

นิพนธ์ต้นฉบับ

การศึกษาคุณภาพเกล็ดเลือดเข้มข้นที่เตรียมเก็บไว้ในธนาคารเลือด

เรืองรอง ชีพสัตยากร, มณฑิชา ประเสนมูล*, ลัดดา ฟองสธิตยกุล* และ บุญธรรม กัณห์**

ภาควิชาพยาธิวิทยา, *ธนาคารเลือด, **ภาควิชาอายุรศาสตร์, คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

บทคัดย่อ : คุณภาพของเกล็ดเลือดเข้มข้นมีความสัมพันธ์กับการอยู่รอดของเกล็ดเลือด (platelet survival) ในร่างกาย ระหว่างการเก็บเกล็ดเลือดไว้ในธนาคารเลือด เกล็ดเลือดจะมีการเปลี่ยนแปลงเกิด storage lesion ซึ่งมีผลต่อรูปร่าง, pH, ความคงตัวของผนังเกล็ดเลือด(membrane integrity) และพลังงานเมตาบอลิซึม (energy metabolism) การตรวจเกล็ดเลือดที่มีรูปร่าง discoid และการวัดความแข็งแรงและพลังงานด้วยวิธี hypotonic shock response มีความสัมพันธ์กับ in vivo viability **วัตถุประสงค์ :** เพื่อประเมินคุณภาพเกล็ดเลือดเข้มข้นที่เก็บอยู่ในธนาคารเลือดอายุ 1 วันและอายุ 5 วัน **วัสดุและวิธีการ :** เตรียมเกล็ดเลือดเข้มข้นจาก platelet-rich plasma ในTeruflex CPD bag จำนวน 30 ยูนิต และเก็บไว้ในเครื่องเขย่าเกล็ดเลือดที่อุณหภูมิ 22 ° ซ. นาน 5 วัน สังเกต swirling phenomenon ที่ถูกเกล็ดเลือด นำตัวอย่างเกล็ดเลือดอายุ 1 วันและ 5 วัน มานับจำนวนเกล็ดเลือดและเม็ดเลือดขาวด้วยเครื่องนับเม็ดเลือดอัตโนมัติ ตรวจดู morphology score ด้วย phase-contrast microscope โดยจำแนกตามรูปร่าง (discoid, sphere, dendrite และ balloon) วัด pH, PO₂ และ PCO₂ ด้วยเครื่องวิเคราะห์แก๊สในเลือด ตรวจ hypotonic shock response ด้วยการเติม deionized water ในเกล็ดเลือดเข้มข้นที่เจือจางด้วย platelet-poor plasma แล้ววัดความแตกต่างของการดูดกลืนแสงอย่างต่อเนื่องที่คลื่นแสง 420 nm ด้วย spectrophotometer **ผลการศึกษา :** เกล็ดเลือดเข้มข้นอายุ 1 วันและอายุ 5 วัน ในปริมาตร 53.94±3.05 mL มีจำนวนเกล็ดเลือดเฉลี่ย 6.98±1.23 x 10¹⁰ ตัว และ 6.82±1.26 x 10¹⁰ ตัว จำนวนเม็ดเลือดขาวเฉลี่ย 3.46±5.92 x 10⁷ ตัว และ 3.01±4.94 x 10⁷ ตัว swirling grading เฉลี่ย 2.86±0.34 และ 1.80±0.61 morphology score เฉลี่ย 340.36±20.73 และ 303.43±25.67 pH เฉลี่ย 7.24±0.11 และ 7.21±0.14 PO₂ เฉลี่ย 46.61±32.47 และ 64.51±30.13 mmHg และ PCO₂ เฉลี่ย 40.07±8.33 และ 28.61±6.66 mmHg ตามลำดับ เกล็ดเลือดเข้มข้นอายุ 5 วันจำนวน 27 จาก 30 ยูนิต (90%) มีจำนวนเกล็ดเลือดมากกว่า 5.5 x 10¹⁰ ตัว ทุกยูนิตมี pH > 6.2 จำนวนเกล็ดเลือดและจำนวนเม็ดเลือดขาวอายุ 5 วันไม่แตกต่างจากอายุ 1 วัน (p = 0.053, 0.064) เกล็ดเลือดอายุ 5 วันมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างทำให้ swirling grading ลดลง (p < 0.001) ส่วน morphology score ลดลง (p < 0.001) แต่ทุกยูนิตมี morphology score > 200 ถูกเก็บเกล็ดเลือดมีความสามารถในการแลกเปลี่ยนแก๊ส ทำให้ออกซิเจนสามารถผ่านเข้าและคาร์บอนไดออกไซด์ผ่านออกนอกถุง PO₂ จึงเพิ่มขึ้นและ PCO₂ ลดลง (p = 0.011, < 0.001) pH ค่อนข้างคงที่ (p = 0.288) เกล็ดเลือดอายุ 5 วันมี hypotonic shock recovery เฉลี่ย 69.54±18.84% ของเกล็ดเลือดอายุ 1 วัน และเกล็ดเลือดอายุ 5 วันจำนวน 21 จาก 30 ยูนิต (70%) มี hypotonic shock recovery มากกว่า 60 % **สรุป :** 1) เกล็ดเลือดเข้มข้นที่เก็บอยู่ในธนาคารเลือดอายุ 1 วันและอายุ 5 วัน ได้มาตรฐานตามการควบคุมคุณภาพของ American Association of Blood Banks (AABB) โดยมีจำนวนเกล็ดเลือด ≥ 5.5 x 10¹⁰ ตัว และ pH ≥ 6.2 อย่างน้อย 90% ของเกล็ดเลือดที่นำมาทดสอบ 2) ความเป็น discoid shape ของเกล็ดเลือดอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ 3) เกล็ดเลือดที่อายุ 5 วันมีความแข็งแรงและพลังงานน้อยกว่าเกล็ดเลือดอายุ 1 วัน

Key Words : ● Platelet concentrate ● pH ● Morphology score ● Hypotonic shock response

วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2546;13:291-304.

ได้รับต้นฉบับ 1 กันยายน 2546 ให้ลงตีพิมพ์ 1 ตุลาคม 2546 ต้องการสำเนาต้นฉบับกรุณาติดต่อ พญ.เรืองรอง ชีพสัตยากร ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50200

เกล็ดเลือดเข้มข้น (platelet concentrate) มีประโยชน์ต่อการรักษาผู้ป่วยที่มีอาการเลือดออกง่าย ซึ่งมีสาเหตุจากเกล็ดเลือดต่ำหรือเกล็ดเลือดทำหน้าที่ผิดปกติ (platelet dysfunction)¹ คุณภาพของเกล็ดเลือดมีความสำคัญต่อการเพิ่มจำนวนเกล็ดเลือด (platelet increment) และการอยู่รอดของเกล็ดเลือด (platelet survival) ในร่างกาย เกล็ดเลือดเข้มข้นที่เตรียมเก็บไว้ในธนาคารเลือด เมื่อเวลาผ่านไปจะมีการกระตุ้นเกล็ดเลือดเกิด storage lesion ทำให้รูปร่างเปลี่ยนจาก discoid เป็น sphere, dendrite และ balloon ปริมาณกรดแลคติกเพิ่มขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยา glycolysis pH ลดลง เมตาบอลิซึมของเกล็ดเลือดขึ้นกับจำนวนเกล็ดเลือด ปริมาณออกซิเจน ความสามารถในการแลกเปลี่ยนแก๊สของถุงเก็บเกล็ดเลือด และ preservation fluid² รูปร่างของเกล็ดเลือดตรวจจำแนกได้จากการดูด้วยกล้อง phase-contrast microscope หรือการสังเกต swirling phenomenon ที่ถุงเกล็ดเลือดเพราะเมื่อบีบบริเวณปลายถุงเกล็ดเลือดเบาๆ เกล็ดเลือดที่มีรูปร่าง discoid เท่านั้นจะไหลเวียนในถุงเป็น streaming appearance เกล็ดเลือดที่มีรูปร่าง sphere, dendrite และ balloon ซึ่งมีปริมาณ ATP ลดลงจะไม่ไหลเวียน³ เกล็ดเลือดที่มีรูปร่าง discoid มีความสัมพันธ์กับ in vivo viability⁴

เมื่อเกล็ดเลือดเผชิญกับภาวะ hypotonic stress จะบวมเป็น sphere shape เนื่องจากน้ำเข้าไปในเซลล์ทำให้เจือจางส่วนประกอบในไซโตพลาสซึม เกล็ดเลือดที่บวมมีดัชนีการหักเห (refractive index) และการดูดกลืนแสง (light absorbance) น้อย⁵ เกล็ดเลือดที่มีชีวิตซึ่งมีความคงตัวของผนังเกล็ดเลือด (membrane integrity) และพลังงานเผาผลาญ (energy metabolism) ปกติ จะพยายามขับน้ำออกเพื่อปรับปริมาตรและความเข้มข้นของส่วนประกอบในไซโตพลาสซึมกลับสู่ปกติ ซึ่งทำให้ดัชนีการหักเหและการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้น ความสามารถในการขับน้ำออกจากเซลล์นี้เรียกว่า hypotonic

shock response หรือ osmotic reversal reaction ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการอยู่รอดของเกล็ดเลือดในร่างกาย⁶ ดังนั้นเกล็ดเลือดเข้มข้นที่ได้จัดเตรียมและเก็บอยู่ในธนาคารเลือด จำเป็นต้องมีการควบคุมคุณภาพให้อยู่ในสภาพที่เหมาะสม เพื่อถนอมชีวิตของเกล็ดเลือดไว้ให้นานที่สุด เพื่อประโยชน์ต่อการนำไปใช้รักษาผู้ป่วย

วัตถุประสงค์

เพื่อประเมินคุณภาพของเกล็ดเลือด โดยศึกษาเปรียบเทียบเกล็ดเลือดซึ่งเตรียมเก็บไว้ในธนาคารเลือดที่อายุ 1 วันและอายุ 5 วัน

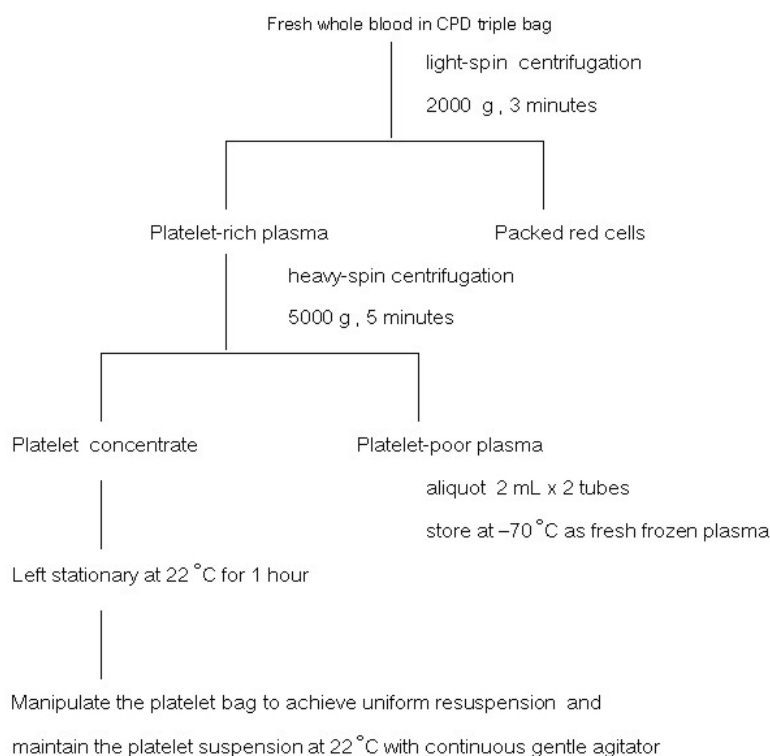
วัสดุและวิธีการ

เกล็ดเลือดเข้มข้น

ผู้บริจาคเกล็ดเลือดมีคุณสมบัติตามเกณฑ์ของผู้บริจาคโลหิตทั่วไป และไม่มีประวัติการรับประทานยากลุ่มแอสไพรินภายใน 5 วันก่อนบริจาค ศึกษาคุณภาพเกล็ดเลือดเข้มข้นที่ธนาคารเลือด คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่ จำนวน 30 ยูนิต

วิธีการ

เตรียมเกล็ดเลือดเข้มข้นจาก fresh whole blood ซึ่งเก็บใน Teruflex CPD triple bag [ขนาด 450 mL มีเนื้อพลาสติกเป็น polyvinyl chloride with di-(2-ethylhexyl) phthalate (PVC + DEHP) และมีน้ำยา citrate phosphate dextrose จำนวน 63 mL ซึ่งประกอบด้วย citric acid 206 mg, sodium citrate 1.66 g, monobasic sodium phosphate 140 mg, dextrose 1.46 g (Terumo, Japan)] บั่นเบา (2,000 g, 3 นาที) ด้วยเครื่องปั่นแยกส่วนประกอบของเลือด RC3BP (Sorvall, USA) เพื่อแยก platelet-rich plasma และ packed red cells นำ platelet-rich plasma มาปั่นหนัก (5,000 g, 5 นาที) เพื่อแยกเกล็ดเลือดเข้มข้นและ platelet-poor plasma ตามลำดับ⁷ ดังแสดงในรูปที่ 1 วางเกล็ดเลือดเข้มข้นให้หนึ่งที่อุณหภูมิ



รูปที่ 1 Diagram for preparing platelet concentrates.

22° ซ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นผสมให้เข้ากันและนำไปเก็บในเครื่องแช่เกล็ดเลือดแบบ vertical rotator (Helmer, USA) ที่มีการควบคุมอุณหภูมิ 22° ซ แบ่ง platelet-poor plasma 2 mL ใส่ในหลอดทดสอบพลาสติกจำนวน 2 หลอด เก็บที่อุณหภูมิ -70° ซ เป็น fresh-frozen plasma นำเกล็ดเลือดเข้มข้นที่อายุ 1 วัน และ 5 วัน ตรวจ swirling phenomenon ที่ถุงเกล็ดเลือด นับจำนวนเกล็ดเลือดและเม็ดเลือดขาวด้วยเครื่องนับเม็ดเลือดอัตโนมัติ Cell-dyn 4000 (Abbott, USA) ตรวจ pH, PO₂ และ PCO₂ ด้วยเครื่องวิเคราะห์แก๊สในเลือด ABL300 (Radiometer, Denmark) ตรวจ morphology score ด้วยกล้อง phase-contrast microscope (Olympus, Japan) และตรวจ hypotonic shock response

Swirling phenomenon

Swirling phenomenon ทำโดยเขววนถุงเกล็ดเลือด

หน้าแหล่งกำเนิดแสง บีบบริเวณปลายถุงเกล็ดเลือดเบาๆ (gently squeeze) สังเกตการไหลเวียนของเกล็ดเลือดในถุง โดย grading ดังนี้

- 3⁺ : พบการไหลเวียนของเกล็ดเลือดในถุงเป็น streaming appearance อย่างละเอียดทั่วทั้งถุงเกล็ดเลือด (throughout the whole bag with contrast visible as fine detail)
- 2⁺ : เกล็ดเลือดไหลเวียนทั่วถุงเกล็ดเลือด (throughout the bag with good contrast)
- 1⁺ : เกล็ดเลือดบางส่วนไหลเวียน (some inhomogeneity visible, but only in a few places and with poor contrast)
- 0 : พลาสมาในถุงยังไม่พบการไหลเวียนของเกล็ดเลือด

Morphology score

ตรวจรูปร่างโดยเจ็จางเกล็ดเลือดเข้มข้น 1:8 ใน platelet-poor plasma หยด platelet suspension ลงบนแผ่นสไลด์และปล่อยให้แห้งเป็นเวลา 2 นาที⁸ คำนวณ morphology score โดยตรวจนับจำนวนเกล็ดเลือด 100 ตัว ด้วย phase-contrast microscope จำแนกตามรูปร่างของเกล็ดเลือดดังนี้^{9, 10}

discoid x 4 ; sphere x 2
dendrite x 1 ; balloon x 0
morphology score
= (discoid x 4) + (sphere x 2) +
(dendrite x 1) + (balloon x 0)

Blood gas analysis

ตรวจ pH, PO₂ และ PCO₂ ด้วยเครื่องวิเคราะห์แก๊สในเลือดซึ่งเป็นระบบปิด (close system) ที่อุณหภูมิ 37° ซ¹¹ คำนวณค่า pH, PO₂ และ PCO₂ ที่อุณหภูมิ 22° ซ ดังนี้^{12, 13}

pH (22° C)
= pH (37° C) + {0.0065 x [7.4 - pH (37° C)] -
0.0146} x {22 - 37}
PO₂ (22° C) = 0.856 PO₂ (37° C)
PCO₂ (22° C) = 0.711 PCO₂ (37° C)

Hypotonic shock response

เจ็จางเกล็ดเลือดเข้มข้น 1:4 ใน platelet-poor plasma ที่ละลายจาก fresh-frozen plasma ซึ่งจะได้ความเข้มข้นของเกล็ดเลือดประมาณ 300,000/ μ L นำเกล็ดเลือดที่เจ็จางแล้ว 1 mL ใส่ในคิวเวตเติม deionized water 1 mL ผสมให้เข้ากัน นำไปวัดการดูดกลืนแสงทันที โดยใช้เครื่อง DU 650 spectrophotometer (Beckman, USA) ซึ่งสามารถวัดการดูดกลืนแสงแบบต่อเนื่อง (kinetic) และมีระบบ integral chart recorder ที่คลื่นแสง 420 nm ทุก 30 วินาที เป็นเวลา 5 นาที ความแตกต่างของการดูดกลืนแสงที่ 2 นาที

หลังจากการดูดกลืนแสงต่ำสุด (minimal absorbance) คือ hypotonic shock response⁵

การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรม SPSS version 8.0 Paired Student's t-test ใช้เปรียบเทียบจำนวนเกล็ดเลือด จำนวนเม็ดเลือดขาว pH, PO₂, PCO₂ และ hypotonic shock response ของเกล็ดเลือดอายุ 1 วันและอายุ 5 วัน Wilcoxon signed rank test ใช้เปรียบเทียบ morphology score และ swirling grading ค่า p-value < 0.05 แสดงว่ามีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลการศึกษา

จำนวนเกล็ดเลือด จำนวนเม็ดเลือดขาว morphology score และ swirling grading ของเกล็ดเลือดเข้มข้นอายุ 1 วันและอายุ 5 วัน แสดงไว้ในตารางที่ 1 เกล็ดเลือดเข้มข้นอายุ 1 วันและอายุ 5 วันในปริมาตร 53.94 $\pm$ 3.05 mL มีจำนวนเกล็ดเลือดเฉลี่ย 6.98 $\pm$ 1.23 x 10¹⁰ ตัว (4.36-9.90 x 10¹⁰) และ 6.82 $\pm$ 1.26 x 10¹⁰ ตัว (4.29-9.50 x 10¹⁰) จำนวนเม็ดเลือดขาวเฉลี่ย 3.46 $\pm$ 5.92 x 10⁷ ตัว (0.29-30.0 x 10⁷) และ 3.01 $\pm$ 4.94 x 10⁷ ตัว (0.13-27.2 x 10⁷) morphology score เฉลี่ย 340.36 $\pm$ 20.73 (292-381) และ 303.43 $\pm$ 25.67 (240-351) swirling grading เฉลี่ย 2.86 $\pm$ 0.34 (2-3) และ 1.80 $\pm$ 0.61 (1-3) ตามลำดับ เกล็ดเลือดเข้มข้นอายุ 5 วันจำนวน 27 จาก 30 ยูนิต (90%) มีจำนวนเกล็ดเลือดมากกว่า 5.5 x 10¹⁰ ตัว จำนวนเกล็ดเลือดและจำนวนเม็ดเลือดขาวอายุ 5 วันไม่แตกต่างจากอายุ 1 วัน (p = 0.053, 0.064) แต่ morphology score และ swirling grading อายุ 5 วันน้อยกว่าอายุ 1 วันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p < 0.001, < 0.001)

pH, PO₂, PCO₂ ของเกล็ดเลือดเข้มข้นอายุ 1 วันและอายุ 5 วัน แสดงไว้ในตารางที่ 2 เกล็ดเลือดอายุ 1 วันและอายุ 5 วันมี pH เฉลี่ย 7.24 $\pm$ 0.11 (6.97-7.44) และ 7.21 $\pm$ 0.14 (6.73-7.43) PO₂ เฉลี่ย 46.61 $\pm$ 32.47

ตารางที่ 1 The cell counts, morphology score and swirling grading of platelet concentrates on day 1 and day 5

	Day 1 (mean $\pm$ SD)	Day 5 (mean $\pm$ SD)	P-value
Cell counts			
Platelets ($\times 10^{10}$ / μ L)	6.98 $\pm$ 1.23	6.82 $\pm$ 1.26	0.053*
Leukocytes ($\times 10^7$ / μ L)	3.46 $\pm$ 5.92	3.01 $\pm$ 4.94	0.064*
Morphology score	340.36 $\pm$ 20.73	303.43 $\pm$ 25.67	< 0.001**
Swirling grading	2.86 $\pm$ 0.34	1.80 $\pm$ 0.61	< 0.001**

*Paired Student's t- test; **Wilcoxon signed rank test

ตารางที่ 2 The metabolic activity and hypotonic shock response of platelet concentrates on day 1 and day 5

	Day 1 (mean $\pm$ SD)	Day 5 (mean $\pm$ SD)	P-value ***
Blood gas analysis (22° C)*			
pH	7.24 $\pm$ 0.11	7.21 $\pm$ 0.14	0.288
PO ₂ (mmHg)	46.61 $\pm$ 32.47	64.51 $\pm$ 30.13	0.011
PCO ₂ (mmHg)	40.07 $\pm$ 8.33	28.61 $\pm$ 6.66	<0.001
Hypotonic shock response	0.08 $\pm$ 0.02	0.05 $\pm$ 0.02	<0.001
Percentage of day 1 (%)**		69.54 $\pm$ 18.84	

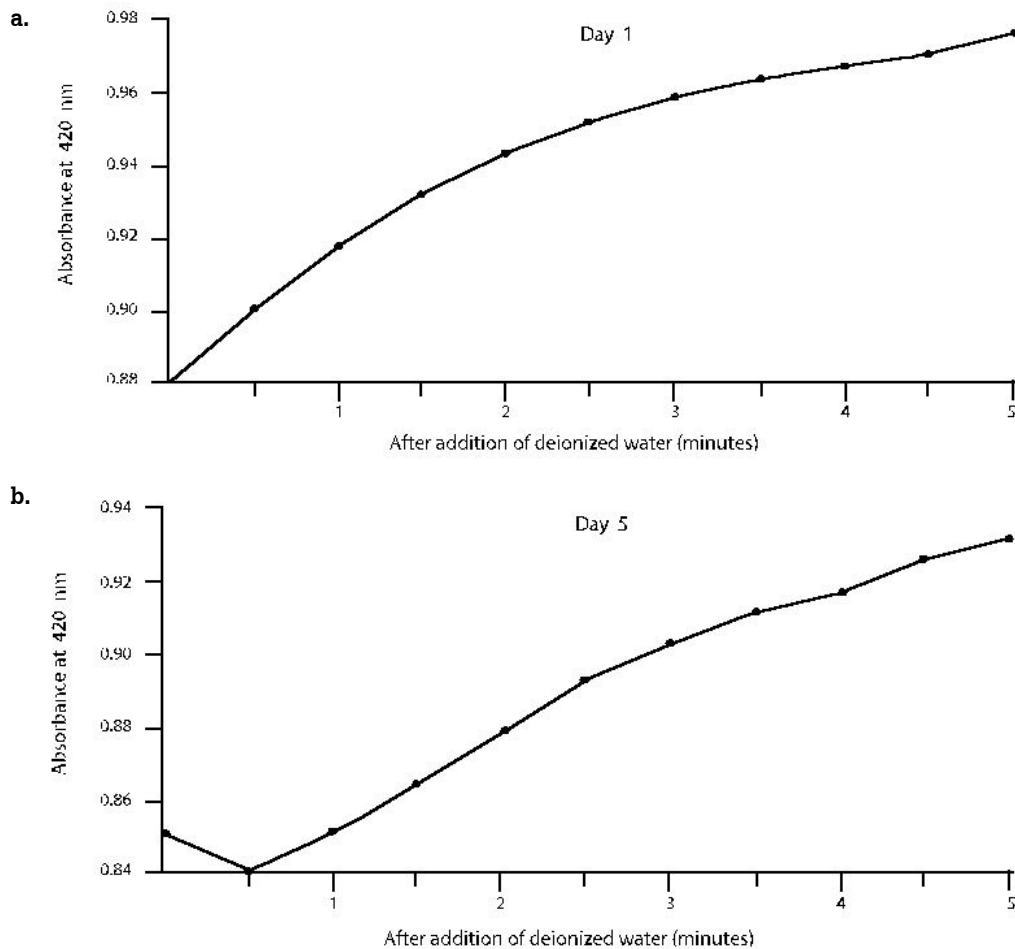
*Blood gas analysis was measured in the Radiometer ABL300 at 37° C and converted to values at 22° C;

**The hypotonic shock recovery of day 5 platelets was calculated as a percentage of day 1 values;

***Paired Student's t- test

mmHg (19.41-126.43) และ 64.51 $\pm$ 30.13 mmHg (19.77-146.88) PCO₂ เฉลี่ย 40.07 $\pm$ 8.33 mmHg (23.10-57.51) และ 28.61 $\pm$ 6.66 mmHg (15.57-42.73) pH ของเกล็ดเลือดอายุ 5 วันไม่แตกต่างจาก pH อายุ 1 วัน (p = 0.288) แต่ PO₂ ของเกล็ดเลือดอายุ 5 วันสูงขึ้นจากอายุ 1 วันและ PCO₂ ลดลง (p = 0.011, < 0.001) ผลการตรวจ hypotonic shock response จากเครื่อง DU 650 spectrophotometer แสดงไว้ในกราฟ (รูปที่ 2) hypotonic shock response คือ

ความแตกต่างของค่าการดูดกลืนแสงที่ 2 นาฬิหลังจกค่าการดูดกลืนแสงต่ำสุด ดังนั้นถ้าค่าการดูดกลืนแสงต่ำสุดอยู่ที่ 0 นาฬิ hypotonic shock response = ค่าการดูดกลืนแสงที่ 2 นาฬิ - ค่าการดูดกลืนแสงที่ 0 นาฬิ (รูปที่ 2a) แต่ถ้าค่าการดูดกลืนแสงต่ำสุดอยู่ที่ 0.5 นาฬิ hypotonic shock response = ค่าการดูดกลืนแสงที่ 2.5 นาฬิ - ค่าการดูดกลืนแสงที่ 0.5 นาฬิ (รูปที่ 2b) hypotonic shock response ของเกล็ดเลือดอายุ 1 วันและอายุ 5 วันเฉลี่ย 0.08 $\pm$ 0.02 (0.02-0.13) และ



รูปที่ 2 A chart recording from DU 650 spectrophotometer. Hypotonic shock response was the difference between the absorbance two minutes after the minimal absorbance.

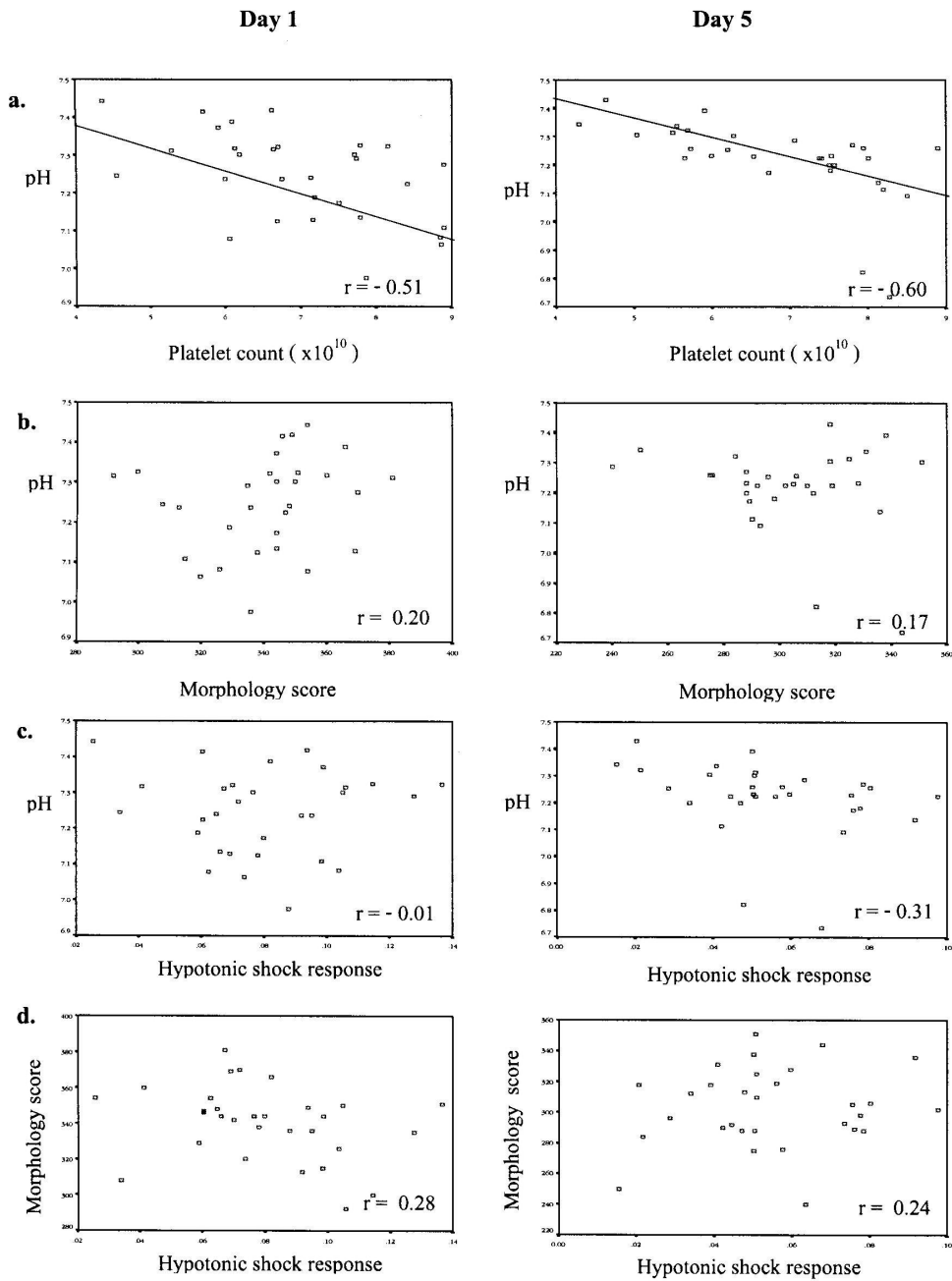
- a. Hypotonic shock response = absorbance at 2 minutes - absorbance at 0 minute.
 b. Hypotonic shock response = absorbance at 2.5 minutes - absorbance at 0.5 minutes.

0.05 ± 0.02 (0.02-0.09) เกล็ดเลือดอายุ 5 วันมี hypotonic shock recovery $69.54 \pm 18.84\%$ ของเกล็ดเลือดอายุ 1 วัน hypotonic shock response ของเกล็ดเลือดอายุ 5 วันน้อยกว่าเกล็ดเลือดอายุ 1 วัน ($p < 0.001$) เกล็ดเลือด 21 จาก 30 ยูนิต (70%) มี hypotonic shock recovery มากกว่า 60% จำนวนเกล็ดเลือดมีความสัมพันธ์ผกผันกับ pH ($r = -0.51$ และ $r = -0.60$) ดังแสดงในรูปที่ 3 แต่ morphology score,

pH และ hypotonic shock response ไม่มีความสัมพันธ์กัน ($r = 0.20, 0.17, -0.01, -0.31, 0.28$ และ 0.24)

วิจารณ์

เกล็ดเลือดเป็น cellular fragment ที่เกิดจากการแตกตัวของไซโตพลาสซึมของ megakaryocyte ในไขกระดูก คนปกติมีจำนวน $150,000-450,000/\mu\text{L}$ เกล็ด



รูปที่ 3 Correlation among the quality tests of day 1 and day 5 platelets.

- Platelet counts and pH.
- Morphology score and pH.
- Hypotonic shock response and pH.
- Hypotonic shock response and morphology score.

เลือดมีรูปร่างเป็น discoid shape ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2-4 μm ประมาณ 2/3 ของเกล็ดเลือดอยู่ในกระแสเลือด ที่เหลืออยู่ในน้ำม้าม เกล็ดเลือดเมื่อถูกปลดปล่อยออกมาในกระแสเลือดมีชีวิต 9-12 วัน จากนั้นจะถูกทำลายด้วย reticuloendothelial system เกล็ดเลือดเหมือนเซลล์เลือดชนิดอื่นคือต้องการพลังงาน ATP สำหรับการเคลื่อนไหว การ active transport ผ่านผนังเซลล์ biosynthesis และรักษาสสมดุลของกลไกการแข็งตัวของเลือด¹⁴ เกล็ดเลือดมีบทบาทต่อกลไกการแข็งตัวของเลือดดังนี้ 1) รักษาความแข็งแรงของหลอดเลือด 2) เมื่อหลอดเลือดฉีกขาดจะรวมกลุ่มกันเป็น platelet plug อุดปิดบาดแผล 3) ทำปฏิกิริยากับปัจจัยการแข็งตัวของเลือดในการสร้างไฟบริน เพื่อเสริมความแข็งแรงของลิ่มเลือด ผู้ป่วยที่มีอาการเลือดออกเนื่องจากจำนวนเกล็ดเลือดต่ำ จำเป็นต้องได้รับเกล็ดเลือดทดแทน¹⁵ ธนาคารเลือดมีบทบาทสำคัญที่เตรียมเกล็ดเลือดที่มีคุณภาพดีที่สุดให้กับผู้ป่วย

คุณภาพเกล็ดเลือดที่เก็บไว้ในธนาคารเลือดมีการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากเมตาบอลิซึมของเกล็ดเลือด¹⁶ ดังแสดงในรูปที่ 4 เกล็ดเลือดที่แขวนลอยอยู่ในพลาสมา 85% ได้รับพลังงานจากปฏิกิริยา oxidative metabolism ผ่าน tricarboxylic acid (TCA) cycle เพียง 15% ได้รับพลังงานจากปฏิกิริยา anaerobic glycolysis สารสำคัญที่ใช้เป็น substrate ในปฏิกิริยา oxidative metabolism คือกรดไขมันอิสระ (free fatty acid) ซึ่งได้จากไตรกลีเซอไรด์ กรดไขมันจะ oxidize ในไมโทคอนเดรียได้ผลลัพธ์คือคาร์บอนไดออกไซด์ซึ่งสามารถซึมผ่านออกนอกถุงเก็บเกล็ดเลือด ในปฏิกิริยา anaerobic glycolysis กลูโคสจะถูก metabolize เป็นไพรูเวตได้แลคเตตและไฮโดรเจนอะตอมปฏิกิริยา glycolysis ให้พลังงานน้อยซึ่งได้ ATP เพียง 2 โมเลกุล/โมเลกุลกลูโคส ขณะที่ปฏิกิริยา decarboxylation ของไพรูเวตให้ ATP 3 โมเลกุล และปฏิกิริยาออกซิเดชันของ acetylcoenzyme A (acetyl-CoA) ให้ ATP

12 โมเลกุล เนื่องจากเอนไซม์ pyruvate dehydrogenase ที่เปลี่ยนไพรูเวต เป็น acetyl-CoA ในเกล็ดเลือดไม่ทำงาน (inactive) ดังนั้นทั้งๆ ที่มีออกซิเจนเมตาบอลิซึมของกลูโคสจึงได้กรดแลคติก บัฟเฟอร์ที่สำคัญของเกล็ดเลือดในพลาสมาคือไบคาร์บอเนต¹⁷ ซึ่งจะจับกับอะตอมไฮโดรเจนเปลี่ยนเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ ในภาวะที่มีไบคาร์บอเนตอย่างเพียงพอเกล็ดเลือดยังสามารถรักษา pH > 6.8 แต่ถ้าปริมาณกรดแลคติกเพิ่มขึ้นมากไบคาร์บอเนตไม่สามารถรักษาสสมดุลทำให้ pH ลดลง ซึ่งถ้า pH < 6.2 เกล็ดเลือดจะเสียชีวิต

อุณหภูมิของการเก็บ จำนวนเกล็ดเลือด การเขย่าระหว่างเก็บ preservation fluid พื้นผิว และความหนาของถุงเก็บเกล็ดเลือดมีผลต่อเมตาบอลิซึมของเกล็ดเลือด ในน้ำยา CPD ประกอบด้วย sodium citrate มีหน้าที่ทำปฏิกิริยา chelate กับแคลเซียมไม่ให้เลือดแข็งตัว citric acid และ sodium phosphate เป็นบัฟเฟอร์ทำให้ pH เหมาะสม dextrose เป็น substrate ของปฏิกิริยา glycolysis pH ของเกล็ดเลือดตามมาตรฐานควรอยู่ระหว่าง 6.8-7.4 ที่อุณหภูมิ 22° ซ. (European guide line)¹⁸ หรือมากกว่า 6.2 [American Association of Blood Banks (AABB)]¹⁹ การที่จะรักษาสภาพ pH ไว้ นั้น ปริมาณพื้นผิวทั้งหมดของถุงเก็บเกล็ดเลือด และอัตราการแลกเปลี่ยนแก๊สระหว่างเกล็ดเลือดในถุงและบรรยากาศภายนอกมีความสำคัญ ถุงเก็บเกล็ดเลือดในระยะเริ่มแรกเป็น polyvinyl chloride และมีส่วนผสม plasticizer ซึ่งทำให้ความยืดหยุ่นของถุงเพิ่มขึ้น ใน first-generation container สามารถเก็บเกล็ดเลือดได้เพียง 3 วัน เนื่องจากถุงหนา ไม่มีรูที่จะให้มีการแลกเปลี่ยนแก๊ส การแลกเปลี่ยนแก๊สอาศัยการละลายของแก๊สในพลาสมาและผ่านออกไปนอกถุงเมื่อพลาสมาอิ่มตัว ดังนั้นเกล็ดเลือดจึงขาดออกซิเจน ไม่สามารถสร้างพลังงาน ATP จาก TCA cycle เกล็ดเลือดปรับตัวโดยหันไปสร้างพลังงาน ATP จากปฏิกิริยา glycolysis (Pasteur effect) ซึ่งได้กรดแลคติกทำให้



The circular pathway in the upper left portion of mitochondrial compartment = tricarboxylic acid (TCA) cycle.

pH ลดลง ต่อมาได้มีการผลิต second-generation container ซึ่งประกอบด้วย polyolefin plastic (Baxter)²⁰ หรือ polyvinyl chloride (Terumo) ที่ปรับความหนาของถุงลดลงและมีพื้นที่ผิวเพิ่มขึ้น²¹ ทำให้ออกซิเจนสามารถซึมเข้าไปและคาร์บอนไดออกไซด์ซึมออกนอกถุง di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) เป็น plasticizer ผสมในเนื้อพลาสติกทำให้ความยืดหยุ่นของถุงเพิ่มขึ้น ถุงเก็บเกล็ดเลือดที่ดีเมื่อนำมาวิเคราะห์แก๊ส ควรมี $PO_2 > 40$ mmHg และ PCO_2 10-100 mmHg แต่ถ้าถุงมีความสามารถในการแลกเปลี่ยนแก๊สมากเกินไปจะทำให้ PCO_2 ต่ำ pH สูงขึ้นและถ้า pH > 7.5 เกล็ดเลือดจะเป็นอันตราย การเขย่าถุงเกล็ดเลือดเบาๆ ตลอดเวลาทำให้การแลกเปลี่ยนแก๊สในถุงเก็บเกล็ดเลือดดียิ่งขึ้น ในการศึกษาเกล็ดเลือดที่อายุ 5 วันมี PO_2 สูงขึ้นและ PCO_2 ลดลง แสดงว่า Teruflex CPD bag ที่ใช้เก็บเกล็ดเลือดมีความสามารถในการแลกเปลี่ยนแก๊สกับบรรยากาศภายนอกได้ pH อายุ 5 วันไม่แตกต่างจากอายุ 1 วัน เนื่องจากออกซิเจนในถุงมีปริมาณเพียงพอต่อปฏิกิริยา oxidative metabolism ปฏิกิริยา anaerobic glycolysis จึงเกิดน้อย ไบคาร์บอเนตที่เป็นบัฟเฟอร์อยู่ในพลาสติกสามารถรักษาสอดคล้องกับไฮโดรเจนอะตอมทำให้ pH ค่อนข้างคงที่

จำนวนเกล็ดเลือดในถุงควรมีปริมาณพอเหมาะ ($4.5-8.5 \times 10^{10}$ ตัว) ในถุงที่มีจำนวนเกล็ดเลือดมากจะมีการใช้พลังงานมากเกิด anaerobic glycolysis ทำให้ pH ลดลง และถ้าจำนวนเกล็ดเลือดในถุงน้อย PCO_2 จะต่ำเนื่องจากคาร์บอนไดออกไซด์ซึมออกนอกถุงมากทำให้ pH สูง เกล็ดเลือดที่นำมาศึกษาอายุ 5 วัน มีจำนวนเกล็ดเลือดเฉลี่ย $6.82 \pm 1.26 \times 10^{10}$ ตัว pH เฉลี่ย 7.21 ± 0.14 27 จาก 30 ยูนิต (90%) มีจำนวนเกล็ดเลือด $\geq 5.5 \times 10^{10}$ ตัว จัดว่าได้มาตรฐานของ AABB โดยมีจำนวนเกล็ดเลือด $\geq 5.5 \times 10^{10}$ ตัว และ pH ≥ 6.2 อย่างน้อย 90% ของจำนวนเกล็ดเลือดที่นำมาทดสอบที่ระยะเวลาสุดท้ายของการเก็บ pH ขึ้นกับอุณหภูมิ ดังนั้นการตรวจวัด pH ที่อุณหภูมิอื่นควรคำนวณกลับ

เป็น pH ที่ 22°C ¹⁸ โดยทั่วไป pH ของเกล็ดเลือดที่ 22°C จะสูงกว่า pH ที่ 37°C ประมาณ 0.18¹² และการตรวจวัด pH ของเกล็ดเลือดควรใช้เครื่องมือระบบปิดเพื่อป้องกัน CO_2 escape

การสังเกต swirling phenomenon ที่ถุงเกล็ดเลือด เป็นการตรวจเกล็ดเลือดรูปร่าง discoid ซึ่งเหมาะสมสำหรับตรวจการคงคุณภาพเกล็ดเลือดจำนวนมาก (large-scale quality control)²² แต่การตรวจยีนย่นรูปร่างเกล็ดเลือด ควรตรวจนับด้วยกล้อง phase-contrast microscope เกล็ดเลือดที่มีรูปร่าง discoid 100% หรือ morphology score = 400 จัดเป็นเกล็ดเลือดเข้มข้นที่มีคุณภาพดีที่สุด แต่ในทางปฏิบัติ การเตรียมเกล็ดเลือดเข้มข้นให้ได้ discoid 100 % เป็นไปได้ยาก เนื่องจากกระบวนการปั่นแยกและการจัดเก็บอาจทำให้ morphology damage ได้บ้าง เกล็ดเลือดที่มี morphology score < 200 เป็นเกล็ดเลือดเข้มข้นที่ไม่มีคุณภาพ⁹ การสังเกตถุงเกล็ดเลือด นอกจาก swirling phenomenon ควรสังเกตการจับกลุ่มของเกล็ดเลือด (platelet aggregation) ร่วมด้วย ซึ่งถ้าพบไม่ควรนำไปให้ผู้ป่วย² อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับเก็บเกล็ดเลือดคือ $20-24^\circ \text{C}$ ไม่ควรเก็บเกล็ดเลือดที่ 4°C เนื่องจากที่ 4°C เกล็ดเลือดจะเปลี่ยนรูปร่างจาก discoid เป็น sphere เกิด microtubule disassembly ทำให้เกล็ดเลือดอายุสั้น

Hypotonic shock response และรูปร่างของเกล็ดเลือดมีความสัมพันธ์กับ post transfusion viability⁶ แต่ hypotonic shock response ไม่มีความสัมพันธ์กับ morphology score ($r = 0.28, 0.24$) เนื่องจากเกล็ดเลือดของผู้บริจาคแต่ละคนมีความแตกต่างกัน เกล็ดเลือดที่มีรูปร่าง discoid เหมือนกัน อาจมีความแข็งแรงความสามารถที่จะขับน้ำออกจากเซลล์ได้ไม่เท่ากัน เนื่องจากการทำ hypotonic shock response ครั้งนี้ใช้เครื่อง DU 650 spectrophotometer ตรวจวัดการดูดกลืนแสง ดังนั้นจึงไม่สามารถตรวจจำนวนเปอร์เซ็นต์ recovery ของเกล็ดเลือดที่อายุ 1 วันและที่อายุ 5 วันได้อย่างสมบูรณ์ ตรวจได้เพียงเปอร์เซ็นต์ของ initial

response เกล็ดเลือดที่มี recovery น้อยกว่า 60% จัดเป็นเกล็ดเลือดที่ไม่แข็งแรง⁵ การทำ hypotonic shock response อย่างสมบูรณ์ควรทำในเครื่อง Chrono-log platelet aggregometer⁶ ซึ่งสามารถนำ platelet-rich plasma มาเซ็ทเครื่องเป็น 10% light transmittance และ platelet-poor plasma มาเซ็ทเป็น 90% light transmittance การตรวจ hypotonic shock response จำเป็นต้องนำ platelet-poor plasma มาเจือจาง platelet concentrate เพื่อปรับความเข้มข้นของเกล็ดเลือดให้ได้ประมาณ 300,000/ μ L ชนิดของพลาสติกที่นำมาเจือจางมีผลต่อการตอบสนองของเกล็ดเลือดใน in vitro test การใช้ fresh-frozen plasma เป็นตัวเจือจางเกล็ดเลือดให้ค่า hypotonic shock response มากกว่าการเจือจางด้วย room-temperature plasma²³ การที่ไม่ใช้ room-temperature plasma เป็นตัวเจือจางเนื่องจากคุณภาพของพลาสติกที่เก็บที่อุณหภูมิ 22° ซ มีการเปลี่ยนแปลงตามระยะเวลา และการเก็บพลาสติกเพื่อให้ผู้ป่วยในทางปฏิบัติในธนาคารเลือดเก็บแบบแช่แข็ง fresh-frozen plasma ก็ใกล้เคียงกับพลาสติกในผู้ป่วยมากกว่า room-temperature plasma ดังนั้น fresh-frozen plasma จึงเป็นตัวเจือจางที่เหมาะสมสำหรับการเปรียบเทียบคุณภาพของเกล็ดเลือดเมื่อเก็บอายุ 1 วันและอายุ 5 วัน

เนื่องจาก hypotonic shock response และการตรวจรูปร่างของเกล็ดเลือดทำได้ไม่ยาก ดังนั้นการทำ hypotonic shock response และ morphology score อาจใช้เป็นการตรวจเพื่อควบคุมคุณภาพเกล็ดเลือดเพิ่มเติม นอกเหนือจากการนับจำนวนเกล็ดเลือดและ pH เพราะการนับจำนวนเกล็ดเลือดด้วยเครื่องนับเม็ดเลือดอัตโนมัติด้วย optical flow cell ซึ่งเป็น light scatter principle และ impedance transducer ซึ่งตรวจความสามารถเกล็ดเลือดที่จะต่อต้านการไหลของกระแสไฟฟ้า ดังนั้นเครื่องนับเม็ดเลือดอัตโนมัติจึงนับได้เพียงจำนวนเกล็ดเลือดทั้งหมด ไม่สามารถแยกจำนวน viable cell ออกจาก non viable cell

ยาในกลุ่มแอสไพรินทำให้เกล็ดเลือดทำหน้าที่ผิดปกติ ดังนั้นการคัดเลือกผู้บริจาคควรถามประวัติการรับประทานยา ซึ่งถ้าได้ยาในกลุ่มแอสไพรินภายใน 5 วัน ไม่ควรบริจาค เกล็ดเลือดเข้มข้นมีเม็ดเลือดขาวปนเปื้อน เม็ดเลือดขาวสามารถแย่งไข่ออกซิเจนจากเกล็ดเลือด ทำให้เกิด anaerobic glycolysis ปริมาณกรดแลคติกเพิ่มขึ้น pH ลดลง แต่การใช้ถุงเก็บเกล็ดเลือดที่มี oxygen-permeability จำนวนเม็ดเลือดขาวแทบไม่มีผลต่อ pH แต่ proteolytic enzyme ที่สร้างจากโมโนไซต์และนิวโทรฟิลจะลดปริมาณไกลโคโปรตีนบนผนังเกล็ดเลือดทำให้ viability ลดลง นอกจากนี้เม็ดเลือดขาวยังอาจกระตุ้น HLA alloimmunization ทำให้เกิด platelet refractoriness² ดังนั้นในผู้ที่รับเลือดและส่วนประกอบของเลือดบ่อยๆ ควรให้เกล็ดเลือดเข้มข้นที่มีเม็ดเลือดขาวน้อย (leukocyte-reduced platelets) ซึ่งเตรียมด้วยวิธีพิเศษ²⁴ โดยมีเม็ดเลือดขาวน้อยกว่า 5×10^6 ตัว (AABB) หรือน้อยกว่า 1×10^6 ตัว (European guideline) และการให้เกล็ดเลือดเข้มข้นที่มีเม็ดเลือดขาวน้อย ยังอาจช่วยลดปฏิกิริยาที่เกิดจากการรับเลือดประเภท febrile nonhemolytic reaction อีกด้วย²⁵

สรุป

เกล็ดเลือดเข้มข้นที่เก็บอยู่ในธนาคารเลือดอายุ 1 วัน และอายุ 5 วัน ได้มาตรฐานตามการควบคุมคุณภาพของ AABB โดยมีจำนวนเกล็ดเลือด $\geq 5.5 \times 10^{10}$ ตัว และ pH ≥ 6.2 อย่างน้อย 90% ของเกล็ดเลือดที่นำมาทดสอบ ถุงเก็บเกล็ดเลือดมีความสามารถแลกเปลี่ยนแก๊สกับบรรยากาศภายนอก ความเป็น discoid shape ของเกล็ดเลือดอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ แต่เกล็ดเลือดอายุ 5 วันมีความแข็งแรงและพลังงานน้อยกว่าเกล็ดเลือดอายุ 1 วัน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณบริษัทเทอโรโมประเทศไทยจำกัดที่สนับสนุนทุนวิจัย หน่วยโลหิตวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ ที่เอื้อเพื่อการใช้เครื่องนับเม็ดเลือดอัตโนมัติ หน่วยโรคไต ภาควิชาอายุรศาสตร์ ที่เอื้อเพื่อการใช้เครื่องวิเคราะห์แก๊สในเลือด และหน่วยพิษวิทยา ภาควิชานิติเวชศาสตร์ ที่เอื้อเพื่อการใช้ DU 650 spectrophotometer

เอกสารอ้างอิง

1. World Health Organization. *The clinical use of blood in medicine, obstetrics, paediatrics, surgery and anaesthesia, trauma and burns*. Geneva: World Health Organization, 2001:86-7.
2. Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M, eds. *Blood transfusion in clinical medicine*. 10th ed. London: Blackwell Science, 1997:459-66.
3. Fratantoni JC, Poindexter BJ, Bonner RF, et al. Quantitative assessment of platelet morphology by light scattering: a potential method for the evaluation of platelets for transfusion. *J Lab Clin Med* 1984;103: 620-31.
4. Bertolini F, Murphy S. A multicenter inspection of the swirling phenomenon in platelet concentrates prepared in routine practice. *Transfusion* 1996;36:128-32.
5. Farrugia A, Chughes C, Douglas S, Neal M, James J. Microtitre plate measurement of platelet response to hypotonic stress. *J Clin Pathol* 1989;42:1298-301.
6. Holme S, Moroff G, Murphy S. A multi-laboratory evaluation of in vitro platelet assays: the tests for extent of shape change and response to hypotonic shock. *Transfusion* 1998;38:31-40.
7. Brecher ME, ed. *Technical manual*. 14th ed. Bethesda, Maryland: American Association of Blood Banks, 2002:748-9.
8. Devine DV, Bradley AJ, Maurer E, et al. Effects of prestorage white cell reduction on platelet aggregate formation and the activation state of platelets and plasma enzyme systems. *Transfusion* 1999;39:724-34.
9. Kunicki TJ, Tuccelli M, Becker GA, Aster RH. A study of variables affecting the quality of platelets stored at room temperature. *Transfusion* 1975;15:414-21.
10. Hutchison RE, Kunkel KD, Schell MJ, et al. Beneficial effect of brief pre-transfusion incubation of platelets at 37° C. *Lancet* 1989;1(8645):986-8.
11. Kocazeybek B, Arabaci U, Akdur H, Sezgiç M, Erenturk S. Prospective evaluation of platelets prepared by single and random methods during 5 days of storage: aspects related to quality and quantity. *Transfus Apheresis Sci* 2002;26:29-34.
12. Kilson H, Holme S, Murphy S. Platelet metabolism during storage of platelet concentrates at 22° C. *Blood* 1984;64:406-14.
13. Severinghaus JW. Blood gas calculator. *J Appl Physiol* 1966;21:1108-16.
14. Harmening DM, ed. *Modern blood banking and transfusion practices*. 4th ed. Philadelphia: FA Davis, 1999:14-9.
15. Hillyer CD, Hillyer KL, Strobl FJ, Jefferies LC, Sillberstein LE, eds. *Handbook of transfusion medicine*. San Diego: Academic Press, 2001:53-61.
16. Murphy S. Preparation and storage of platelet concentrates. In: Rossi EC, Simon TL, Moss GS, Gould SA, eds. *Principles of transfusion medicine*. 2nd ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1996:245-56.
17. de Wildt-Eggen J, Schrijver JG, Smid WM, Joie M, Bollinne V, Bins M. Platelets stored in a new-generation container differences between plasma and platelet additive solution II. *Vox Sang* 1998;75:218-23.
18. Council of Europe. *Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components*. 7th ed. Cedex: Council of Europe publishing, 2001:121-5.
19. Brecher ME, ed. *Technical manual*. 14th ed. Bethesda, Maryland: American Association of Blood Banks, 2002:161-87.
20. de Wildt-Eggen J, Schrijver JG, Bouter-Valk HJ, Fijnheer R, Bins M, van Prooijen HC. Improvement of platelet storage conditions by using new polyolefin

- containers. *Transfusion* 1997;37:476-81.
21. Holme S, Heaton A, Momoda G. Evaluation of a new more oxygen-permeable polyvinylchloride container. *Transfusion* 1989;29:159-64.
22. Fijnheer R, Pietersz RNI, Korte DD, Roos D. Monitoring of platelet morphology during storage of platelet concentrates. *Transfusion* 1989;29:36-40.
23. Mondoro TH, Shafer BC, Vostal JG. Restoration of in vitro responses in platelets stored in plasma. *Am J Clin Pathol* 1999;111:693-9.
24. Pietersz RNI, van der Meer PF, Steneker I, et al. Preparation of leukodepleted platelet concentrates from pooled buffy coats : prestorage filtration with Autostop TM BC. *Vox Sang* 1999;76:231-6.
25. Ogawa Y, Wakana M, Tanaka K, et al. Clinical evaluation of transfusion of prestorage-leukoreduced apheresis platelets. *Vox Sang* 1998;75:103-9.

The Study of the Quality of the Stored Platelet Concentrates

Ruangrong Cheepsattayakorn, Monticha Prasenmool*,

Ladda Fongsatitkul*, and Boontham Kantawee**

*Department of Pathology; *Blood Bank; **Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200.*

Background : The quality of platelet concentrates correlates with platelet survival in vivo. During in vitro storage of platelets in the blood bank the platelets will be activated and lose their discoid shapes. The pH, membrane integrity and energy metabolism may change. The numbers of discoid platelets and the hypotonic shock response correlate well with in vivo platelet viability. **Objective :** To evaluate the quality of platelet concentrates stored in the blood bank. **Materials and Methods :** Thirty units of platelet concentrates in Teruflex CPD bags were prepared by platelet-rich plasma method. Platelets were stored in continuous gentle agitator at 22° C for 5 days. The swirling phenomenon was inspected. Platelets samples were drawn during storage at day 1 and day 5 for laboratory tests. The platelet and leukocyte counts were performed with an automated cell counter. The morphology score was determined by phase-contrast microscopy based on the percentage of each morphologic types (discs, spheres, dendrites and balloons). The pH, PO₂ and PCO₂ were measured by a blood gas analyzer. Hypotonic shock response was induced by adding deionized water to the platelet suspensions diluted with platelet-poor plasma and measurement of the kinetic absorbance at 420 nm in a spectrophotometer. **Results :** The average platelet counts of day 1 and day 5 platelets were $6.98 \pm 1.23 \times 10^{10}$ and $6.82 \pm 1.26 \times 10^{10}$ in 53.94 ± 3.05 mL of plasma. The average leukocyte counts were $3.46 \pm 5.92 \times 10^7$ and $3.01 \pm 4.94 \times 10^7$, respectively. The swirling grading and morphology score were 2.86 ± 0.34 , 340.36 ± 20.73 and 1.80 ± 0.61 , 303.43 ± 25.67 . The pH, PO₂ and PCO₂ of the day 1 platelets were 7.24 ± 0.11 , 46.61 ± 32.47 and 40.07 ± 8.33 mmHg ; and the day 5 platelets were 7.21 ± 0.14 , 64.51 ± 30.13 and 28.61 ± 6.66 mmHg, respectively. Ninety percent (27/30) of day 5 platelets had platelet yield more than 5.5×10^{10} . The pH of all platelets was more than 6.2. The platelet and leukocyte counts at day 5 were not significantly different from day 1 ($p = 0.053$, 0.064). Some discoid platelets were activated so the swirling grading and morphology score were decreased ($p < 0.001$, < 0.001). However, the morphology scores were still more than 200. The platelet containers had sufficient oxygen permeability. The PO₂ was increased and PCO₂ was decreased ($p = 0.011$, < 0.001) and the pH remained stable ($p = 0.288$). The hypotonic shock response at day 5 were $69.54 \pm 18.84\%$ of the day 1 platelets. Seventy percent (21/30) of day 5 platelets had hypotonic shock recovery above 60%. **Conclusion :** 1) The quality of day 1 and day 5 platelets met the standard American Association of Blood Banks (AABB) quality control. The numbers of platelets were more than 5.5×10^{10} and the pH ≥ 6.2 in at least 90% of units tested. 2) The discoid platelets were still present. 3) The membrane integrity and energy metabolism of day 5 platelets were poor.

Key Words : ● Platelet concentrate ● pH ● Morphology score ● Hypotonic shock response

Thai J Hematol Transf Med 2003;13:291-304.