บทความฟื้นวิชา

น้ำยากันโลหิตแข็งและน้ำยาเสริมสำหรับเก็บเม็ดโลหิตแดง

นรินทร์ กิจเกรียงไกรกุล

ฝ่ายผลิตถุงบรรจุโลหิต อุปกรณ์และน้ำยา ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

โลหิตเป็นของเหลวที่ไหลเวียนในร่างกาย ถ้าหากมีการสูญเสียโลหิตมากในระดับหนึ่งและไม่ได้รับการถ่ายโลหิต (blood transfusion) อย่างทันทีและเพียงพอก็จะทำให้เสียชีวิตได้[1] การทดลองที่เกี่ยวกับการถ่ายโลหิตในมนุษย์มีมานานกว่า 300 ปีและมีความพยายามที่จะเก็บรักษาโลหิตของมนุษย์มาตั้งแต่ต้นคริสตศตวรรษ 1900

ประวัติการพัฒนาน้ำยากันโลหิตแข็ง (anticoagulant) ในงานบริการโลหิต

จากหลักฐานในยุโรป เมื่อปี ค.ศ. 1665 นักสรีรศาสตร์ชาวอังกฤษชื่อ Richard Lower ได้ทดลองถ่ายโลหิตจากสัตว์ตัวหนึ่งไปยังอีกตัวหนึ่งเป็นผลสำเร็จโดยสัตว์ไม่ตาย ต่อมาในปี ค.ศ. 1672 มีนักวิจัยชื่อ Jean-Baptiste Denis พยายามถ่ายโลหิตแกะให้มนุษย์แต่ต้องประสบความล้มเหลว การวิจัยด้านการถ่ายโลหิตจึงหยุดชะงักไป 150 ปีเนื่องจากกลัวผู้รับ (recipient) จะเสียชีวิต[2]

ค.ศ. 1813 สูติแพทย์ชาวอังกฤษชื่อ James Blundell ได้พยายามถ่ายโลหิตให้สตรีที่คลอดบุตรแล้วตกเลือดมาก ทำให้สูติแพทย์ในอเมริกาเกิดความตื่นตัวพยายามทำการถ่ายโลหิตในกิจกรรมทางสูติกรรม แต่ด้วยวิธีการที่ยุ่งยากในการหาหลอดโลหิตแดงของผู้บริจาคไปต่อกับหลอดโลหิตดำของผู้รับและต้องนอนเคียงกันตลอดเวลาที่ถ่ายโลหิต ผลข้างเคียงคือเกิดการแข็งตัวของโลหิต (blood clotting) ร้อยละ 40 การแตกสลายของเม็ดโลหิต (hemolysis) จำนวนมาก และมักลงเอยด้วยการเสียชีวิต[2]

ปี ค.ศ. 1914 ได้มีการค้นพบที่สำคัญที่สุดโดย Albert Hustin จากเบลเยี่ยม Luis Agote จากอาร์เจนตินา และ Richard Lewison จากสหรัฐอเมริกา ว่าสาร sodium citrate ซึ่งเป็นสารง่ายๆ ในห้องทดลอง ไม่มีพิษภัยและยังราคาถูก สามารถนำมาใช้ระงับการแข็งตัวของโลหิตได้ จากการค้นพบครั้งนี้ทำให้สามารถเก็บรักษาโลหิตสำรองไว้ใช้สำหรับผู้ป่วยได้ตลอดเวลาเป็นหลักการของวิธีถ่ายโลหิตที่ใช้มาจนถึงปัจจุบัน[1]

ค.ศ. 1916 Francis Rous และ J.R. Turner ได้เติมน้ำตาล dextrose หรือ sacharose ในโลหิตของกระต่ายซึ่งเก็บใน sodium citrate พบว่าเม็ดโลหิตไหลเวียนและทำหน้าที่ได้ดีขึ้น สามารถเก็บรักษาได้นาน 2 สัปดาห์[1,3]

ค.ศ. 1918 ในช่วงสงครามโลกครั้งที่ 1 นายทหารจากประเทศแคนาดาชื่อ Oswald H. Robertson ที่ถูกส่งไปช่วยรบที่ฝรั่งเศสได้นำหลักการนี้มาใช้โดยนำ steriled isotonic dextrose กับ steriled isotonic citrate มาผสมกันและนำไปทดลองเก็บโลหิต พบว่าเก็บได้นานถึง 10 วัน แต่การนำไปใช้ไม่ได้ให้โลหิตในสภาพที่ปนน้ำยาทั้งหมด ต้องทิ้ง supernatant ไปคงเหลือแต่ packed red cell (PRC) เท่านั้น การให้โลหิตวิธีนี้สามารถช่วยชีวิตทหารที่ได้รับบาดเจ็บได้เป็นจำนวนมาก เป็นการเริ่มต้นของการให้โลหิตในมนุษย์ที่เจาะเก็บในน้ำยาตัวแรก[1, 4]

ค.ศ. 1943 Loutit และ Mollison ได้พัฒนาโดยการเติม citric acid ลงใน sodium citrate กับ dextrose ได้เป็น acid citrate dextrose หรือน้ำยา ACD ที่เรารู้จักกันมาจนทุกวันนี้ โดยสามารถใช้เก็บรักษาโลหิตได้นาน 21 วัน จุดประสงค์ของการเติม citric acid เนื่องมาจากปัญหาในการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำ (autoclave) ของน้ำตาลซึ่งจะเกิดปฏิกิริยา caramellization ดังนั้นจึงต้องแยก autoclave น้ำยาทั้ง 2 ชนิดก่อนแล้วค่อยนำมาผสมกันใหม่ด้วย sterile technique ซึ่งยุ่งยาก Loutit และ Mollison พบว่าปฏิกิริยา caramellization จะไม่เกิดถ้า pH ต่ำกว่า 7.4 จึงเติม citric acid ทำให้ปัญหานี้หมดไป น้ำยา ACD ถูกนำมาใช้ทางคลินิกในช่วงสงครามโลกครั้งที่ 2 ซึ่งมีความต้องการใช้ whole blood (WB) และพลาสมา (plasma) เพิ่มขึ้นมาก ถือว่าเป็นพัฒนาการที่สำคัญของน้ำยาเก็บโลหิต[1,3-5]

ค.ศ. 1957 Gibson และคณะได้พัฒนาโดยเติม monobasic sodium phosphate เพิ่มเข้าไปจากน้ำยา ACD ได้น้ำยาตัวใหม่คือ citrate phosphate dextrose (CPD) ซึ่งมีความเป็นกรดน้อยกว่า สามารถรักษาระดับ 2,3-diphosphoglycerate (2,3-DPG) ได้ดีกว่า ทำให้การมีชีวิต (viability) ของ red cells (RC) ที่เก็บรักษาดีขึ้นและใช้เก็บโลหิตได้นานขึ้นคือเก็บได้ 28 วันจึงมีการใช้น้ำยา CPD แทน ACD กันอย่างแพร่หลาย แต่องค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (United States Food and Drug Administration: US FDA) ยอมรับให้เก็บได้เพียง 21 วันเท่าน้ำยา ACD[1,3,5]

ค.ศ. 1962 Nakao และคณะได้เติม adenine เข้าไปในน้ำยา

ACD และ CPD ซึ่ง adenine ที่เพิ่มขึ้นมาจะช่วยในการสังเคราะห์ adenosine triphosphate (ATP) ในโลหิตที่เก็บ ช่วยรักษาระดับ ATP ใน RC ทำให้ RC มีอายุอยู่ได้นานขึ้น แต่น้ำยา CPD เป็นที่นิยมมากกว่าจึงนิยมใช้เป็น CPD adenine ซึ่งเก็บโลหิตได้นาน 35 วัน โดยสูตรแรกที่พัฒนาคือ CPDA-1 และต่อมาได้มีผู้ศึกษาทดลองปรับสูตรเป็น CPDA-2, CPDA-3[1,4]

น้ำยา CPD adenine ดูเหมือนจะเป็นความพยายามสุดท้ายในการดัดแปลงน้ำยากันโลหิตแข็งให้สามารถเก็บรักษาโลหิตได้ดีขึ้น อย่างไรก็ตาม จากความสำเร็จของน้ำยา CPD adenine นั้นช่วยส่งเสริมให้เกิดการพัฒนาน้ำยาเสริมชนิดใหม่สำหรับเก็บรักษาโลหิตเฉพาะส่วน (component-specific preservation)[5]

วัตถุประสงค์การใช้ anticoagulant ในงานบริการโลหิต[1,6]

สำหรับงานบริการโลหิตปัจจุบัน การเจาะเก็บ WB จะทำการเจาะเก็บลงในถุงบรรจุโลหิตที่มี anticoagulant โดยมีวัตถุประสงค์ 2 ประการคือ

1. ป้องกันโลหิตแข็งตัว (prevent clotting)

2. ถนอมโลหิตให้อยู่นาน (cell preservation) โดยรักษา cell viability และ cell function ให้ยังคงอยู่ในระหว่างการเก็บรักษาโลหิต

บทความนี้จะกล่าวถึงน้ำยากันโลหิตแข็งสำหรับใช้กับ WB และน้ำยาเสริมที่ใช้สำหรับเก็บรักษาเม็ดโลหิตแดง (red cells reservation)

ส่วนประกอบของ anticoagulant[3,6]

anticoagulant ชนิดต่างๆ ที่ใช้ในงานบริการโลหิตมีส่วนประกอบที่แตกต่างกันดังแสดงในตารางที่ 1

แม้ว่าการเก็บรักษาโลหิตที่อุณหภูมิต่ำจะทำให้ glycolytic activity เกิดได้ช้าลง แต่เม็ดโลหิตยังคงมี metabolic activity ในระหว่างการเก็บรักษา มีการใช้สารอาหารและการลดลงของแหล่งพลังงานภายในเซลล์ (intracellular energy sources) และเนื่องจาก ATP มีความสัมพันธ์กับ post-transfusion viability การพัฒนาสูตร anticoagulant-preservative จึงมุ่งไปที่การส่งเสริมการสร้าง ATP ซึ่งจำเป็นที่จะต้องใช้สารช่วยที่มีหน้าที่ต่างๆ กันดังนี้

- *Citrate* – เป็นตัวช่วยยับยั้งกระบวนการแข็งตัวของโลหิต (coagulation) ที่เกี่ยวข้องกับ calcium โดยการจับ (chelating) กับ calcium
- *Dextrose* – ช่วยเสริมการสร้าง ATP ใน glycolytic pathways
- *Sodium biphosphate* – ทำหน้าที่ช่วยควบคุม pH ที่

Table 1 Anticoagulant-preservative solutions for collection[7,8]

Variable	ACD-A	ACD-B	CPD	CP2D	CPDA-1	4% Citrate
pH	4.5-5.5	4.5-5.5	5.3–5.9	5.3–5.9	5.3–5.9	6.4-7.5
Ratio (mL solution to blood)	1.5:10	2.5:10	1.4:10	1.4:10	1.4:10	0.625:10
FDA-approved shelf life (days)	Automated collection of RBCs, platelets, and FFP		21	21	35	Automated collection of plasma and for plasma exchange
Content (g in 1,000 mL solution)						
Citric Acid (anhydrous)	7.3	4.4	2.99	2.99	2.99	As needed for pH adjustment
Sodium Citrate (dihydrate)	22	13.2	26.3	26.3	26.3	40
Monobasic Sodium Phosphate (monohydrate)	-	-	2.22	2.22	2.22	-
Dextrose (monohydrate)	24.5	14.7	25.5	51.1	31.9	-
Adenine	-	-	-	-	0.275	-

* For collection of whole blood (or automated collections).

CPD = citrate-phosphate-dextrose; CP2D = citrate-phosphate-dextrose-dextrose;

CPDA-1 = citrate-phosphate-dextrose-adenine; ACD-A = acid-citrate-dextrose (formula A);

ACD-B = acid-citrate-dextrose (formula B); FDA = Food and Drug Administration; FFP = Fresh Frozen Plasma.

ลดลงอันเนื่องมาจากการสร้าง lactic acid ที่เป็น end product จาก glycolysis

- *Adenine* – เป็นสารเสริม (supplement) ที่ช่วยในการสังเคราะห์และเพิ่มระดับ ATP ใน RC จึงช่วยให้ viability ดีขึ้นเมื่อเทียบกับน้ำยาที่ไม่มี adenine

Simon (1962) ได้แสดงให้เห็นว่า เมื่อเพิ่ม adenine 17 mg (0.25 mM) และเพิ่ม dextrose ขึ้นอีกร้อยละ 25 ในสูตรน้ำยา CPD 63 mL โลหิตที่เก็บในน้ำยานี้นาน 35 วันจะมี red cells survival หลังให้โลหิต 24 ชั่วโมงเท่ากับร้อยละ 80 ± 6.5 ทั้งนี้ adenine เป็นสารที่ช่วยสร้าง ATP ซึ่งพบว่าระดับจะลดลงเหลือร้อยละ 56.4 ± 15.9 ของระดับเริ่มต้น adenine มีความเป็นพิษต่อไต (nephrotoxicity) อันเนื่องมาจาก unmetabolized product คือ 2,8-dioxyadenine แต่เกิดได้น้อยมากเนื่องจากระดับความเป็นพิษที่ 15 mg/kg body weight นั้นเทียบเท่าโลหิตที่เก็บในน้ำยา CPD adenine ใหม่ๆ (ซึ่งมี adenine 0.5 mM/unit) ถึง 30 ยูนิต และหากให้โลหิตในรูปของ packed red cell (PRC) ก็จะมีปริมาณ adenine น้อยลงไปอีก

CPD, CP2D และ CPDA-1[6]

US FDA รับรองอายุเก็บรักษาโลหิตที่ 1-6°ซ ดังนี้

- อายุเก็บรักษา 21 วันสำหรับ RC ที่แยกจาก WB ที่เก็บในน้ำยา CPD และ CP2D
- อายุเก็บรักษา 35 วันสำหรับ RC ที่แยกจาก WB ที่เก็บในน้ำยา CPDA-1

ถุงบรรจุโลหิตที่ใช้เก็บ WB 450 ± 45 mL จะมีน้ำยา anticoagulant อยู่ 63 mL หากเก็บโลหิตได้ 300-404 mL ก็ยังสามารถนำ RC ไปใช้ได้โดยชี้บ่งฉลากว่าเป็น “Low Volume Unit__mL Red Blood Cells” แต่ไม่สามารถเตรียมส่วนประกอบโลหิตอื่นๆ จากยูนิตนี้ได้

Additive Solution[5,6]

ในปี ค.ศ. 1983 สหรัฐฯ และยุโรปบางส่วนเริ่มมีการใช้น้ำยา CPD ร่วมกับน้ำยาเสริม (additive solutions, AS) สำหรับเก็บรักษา RC โดยวิธีการนี้โลหิตจะถูกเจาะเก็บใน basic anticoagulant และนำไปแยกเป็นส่วนประกอบโลหิตก่อน จากนั้นจึงผสม RC เข้ากับ isotonic solution ที่มีสารอาหารสำหรับเก็บรักษา RC ได้นานถึง 42 วัน

ระบบของ additive system จะประกอบด้วย primary collection bag ที่มี anticoagulant-preservative และมีถุงพ่วง (satellite bag) อีกอย่างน้อย 2 ใบโดยใบแรกจะเป็นถุงเปล่า (empty bag) และอีกใบจะมี AS อยู่ภายใน AS มีส่วนประกอบได้แก่ sodium chloride, dextrose, adenine และสารอื่นๆ ที่ช่วยเสริม RC survival และ function ให้อยู่ได้ถึง 42 วัน ในชุดเจาะเก็บโลหิตขนาด 450 mL จะมีปริมาณ AS อยู่ 100 mL ซึ่งจะถูกผสมเข้ากับ RC ใน primary bag ภายหลังจากแยกเอา plasma ออกไปแล้ว ทำให้สามารถแยก plasma ได้ในปริมาณสูงสุดและได้ RC ที่มี hematocrit ประมาณร้อยละ 60 ซึ่งเป็นระดับที่ทำให้อัตราการไหลดีและง่ายต่อการให้โลหิต การผสม AS เข้ากับ RC จะต้องผสมภายใน 72 ชั่วโมงภายหลังการเจาะโลหิต (phlebotomy)

AS ที่ใช้ในท้องตลาดมีอยู่หลายชนิดซึ่งที่ US FDA ยอมรับและใช้ในสหรัฐอเมริกามี 3 ชนิดคือ AS-1, AS-3 และ AS-5 ส่วนที่ใช้ในยุโรปคือ SAGM น้ำยา AS แต่ละชนิดมีส่วนประกอบที่แตกต่างกันไปดังแสดงรายละเอียดในตารางที่ 2

SAG เป็นน้ำยาเสริมชนิดแรกที่ถูกพัฒนาขึ้นในสวีเดนช่วงปลายทศวรรษ 1970 มีส่วนประกอบคือ saline, adenine และ glucose ต่อมามีการเติมสาร mannitol เพิ่มเข้าไปเป็นน้ำยา SAGM เพื่อช่วยชะลอการแตกของเม็ดโลหิต Hogman เป็นคนแรกที่แสดงให้เห็นว่า white cell enzymes ที่ปะปนอยู่กับ RC suspension จะเพิ่มอัตราการแตกของ RC แต่สามารถลดลงได้โดยการเพิ่มสาร mannitol เข้าไปในน้ำยา

ค.ศ. 1983 Fenwall Laboratories แนะนำน้ำยา ADSOL® (AS-1) ซึ่งใช้เก็บรักษา RC ได้ 49 วันแต่เกิดข้อโต้แย้งขึ้นในปี ค.ศ. 1985 เกี่ยวกับ viability ของ RC ทำให้มีการลดระยะเวลาเก็บรักษาลงเหลือ 42 วัน

ในปี ค.ศ. 1983 เช่นเดียวกัน Cutter Laboratories แนะนำน้ำยา Nutricel® ซึ่งต่อมาได้พัฒนาเป็นน้ำยา AS-3 ใน ค.ศ. 1984 ใช้เก็บรักษา RC ได้ 42 วัน การใช้งาน AS-1 และ AS-3 จะผสมน้ำยา 100 mL เข้ากับ PRC ที่แยกเอา platelet-rich หรือ platelet-poor plasma ออกไปแล้ว ปัจจุบัน AS ได้รับการพัฒนาโดยหลายบริษัท เช่น Terumo พัฒนาน้ำยา Optisol®, Tuta Corp. (ออสเตรเลีย) พัฒนาน้ำยา Circle Pack (Cir/Pk®)

ข้อดีของการใช้ระบบน้ำยาเสริมนอกเหนือจากช่วยเพิ่มระยะเวลาเก็บรักษา RC จาก 35 วัน (ใน CPDA-1) เป็น 42 วันแล้ว ยังมีข้อดีอื่นๆ ได้แก่ ช่วยลดความหนืด ช่วยกำจัด excessive nutrients ใน platelets และช่วยให้ควบคุม optimal ratio ของ RC to nutrients ได้ดีขึ้น การเก็บรักษา RC ได้ 42 วันน่าจะเป็นสิ่งที่เพียงพอสำหรับงานธนาคารเลือดในปัจจุบัน การยืดระยะเวลาเก็บรักษาให้นานกว่านี้เป็นสิ่งที่ทำได้ยากเนื่องจากภายหลัง 42 วัน การลดของ pH และการเปลี่ยนแปลงของ membrane จะอยู่ใน

Table 2 Composition of additive solutions for red cells (mg/100 mL solution)[1,3,5,7]

Composition	SAG	SAGM	AS-1 (Adsol®)	AS-3 (Nutricel®)	AS-5 (Optisol®)	Circle Pack (Cir/Pk®)
Dextrose	900	900	2200	1100	900	400
Adenine	17	17	27	30	30	7
Monobasic Sodium Phosphate	-	-	-	276	-	285
Mannitol	-	520	750	-	525	-
Sodium Chloride	877	877	900	410	877	718
Sodium Citrate	-	-	-	588	-	588
Citric Acid	-	-	-	42	-	42
Primary bag anticoagulant	CPD	CPD	CPD	CP2D	CPD	CP2D

SAG = saline-adenine-glucose; SAGM = saline-adenine-glucose-mannitol

ขั้นวิกฤติ และยังไม่มีน้ำยาเสริมตัวใดที่สามารถรักษาระดับ 2,3-DPG ให้คงอยู่ได้นานเกินกว่า 7-14 วัน

Red cells preservation and biochemical changes during storage[3,5,6]

งานวิจัยที่เกี่ยวกับการเก็บรักษา red cell จะมุ่งไปที่ 3 ประเด็นคือ

1. ทำให้มี viability และ function สูงที่สุด
2. มีการแตกของเม็ดโลหิต (cell lysis) น้อยที่สุด
3. ทำให้มั่นใจว่าระบบการเก็บรักษายังคงมีความปราศจากเชื้อ (sterility)

นอกจากนี้ สารที่ใช้เก็บรักษาโลหิตนั้นจะต้องไม่มีความเป็นพิษด้วย

%viability หมายถึงร้อยละของ stored red cells ที่ยังคงอยู่ในกระแสโลหิตหลังจากให้โลหิตไปแล้ว 24 ชั่วโมง U.S. FD A ได้ตั้งค่า mean ไว้ที่ร้อยละ 70 จนถึงปี 1985 ได้ปรับเกณฑ์ขึ้นเป็นร้อยละ 75 การหา viability จะต้องตรวจ in vivo red cell survival โดยอาศัย ATP เป็น indicator ในการตรวจสอบ เนื่องจากระดับของ ATP จะมีความสัมพันธ์กับ viability (Peck et al. 1981) หากระดับ ATP ลดลงต่ำกว่าร้อยละ 30 ของค่าปกติ เซลล์จะมี low viability ส่วน red cell function เช่น oxygen delivery มีความสัมพันธ์อย่างมากกับระดับของ 2,3-DPG โดยพบว่าในระหว่างการเก็บรักษาโลหิตด้วยระบบที่เป็นอยู่ ระดับของ 2,3-DPG จะลดลงใกล้ศูนย์ภายในระยะเวลาประมาณ 2 สัปดาห์ ส่งผลให้ความสามารถของเซลล์ในการขนส่ง oxygen ไปยังเนื้อเยื่อลดลงถึงร้อยละ 50 (Moore 1983) เกณฑ์ FDA สำหรับ red cell lysis กำหนดไว้ที่ไม่เกินร้อยละ 1 ซึ่ง red cell ที่เก็บรักษาร่วมกับ white cell หรือไม่มี plasma มีแนวโน้มที่จะทำให้เม็ดโลหิตแตก แต่มีระดับแตกต่างกันไปในผู้บริจาคแต่ละราย

การสูญเสีย RC viability นั้นมีความสัมพันธ์กับ *"lesion of storage"* อันเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงด้านชีวเคมีต่างๆ ได้แก่

- การลดลงของ pH
- การสร้าง lactic acid
- การลด glucose consumption
- การลดลงของระดับ ATP
- การลดลงของระดับ 2,3-DPG

การลดลงของ pH

โลหิตถูกเก็บรักษาที่ 2-6°ซ จะยังคงมีปฏิกิริยา glycosis อยู่แต่เกิดขึ้นในระดับที่ลดลง glycosis ทำให้เกิดการสร้าง lactate ซึ่งมีผลให้ pH ลดลง WB ที่เก็บในน้ำยา CPD นั้นจะมี pH 7.20 ใน day 0 และลดลงเป็น 6.84 ใน day 21 โดยน้ำยา preservative จะมี buffering capability ที่ช่วยให้ pH เปลี่ยนแปลงน้อยที่สุด และมีระยะเวลาเก็บรักษาได้นานที่สุด

การสูญเสีย ATP

ATP มีความเกี่ยวข้องกับ RC viability การสูญเสีย ATP ทำให้ cellular rigidity เพิ่มขึ้น ในขณะเดียวกันก็ทำให้ red cell membrane integrity และ deformability ลดลง เมื่อ ATP ลดลงจะเกิดการ leak ของ Na+ และ K+ จาก RC membrane ในระดับมากกว่าที่เกิดขึ้นปกติในร่างกาย ระดับของ ATP ใน CPDA-1 red cells ณ วันที่ 35 จะเท่ากับร้อยละ 45 (±12) ของระดับตั้งต้น

การลดลงของระดับ 2,3-DPG

การลดลงของ pH ในโลหิตที่เก็บรักษาเป็นผลให้ระดับ 2,3-DPG ของ RC ลดลง ทำให้ hemoglobin-oxygen affinity เพิ่มขึ้น DPG-depleted RC สูญเสียความสามารถในการขนส่ง oxygen ไปยังเนื้อเยื่อ ระดับการลดลงของ 2,3-DPG นั้นขึ้นกับน้ำยา preservative ที่ใช้ด้วย น้ำยา ACD จะมี pH ต่ำกว่าของน้ำยา CPD ดังนั้นระดับ 2,3-DPG ในน้ำยา ACD จึงลดต่ำลงตั้ง

แต่ช่วงวันแรกๆ ในขณะที่โลหิตที่เก็บในน้ำยา CPD/CPDA-1 จะรักษาระดับ 2,3-DPG ที่เหมาะสมได้ถึง 10-14 วัน ผลทางพยาธิวิทยาจากการให้ RC ที่มีระดับ 2,3-DPG ต่ำจะทำให้ oxygen affinity และ cardiac output เพิ่มขึ้นและ mixed venous PO2 tension ลดลง ระดับ 2,3-DPG ในการให้โลหิตจึงมีความสำคัญในเงื่อนไขทางคลินิกบางอย่าง การให้โลหิตที่มีระดับ 2,3-DPG สูงในระหว่าง cardiovascular surgery ช่วยให้ myocardial function ดีขึ้น การให้ DPG-depleted RC ในผู้ป่วยที่ช็อคทำให้มีการฟื้นตัวที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ หลังการให้โลหิต RC จะทำการสังเคราะห์ 2,3-DPG และกลับมาอยู่ในระดับปกติภายใน 24 ชั่วโมง acid-base status ของผู้ป่วยที่รับโลหิต phosphorous metabolism และ degree of metabolism ต่างก็มีอิทธิพลต่อ rate of restoration ของ 2,3-DPG

ตารางที่ 3 แสดงการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีที่เด่นชัดที่มีผลกระทบต่อ RC ที่เก็บรักษา แต่การเปลี่ยนแปลงเหล่านี้มีนัยสำคัญทางคลีนิคน้อยมากแม้แต่ในผู้ป่วยที่รับโลหิตในปริมาณมาก

Table 3 Biochemical changes of stored red blood cells[6]

Variable	CPD		CPDA-1			AS-1*		AS-3	AS-5*	
	Whole blood		Whole blood	Red blood cells	Whole blood	Red blood cells	Red blood cells	Red blood cells	Red blood cells	
Days of Storage	0	21	0	0	35	35	42	42	42	
% Viable cells (24 hours posttransfusion)	100	80	100	100	79	71	76 (64-85)	84	80	
pH (measured at 37 C)	7.20	6.84	7.60	7.55	6.98	6.71	6.6	6.5	6.5	
ATP (% of initial value)	100	86	100	100	56 (± 16)	45 (± 12)	60	59	68.5	
2,3-DPG (% of initial value)	100	44	100	100	<10	<10	<5	<10	<5	
Plasma K+ (mmol/L)	3.9	21	4.20	5.10	27.30	78.50	50	46	45.6	
Plasma hemoglobin (mg/L)	17	191	82	78	461	658.0+	N/A	386	N/A	
% Hemolysis	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	0.5	0.9	0.6	

* Based on information supplied by the manufacturer.

+ Value for plasma hemoglobin and potassium concentrations may appear somewhat high in 35-day stored RBC units; the total plasma in these units is only about 70 mL.

Shelf Life[6]

เวลาสูงสุดที่ยอมให้เก็บรักษาส่วนประกอบโลหิตได้ภายใต้อุณหภูมิและสภาวะที่กำหนดเรียกว่า “shelf life” ซึ่งสำหรับ RC แล้วเกณฑ์ที่ใช้กำหนด shelf life ของ anticoagulant ที่ยอมรับคือต้องมี RC อย่างน้อยร้อยละ 75 ของ original RC (normal allogeneic donor) ยังคงอยู่ใน recipient’s circulation ภายหลังจากให้โลหิตไปแล้ว 24 ชั่วโมง ส่วนส่วนประกอบโลหิตอื่นๆ นั้น shelf life จะขึ้นกับ functional consideration ระยะเวลาเก็บรักษาส่วนประกอบโลหิตต่างๆ แสดงไว้ในตารางที่ 4

แนวทางการเลือกใช้น้ำยากันโลหิตแข็ง[1]

1. Sodium citrate เป็นสารกันโลหิตแข็งที่สำคัญที่สุดในน้ำยากันโลหิตแข็ง ใช้กันมาเป็นชนิดแรกจนถึงปัจจุบันเนื่องจากราคาถูก หาได้ง่ายและไม่เป็นอันตรายถ้าได้รับในขนาดปกติ แต่ถ้าได้รับในปริมาณที่มากเกินไป เช่น จากการถ่ายโลหิตเป็นจำนวนมากในเวลารวดเร็วก็อาจทำให้เกิด hypocalcemia ได้

2. น้ำยากันโลหิตแข็งที่มีใช้ในงานบริการโลหิตปัจจุบันได้แก่ ACD, CPD, CP2D, CPDA-1 แต่นิยมใช้ ACD และ CPD เนื่องจากมีราคาถูก เตรียมง่ายและมีคุณสมบัติดีเกือบทุกประการ ถ้าใช้เก็บโลหิต 21 วัน แต่ถ้าต้องการเก็บโลหิตให้ได้ถึง 35 วัน ควรใช้ CPDA-1

3. การใช้ AS มีข้อดีและข้อด้อยร่วมกัน ควรพิจารณาตามความเหมาะสมดังนี้

Table 4 Expiration dates for selected blood components[6]

Category	Expiration
Whole Blood	ACD/CPD/CP2D – 21 days
	CPDA-1 – 35 days
Whole Blood Modified	ACD/CPD/CP2D – 21 days
	CPDA-1 – 35 days
Whole Blood Irradiated	Original outdate (see outdates above per anticoagulant) or 28 days from date of irradiation, whichever is sooner
Red Blood Cells (RBCs)	ACD/CPD/CP2D – 21 days
	CPDA-1 – 35 days
RBCs, Additive Solutions	42 days
RBCs, Washed	Time approved by FDA
RBCs, Leukocytes Reduced	ACD/CPD/CP2D – 21 days
	CPDA-1 – 35 days
	Open system – 24 hours
	Additive solutions – 42 days
RBCs, Rejuvenated	24 hours
RBCs, Rejuvenated, Washed	24 hours
RBCs, Irradiated	Original outdate above 28 days from date of irradiation, whichever is sooner
RBCs, Frozen 40% Glycerol	10 years
RBCs, Frozen 20% Glycerol	10 years
RBCs, Deglycerolized	Time approved by FDA
RBCs, Open System	24 hours
RBCs, Open System – Frozen	10 years, 24 hours after thaw
RBCs, Frozen – Liquid Nitrogen	10 years
Platelets	24 hours to 5 days, depending on collection system
Platelets, Pheresis	5 days
Platelets Pooled or in Open System	4 hours, unless otherwise specified
Platelets, Leukocytes Reduced	4 hours open system
	5 days close system
Granulocytes	24 hours
FFP	12 months (-18 C)
	7 years (-65 C)
FFP, Thawed	24 hours
FFP, Open System – Thawed	24 hours
Pooled Plasma, Solvent/detergent-treated	12 months
Pooled Plasma, Solvent/detergent-treated Thawed	24 hours
Plasma (Frozen within 24 hours)	12 months
Plasma (Frozen within 24 hours) Thawed	24 hours
Plasma Thawed	> 24 hours, < 5 days
Plasma Liquid	5 days after expiration of RBCs
FFP–Donor Retested Thawed	24 hours
FFP–Donor Retested	12 months
Plasma, Cryoprecipitate-Reduced, Thawed	24 hours
Cryoprecipitate AHF	12 months
Cryoprecipitate AHF, Thawed	ASAP or within 4 hours if open system or pooled, 6 hours if single unit or pooled

3.1 ข้อดี

(1) สามารถเก็บโลหิตได้นานเพิ่มเป็น 42 วัน ทำให้เหมาะที่จะใช้เสริมในกรณีพิเศษดังนี้

- กรณีที่มีการรับบริจาคโลหิตมากในวาระพิเศษต่างๆ ถ้าโลหิตเก็บได้ในเวลาสั้นอาจทำให้โลหิตหมดอายุไปเป็นที่น่าเสียดาย
- กรณีที่ต้องส่งโลหิตไปยังต่างจังหวัดซึ่งสามารถมารับได้ไม่บ่อยครั้งและต้องใช้เวลาในการเดินทาง หากโลหิตที่นำไปไม่สามารถเก็บได้นานอาจจะทำให้ใช้ไม่ทันต้องทิ้งโลหิตไป
- กรณีที่ทำ predeposit autologous donation ที่ต้องใช้โลหิตหลายยูนิต และต้องเจาะโลหิตเกือบทุกอาทิตย์ การใช้ AS จะเป็นสิ่งที่ดีทำให้โลหิตยูนิตแรกอยู่ได้นานและทันใช้กับยูนิตสุดท้ายที่จะต้องเจาะไม่ต่ำกว่า 72 ชั่วโมง
- ในการเก็บถนอมโลหิตหมู่โลหิตที่หายาก เช่น การเก็บโลหิตหมู่ Rh negative การใช้ AS จึงเป็นประโยชน์ทำให้โลหิตหมดอายุช้าลง

(2) การใช้ PRC ที่มี AS จะทำให้โลหิตมีความเข้มข้นปานกลาง มี hematocrit ร้อยละ 50-60 สามารถให้ PRC ได้สะดวกรวดเร็วเป็นประโยชน์ต่อผู้ป่วยที่เสียโลหิตมากและต้องให้โลหิตอย่างรวดเร็ว

(3) ได้ปริมาณพลาสมามากขึ้น ทั้งนี้เพราะสามารถบีบแยกพลาสมาออกได้หมด จำนวนพลาสมาที่เพิ่มขึ้นนี้สามารถนำไปเตรียม FFP, cryoprecipitate, FVIII concentrate, ผลิตภัณฑ์โลหิตอื่นๆ เช่น albumin, prothrombin complex, gamma globulin เพิ่มขึ้นร้อยละ 20

(4) ทำให้ titer ของ antibody ใน PRC ต่ำลง

3.2 ข้อเสีย

(1) ราคาแพงทำให้ค่าใช้จ่ายเพิ่มขึ้น จึงยังไม่เหมาะสมที่จะใช้ในงานบริการโลหิตในกรณีปกติในประเทศไทย ซึ่งโลหิตบริจาคยังไม่เพียงพอกับการใช้และมักจะใช้หมดก่อน 21 วัน

(2) มี glucose และ electrolyte ปริมาณค่อนข้างสูง บางชนิดมี glucose ถึง 1 gm% ใน PRC ซึ่งเมื่อเทียบกับ glucose ใน CPD WB หรือ ACD WB ซึ่งมีปริมาณ 0.3 gm% จึงอาจมีข้อจำกัดในกรณีที่คนไข้เป็นเบาหวานหรือคนไข้ที่ทนรับ electrolyte เพิ่มมากขึ้นไม่ได้ จึงควรต้องพิจารณาและระมัดระวังด้วย

(3) เมื่อเพิ่มปริมาณ AS เข้าไปใน PRC ก็จะทำให้ hematocrit ต่ำกว่า PRC ปกติที่ไม่มี AS ดังนั้นการจะใช้ในผู้ป่วยเด็กจะต้องคำนวณ dose สูงขึ้นกว่าเดิม

(4) การใช้ถุง AS ในการเตรียม blood component ทำให้ไม่สะดวก เพิ่มเวลาในการปั่นแยกโลหิตหากเครื่องมือในการปั่นแยกเป็น cup เล็ก ทำให้เดิมทีเคยสามารถปั่นได้ครั้งละ 12 ถุง จะปั่นได้เพียง 6 ถุงเพราะไม่สามารถใส่ถุงโลหิตครั้งละ 2 ถุงใน 1 cup ได้ แต่หากเครื่องมือเป็น cup ใหญ่จะไม่เสียเวลา

(5) โอกาสที่คนไข้จะได้รับการติดเชื้อ (infection) ค่อนข้างมาก หากโลหิตหน่วยนั้นสามารถใช้ได้นานโอกาสเข้าออกจากธนาคารเลือดไปยังห้องผ่าตัดของโลหิตหน่วยนั้นจะมีจำนวนมากครั้ง โอกาสติดเชื้อก็มากตามจำนวนครั้งไปด้วย นอกจากนี้ หากมีเชื้อปนเปื้อนจากการเจาะเก็บโลหิตจะทำให้เชื้อเพิ่มจำนวนมากขึ้น

(6) หากจะมีการนำเอา AS ไปใช้ในโรงพยาบาลก็ควรแจ้งให้แพทย์ทราบ และมีฉลากพร้อมข้อบ่งใช้และผลข้างเคียงที่อาจจะมีใน AS ให้ทราบด้วยเพื่อป้องกันความผิดพลาดที่อาจจะเกิดขึ้นในการใช้

4. การใช้ anticoagulant หรือ AS ผู้ใช้ควรคำนึงถึงระยะเวลาการเก็บว่าต้องการเก็บให้นานเท่าไร ไม่ควรใช้น้ำยาที่มีประสิทธิภาพในการเก็บนานเกินไปเพราะน้ำยาที่เก็บได้นานจะมีตัวยาเพิ่มขึ้นซึ่งผู้ใช้ควรคำนึงถึงผลข้างเคียงและการ detoxified ของตัวยาใน anticoagulant หรือ AS ที่ใช้ด้วยทั้งนี้เพื่อความปลอดภัยของผู้รับโลหิต

สรุป

Anticoagulant สำหรับ WB มีวัตถุประสงค์การใช้งานเพื่อป้องกันโลหิตแข็งตัวและถนอมโลหิตให้เก็บรักษาได้นาน ซึ่งมีพัฒนาการมายาวนานกว่า 100 ปีจนเป็นน้ำยามาตรฐานชนิดต่างๆ เช่น น้ำยา CPD, CPDA-1 ที่ใช้กันแพร่หลายทุกวันนี้ และในช่วง 40 ปีที่ผ่านมายังเกิดการพัฒนาน้ำยาชนิดอื่นๆ เพื่อเสริมการเก็บรักษาโลหิตเฉพาะส่วน เช่น น้ำยาเสริมสำหรับเก็บเม็ดโลหิตแดง น้ำยาเสริมสำหรับเก็บเกร็ดโลหิต ซึ่งน้ำยาแต่ละชนิดจะมีองค์ประกอบทางเคมีแตกต่างกันส่งผลให้เม็ดโลหิตเกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในระหว่างการเก็บรักษาที่แตกต่างกันไป ดังนั้น ในการเลือกใช้ผู้ใช้จึงควรจะต้องศึกษารายละเอียดน้ำยาแต่ละชนิดให้มีความรู้ความเข้าใจและพิจารณาปัจจัยเกี่ยวข้องอื่นๆ ประกอบ เช่น ราคาน้ำยา เวลาที่ใช้ในการเตรียมส่วนประกอบโลหิต จำนวนผู้บริจาคโลหิต ฯลฯ เพื่อเลือกใช้ให้เหมาะสมกับสถานการณ์ของแต่ละธนาคารเลือด ทั้งนี้เพื่อให้โลหิตยังคงคุณภาพตามมาตรฐานและมีความปลอดภัยสูงสุดจนถึงขณะที่นำโลหิตไปให้กับผู้ป่วย รวมถึงประโยชน์ในด้านการบริหารจัดการของธนาคารเลือด

เอกสารอ้างอิง

1. *P Bunvisuthi. Anticoagulant and additive solution for blood preservation. Thai Journal of Hematology and Transfusion Medicine 1995;5:46-53.*
2. *S Pringpuangkeo. The establishment of blood bank: experience in Thailand. Thai Journal of Hematology and Transfusion Medicine 1992;2:150-1.*
3. *Preservation and storage of blood. In: Saran RK, ed. Transfusion Medicine, Technical Manual. 2nd ed. Mehta Offset Pvt. Ltd., New Delhi: Directorate General of Health Services, Ministry of Health and Family Welfare, Government of India, 2003:23-7.*
4. *S Bejrachandra. Additive solutions for preserving red blood cells. Monthly Scientific Conference on Transfusion Medicine. National Blood Centre, Thai Red Cross Society 1995;25:2-27.*
5. *Moore GL. Long-term storage and preservation of red blood cells. In: Goldstein J, ed. Biotechnology of blood. Butterworth-Heinemann, Stoneham, Mass 1991:31-4.*
6. *Blood component preparation, storage, shipping, and transportation. In: Vengelen-Tyler V, ed. Technical Manual. 13th ed. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks, 1999:161–7.*
7. *Kakaiya R, Aronson CA, Julleis J. Whole blood collection and component processing. In: Roback JD, Combs MR, Grossman BJ, Hillyer CD, eds. Technical manual. 16th ed. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks 2008:190-1.*
8. *The United States Pharmacopeia, Official Monographs. Asian edi., Vol. 2. Rockville, MD: The United States Pharmacopeial Convention, 2007:1425-8.*