

นิพนธ์ต้นฉบับ

การศึกษาความชุกของอัลลีล DI^*A และ DI^*B ในผู้บริจาคโลหิตคนไทยภาคเหนือ

ชุดิณณทนต์ วงศ์แก้วโพธิ์ทอง¹ ศิริลักษณ์ พัฒนพิชัย¹ นิภาพรณ ลีตระกูล² และ อ้อยทิพย์ ณ ถลาง³

¹ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ²ธนาคารเลือด คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

³บัณฑิตศึกษา คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความชุกของอัลลีล DI^*A และ DI^*B ของผู้บริจาคโลหิตคนไทยภาคเหนือและเปรียบเทียบความชุกของอัลลีลกับกลุ่มประชากรอื่นๆ โดยนำตัวอย่างดีเอ็นเอของผู้บริจาคโลหิต 300 ราย ซึ่งได้จากธนาคารเลือด คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ มาทำการทดสอบโดยวิธี *polymerase chain reaction with sequence-specific primers* (PCR-SSP) จากการศึกษาพบว่า ความถี่ของอัลลีล DI^*A และ DI^*B ในผู้บริจาคโลหิตคนไทยภาคเหนือ คือ 0.018 และ 0.982 ตามลำดับ เมื่อคำนวณเป็นความถี่จีโนไทป์ พบว่า DI^*B/DI^*B พบมากที่สุด (96.33%) รองลงมาคือ DI^*A/DI^*B (3.67%) ส่วน DI^*A/DI^*A และ DI null ไม่พบในการศึกษาครั้งนี้ ซึ่งการตรวจพบจีโนไทป์ DI^*A และ DI^*B เป็นไปตามสมการของ Hardy-Weinberg เมื่อเปรียบเทียบความถี่ของ DI^*A และ DI^*B อัลลีลในคนไทยภาคเหนือและคนไทยภาคกลาง พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) เช่นเดียวกับประชากรในกลุ่ม Chinese Han, Southern Brazil, Southeast Asian และ American Native ในขณะที่ความถี่ของ DI^*A และ DI^*B อัลลีลของประชากรกลุ่ม Brazilian Japanese descendants, Japanese, Korean, Filipino, Hawaiian/Pacific Islander และ Alaska Native/Aleut มีความแตกต่างกับผู้บริจาคโลหิตคนไทยภาคเหนืออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยสรุป การศึกษานี้เป็นการศึกษาครั้งแรกที่รายงานความชุกของอัลลีล DI^*A และ DI^*B ในผู้บริจาคโลหิตคนไทยภาคเหนือ ซึ่งสามารถนำไปใช้ในการคัดเลือกผู้บริจาคโลหิตที่เหมาะสม โดยเฉพาะกรณีผู้ป่วยได้รับโลหิตและส่วนประกอบโลหิตบ่อยครั้งที่สร้างแอนติบอดีต่อหมู่โลหิตหลายชนิดและมีผลบวกของ direct antiglobulin test ซึ่งจะช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยาไม่พึงประสงค์จากการรับโลหิตต่อไป

คำสำคัญ ● DI^*A ● DI^*B ● Allele frequencies ● PCR-SSP ● Northern Thais

วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2560;27:19-25.

ได้รับต้นฉบับ 23 ธันวาคม 2559 รับลงตีพิมพ์ 6 กุมภาพันธ์ 2560

ต้องการสำเนาต้นฉบับติดต่อ พลตรีหญิง ศาสตราจารย์พิเศษ ดร.อ้อยทิพย์ ณ ถลาง บัณฑิตศึกษา คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ถนนพหลโยธิน ต.คลองหนึ่ง อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120 e-mail: oytipnt@hotmail.com

Original Article

Prevalence of *DI**A and *DI**B Alleles in Northern Thai Blood Donors

Chutimon Wongkaewpotong¹, Siriluk Pattanapeechai¹, Nipapan Leetrakool² and Oytip Nathalang³

¹Department of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Thammasat University; ²Blood Bank, Faculty of Medicine, Chiang Mai University; ³Graduate Program, Faculty of Allied Health Sciences, Thammasat University

Abstract:

*This study aimed to present the prevalence of Diego (DI) blood group alleles, DI*A and DI*B in northern Thai blood donors and to compare them with the frequencies of other populations previously reported. Three hundred DNA samples obtained from northern Thai blood donors of the Blood Bank, Faculty of Medicine, Chiang Mai University were genotyped by polymerase chain reaction with sequence-specific primers (PCR-SSP). It was found that DI*A and DI*B allele frequencies were 0.018 and 0.982 in northern Thai blood donors, respectively. The most common genotype was DI*B/DI*B (96.33%) and DI*A/DI*B (3.67%). The DI*A/DI*A and DI null genotypes were not found. The determined DI*A and DI*B genotypes were consistent with the Hardy-Weinberg equilibrium. The DI*A and DI*B allele frequencies in northern Thai blood donors were similar to central Thai blood donors ($p > 0.05$) and those in Chinese Han, Southern Brazil, Southeast Asian and American Native ($p > 0.05$). On the contrary, the allele frequencies were significantly different from Brazilian Japanese descendants, Japanese, Korean, Filipino, Hawaiian/Pacific Islander and Alaska Native/Aleut ($p < 0.05$). In conclusion, this study is the first to report DI*A and DI*B allele frequencies in northern Thai blood donors. This data could provide benefit for finding appropriate antigen-matched donors, especially in multitransfused patients who produce multispecific antibodies and the direct antiglobulin tests are positive in order to prevent adverse hemolytic transfusion reactions.*

Keywords : ● DI*A ● DI*B ● Allele frequencies ● PCR-SSP ● Northern Thais

J Hematol Transfus Med 2017;27:19-25.

บทนำ

หมู่โลหิตระบบ Diego เป็นหมู่โลหิตที่มีความสำคัญทางคลินิก เนื่องจากแอนติเจนและแอนติบอดีของหมู่โลหิตระบบนี้ ทำให้เกิดภาวะ hemolytic transfusion reactions (HTRs) และ hemolytic disease of the fetus and newborn (HDFN) ได้¹⁻³ แอนติเจนของหมู่โลหิตระบบนี้ที่มีรายงานไว้มีจำนวน 22 ชนิด แต่แอนติเจนที่ทำให้เกิดปัญหาทางคลินิกที่พบได้บ่อยคือ Di^a , Di^b , Wr^a และ Wr^b เป็นต้น สำหรับแอนติเจนชนิด $Di(a+)$ จัดเป็น low prevalence antigen เพราะประชากรส่วนใหญ่มีแอนติเจนเป็น $Di(b+)$ หรือ $Di(a-b+)$ phenotype ซึ่งในแต่ละกลุ่มประชากรจะมีความถี่ของ phenotype ของหมู่โลหิตระบบ Diego ที่แตกต่างกัน (Table 1)

Phenotype ของหมู่โลหิตระบบ Diego ที่พบมากถึงร้อยละ 99.9 ในคนผิวขาวและคนผิวดำคือ $Di(a-b+)$ แต่ในคนเอเชียพบได้ร้อยละ 90 ส่วน $Di(a+b+)$ phenotype นั้นพบได้ในคนเอเชียสูงถึงร้อยละ 10 ซึ่งมากกว่าคนเชื้อชาติอื่น จึงเรียกแอนติเจน $Di(a+)$ ว่าเป็น Mongoloid factor ด้วยเหตุนี้คนเอเชียจึงมีโอกาสสร้างแอนติบอดีโดยเฉพาะ anti- Di^a สูงกว่าคนเชื้อชาติอื่น ส่งผลให้พบปัญหา HDFN และ HTRs ได้มากขึ้น⁴⁻⁶ จากรายงานของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทยโดย ภาวิณี คุปตวิมล และคณะ⁷ พบว่า ผู้ป่วยที่ได้รับโลหิตและส่วนประกอบของโลหิตบ่อยครั้งและมีการสร้างแอนติบอดีต่อหมู่โลหิตระบบต่างๆ นั้น แอนติบอดีต่อหมู่โลหิตระบบ Diego คือ anti- Di^a พบได้ร้อยละ 1.2 กรณีที่ต้องจัดหาโลหิตจากผู้บริจาคต้องมีการตรวจ antigen typing ของเม็ดโลหิตแดงผู้ป่วยและผู้บริจาค เพื่อจัดหาโลหิตที่มีแอนติเจน $Di(a-)$ ให้กับผู้ป่วยเท่านั้น เพื่อป้องกันการเกิดภาวะ delayed HTRs ซึ่งการตรวจ antigen typing ของหมู่โลหิตระบบ Diego ส่วนใหญ่ใช้วิธีทางซีโรโลยีโดยใช้เทคนิค indirect antiglobulin test (IAT) คือ ต้องทดสอบเม็ดโลหิตแดงกับ anti- Di^a ทำให้มีข้อจำกัดคือ น้ำยาแอนติซีรัมมีราคาแพงเพราะต้องจัดซื้อจากต่างประเทศ หายาก และไม่มี anti- Di^b จำหน่าย

แอนติเจนของหมู่โลหิตระบบ Diego อยู่บน band 3 protein anion exchanger 1 (AE1) ของเยื่อหุ้มเซลล์เม็ดโลหิตแดง และ

ควบคุมด้วยยีน $SLC4A1$ บนโครโมโซมตำแหน่ง 17q21.31 ความแตกต่างของแอนติเจนแต่ละชนิดในหมู่โลหิตระบบนี้เกิดจากการแทนที่ลำดับกรดนิวคลีอิกหรือหมู่อะมิโนที่ band 3 สำหรับแอนติเจน Di^a ($DI1$) เกิดจากการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสที่ตำแหน่ง 2561 บน exon 19 จาก cytosine เป็น thymine ทำให้กรดอะมิโนลำดับที่ 854 บน band 3 เป็น leucine ขณะที่แอนติเจน Di^b ($DI2$) มีกรดอะมิโนลำดับที่ 854 เป็น proline เนื่องจากปัญหาการตรวจด้วยวิธีซีโรโลยีที่กล่าวข้างต้น ปัจจุบันจึงมีรายงานการตรวจหาอัลลีล DI^*A และ DI^*B ด้วยวิธี genotyping ได้หลายวิธี ได้แก่ real-time polymerase chain reaction (real-time PCR), PCR-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP), PCR with sequence-specific primers (PCR-SSP) และ DNA sequencing เป็นต้น⁸⁻¹² ซึ่งวิธีตรวจหาอัลลีลของหมู่โลหิตระบบนี้จะช่วยในการคัดกรองผู้บริจาคโลหิตจำนวนมากเพื่อหาโลหิตที่เหมาะสมให้กับผู้ป่วย แต่อย่างไรก็ตามจากรายงานของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติในปี พ.ศ. 2545 ซึ่งได้ศึกษาความชุกหมู่โลหิตระบบต่างๆ ในกลุ่มผู้บริจาคโลหิตของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ และได้รายงานความชุกของแอนติเจน $Di(a+)$ และ $Di(a-)$ ซึ่งเป็นการรายงานเฉพาะผู้บริจาคโลหิตคนไทยภาคกลางเท่านั้น¹³ แต่ยังไม่มียานการศึกษานี้ในผู้บริจาคโลหิตคนไทยภาคเหนือ ดังนั้นงานวิจัยฉบับนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความชุกของอัลลีล DI^*A และ DI^*B ของผู้บริจาคโลหิตคนไทยภาคเหนือ และเปรียบเทียบกับกลุ่มประชากรอื่นที่เคยมีรายงานไว้

วิธีการศึกษา

ประชากรที่ทำการศึกษา

ตัวอย่างดีเอ็นเอของผู้บริจาคโลหิต งานธนาคารเลือด โรงพยาบาลมหาสารคามเชิงใหม่ จำนวน 300 ราย ผู้บริจาคโลหิตทุกรายมีภูมิลำเนาอยู่ในจังหวัดเชียงใหม่และจังหวัดต่างๆ ในภาคเหนือตอนบน ตัวอย่างดีเอ็นเอเก็บที่อุณหภูมิ -20°C จนกว่าจะถูกนำไปทดสอบ งานวิจัยนี้ได้รับการอนุมัติด้านจริยธรรมการวิจัยจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์หนังสือรับรองเลขที่ 012/2558

Table 1 Prevalence of Diego among different populations¹⁻³

Phenotype	Caucasians and Blacks	Asians
$Di(a-b+)$	> 99.9%	> 90%
$Di(a+b+)$	< 0.1%	10%
$Di(a+b-)$	< 0.01%	
$Di(a-b-)$	Very rare	

ตัวอย่างควบคุมคุณภาพที่ใช้ในการศึกษารั้งนี้ เป็นตัวอย่าง ดีเอ็นเอของผู้บริจาคโลหิต ที่ได้ทำการทดสอบเม็ดโลหิตแดง กับ human anti-Di^a (CE-Immundiagnostika GmbH, Eschelbronn, Germany) ด้วยวิธี IAT ประกอบด้วย Di(a-b+) จำนวน 5 ราย Di(a+b+) จำนวน 5 ราย และสำหรับตัวอย่าง Di(a+b-) จำนวน 1 ราย ได้รับการสนับสนุนจากห้องปฏิบัติการพิเศษ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ตัวอย่างควบคุมคุณภาพทั้งหมด 11 ราย ได้ทำการตรวจยืนยันด้วยวิธี DNA sequencing (1st BASE DNA Sequencing Services, Selangor, Malaysia)

วิธีการ

การตรวจหาอัลลีล *DI*A* และ *DI*B* ด้วยวิธี PCR-SSP¹⁴

นำตัวอย่างดีเอ็นเอมาเพิ่มปริมาณโดยใช้ primers 2 คู่ ประกอบด้วย primers คู่ที่จำเพาะกับยีนของหมู่เลือดระบบ Diego ตามที่ได้มีรายงานไว้¹⁴ และ primers คู่ที่จำเพาะกับยีนของ human growth hormone (*HGH*) เป็น internal control ซึ่งต้องมีอยู่ในตัวอย่างดีเอ็นเอทุกราย โดยเตรียม PCR reaction ปริมาตร 20 μ L ต่อ 1 reaction ของ *DI*A* และ *DI*B* ดังนี้ ดีเอ็นเอ (ความเข้มข้นประมาณ 50 ng/ μ L) ปริมาตร 1 μ L, primers คู่ที่จำเพาะต่อ *HGH* ความเข้มข้น 6 μ M (forward: 5'-TGCC TTCCCAACCAT-CCCTTA-3' และ reverse: 5'-CCACT-CACGGATTCTGTGTGTGTTTC-3') อย่างละ 1 μ L, primers คู่ที่จำเพาะต่อ *DI*A* และ *DI*B* ความเข้มข้น 5 μ M (*DIAB*-forward: 5'-GGTGTGATA-GGCACTGACCC-3', *DIA*-reverse: 5'-GGGCCAGGGAGGCCA-3', และ *DIB*-reverse: 5'-GGGCCAGGGAGGCCG-3') อย่างละ 1 μ L, 2X PCR Master Mix (OnePCR Plus, GeneDirex, Taiwan) ปริมาตร 10 μ L และ distilled water ปริมาตร 5 μ L จากนั้น นำมาเพิ่มปริมาณในเครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม T100 thermal cycler (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) ซึ่งควบคุมอุณหภูมิและตั้งค่า condition ดังนี้ ขั้นแรก denaturation ที่ 95°C เป็นเวลา 30 วินาที และ annealing ที่ 69°C เป็นเวลา 60 วินาที ทั้งหมด 10 cycles ขั้นที่สอง denaturation ที่ 95°C เป็นเวลา 10 วินาที annealing ที่ 62°C เป็นเวลา 50 วินาที และ elongation ที่ 72°C เป็นเวลา 30 วินาที ทั้งหมด 20 cycles และ ขั้นตอนสุดท้าย คือ final elongation ที่ 72°C เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำ PCR product ที่ได้มา run gel electrophoresis บน 1.5% agarose gel ใน 1X TBE buffer โดยใช้ SYBR® Safe DNA Gel Stain (Invitrogen, Ltd., Paisley, UK) เป็นสีย้อม ดีเอ็นเอ และใช้ไฟฟ้าที่ 100 โวลต์ เป็นเวลา 45 นาที ซึ่ง PCR

products ที่มีความจำเพาะต่อยีนของหมู่เลือดระบบ Diego ทั้ง อัลลีล *DI*A* และ *DI*B* มีขนาด 130 bp และ PCR products ที่มีความจำเพาะต่อยีน *HGH* มีขนาด 434 bp

การแปลผลการตรวจด้วยวิธี PCR-SSP คือ ทั้งกรณี homozygous *DI*A* allele, homozygous *DI*B* allele และ heterozygous *DI*A/DI*B* allele หาก positive จะพบ specific band (130 bp) ร่วมกับ internal control band ของ *HGH* gene (434 bp) แต่ในกรณีที่ negative ต่อทั้ง *DI*A* และ *DI*B* alleles จะพบเฉพาะ internal control band ของ *HGH* gene (434 bp) เท่านั้น¹⁴ (Figure 1) นอกจากนี้ในการตรวจทุกครั้งจะทำการทดสอบกับตัวอย่างควบคุมคุณภาพควบคู่ไปด้วยเสมอ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทดสอบการกระจายตัวของกลุ่มตัวอย่างที่นำมาศึกษาตามกฎสมการสมดุลของ Hardy-Weinberg โดยใช้ chi-square test โดยรายงานการตรวจพบอัลลีล *DI*A* และ *DI*B* ในผู้บริจาคโลหิตภาคเหนือเป็นร้อยละและเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของการตรวจพบในกลุ่มประชากรโดยใช้ chi-square test และค่า p-value น้อยกว่า 0.05 ถือว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลการศึกษา

ผลการศึกษาอัลลีล *DI*A* และ *DI*B* ของหมู่โลหิตระบบ Diego ในตัวอย่างดีเอ็นเอจากผู้บริจาคโลหิตคนไทยภาคเหนือ จำนวน 300 ราย พบว่า เป็น *DI*A/DI*B* จำนวน 11 ราย (3.67%) และ *DI*B/DI*B* จำนวน 289 ราย (96.33%) โดยไม่พบ *DI*A/DI*A* และ *DI* null เมื่อคำนวณการกระจายตัวของยีน *DI* ในกลุ่มตัวอย่างที่ทำการทดสอบ 300 ราย พบว่า การกระจายตัวมีความสมดุลตามหลักสมการ Hardy-Weinberg โดย allele frequencies ของ *DI*A* และ *DI*B* คือ 0.018 และ 0.982 ตามลำดับ (Table 2)

เมื่อเปรียบเทียบความถี่ของอัลลีล *DI*A* และ *DI*B* ในผู้บริจาคโลหิตคนไทยภาคเหนือกับผู้บริจาคโลหิตคนไทยภาคกลาง และประชากรเชื้อชาติต่างๆ ตามที่มีรายงานไว้^{9,14-17} พบว่า ความถี่ของอัลลีลไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างผู้บริจาคโลหิตคนไทยภาคเหนือ ผู้บริจาคโลหิตคนไทยภาคกลาง และประชากรในกลุ่ม Chinese Han, Southern Brazil, Southeast Asian และ American Native ($p > 0.05$) ขณะที่ความถี่ของอัลลีล *DI*A* และ *DI*B* ของผู้บริจาคโลหิตคนไทยภาคเหนือเปรียบเทียบกับประชากรในกลุ่ม Brazilian Japanese descendants, Japanese, Korean, Filipino, Hawaiian/Pacific Islander และ Alaska Native/Aleut มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (Table 3)

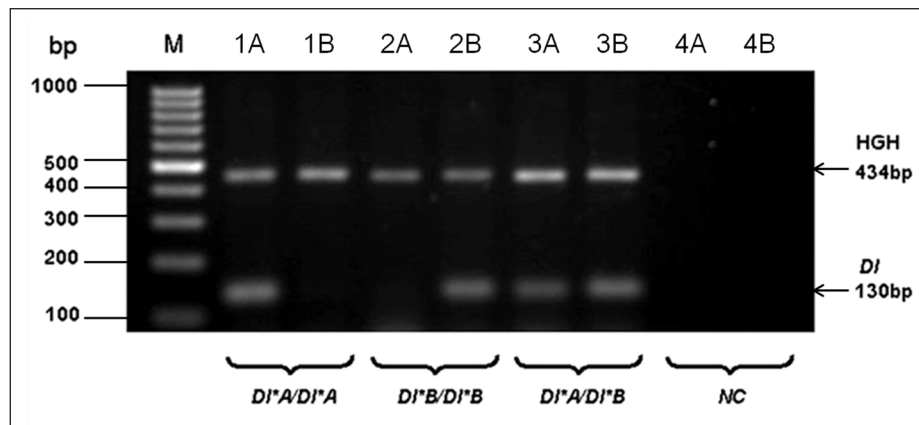


Figure 1 A representative gel showing Diego blood group genotyping by PCR-SSP technique. The 434 bp amplification product of the HGH control primer is present in all lanes, which shows that amplification has occurred optimally. The genotype was deduced from the presence or absence of amplification products specific for *DI*A* and *DI*B* alleles. From left to right: Lanes 1A-1B = *DI*A/DI*A*, 2A-2B = *DI*B/DI*B*, 3A-3B = *DI*A/DI*B* and 4A-4B = negative control for *DI*A* and *DI*B* alleles detections, respectively. Arrows indicate the size of *DI* gene fragments (right): *DI*A* and *DI*B* = 130 bp and internal control (HGH) = 434 bp. M: 100 bp ladder marker (Fermentas, Carlsbad, CA, USA).

Table 2 *DI*A* & *DI*B* allele frequencies in northern Thai blood donors

300 donors x 2 alleles			Genotype	Observed N = 300	%	Predicted (HWE)
Allele	N = 600	Allele frequency				
<i>DI*A</i>	11	0.018	<i>DI*A/DI*A</i>	0	0.00	0.0972
			<i>DI*A/DI*B</i>	11	3.67	10.6056
<i>DI*B</i>	589	0.982	<i>DI*B/DI*B</i>	289	96.33	289.2972

$$X^2 = 0.1122; p = 0.7377$$

Table 3 Comparison of *DI*A* & *DI*B* allele frequencies among populations^{8,14-17}

Populations	Number	Alleles		X ²	p-value
		<i>DI*A</i>	<i>DI*B</i>		
Northern Thais	300	0.0180	0.9820		
Central Thais	1,011	0.0183	0.9817	0.0282	0.8666
Chinese Han	1,053	0.0247	0.9753	0.5741	0.4486
Brazilian Japanese descendants*	209	0.0431	0.9569	4.5868	0.0322
Japanese*	1,022	0.0430	0.9570	7.1932	0.0073
Southern Brazil	373	0.0282	0.9718	0.9902	0.3197
Filipino*	1,333	0.0075	0.9925	5.0140	0.0251
Southeast Asian	942	0.0145	0.9855	0.2547	0.6138
Korean*	1,033	0.0580	0.9420	14.8848	0.0001
Hawaiian/Pacific Islander*	522	0.0060	0.9940	4.7323	0.0296
Alaska Native/Aleut*	621	0.0065	0.9935	4.5001	0.0339
American Native	970	0.0110	0.9890	1.5172	0.2180

* $p < 0.05$

วิจารณ์

ส่วนใหญ่ผู้ป่วยที่ได้รับโลหิตและส่วนประกอบของโลหิตบ่อยครั้งหรือหญิงตั้งครรภ์อาจพบปัญหาในการทดสอบเพื่อจัดหาโลหิต และส่วนประกอบของโลหิต เนื่องจากร่างกายได้รับการกระตุ้นจากแอนติเจนของหมู่โลหิตบางระบบที่นอกเหนือจากระบบ ABO เช่น Rh, MNS, Kidd, Duffy, Kell และ Diego ทำให้มีการสร้างแอนติบอดีที่เป็นสาเหตุของการเกิด HTRs และ HDFN ได้ การศึกษาความชุกของอัลลีลในหมู่โลหิตระบบต่างๆ พบว่า มีอุบัติการณ์ที่แตกต่างกันทั้งในเชื้อชาติเดียวกันหรือเชื้อชาติที่ต่างกัน ซึ่งข้อมูลเหล่านี้สามารถนำมาใช้ในการพิจารณาจัดหาโลหิตและส่วนประกอบของโลหิตที่เหมาะสมให้กับผู้ป่วยที่มีการสร้างแอนติบอดีที่กล่าวข้างต้น¹⁻³

จากการศึกษาอัลลีล DI^*A และ DI^*B ของหมู่โลหิตระบบ Diego ในผู้บริจาคโลหิตคนไทยภาคเหนือด้วยวิธี PCR-SSP พบว่า ความถี่ของอัลลีล DI^*A และ DI^*B คือ 0.018 และ 0.982 ตามลำดับ โดยมีความถี่ของจีโนไทป์ DI^*B/DI^*B มากที่สุด (96.33%) รองลงมาคือ DI^*A/DI^*B (3.67%) ส่วน DI^*A/DI^*A และ DI null ไม่พบในการศึกษารั้งนี้ นอกจากนี้ เมื่อเปรียบเทียบความถี่อัลลีลของ DI^*A และ DI^*B ในคนไทยภาคเหนือและคนไทยภาคกลาง พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ข้อมูลดังกล่าวทำให้ทราบว่าผู้บริจาคโลหิตคนไทยภาคเหนือและภาคกลางส่วนใหญ่มีจีโนไทป์เป็น $Di(a-b+)$ ส่งผลให้ผู้ป่วยที่ได้รับโลหิตบ่อยครั้งและหญิงตั้งครรภ์มีโอกาสสร้าง anti- Di^a มากกว่า anti- Di^b ดังนั้นในกลุ่มผู้ป่วยที่ตรวจพบ anti- Di^a ก่อนการให้โลหิตควรมีการตรวจ antigen typing ของเม็ดโลหิตแดงของผู้ป่วยและผู้บริจาค เพื่อจัดหาโลหิตที่มีแอนติเจน $Di(a-)$ ให้กับผู้ป่วยเท่านั้น เพื่อป้องกันอันตรายที่เกิดจากการรับโลหิต ซึ่งโลหิตที่มีแอนติเจน $Di(a-)$ หาได้ไม่ยากในกลุ่มคนไทย

เมื่อเปรียบเทียบความถี่ของอัลลีล DI^*A และ DI^*B ในคนไทยภาคเหนือกับประชากรกลุ่มอื่นๆ ตามที่เคยมีรายงานไว้ คือ ประชากรกลุ่ม Chinese Han, Southern Brazil, Southeast Asian และ American Native พบว่าความถี่ของอัลลีลทั้งสองชนิดไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับประชากรกลุ่ม Brazilian Japanese descendants, Japanese, Korean, Filipino, Hawaiian/Pacific Islander และ Alaska Native/Aleut จะเห็นได้ว่า ความถี่ของอัลลีลหมู่โลหิตระบบ Diego ที่ทำการศึกษานี้เปรียบเทียบกับประชากรอื่นๆ มีความคล้ายคลึงกับการศึกษา

เกี่ยวกับความถี่ของอัลลีลหมู่โลหิตระบบ Kidd ซึ่งไม่พบความแตกต่างระหว่างคนไทยภาคเหนือกับคนไทยภาคกลางและกลุ่ม Chinese Han แต่พบว่า มีความแตกต่างกับกลุ่ม Japanese¹⁸ แต่อย่างไรก็ตามมีรายงานว่า คนไทยภาคเหนือพบความถี่ของ MNS hybrid proteins ที่จำเพาะกับแอนติเจน Mi^a สูงกว่าคนไทยภาคกลางอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ¹⁹ จากข้อมูลดังกล่าวจะเห็นได้ว่าการกระจายตัวของหมู่โลหิตระบบ Diego ทั้งในเชื้อชาติเดียวกันหรือต่างเชื้อชาติมีลักษณะเฉพาะ ดังนั้นการให้โลหิตกับผู้ป่วยแต่ละกลุ่มประชากรควรมีข้อมูลความถี่ของอัลลีลหรือแอนติเจนหมู่โลหิตระบบต่างๆ ที่มีความสำคัญทางคลินิก เพื่อใช้เป็นแนวทางจัดหาโลหิตและส่วนประกอบของโลหิตที่มีความเหมาะสมให้กับผู้ป่วยเพื่อป้องกันและลดปัญหาการสร้างแอนติบอดีในผู้ป่วย

สำหรับห้องปฏิบัติการธนาคารเลือดทั่วไป การตรวจคัดกรองและทำ antigen typing ของหมู่โลหิตระบบ Diego ส่วนใหญ่ใช้วิธีทาง serology โดยเทคนิค IAT ซึ่งอาจมีข้อจำกัดหลายประการ เช่น น้ำยาแอนติซีรัมาราคาแพง หายาก อีกทั้งยังไม่มี anti- Di^b จำหน่าย ปัจจุบันจึงนิยมใช้วิธีการตรวจหาอัลลีลของหมู่โลหิตด้วยวิธี genotyping และจากการศึกษานี้ได้ใช้วิธี PCR-SSP ในการตรวจอัลลีลทั้ง DI^*A และ DI^*B ซึ่งมีข้อดีคือ ใช้ตัวอย่างเลือดปริมาณน้อยและใช้ตรวจยืนยันผลในกรณีผู้ป่วยได้รับโลหิตบ่อยที่สร้างแอนติบอดีต่อหมู่โลหิตหลายชนิดและ direct anti-globulin test ให้ผลบวกทำให้ไม่สามารถตรวจแอนติเจนของหมู่โลหิตด้วยวิธีทาง serology ได้

สรุป

การศึกษานี้เป็นการศึกษารั้งแรกที่รายงานความชุกของอัลลีล DI^*A และ DI^*B ในผู้บริจาคโลหิตคนไทยภาคเหนือ ซึ่งสามารถนำไปใช้ในการคัดเลือกผู้บริจาคโลหิตที่เหมาะสม สำหรับผู้ป่วยที่ได้รับโลหิตบ่อยครั้งที่สร้างแอนติบอดีต่อหมู่โลหิตหลายชนิดรวมทั้ง anti- Di^a และมีผลบวกของ direct antiglobulin test ซึ่งจะช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยาไม่พึงประสงค์จากการรับโลหิตในผู้ป่วยดังกล่าวต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากโครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษา และการพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติของสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา

เอกสารอ้างอิง

1. Reid ME, Lomas-Francis C, Olsson ML. *Blood group antigen factsbook*. 3rd ed. San Diego, CA: Academic Press, 2012.
2. Storry JR. Other blood group systems and antigens. In: Fung MK, Grossman BJ, Hillyer CD, Westhoff M, editors. *Technical manual*. 18th edition. Bethesda: American Association of Blood Banks 2014:352-4.
3. Daniels G. *Human Blood Group*. 3rd edition. Oxford, UK: Blackwell Science 2013:336-47.
4. Ting JY, Ma ESK, Wong KY. A case of severe hemolytic disease of the newborn due to anti- Di^a antibody. *Hong Kong Med J* 2004;10:347-9.
5. Yasuda H, Ohto H, Yamaguchi O. Three episodes of delayed hemolytic transfusion reactions due to multiple red cell antibodies, anti- Di^a , anti- Jk^a and anti-E. *Transfus Sci* 2000;23:107-12.
6. Bejrachandra S. Clinical significance of blood group antibody. *J Hematol Transfus Med* 2005;15:211-5.
7. Kupatawintu P, Emthip P, Sungnoon D, O-vatage P, Manakul V, Limtamaporn S, et al. Unexpected antibodies of patients, blood samples sent for testing at NBC. TRCS. *J Hematol Transfus Med* 2010;20:255-62.
8. Flóres MA, Visentainer JE, Guelsin GA, Fracasco Ade S, de Melo FC, Hashimoto MN, et al. Rh, Kell, Duffy, Kidd and Diego blood group system polymorphism in Brazilian Japanese descendants. *Transfus Apher Sci* 2014;50:123-8.
9. Wu GG, Su YQ, Yu Q, Jin SZ, Zhao TM. Development of a DNA-based genotyping method for the Diego blood group system. *Transfusion* 2002;42:1553-6.
10. Yang BC, Su YQ, Yu Q, Wei TL, Li DC, Liang YL. Molecular genetic analysis of Diego blood group Di^a and Di^b in Chinese Han population. *Fa Yi Xue Za Zhi* 2007;23:283-5.
11. Novaretti MC, Ruiz AS, Dorhiac-Llacer PE, Chamone DA. Application of real-time PCR and melting curve analysis in rapid Diego blood group genotyping. *Immunology* 2010;26:66-70.
12. Figueroa D. The Diego blood group: a review. *Immunohematology* 2003;29:73-81.
13. Fongsarun J, Nuchprayoon I, Yod-in S, Kupatawintu P, Kidprasert C. Blood groups in Thai blood donors. *Thai J Hematol Transf Med* 2002;12:277-86.
14. Nathalang O, Panichrum P, Intharanut K, Thattanon P, Nathalang S. Distribution of DI^*A and DI^*B allele frequencies and comparisons among central Thai and other populations. *PLoS ONE* 2016;11:e0165134.
15. Xu XG, He J, He YM, Tao SD, Ying YL, Zhu FM, et al. Distribution of Diego blood group alleles and identification of four novel mutations on exon 19 of SLC4A1 gene in the Chinese Han population by polymerase chain reaction sequence-based typing. *Vox Sang* 2011;100:317-21.
16. Delaney M, Harris S, Haile A, Johnsen J, Teramura G, Nelson K. Red blood cell antigen genotype analysis for 9087 Asian, Asian American, and Native American blood donors. *Transfusion* 2015;55:2369-75.
17. Costa DC, Schinaider AA, Santos TM, Schörner EJ, Simon D, Maluf SW, et al. Frequencies of polymorphisms of the Rh, Kell, Kidd, Duffy and Diego systems of Santa Catarina, Southern Brazil. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2016;38:199-205.
18. Sudkaew A, Intharanut K, Leetrakool N, Nathalang O. Kidd blood group allele frequencies in Thai blood donors. *Clin Lab* 2014;60:1401-3.
19. Kaset C, Nathalang S, Leetrakool N, Nathalang O. Detection of MNS hybrid molecules (GP.Hut, GP.Mur, GP.Hop, GP.Bun and GP.HF) in central and northern Thai blood donors. *J Hematol Transfus Med* 2015;25:101-6.

