## บทความฟื้นวิชา

# Red Cell Antigens as Functional Molecules and Autoimmune Hemolytic Anemia (AIHA)

**ปรียานาถ วงศ์จันทร์**

*แขนงวิชาวิทยาศาสตร์การธนาคารเลือด ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่*

Autoimmune hemolytic anemia หรือ AIHA เป็นโรคที่มีสาเหตุจากผู้ป่วยสร้างแอนติบอดีต่อแอนติเจนบนผิวเม็ดเลือดแดงของตนเอง แอนติเจนนั้นอาจเป็นโมเลกุลใดๆ ก็ได้ มิใช่เฉพาะแอนติเจนหมู่เลือด ทำให้มีการทำลายเม็ดเลือดแดงในร่างกายมากขึ้น อายุของเม็ดเลือดแดงสั้นลง สามารถแบ่งตามชนิดของแอนติบอดี (warm หรือ cold AIHA) หรือ แบ่งตามสาเหตุ (idiopathic หรือ secondary AIHA)

บนผิวเม็ดเลือดแดงประกอบด้วยโมเลกุลต่างๆ มากมายหลายชนิด นอกจากมีความหลากหลายแล้ว ยังพบว่าหลายชนิดนั้น มีตำแหน่งของแอนติเจนหมู่เลือดอยู่ด้วย โมเลกุลเหล่านี้ทำหน้าที่ต่างๆ กัน บางชนิดยังไม่ทราบหน้าที่และความสำคัญ ดังนั้นหากมีการแสดงออกที่ผิดปกติของโมเลกุลดังกล่าว ไม่ว่าจะในด้านคุณภาพหรือปริมาณ ย่อมมีผลทำให้เม็ดเลือดแดงมีความผิดปกติไปด้วย ในด้านโครงสร้าง การทำหน้าที่ รูปร่างและการแสดงออกของแอนติเจนหมู่เลือด ในด้านความผิดปกติของโครงสร้างและหน้าที่จะมีผลทำให้เม็ดเลือดแดงมีอายุสั้นกว่าปกติ เกิดพยาธิสภาพขึ้นได้ แม้ว่าจะไม่มีการสร้างแอนติบอดีเกิดขึ้น ดังเช่นที่พบเป็นสาเหตุในกรณี AIHA

ด้วยข้อมูลเบื้องต้นสองประการ ซึ่งมีผลต่ออายุขัยของเม็ดเลือดแดงและส่งผลทำให้เกิดพยาธิสภาพแก่ผู้ป่วย ในการตรวจวินิจฉัยและให้การรักษาที่ถูกต้อง จึงจำเป็นต้องอาศัยข้อมูลจากผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการช่วยยืนยัน ดังนั้นบทความนี้จะได้กล่าวถึงโมเลกุลบนผิวเม็ดเลือดแดง ความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและการทำหน้าที่ ซึ่งมีผลต่ออายุขัยของเม็ดเลือดแดงและพยาธิสภาพของผู้ป่วยในแบบต่างๆ รวมถึงพยาธิสรีรวิทยาและพยาธิกำเนิดของ AIHA และการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ รวมถึงการเตรียมเลือดและส่วนประกอบของเลือดสำหรับผู้ป่วย AIHA เพื่อเป็นแนวทางแก่นักเทคนิคการแพทย์ต่อไป

*ได้รับต้นฉบับ 1 พฤษภาคม 2551 ให้ลงตีพิมพ์ 23 พฤษภาคม 2551*

*ต้องการสำเนาต้นฉบับติดต่อ ผศ.ดร.ปรียานาถ วงศ์จันทร์ แขนงวิชาวิทยาศาสตร์การธนาคารเลือด ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่*

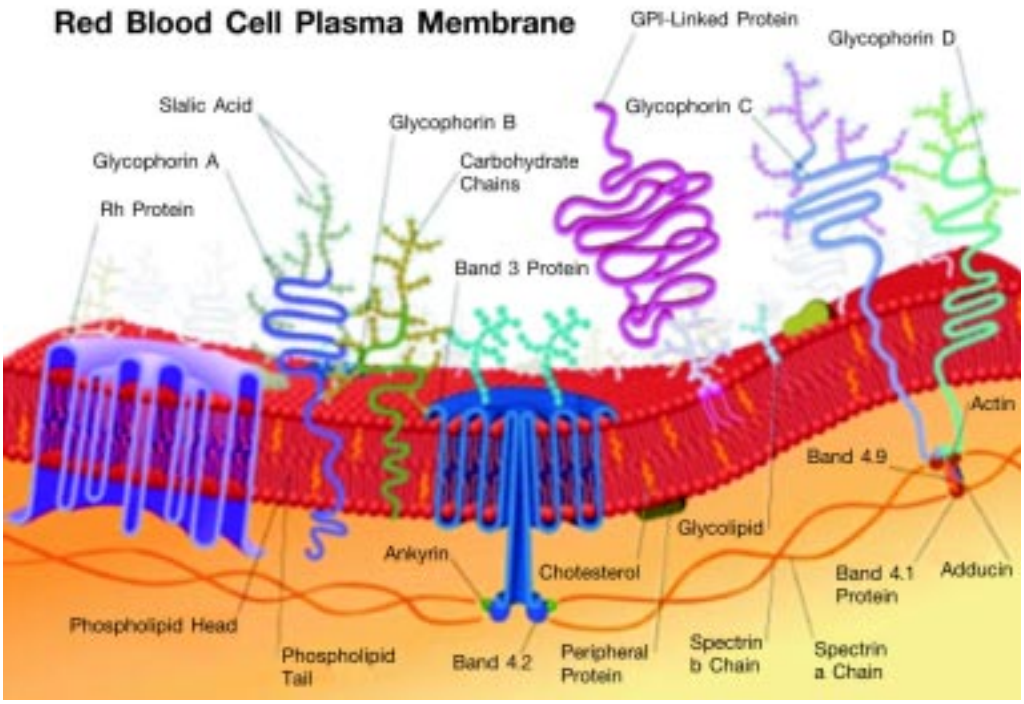
### Red cell blood group antigens as functional molecules

**โมเลกุลหลายชนิดอยู่บนผิวเม็ดเลือดแดง มีหน้าที่สำคัญมากมาย และยังเป็นตำแหน่งของแอนติเจนหมู่เลือด ความผิดปกติของโมเลกุลเหล่านี้มีผลต่อการเกิดพยาธิสภาพ เพราะเม็ดเลือดแดงมีความผิดปกติไป**

นักวิทยาศาสตร์ศึกษาโปรตีนบนผิวเซลล์เม็ดเลือดแดงในหลายมิติ ด้วยข้อมูลจากการศึกษาพบโมเลกุลหลายชนิด แตกต่างกันทั้งหน้าที่ และโครงสร้าง (รูปที่ 1) จึงจำแนกโปรตีนบนผิวเซลล์เป็นกลุ่ม โดยใช้โครงสร้าง หรือหน้าที่เป็นเกณฑ์ ตัวอย่างเช่นการแบ่งกลุ่มตามโครงสร้าง เช่น Integral membrane proteins ซึ่งแบ่งเป็นชนิดที่มี N- หรือ C-terminal อยู่ภายใน cytoplasm หรืออยู่ด้านนอกของผิวเซลล์ หรือการแบ่งตามจำนวนครั้งของสายเปปไทด์ที่พาดผ่านชั้นเมมเบรน ซึ่งมักเป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่ในการขนส่ง หรือเป็นตัวรับจำเพาะบนผิวเซลล์ ในการจำแนกตามหน้าที่ซึ่งมักสัมพันธ์และมีความสำคัญต่อความแข็งแรงและความยืดหยุ่นของผนังเซลล์เม็ดเลือดแดงด้วย ตัวอย่างการจำแนกตามหน้าที่เช่น โปรตีนที่ทำหน้าที่ขนส่ง (transporters) ทำหน้าที่เป็นเอนไซม์ หรือทำหน้าที่เป็นตัวรับจำเพาะสำหรับโมเลกุลใดๆ ตารางที่ 1 แสดงหน้าที่และรายชื่อของโปรตีนและคาร์โบฮัยเดรตบนผิวเม็ดเลือดแดงที่มีตำแหน่งของแอนติเจนหมู่เลือดอยู่ ซึ่งจะเห็นได้ว่าหากยีนที่กำหนดการสร้างโปรตีนเหล่านี้มีความผิดปกติไป หรือโครงสร้างของโปรตีนมีความผิดปกติไปด้วยเหตุผลใดๆ นอกจากส่งผลต่อการทำหน้าที่และบทบาทของโปรตีนต่อเม็ดเลือดแดง ทำให้เม็ดเลือดแดงทำงานผิดปกติ มีอายุขัยสั้นลงแล้ว ยังมีผลทำให้การแสดงออกของแอนติเจนหมู่เลือดผิดไปจากที่ควรเป็นอีกด้วย

**แอนติเจนหมู่เลือดที่มีตำแหน่งอยู่บนโมเลกุลซึ่งมีบทบาทสำคัญต่อความแข็งแรงของผนังเซลล์เม็ดเลือดแดง**

โมเลกุลหลายชนิดมีบทบาทสำคัญต่อความแข็งแรงของผนังเซลล์เม็ดเลือดแดง ความผิดปกติยีนที่กำหนดการสร้างโมเลกุลดังกล่าว ทำให้โมเลกุลมีโครงสร้างที่ผิดปกติ รวมถึงการทำหน้าที่ด้วย ดังนั้นเม็ดเลือดแดงจึงมีผนังเซลล์ที่ไม่แข็งแรง และสูญเสีย



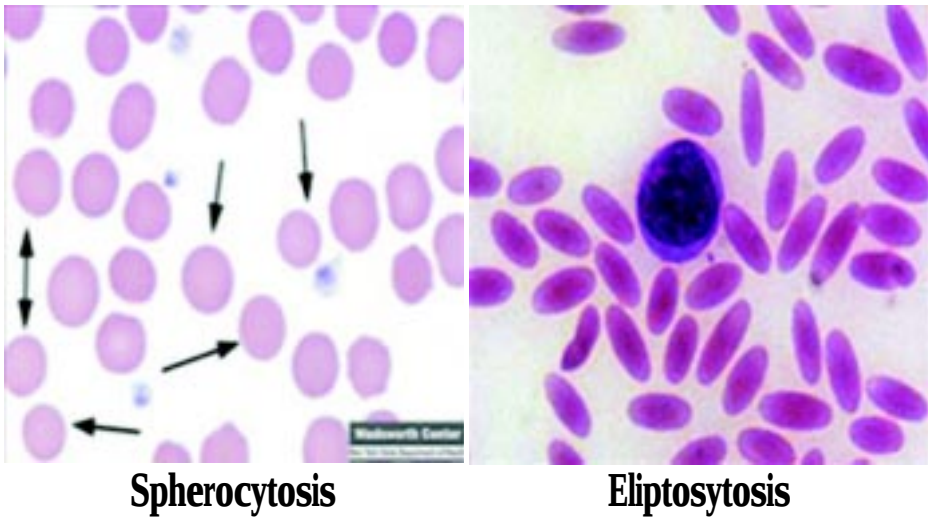

**รูปที่ 1** แสดงโมเลกุลชนิดต่างๆ บนผิวเซลล์เม็ดเลือดแดง (ที่มา www.nn.wikibooks.org)

ความยืดหยุ่น มีผลทำให้เม็ดเลือดแดงแตกง่าย เกิดภาวะซีด เนื่องจากเม็ดเลือดแดงแตก ในบทความนี้จะยกตัวอย่างกลไกและพยาธิสภาพที่เกิดขึ้นเมื่อมีความผิดปกติในการแสดงออกของแอนติเจนหมู่เลือดระบบ Gerbich, Rh และ Kx ซึ่งอยู่บนโปรตีนบนเม็ดเลือดแดง ซึ่งได้แก่ Leach phenotype และ McLeod phenotype ตามลำดับ

**Leach phenotype**

เป็น Congenital hemolytic anemia ที่เกิดจากความผิดปกติของผนังเซลล์เม็ดเลือดแดง เป็นตัวอย่างหนึ่งของ hereditary hemolytic anemia ซึ่งเป็นผลจากความผิดปกติของผนังเม็ดเลือดแดง ลักษณะเม็ดเลือดแดงของผู้ป่วยเป็นแบบ spherocytosis และ elliptocytosis (รูปที่ 2) เม็ดเลือดแดงแตกง่าย ทำให้ผู้ป่วยมีอาการซีด

**สาเหตุของการเกิดโรค** เกิดจากความผิดปกติของยีนบนแขนข้างสั้นของโครโมโซม 2 (2q14-q21) ซึ่งกำหนดการสร้าง glycophorin C และ D (GPC, GPD) โมเลกุลทั้งสองมีโครงสร้างเป็น single-pass membrane sialoglycoprotein ทำ




**รูปที่ 2** แสดงลักษณะของ spherocytosis และ Elliptocytosis ในผู้ป่วย Leach phenotype (ที่มา www.nn.wikibooks.org)

**ตารางที่ 1** แสดงชนิดของโปรตีนบนผิวเม็ดเลือดแดงที่มีแอนติเจนหมู่เลือด และหน้าที่ของโปรตีนดังกล่าว

| Chromosomal Locus | Locus Name | Blood group (Abbreviation) | Function |
|---|---|---|---|
| 1p13 | CD58 | None known | Adhesion molecule that binds CD2 |
| 1p36.11 | RH | Rhesus (Rh) | Unknown |
| 1p22.1-p36.2 | SC | Scianna (Rd) | Unknown |
| 1p32-p35 | RD | Radin (Rd) | Unknown |
| 1q22-23 | DARC | Duffy (Fy) | Chemokine receptor |
| 1q32 | CR1 | Knops-McCoy | Complement receptor 1 (complement regulatory protein) |
| 1q32 | DAF | Cromer (Cr) | Decay accelerating factor (complement regulatory protein) |
| 2q14-21 | GYPC | Gerbich (Ge) | Membrane-cytoskeleton interaction |
| 3q13.1-13.2 | CD47 | None known | Integrin-associated signaling, adhesion receptor |
| 4q28-31 | GYPA | MN | Chaperone of the anion channel protein (band3) |
| 4q28-31 | GYPB | Ss | Unknown |
| 6p21.3 | C4A, C4B | Chido, Rodgers | C4 component of complement |
| 6p21.3 | HLA | Bg | HLA class I |
| 6p21.1-p11 | RHAG | Rh-associated glycoprotein | Ammonium transport |
| 7p14 | AQP1 | Colton (Co) | Water channel protein |
| 7q22.1-22.3 | ACHE | Cartwright (Yt) | Acetylcholinesterase |
| 7q33 | KEL | Kell (K, k, Kp, Js) | Metalloproteinase |
| 9q34.1-q34.2 | ABO | ABO | ABO glycosyltransferases |
| 11p13 | CD59 | None known | Inhibits formation of the complement membrane attack complex (C5-9) |
| 11p13 | CD44 | Indian (In), AnWj | Adhesion receptor |
| 11p15.5 | MER2 | MER2 | Unknown |
| 12p13.2-12p12.1 | DOK | Dombrock | ? ADP-ribosyltransferase |
| 15q22.3-23 | SEMA7A | JMH | Putative adhesion receptor |
| 16p12.3 | UMOD | ?Sd[a] | Tamm-Horsfall protein (Uromodulin) |
| 17q12-q21 | EPB3 | Diego (Di), Wright (Wr) | Anion channel protein (band3, AE1) |
| 18q11-q12 | UT1 | Kidd (Jk) | Urea transporter |
| 19p13.3 | FUT3 | Lewis (Le) | $\alpha$(1,3) fucosyltransferase |
| 19p32.2-pter | OK | Pka | Neurothelin, putative adhesion molecule |
| 19p11-p13 | LW | LW | Adhesion receptor |
| 19q13.3 | FUT2 | Secretor (Se) | $\alpha$(1,2) fucosyltransferase |
| 19q13.3 | FUT1 | Hh | $\alpha$(1,2) fucosyltransferase |
| 19q13.2-13.3 | LU | Lutheran (Lu) | Adhesion receptor |
| 22q11.2-q7er | P[1] | $P_1$ | Glycosyltransferase |
| Xp21.1 | XK | Kx | Putative neurotransmitter transporter |
| Xp22.32 | XG | Xg | Formerly called PBDX; Possible adhesion receptor |
| Xp22.33-Yp11.3 | MIC2 | None known | Mucin, putative adhesion molecule |

หน้าที่ในการรักษาความแข็งแรงของผนังเซลล์และมีการเชื่อมต่อกับ protein 4.1 ซึ่งเป็น cytoskeleton network[15] (Leach phenotype มีความคล้ายคลึงกับ hereditary ellipitoxytosis ซึ่งเป็นความผิดปกติจากการขาด protein 4.1) เนื่องจากแอนติเจนหมู่เลือดระบบ Gerbich (Ge) มีตำแหน่งบน GPC และ GPD ดังนั้นหากตรวจแอนติเจนหมู่เลือด จะไม่พบการแสดงออกของแอนติเจนหมู่เลือดระบบ gerbich (Ge) ทุกชนิด ความผิดปกติในการแสดงออกของยีนมีทั้งที่เป็น deletion (เช่น deletion ที่ Exon 3-4 ขนาด 2 kb) และ Frameshift mutation ซึ่งมีผลทำให้ stop codon เปลี่ยนตำแหน่งไปจากเดิม

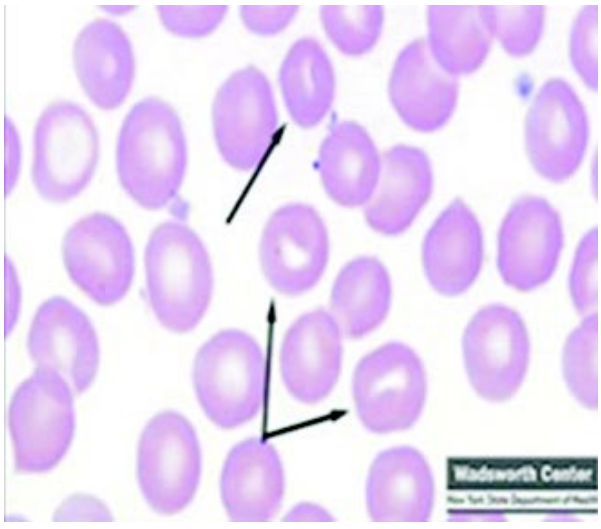
**อุบัติการณ์** พบน้อยมาก มีรายงานผู้ป่วย Leach phenotype ไม่ถึง 10 รายทั่วโลก อย่างไรก็ตามพบความสัมพันธ์ระหว่างแอนติเจนหมู่เลือดระบบ Ge กับการติดเชื้อมาลาเรีย โดยพบว่าในประชากรเมลานีเชียน หมู่เกาะนิวกีนีเหนือ ซึ่งมี phenotype เป็น Ge negative มีอุบัติการณ์ติดเชื้อมาลาเรียชนิด Plasmodium falciparum ต่ำกว่าในกลุ่มประชากรที่มี Ge positive phenotype ลักษณะเช่นนี้สอดคล้องกับผลการศึกษาในหลอดทดลองที่พบว่าเม็ดเลือดแดงที่มี Ge negative มีการติดเชื้อมาลาเรียน้อยกว่ากลุ่มควบคุมซึ่งมี Ge positive phenotype[4]

**Anion channel protein (AE1)** เป็นโปรตีนบนผิวเม็ดเลือดแดงอีกชนิดหนึ่งที่มีตำแหน่งของแอนติเจนหมู่เลือด และสัมพันธ์กับ hereditary hemolytic anemia ผู้ป่วยมีอาการซีดจากเม็ดเลือดแดงแตกง่าย เม็ดเลือดแดงมีลักษณะ spherocytosis ซึ่งเป็นผลจากความผิดปกติของ AE1 ทำให้ปฏิสัมพันธ์ระหว่าง AE1 และ Ankyrin ซึ่งเป็น cytoskeleton network protein เสียไป ทำให้สูญเสียการควบคุมโครงสร้างและรูปร่างของผนังเม็ดเลือดแดง อย่างไรก็ตามโรคนี้ไม่มีผลต่อการแสดงออกของแอนติเจนหมู่เลือดที่อยู่บน AE1 ซึ่งประกอบด้วยหมู่เลือดระบบ Diago และ Wright ซึ่งแตกต่างจากกรณีของ Leach phenotype ที่ไม่มีการแสดงออกของแอนติเจนหมู่เลือดระบบ Gerbich เลย[6-9] นอกจากซีดแล้ว ผู้ป่วยมีอาการร่วมคือ distal renal tubular acidosis เนื่องจากมีการแสดงออกของ AE1 บนผิวเซลล์ renal tubules ด้วย[10-11]

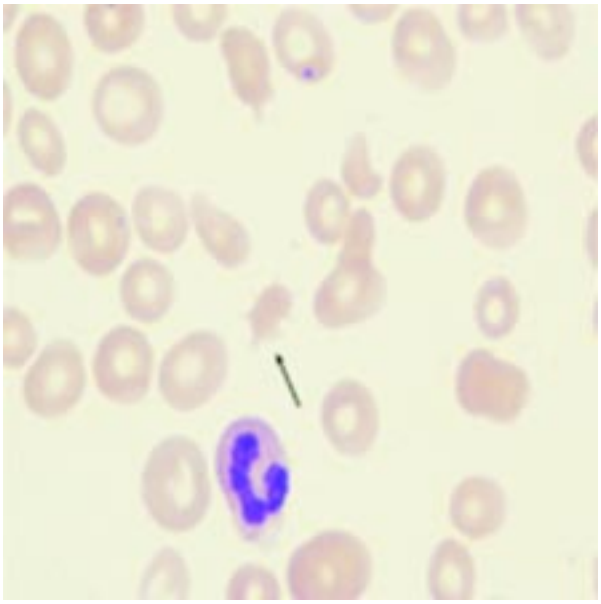
แอนติเจนหมู่เลือดระบบอื่นที่มีตำแหน่งบนโปรตีนบนผนังเม็ดเลือดแดง และสัมพันธ์กับการเกิดพยาธิสภาพ Hemolytic anemia ได้แก่ภาวะ Null phenotype ของแอนติเจนหมู่เลือดระบบ Rh และ KX

แอนติเจนของหมู่เลือดระบบ Rh ที่รู้จักกันดีประกอบด้วย D, C, c, E, และ e แต่แท้จริงแล้วแอนติเจนของหมู่เลือดระบบนี้มีมากกว่า 50 ชนิด ยีนที่สำคัญคือ *RHD* และ *RHCE* กำหนดการสร้างโปรตีนสำคัญทั้ง 5 ชนิด ซึ่งมีโครงสร้างเป็น non-glycosylated multiple membrane spanning protein ขนาดประมาณ 32 kD[12] นักวิจัยเชื่อว่า Rh protein ทำหน้าที่เป็น transporter แม้ว่าหน้าที่นี้จะยังไม่ได้รับการพิสูจน์ยืนยัน Rh null เป็นความผิดปกติของเม็ดเลือดแดงที่ไม่มีการแสดงออกของ Rh protein[13] มีกลไก 2 แบบคือ แบบที่หนึ่งไม่มีการแสดงออกของ Rh protein เนื่องจากความผิดปกติของ *RHAG* gene[14] ซึ่งกำหนดการสร้างโปรตีนที่ทำหน้าที่เป็น Ammonium transporter[15-17] และช่วยในการแสดงออกของ Rh protein และแบบที่สองคือ Rh gene ผิดปกติเองในลักษณะที่เรียกว่า "Amorph"[18,19] ความผิดปกติของ Rh protein ทำให้ผนังเซลล์เม็ดเลือดแดงผิดปกติ มีลักษณะเรียกว่า Stomatocyte (รูปที่ 3) มีอายุขัยสั้น นอกจากเหตุผลนี้แล้ว ยังพบว่าเม็ดเลือดแดงพวกนี้ยังทำหน้าที่ไม่ได้ดีตามปกติซึ่งส่งผลให้การทำหน้าที่ลดลงและอายุสั้นลงด้วย ความผิดปกติดังกล่าวได้แก่ Cation transport ทำงานผิดปกติ ปริมาณ cholesterol ที่ผนังเซลล์ลดลงหรือไม่มีเลย รวมถึงการแสดงออกของแอนติเจนหมู่เลือดที่เป็น non-Rh-related อื่นๆ ได้แก่ LW, Ss, U และ Fy5[13]

**McLeod phenotype** เป็นความผิดปกติของผนังเม็ดเลือดแดงอีกลักษณะหนึ่ง เกิดจากขาดยีน XK (Recessive mutation) ทำให้ไม่มีการแสดงออกของ Kx protein[20] อุบัติการณ์ของโรคประมาณ 0.5-1 : 100,000 อายุเฉลี่ยที่เริ่มแสดงอาการประมาณ 50 ปี อาการจะค่อยๆ เริ่มเป็น ผู้ป่วยมี hemolytic anemia เนื่องจากผนังเม็ดเลือดแดงมีความผิดปกติที่ inner leaflet bilayer เม็ดเลือดแดงมีลักษณะผิดปกติ (acanthocyte) จึงแตกง่าย และมีอาการซีดเล็กน้อย[21-22] นอกจาก




**รูปที่ 3** Stomatocytic red blood cells ที่พบใน Rh null (ที่มา www.wikibooks.org)



**รูปที่ 4** Acanthocytic red blood cells ที่พบใน McLeod phenotype (ที่มา www.wikibooks.org)

นี้ยังแสดงอาการของ peripheral neuropathy, cardiomyopathy, neuroacanthocytosis และ muscular dystrophy อาการอื่นที่พบได้คือ limb chorea, facial tics, นอนกัดฟัน ชัก สมองเสื่อมและมีพฤติกรรมเปลี่ยนแปลง เนื่องจากเป็นยีนที่อยู่บน X chromosome ดังนั้นเพศหญิงที่มียีนแบบ heterozygous คือข้างหนึ่งปกติและอีกข้างหนึ่งเป็น null จะตรวจพบเม็ดเลือดแดง 2 population ได้แก่ acanthocyte และ normal red cells ทั้งนี้เป็นผลจาก lyonization (Inactivation ของ X chromosome) เนื่องจากมีแอนติเจนหมู่เลือดระบบ Kell อยู่บน Kx protein ดังนั้นผู้ป่วยที่ไม่มี Kx protein จะตรวจไม่พบ Kell antigen หรือพบแต่ให้ปฏิกิริยาอ่อนมาก การตรวจทางห้องปฏิบัติการพบ Acanthocyte (รูปที่ 4) และสำหรับผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของกล้ามเนื้อร่วมด้วยจะตรวจพบระดับ Creatinine kinase และ Lactate dehydrogenase (LDH) สูงขึ้น

## แอนติเจนหมู่เลือดบนโปรตีนที่ผนังเม็ดเลือดแดงซึ่งมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับระบบคอมพลีเมนต์

บนผนังเม็ดเลือดแดงมีโปรตีนอย่างน้อย 3 ชนิดที่ทำหน้าที่กำกับและควบคุมการทำงานของโปรตีนในระบบคอมพลีเมนต์ ได้แก่ C3b/C4b receptor หรือ Complement receptor type 1 (CR1 หรือ CD35), Decay accelerating factor (DAF หรือ CD55) และ Membrane inhibitor of reactive lysis (MIRL หรือ Protectin หรือ CD59) โดยเฉพาะ CD35 มีตำแหน่งของแอนติเจนหมู่เลือดระบบ Knops/McCoy[23] และเชื่อว่ามีความสำคัญในกระบวนการ Immune adherence[24] ส่วน CD55 มีตำแหน่งของแอนติเจนหมู่เลือดระบบ Cromer[26]

การค้นพบโปรตีนเหล่านี้เกิดจากการศึกษากลไกและพยาธิสรีรวิทยาของเม็ดเลือดแดงในผู้ป่วย Paroxysmal Noctural Hemoglobinuria (PNH)[25,26] ทั้ง CD55 และ CD59 มีโครงสร้างชีวเคมีแบบ Glycosylphosphatidylinositol anchor หรือ GPI anchor[27-29] ซึ่งในผู้ป่วย PNH มีความบกพร่องในการแสดงออกของ GPI anchor ดังนั้นจึงทำให้เกิดความบกพร่องในการแสดงออกและการทำหน้าที่ของโปรตีนที่ควบคุมระบบ คอมพลีเมนต์ไปด้วย ส่งผลให้เม็ดเลือดแดงแตกง่าย

## แอนติเจนหมู่เลือดบนโปรตีนที่ผนังเม็ดเลือดแดงซึ่งเป็นเอนไซม์และทำหน้าที่ในการขนส่ง

บนผนังเม็ดเลือดแดงมีแอนติเจนหมู่เลือดอย่างน้อย 3 หมู่ที่ทำหน้าที่เป็นเอนไซม์ ได้แก่หมู่เลือดระบบ **Kell**, **Cartwright** และ **Dombrock** แอนติเจนหมู่เลือดระบบ Kell มีมากกว่า 20 ชนิด มีตำแหน่งอยู่บน Neprilysin[30] ซึ่งเป็นโปรตีนในตระกูล Zinc-binding neutral endopeptidases ตัวอย่างเช่น Common lymphocytic leukemia antigen (CALLA) แอนติเจนหมู่เลือด Kell ทำหน้าที่คล้ายกับ Endothelin converting enzyme (ECE) แอนติเจนหมู่เลือดระบบ Cartwright มีตำแหน่งอยู่บน erythrocyte acetylcholinesterase[31] ซึ่งอยู่บนผนังเม็ดเลือดแดงโดยยึดผ่าน GPI anchor นักวิจัยเชื่อว่าโมเลกุลนี้ทำหน้าที่กำจัด acetylcholine ในบริเวณ neuromuscular junction (NMJ sites) สำหรับแอนติเจนหมู่เลือดระบบ **Dombrock** พบมีตำแหน่งอยู่บนโปรตีนที่ยึดผ่าน GPI anchor เช่นกัน แต่เป็นคนละตำแหน่งกับ Cartwright กล่าวคือเป็นโปรตีนในกลุ่ม ADP-ribosyltransferase ectoenzyme[32]

สำหรับแอนติเจนหมู่เลือดที่พบบนโปรตีนทีทำหน้าที่ขนส่งมีจำนวน 3 ชนิดคือ **Diego** พบบน band 3, **Colton** พบบน Water channel aquaporin (AQP-1)[33,34] และ **Kidd** พบบน Urea transporter (UT1)[35] ความผิดปกติในการแสดงออกของ band 3 มีผลทำให้การขนส่งที่ผนังเซลล์ผิดปกติไป รวมถึงการส่งผ่านสัญญาณไปยัง cytoskeletal network สูญเสียไปด้วย มีผลทำให้เม็ดเลือดแดงแตกอย่างรุนแรง[11] นอกจากนี้ยังมีรายงานความผิดปกติในอวัยวะอื่นที่ทำงานเกี่ยวข้องกับเมตะบอลิสมของน้ำและยูเรียโดยเฉพาะไต[36,37]

**แอนติเจนหมู่เลือดบนโปรตีนที่ผนังเม็ดเลือดแดงซึ่งทำหน้าที่เป็น Adhesion receptors**

บนผิวเม็ดเลือดแดงประกอบด้วยโปรตีนที่อยู่ในตระกูล adhesion molecules (ตารางที่ 2) และอย่างน้อย 3 โปรตีนในกลุ่ม immunoglobulin superfamily (IgSF) ที่พบบนผิวเม็ดเลือดแดงนั้น มีการศึกษายืนยันชัดเจนว่ามีส่วนเกี่ยวข้องและสัมพันธ์ต่อการเกาะติดของเม็ดเลือดแดง ได้แก่ CD47, CD108 และ CD147

CD47 เป็นตัวรับจำเพาะของ thrombospondin พบได้ทั้งบนเม็ดเลือดแดงและเซลล์อื่น มีทั้งชนิดที่พบบน basement membrane และเป็น soluble form จากการศึกษาพบว่า CD47 บนเม็ดเลือดแดงจับกับ single regulatory protein $\alpha$ (SIRP$\alpha$) ทำให้เม็ดเลือดแดงถูกจดจำเป็น “self” และไม่ถูกทำลายโดยระบบ RE system แม้ว่าจะไม่มีการแสดงออกของ HLA บนผิวเม็ดเลือดแดงก็ตาม[38,39] adhesion molecule ตัวอื่นได้แก่ Lutheran ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวรับจำเพาะของ Laminin นั้นพบได้ทั้งเม็ดเลือดแดงและ epithelial cancers สำรับ LW protein หรือ ICAM-4 บนผิวเม็ดเลือดแดง สามารถจับกับ Integrins หลายชนิดที่อยู่ทั้งบนผิวเม็ดเลือดขาวและเนื้อเยื่ออื่นๆ โปรตีนอื่นในตระกูล IgSF ที่พบบนเม็ดเลือดแดงแต่ยังไม่ทราบหน้าที่แน่ชัด ได้แก่ CD108 และ CD147 สำหรับโมเลกุลชนิดหลังพบว่าเป็นโปรตีนจำเป็นสำหรับกระบวนการนำเม็ดเลือดแดงออกจากม้ามสู่กระแสเลือด

สำหรับโปรตีนบนผิวเม็ดเลือดแดงและไม่อยู่ในตระกูล IgSF ได้แก่ CD44 ซึ่งทำหน้าที่ร่วมกับ VLA-4 สำหรับเป็นตัวรับจำเพาะของ fibronectin[40] และ CD99 ซึ่งเป็นโมเลกุลสำคัญสำหรับปฏิสัมพันธ์ระหว่างเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว แต่ด้วยกลไกอย่างไรนั้นยังไม่เป็นที่แน่ชัด

โดยสรุปจะเห็นได้ว่าบนผิวเม็ดเลือดแดงประกอบด้วยโปรตีนหลายชนิดที่เป็นตำแหน่งของแอนติเจนหมู่เลือด โปรตีนเหล่านี้ทำหน้าที่สำคัญทั้งในด้านการเกาะติด เป็นเอนไซม์และเป็นโปรตีนนำส่งสัญญาณและโมเลกุลต่างๆ โปรตีนหลายชนิดได้รับการยืนยันแล้วว่ามีส่วนสำคัญในการทำให้เกิดความผิดปกติของเม็ดเลือดแดง มีอายุขัยสั้นลงและก่อให้เกิดพยาธิสภาพ รวมถึงความผิดปกติในการแสดงออกของแอนติเจนหมู่เลือดด้วย การตรวจพิสูจน์ทางห้องปฏิบัติการจึงจะช่วยระบุสาเหตุการแตกของเม็ดเลือดแดง เพื่อยืนยันการวินิจฉัยและให้การรักษาที่ถูกต้องต่อไปได้

**Autoimmune hemolytic anemia (AIHA)**

**ลักษณะทั่วไป**

เป็นโรคที่เกิดจากผู้ป่วยสร้างแอนติบอดีต่อต้านแอนติเจนบนผิวเม็ดเลือดแดง อาจเป็นโมเลกุลใดๆ หรือต่อแอนติเจนหมู่เลือดก็ได้ ทำให้มีการทำลายเม็ดเลือดแดงเพิ่มขึ้น อายุของเม็ดเลือดแดงลดลง พบได้ทั้งหญิงและชาย และในทุกวัย ในคนไทยพบมีอุบัติการณ์ของ AIHA เนื่องจากโรค systemic lupus

**ตารางที่ 2** Adhesion molecules บนผิวเซลล์เม็ดเลือดแดงในกระแสเลือด

| Adhesion Molecules | Alternative Names | Ligands/Adhesion function |
|---|---|---|
| CD36 | (reticulocyte only), platelet glycoprotein IV, Nak[a] (platelets) | Thrombospondin (platelets) |
| VLA-4 | (reticulocyte only), (4(1 integrin (CD49d/CD29) | Thrombospondin, VCAM-1, possibly fibronectin |
| CD44 | Indian (Ina/Inb), In(Lu)-related p80 | Hyaluronan, possibly fibronectin |
| CD47 | Integrin-associated protein (IAP) | Trombospondin |
| CD58 | Lymphocyte associated antigen-3 (LFA-3) | CD2 |
| CD99 | MIC2 gene product | Lymphocyte CD99 is necessary for formation of T cell rosettes |
| CD108 | JMH, Semaphorin K1 (SEMA7A) | Possible role in adhesion of activated lymphocytes |
| CD147 | Neurothelin, Ok[a] | Type IV collagen, Fibronectin, Laminin in other tissues |
| CD242 | ICAM-4, LW | Leukocyte integrin ($\alpha_4\beta_1$, $\alpha_4\beta_3$, $\alpha_V\beta$1) |
| CD239 | Lutheran, B-CAM/LU | Laminin, possibly also integrins |

erythrematosus (SLE) สูง จึงมักพบในหญิงวัยเจริญพันธุ์ AIHA สามารถแบ่งเป็น 2 ประเภทคือ แบ่งตามชนิดของแอนติบอดี และแบ่งตามสาเหตุ

การแบ่งตามชนิดของแอนติบอดี ยังแบ่งเป็น 2 แบบคือ warm type AIHA และ cold type AIHA ชนิดแรกพบมากที่สุด ในคนไทยเป็นชนิดแรกหรือ warm type AIHA ประมาณร้อยละ 99 และในจำนวนนี้ยังมีแอนติบอดีทั้งสองชนิด คือมีแอนติบอดีชนิด cold type ร่วมกับ warm type คิดเป็นประมาณร้อยละ 30 ของ warm type AIHA

หากแบ่งตามสาเหตุ สามารถแบ่งเป็น 2 ลักษณะเช่นกัน ได้ประเภทที่ไม่ทราบสาเหตุ เรียกชื่อว่า primary หรือ idiopathic AIHA พบได้ประมาณร้อยละ 30-50 และประเภทที่ทราบสาเหตุ เรียกชื่อว่า secondary AIHA โดยมักเป็นผลจากพยาธิสภาพหรือเป็นโรคอื่นมาก่อน หรือพบร่วมกับโรคอื่น ได้แก่ autoimmune disease เช่น systemic lupus erythrematosus (SLE), lymphoproliferative disorders เช่น malignant lymphoma, chronic lymphocytic leukemia หรือจากการได้รับยาบางชนิด เช่น methyldopa สำหรับคนไทย พบเป็น primary AIHA ประมาณร้อยละ 33 และหากเป็น secondary AHIA พบว่าเป็นร่วมกับหรือผู้ป่วยเป็นโรคเกี่ยวกับ connective tissue disorders มาก่อน ซึ่งพบได้ประมาณร้อยละ 35[41]

## พยาธิสรีรวิทยาและพยาธิกำเนิด

ไม่ทราบสาเหตุแน่ชัด และยังมีรายงานน้อยมากที่ระบุความสัมพันธ์ระหว่างภาวะ AIHA กับอายุ เพศ ชาติพันธุ์และการดำรงชีวิต อย่างไรก็ตาม โดยทั่วไปอธิบายสาเหตุของ AIHA ได้ด้วยกลไกของ drug-induced ซึ่งแบ่งกลไกออกเป็น 2 ลักษณะคือ hapten model และ autoantibody model

***Hapten model*** มีสมมุติฐานว่ายา หรือโมเลกุลทางเคมีเข้าจับกับโมเลกุลบนผิวเม็ดเลือดแดง และทำหน้าที่เป็น hapten ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายถูกกระตุ้นให้สร้างแอนติบอดีต่อ cell-drug complex เมื่อแอนติบอดีเข้าจับคอมเพล็กซ์ เม็ดเลือดแดงจะถูกทำลายในที่สุดโดยเซลล์ในระบบ reticuloendothelial (RE) ตัวอย่างของยาที่พบว่าสัมพันธ์ หรือเกี่ยวข้องเป็นสาเหตุของ AIHA ได้แก่ penicillin, cephalosporins, methyldopa, quinine

***Autoantibody model*** แม้จะยังไม่มีการพิสูจน์ยืนยันแน่ชัดเกี่ยวกับกลไก แต่พบภาวะ AIHA ในผู้ป่วยที่มีพยาธิสภาพบางชนิด ได้แก่ chronic lymphocytic leukemia หรือเป็นโรค autoimmune อยู่ก่อนแล้ว

แอนติบอดีที่พบส่วนใหญ่เป็นชนิด IgG (warm autoantibody) อย่างไรก็ตามมีรายงานแอนติบอดีชนิด IgA ได้แต่น้อยราย กระบวนการทำลายเม็ดเลือดแดงเมื่อมีแอนติบอดีเข้าจับเป็นได้สองแบบคือการทำลายโดยเซลล์ในระบบ RE ซึ่งได้แก่ macrophage และ monocytes ผ่าน Fc receptor บนผิวเซลล์ทั้งสองชนิดดังกล่าว อีกแบบหนึ่งคือการจับของแอนติบอดีทำให้ผนังเซลล์เม็ดเลือดแดงมีความเปลี่ยนแปลง เซลล์มีลักษณะกลม (spherocyte) มีความยืดหยุ่นลดลง ลักษณะเช่นนี้ทำให้ถูกทำลายโดยเซลล์ในระบบ RE เช่นกัน รวมถึงการแตกของเซลล์เมื่อผ่านหลอดเลือดขนาดเล็ก เนื่องจากมีการเก็บกักเม็ดเลือดแดงใน RE มาก ม้ามทำงานหนัก จึงทำให้ผู้ป่วยมีอาการร่วมนอกจากซีดคือม้ามโต

## อาการทางคลินิก

ผู้ป่วยมักมาพบแพทย์ด้วยอาการซีดที่มีความรุนแรงต่างกัน[42] ตั้งแต่น้อยถึงมาก อาการซีดมักค่อยๆ เป็น และใช้เวลาหลายสัปดาห์ ถึงหลายเดือน มีบ้างในบางรายที่มีอาการซีดเฉียบพลัน ซึ่งพบว่าสัมพันธ์กับภาวะไข้ หรือมีการติดเชื้อ กรณีนี้มักจะมีอาการซีดรุนแรงและเฉียบพลัน นอกจากนี้ยังพบอาการตัวเหลืองตาเหลือง เนื่องจากเม็ดเลือดแดงแตก มีปัสสาวะสีเข้มเนื่องจากภาวะ hemoglobinuria/urobilinogen เพิ่มขึ้น แต่ไม่มี bile ในปัสสาวะ และไม่มีอาการปัสสาวะดำ เหมือนในกรณี transfusion reaction ผู้ป่วยบางรายมีไข้ พบได้ประมาณร้อยละ 20-30 โดยเป็นไข้จากโรคติดเชื้อที่เป็นสาเหตุ บางรายเป็นไข้จากภาวะ hemolysis เองก็มี ประมาณร้อยละ 50 ของผู้ป่วยมีตับม้ามโต แต่ไม่มาก หากพบตับม้ามโตมาก หรือต่อมน้ำเหลืองโต น่าจะมีสาเหตุอื่นร่วมด้วยเช่น lymphoproliferative disorders สำหรับอาการอื่น มักเป็นอาการของโรคที่เป็นสาเหตุของ AIHA ได้แก่ ผมร่วง ข้ออักเสบ ผื่นแดงบริเวณใบหน้า หากมีอาการซีดมากหรือรุนแรงเฉียบพลัน อาจพบอาการซึมและหัวใจวายร่วมด้วยได้

## การวินิจฉัย

อาศัยการซักประวัติของผู้ป่วยร่วมกับการตรวจร่างกายเพื่อหาแยกวินิจฉัยอาการซีดจากสาเหตุอื่น การซักประวัตินอกจากแยกสาเหตุอาการซีดจากการสร้างเม็ดโลหิตน้อย (decreased production) และการสูญเสียเลือด (bleeding) แล้ว ยังช่วยยืนยันลักษณะของ acquired hemolytic anemia รวมถึงประเมินระยะความรุนแรงของภาวะซีดที่เกิดขึ้นอีกด้วย นอกจากนี้ยังช่วยให้ข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการค้นหาสาเหตุที่อาจเกี่ยวข้องกับ AIHA และประเมินสถานภาพและโรคของผู้ป่วยว่าจะมีอาการรุน

แรงขึ้นหรือไม่ ผลการตรวจร่างกายจะช่วยเสริมข้อมูลจากการซักประวัติ เช่น ซีด เหลือง ตับม้ามโต ภาวะติดเชื้อ และยังช่วยประเมินความรุนแรงของภาวะซีดได้ด้วย โดยดูจากสัญญาณชีพต่างๆ รวมถึงอาการทางระบบประสาทและระบบไหลเวียนโลหิต

การตรวจทางห้องปฏิบัติการเป็นสิ่งสำคัญมากที่จะช่วยในการวินิจฉัยที่ถูกต้อง (ดูหัวข้อการตรวจทางห้องปฏิบัติการในรายละเอียด)

**ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ**

เนื่องจากมีแอนติบอดีจับกับโมเลกุลบนผิวเม็ดเลือดแดง และมีการแตกของเม็ดเลือดแดง ดังนั้นผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการจึงเกี่ยวข้องกับพารามิเตอร์ต่างๆ ดังนี้

1. Direct antiglobulin test ให้ผลบวก
2. Indirect antiglobulin test ให้ผลบวก
3. Bilirubin ทั้งชนิด conjugated และ unconjugated สูงขึ้น แต่ไม่พบ bilirubinuria หรือ darken urine
4. Haptoglobin ต่ำ
5. Hemoglobinuria สูงขึ้นหรือให้ผลบวก
6. Hematocrit, hemoglobin ต่ำ
7. Reticulocyte สูงขึ้น
8. MCV สูงขึ้น เนื่องจากมีจำนวนเม็ดเลือดแดงตัวอ่อนในอัตราส่วนที่มากขึ้น

โดยมีรายละเอียดดังนี้

**Complete blood count (CBC) และ blood smear**

การตรวจ CBC จะช่วยได้มากสำหรับการวินิจฉัย AIHA ผู้ป่วยจะมีค่า hematocrit ต่ำ เม็ดเลือดแดงมีลักษณะ normochromic normocytic มี anisocytosis มาก (เพราะมี microsphereocytosis ซึ่งบ่งถึงการทำลายเม็ดเลือดแดงที่ม้าม) และมี polychromasia (เนื่องจากมีการสร้างเม็ดเลือดแดงในไขกระดูกเพิ่มขึ้นอันเป็นผลจากการตอบสนองของร่างกายต่อภาวะ hemolysis) MCV มีค่าสูงขึ้น นอกจากนี้ยังพบ nucleated red cell และ basophilic stippting ประมาณร้อยละ 30 ของผู้ป่วยจะพบเม็ดเลือดแดงจับกลุ่ม (autoagglutination) ให้เห็นในสเมียร์เลือด เกล็ดเลือดเป็นปกติ แต่หากพบภาวะเกล็ดเลือดต่ำร่วมกับเม็ดเลือดแดงลักษณะ poikilocyte เช่น schistocyte น่าจะเป็นเรื่องของ thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) ในผู้ป่วย AIHA ที่มีเกล็ดเลือดต่ำ มักเกิดร่วมกับภาวะ ITP (evans' syndrome) ซึ่งเป็นผลจาก SLE สำหรับเม็ดเลือดขาวในผู้ป่วย AIHA มักจะปกติ หรือเปลี่ยนแปลงไปในทางสูงขึ้น มีข้อสังเกตเพื่อแยกวินิจฉัย เช่นอาจพบเม็ดเลือดขาวสูงขึ้นในภาวะที่มีการติดเชื้อ หรือหากมี lymphocyte สูงขึ้น มักมีสาเหตุจาก CLL นอกจากนี้ยังพบ reticulocyte สูงขึ้นในสเมียร์ ซึ่งเป็นผลจากการสร้างเม็ดเลือดแดงเพิ่มขึ้น มีรายงานด้วยเช่นกันแต่น้อยราย ว่าผู้ป่วยมีภาวะ reticulocytopenia ทั้งนี้อาจเป็นผลจากแอนติบอดีนั้นจำเพาะต่อเม็ดเลือดแดงตัวอ่อน หรือเกิดจากมีการติดเชื้อใยไขกระดูก เป็นต้น

**Antiglobulin test**

เนื่องจากเม็ดเลือดแดงของผู้ป่วยมีแอนติบอดีจับอยู่ เมื่อทำ direct antiglobulin test จะให้ผลบวก และมีความแรงแตกต่างกันไปแล้วแต่ปริมาณแอนติบอดีที่มีอยู่ แต่ความแรงของปฏิกิริยาไม่สัมพันธ์กับการแตกของเม็ดเลือดแดง อัตราการแตกของเม็ดเลือดแดงขึ้นกับชนิดของแอนติบอดี ตัวอย่างเช่นหากเป็นชนิด $IgG_3$ เม็ดเลือดแดงจะถูกทำลายได้มากกว่าชนิด $IgG_1$ เป็นต้น[43]

ข้อควรระวังในการตรวจคือ ไม่ควรนำตัวอย่างเลือดเก็บในตู้เย็น เพราะจะให้ผลบวกปลอมจาก incomplete cold anti-H antibody และ anti-I cold agglutinin ในไตเตอร์ต่ำๆ อีกด้วย นอกจากนี้ควรใช้เลือดใหม่ และเก็บโดยใช้สารกันเลือดแข็งที่มีคุณสมบัติเป็น strong calcium chelating agent เพื่อป้องกันการเกิดผลบวกปลอมจาก in vitro coating of complement[44]

**การตรวจทางห้องปฏิบัติการอื่นๆ ที่ช่วยสนับสนุนภาวะ hemolysis**

ผู้ป่วย AIHA มี serum bilirubin สูงขึ้นแต่มักไม่เกิน 5.0 mg/dL ส่วนใหญ่เป็น Iindirect bilirubin

ผู้ป่วย AIHA มีปัสสาวะสีเข้มจาก urobilinogen แต่จะไม่พบ bile pigment หรือ hemoglobinuria เพราะการแตกของเม็ดเลือดแดงเป็นแบบ extravascular hemolysis

**การตรวจไขกระดูก**

โดยปกติอาศัยการซักประวัติและการตรวจทางห้องปฏิบัติการเพียงพอแล้วสำหรับการวินิจฉัยภาวะ AIHA การตรวจไขกระดูกอาจจำเป็นในกรณีที่ผู้ป่วยมีความผิดปกติอื่นร่วมด้วย เช่น เกล็ดเลือดต่ำ เม็ดเลือดขาวต่ำ reticulocytopenia หรือสงสัยว่าผู้ป่วยเป็น CLL เป็นต้น

**การตรวจเพื่อหาสาเหตุของ AIHA**

เพื่อหาสาเหตุของ AIHA เพื่อช่วยการวินิจฉัยและให้การรักษา โดยอาศัยประวัติความเจ็บป่วยร่วมด้วย จะสามารถช่วยให้

ข้อมูลในการตรวจหาสาเหตุได้เป็นอย่างดี โดยทั่วไปสาเหตุของ AIHA มักได้แก่โรคในกลุ่ม Connective tissue disease และ hematologic malignancy ดังนั้น หากประวัติผู้ป่วยแสดงแนวโน้มไปด้านใด มักตรวจหาสาเหตุในด้านนั้นๆ เช่น

กรณี collagen vascular disease สำหรับคนไทยพบว่า SLE เป็นสาเหตุของการเกิด AIHA มากที่สุด อาจเกิดอาการของ AIHA ก่อนอาการ SLE หรือเกิดขึ้นพร้อมๆ กัน การซักประวัติและตรวจร่างกายผู้ป่วยเพื่อวินิจฉัย SLE ได้แก่ การตรวจหา anti-nuclear antibody (ANA), LE cells, การตรวจปัสสาวะดูภาวะ proteinemia, red blood cells และ cast จึงควรทำในผู้ป่วยทุกราย สำหรับสาเหตุอื่นที่อาจพบร่วมกับ AIHA นอกเหนือจาก SLE ได้แก่ rheumatoid arthritis และ scleroderma พบได้บ้าง และหากผู้ป่วยมีอาการ ควรตรวจทางห้องปฏิบัติการเพิ่มเติม เช่น rheumatoid factor เป็นต้น

กรณีสงสัย hematologic malignancy พบว่าจะอยู่ในกลุ่มของ lymphoproliferative disease เช่น non-Hodgkin's lymphoma ชนิด lymphoplasmacytoid หรือ small lymphocytic, Hodgkin's disease, angioimmunoblastic lymphadenopathy with dysproteinemia (AILD) และ CLL เป็นต้น ผู้ป่วยมักแสดงอาการร่วมเช่นต่อมน้ำเหลืองโต ตับม้ามโต หรือมีลักษณะของ CBC ที่ผิดไปจากปกติ การตรวจยืนยันสาเหตุของโรค เช่นการตรวจชิ้นเนื้อของต่อมน้ำเหลือง การตรวจไขกระดูก เป็นต้น

## การตรวจอื่นๆ เพื่อติดตามการรักษาและเพื่อประโยชน์การดูแลผู้ป่วย

ได้แก่การตรวจหาโรคติดเชื้อที่เป็นมูลเหตุของ AIHA เช่น hemoculture, stool culture, urine culture หรือการตรวจเพื่อหาโรคหรือภาวะที่อาจเลวลงจากการรักษาด้วย steroid เช่น fasting blood sugar การตรวจหาไข่พยาธิในอุจาระ การถ่ายภาพรังสีทรวงอกเพื่อดูรอยโรคของวัณโรค เป็นต้น

## การให้เลือดและส่วนประกอบของเลือดแก่ผู้ป่วย AIHA

การให้เลือดแก่ผู้ป่วยส่วนใหญ่จะเป็นในกรณีผู้ป่วยมีอาการซีดอย่างรวดเร็ว[50] หรือมีอาการรุนแรงจากภาวะซีด เช่น ซึมลง มีหอบเหนื่อย เป็นต้น ทั้งนี้เพื่อช่วยประคับประคองผู้ป่วยให้ผ่านช่วงวิกฤติไปก่อนที่การรักษาด้วยวิธีอื่นจะได้ผล แนวทางการให้เลือดโดยทั่วไปยึดหลักดังนี้ คือให้ pack red blood cells (PRC) ที่ compatible มากที่สุด ให้ในอัตราเร็ว 1 mL/kg/hr และในปริมาณที่เพียงพอสำหรับการประคับประคองผู้ป่วยให้พ้นวิกฤติเพื่อรอการรักษาด้วยวิธีอื่น และควรให้ครั้งละ 1 ยูนิตเท่านั้น มีปัญหาหลายประการที่เกี่ยวข้องกับการให้เลือดผู้ป่วย AIHA ได้แก่

1. การหาหมู่เลือดของผู้ป่วย ไม่มีปัญหาสำหรับการตรวจหาหมู่เลือดระบบ ABO แต่หมู่เลือดระบบ Rh อาจเกิดปัญหาได้ เนื่องจากเม็ดเลือดแดงมีแอนติบอดีเกาะอยู่ หากมีเป็นจำนวนมากอาจมีผลทำให้เม็ดเลือดแดงเกาะกลุ่มกันเองได้ในน้ำยาที่มีส่วนประกอบของอัลบูมิน[51] ในปัจจุบันที่ใช้โมโนโคลนอล แอนติบอดีอาจไม่พบปัญหานี้ แต่ในกรณี weak D หรือ Rh negative ซึ่งต้องตรวจถึงขั้น Aantiglobulin test อาจเกิดผลบวกปลอม และแปลผลผิดพลาดได้ จึงแนะนำให้ใช้ saline agglutinating agent หรือกำจัด autoantibody ออกก่อนด้วยเทคนิค Elution[51]

2. การตรวจความเข้ากันได้ของเลือด ประมาณร้อยละ 60 ของผู้ป่วยที่มี autoantibody จะทำให้เกิด incompatible ดังนั้นผู้ปฏิบัติงานจึงต้องแยกให้ออกว่าแอนติบอดีในซีรัมผู้ป่วย เป็น alloantibodies หรือ autoantibodies หรือมีร่วมกันทั้งสองชนิด จากการศึกษาพบว่าผู้ป่วย AIHA ที่มีประวัติการรับเลือดมาก่อนจะมี alloantibodies ร่วมด้วยถึงร้อยละ 14-38[52-55]

3. ความผิดปกติหลังการรับเลือดที่อาจเกิดขึ้นในผู้ป่วย AIHA ได้แก่ volume overload ดังนั้นพึงระมัดระวังเพราะอาจเกิดไตวายได้ ควรให้อย่างช้าๆ และในปริมาณที่เหมาะสม

4. ความผิดปกติหลังการรับเลือดที่เป็น hemolytic transfusion reaction พบได้แต่ไม่มาก เคยมีรายงานการเกิดภาวะช็อก hemoglobinemia และ hemoglobinuria ในผู้ป่วย AIHA[56] นอกจากนี้ผู้ป่วยที่ได้รับเลือดส่วนใหญ่อาการดีขึ้น hematocrit เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว แต่ก็จะซีดและ hematocrit ลดลงจนถึงระดับก่อนให้เลือดได้ภายใน 1-4 วัน[46]

## แนวทางการคัดเลือกเม็ดเลือดแดงที่เหมาะสมสำหรับผู้ป่วยที่มี warm autoantibodies

มีหลายวิธีในการจัดหาเม็ดเลือดแดงที่เหมาะสมให้แก่ผู้ป่วย AIHA ที่มี warn autoantibodies ได้แก่ การตรวจหาชนิดและความจำเพาะของแอนติบอดีดังกล่าวโดยใช้ panel cells, การเจือจางซีรัมผู้ป่วยก่อนตรวจความเข้ากันได้ของเลือด การดูดซับเพื่อกำจัด autoantibodies ออกจากซีรัมผู้ป่วย และสุดท้ายคือเตรียมเลือดที่เข้ากันได้มากที่สุด (most compatible blood) หรือมีความแตกต่างกันน้อยที่สุด (least incompatible) แก่ผู้ป่วย มีรายละเอียดดังนี้

**การตรวจหาชนิดและความจำเพาะของ autoantibodies**

(Testing the patient's serum against a red cell panel)

การทำปฏิกิริยากับ panel cells ที่มีความหลากหลายของการแสดงออกทั้งชนิดและปริมาณของแอนติเจนหมู่เลือด จะช่วยทำให้ทราบว่าผู้ป่วยมีแอนติบอดีมากกว่าหนึ่งชนิด ซึ่งกรณีนี้จะสามารถนำไปใช้เป็นข้อสังเกตได้ในผู้ป่วยที่มีทั้ง alloantibodies และ autoantibodies และแอนติบอดีทั้งสองชนิดมีความแรงแตกต่างกัน โดยสังเกตความแรงของปฏิกิริยาที่แตกต่างกันใน panel cell ที่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามในผู้ป่วยไม่ได้พบลักษณะเช่นนี้ทุกราย ดังนั้นในกรณีที่แอนติบอดีทั้งสองชนิดไม่มีความแตกต่างกันในด้านความแรงของปฏิกิริยา อาจจำเป็นต้องทดสอบวิธีอื่นเพิ่มเติม

**เทคนิคการเจือจางซีรัม (dilution technique)**

การเจือจางซีรัมผู้ป่วยก่อนการทดสอบความเข้ากันได้ของเลือด เช่น เจือจาง 1:5 จะช่วยเจือจาง autoantibodies แต่ไม่มีผลกระทบต่อ alloantibodies[62,63] วิธีนี้ทำได้ง่ายและรวดเร็ว ช่วยลดความแรงของ autoantibodies ที่จะรบกวนการตรวจความเข้ากันได้ของเลือดในกรณีที่มี alloantibodies แต่วิธีดังกล่าวไม่มีความน่าเชื่อถือ ดังนั้นควรใช้วิธีอื่นร่วมตรวจด้วย ยกเว้นในกรณีรีบด่วนที่ต้องการเลือด

**เทคนิคการดูดซับ autoantibodies ออกจากซีรัมผู้ป่วย (adsorption technique)**

***Warm autoadsorption technique***

เทคนิคนี้นับเป็นเทคนิคที่ดีที่สุดและมีประสิทธิภาพมากที่สุดในการตรวจหา alloantibodies และการตรวจความเข้ากันได้ของเลือดสำรับผู้ป่วย AIHA ที่มี Warm autoantibodies หลักการคือการ elute autoantibodies ออกจากเม็ดเลือดแดงของผู้ป่วย จากนั้นนำเซลล์ไปใช้ในการดูดซับ autoantibodies ออกจากซีรัมผู้ป่วย ซีรัมที่ถูกดูดซับและกำจัด autoantibodies ออกไปแล้วนี้ จะถูกนำไปใช้ในการตรวจหาชนิดและความจำเพาะของ alloantibodies และ/หรือตรวจความเข้ากันได้ต่อไป ปัญหาที่มักพบในการปฏิบัติการได้แก่

1. ในผู้ป่วยที่ซีดมาก อาจมีปัญหาได้เนื่องจากผู้ป่วยมีปริมาณเม็ดเลือดแดงน้อย เนื่องจากเทคนิคนี้จำเป็นต้องใช้เม็ดเลือดแดงมากเพียงพอ สำหรับการดูดซับ autoantibodies ออกจากซีรัม ดังนั้นแพทย์ผู้ให้การรักษาจึงควรเข้าใจ หลักการ และวัตถุประสงค์ของผู้ปฏิบัติงานธนาคารเลือด หรืออีกนัยหนึ่งคือผู้ปฏิบัติงานควรชี้แจงให้แพทย์ได้เข้าใจ หรือมีการเรียนรู้ร่วมกันเพื่อประโยชน์ของผู้ป่วยอย่างแท้จริง

2. ไม่ควรใช้เทคนิคนี้ในผู้ป่วยที่เพิ่งได้รับเม็ดเลือดแดงมาไม่เกิน 3 เดือน ทั้งนี้เม็ดเลือดแดงของผู้บริจาคที่ปะปนอยู่ในตัวอย่างเลือดผู้ป่วย อาจดูดซับ alloantibodies ออกไปด้วย ทำให้พลาดการตรวจสอบในขั้นตอนต่อไปได้[64]

***Allogeneic adsorption***

ในกรณีที่ไม่สามารถใช้เทคนิคแรกได้ อาจใช้เทคนิค Allogenic adsorption มาช่วย หลักการคือนำเซลล์ที่ทราบ phenotype จำนวนหลายๆ แบบ ทำปฏิกิริยากับซีรัมผู้ป่วย เพื่อกำจัด autoantibodies ตัวอย่างเช่น ในซีรัมผู้ป่วยมี autoantibodies ปนกับ anti-$Jk^a$ หากต้องการกำจัด autoantibodies ออก เพื่อนำซีรัมไปตรวจความเข้ากันได้ของเลือด ก็ควรเลือก allogeneic cells หลายๆ ลักษณะ แต่ให้เป็น $Jk^a$ negative cell เป็นต้น ด้วยหลักการนี้ autoantibodies จะถูกดูดซับออกไปยกเว้น anti-$Jk^a$ วิธีการนี้อาจนำไปใช้ได้ แต่มีข้อเสียคือขั้นตอนยุ่งยากและสิ้นเปลืองแรงงาน นอกจากนี้ยังไม่เป็นที่นิยมในห้องปฏิบัติการทั่วไป

**เลือกเม็ดเลือดแดงที่มี phenotype เหมือนกันเท่านั้นสำหรับผู้ป่วย**

(Transfusion of phenotypically matched RBC)

พยายามตรวจหา phenotype ของเม็ดเลือดแดงผู้ป่วยให้สมบูรณ์ที่สุด เพราะจะช่วยในการวิเคราะห์และระบุความจำเพาะของ alloantibodies ที่มีอยู่ในซีรัมผู้ป่วย นอกจากนี้ ประวัติการรับเลือด และ/หรือการตั้งครรภ์ของผู้ป่วยจะช่วยในการตัดสินใจได้มาก เช่น หากตรวจพบว่าผู้ป่วยมี phenotype เป็น $Jk^{a+}$ ผู้ป่วยย่อมจะไม่มี anti-$Jk^a$ alloantibodies เป็นต้น ด้วยหลักการนี้จะช่วยทำให้สามารถคัดเลือกเลือดที่เหมาะสมที่สุดและปลอดภัยที่สุดสำหรับผู้ป่วยได้

อย่างไรก็ตาม การหา phenotype ของเม็ดเลือดแดงผู้ป่วยอาจมีปัญหาในการทดสอบเพราะเม็ดเลือดแดงของผู้ป่วยมีแอนติบอดีเกาะอยู่ ซึ่งจะให้ผล direct antiglobulin test เป็นบวก ดังนั้นในการตรวจหา phenotype ควรใช้เทคนิค adsorption และ Elution มาช่วยเตรียมเม็ดเลือดแดงก่อนการตรวจหาแอนติเจน

**การตรวจความเข้ากันได้ของเลือดในกรณีผู้ป่วยมี cold autoantibodies**

Cold autoantibody ที่พบโดยทั่วไปในผู้ป่วย ได้แก่ anti-I แต่การจะหาเลือดที่มี phenotype เป็น I negative แก่ผู้ป่วยนับ

เป็นเรื่องยาก เพราะมีอยู่ในประชากรทั่วไป แต่หากพิจารณาถึงคุณสมบัติของ cold antibodies แล้วจะเห็นว่าแอนติบอดีประเภทนี้ไม่มีความสำคัญทางคลินิก เพียงแต่ทำให้ยุ่งยากในการตรวจสอบและการหาเลือดที่เหมาะสมให้แก่ผู้ป่วย เพราะจะเกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องให้สังเกตเห็นได้ อย่างไรก็ดีการตรวจยืนยัน หรือการตรวจความเข้ากันได้ของเลือดในกรณี cold autoantibodies มักไม่ยุ่งยาก เพราะในการตรวจความเข้ากันได้เพื่อหาเลือดที่เหมาะสมให้แก่ผู้ป่วย ห้องปฏิบัติการส่วนใหญ่จะให้ความสำคัญสำหรับปฏิกิริยาที่เกิดที่อุณหภูมิ 37˚C เป็นเกณฑ์ อย่างไรก็ตามหาก cold autoantibodies มีความแรงมากๆ อาจเกิดปฏิกิริยารบกวนการอ่านผลที่อุณหภูมิ 37˚C ได้ ดังนั้นควรทำ autoadsorption เพื่อกำจัด cold autoantibodies ออกไปเสียก่อนบ้าง แม้ว่าจะไม่สามารถกำจัดแอนติบอดีที่ไตเตอร์สูงๆ ออกได้หมด แต่ก็จะช่วยลดการรบกวนปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 37˚C ได้เป็นอย่างดี

**ตัวอย่างของการคัดเลือกเลือดที่เหมาะสมให้แก่ผู้ป่วยที่มี cold autoantibodies** เช่นในผู้ป่วย paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) ซึ่งมี anti-P เป็น major autoantibody และพบได้ในผู้ป่วย PNH เกือบทุกราย แอนติบอดีชนิดนี้ไม่ทำปฏิกิริยาที่ 37˚C ในการเลือกเลือดที่เหมาะสมที่สุดควรเป็นเลือดที่มี phenotype เป็น P negative ซึ่งได้แก่เลือดที่มี phenotype เป็น p หรือ pk แต่จะเห็นได้ว่าเลือดที่เหมาะสมนั้นหายาก เนื่องจากมีจำนวนน้อยในประชากร อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาในผู้ป่วย PNH ที่มีปัญหาดังกล่าว และมีภาวะซีดอย่างรุนแรง แพทย์พิจารณาให้เลือด P positive แก่ผู้ป่วย แต่ก็ไม่พบภาวะ post transfusion reaction แต่อย่างใด[65] ซึ่งอธิบายได้ด้วยเหตุผลและธรรมชาติของแอนติบอดีว่าเป็น cold autoantibody และไม่ทำปฏิกิริยาที่ 37˚C นั่นเอง ทั้งนี้แพทย์ผู้ให้การรักษาควรได้รับข้อมูลเกี่ยวกับชนิดและธรรมชาติของแอนติบอดีที่มีในตัวผู้ป่วย เพื่อใช้ในการตัดสินใจให้การรักษาได้อย่างถูกต้อง และมีผลดีต่อผู้ป่วยอย่างแท้จริง

## การใช้เลือดที่อุ่นสำหรับผู้ป่วย Cold antibody AIHA

ในผู้ป่วย AIHA บางรายที่พบว่า cold autoantibodies ที่มีอยู่นั้นทำให้เกิดการแตกของเม็ดเลือดแดงอย่างรุนแรง มีผู้ให้แนวทางการรักษาด้วยการให้เลือดที่อุ่นเสียก่อนแก่ผู้ป่วย เพื่อลดโอกาสการทำงานของแอนติบอดี มีรายงานไม่มากนักว่ามีประสิทธิภาพมากน้อยเพียงใด[66-70] ดังนั้นการเลือกใช้วิธีการนี้ควรทำด้วยความรอบคอบ เลือกใช้ In-line blood warmer มากกว่าการใช้ blood warmer ทั่วๆ ไป และต้องมีการควบคุมคุณภาพของอุปกรณ์อย่างดี เพื่อลดโอกาสการแตกของเม็ดเลือดแดงจากอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสม และทำให้เกิดอันตรายแก่ผู้ป่วยได้ In-line blood warmer เป็นอุปกรณ์ที่ใช้ง่าย มีประสิทธิภาพและปลอดภัยต่อเลือดและส่วนประกอบของเลือดในถุง[71]

## การเลือกใช้เลือดที่มีความแตกต่างกันน้อยที่สุด (Least incompatible) ให้แก่ผู้ป่วย

คำว่า least incompatible เป็นคำที่ไม่ได้ใช้อย่างเป็นทางการในงานธนาคารเลือด เพราะหลักการที่ถูกต้องคือให้เลือดที่ phenotype matched and compatible เท่านั้น สำหรับกรณีของผู้ป่วย AIHA ที่มีแอนติบอดีมากกว่าหนึ่งแบบ และมีปัญหาในการหาเลือดที่เหมาะสมให้แก่ผู้ป่วย ดังนั้นการหาเลือดที่ดีที่สุดแบบ phenotype matched and compatible จึงอาจเป็นสิ่งที่ทำได้ยากหรือทำไม่ได้เลย ดังนั้นเมื่อทุกยูนิตมีปัญหาในการตรวจความเข้ากันได้ของเลือด จึงจำเป็นต้องเลือกยูนิตที่มีปฏิกิริยาน้อยที่สุด หรืออ่อนที่สุด เพราะยูนิตที่ให้ปฏิกิริยาแรงกว่าแสดงถึงปฏิกิริยาของ alloantibodies ที่มีอยู่ในซีรัมผู้ป่วย ในการทำงานสิ่งแรกของการเลือกเลือดที่เหมาะสมแก่ผู้ป่วย คือเลือกเลือดที่มี ABO และ Rh ตรงกันเสียก่อน จากนั้นจึงตรวจความเข้ากันได้เพื่อดูปฏิกิริยาของแอนติเจนหมู่เลือดอื่นเป็นลำดับถัดไป โดยอาศัยหลักการและเหตุผลของ least incompatible เป็นแนวคิดสำหรับการคัดเลือกเลือดที่เหมาะสมที่สุด อย่างไรก็ตามหากมีเวลาเพียงพอ และผู้ป่วยไม่ได้อยู่ในขั้นวิกฤติ ควรทำตามขั้นตอนและหลักการของ phenotype matched and compatible เท่านั้น

## สรุป

ภาวะที่ผู้ป่วยซีดเนื่องจากเม็ดเลือดแดงแตกง่าย อาจเกิดจากพยาธิสภาพของเม็ดเลือดแดงเองในด้านรูปร่างและโครงสร้าง หรือโมเลกุลบนผิวเซลล์ผิดปกติทั้งโครงสร้างและหน้าที่ และอาจเกิดจากการมีแอนติบอดีทำลายเม็ดเลือดแดงของตนเอง ดังนั้นจึงต้องอาศัยข้อมูลพื้นฐาน อาการของผู้ป่วย ประวัติทางพันธุกรรมและข้อมูลเบื้องต้นของผู้ป่วย และที่สำคัญคือผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ ซึ่งจะช่วยวิเคราะห์สาเหตุที่ถูกต้อง เพื่อให้เกิดการวินิจฉัย และให้การรักษาอย่างถูกต้องต่อไป

## เอกสารอ้างอิง


1. Chang SH, Low PS. Regulation of the glycophorin C-protein 4.1 membrane-to-skeleton bridge and evaluation of its contribution to erythrocyte membrane stability. J Biol Chem 2001;276:22223-30.
2. Telen MJ, Le Van Kim C, Chung A, Cartron JP, Colin Y. Molecular basis for elliptocytosis associated with glycophorin C and D deficiency in the Leach phenotype. Blood 1991;78: 1603-6.
3. Hemming NJ, Anstee DJ, Mawby WJ, Reid ME, Tanner MJ. Localization of the protein 4.1-binding site on human erythrocyte glycophorins C and D. Biochem J. 1994;299:191-6.
4. Gascard P, Cohen CM. Absence of high-affinity band 4.1 binding sites from membranes of glycophorin C- and D-deficient (Leach phenotype) erythrocytes. Blood 1994;83: 1102-8.
5. Pinder JC, Chung A, Reid ME, Gratzer WB. Membrane attachment sites for the membrane cytoskeletal protein protein 4.1 of the red blood cell. Blood 1993;82:3482-8.
6. Bruce LJ, Tanner MJ. Erythroid band 3 variants and disease. Bailliere's Best Practice Clin Haematol 1999;12:637-54.
7. Lima PR, sales TS, Costa FF, Saad ST. Arginine 490 is a hot spot for mutation in the band 3 gene in hereditary spherocytosis. Eur J Haematol 1999;63:360-1.
8. Gallagher PG, Forget BG. Hemotologically important mutations: band 3 and protein 4.2 variants in hereditary spherocytosis. Blood Cells Mol & Dis 1997;23:417-21.
9. Dhermy D, Galand C, Bournier O, et al. Heterogenous band 3 deficiency in hereditary spherocytosis related to different band 3 gene defects. Br J Haematol 1997;98:32-40.
10. Rysava R, Tesar V, Jirsa M, Jr, Brabec V, Jarolim P. Incomplete distal renal tubular acidosis coinherited with a mutation in band 3 ($AE_1$) gene. Nephrol Dialysis Transplant 1997;12:1869-73.
11. Ribeiro ML, Alloisio N, Almeida H, et al. Severe hereditary spherocytosis and distal renal tubular acidosis associated with the total absence of band 3. Blood 2000;96:1602-4.
12. Huang CH, Liu PZ, Cheng JG. Molecular biology and genetics of the Rh blood group system. Semin Hematol 2000; 37:150-65.
13. Issitt PD. Null red blood cell phenotypes: associated biological changes. Transfus Med Rev 1993;7:139-55.
14. Cherif-Zahar B, Raynal V, Gane P, et al. Candidate gene acting as a suppressor of the RH locus in most cases of Rh-deficiency. Nat Genet 1996;12:168-73.
15. Liu Z, Peng J, Mo R, Hui C, Huang CH. Rh type B glycoprotein is a new member of the Rh superfamily and a putative ammonia transporter in mammals. J Biol Chem 2001;276:1424-33.
16. Marini AM, Matassi G, Raynal V, Andre B, Cartron JP, Cherif-Zahar B. The human Rhesus-associated RhAG protein and a kidney homologue promote ammonium transport in yeast. Nat genet 2000;26:341-4
17. Westhoff CM, Ferreri-Jacobia M, Mak DO, Foskett JK. Identification of the erythrocyte Rh blood group glycoprotein as a mammalian ammonium transporter. J Biol Chem 2002;277: 12499-502.
18. Cartron JP. RH blood group system and molecular basis of Rh-deficiency. Bailliere's Best Practice Clin Haematol 1999;12: 655-89.
19. Kato-Yamazaki M, Okuda H, Kawano M, et al. Molecular genetic analysis of the Japanese amorph rh(null) phenotype. Transfusion 2000;40:617-8.
20. Ho M, Chelly J, Carter N, Danek A, Crocker P, Monaco AP. Isolation of the gene for Mcleod syndrome that encodes a novel membrane transport protein. Cell 1994;77:869-80.
21. Khamlichi S, Bailly P, Blanchard D, Goossens D, Cartron JP, Bertrand O. Purification and partial characterization of the erythrocyte Kx protein deficient in McLeod patients. Eur J Biochem 1995;228:931-4.
22. Danek A, Rubio JP, Rampoldi L, et al. McLeod neuroacanthocytosis: genotype and phenotype. Ann Neurol 2001;50:755-64.
23. Rao N, Ferguson DJ, Lee SF, Telen MJ. Identification of human erythrocyte blood group antigens on the C3b/C4b receptors. J Immunol 1991;146:3502-7.
24. Tas SW, Klickstein LB, Barbashov SF, Nicholson-Weller A. c1q and C4b bind simultaneously to CR1 and additively support erythrocyte adhesion. J Immunol 1999;163:5056-63.
25. Telen MJ, Green AM. The Inab phenotype: characterization of the membrane protein and complement regulatory defect. Blood 1989;74:437-41.
26. Rey-Campos J, Rubinstein P, Rodriguez de Cordoba S. Decay-accelerating factor. Genetic polymorphism and linkage to the RCA (regulator of complement activation) gene cluster in human. J Exp Med 1987;166:246-52.
27. Telen MJ. Glycosylphosphatidylinositol-linked blood group antigens and paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Transfus Clin Biol 1995;2:277-90.
28. Holguin MH, Wilcox LA, Bernshaw NJ, Rosse WF, parker CJ. Relationship between the membrane inhibitor of reactive lysis and the erythrocyte phenotypes of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. J Clin Invest 1989;84:1387-94.
29. Telen MJ, Rosse WF, parker CJ, Moulds MK, Moulds JJ. Evidence that several high-frequency human blood group antigens reside on phosphatidylinositol-linked erythrocyte membrane proteins. Blood 1990;75:1404-7.
30. Turner AJ, Brown CD, Carson JA, Barnes K. The neprilysin family in health and disease. Adv Exper Med & Biol 2000; 477:229-40.

31. *Rao N, Whitsett CF, Oxendine SM, Telen MJ. Human erythrocyte acetylcholinesterase bears the Yt$^a$ blood antigen and is reduced or absent in the Yt(a-b-) phenotype. Blood 1993;81:815-9.*
32. *Gubin AN, Njoroge JM, Wojda U, et al. Identification of the Dombrock blood group glycoprotein as a polymorphic member of the ADP-ribosyltransferase gene family. Blood 2000;96: 2621-7.*
33. *Smith BL, Preston GM, Spring FA, Anstee DJ, Agre P. Human red cell aquaporin CHIP. I. Molecular characterization of ABH and Colton blood group antigens. J Clin Invest 1994; 94:1043-9.*
34. *Mathai JC, Mori S, Smith BL, et al. Functional analysis of aquaporin-1 deficient red cells. The Colton-null phenotype. J Biol Chem 1996;271:1309-13.*
35. *Olives B, Nattei MG, Huet M, et al. Kidd blood group and urea transport function of human erythrocytes are carried by the same protein. J Biol Chem 1995;270:15607-10.*
36. *Sands JM, Gargus JJ, Frohlich O, Gunn RB, Kokko JP. Urinary concentrating ability in patients with Jk(a-b-) blood type who lack carrier-mediated urea transport. J Am Soc Nephrol 1992; 2:1689-96.*
37. *Lee MD, King LS, Agre P. The aquaporin family of water channel proteins in clinical medicine. Medicine 1997;76: 141-6.*
38. *Oldenborg PA, Zheleznyak A, Fang YF, Lagenaur CF, Gresham HD, Lindberg FP. Role of CD47 as a marker of self on red blood cells. Science 2000;288:2051-4.*
39. *Oldenborg PA, Gresham HD, Lindberg FP. CD47-signal regulatory protein alpha (SIRP alpha) regulates Fc-gamma and complement receptor-mediated phagocytosis. J Exp Med 2001;193:855-62.*
40. *Verfaillie C, Benis A, iida J, McGlave P, McCarthy J. Adhesion of committed human hematopoietic progenitors to synthetic peptides from the C-terminal heparin-binding domain of fibronectin: cooperation between the integrin alpha 4 beta 1 and the CD44 adhesion receptor. Blood 1994;84: 1802-11.*
41. *Krutrachue M, Sirisinha S. Autoimmune hemolytic anemias in Thailand. Scand J Haematol 1977;19:61-7.*
42. *Dacie J. Autoimmune hemolytic anemia (AIHA): Pathogenesis: The haemolytic anemias Volume 3. The autoimmune hemolytic anemia 3$^{rd}$ edition. Churchill Livingstone 1992: 392-451.*
43. *Engelfriet CP, Overbeeke MAM, von dem Borne AEG Kr. Autoimmune hemolytic anemia. Semin Hematol 1992;29:3-12.*
44. *Petz LD, Garratty G. The serologic investigation of autoimmune hemolytic anemia: Acquired immune hemolytic anemias. Churchill Livingstone 1980:139-84.*
45. *Allgood JW, Chaplin H. Idiopathic acquired hemolytic anemia: A review of 47 cases treated from 1995 through 1965. Am J Med 1967;43:254-73.*
46. *Pirofsky B. Autoimmunization and autoimmune hemolytic anemia. Baltimore, Williams and Wilkins 1969:537.*
47. *Dameshek W, Komninos ZD. The present status of treatment of autoimmune hemolytic anemia with ACTH and cortisone. Blood 1956;11:648-64.*
48. *Pirofsky B. Immune hemolytic disease: The autoimmune hemolytic anemias. Clin Haematol 1976;4:167-80.*
49. *Schreiber AD. Autoimmune hemolytic anemia. Pediatr Clin North Am 1980;27:253-67.*
50. *Petz LD. Autoimmune hemolytic anemia. Human Pathol 1980;14:251-5.*
51. *Garrathy G. Problems associated with compatibility testing for patients with autoimmune hemolytic anemia. South Asian J Trop Public Health 1993;24:73-9.*
52. *Sokol RJ, Hewitt S, Booker DJ, Moris BM. Patients with red cell autoantibodies: selection of blood for transfusion. Clin Lab Haematol 1988;10:257-64.*
53. *James P, Rowe GP, Tozzo GG. Elucidation of alloantibodies in autoimmune hemolytic anemia. Vox Sang 1988;54:167-71.*
54. *Laine ML, Beattie KM. Frequency of alloantibodies accompanying autoantibodies. Transfusion 1985;25:545-6.*
55. *Wallhermfechtel MA, Pohl BA, Chaplin H. Alloimmunization in patient with warm autoantibodies. Transfusion 1984;24: 482-5.*
56. *Chaplin H. Special problems in transfusion management of patients with autoimmune hemolytic anemia. In: Bell CA, ed. A seminar on laboratory management of hemolysis. Washington DC, American Association of Blood Banks 1979: 135-50.*
57. *Bernstein ML, Schneide BK, Naiman JL. Plasma exchange in refractory acute autoimmune hemolytic anemia. J Pediatr 1981;98:774-5.*
58. *Kutti J, Wadenvik H, Safai-Kutti, et al. Successful treatment of refractory autoimmune haemolytic anemia by plaspheresis. Scand J Haematol 1984;32:149-52.*
59. *Patten E, Reuer. Evans' syndrome: Possible benefit from plasma exchange. Transfusion 1980;20:589-93*
60. *Besa EC, Ray PK, Swami VK, et al. Special immunoabsorption of IgG antibody in patient with chronic lymphocytic leukemia and autoimmune hemolytic anemia: A new form of therapy for the acute critical stage. Am J Med 1981;71:1035-40.*
61. *Schwartz SI, Bernard RP, Adams JT, et al. Splenectomy for hematologic disorders. Arch Surg 1970;101:338-47.*
62. *Leger RM, Garratty G. Evaluation of methods for detecting alloantibodies underlying warm autoantibodies. Transfusion. 1999;39:11-6.*
63. *Oyen R, Angeles ML. A simple screening method to evaluate the presence of alloantibodies with concomitant warm autoanti-*

*bodies. Immunochemistry. 1995;11:85-7.*

64. *Laine EP, Leger RM, Arndt PA, Calhoun L, Garratty G, Petz LD. In vitro studies of the impact of transfusion on the detection of alloantibodies after autoadsorption. Transfusion. 2000;40:1348-7.*
65. *Dacie JV. Autoimmune hemolytic anemias (AIHA): Treatment. The hemolytic anemias: The autoimmune hemolytic anemias. New York, Churchill Livingstone, 1992:452-520.*
66. *Rausen AR, LeVine R, Hsu TC, Rosenfield RE. Compatible transfusion therapy for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Padiatrics 1975;55:275-8.*
67. *Rosenfield RE, Jagathambal. Transfusion therapy for autoimmune hemolytic anemia. Semin Hematol 1976;13:311-21.*
68. *Wallace J. Blood transfusion for clinicians. New York: Churchill Livingstone, 1977.*
69. *Johnsen HE, Brostrphom K, Madsen M. Paroxysmal cold haemoglobinuria in children: 3 cases encountered within a period of 7 months. Scand J Haematol 1978;20:413-6.*
70. *Aubuchon JP. Guidelines for the use of blood warming devices. Bethesda: American Association of Blood Banks, 2001.*