardiopulmonary bypass (CBP) การทดสอบ PFA-100 ซึ่งเป็นวิธีการที่รวดเร็ว มีความไวและความจำเพาะในการตรวจหา platelet dysfunction น่าจะมีประโยชน์ในการระบุผู้ป่วยที่เสี่ยงจะมีเลือดออก Lasne D et al⁵¹ ศึกษาในผู้ป่วย severe angina และที่มีประวัติ myocardial infarction ที่กำลังจะทำ CBP จำนวน 146 ราย เมื่อเจาะเลือดมาทำ PFA-100 ใน 3 ช่วงเวลาคือก่อนการผ่าตัด หลังจากได้รับ protamine 15 นาที และ 5 ชั่วโมง เมื่อเสร็จการผ่าตัด พบว่าก่อนผ่าตัดค่าเฉลี่ย CEPI-CT และ CADP-CT อยู่ในเกณฑ์ปกติแต่เมื่อดูเป็นรายบุคคลพบว่า CEPI-CT ยาวอย่างเดียว 5 ราย CADP-CT ยาวอย่างเดียว 5 รายและยาวทั้งสองอย่าง 1 ราย หลังจากผ่าตัด CT ของทั้งสอง cartridge ยาวมากขึ้นเมื่อวัดที่ 15 นาที หลังจากผ่าตัด แต่จะลดลงต่ำกว่าก่อนผ่าตัดเมื่อวัดที่ 5 ชั่วโมง

หลังจากได้รับ protamine ขณะที่ค่า Hct และ platelet count มีค่าต่ำลงที่ 15 นาที และจะกลับเพิ่มขึ้นที่ 5 ชั่วโมงหลังจากผ่าตัด การที่ CT ยาวมากขึ้นเมื่อวัดที่ 15 นาทีหลังผ่าตัด ผู้วิจัยให้ความเห็นว่าส่วนหนึ่งน่าจะมาจาก CBP-induced hemodilution และผลจาก Hct และ platelet count ต่ำลง นอกจากนั้นพบว่าผลของ PFA-100 ในทั้งสอง cartridge ทั้งก่อนหรือหลังผ่าตัดไม่มีความสัมพันธ์กับการเสียเลือด ดังนั้นจึงไม่สามารถใช้พยากรณ์ความเสี่ยงในการเสียเลือดได้

อีกการศึกษาหนึ่ง Slaughter TE et al⁵² รายงานในผู้ป่วยที่มีกำหนดจะทำ elective primary coronary artery bypass graft (CABG) จำนวน 18 ราย เมื่อเจาะเลือดมาศึกษา 5 ช่วงเวลาคือก่อนผ่าตัด หลังจากให้เฮปาริน (heparin) 5 นาที หลังจากเริ่มทำ bypass 5 และ 30 นาที และหลังจากให้ protamine 15 นาทีเมื่อจบการผ่าตัด พบว่าค่า CEPI-CT จะยาวตั้งแต่ก่อนผ่าตัดและยาวตลอดในทุกช่วงเวลา ผู้วิจัยให้ข้อคิดเห็นว่าเนื่องจากผู้ป่วยกลุ่มนี้ได้รับ ASA ก่อนการผ่าตัดดังนั้น CEPI-CT จึงมีข้อจำกัดในการใช้ประเมินผล ส่วนค่า CADP-CT ก่อนผ่าตัดมีค่าปกติ เมื่อได้เฮปาริน ค่ายาวขึ้นเกินค่าปกติเล็กน้อยแต่ในระหว่างผ่าตัดค่าเพิ่มขึ้นมากและจะลดลงเกือบจะถึงค่าปกติหลังจากได้ protamine ค่าเฉลี่ยของ Hct และ platelet count ลดลงในขณะที่ทำการผ่าตัด แต่เมื่อนำ washed red blood cell (RBC) ของผู้ป่วยแต่ละรายมาเติมลงใน blood sample ที่เจาะในขณะผ่าตัดเพื่อให้ Hct กลับมาเท่ากับค่าก่อนผ่าตัดของแต่ละราย พบว่าผล CADP-CT ของ blood sample ทั้งก่อนและหลังจาก correct ค่า Hct แล้วไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ในทำนองเดียวกันได้วัด CADP-CT ทั้งก่อนและหลังจากเติม vWF concentration ลงใน blood sample ที่เจาะในขณะผ่าตัดของผู้ป่วย 4 รายพบว่า 3 รายค่าไม่ต่างกัน ที่เหลืออีก 1 รายค่าลดลงร้อยละ 25 เมื่อดูความสัมพันธ์ระหว่าง CT กับการเสียเลือดหลังผ่าตัดในผู้ป่วยอีกกลุ่มหนึ่ง (n = 58) โดยเจาะเลือด 2 ช่วงคือก่อนผ่าตัดและหลังจากได้รับ protamine 15 นาที พบว่า CADP-CT ทั้งสองช่วงเวลาไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณการเสียเลือดอย่างมีนัยสำคัญ sensitivity ของ CADP-CT ที่วัดหลังจากผ่าตัด 15 นาทีในการระบุผู้ที่เป็น bleeder เท่ากับร้อยละ 50 (2 ใน 4 ของ bleeder มี CADP-CT ยาวกว่าปกติ) และมี specificity ในการระบุผู้ที่เป็น non-bleeder เท่ากับร้อยละ 80 (43 ใน 54 ของ non-bleeder มี CADP-CT ปกติ) มี positive predictive value ร้อยละ 18 (2 ใน 11 ของผู้ป่วยที่ CADP-CT ผิดปกติและมีประวัติเลือดออกมาก) มี negative predictive value ร้อยละ 96 (45 ใน

47 ของผู้ป่วยที่ CADP-CT ปกติและมีประวัติเลือดออกน้อย) มีผู้ป่วย 20 รายได้รับ platelet transfusion หลังจากการผ่าตัด ซึ่งในกลุ่มนี้มี 12 รายที่ผล CADP-CT ต่ำกว่าผลก่อนผ่าตัดและผลของ CADP-CT ที่วัดหลังจากได้รับ protamine 15 นาทีในกลุ่มที่ได้รับและไม่ได้รับ platelet transfusion ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

มีรายงานโดย Raman S et al⁵³ ในการใช้ PFA-100 แสดง platelet function status ในผู้ป่วยที่กำลังจะทำ coronary artery bypass จำนวน 98 รายซึ่งมี coagulation function และ platelet count ปกติและหยุดยา aspirin หรือยาต้านเกล็ดเลือดอื่นๆ อย่างน้อย 3 วันก่อนผ่าตัด การตรวจ PFA-100 ทำ 2 ช่วงเวลาคือ ก่อนให้เฮพารินเพื่อเริ่มผ่าตัดและหลังจากให้ protamine 15 นาทีเมื่อจบการผ่าตัดในผู้ป่วย 98 ราย มีปัญหาเลือดออกมากผิดปกติหลังผ่าตัด 36 ราย ได้รับ platelet transfusion 16 ราย ที่เหลืออีก 20 ราย ต้องการมากกว่า platelet transfusion ในการรักษาภาวะเลือดออก ค่า CADP-CT ที่วัดก่อนผ่าตัดให้ผลปกติทุกราย ส่วนที่วัดหลังผ่าตัดในกลุ่มที่ได้รับ platelet transfusion พบค่าผิดปกติ 15/16 ราย ในกลุ่มที่ไม่มีปัญหาเลือดออกมีค่าผิดปกติ 6/62 ราย และในกลุ่มที่ต้องการมากกว่า platelet transfusion มีค่าผิดปกติ 3/20 ราย sensitivity และ specificity ของ PFA-100 ในการระบุผู้ป่วยที่จะตอบสนองต่อ platelet transfusion เท่ากับร้อยละ 94 (15/16) และร้อยละ 85 (17/20) ตามลำดับ ผู้วิจัยให้ข้อคิดเห็นว่า PFA-100 มีศักยภาพในการที่จะระบุผู้ป่วยรายไหนจะได้ประโยชน์สูงสุดจาก platelet transfusion จะเห็นว่าการศึกษาในการใช้ PFA-100 เพื่อการคัดกรองผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงในการเสียเลือดเมื่อมีการผ่าตัดทำ CBP ยังไม่มีความสอดคล้องกันมากนักคงต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไปเพื่อให้ได้ข้อสรุปที่ชัดเจน

3. Cardiovascular disease

ในผู้ป่วย acute coronary syndrome (ACS) จะพบว่า เกล็ดเลือดถูกกระตุ้นให้ทำงานมากขึ้น มีข้อมูลมากมายที่แสดงว่าเกล็ดเลือดมีบทบาทสำคัญต่อการดำเนินของโรคและต่อผลการรักษา ACS^{54,55} นอกจากนั้น vWF ก็เป็นปัจจัยชี้วัดที่ชัดเจนอีกอันหนึ่งของ cardiovascular risk⁵⁶ จากการศึกษาของ Frossard M et al⁵⁷ ในผู้ป่วยที่มีอาการเจ็บหน้าอกและอาการบ่งถึง ACS จำนวน 216 ราย พบว่าค่าเฉลี่ย CADP-CT ในกลุ่มที่เป็น ST segment elevation myocardial infarction (STEMI) จะสั้นมากกว่ากลุ่มที่เป็น coronary artery disease (CAD), unstable angina pectoris (UAP), non-STEMI หรือกลุ่ม control และ

ยังพบว่าระดับ vWF:RCo ในพลาสมามีความสัมพันธ์แบบผกผันกับ CADP-CT ในผู้ป่วย ACS และการที่ CT ในผู้ป่วยเหล่านี้สั้นลงส่วนหนึ่งมาจาก vWF:RCo ที่เพิ่มสูงขึ้น จากการที่ผู้ป่วย STEMI มีค่าเฉลี่ย CADP-CT สั้นมากกว่าผู้ป่วย non-STEMI ทั้งๆ ที่มี vWF:RCo อยู่ในระดับสูงพอๆ กันแสดงว่าผู้ป่วย STEMI มี platelet function เพิ่มขึ้นร่วมด้วย นอกจากนั้นยังพบว่า CADP-CT มีความสัมพันธ์แบบผกผันกับ peak level ของ creatinine kinase (CK) และ troponin T (TnT) ยิ่งค่า CADP-CT สั้นลงค่า CK และ TnT กลับยิ่งเพิ่มสูงขึ้นซึ่งหมายถึงเมื่อมีการใช้เวลาในการสร้างลิ้มเลือดภายใต้ high shear สั้นลงกล้ามเนื้อหัวใจจะมีความเสียหายมากขึ้น เนื่องจาก peak level ของ CK และ TnT จะถูกสังเกตพบที่ 9 และ 22 ชั่วโมงหลังจากเข้ารับการรักษา ดังนั้น CADP-CT จึงสามารถพยากรณ์ระดับความรุนแรงของ myocardial infarction ได้ทันทีที่แผนกฉุกเฉิน อีกการศึกษาหนึ่ง⁵⁸ ตรวจ PFA-100 ในผู้ป่วยก่อนที่จะทำ CABG 308 ราย และก่อนทำ aortic mitral valve replacement 90 ราย พบว่าผล PFA-100 ของทั้งสอง cartridge ยาวผิดปกติร้อยละ 15.6 ในผู้ป่วยกลุ่มแรกและร้อยละ 82.4 ในผู้ป่วยกลุ่มหลังซึ่งผู้วิจัยให้ข้อสรุปว่าการที่ผู้ป่วย valvular heart disease มีความผิดปกติของ platelet function สูงซึ่งไม่ค่อยพบในผู้ป่วยที่เป็น CAD เพียงอย่างเดียว นั้นน่าจะมาจากเกล็ดเลือดถูกกระตุ้นจาก abnormal shear stress ร่วมกับความผิดปกติทาง mechanical ของลิ้นหัวใจซึ่งต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไปเพื่อระบุความผิดปกติที่แท้จริงของเกล็ดเลือดในผู้ป่วยเหล่านี้

ความผิดปกติทั้ง vWF และ platelet function ที่เกิดจาก shear stress-induced hemostatic defect พบได้มากในผู้ป่วย severe aortic valve stenosis^{59,60} ในกรณีนี้ PFA-100 มีบทบาทสำคัญเนื่องจากสามารถตรวจหาความผิดปกติทั้งสองอย่างนี้ในการตรวจเพียงครั้งเดียว Sucker C et al⁶¹ ศึกษาในผู้ป่วย aortic valve stenosis หรือ mixed aortic valve defect จำนวน 50 ราย ที่มีกำหนดทำ aortic valve replacement ก่อนผ่าตัด 10 วัน ผู้ป่วยหยุดยา antiplatelet, analgesics และ antibiotics และได้รับการตรวจ PFA-100 ก่อนผ่าตัด 1 วัน พบว่าผล CEPI-CT และ CADP-CT ของผู้ป่วยเหล่านี้ยาวกว่าคนปกติอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากผู้ป่วยไม่มีปัญหาซีด และมีค่า Hct ปกติจึงตัดการรบกวนผล CT จากการมีจำนวนเม็ดเลือดแดงต่ำออกไป นอกจากนั้นยังพบว่าผล CEPI-CT และ CADP-CT มีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรคและกับการให้เลือดในระหว่างการผ่าตัด รวมทั้งกับจำนวนเลือดที่ออกทาง drain ที่วัดปริมาณ

หลังจากผ่าตัด 5 นาที แต่ CT ของทั้งสอง cartridge ไม่มีความสัมพันธ์กับการให้เลือดหลังจากการผ่าตัดรวมทั้งไม่มีความสัมพันธ์กับการให้ fresh frozen plasma (FFP) การที่พบว่าผู้ป่วย aortic valve stenosis มักจะมี CT ยาวผิดปกติชี้ให้เห็นว่ามี shear stress-induced hemostatic abnormality เกิดขึ้นและผลของ CT มีความสัมพันธ์กับการให้เลือดและการเสียเลือดบ่งบอกว่าผู้ป่วยมีความเสี่ยงที่จะมีเลือดออกเมื่อมีการผ่าตัด (higher perioperative bleeding risk)

สรุป

โดยสรุปการใช้ PFA-100 ที่มีการศึกษาในทางคลินิก ได้แก่

- ใช้ในการตรวจวินิจฉัยเบื้องต้น (screening) สำหรับตรวจหาความผิดปกติทางพันธุกรรมของ primary hemostasis เช่น Bernard-Soulier disease, Glanzmann's thrombasthenia สำหรับการตรวจการทำงานของเกล็ดเลือดผิดปกติจาก storage pool deficiency และ primary secretion defect จะมีความไวไม่สูง

- ใช้ในการตรวจวินิจฉัยเบื้องต้นสำหรับตรวจหา vWD ความไวของ PFA-100 ที่รวบรวมจากผลการศึกษาต่างๆ ในการตรวจหา vWD ทุกชนิดมีตั้งแต่ร้อยละ 85-90

- ใช้ในการตรวจวินิจฉัยเบื้องต้นสำหรับตรวจหา acquired platelet function disorder เช่น drug-induced platelet dysfunction ที่พบบ่อยคือ aspirin-induced platelet dysfunction

- ใช้ติดตามผลการรักษาด้วยยา DDAVP สำหรับ vWD และ functional platelet disorder อื่นๆ และติดตามการรักษาด้วยยาต้านเกล็ดเลือดต่างๆ เช่น แอสไพริน รวมทั้งตรวจหาภาวะ aspirin resistance

- ใช้เป็น point of care เพื่อประเมิน primary hemostasis ของผู้ป่วยก่อนการผ่าตัด ใช้ติดตามการตอบสนองต่อการให้เลือดในขณะทำการผ่าตัด หรือต่อการให้เกล็ดเลือดเข้มข้นในผู้ป่วยที่มีภาวะเลือดออกแทรกซ้อนหลังการผ่าตัด แต่ข้อมูลความสัมพันธ์ของ PFA-100 กับการเสียเลือดยังคงมีน้อยจึงควรศึกษาเพิ่มเติมต่อไป ในหญิงตั้งครรภ์ยังไม่มีการศึกษามากพอจึงไม่น่าจะเป็นข้อบ่งใช้

อย่างไรก็ตามการทดสอบ PFA-100 เป็นการตรวจดูการทำงานของเกล็ดเลือดและ vWF โดยรวม (global test) ไม่ได้จำเพาะสำหรับความผิดปกติอันใดอันหนึ่ง ถ้าผู้ป่วยมีความผิดปกติของการทำงานของเกล็ดเลือดจากการที่ค่า CT ยาว จำเป็นต้องตรวจดูการทำงานของเกล็ดเลือดที่จำเพาะ (specific test) ต่อไป ค่า CT ที่ปกติจะสามารถทำนายว่าผู้ป่วยไม่น่าจะมีความผิดปกติในการทำงานของเกล็ดเลือดที่รุนแรงและ type 2 หรือ type 3 vWD

เอกสารอ้างอิง

1. Kratzer MAA, Born GVR. Simulation of primary haemostasis in vitro. *Haemostasis* 1985;15:357-62.
2. Kratzer MAA, Bellucci S, Caen JP. Detection of abnormal platelet functions with an in vitro model of primary haemostasis. *Haemostasis* 1985;15:363-70.
3. Kunda SK, Sio R, Miyu A, Ostgaard R. Evaluation of platelet function by PFA-100. *Clin Chem* 1994;40:1827-8.
4. Kunda SK, Heilmann EJ, Sio R, Garcia C, Davidson RM, Ostgaard RA. Description of an in vitro platelet function analyzer-PFA-100. *Semin Thromb Hemost* 1995;21(Suppl 2):106-12.
5. Kunda SK, Heilmann EJ, Sio R, Garcia C, Ostgaard RA. Characterization of an in vitro platelet function analyzer, PFA -100. *Clin Appl Thromb Haemost* 1996;2:241-9.
6. Francis JL. Platelet function analyzer (PFA-100). In: Michelson AD, editor. *Platelets*. San Diego: Academic Press; 2004:325-35.
7. Mammen EF, Comp PC, Gosselin R, Greenberg C, Hoots WK, Kessler CM, et al. PFA-100 system: a new method for assessment of platelet dysfunction. *Semin Thromb Hemost* 1998;24:195-202.
8. Fressinaud E, Veyradier A, Truchaud F, Martin I, Boyer-Neumann C, Trossaert M, et al. Screening for von Willebrand disease with a new analyzer using high shear stress: a study of 60 cases. *Blood* 1998;91:1325-31.
9. Cattaneo M, Lecchi A, Agati B, Lombardi R, Zighetti ML. Evaluation of platelet function with the PFA-100 system in patients with congenital defects of platelet secretion. *Thromb Res* 1999;96:213-7.
10. Jilma B. Platelet function analyzer (PFA-100): a tool to quantify congenital or acquired platelet dysfunction. *J Lab Clin Med* 2001;138:152-63.
11. Harrison P, Robinson MS, Mackie IJ, Joseph J, McDonald SJ, Liesner R, et al. Performance of the platelet function analyser PFA-100 in testing abnormalities of primary haemostasis. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1999;10:25-31.
12. Favaloro EJ. Clinical application of the PFA-100. *Curr Opin Hematol* 2002;9:407-15.
13. Harrison P, Robinson M, Liesner R, Khair K, Cohen H, Mackie I, et al. The PFA-100: a potential rapid screening tool for the assessment of platelet dysfunction. *Clin Lab Haematol* 2002;24:225-32.
14. Heilmann EJ, Kunda SK, Sio R, Garcia C, Gomez R, Christie DJ. Comparison of four commercial citrate blood collection systems for platelet function analysis by the PFA-100 system. *Thromb Res* 1997;87:159-64.
15. Kerenyi A, Schlammadinger A, Ajzner E, Szegedi I, Kiss C, Pap Z, et al. Comparison of PFA-100 closure time and template bleeding time of patients with inherited disorders causing defective platelet function. *Thromb Res* 1999;96:487-92.
16. Francis J, Francis D, Larson L, Larson L, Helms E, Garcia M. Can the platelet function analyzer (PFA-100) test substitute for the template bleeding time in routine clinical practice? *Platelets* 1999;10:132-6.

17. Sohngen D, Hattstein E, Heyll A, Meckenstock G, Wienen S, Schneider W. Hematological parameters influencing the Thrombstat 4000. *Semin Thromb Hemost* 1995;21(suppl):20-4.
18. Anand A, Feffer SE. Hematocrit and bleeding time: an update. *South Med J* 1994;87:299-301.
19. Lippi G, Fontana R, Avanzini P, Aloe R, Ippolito L, Sandei F, et al. Influence of mechanical trauma of blood and hemolysis on PFA-100 testing. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2012;23:82-6.
20. Bock M, Haan J De, Beck KH, Gutensohn K, Hertfelder HJ, Karger R, et al. Standardization of the PFA-100 platelet function test in 105 mmol/L buffered citrate: effect of gender, smoking, and oral contraceptives. *Br J Haematol* 1999;106:898-904.
21. Sestito A, Sciahbasi A, Landolfi R, Maseri A, Lanza GA, Andreotti F. A simple assay for platelet-mediated hemostasis in flowing whole blood (PFA-100): reproducibility and effects of sex and age. *Cardiologia* 1999;44:661-5.
22. Isaels SJ, Cheang T, McMillan-Ward EM, Cheang M. Evaluation of primary hemostasis in neonates with a new in vitro platelet function analyzer. *J Pediatr* 2001;138:116-9.
23. Carcao MD, Blanechette VS, Dean JA, He L, Kern MA, Stain AM, et al. The platelet function analyzer (PFA-100): a novel in-vitro system for evaluation of primary hemostasis in children. *Br J Haematol* 1998;101:70-3.
24. Dalby MC, Davidson SJ, Burman JF, Davies SW. Diurnal variation in platelet aggregation with the PFA-100 platelet function analyzer. *Platelets* 2000;11:320-4.
25. Nitu-Whalley IC, Lee CA, Brown SA, Riddell A, Hermans C. The role of the platelet function analyser (PFA-100) in the characterization of patients with von Willebrand's disease and its relationship with von Willebrand factor and the ABO blood groups. *Haemophilia* 2003;9:298-302.
26. Nitu-Whalley IC, Lee CA, Hermans C. Reassessment of the correlation between the von Willebrand factor activity, the PFA-100, and the bleeding time in patients with von Willebrand disease. *Thromb Haemost* 2001;86:715-6.
27. Lippi G, Franchini M, Brocco G, Manzato F. Influence of ABO blood groups on the platelet function analyzer PFA-100. *Thromb Haemost* 2001;85:369-70.
28. Cattaneo M, Federici AB, Lecchi A, Agati B, Lombardi R, Stabile F, et al. Evaluation of the PFA-100 system in the diagnosis and therapeutic monitoring of patients with von Willebrand disease. *Thromb Haemost* 1999;82:35-9.
29. Fressinaud E, Veyradier A, Sigaud M, Boyer-Neumann C, Le Boterff C, Meyer D. Therapeutic monitoring of von Willebrand disease: interest and limits of a platelet function analyser at high shear rates. *Br J Haematol* 1999;106:777-83.
30. Vincentelli A, Susen S, Le TT, Six I, Fabre O, Juthier F, et al. Acquired von Willebrand syndrome in aortic stenosis. *N Engl J Med* 2003;349:343-9.
31. Di Paola J, Federici AB, Mannucci PM, Canciani MT, Kritzik M, Kunicki TJ, Nugent D. Low platelet alpha2beta levels in type 1 von Willebrand disease correlate with impaired platelet function in a high shear stress system. *Blood* 1999;93:3578-82.
32. Pearson DA, Paglieroni TG, Rein D, Wun T, Schramm DD, Wang JF, et al. The effects of flavanol-rich cocoa and aspirin on ex vivo platelet function. *Thromb Res* 2002;106:191-7.
33. Podda GM, Bucciarelli P, Lussana F, Lecchi A, Cattaneo M. Usefulness of PFA-100 testing in the diagnostic screening of patients with suspected abnormalities of hemostasis: comparison with the bleeding time. *J Thromb Haemost* 2007;5:2393-8.
34. Harrison P. The role of PFA-100 testing in the investigation and management of haemostatic defects in children and adults. *Br J Haematol* 2005;130:3-10.
35. Sladky JL, Klima J, Grooms L, Kerlin BA, O'Brien SH. The PFA-100 dose not predict delta-granule platelet storage pool deficiencies. *Haemophilia* 2012;18:626-9.
36. Akin M, Karapinar DY, Balkan C, Ay Y, Kavakli K. An evaluation of the DDAVP infusion test with PFA-100 and vWF activity assays to distinguish vWD types in children. *Clin Appl Thromb Hemost* 2011;17:441-8.
37. van Vliet HHDM, Kappers-Klunne MC, Leebeek FWG, Michiels J. PFA-100 monitoring of von Willebrand factor (vWF) responses to desmopressin (DDAVP) and factor VIII/vWF concentrate substitution in von Willebrand disease type 1 and 2. *Thromb Haemost* 2008;100:462-8.
38. Alberts MJ, Bergman DL, Molner E, Jovanovic BD, Ushiwata I, Teruya J. Antiplatelet effect of aspirin in patients with cerebrovascular disease. *Stroke* 2004;35:175-8.
39. Roller RE, Dorr A, Ulrich S, Pilger E. Effect of aspirin treatment in patients with peripheral arterial disease monitored with the platelet function analyzer PFA-100. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2002;13:277-81.
40. Gum PA, Kottke-Marchant K, Poggio ED, Gurm H, Welsh PA, Brooks L, et al. Profile and prevalence of aspirin resistance in patients with cardiovascular disease. *Am J Cardiol* 2001;88:230-5.
41. Acikel S, Yildirim A, Aydinalp A, Demirtas K, Bal U, Kaynar G, et al. Incidence of aspirin resistance and its relationship with cardiovascular risk factors and graft function in renal transplant recipients. *Transplant Proc* 2008;40:3485-8.
42. Boncoraglio GB, Bodini A, Brambilla C, Carriero MR, Parati EA. Aspirin resistance determined with PFA-100 does not predict new thrombotic events in patients with stable ischemic cerebrovascular disease. *Clin Neurol Neurosurg* 2009;111:270-3.
43. Linnemann B, Prochnow S, Mani H, Schwonberg J, Lindhoff-Last E. Variability of non-response to aspirin in patients with peripheral arterial occlusive disease during long-term follow-up. *Ann Haematol* 2009;88:979-88.

44. Michelson AD, Cattaneo M, Eikelboom JW, Gurbel P, Kottke-Marchant K, Kunicki TJ, et al. Aspirin resistance: position paper of the Working Group on Aspirin Resistance. *J Thromb Haemost* 2005;3:1309-11.
45. Hezard N, Metz D, Nazeyrollas P, Droullé C, Potron G, Nguyen P. PFA-100 and flow cytometry: can they challenge aggregometry to assess antiplatelet agents, other than GPIIb/IIIa blockers, in coronary angioplasty? *Thromb Res* 2003;108:43-7.
46. Mueller T, Haltmayer M, Poelz W, Haidinger D. Monitoring aspirin 100 mg and lopidogrel 75 mg therapy with the PFA-100 device in patients with peripheral arterial disease. *Vasc Endovasc Surg* 2003;37:117-23.
47. Kottke-Marchant K, Powers JB, Brooks L, Kundu S, Christie DJ. The effect of antiplatelet drugs, heparin, and preanalytical variables on platelet function detected by the platelet function analyzer (PFA-100). *Clin Appl Thromb Hemost* 1999;5:122-30.
48. Parkhutik V, Lago A, Tembl JJ, Rubio C, Fuset MP, Vallés J, et al. Influence of COX-inhibiting analgesics on the platelet function of patients with subarachnoid hemorrhage. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 2012;21:755-9.
49. Akin M and Polat Y. Platelet function analyzer (PFA)-100 closure time in the Evaluation of non-steroidal anti-inflammatory drug-induced platelet dysfunction in children with bleeding symptoms. *Blood Transfus* 2012;10:545-6.
50. de Meijer A, Vollaard H, de Metz M, Verbruggen B, Thomas C, Novakova I. Meloxicam, 15 mg/day, spares platelet function in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther* 1999;66:425-30.
51. Lasne D, Fiemeyer A, Chatellier G, Chammas C, Baron JF, Aiach M. A study of platelet functions with a new analyzer using high shear stress (PFA 100) in patients undergoing coronary artery bypass graft. *Thromb Haemost* 2000;84:794-9.
52. Slaughter TF, Streeram G, Sharma AD, EI-Moalem H, East CJ, Greenberg CS. Reversible shear-induced platelet dysfunction during cardiac surgery as assessed by the PFA-100 (Platelet Function Analyzer). *Blood Coagul Fibrinolysis* 2001;12:85-93.
53. Raman S, Silverman NA. Clinical utility of the platelet function analyzer (PFA-100) in cardiothoracic procedures involving extracorporeal circulation. *J Thorac Cardiovas Surg* 2001;190-1.
54. Aukrust P, Muller F, Ueland T, Berget T, Aaser E, Brunsvig A, et al. Enhanced levels of soluble and membrane-bound CD40 ligand in patients with unstable angina: possible reflection of lymphocyte and platelet involvement in the pathogenesis of acute coronary syndromes. *Circulation* 1999;100:614-20.
55. Roffi M, Chew DP, Mukherjee D, Bhatt DL, White JA, Heeschen C, et al. Platelet glycoprotein IIb/IIIa inhibitors reduce mortality in diabetic patients with non-ST-segment-elevation acute coronary syndromes. *Circulation* 2001;104:2767-71.
56. Lip GY, Blann A. von Willebrand factor: a marker of endothelial dysfunction in vascular disorders? *Cardiovasc Res* 1997;34:255-65.
57. Frossard M, Fuchs I, Leitner JM, Hsieh K, Vlcek M, Losert H, et al. Platelet function predicts myocardial damage in patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 2004;110:1392-7.
58. Francis JL. Platelet dysfunction detected at high shear in patients with heart valve disease. *Platelets* 2000;11:133-6.
59. Sucker C, Stockschrader M, Zotz RB, Scharf RE. Acquired von Willebrand syndrome. *Dtsch Med Wschr* 2004;129:1581-5.
60. Sucker C. The Hyde syndrome: proposal for a unifying concept explaining the association of aortic valve stenosis, gastrointestinal angiodysplasia and bleeding. *Int J Cardiol* 2007;115:77-8.
61. Sucker C, Zotz RB, Kurt M, Feindt P, Litmathe J. Platelet-function analyzer closure times indicate shear stress-induced hemostasis abnormalities in patients with aortic valve stenosis and correlate with perioperative transfusion requirements. *Perfusion* 2010;25:153-8.

