



บทบรรณาธิการ

เทคนิคการเก็บรักษาเลือด

วิบูลย์ รัตนานนท์ Ph. D.*

จุดประสงค์ใหญ่ในการทำ Blood transfusion ให้กับผู้ป่วย เพื่อเพิ่มเติมเม็ดเลือดแดงที่มีชีวิต และมีความสามารถนำออกซิเจนไปยังทิสซุและอวัยวะต่าง ๆ โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่เสียเลือดมานานๆ ทำให้ทิสซุและอวัยวะขาดออกซิเจน การถ่ายเลือดจึงเป็นการช่วยชีวิตผู้ป่วยนั้นได้

หลังจากสงครามโลกครั้งที่ ๒ เป็นต้นมา มีผู้พยายามทำการศึกษา วิธีเก็บรักษาเลือดให้อยู่ได้นานขึ้น ในระยะแรกๆ ได้ใช้ neutral citrate เป็นมีเดียในการเก็บ พบว่าเม็ดเลือดแดงที่เก็บไว้ในมีเดียนี้ ประมาณหนึ่งอาทิตย์ เมื่อ transfuse ให้กับคนไข้แล้วมี survival น้อยมาก แต่ถ้าหากเติมน้ำตาลกลูโคสลงในมีเดียจะทำให้ survival ดีขึ้น ต่อมาได้เปลี่ยนมีเดียจากเกลือซิเตรตมาเป็นกรกษิตริก ซึ่งทำให้มีเดียมี pH ลดลงเป็น pH ประมาณ ๕ มีข้อดีคือ เพิ่ม survival ของเม็ดเลือดแดงขึ้นอีก และช่วยลดการเปลี่ยนเป็นสปีน้ำตาลของ

กลูโคสเมื่อนำไป sterile ตั้งแต่นั้นมาจนถึงปัจจุบันนี้ ได้ใช้มีเดียที่ประกอบด้วยกรกษิตริก และน้ำตาลกลูโคสซึ่งเรียกย่อ ๆ ว่า ACD (Acid citrate dextrose) เลือดที่เก็บไว้ใน ACD ที่ 4°C นาน ๓ สัปดาห์นั้น จะมีเม็ดเลือดแดงที่ยัง survive อยู่อย่างน้อย ๗๐% สำหรับเลือดที่เก็บนานเกิน ๓ สัปดาห์ มักจะทิ้งไป

ในการ transfuse เลือดให้กับผู้ป่วย จำนวนเม็ดเลือดแดงประมาณ ๒๐-๓๐% จะถูกทำลายภายในสองถึงสามชั่วโมง เม็ดเลือดแดงที่เหลือจากการถูกทำลายหลังจาก ๒๔ ชั่วโมง มักจะมีชีวิตยืนยาวไปถึง ๑๐๐-๑๒๐ วัน จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของเม็ดเลือดแดงภายหลังการ transfuse พบว่าปริมาณของ อะดีโนซีนไตรฟอสเฟต (ATP) และ ๒,๓-ไดฟอสโฟกลีเซอเรต (๒,๓-DPG) เพิ่มขึ้น และกลับสู่ระดับปกติหลังจาก ๒๔ ชั่วโมง osmotic fragility ของเม็ดเลือดแดง

*ภาควิชาจุล.กม. คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ก็กลับสู่ภาวะปกติหลังจาก ๖ ชั่วโมง สำหรับ P₅₀ (ความกดดันของออกซิเจนที่ ๕๐% ของฮีโมโกลบินจับอยู่กับออกซิเจน) จะกลับสู่ภาวะปกติเป็นเวลานาน ๒๔ ชั่วโมง (๑)

Bartlett & Barnet (2) รายงานว่า การเก็บรักษาเลือดใน ACD ที่ 4°C นาน ๒๑ วัน ปริมาณ ATP ลดลงอย่างช้า ๆ จาก ๒.๕ เป็น ๑.๕ ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร ของเม็ดเลือดแดง ส่วน ๒,๓-DPG ลดลงอย่างรวดเร็วจาก ๖ เป็น ๐.๒๕ ไมโครโมลต่อมิลลิลิตรของเม็ดเลือดแดง สำหรับ organic phosphate อื่นๆ เช่น Hexose diphosphate ไม่มีการเปลี่ยนแปลง แต่ inorganic phosphate เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจาก ๑.๕ เป็น ๖ ไมโครโมลต่อมิลลิลิตรของเม็ดเลือดแดง ในขณะที่เดียวกันมีโปรตีนรั่วออก (leak) จากเม็ดเลือดแดง และมีโซเดียมสะสมเพิ่มขึ้น (๓) เม็ดเลือดแดงเปลี่ยนจาก disc shape เป็น sphere shape และมี osmotic fragility เพิ่มขึ้น ส่วน P₅₀ ลดลงจาก ๒๖-๓๐ เป็น ๑๖-๒๐ มม.ปรอท ภายใน ๒-๓ วัน ของการเก็บเลือด (๑) มีผลทำให้ฮีโมโกลบินจับออกซิเจนได้มากขึ้น ทั้งนี้อธิบายได้จากการค้นพบของ Benesch & Benesch (4) และ Chanutin & Curnish (5) ที่ว่า ๒,๓-DPG เป็น organic phosphate ที่สำคัญของเม็ดเลือดแดงในการควบคุมเปลี่ยนแปลงการจับ ระหว่าง ออกซิเจน กับฮีโมโกลบิน ดังนั้นเมื่อปริมาณ ๒,๓-DPG ของเม็ดเลือดแดงลดลง oxygen dissociation

curve จึงขยับไปทางซ้าย นั่นคือ P₅₀ ลดลง (๑,๖)

สรุป การเก็บรักษาเลือดใน ACD ทำให้ ATP ลดลง นั้นหมายถึง viability ของเม็ดเลือดแดงลดลง และการที่ ๒,๓-DPG ลดลงมีผลทำให้หน้าที่ของเม็ดเลือดแดง ในการพาออกซิเจนไปสู่อวัยวะและทิสซต่างๆ เสียไป

การศึกษาเรื่องมีเคียที่จะใช้เก็บรักษาเลือด เพื่อไม่ให้ ATP และ ๒,๓-DPG ลดลงนั้น ได้มีผู้ทดลองกันอย่างกว้างขวางในปัจจุบันนี้ Bartlett (1) รายงานว่าการทดลองครั้งแรก เริ่มมาจาก Gabrio และคณะซึ่งพบว่าเมื่อเติม อะดีโนซีน (adenosine) ลงในเลือดแล้วนำไป incubate ที่ ๓๗°C พวก organic phosphate ถูกสร้างขึ้นได้ใหม่อีก ทั้งนี้เพราะว่ามีเอนไซม์ adenosine deaminase อยู่ในเม็ดเลือดแดง จะทำให้อะดีโนซีนเปลี่ยนเป็นไรโบส-๕-ฟอสเฟต แล้วถูกเมแทบอลิซึมผ่าน Pentose phosphate shunt (PPP) และ Glycolytic pathways ทำให้มีการสร้าง ATP และ ๒,๓-DPG ขึ้นใหม่ได้ แต่ข้อเสียของอะดีโนซีนคือเป็นพิษ และมี hypotensive activity ต่อมาเมื่อลองใช้อินโนซีน (inosine) แทนอะดีโนซีน พบว่าปริมาณ ATP และ ๒,๓-DPG เพิ่มขึ้น แต่ข้อเสียของอินโนซีน คือมันถูกเปลี่ยนเป็น hypoxanthine และกรดยูริกได้

Strumia & Strumia (7) พบว่าถ้าเติม อินโนซีนเป็นระยะๆ ระหว่างการเก็บเลือดใน ACD ที่มีอะดีนีน (adenine) ๐.๖ ไมโครโมลาร์ต่อมิลลิลิตรของเลือด นาน ๕ สัปดาห์ ระวัง ๒,๓-DPG และ P₅₀ ยังอยู่ในระดับปกติ และเม็ดเลือดแดงมี survival มากกว่า ๗๐% ปริมาณอินโนซีนที่ใส่ทั้งหมดเข้มข้น ๔๐ ไมโครโมลาร์ต่อมิลลิลิตรของเลือด

กึ่งหนึ่งการเกิดสาร V ribonucleosides เช่นอินโนซีน, อะดีโนซีน หรือ อินโนซีน + อะดีนีน ทำให้มีการสังเคราะห์ ATP และ ๒,๓-DPG ขึ้นใหม่ และยังมี organic phosphate อื่น ๆ เช่น ฟรุคโทส-๑,๖-ไดฟอสเฟต และไตรโอส-ฟอสเฟตเพิ่มขึ้นด้วย (๗,๘,๙)

McManus & Borgese (10) ได้ทดลองใส่ ไพรูเวต (pyruvate) ลงไปในเลือดที่มีอินโนซีน พบว่าพวก organic phosphate นั้นลดลง แต่ ๒,๓-DPG เพิ่มขึ้นกว่าเดิม เพราะไพรูเวต ไปเร่งการเปลี่ยน NADH ให้เป็น NDA มีผลทำให้เกิดการเร่ง Glycolysis และเร่ง PPP ด้วย

Duhm & Gerlach (11) ได้นำเลือดที่เก็บไว้ใน ACD นาน ๔ สัปดาห์ มาเติมอินโนซีน ๑๐ มิลลิโมลาร์ ไพรูเวต ๑๐ มิลลิโมลาร์ และ inorganic phosphate ๕๐ มิลลิโมลาร์ แล้วนำไป incubate ที่ ๓๗° C นาน ๓ ชั่วโมง ระดับ ๒,๓-DPG จะสูงกว่าระดับปกติ แต่สำหรับ ATP นั้นเพิ่มเพียงเล็กน้อย เพราะไม่ได้เติมอะดีนีน หรือ อะดีโนซีนลงไป ถ้าเติมอะดีนีนเพียง ๐.๕ มิลลิโมลาร์ ของปริมาณเลือดทั้งหมด จะทำให้เก็บเลือดได้นาน ๕-๖ สัปดาห์

ในประเทศสวีเดน มีโรงพยาบาลหลายแห่งที่เก็บเลือดไว้ใน ACD-adenine ข้อเสียของอะดีนีน หลังจากที่ได้มีการทดลองในหนู พบว่ามันถูกเมตาบอลิซึมเป็น 2,8-dihydroxy

adenine และตกตะกอนอยู่ที่ tubules ของไต แต่ในคนแล้วขนาดของ อะดีนีน ๒๐ มิลลิกรัม ค่อน้ำหนักตัวหนึ่งกิโลกรัม ยังจัดว่าปลอดภัย (๑)

ประเทศอเมริกามีโรงพยาบาลหลายแห่งที่เก็บเลือดไว้ใน Citrate-phosphate dextrose (CPD) พบว่าช่วยรักษาระดับ ๒,๓-DPG ให้สูงได้ ทั้งนี้เพราะ CPD มีฤทธิ์เป็นกรดน้อยกว่า ACD ไม่ใช่เพราะฟอสเฟต ที่ทำให้ ๒,๓-DPG สูงขึ้น และเลือดที่เก็บไว้ใน CPD นานถึง ๓๐ วัน ยังมี survival มากกว่า ๗๐% (๑)

Rubinstein & Warrendorf (13) ได้เตรียมมีเดีย ซึ่งประกอบด้วยกลูโคส ๒๑ มิลลิโมลาร์ อะดีนีน ๑๘ มิลลิโมลาร์, ไพรูเวต ๕ มิลลิโมลาร์ อินโนซีน ๑๐ มิลลิโมลาร์ & inorganic phosphate ๕๐ มิลลิโมลาร์ พบว่าเมื่อนำเลือดที่เก็บไว้นานกว่า ๓ สัปดาห์ มา incubate กับมีเดียนี้เพียง ๒ ชั่วโมง สามารถเพิ่มระดับของ ATP และ ๒,๓-DPG ได้สูงกว่าเดิม ๓ เท่า

ในการเพิ่ม ATP และ ๒,๓-DPG ให้กับเลือดใหม่นี้ เหมือนกับการเพิ่ม ไฟให้กับแบตเตอรี่จนได้กั้นนั้น เพราะเลือดที่ถ่ายให้กับผู้ป่วยนั้น เพื่อต้องการให้เม็ดเลือดแดงมีความสามารถในการนำออกซิเจนไปสู่ tissues และอวัยวะต่าง ๆ ที่ขาดออกซิเจนเป็นประการสำคัญ กรณีที่ผู้ป่วยต้องการปริมาณของเม็ดเลือดแดงเพิ่มขึ้น คุณภาพของเม็ดเลือดแดงก็ยังเป็นปกติเหมือนเดิมทุกประการ.

เอกสารอ้างอิง

1. Bartlett, G.R., Red Cell Metabolism: Review Highlighting Changes during Storage. In "The Human Red cell in Vitro" (Greenwalt, T.J. & Jamieson, G.A. eds.) Grune and Stratton Inc., New York and London, p. 5-28, 1974
2. Bartlett, G.R. & Barnet, H.N., Changes, in the phosphate compounds of the human red blood cell during blood bank storage. *J. Clin. Invest.*, 39: 56-61, 1960.
3. Valeri, C.R. & Hirsch, N.M., Restoration in vivo of erythrocyte adenine triphosphate, 2,3-diphosphoglycerate, potassium ion and sodium ion concentrations following the transfusion of acid-citrate-dextrose - Stored human red blood cells. *J. Lab. Clin. Med.*, 73: 722-733, 1969
4. Benesch, R. & Benesch, R.C. The effect of organic phosphates from the human erythrocytes on the allosteric properties of haemoglobin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 26: 162, 1967.
5. Chanutin, A & Curnish, R.R., Effect of organic and inorganic phosphates on the oxygen equilibrium of human erythrocytes. *Arch. Biochem. Biophys.*, 121: 96 1967
6. Rattanapanone, V. The function of 2,3-diphosphoglycerate in human red cells. *Chiang Mai Med. Bull.*, 16: 205-209, 1977.
7. Strumia, M.M. & Strumia, P.V., Conditions affecting the maintenance of adenosine triphosphate, 2,3-diphosphoglycerate and oxygen dissociation by addition of adenine and inosine to blood stored at 1°C. *Transfusion*, 12: 68-74, 1972.
8. Gibson II, J.G., Approaches to Red Cell Preservation in the Liquid State. in "The Red Blood Cell", (Bishop, C. & Surgenor, D.M. eds.), Academic Press, New York and London, P. 477-489, 1964.
9. Bishop, C., Blood preservation solutions containing adenine, phosphate, and guanosine. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 122: 424-427, 1966.
10. McManus, T.J. & Borgese, T.A., Effect of pyruvate on metabolism of Inosine by erythrocytes. *Fed. Proc.*, 20: 66, 1961.
11. Duhm, J. & Gerlach, E. Metabolism and function of 2,3-diphosphoglycerate in red blood cells. in "The human red cell in vitro" (Greenwalt, T.J. & Jamieson, G.A. eds.) Grune and

Stratton Inc., New York and London,
P. 111-148, 1974.

12. Dawson, R.B. Jr, Loken, M.R. & Crater, D.H., Hemoglobin function in stored Blood IX. Preservative with pH to maintain red blood cell cll 2,3-DPG (Function) and ATP (Viability). Tran-

sfusion, 12: 46-52, 1972

13. Rubinstein, D. & Warrendorf, E. An incubation medium for the elevation of adenosine triposphate and 2,3-diphosphoglycerate in fresh and longpreserved human erythrocytes. Can. J. Biochem., 53: 671-678, 1975.