บทที่ ๒

ทฤษฎีเกี่ยวกับการหาปริมาตรเลือดในคน

ประวัติ

เลือดในร่างกายอยู่ได้ด้วยการรวมกันอยู่ในเส้นเลือดซึ่งรวมกันเป็นระบบ เรียกว่า ระบบการไหลเวียนของโลหิต (blood circulation) ซึ่งพบโดย William Harvey เมื่อคริสต์ศตวรรษที่ ๑๖ ตั้งแต่นั้นมาได้มีการค้นคว้าเรื่องเลือดเพิ่มขึ้น มีการค้นพบองค์ประกอบของเลือดหมู่เลือดต่าง ๆ และพบปฏิกิริยาเคมีของเลือดต่อสิ่งแปลกปลอมอื่น ๆ แต่ยังหาวิธีหาปริมาตรเลือดในคนไม่ได้

ต่อมา Lehman & Weber[9] ได้พบวิธีหาปริมาตรเลือดในสัตว์ได้สำเร็จในคริสต์ศักราชที่ ๑๘๕๐ โดยการดูดเลือดออกมาวัดโดยตรง (direct extraction) หลังจากนั้นไม่นาน Bishoff ได้นำมาดัดแปลงใช้วัดในคน ผลจากการทดลองทำให้พบว่าปริมาตรเลือดผู้ใหญ่ชายมีประมาณ ๕-๖ ลิตร หรือ ๑/๓ ของน้ำหนักตัวเป็นกิโลกรัม[9,10] แม้ว่าวิธีนี้จะหาผลได้แน่นอน แต่ก็ไม่สามารถที่จะนำมาหาปริมาตรเลือดในคนขณะมีชีวิตได้

ดังนั้นเพื่อขจัดปัญหาเหล่านี้จึงได้มีการค้นคว้าต่อมา และพบวิธีทำให้เจือจาง (dilution principle) เป็นวิธีที่ทำให้เกิดความแม่นยำถูกต้องพอสมควรพอที่จะนำมาใช้หาปริมาตรเลือดในร่างกายคนได้

หลักการของวิธีเจือจาง (dilution Principle)

ขึ้นกับการปรากฏการณ์ ๒ ประการ คือ[11]

๑. ความเข้มข้นของสารละลายที่ได้จะเป็นสัดส่วนกลับกับ ปริมาตรของตัวทำละลาย ถ้าปริมาตรของตัวทำละลายมาก ค่าความเข้มข้นที่ได้ย่อมมีค่าลดลง

๒. ตามกฎทรงมวลของสาร จำนวนตัวถูกทำลายย่อมจำต้องมีค่าคงที่เสมอ และจะไม่ขึ้นกับปริมาตรของตัวทำละลาย

เพื่อจะได้นำเอาหลักการอันนี้ไปใช้ในการคำนวณหาปริมาตรเลือดในคน ขอยกตัวอย่างประกอบการพิจารณาดังนี้

ในการหาปริมาตรเลือดของคนไข้รายหนึ่ง โดยการฉีดสารละลายชนิดหนึ่งเข้าสู่ระบบการไหลเวียนของโลหิตในร่างกายด้วยความเข้มข้น c มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เป็นจำนวน v มิลลิลิตร หลังจากรอให้สารละลายจำนวนนี้ผสมเข้ากับเลือดทั้งหมดแล้วเจาะเลือดออกมาวัดหาความเข้มข้นของสารละลายนั้นปรากฏว่ามีความเข้มข้น c' มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ดังนั้นสามารถคำนวณหาปริมาตรเลือดได้ดังนี้

$$\text{ปริมาตรเลือดทั้งหมดของคน} = \frac{c \times v}{c'} \quad \text{มิลลิลิตร} \quad (2.1)$$

<u>คุณสมบัติของสารละลายที่ใช้</u> (11,12)

๑. ปริมาณของสารที่ใช้จะต้องไม่มีผลกระทบกระเทือนต่อปริมาตรของตัวทำละลาย
๒. สารที่ใช้นี้ต้องตรวจหาได้ง่าย แม้ในระดับความเข้มข้นต่ำ
๓. ต้องไม่มีการสูญเสียสารนี้ขณะทำการหา
๔. ต้องไม่มีปฏิกิริยาทางเคมีใด ๆ ที่จะเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของสารนี้
๕. ต้องไม่มีการสูญเสียตัวทำละลายขณะทำการตรวจ
๖. ต้องไม่เป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่อและองค์ประกอบของเลือด
๗. ต้องไม่เป็นพิษต่อร่างกายแม้เมื่อได้รับจำนวนมาก
๘. ต้องไม่เป็นสารที่มีคุณสมบัติทาง antigenic property

จากคุณสมบัติของสารที่ใช้ในการติดสลากดังกล่าวแล้ว สามารถนำมาพิจารณาแยกตามคุณสมบัติการเกาะติดของสารนั้นว่าจะเกาะติดกับส่วนใดเม็ดเลือดแดงหรือส่วนพลาสม่า จากสองวิธีนี้ สามารถคำนวณปริมาตรเลือดทั้งหมดในร่างกายได้

การหาปริมาตรเลือดอาศัยคุณสมบัติการเกาะติดของสารต่อส่วนที่เป็นน้ำเลือดนั้น ได้เป็นที่นิยมในระยะแรก ๆ และมีสารหลายชนิดมีคุณสมบัติเช่นที่ว่านี้ เป็นต้นว่า สารที่มีโมเลกุลใหญ่ เช่น poly-saccharide, dextran และโปรตีน (protein) บางชนิด แต่สารเหล่านี้ไปกระตุ้นให้เกิด hypersensitivity ขึ้นได้ และยังถูกกำจัดโดยทาง reticulo endothelial system ทำให้ค่าที่ได้ไม่ถูกต้องจึงได้มีการเปลี่ยนมาใช้สี (dye) คาร์บอนมอนอกไซด์ และสารกัมมันตรังสี

การหาปริมาตรน้ำเลือด (Plasma Volume)

สารที่ติดสลากกับโปรตีนในพลาสม่าได้ ได้แก่ สี อีวาน บูล ที-1824 ซึ่งเม็ดเลือดแดงจะไม่ดูดกลืนสีนี้ การวัดความเข้มข้นใช้เครื่องมือวัดแสง (photoelectric instrument) การวัดที่ได้ค่าถูกต้องที่สุดในการหาปริมาตรน้ำเลือด คือ วิธีติดสลากโปรตีนด้วยสารกัมมันตรังสี คือ human serum albumin ติดสลากด้วย ^{125}I, ^{131}I ซึ่งนิยมอย่างแพร่หลาย

เมื่อติดสลากโปรตีนในพลาสม่าด้วยสารข้างต้นแล้ว นำไปฉีดเข้าสู่กระแสโลหิตในร่างกายแล้ว พวกโปรตีนในน้ำเลือดจะไหลเวียนในกระแสโลหิต แล้วผ่านผนังของเส้นเลือดฝอย (capillary membrane) ออกไปยังช่องว่างระหว่างเซลล์ (interstitial space) (13) ซึ่งอัตราเปลี่ยนแปลงขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของผนังของเส้นเลือดฝอย (capillary permeability) ทำให้มีการสูญเสียโปรตีนไปจากเส้นเลือด ดังนั้นการหาค่าความเข้มข้นของโปรตีนในเส้นเลือดจะต้องเจาะเลือดหลาย ๆ ครั้ง ในเวลาต่างกัน เช่น 10,15,30 และ 45 นาที จากหลอดเลือดดำที่แขนข้างที่ไม่ได้ฉีด แล้วนำไปเขียนกราฟระหว่างความเข้มข้นกับเวลาที่เจาะ แล้วหาความเข้มข้นที่ o นาที แล้วคำนวณหาปริมาตรของพลาสม่าดังนี้

$$\text{Extrapolation method : } PV = \frac{V.D.Ns}{N_O} \qquad (2.2)$$

เมื่อ V เป็นปริมาตรของอัสบิวมินที่ติดสลาก แล้วฉีดเข้าไปในหลอดโลหิต

D เป็นค่า dilution factor

N_s เป็นค่านับวัดของ standard

N_o เป็นค่านับวัดของพลาสม่าโปรตีนที่เจาะที่เวลา ๐

การเติมอัลบูมินระหว่างการเตรียม standard จะช่วยให้มีการสูญเสียอัลบูมินติดสลากน้อยลง เพราะอัลบูมินจะถูกดูดซึมด้วยผิวแก้ว การวัดปริมาตรน้ำเลือดด้วย ^{51}Cr-chromic chloride (Franks & Gray, 1953) จะให้ค่าที่คำนวณได้สูงกว่าความเป็นจริง

การใช้ human serum albumin ติดสลากด้วยสารกัมมันตรังสีไอโอดีน -125 (radioactive iodine-125)[14] เป็นที่นิยมกันอีกวิธีหนึ่ง ในการหาปริมาตรเลือดโดยใช้การวัดรังสีด้วยเครื่องนับวัดรังสี ซึ่งทำได้สะดวกและได้ผลแน่นอนกว่าการใช้สี เพราะความขุ่นของน้ำเลือดไม่มีผลกระทบกระเทือนต่อการวิเคราะห์

<u>การหาปริมาตรเม็ดเลือดแดง</u> (Red Cell Volume Determination)

การหาปริมาตรเลือดแดงโดยอาศัยคุณสมบัติของสารที่เกาะติดกับเม็ดเลือดแดงเป็นวิธีที่นิยมกันมากที่สุด เพราะเม็ดเลือดแดงไม่สามารถหลุดผ่านผนังของเส้นเลือดฝอยได้เหมือนกับพลาสม่า ทำให้ค่าที่ได้ถูกต้องกว่า

ดังนั้นการคำนวณจึงง่ายกว่า ดังสูตร

$$RCV = \frac{S.D.V}{C} \qquad (2.3)$$

S เป็นค่านับวัดของ standard

D เป็นค่า dilution factor

V เป็นปริมาตรของสารละลายมาตรฐานที่ฉีดเข้าไปในร่างกาย (มิลลิลิตร)

C เป็นความเข้มข้นของเม็ดเลือดแดงที่ติดสลากอยู่ในเลือดในร่างกาย (หน่วย/มิลลิลิตร)

การหาปริมาตรเลือดทั้งหมด อาจทำได้ง่าย คือ เอาค่าฮีมาโตคริท คูณกับปริมาตรเม็ดเลือดแดง หรือหาค่าปริมาตรเลือดแดงรวมกับปริมาตรพลาสม่า

$$BV = \frac{S.D.V.100}{C.\ H_V} \qquad (2.4)$$

H_b คือ ค่าฮีมาโตคริทในร่างกาย

ก. <u>คาร์บอนมอนอกไซด์</u> (Co-Carbonmonoxide)

การใช้ ให้แก๊สคาร์บอนมอนอกไซด์ ประมาณ ๒๕๐ มิลลิลิตร สูดหรือดมเข้าสู่ร่างกายด้วยเครื่องมือพิเศษ แก๊สจำนวนนี้จะรวมตัวกับส่วนของฮีโมโกลบินของเลือด ทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนชนิดหนึ่ง ซึ่งวัดได้โดยอาศัย spectroscopy เป็นวิธีที่ยุ่งยากและได้ผลไม่ถูกต้องเท่าที่ควร

ข. <u>ฟอสฟอรัส -32 (^{32}P)</u> (15)

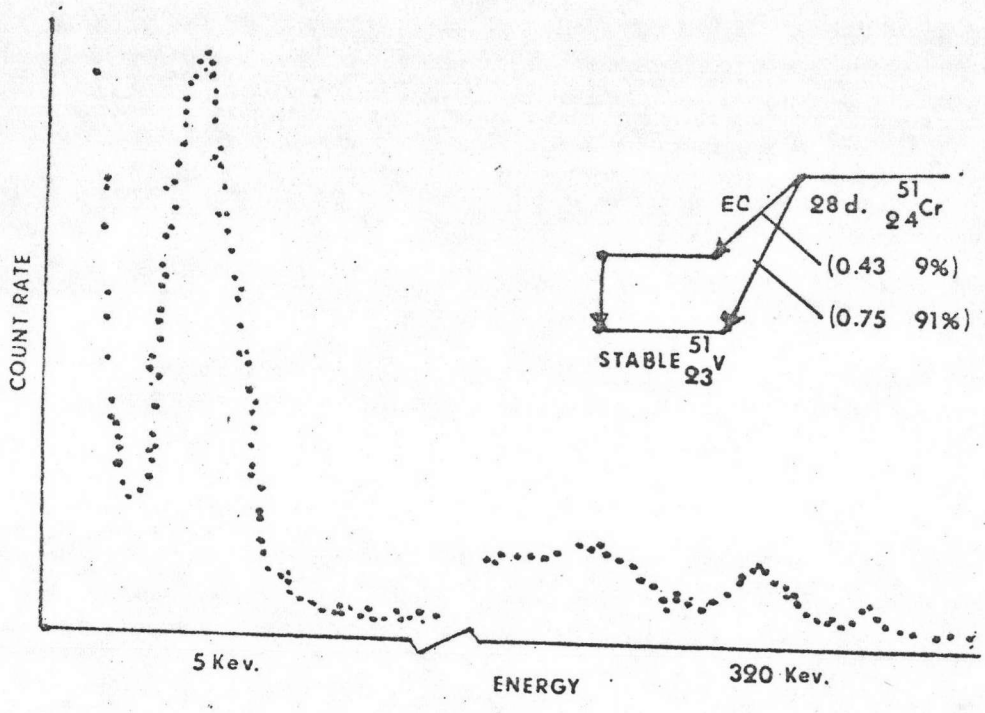
ได้มีรายงานการใช้ฟอสฟอรัส ติดสลากเม็ดเลือดแดงในการหาปริมาตรเลือด โดย Reeve & Veall (1974) เป็นวิธีที่ง่าย โดยเอาฟอสฟอรัส ในรูปโซเดี่ยมไบฟอสเฟท (Na_2HPO_4), incubate กับเลือด มันจะติดกับเม็ดเลือดแดงในรูป organic phosphate(1) แต่มีข้อเสียคือ มันยังติดแน่นได้ง่ายกับ triose, hexose และ phospholipids ด้วย ทำให้ประสิทธิภาพการเกาะติดไม่คงที่ พบว่าประมาณ ๖๐% ของสารนี้ถูกกำจัดออกจากร่างกายภายในระยะเวลาประมาณ ๑ ชั่วโมง

ฟอสฟอรัส-32 จะให้รังสีเบต้ามีพลังงาน 1.71 Mev. มีเวลาครึ่งอายุ 14.3 วัน วัดรังสีเบต้าได้ด้วย Geiger Muller Counter

ค. <u>โครเมี่ยม -51</u> (^{51}Cr - Chromium-51)

การใช้โครเมี่ยม-51 ได้เป็นที่นิยมกันอย่างแพร่หลายตั้งแต่คริสต์ศักราช 1950 เป็นต้นมา โดย Sterling & Gray ได้รายงานเทคนิคการหาปริมาตรเม็ดเลือดแดงด้วยสารกัมมันตรังสีโครเมี่ยมในรูปของ Sodium chromate (Na_2CrO_4) เมื่อนำมาติดสลากกับเม็ดเลือดแดงมันจะผ่านผนังของเม็ดเลือดแดงเข้าไปติดกับส่วน β-chain globin ของฮีโมโกลบิน(3) หลังจากโครเมี่ยมผ่านเข้าไปในเม็ดเลือดแดง chromate จะถูก reduce เป็น chromic form ซึ่งจะไม่สามารถผ่านผนังเซลล์เม็ดเลือดแดงไปเกาะกับตัวอื่น ๆ อีก แม้ว่าเม็ดเลือด

แดงจะแตกและปล่อยให้ chromic หลุดออกมา โครเมี่ยมมีการสูญเสียจากร่างกายอย่างช้า ๆ ดังนั้นจึงไม่ต้องคำนึงถึงการสูญเสียของโครเมี่ยม -51 มีคุณสมบัติทางฟิสิคส์ คือ มีเวลาครึ่งอายุ 27.8 วัน และสลายตัวให้รังสีแกมม่าพลังงาน 0.3198 Mev. ดังรูปที่ 2.1 ปริมาณรังสีไมโครคูรี่ของโครเมี่ยม -51 จะทำให้ได้รับปริมาณรังสีตลอดร่างกายในผู้ใหญ่ ประมาณ 3.9 mrad (8)



รูปที่ 2.1 แสดงโฟตอนสเปคตรัมของโครเมี่ยม-51และ decay scheme, ที่ 5 Kev. เป็น x-ray peak, ที่ 320 Kev. เป็น gamma peak
ที่พลังงานรังสีต่ำวัดด้วยหัววัด NaI (Tl) ขนาด 1 x 1/32 นิ้ว
ที่พลังงานสูงวัดด้วยหัววัด Na I (Tl) ขนาด 2 x 2 นิ้ว

ง. <u>คาร์บอนมอนอกไซด์</u> (^{11}CO-Carbonmonoxide)

ได้มีการนำเอา ^{11}CO-carbonmonoxide ซึ่งเป็นสารกัมมันตรังสีติดสลากกับเม็ดเลือดแดง แล้วนำมาหาค่าปริมาตรเลือดแดงโดย Glass และ คณะ (1968) แต่มีข้อจำกัดในการใช้เพราะ ^{11}C มีเวลาครึ่งอายุเพียง 20 นาที

จ. <u>เทคนีเชี่ยม-99 เอ็ม</u> ($^{99m}_{43}$Tc - Technetium)

Sorensen (1964) ได้นำ Molybdenum-99 ในรูปของ ammonium molybdate ฉีดเข้าไปในหลอดเลือดดำเพื่อสะแกนตับ แต่ในปัจจุบันได้ถูกนำมาทำให้เป็นตัวกำเนิดเทคนีเชี่ยม-99 เอ็ม (technetium generator) ซึ่งเป็นสารกัมมันตรังสีที่นำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์โดยนำไปตรวจภายในร่างกาย (in vivo studies) ถึง 90% (16)

$^{99m}_{43}Tc_{56}$ 43 คือ ตัวเลขอะตอม

56 คือ จำนวนนิวตรอน

99 คือ น้ำหนักอะตอม

m แสดงว่าเทคนีเชี่ยมมีสถานะทางนิวเคลียร์เป็น 'metastable' และเป็น isomerกับ $^{99}_{43}Tc_{56}$ โดยเทคนีเชี่ยม-99 เอ็ม จะลดสถานะโดย 'isomeric transition' ด้วยการปล่อยรังสีแกมม่าออกมา

๑. <u>การประดิษฐ์โมลิบดีนั่ม-99</u>

$^{99}_{42}Mo_{56}$ ประดิษฐ์ได้ด้วยเตาปฏิกรณ์ปรมาณู (reactor) หรือ ไซโครตรอน (cyclotron) โดยวิธีแรกจะแยกโมบิลดีนั่ม-99 จาก fission products ของยูเรเนี่ยม-235 หรือโดยวิธี activate ^{98}Mo ด้วยเทอร์มัลนิวตรอน (thermal neutrons) โดยอาศัยปฏิกิริยา neutron capture

การแยกโมลิบดีนั่ม-99 จาก fission products แยก ^{99}Zr (Zirconium) ซึ่งเป็นอิสระ (carrier free) และมี specific activity สูงและมันจะสลายตัวให้ ^{99}Nb (niobium-99) แล้วสลายตัวต่อไปเป็นโมลิบดีนั่ม

$$^{99}_{43}Zr \xrightarrow[-1\ beta]{t1/2\ 30sec.} {}^{99}_{41}Nb \xrightarrow[-1\ beta]{t1/2\ 3min.} {}^{99}_{42}Mo$$

การประดิษฐ์โมลิบดีนั่ม -99 ด้วยเทอร์มัลนิวตรอนในเตาปฏิกรณ์ปรมาณูเป็นแบบ 'n,gamma' ใช้ ^{98}Mo เป็นเป้า (target) ยิงด้วยเทอร์มัลนิวตรอนซึ่งมันจะจับนิวตรอนแล้วให้รังสีแกมม่าออกมาดังนี้

$$^{99}Mo + {}^{1}_{0}n \xrightarrow[thermal]{} gamma + {}^{99}Mo + {}^{98}Mo$$

ข้อดีของวิธีนี้ คือ สะดวก แต่ข้อเสียคือ จะให้ specific activity ต่ำและไม่เป็น carrier free

การประดิษฐ์โดยไซโคลตรอนเป็นวิธีที่ซับซ้อนและแพงกว่าวิธีแรก โดยการยิงอะตอมด้วย charge particles ตัวอย่างเช่น

$$^{100}Mo\ (p,2p)\ {}^{99}Nb \xrightarrow[-1\ beta]{t1/2\ 3min.} {}^{99}Mo$$

$$^{100}Mo\ (p,\ pn)\ {}^{99}Mo$$

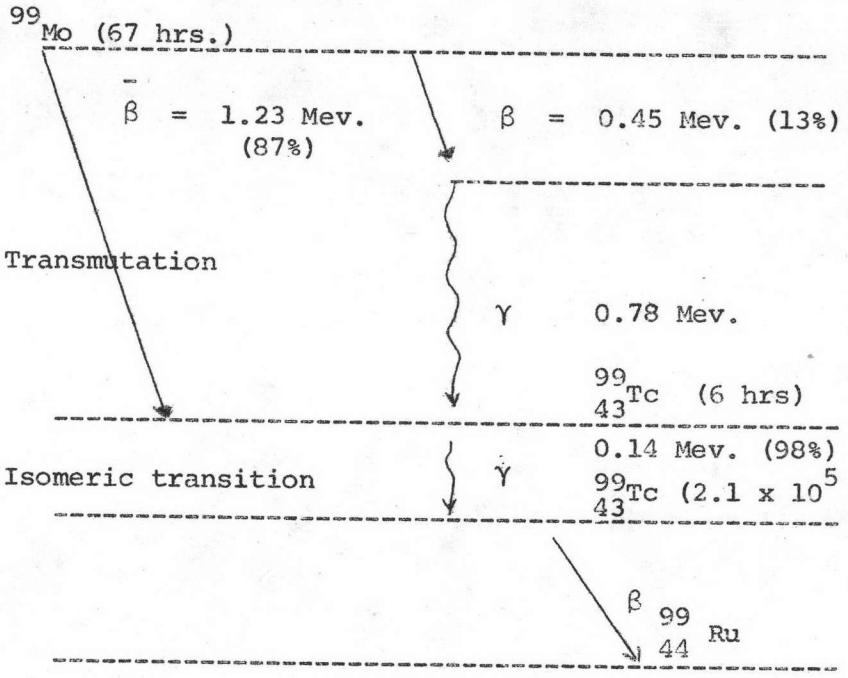
ด้วยวิธีดังกล่าวข้างต้น การผลิตโมลิบดีนั่ม เพื่อการค้าได้เลือกผลิตโดยวิธีแยกจาก fission products และ thermal neutron activation

เทคนีเชี่ยม-99 เอ็ม ได้จากการสลายตัวของโมลิบดีนั่ม-99 โดยการปล่อยรังสีเบต้า แล้วให้เทคนีเชี่ยม-99 เอ็ม (87%) เทคนีเชี่ยม-99 (13%) ดังรูปที่ 2.2

$$^{99}_{42}Mo \xrightarrow{t1/2\ 67hrs.} {}_{-1}beta + {}^{99m}_{43}Tc + antinutrino$$

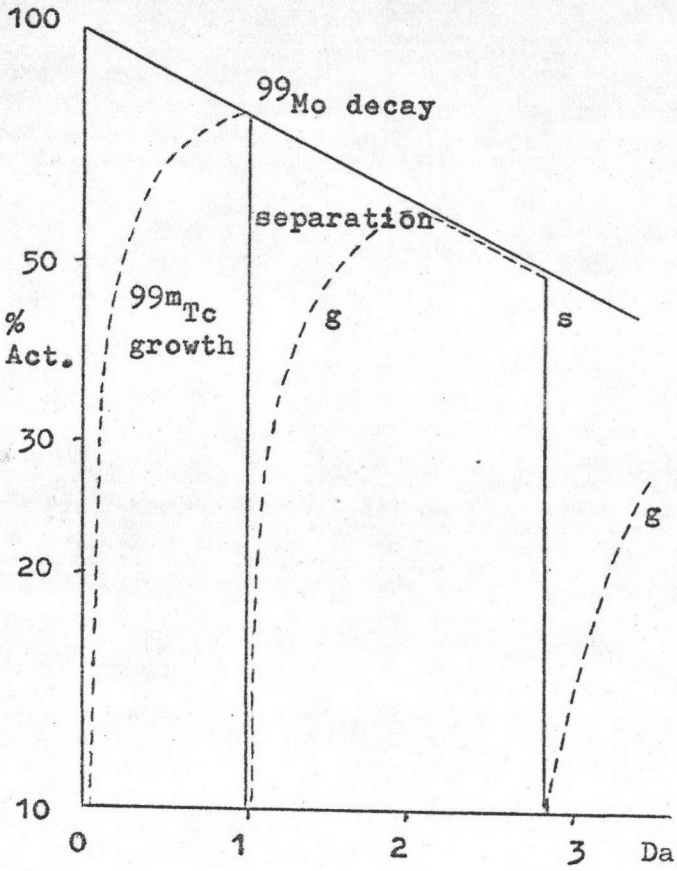
รูปที่ 2.2

Decay Scheme for ^{99}Mo



004530

ความสัมพันธ์ของ activity ระหว่างโมลิบดีนั่ม-99 กับเทคนีเชี่ยม-99 เอ็ม ขึ้นกับเวลาดังแสดงในรูปที่ 2.3 เมื่อแกน y แสดงค่า activity ด้วย log scale normalized 100% initial activity ของโมลิบดีนั่ม-99 และแกน x แสดงเวลา เส้นตรงในกราฟเป็น characteristic curve ของ ^{99}Mo 67 ชั่วโมง ส่วน curve อื่น ๆ แสดงการเพิ่มจำนวน activity ของ ^{99m}Tc จาก ^{99}Mo



รูปที่ 2.3 กราฟการเกิดและสลายตัวของ ^{99m}Tc - ^{99}Mo, g = growth of ^{99m}Tc s = separation of ^{99m}Tc from ^{99}Mo

การเพิ่มจำนวนอะตอมของเทคนีเชี่ยม-๙๙ เอ็ม โดยการสลายตัวของโมลิบดีนั่ม-๕๑ที่จุดสูงสุดของการเกิดเทคนีเชี่ยม-๙๙ เอ็ม ซึ่งจะมีการสลายตัวด้วยเวลาครึ่งอายุของโมลิบดีนั่ม-๙๙ เรียกภาวะนี้ว่า 'transient equilibrium' ซึ่งใช้เวลาประมาณ ๒๔ ชั่วโมงหลังการแยกเทคนีเชี่ยม-๙๙เอ็ม ออกจากโมลิบดีนั่ม-๙๙

๒. การแยกเทคนีเชี่ยมเปอร์เทคนีเทท ($^{99}TcO_4^-$) ออกจากโมลิบดีนั่ม-๙๙ ($^{99}MoO_4^-$) โดยทางเคมีมี ๓ วิธี

๒.๑ column separation

๒.๒ solvent extraction

๒.๓ sublimation

วิธีที่นิยมคือ ให้โมลิบเดท ($^{99}MoO_4^=$) ถูกดูดกลืนด้วย alumina clumn และเปอร์เทคนีเตทแยกออกจากคอลัมน์โดยวิธี elute ด้วยน้ำเกลือนอร์มัล (isotonic sodium chloride solution) ซึ่งจะขับเทคนีเชี่ยม-99 เอ็ม ออกมาในรูปของ $Na^{99m}TcO_4$ โดยที่โมลิบดีนั่มยังคงอยู่ในอะลูมิน่า การผลิต generator system เป็นแบบปิด เพื่อความปลอดเชื้อของเทคนีเชี่ยมที่ได้

๓. <u>การควบคุมคุณภาพของเทคนีเชี่ยม-99เอ็ม ก่อนนำไปใช้เป็นยาฉีด</u>

๓.๑ กำหนดให้มี ^{99}Mo ไม่เกิน 1 ไมโครคูรี่/มิลลิคูรี่ของเทคนีเชี่ยม-99เอ็ม หรือ 5 ไมโครคูรี่/dose

๓.๒)aluminium breakthrough กำหนดให้ ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (activation) และ 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

๓.๓ radionuclide impurity กำหนดให้มี contamination gamma ทั้งหมดไม่เกิน 0.5 ไมโครคูรี่/มิลลิคูรี่ ^{99m}Tc, หรือ 2.5 ไมโครคูรี่/dose

๓.๔ pH of elution 4.5-7.5 ส่วนใหญ่ของผู้ผลิตจะทำให้มี pH 5.5-6.0

๔. <u>คุณสมบัติทางเคมีของเทคนีเชี่ยม</u>

เทคนีเชี่ยมมีคุณสมบัติทางเคมีคล้ายกับ rhenium และ manganese ซึ่งอยู่ในกลุ่ม 7A ในตารางธาตุซึ่งมี oxidation state +7 มีรูปเป็น MnO_4, ReO_4 และ TcO_4 high valence state ของ Re จะ stable กว่า Mn และจะไม่ stable ที่ lower valence state, compound technetium สามารถเพิ่ม valence จาก -1 ถึง +7 oxidation state ที่ stable ที่สุดของ compound technetium คือ heptavalence pertechnetate (TcO_4^-) และ tetravalence dioxide (TcO_2) compound ที่มี valence ต่ำกว่า +4 oxidize ได้ +7 state แต่ถ้า compound เทคนีเชี่ยมมี valence มากกว่า +4 จะได้ดังนี้

$$3Tc(V) \longrightarrow 2Tc(IV) + Tc(VII)$$

$$3Tc(VI) \longrightarrow Tc(IV) + 2Tc(VII)$$

เทคนีเชี่ยมเปอร์เทคนีเตท ($^{99m}TcO_4^-$) เมื่อเข้าไปในร่างกายจะถูกจับด้วยต่อมธัยรอยด์ คล้ายกับไอโอไดด์ ต่อมน้ำลาย กระเพาะอาหาร และช่องว่างระหว่างเซลล์

การทดลองในmillimolar quantities ของเทคนีเชี่ยม-99 พบว่าเมื่อใช้ $SnCl_2.2H_2O$ มากพอจะ reduce เปอร์เทคนีเตทใน DTPA เป็น +3 oxidation state และใน citrate solution เป็น +4 oxidation state

<u>การติดสลากเม็ดเลือดแดงด้วยเทคนีเชี่ยม-99เอ็ม</u>

Anghileri (1970) และคณะได้รายงานถึงวิธีการติดสลากเทคนีเชี่ยมกับเม็ดเลือดแดงซึ่งเป็นวิธีใหม่ และเห็นว่าจะให้ประโยชน์อย่างกว้างขวาง ข้อที่สำคัญคือปริมาณรังสีที่ผู้ป่วยได้รับมีค่าต่ำมาก เพราะเทคนีเชี่ยม-99 เอ็ม 1 ไมโครคูรี่จะให้ปริมาณรังสีทั่วร่างกายในคนผู้ใหญ่ประมาณ 0.073 mrad.(8)

ในปีเดียวกันนี้ Eckelman และคณะ(17) ได้รายงานการติดสลากเม็ดเลือดแดงด้วยเทคนีเชี่ยม-99เอ็ม โดยใช้ citrate blood แล้วแยกเอาน้ำเลือดออก นำเม็ดเลือดแดงที่ได้มาติดสลากด้วยเทคนีเชี่ยม-99เอ็ม incubate ที่ 37°C นาน 10 นาที แล้วใช้ reducing agent คือ $SnCl_2$ solution 1 mg/ml ใช้เพียง 0.1 ml (100 µg $SnCl_2.2H_2O$) ประสิทธิภาพในการติดสลากได้ 50-60% แล้วล้างภายหลังจากการติดสลากด้วยน้ำเกลือนอร์มัล ๒ ครั้ง

ต่อมา Swartz และคณะ(18) ได้พัฒนาการติดสลากนี้ให้มีประสิทธิภาพสูงถึง 80-90% โดยการศึกษาความแตกต่างของการติดสลากเม็ดเลือดแดงด้วยเทคนีเชี่ยมอย่างเดียวกับการใช้ reducing agent ($SnCl_2$) ผลที่ได้ คือ reducing agent จะทำให้ได้ผลการติดสลากสูงกว่าเมื่อไม่ใช้ reducing agent เท่าตัวและความคงตัว (stability) เมื่อใช้

ducing agent ดีกว่าและใช้ 5%EDTA solution ขจัดสารละลาย $SnCl_2$ ที่เหลืออยู่โดยใช้ ^{119m}Sn เป็นตัวติดตามผล พบว่าไม่มี Sn^{++} เหลืออยู่หลังการล้างด้วย EDTA

ต่อมาในปีคริสต์ศักราช 1972, Korubin และคณะ[19] ได้รายงานผลการเปรียบเทียบค่าปริมาตรเม็ดเลือดแดง เมื่อใช้เทคนีเชี่ยม-99 เอ็มติดสลากเม็ดเลือดแดง กับโครเมี่ยม-51 ติดสลากเม็ดเลือดแดง พบว่าได้ค่าใกล้เคียงกันในช่วงเวลา ๒ ชั่วโมง หลังการติดสลากแต่ถ้านานกว่านี้ activity ของ ^{99m}Tc จะลดลงถึง 90%

Mrinal Kanti Dewanjee (1974) ได้รายงานผลการติดสลากเม็ดเลือดแดงด้วยเทคนีเชี่ยม-99เอ็ม ว่าเทคนีเชี่ยมจะเกาะติดกับ globin และผลการติดสลากมีประมาณ 65-85% และไม่ขึ้นกับการเก็บเลือดใน ACD หรือ heparin แต่อย่างใด และยังคงใช้ $SnCl_2$ เป็น reducing agent

ต่อมา Smith & Gutkowski RF[25,26] ได้รายงานถึงการใช้ liophilized stannous citrate หรือ gluconate เป็น reducing agent ที่ให้ผลดีตัวหนึ่ง

Korubin และคณะ[19] และ Eckelman และคณะ[23] ได้อธิบายถึงความก้าวหน้าของเทคนีเชี่ยมติดสลากเม็ดเลือดแดงในการหาปริมาตรเลือดมากกว่าโครเมี่ยมติดสลากเม็ดเลือดแดง และยังมีประโยชน์ในการทำ radionuclide angiography และ blood pool images ต่าง ๆ[22,24,25] ได้แก่ การถ่ายภาพของม้าม หัวใจ และรก เป็นต้น

ในปีคริสต์ศักราช 1975 U.Yun Ryo และคณะ[26] ได้รายงานความคงตัวของเทคนีเชี่ยมติดสลากเม็ดเลือดแดงสุนัข ในร่างกายสุนัข การติดสลากใช้ ACD เป็นแอนตี้โคแอคกูแลนท์ และใช้ $SnCl_2$ 2-30 µg/nl red blood cells เป็น reducing agent

ในตารางที่ 2.1 แสดงการเปรียบเทียบความคงตัวระหว่างเทคนีเชี่ยม-99เอ็ม กับโครเมี่ยม-51 ติดสลากเม็ดเลือดแดงในระบบการไหลเวียนของโลหิตในสุนัข

ตารางที่ 2.1

แสดงความคงตัวของเทคนีเชี่ยม-99เอ็ม และโครเมี่ยม
ติดสลากเม็ดเลือดแดงในสุนัข

เวลาหลังการฉีด	๑/๒ ชั่วโมง	๑ ชั่วโมง	๒ ชั่วโมง	๒๔ ชั่วโมง
^{51}Cr-RBC	97.5 (± 2.6)	91.5 (± 3.4)	86.6 (± 1.5)	80.2 (± 5.4)
^{99m}Tc-RBC	97.6 (± 1.2)	92.1 (± 2.8)	83.5 (± 3.1)	53.9 (± 9.4)

ตัวเลขที่แสดงในตารางเป็นค่าที่วัดได้ จากการเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำที่เวลาต่างกัน เทียบเป็นเปอร์เซนต์กับค่าที่วัดได้เมื่อเจาะที่ ๑๕ นาทีหลังการฉีด

* จากการทดลองของ RYO U. Y. (27)

ต่อมา Bardy และคณะ (1975) (27) ได้ใช้ Stannous pyrophosphate เป็น reducer ซึ่งให้ผลการติดสลากสูงสุดเมื่อใช้ 0.28 µg/ml red blood cells ถึง 98.3%

ในปีถัดมา Schmidt และคณะ(37)ได้รายงานผลการศึกษา การติดสลากเม็ดเลือดแดงด้วยเทคนีเชี่ยม-99เอ็ม ในการหาปริมาตรเลือดในคนเปรียบเทียบกับโครเมี่ยม-51 ในจำนวน ๑๕ คน และสรุปผลว่าใช้เทคนีเชี่ยม-99 เอ็มติดสลากเม็ดเลือดแดงแทนโครเมี่ยม-51 ได้ แม้ว่าค่าคงตัวของเทคนีเชี่ยมติดสลากเม็ดเลือดแดงมีระยะเวลาสั้น ๆ แต่เวลาที่ใช้ในการตรวจเพียง ๓๐ นาที ซึ่งยังคงอยู่ในช่วงที่มีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก จนกระทั่งไม่ทำให้เกิดความแตกต่างกัน

อันตรายจากการใช้ reducing agent ซึ่งเป็นสารที่เป็นพิษต่อร่างกาย ดังนั้น การให้จึงต้องจำกัดจำนวนให้น้อยที่สุด และไม่เป็นอันตรายต่อผู้ป่วย การให้ $SnCl_2$ จำนวน 100 ไมโครกรัม ในการตรวจหาปริมาตรเลือดที่เป็นที่ยอมรับ (19,27)

อีมาโตคริท (The Haematocrit)

เลือดประกอบด้วยส่วนของเซลล์เม็ดเลือดแดง และส่วนของน้ำพลาสม่า (plasma) ดังนั้นการหาอัตราส่วนของปริมาตรเลือดแดง กับปริมาตรเลือดทั้งหมด ทำให้ง่าย ๆ โดยการปั่นเลือดใน Wintrobe tube ด้วยแรง 1250-1400 g แล้วอ่านค่าข้างต้น ก็คือค่าอีมาโตคริท แต่โดยวิธีนี้จะมีส่วนของน้ำเลือดแทรกอยู่ในส่วนของเม็ดเลือด ซึ่งหนักกว่าย่อมตกตะกอนอยู่ที่ก้นหลอด และยังมีส่วนของเม็ดเลือดอื่น ๆ ซึ่งมีจำนวนเล็กน้อยอยู่ในส่วนของเม็ดเลือดแดง จากเหตุผลดังกล่าวข้างต้นทำให้ค่าอีมาโตคริทที่ได้สูงกว่าความเป็นจริง

ข้อผิดพลาดที่เกิดจากเหตุอื่น ๆ จำเป็นต้องแก้ไข เพื่อให้มีค่าผิดพลาดน้อยที่สุด ดังนั้นจึงต้องยึดหลักดังนี้

ก) ต้องผสมเลือดให้ดี เพื่อเป็นการไล่ออกซิเจนในเม็ดเลือดแดง

ข) ต้องใช้ heparin ที่แห้งหรือ EDTA จำนวนพอเหมาะ

ค) การวัดต้องทำภายใน ๖ ชั่วโมง หลังการเจาะเลือดและต้องเก็บในอุณหภูมิ $4^{o}C$

ง) ต้องคำนึงถึงเวลาและการหมุนของเครื่องปั่นโดยเทียบกับ Standard อีมาโตคริท

การหาค่าอีมาโตคริทในร่างกายได้มีการทดลองหลายวิธีรวมทั้งการใช้สารกัมมันตรังสีติดสลากพลาสม่าแล้วนำมาหาค่าอีมาโตคริทจากสูตร (11)

$$Hb = \frac{\text{cpm/ml whole blood}}{\text{cpm/ml plasma}} \times 100 \qquad (2.5)$$

จากสูตรข้างต้นจะให้ค่าที่แน่นอนเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ Wintrobe tube Ebert และ Stead (1941) ได้ยืนยันผลจากการทดลองอื่น ๆ และสรุปได้ว่าฮีมาโตคริทที่หาได้ (Hv = venous haematocrit) มีค่าสูงกว่าฮีมาโตคริทในร่างกาย (Hb = body haematocrit) ประมาณ 10%

ดังนั้นการหาปริมาตรเลือดได้จากสูตรต่อไปนี้

$$BV = \frac{PV \times 100}{100 - Hb} = \frac{PV \times 100}{100 - 0.9\ Hv} \qquad (2.6)$$

$$BV = \frac{RCV \times 100}{Hb} = \frac{RCV \times 100}{0.9\ Hv} \qquad (2.7)$$

Hb เป็นค่าฮีมาโตคริทที่หาได้โดยการหาค่าพลาสม่าและปริมาตรเม็ดเลือดแดงในคน ๆ เกียวกันโดยตรง แล้วนำค่าที่ได้มาหาค่าอัตราส่วนระหว่างปริมาณเม็ดเลือดแดงกับปริมาตรเลือดทั้งหมดดังนี้

การหาปริมาตรพลาสม่าโดย ^{125}I-albumin = 3,364 ml

การหาปริมาตรเม็ดเลือดแดงโดย ^{51}Cr-RBC = 2,091 ml

$$Hb = \frac{2,019 \times 100}{(3,364 + 2,019)} = 37.5\ \%$$

<u>การหาปริมาตรเลือดโดยการหาค่าปริมาตรพลาสม่าและปริมาตรเม็ดเลือดแดง</u>

การหาปริมาตรเลือดโดยวิธีนี้จะต้องใช้สารในการติดสลาก ๒ ตัว ซึ่งอาจเป็นสารกัมมันตรังสีทั้งคู่ หรือเป็นสารที่ไม่ให้รังสีตัวหนึ่ง แต่ที่นิยมใช้กันคือ ใช้สารกัมมันตรังสีทั้งคู่ สารที่เลือกใช้ในวิธีนี้ ได้แก่ สารในตาราง 2.2

ตารางที่ 2.2

สารที่ใช้ในการหาปริมาตรเม็ดเลือดแดงและพลาสม่าในเวลาเดียวกัน

การติดสลาก	
พลาสม่า	เม็ดเลือดแดง
T-1842	^{32}P, ^{51}Cr
^{125}I, ^{131}I-albumin	^{32}P
^{125}I, ^{132}I, ^{131}I-albumin	^{51}Cr
^{125}I, ^{131}I-albumin	^{99m}Tc

การหาปริมาตรเลือดในคนปรกติ

การหาปริมาตรเลือดในคนปรกติมีความแตกต่างกัน เนื่องจากมีความแตกต่างกันทั้งน้ำหนัก ส่วนสูง พื้นผิว (surface area or lean body mass) และยังขึ้นกับอายุ เพศ สิ่งแวดล้อม ความเป็นอยู่ และเผ่าพันธุ์[28-30] ความสำคัญของการหาปริมาตรเลือดในคนปรกติ เพื่อเป็นค่าประมาณในการเปรียบเทียบกับค่าปริมาตรในผู้ป่วย ซึ่งเป็นวิธีทายปริมาตรเลือดในภาวะปรกติได้โดยอาศัยอายุ เพศ ส่วนสูง และน้ำหนัก เพื่อประโยชน์ในการรักษาได้อย่างถูกต้อง

การหาค่าปริมาตรเลือดในคนปรกติผู้ใหญ่ได้มีการวิจัยกันอย่างแพร่หลายและเท่าที่รวบรวมได้จากการวิจัย ดังแสดงในตาราง 2.3

ตาราง 2.3

The Regression Equation of Blood Volume

Tracer	Regression Equation	SE	Correlation Cofficient
Hicks[31]	BV = 37.2w + 2390	649	
Evans blue	BV = 56.7 - 4860	535	
^{51}Cr, ^{32}P	BV = 46.6 + 21.6w - 4670	483	
Edwards[32]	BV = 49.0H - 3830	480	0.675
Evans blue	BV = 32.5W + 2261	418	0.771
	BV = 2461SA + 237	379	0.816
Nadler[33]	men		
^{131}I-albumin	$BV = 0.3669h^3 + 0.03219w + 0.6041$		
	women		
	$BV = 0.3561h^3 + 0.03308w + 0.8133$		
Retzlaff[34]	men		
^{51}Cr	BV = 8.2H + 17.3W - 693	253	
	women		
	BV = 16.4H + 5.7W - 1645	129	
Cropp[35]	men		
Evans blue	BV = 63.15W+ 275	377	0.96
	BV = 3187SA- 1136	299	0.97
	log BV = 0.008578H + 2.1900	0.02827	0.99
	log BV = 0.9406logW+ 1.4577	0.5162	0.97
	log BV = 1.4080logSA + 3.3034	0.0389	0.98
	women		

Tracer	Regression Equation	SE	Correlation Cofficient
Cropp	BV = 2379SA - 450	271	0.95
	log BV = 0.007173H + 2.3457	0.05006	0.95
	log BV = 0.8257logW + 2.098	0.0497	0.96
	log BV = 1.2082logSA + 3.2869	0.0492	0.96
Wennesland[29]	men		
^{51}Cr-RBC	BV = 52.1H - 4700	450	
	BV = 41.0W - 1530	400	
	BV = 28.5H + 31.6W-2820	370	
	BV = 3140SA - 1410	360	
	RCV = 22.4H - 1930	250	
	RCV = 21.4W + 490	200	
	RCV = 8.6H + 18.6W - 830	190	
	RCV = 1550SA - 890	190	
Brown[30]	women		
^{51}Cr-RBC	BV = 35.73H - 2320	366	
	BV = 47.16W + 864	319	
	BV = 16.52H + 38.46W - 1369	308	
	BV = 28858SA - 1131	308	
	RCV = 14.64H - 957	153	
	RCV = 18.26 + 490	139	
	RCV = 7.49H + 14.32W - 603	134	
	RCV = 1138SA - 397	134	
Harley[36]	men		
^{51}Cr	$RCV = 1486SA^2 - 4106SA + 4514$		0.95
	$PV = 995e^{+0.6085SA}$		0.95
	women		
	RCV = 1167SA - 479		0.94
	$PV = 1278SA^{0.289}$		0.91

Tracer	Regression Equation	SE	Correlation Coefficient
	men		
Romsai[6] ^{51}Cr-RBC	log BV = 3.4733 + 1.0282 (logW - 1.59)	0.0381	0.981
	women		
	log BV = 3.4212 + 1.0086 (logW - 1.56)	0.024	0.987
Somlak[7] ^{51}Cr-RBC	men		
	RCV = 29.53SA- 61.66	158.9	0.83
	RCV = 26.85W - 71.19	104.9	0.93
	women		
	RCV = 27.37SA+ 71.83	122.3	0.90
	RCV = 28.85W - 191.60	71.5	0.97

H = body heigh (m)
W = body weight (kg)
BV = blood volume (ml)
PV = plasma volume (ml)
RCV = red cell volume (ml)
SA = surface area or lean body mass (m^2)