

บทความพื้นวิชา

ABO Subgroup

จินตนา ทับรอด

ฝ่ายปฏิบัติการร่วมกับองค์การอนามัยโลก ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

ABO เป็นหมู่โลหิตแรกที่ถูกค้นพบในปี ค.ศ. 1900 โดย Karl Lansteiner บนเม็ดเลือดแดงคนหมู่ A มีแอนติเจน A คนหมู่ B มีแอนติเจน B คนหมู่ AB มีแอนติเจน A และ B ส่วนคนหมู่ O ไม่มีแอนติเจน A และ B ในซีรัมของคนเหล่านี้จะมีแอนติบอดีที่ตนเองไม่มีแอนติเจน คือคนหมู่ A มี anti-B คนหมู่ B มี anti-A คนหมู่ AB ไม่มีทั้ง anti-A และ anti-B คนหมู่ O มีทั้ง anti-A และ anti-B แอนติบอดีในระบบ ABO เกิดขึ้นได้เองตามธรรมชาติ (naturally occurring antibodies) โดยไม่พบหลักฐานว่าได้รับการกระตุ้น จึงเป็นหมู่โลหิตที่มีความสำคัญมากที่สุดในการให้เลือด¹ แอนติเจนของหมู่โลหิต ABO บนเม็ดเลือดแดงเป็นสารประกอบจำพวก glycolipid นอกจากพบบนเม็ดเลือดแดงแล้ว ยังพบบนเซลล์ต่างๆ เช่น เม็ดเลือดขาว เซลล์เยื่อบุผิว epithelial cell และ endothelial cell รวมทั้งน้ำคั่งหลังในร่างกายนี้น้ำลาย น้ำตา ซึ่งเป็นสาร ประกอบจำพวก glycoprotein คนทั่วไปประมาณร้อยละ 80 จะหลั่งสาร A B H (secretor) และ อีก ร้อยละ 20 ไม่หลั่งสาร A B H (non secretor) การแสดงออกของหมู่เลือด ABO มียีนที่ควบคุมการสร้าง ABO ประกอบด้วย ยีน 3 ชุด ที่เป็นอิสระต่อกัน คือ ยีน ABO ยีน Hh และยีน Se (secretor) โดยมียีน A,B,H และ Se เป็นยีนเด่น (dominant gene) ส่วนยีน o h และ se เป็นยีนด้อย (recessive gene) ซึ่งถ่ายทอดทางพันธุกรรมตามกฎของ Mendel โดยมียีน Hh สร้างเอนไซม์ซึ่งจะมีผลในระดับเซลล์ทำให้สร้างแอนติเจน H บนผิวเซลล์ ในขณะที่ยีน Se จะควบคุมการสร้าง H ในน้ำคั่งหลังของร่างกาย แอนติเจนหรือสาร H นี้เป็นสารต้นกำเนิดของการสร้างแอนติเจน A และ B โดยยีน ABO^{2,3}

ABO subgroup

เป็นหมู่เลือดที่มีความแตกต่างของปริมาณแอนติเจน A และ B บนเม็ดเลือดแดงและสาร ABH ในน้ำลาย ซึ่งเกิดจาก

ได้รับต้นฉบับ 11 พฤศจิกายน 2551 ให้ลงตีพิมพ์ 26 กันยายน 2552

ต้องการสำเนาต้นฉบับติดต่อ นางจินตนา ทับรอด ฝ่ายปฏิบัติการร่วมกับองค์การอนามัยโลก ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ถนนอังรีดูนังต์ เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร. 10330

การเปลี่ยนแปลงของยีนที่ควบคุมการสร้างสารหมู่เลือด สามารถแยกเป็น subgroup ต่างๆ ได้ในระดับ serology^{2,4} โดยอาศัย

1. ความแรงของปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดงกับน้ำยาแอนติซีรัมมาตรฐานถ้าให้ปฏิกิริยาอ่อนกว่า แสดงว่าปริมาณแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดงมีน้อย
2. ชนิดของแอนติบอดีในซีรัม
3. การมีสาร A B และ H ในน้ำคั่งหลัง
4. ลักษณะเฉพาะของปฏิกิริยา mixed - field คือมีการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงจำนวนน้อยใน เม็ดเลือดแดงที่ไม่จับกลุ่ม (free cell) จำนวนมากจะพบในหมู่เลือด A₃ และ B₃

Subgroup A

หมู่เลือด Subgroup A พบได้มากกว่า Subgroup B แบ่งเป็นชนิดต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 1 ในคนผิวขาวประมาณร้อยละ 80 เป็นหมู่เลือด A₁ โดยเม็ดเลือดแดง A₁ จะทำปฏิกิริยาแรงกับ anti-A (polyclonal) และ anti-A₁ ที่เตรียมจากเมล็ดพืช (Dolichos biflorus) ที่เหลืออีกร้อยละ 20 เม็ดเลือดแดงจะทำปฏิกิริยากับ anti-A แต่ไม่ทำปฏิกิริยากับ anti-A₁ จะเป็นหมู่เลือด A₂ ในทำนองเดียวกันกับหมู่เลือด AB จะเป็น A₁B ประมาณร้อยละ 80 ที่เหลือเป็น A₂B ในคนหมู่ A₂ และ A₂B อาจตรวจพบ anti-A₁ ในซีรัมได้ร้อยละ 1-8 และ 22-35 ตามลำดับ ซึ่งอาจทำให้เกิดปัญหา ABO discrepancies และ incompatibility ในการทำ cross-matching ได้ anti-A₁ นี้มักพบเป็น naturally occurring ส่วนใหญ่ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิต่ำกว่า 37° ซ จัดเป็นแอนติบอดีที่ไม่สำคัญ แต่อาจมี anti-A₁ บางรายทำปฏิกิริยาที่ 37° ซ ก็จัดเป็นแอนติบอดีที่มีความสำคัญทางคลินิก ซึ่งการให้เลือดผู้ป่วยจะต้องให้เม็ดเลือดแดงหมู่ O เป็นอันดับแรก หรือ A₂ ถ้าสามารถทำได้

Subgroup A_{int}

หมู่เลือด A_{int} (A intermediate) มีลักษณะก้ำกึ่งระหว่างหมู่เลือด A₁ และ A₂ เม็ดเลือดแดงทำปฏิกิริยากับ anti-A₁

ตารางที่ 1 ลักษณะการทำปฏิกิริยาของ subgroup A^{2,3}

หมู่เลือด	ปฏิกิริยาของเม็ดเลือดแดงกับแอนติซีรัมมาตรฐาน					ปฏิกิริยาของซีรัมกับเม็ดเลือดแดงมาตรฐาน				สารในน้ำลายของคนที่เป็น secretor
	Anti-A	Anti-B	Anti-AB	Anti-H	Anti-A ₁	A1 cell	A ₂ cell	B cell	O cell	
A ₁	4+	0	4+	0	4+	0	0	4+	0	A,H
A _{int}	4+	0	4+	3+	2+	0	0	4+	0	A,H
A ₂	4+	0	4+	2+	0	*	0	4+	0	A,H
A ₃	2+ ^{mf}	0	2+ ^{mf}	3+	0	*	0	4+	0	A,H
A _x	0/±	0	1+/2+	4+	0	2+/0	±/0	4+	0	H
A _m	0/±	0	0/±	4+	0	0	0	4+	0	A,H
A _{el}	0	0	0	4+	0	2+/0	0	4+	0	H

หมายเหตุ : 1. ปฏิกิริยาเม็ดเลือดแดงกับ Polyclonal antibodies
 2. น้ำยา monoclonal antibodies อาจให้ผลปฏิกิริยาแตกต่างกันไป
 1+ - 4+ = ความแรงของปฏิกิริยาการจับกลุ่ม
 ± = ปฏิกิริยาการจับกลุ่มอย่างอ่อน
 mf = ปฏิกิริยาการจับกลุ่มแบบ mixed - field
 * = พบ anti-A₁ ได้ ขึ้นกับแต่ละบุคคล
 0 = ไม่มีปฏิกิริยาการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง

อ่อนกว่าหมู่เลือด A₁ แต่ทำปฏิกิริยาแรงกับ anti-H มากกว่าหมู่เลือด A₂

Subgroup A₃

หมู่เลือด A₃ เม็ดเลือดแดงทำปฏิกิริยาจับกลุ่มอ่อนๆ และมีลักษณะ mixed field กับ anti-A และ anti-AB อาจพบ anti-A₁ ในซีรัมคนบางคน น้ำลายจะพบสาร A และ H ในคนที่ เป็น secretor

Subgroup A_x

หมู่เลือด A_x เม็ดเลือดแดงทำปฏิกิริยากับ anti-AB จาก serum คนหมู่ O แต่ไม่ทำปฏิกิริยากับ anti-A จาก serum คนหมู่ B แต่ในปัจจุบันนี้ monoclonal anti-A สามารถทำปฏิกิริยากับเม็ดเลือดแดง A_x ได้ ส่วนใน serum จะพบ anti-A₁ ในน้ำลายพบสาร H แต่ไม่พบสาร A

Subgroup A_m

หมู่เลือด A_m เม็ดเลือดแดงไม่ทำปฏิกิริยากับ anti-A และ anti-AB ไม่พบ anti-A₁ ในซีรัม ในน้ำลายพบสาร A และ H แอนติเจน A บนเม็ดเลือดแดงหมู่เลือด A_m ตรวจพบ ด้วยวิธี adsorption และ elution

Subgroup A_{el}

หมู่เลือด A_{el} เม็ดเลือดแดงไม่ทำปฏิกิริยากับ anti-A และ anti-AB อาจพบ anti-A₁ ในซีรัม ในน้ำลายพบสาร H ไม่พบสาร A แอนติเจน A บนเม็ดเลือดแดงหมู่เลือด A_{el} ตรวจพบด้วยวิธี adsorption และ elution เช่นเดียวกับหมู่เลือด A_m

Subgroup B

หมู่เลือด Subgroup B พบได้น้อยกว่า Subgroup A การจำแนก subgroup อาศัยการทำปฏิกิริยาของเม็ดเลือดแดงกับ anti-B และ anti-AB จากซีรัมคน การตรวจพบ weak anti-B ในซีรัมและการหลั่งสาร B และ H ในน้ำลาย คล้ายคลึงกับ Subgroup A (ตารางที่ 2)

Subgroup B₃

หมู่เลือด B₃ เม็ดเลือดแดงทำปฏิกิริยากับ anti-B และ anti-AB มีลักษณะ mixed- field ในน้ำลายพบสาร B และ H เช่นเดียวกับหมู่เลือด A₃

ตารางที่ 2 ลักษณะการทำปฏิกิริยาของ subgroup B³

หมู่เลือด	ปฏิกิริยาของเม็ดเลือดแดงกับแอนติซีรัมมาตรฐาน				ปฏิกิริยาของซีรัมกับเม็ดเลือดแดงมาตรฐาน				สารในน้ำลายของคนที่เป็น secretor
	Anti-A	Anti-B	Anti-AB	Anti-H	A ₁ cell	A ₂ cell	B cell	O cell	
B	0	4+	4+	0	4+	4+	0	0	B,H
B ₃	0	1+ ^{mf}	2+ ^{mf}	4+	4+	4+	0	0	B,H
B _x	0	0/±	0/2+	4+	4+	4+	0/+	0	H
B _m	0	0	0/±	4+	4+	4+	0	0	B,H
B _{el}	0	0	0	4+	4+	4+	0/±	0	H

หมายเหตุ : 1. ปฏิกิริยาเม็ดเลือดแดงกับ Polyclonal antibodies
 2. น้ำยา monoclonal antibodies อาจให้ผลปฏิกิริยาแตกต่างกันไป
 1+-4+ = ความแรงของปฏิกิริยาการจับกลุ่ม
 ± = ปฏิกิริยาการจับกลุ่มอย่างอ่อน
 mf = ปฏิกิริยาการจับกลุ่มแบบ mixed - field
 * = พบ anti-A₁ ได้ ขึ้นกับแต่ละบุคคล
 0 = ไม่มีปฏิกิริยาการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง

Subgroup B_x

หมู่เลือด B_x เม็ดเลือดแดงทำปฏิกิริยาอ่อนๆ หรือไม่ทำปฏิกิริยากับ anti-B แต่ทำปฏิกิริยาแรงกับ anti-AB พบ weak anti-B ในซีรัม ในน้ำลายพบสาร H แต่ไม่พบสาร B คล้ายหมู่เลือด A_x

Subgroup B_m

หมู่เลือด B_m เม็ดเลือดแดงไม่ทำปฏิกิริยากับ anti-B และ anti-AB ไม่พบ anti-B ในซีรัมและในน้ำลายพบสาร B และ H แอนติเจน B บนเม็ดเลือดแดงหมู่เลือด B_m ตรวจพบด้วยวิธี adsorption และ elution

Subgroup B_{el}

หมู่เลือด B_{el} เม็ดเลือดแดงไม่ทำปฏิกิริยากับ anti-B และ anti-AB พบ weak anti-B ในซีรัมในน้ำลายพบสาร H แต่ไม่พบสาร B แอนติเจน B บนเม็ดเลือดแดงหมู่เลือด B_{el} ตรวจพบด้วยวิธี adsorption และ Elution เช่นเดียวกับหมู่เลือด B_m

Cis - AB และ B(A) phenotype

Cis - AB

หมู่เลือด Cis - AB พบในรายงานคนหมู่เลือด AB ซึ่งเกิดจากบิดาหมู่เลือด AB และมารดาเป็นหมู่เลือด O แอนติเจน A และ B จะอ่อนกว่าปกติ ทำให้ผลการตรวจหมู่เลือดเป็น A₂B₃ และยังพบ anti-B ในซีรัม ซึ่งไม่ทำปฏิกิริยากับเม็ดเลือดแดงของตนเอง⁴

B (A) phenotype

หมู่เลือด B (A) phenotype เป็นหมู่เลือดที่พบได้น้อยมากในคนหมู่เลือด B ที่เม็ดเลือดแดงทำปฏิกิริยาอย่างแรงกับ anti-B แล้วยังทำปฏิกิริยาอ่อนๆกับน้ำยา monoclonal anti-A (Bioclone MHO4, Ortho Diagnostic) และยังตรวจพบเอนไซม์ galactosyl transferase ในปริมาณสูง²

Bombay และ Para - Bombay³

Bombay

หมู่เลือด Bombay (O_h phenotype) พบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1952 โดย Bhenda และคณะ ที่เมือง Bombay ประเทศอินเดีย คนหมู่เลือด Bombay มียีน hh ไม่สามารถสร้าง แอนติเจน H ซึ่งเป็นสารตั้งต้นกำเนิดของแอนติเจน A และ B บางคนมียีน A และ B ปกติก็ไม่สามารถสร้างแอนติเจน A และ B ได้จึงตรวจพบเป็นหมู่ O อย่างเดียว (ตารางที่ 3) โดยเม็ดเลือดแดงของคนหมู่เลือด Bombay ไม่ทำปฏิกิริยากับ anti-A, anti-B และ anti-H (เตรียมจากเมล็ดพืช Ulex europeaus) ในซีรัมตรวจพบ anti-A, anti-B และ anti-H เป็น non secretor คือไม่พบสาร A B H ในน้ำลาย และเม็ดเลือดแดงเป็น Le (a+b-) anti-H ในซีรัมของคนหมู่เลือด Bombay เป็น antibody ชนิด IgM+IgG มีปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 4° - 37°ซ. สามารถกระตุ้น complement ทำให้เม็ดเลือดแดงแตกสลายได้เมื่อทำปฏิกิริยากับเม็ดเลือดแดงของคนหมู่ O ปกติ (มีแอนติเจน H มาก) จึงต้องรับเลือดหมู่ O_h เหมือนกันเท่านั้น

ตารางที่ 3 แสดงปฏิกิริยาหมู่เลือด Bombay และ Para-Bombay

หมู่เลือด	Cell Grouping				Serum Grouping			สารในน้ำลาย ของคนที่เป็น secretor
	Anti-A	Anti-B	Anti-AB	Anti-H	A1 cell	B cell	O cell	
O ปกติ	0	0	0	+	+	+	0	H
Bombay (O_h)	0	0	0	0	+	+	+	-
Para-Bombay								
A_h	0/W	0	0/W	0	0	+	weak	-
A_{Hm}	0/W	0	0/W	0	0	+	0/weak	A,H
O_{Hm}	0	0	0	0	+	+	weak	H

หมายเหตุ : ปรับปรุงจากเอกสารอ้างอิง No. 3 (Modified from Reference No.3)

+ = ปฏิกิริยาจับกลุ่มแรง

W = ปฏิกิริยาจับกลุ่มอ่อนๆ

0 = ไม่มีปฏิกิริยาจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง

Para - Bombay

หมู่เลือด Para-Bombay อาจเกิดการเปลี่ยนแปลงของยีน H ทำให้สร้างสาร H ได้จำนวนน้อย ในคนที่มียีน A หรือ ยีน B จะเปลี่ยนสาร H เป็นสาร A หรือ สาร B หหมด ทำให้ไม่มีสาร H เหลืออยู่การตรวจทางห้องปฏิบัติการจึงตรวจพบได้ดังนี้

1. เม็ดเลือดแดงไม่ทำปฏิกิริยาหรือทำปฏิกิริยาอ่อนๆ กับ anti-A หรือ anti-B แต่ไม่ทำปฏิกิริยากับ anti-H

2. ตรวจพบ anti-H ในซีรัม แต่ปฏิกิริยาไม่แรงเท่า anti-H ในคนหมู่เลือด Bombay (O_h)

3. อาจเป็น secretor หรือ non secretor

การจำแนก ABO subgroup ชนิดต่างๆ ดังกล่าวข้างต้น ปฏิกิริยาที่แสดงเป็นการทดสอบเม็ดเลือดแดงกับน้ำยา polyclonal antibody ปัจจุบันมีการใช้น้ำยา monoclonal antibody กันอย่างแพร่หลายน้ำยาที่ผลิตขึ้นจะมีความแรงความจำเพาะและความสามารถในการตรวจเม็ดเลือดแดงที่มีแอนติเจนอ่อนๆ ได้ไม่เท่ากัน⁵ การตรวจหมู่โลหิตโดยการทำ cell grouping อย่างเดียว อาจทำให้การวินิจฉัยหมู่เลือดผิดพลาดได้ ดังนั้นการทำ serum grouping ร่วมด้วยจะช่วยยืนยันผลการตรวจ cell grouping ว่าถูกต้องหรือไม่⁶

การตรวจพบ ABO subgroup

ตรวจพบ ABO subgroup ได้จากการตรวจหมู่เลือดด้วยวิธีหลอดทดลองคือต้องตรวจทั้ง cell grouping และ serum grouping แปลผลหมู่โลหิตร่วมกัน ถ้าผลที่ได้ไม่สอดคล้องกัน (ABO discrepancy) จะต้องหาสาเหตุเพื่อวินิจฉัยหมู่เลือดให้ถูกต้อง

การพิสูจน์ ABO subgroup

1. เม็ดเลือดแดง ทำปฏิกิริยากับ anti-A, anti-B, anti-AB, anti-H และ anti- A_1

2. ซีรัมทำปฏิกิริยากับเซลล์มาตรฐาน A_1 cell, A_2 cell, B cell และ O cell

3. Incubate ที่อุณหภูมิห้อง (RT) และ 4°C. เพื่อเสริมปฏิกิริยาของแอนติเจนอ่อนๆ และอ่านผลภายใต้กล้องจุลทรรศน์

4. นำเม็ดเลือดแดงมาลอยด้วยเอนไซม์ก่อนทดสอบจะช่วยเพิ่มปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจนและน้ำยา

5. ทำ adsorption และ elution

6. ตรวจสาร ABH ในน้ำลาย

7. ศึกษาครอบครัว (study family)

สรุป

ABO subgroup เป็นหมู่เลือดที่มี แอนติเจน A และ B ในปริมาณน้อยบนเม็ดเลือดแดงดังนั้นในการตรวจหมู่เลือดต้องตรวจด้วยวิธีหลอดทดลองและต้องตรวจทั้ง cell grouping และ serum grouping แปลผลร่วมกันซึ่งจะทำให้พบความไม่สอดคล้อง (ABO discrepancy) ต้องค้นหาสาเหตุเพื่อจะได้วินิจฉัยหมู่เลือดได้ถูกต้อง การตรวจ cell grouping อย่างเดียวอาจแปลผลเป็นหมู่เลือด O ในกรณีที่เป็นโลหิตบริจาดนำไปให้ผู้ป่วยหมู่ O และการทำ cross matching ไม่สามารถตรวจพบความผิดพลาดอาจทำให้ผู้ป่วยเกิดปฏิกิริยาจากการรับโลหิตได้ แต่ถ้าเป็นผู้ป่วยที่มีความจำเป็นต้องรับโลหิตเร่งด่วนอาจให้ packed red cell หมู่ O Rh (D) เหมือนผู้ป่วย เพราะการวินิจฉัยหมู่เลือดต้องใช้เวลา

ในการพิสูจน์ ความรู้ในเรื่อง ABO subgroup ชนิดต่างๆ จะเป็นประโยชน์ในงานประจำของธนาคารเลือดทั้งในด้านการตรวจโลหิตบริจาคและผู้ป่วย รวมทั้งการจัดหาโลหิตที่เหมาะสมและทันเวลาให้กับผู้ป่วยได้อย่างปลอดภัย

เอกสารอ้างอิง

1. Molison PL, Engelfriet CP, Contreras M. *Blood transfusion in clinical medicine* 10th ed. London : Blackwell Science, 1997:115-50.
2. Virginia VT, Chair and editor. *Technical manual of the American Association Blood Bank*, 13th ed. Bethesda: AABB; 1999:270-93.
3. Harmening DM, Firestone D. *The ABO blood group system in :Harmening DM, ed. Modern blood banking and transfusion practices*, 4th ed. Philadelphia: F.A. Davis, 1999:90-127.
4. Issitt PD. *The ABO blood group system in : Applied blood group serology*. 3rd ed. Florida : Montgomery Scientific Publication, 1985: 132-68.
5. เรืองรอง ชีพสัตยากร ลัดดา ฟองสถิตกุล อมรรัตน์ ร่มพฤษ และคณะ *The B weak Phenotype in Thai Family*. วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์การบริการโลหิต 2545;2:77-89.
6. พิมล เชี่ยวศิลป์ สุณี สถาบันสวัสดิการ เฉลิมชัย สืบแสง ความสำคัญของการทำ serum grouping ในการตรวจหมู่เลือด ABO วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์การบริการโลหิต 2535;2:163-5.

