

บทบรรณาธิการ

Enzyme

ศศิธร เพชรจันทร์

ภาควิชาเวชศาสตร์การธนาคารเลือด คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

นับตั้งแต่ Morton และ Pickles¹ ได้รายงานในปี ค.ศ. 1947 ว่า การใช้ enzyme solution 2 ชนิด ซึ่งแยกได้จาก culture ของ *Vibrio cholera* และ trypsin จากกระเพาะหมู สามารถเร่งปฏิกิริยาการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงได้ โดยการใส่เอนไซม์ลงในส่วนผสมระหว่างเม็ดเลือดแดงกับซีรัม หรือโดยการ treat เม็ดเลือดแดงด้วยเอนไซม์เสียก่อนที่จะให้ทำปฏิกิริยากับซีรัม มีผลทำให้เม็ดเลือดแดงที่ถูกจับด้วยแอนติบอดีแล้วเกิดการจับกลุ่มได้ ทั้งๆ ที่เดิมไม่สามารถเกิดการจับกลุ่ม ยกเว้นว่าจะได้ทำ indirect antiglobulin test (IAT) ยกตัวอย่างเช่น ส่วนผสมระหว่างเม็ดเลือดแดงที่มี D แอนติเจนกับซีรัมที่มี anti-D เมื่อนำไป incubate ที่อุณหภูมิ 37 °C. และปั่นอ่านปฏิกิริยา จะไม่เกิดการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง การจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงจะเกิดขึ้นได้เมื่อทำ IAT แต่ถ้าใส่เอนไซม์ลงในส่วนผสมนี้จะสามารถเห็นการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงได้โดยไม่ต้องทำ IAT

นับจากนั้นเป็นต้นมา มีรายงานการค้นพบเอนไซม์ (proteolytic enzyme) ที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในงานธนาคารเลือดได้อีกหลายชนิด คือ papain จากมะละกอ² ficin จากมะเดื่อ (fig)³ และ bromelain จากสับปะรด⁴ ปัจจุบันเอนไซม์ที่นิยมใช้ในงานธนาคารเลือดคือ papain และ bromelain ซึ่งมีราคาไม่แพง หาได้ง่าย และมีคุณภาพดี

ได้รับต้นฉบับเมื่อ 13 สิงหาคม 2542 และให้ตีพิมพ์เมื่อ 16 สิงหาคม 2542
ต้องการสำเนาต้นฉบับติดต่อ รศ.พญ. ศศิธร เพชรจันทร์ ภาควิชาเวชศาสตร์การธนาคารเลือด คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล ถนนพหลโยธิน เขตบางกอกน้อย กรุงเทพฯ 10700

คุณสมบัติของเอนไซม์⁵

เมื่อเม็ดเลือดแดงถูก treat ด้วยเอนไซม์มีผลทำให้เม็ดเลือดแดงเหล่านั้นทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีบางตัวได้ดีขึ้น (enhance reaction) เกิดจากเอนไซม์ย่อยส่วนประกอบของ red cell membrane คือ glycoprotein ที่มี N-acetyl-neuraminic acid (NeuAc) ซึ่งเป็นตัวให้ประจุลบบนเม็ดเลือดแดง ดังนั้นเมื่อเม็ดเลือดแดงถูกย่อยด้วยเอนไซม์จึงมีการลดลงของประจุลบบนเม็ดเลือดแดงร่วมกับการลดลงของ zeta potential เม็ดเลือดแดงจึงเข้ามาใกล้กันมากขึ้น ทำให้เกิดการจับกลุ่มได้ง่าย นอกจากนี้เมื่อผิวของเม็ดเลือดแดงถูกย่อยยังมีผลทำให้แอนติบอดีสามารถทำปฏิกิริยากับแอนติเจนบนผิวของเม็ดเลือดแดงได้ดีขึ้นด้วย คุณสมบัติข้อนี้ของเอนไซม์เป็นประโยชน์สำหรับงานธนาคารเลือด คือ สามารถนำเอนไซม์มาใช้เพื่อเร่งปฏิกิริยาของหมู่เลือดบางระบบ ได้แก่ Rh, Kidd, Lewis, P และ I

นอกจากนี้เอนไซม์ยังมีคุณสมบัติที่สำคัญอีกประการหนึ่งคือ ทำลายตำแหน่งของแอนติเจนของหมู่เลือดบางระบบที่อยู่บนผิวของเม็ดเลือดแดง (inhibit reaction) ได้แก่ Duffy (Fy^a, Fy^b) และ MNS (M, N, Mi^a) สำหรับ S และ s นั้นไม่ถูกทำลายโดย trypsin แต่อาจถูกทำลายโดย ficin และ papain ได้ เนื่องจากหมู่เลือดทั้ง 2 ระบบนี้เป็นหมู่เลือดที่มีความสำคัญทางคลินิก การใช้เอนไซม์แต่เพียงวิธีเดียวในงานธนาคารเลือดอาจก่อให้เกิดอันตรายแก่ผู้ป่วยได้ จึงไม่สมควรนำเอนไซม์มาใช้แต่เพียงวิธีเดียว ควรนำมาใช้ร่วมกับวิธีอื่นๆ เช่น IAT และ

LISS-IAT เป็นต้น

เนื่องจากเอนไซม์เป็นสารที่ละลายตัวได้ง่ายและเป็น pH dependent การนำเอนไซม์มาใช้จึงควรระมัดระวังในการเก็บ คือ ควรเก็บที่อุณหภูมิ 4 °ซ. (powder form) ในกรณีที่เก็บเป็น solution form ควรแบ่งจำนวนน้อยและเก็บแช่แข็ง (-20 °ซ.) หรือ freeze-dried จึงจะสามารถรักษาคุณภาพของเอนไซม์ไว้ได้ดีกว่าการเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °ซ. แต่เมื่อนำมาละลายใช้แล้วไม่ควรนำกลับไปแช่แข็งใหม่อีกเพราะจะเสื่อมคุณภาพ buffer ที่ใช้กับเอนไซม์จะต้องมี pH ตามที่กำหนดในวิธีทำและเก็บที่ 4 °ซ. ด้วยเช่นกัน นอกจากนี้ผู้ใช้ควรระวัง เพราะเอนไซม์อาจทำให้เกิดการระคายเคืองต่อ mucous membrane ของตาและจมูกได้

ประโยชน์ของเอนไซม์สำหรับงานธนาคารเลือด

เอนไซม์มีประโยชน์ในงานธนาคารเลือด โดยการใช้ร่วมกับวิธี IAT ดังนี้

1. Antibody screening โดยการ treat screen cells ด้วยเอนไซม์เสียก่อน จะช่วยในการตรวจกรองหาแอนติบอดีในผู้ป่วย เป็นการเพิ่มความปลอดภัยให้แก่ผู้ป่วยที่จะได้รับเลือด ในกรณี prenatal serology มีประโยชน์ในการตรวจหาแอนติบอดีที่อาจเป็นสาเหตุของโรค hemolytic disease of the newborn ได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง Rh antibodies สำหรับในเลือดที่ได้รับบริจาค การใช้วิธีที่มีความไวโดยไม่ต้องเสียเวลาทำ IAT อาจช่วยป้องกันการให้พลาสมาที่มีแอนติบอดีบางชนิดแก่ผู้ป่วยได้

2. Antibody identification การใช้เอนไซม์จะช่วยในการตรวจหาชนิดของแอนติบอดี โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่แอนติบอดีหลายตัวรวมกัน คุณสมบัติในการเร่งปฏิกิริยาและทำลายตำแหน่งแอนติเจนจะช่วยให้สามารถแยกชนิดต่างๆ ของแอนติบอดีออกจากกันได้

3. Compatibility testing โดยปกติไม่จำเป็นต้องใช้เอนไซม์ร่วมด้วย ยกเว้นในกรณีที่ผู้ป่วยมีแอนติบอดีของระบบ Lewis และธนาคารเลือดไม่มีเลือดที่เหมาะสม

ให้ คือ เลือดที่ไม่มี Lewis แอนติเจนทั้งบนเม็ดเลือดแดงและในพลาสมา ควรเพิ่มความปลอดภัยให้แก่ผู้ป่วยโดยการทำให้ crossmatching ระหว่างซีรัมของผู้ป่วยกับเม็ดเลือดแดงของ donor ที่ผ่านการ treat ด้วยเอนไซม์มาแล้วเพิ่มขึ้นจากวิธีที่ใช้อยู่เป็นประจำ และอ่านผลการเกิด hemolysis ถ้าไม่มี hemolysis และ crossmatching ด้วยวิธีที่ใช้อยู่ให้ผลลบ จึงนำเลือดถุงนั้นไปให้ผู้ป่วยได้

4. Lewis typing การตรวจหาชนิดของ Lewis แอนติเจน โดยการใช้เอนไซม์ และอ่านผล hemolysis จะช่วยให้อ่านผลได้ชัดเจน

Enzyme technique⁶

การทดสอบโดยใช้เอนไซม์ทำได้ 2 วิธี คือ one-stage และ two-stage enzyme technique ซึ่งมีข้อดีและข้อเสียแตกต่างกันดังนี้

1. One-stage technique คือ การใส่เอนไซม์ลงไปพร้อมๆ กับเม็ดเลือดแดงและซีรัมที่จะทดสอบ incubate ที่อุณหภูมิห้องหรือ 37 °ซ. ตามต้องการ แล้วอ่านผลการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง วิธีนี้ทำได้ง่ายและสะดวก แต่ให้ผลดีน้อยกว่า two-stage technique ทั้งนี้เพราะนอกจากเอนไซม์จะย่อยเม็ดเลือดแดงแล้ว ยังสามารถย่อยแอนติบอดีด้วย

2. Two-stage technique วิธีนี้จะ treat เม็ดเลือดแดงด้วยเอนไซม์ก่อนแล้วจึงนำเม็ดเลือดแดงไปล้างเอาเอนไซม์และโปรตีนต่างๆ ออกให้หมด แล้วนำไปทำปฏิกิริยากับซีรัม incubate ที่อุณหภูมิ 37 °ซ. และอ่านผลการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงหรืออ่าน hemolysis สำหรับระบบ Lewis วิธีนี้ยุ่งยากและใช้เวลามากกว่าวิธีแรก แต่ได้ผลดีกว่าเพราะเอนไซม์ไม่มีโอกาสย่อยแอนติบอดีในซีรัมเหมือนเช่นวิธี one-stage

สิ่งที่สำคัญประการหนึ่งในการใช้เอนไซม์คือ เพื่อที่จะให้ได้ปฏิกิริยาที่ดีที่สุด จะต้องหา dilution ที่เหมาะสมของเอนไซม์ในการเร่งปฏิกิริยาและทำลายปฏิกิริยา รวมทั้งจะต้องหาเวลาที่พอเหมาะสำหรับให้เอนไซม์ย่อยเม็ดเลือดแดงด้วย ซึ่งผู้ที่ใช้เอนไซม์จะต้องปฏิบัติตามอย่าง

เครื่องคัด

สรุป

ถึงแม้ว่าการนำเอนไซม์มาใช้ในธนาคารเลือดจะมีประโยชน์หลายประการ แต่ผู้ใช้ควรให้ความระมัดระวังในการทำอย่างเคร่งครัดเกี่ยวกับ pH เพราะมีรายงานโดย Scott และคณะในปี ค.ศ. 1987 ว่า ปฏิกิริยาที่ดีจะเกิดเมื่อให้เอนไซม์ย่อยเม็ดเลือดแดงใน pH ที่เหมาะสมคือระหว่าง 5.4-5.8⁷ และเวลาที่ใช้ในการย่อยเม็ดเลือดแดง นอกจากนั้นการใช้เอนไซม์ยังอาจทำให้ตรวจพบแอนติบอดีที่ตรวจพบโดยวิธีเอนไซม์เท่านั้น (enzyme-only) ซึ่งส่วนใหญ่เป็นแอนติบอดีที่มีปริมาณต่ำและมีความสำคัญทางคลินิกน้อย รวมทั้งการพบ autoantibodies เหมือนเช่นในการศึกษาของ Issitt และคณะ ในปี 1993⁸ การพบแอนติบอดีดังกล่าวทำให้ธนาคารเลือดต้องใช้เวลาในการศึกษาเพื่อบอกชนิดของแอนติบอดีก่อนตัดสินใจให้เลือดแก่ผู้ป่วย แต่อย่างไรก็ตามการตรวจพบแอนติบอดีซึ่งถึงแม้ว่าจะมีปริมาณต่ำจนวิธีอื่นตรวจไม่พบ เป็นการเพิ่มความปลอดภัยให้แก่ผู้ป่วยมากยิ่งขึ้นเพราะทำให้เม็ดเลือดแดงไม่ถูกทำลายก่อนกำหนดและเป็นการป้องกัน delayed hemolytic transfusion reaction ให้แก่ผู้ป่วยด้วย

เอกสารอ้างอิง

1. Morton JA, Pickles MM. Use of trypsin in the detection of incomplete and Rh antibodies. *Nature* 1947;159:779-81.
2. Low B. A practical method using papain and incomplete Rh antibodies in routine Rh Blood-grouping. *Vox Sang* 1955;5:94-8.
3. Haber G, Rosenfield RE. Ficin-treated red cells for hemagglutination studies. In: Andresen PH. *Papers in dedication of his 60th birthday*. Copenhagen: Munksgaard, 1957;45-65.
4. Pirotsky B, Mangum MEJ. Use of bromelain to demonstrate erythrocyte antibodies. *Proc Soc Exp Biol Med* 1959;54:640-9.
5. Issitt PD, Anstee DJ, eds. *Applied Blood Group Serology*. 4th ed. Durham, North Carolina: Montgomery Scientific Publications, 1998:48-50.
6. Vengelen-Tyler V, ed. *Technical Manual*. 12th ed. Bethesda: Am Assoc Blood Banks, 1996:636-9.
7. Scott ML, Johnson CA, Phillips PK. The pH optima for papain and bromelain treatment of red cells. *Vox Sang* 1987;52:223-7.
8. Issitt PD, Combs MR, Bredehoeft SJ, Campbell ML, et al. Lack of clinical significance of "enzyme-only" red cell alloantibodies. *Transfusion* 1993;33:284-93.

“เกร็ดเล็กๆน้อยๆ.. เรื่องการบริจาคโลหิต ช่วยชีวิตผู้อื่น ได้มากกว่าที่คิด”

มีหลายคนสงสัยและมักมีคำถาม
อยู่เสมอว่า โลหิตที่ได้รับบริจาคนั้น
นำไปใช้ประโยชน์อะไรได้บ้าง
ความจริงแล้วโลหิตทุกยูนิตสามารถ
นำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างมาก
จนคุณเองแทบคิดไม่ถึง เช่น รักษาคนไข้
ที่ต้องผ่าตัด หรือคลอดบุตรแล้วเสียโลหิต
อุบัติเหตุ และโรคที่เกี่ยวกับโลหิต
ทั้งหลาย โดยโลหิตที่ได้รับบริจาค
๑ ยูนิต (๑ ถุง) สามารถนำไปปั่นแยก
เป็นส่วนประกอบ เป็น

- เม็ดโลหิตแดงเข้มข้น ใช้นำไปให้ผู้ป่วย
ที่เสียโลหิตโดยฉับพลัน และผู้ป่วยที่เป็น
โรคโลหิตจาง
- เม็ดโลหิตขาว นำไปให้กับผู้ป่วยที่มี
เม็ดโลหิตขาวต่ำ เพื่อเสริมความต้านทาน
ในการฆ่าเชื้อโรคที่เข้ามาในร่างกาย



- เกล็ดโลหิต นำไปให้กับผู้ป่วยที่มีอาการ
เลือดออกไม่หยุด ผู้ป่วยใช้เลือดออก
และโรคกระดูกฝ่อ
- สำหรับพลาสมาหรือน้ำเหลือง
คือส่วนของเหลวที่แยกออกจากเซลล์
เม็ดโลหิต มีสีเหลืองอ่อน ในกรณีฉุกเฉิน
สามารถใช้พลาสมาแทนโลหิตได้ และ
ใช้รักษาผู้ป่วยที่ถูกน้ำร้อนลวกหรือไฟไหม้
โลหิตที่คุ้นบริจาคจึงสามารถใช้ประโยชน์
ได้อย่างเต็มที่ โดยไม่เสียเปล่าแม้แต่หยดเดียว