

นิพนธ์ต้นฉบับ

การศึกษาหมู่เลือดต่างๆ ในคนไทย

หนึ่งฤทัย คำแหวน* สุรภา เดชะ**

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้คือการศึกษาความถี่ของการแสดงออกของแอนติเจนหมู่เลือดระบบต่างๆ ในคนไทยด้วยวิธี Antiglobulin test น้ำยาที่ใช้ประกอบด้วยแอนติบอดีต่อแอนติเจนหมู่เลือด D, C, E, c, e, M, M, Le^a, Le^b และ P₁ ซึ่งให้ปฏิกิริยาดีที่สุดเมื่อทำปฏิกิริยานาน 5 นาทีในอุณหภูมิห้อง และแอนติบอดีต่อแอนติเจนหมู่เลือดระบบ S, s, Fy^a, Fy^b, Jk^a, Jk^b, K และ k ซึ่งให้ปฏิกิริยาดีที่สุดเมื่อทำปฏิกิริยานาน 30 นาทีที่อุณหภูมิ 37 °C การศึกษาครั้งนี้ทดสอบหมู่เลือดในผู้บริจาคจำนวน 100 คน โดยเป็นคนเชียงใหม่ 45% ผลการศึกษาพบว่าแอนติเจนหมู่เลือดมีการกระจายในความถี่เช่นเดียวกับที่ได้มีผู้ศึกษามาก่อน ยกเว้นในแอนติเจนหมู่เลือดระบบ Le^a และ Le^b ซึ่งพบว่ามีค่าเป็น 48% แตกต่างจากการศึกษาที่มีมาก่อนแล้วเป็น 22% นอกจากนี้ยังพบว่าผู้บริจาค 2 รายซึ่งเป็นหมู่เลือดโอ สามารถนำมาใช้ในการตรวจกรองแอนติบอดีได้ดีเพราะสามารถตรวจหาแอนติบอดีหมู่เลือด s และ K ซึ่งพบน้อยในหมู่คนไทย การศึกษาครั้งนี้ยังช่วยให้ทราบถึงความถี่ของแอนติเจนหมู่เลือดในหมู่คนไทยซึ่งช่วยในการหาเลือดเพื่อตรวจความเข้ากันได้สำหรับผู้ป่วย วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2546; 36: 110-118.

คำรหัส: Antiglobulin test, antiglobulin test, blood group antigen frequency, blood group antibodies

* นักศึกษาเทคนิคการแพทย์ ชั้นปีที่ 4 ปีการศึกษา 2545

** ภาควิชาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Abstract: The Studies of Blood Group Genotypes amongs Thais

Nuengrutai Khumwan*, Surapa Decha**

Frequencies of some blood group phenotypes were studied by antiglobulin test using commercial reagents antisera. The antisera used in this studies were anti-D, -C, E, c, e, M, N, Le^a, Le^b, P₁, which was proved to have the best reaction of 5 minutes at room temperature, and anti-S, s, Fy^a, Fy^b, Jk^a, Jk^b, K and k which have the strongest reaction at 37°C when incubated for 30 minutes. In this study, one hundred donors included 45 donors from Chiang Mai and 55 donors from other region of Thailand were tested for the specific antigens. The results showed % phenotype frequency which was closed to data from previous study except antigen Le^a and Le^b. In our study, Le (a-b-) frequency was 48% compared to 22% of previous study. In addition, two donors with blood group O were used to prepare screening cells. It was found that they could detect all most all of antibodies except anti-s and anti-K which are not commonly found in Thai population. The other advantage of the study was the % phenotype frequency could be used for selection compatible blood donors for recipients. Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2003; 36: 110-118.

Key words : antiglobulin test, blood group antigen frequency, blood group antibodies

* Fouth year standing MT student, 2002

** Department of Clinical Immunology, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University

บทนำ

แอนติเจนหมู่เลือด (Blood group antigens) คือโมเลกุลที่อยู่บนผิวเม็ดเลือดแดง สามารถกระตุ้นให้ร่างกายสร้างแอนติบอดี (antibodies) ได้ แอนติเจนของหมู่เลือดยังสามารถถ่ายทอดพันธุกรรมเป็นลักษณะ (characteristics หรือ trait) ซึ่งสามารถจัดแบ่งกลุ่มเป็นระบบที่แตกต่างกันตามลักษณะการถ่ายทอดทางพันธุกรรม ปัจจัยหลายอย่างมีผลต่อการแสดงออกของแอนติเจนหมู่เลือด¹ ได้แก่ อายุ ฮอร์โมนเพศ และ proteolytic enzyme บางชนิด เนื่องจากแอนติเจนหมู่เลือดมีความแตกต่างกันตามลักษณะโครงสร้างทางชีวเคมีได้เป็น 3 ลักษณะ

จึงทำให้แอนติเจนแต่ละชนิดมีความสามารถในการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันและมีการสร้างแอนติบอดีได้มากน้อยแตกต่างกันไปด้วย² กลุ่มแรกได้แก่แอนติเจนที่มีโครงสร้างเป็นน้ำตาลเช่นหมู่เลือดระบบ ABO, H และ P เป็นต้น กลุ่มที่สองคือแอนติเจนที่มีโครงสร้างเป็นโปรตีนได้แก่หมู่เลือดระบบ Rh, MNS, Kell, Kidd และ Duffy เป็นต้น ส่วนกลุ่มที่สามคือพวกที่ยังไม่ทราบโครงสร้างแน่นอนได้แก่หมู่เลือดระบบ Diego, Colton และ Er การกระตุ้นการสร้างแอนติบอดีของแอนติเจนหมู่เลือดเกิดได้สองกรณีทำให้สามารถแบ่งชนิดของแอนติบอดีได้

เป็น 2 แบบ¹ คือ Naturally occurring antibodies หรือ non red cell sensitization พบได้ในแอนติบอดีหมู่เลือดระบบ ABO และ Lewis เป็นต้น มักเป็นชนิด IgM และทำปฏิกิริยาได้ดีที่อุณหภูมิต่ำ แบบที่สองคือ Immune type antibodies ซึ่งเกิดได้จากการได้รับแอนติเจน เป็นชนิด IgG และทำปฏิกิริยาได้ดีที่อุณหภูมิร่างกาย และอาจจำเป็นต้องใช้เทคนิคพิเศษบางอย่างช่วยให้ปฏิกิริยาเกิดชัดเจนขึ้นเช่น การใช้ยา anti human globulin การทำ Enzyme treatment หรือมีสารประเภทคอลลอยด์ (colloid) ร่วมในปฏิกิริยา³

การได้ทราบชนิดของแอนติเจนในเลือด ผู้บริจาคที่จำเพาะต่อแอนติบอดีในตัวผู้รับ มีความสำคัญต่อการให้เลือด จะทำให้เม็ดเลือดแดงที่เข้าไปไม่ถูกทำลายด้วยแอนติบอดีที่มีอยู่ในร่างกายผู้รับ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องตรวจชนิดของแอนติเจนให้ถูกต้อง และการทราบชนิดและความถี่ ของแอนติเจน ต่างๆ ในหมู่ประชากร จะทำให้หาเลือดได้ทันหากจำเป็นต้องให้เลือดในกรณีรีบด่วน

การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาและคำนวณความถี่ของแอนติเจนหมู่เลือดในหมู่ประชากรไทย และหากได้ทราบชนิดของแอนติเจนทั้งหมดที่มีในตัวอย่างเลือดหมู่โอ จะสามารถนำเลือดดังกล่าวมาใช้เตรียมเซลล์ชุดตรวจกรอง (screening cell) สำหรับนำไปใช้งานได้

วัสดุและวิธีการศึกษา

ตัวอย่างเลือดจากนักศึกษาที่มีภูมิสำเนาต่างๆ กันในประเทศไทยจำนวน 100 คน เก็บเลือดครบส่วนโดยใช้ ACD เป็นสารกันเลือดแข็ง และนำเลือดมาทำปฏิกิริยากับ commercial antiserum จำนวน 17 ชนิด แต่เนื่องจาก antisera มีจำนวนน้อย และมีราคาแพง ก่อนนำมาใช้จึงเจือจางเป็น dilution ต่างๆ และเลือกความเข้มข้นที่ให้ความแรงของปฏิกิริยา 2⁺ ถึง 1⁺ วิธีการคือนำ antisera ทำปฏิกิริยากับ panel cells ซึ่งผลิตโดยศูนย์บริการโลหิตสภากาชาดไทย แยกความแตกต่างของการทำปฏิกิริยาแบ่งเป็นกลุ่มตามชนิดของแอนติบอดี ดังนี้ Anti-C, Anti -E, Anti-c, Anti-e, Anti-M, Anti-N ทำปฏิกิริยานาน 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง Anti-Le^a, Anti-Le^b และ Anti-P₁ นำไปปั่นทันทีหรือภายใน 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง สำหรับ Anti-S, Anti-s, Anti-Fy^a, Anti-Fy^b, Anti-Jk^a, Anti-Jk^b, Anti-K, และ Anti-k ใช้วิธี Indirect Antiglobulin Test และอ่านด้วยกล้องจุลทรรศน์เพื่อตรวจยืนยันสำหรับชุดทดสอบที่ให้ผลลบ

ผลการทดลอง

1. ความเข้มข้นที่เหมาะสม ของ Antibodies 17 ชนิด ดังในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ความเข้มข้นที่เหมาะสมของ Antibodies แต่ละชนิดที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยา

Antibodies	Dilution
Anti-C, E, c, e, s, k, Fy ^a , Jk ^a	1:8
Anti-S, P ₁ , K, Fy ^b , Jk ^b	1:4
Anti-M, N, Le ^a , Le ^b	1:2

2. ปริมาณของ แอนติบอดีที่เหมาะสมคือ 20 µl ที่สามารถเห็นการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง ด้วยตาเปล่า และมีความแรงของปฏิกิริยา 1+ ถึง 2+

3. ผลการทำ Red cell typing ในคนผู้ใหญ่อายุ 100 ราย สามารถนำมาทำ เป็น screening cells ได้ ดังในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงผลของการเตรียม screening cells จากตัวอย่างเซลล์ที่ได้จากการทดลอง

No	Rh	Rh					MNSs				P1	Lewis		Kidd		Duffy		Kell	
		D	C	E	c	e	M	N	S	s		Le ^a	Le ^b	JK ^a	JK ^b	Fy ^a	Fy ^b	K	k
26	R1R2	+	+	+	+	+	0	+	0	+	+	+	0	+	+	+	+	0	+
		+	+	0	0	+	+	0	+	+	0	0	+	0	+	+	+	0	0

ตารางที่ 3 แสดง Phenotype และ Frequencies ของหมู่เลือด ABO ในผู้ใหญ่ 100 ราย เปรียบเทียบกับที่มีการศึกษามาก่อน⁴

ABO Blood Group	Frequency(%)	
	ผลที่ได้	ผลที่ศึกษามาก่อน
A	12	20.6
B	26	27.6
AB	7	5.1
O	55	46.7

ตารางที่ 4 แสดง Genotypes และ Frequencies ของหมู่เลือดระบบ Rh ใน ผู้ใหญ่ 100 คน

Genotype		Frequency (%)
Wiener	Fisher-Race	
R1R1	DCe/DCe	48
R1R1	DCe/DcE	35
R1r	DCe/dce	8
R2r	DcE/dce	6
RzR1	DCE/DCe	3

ตารางที่ 5 แสดง Genotype และ Frequencies ของหมู่เลือด MNS ใน ผู้ใหญ่ที่ศึกษาเปรียบเทียบกับที่มีการศึกษามาแล้ว⁴

Genotype	Frequencies(%)	
	ผลที่ได้	ผลที่ได้ศึกษาแล้ว
MMss	38	37.98
NNss	26	12.02
MNss	35	39.90
MMS	1	3.85

ตารางที่ 6 แสดง Genotype และ Frequencies ของหมู่เลือดระบบ Kell ในผู้ใหญ่ ที่ศึกษาเปรียบเทียบกับที่มีการศึกษามาแล้ว⁴

Phenotype	Frequency (%)	
	ผลที่ได้	ผลที่ได้ศึกษาแล้ว
K-k+	100	99.8
K+k-	0	0
K+k-	0	0.2

ตารางที่ 7 แสดง Phenotype และ Frequencies ของหมู่เลือดระบบ Lewis ในผู้ใหญ่จำนวน 100 คน โดยเปรียบเทียบกับที่มีการศึกษามาแล้ว⁴

Phenotype	Frequency (%)	
	ผลที่ได้	ผลที่ได้ศึกษาแล้ว
Le(a+b-)	28	23
Le(a-b+)	24	55
Le(a-b-)	48	22
Le(a+b+)	0	0

Phenotype	Frequency (%)	
	ผลที่ได้	ผลที่ได้ศึกษาแล้ว
Le(a+)	28	23
Le(b+)	24	55

ตารางที่ 8 แสดง Phenotype และ Frequencies ของหมู่เลือดระบบ Duffy ในผู้ใหญ่ 100 คน
เปรียบเทียบกับที่มีการศึกษามาก่อน⁴

Phenotype	Frequency (%)	
	ผลที่ได้	ผลที่ได้ศึกษาแล้ว
Fy(a+b-)	78	78.9
Fy(a+b+)	13	19.7
Fy(a-b+)	9	1.4
Fy(a-b-)	0	0

Phenotype	Frequency (%)	
	ผลที่ได้	ผลที่ได้ศึกษาแล้ว
Fy(a+)	91	98.6
Fy(b+)	22	21.1

ตารางที่ 9 แสดง Genotype และ Frequencies ของหมู่เลือดระบบ Kidd ในผู้ใหญ่ 59 คน
โดยเปรียบเทียบกับที่มีการศึกษามาก่อน⁴

Phenotype	Frequency (%)	
	ผลที่ได้	ผลที่ได้ศึกษาแล้ว
Jk(a+b-)	33.89	31.8
Jk(a+b+)	42.37	42.8
Jk(a-b+)	23.72	25.4
Jk(a-b-)	0	0

Phenotype	Frequency (%)	
	ผลที่ได้	ผลที่ได้ศึกษาแล้ว
Jk(a+)	72.6	74.6
Jk(b+)	66.1	68.2

ตารางที่ 10 แสดง Genotype และ Frequencies ของหมู่เลือดระบบ P ในผู้ใหญ่จำนวน 100 คน โดยเปรียบเทียบกับที่มีการศึกษามากแล้ว⁴

Phenotype	Frequency (%)	
	ผลที่ได้	ผลที่ศึกษาแล้ว
P1	24	28.44
P2	76	71.56

ตารางที่ 11 แสดงแหล่งที่มาของกลุ่มตัวอย่างที่ได้ศึกษาในจังหวัดต่างๆ จำนวน 100 คน

จังหวัด	จำนวน (คน)
เชียงใหม่	45
เชียงราย	13
ลำปาง	11
ลำพูน	5
อุตรดิตถ์	4
แพร่	3
พิษณุโลก	2
กรุงเทพมหานคร	2
พะเยา	2
อุทัย	1
กำแพงเพชร	1
แม่ฮ่องสอน	1
มหาสารคาม	1
ร้อยเอ็ด	1
ชลบุรี	1
นครปฐม	1
พิจิตร	1
ตาก	1
อุบลราชธานี	1
นครราชสีมา	1
จันทบุรี	1

สรุปและวิจารณ์

จากการทำ Red cell typing ของผู้ใหญ่จำนวน 100 คน โดยวิธี agglutination phenotype frequency เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาที่ได้ทำมาแล้ว พบว่า phenotype frequency ของแอนติเจน C, E, c, e, M, N, S, s, P₁, Fy^a, Fy^b, Jk^a, Jk^b, K และ k มีค่าที่ใกล้เคียงและมีทิศทางไปในทางเดียวกัน ส่วนแอนติเจน Le^a และ Le^b พบว่ามี phenotype frequency ของ Le(a-b-) เป็น 48% ซึ่งแตกต่างจากที่เคยมีการศึกษามาก่อน (22%)⁴ ซึ่งน่าจะมีสาเหตุมาจากการเจือจางหาความเหมาะสมของ Anti-Le^a และ Anti-Le^b มีความแรงสูงสุดที่ 1* ใน dilution 1:2 อีกทั้งยังเห็นปฏิกิริยาไม่ชัดเจนเท่าที่ควร ต้องยืนยันผลจากการสังเกตปฏิกิริยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อีกครั้ง ผลที่ได้อาจเป็นผลลบปลอม อย่างไรก็ตามได้ตรวจซ้ำในรายที่สงสัย โดยใช้น้ำลายมาทดสอบแทนเม็ดเลือดแดงเนื่องจากแอนติเจนชนิดนี้ เป็น soluble antigen และพบมีปริมาณมากในสารคัดหลั่ง เช่น น้ำลาย และหากบุคคลมี phenotype Le(a-b-) จริงจะตรวจไม่พบสารในน้ำลาย การตรวจครั้งนี้ยังนำผลการทำ red cell typing มาเตรียมเป็น screening cells ได้ 2 ราย จากคนหมู่ O สามารถนำไปใช้ได้ ยกเว้นแต่ ไม่มีแอนติเจน s และ K ซึ่งแอนติบอดีต่อแอนติเจนนี้ปกติพบได้น้อยในคนไทยอยู่แล้ว⁵

จาก phenotype frequency ที่ศึกษาได้สามารถนำไปคำนวณหา gene frequency ได้ ซึ่งจะหมายถึงสัดส่วนของ allele ใดๆ ต่อจำนวนทั้งหมดที่ locus นั้นๆ โดยผลรวมของ allele frequencies ที่ ตำแหน่งหนึ่งๆ จะเท่ากับ 1 ตามสมการของ Hardy-Weinberg โดยจะสามารถคำนวณได้ในกรณี ที่ไม่มีการ mutation, migration, selective advantage/disadvantage of particular

trait⁶ นอกจากนี้ยังจะนำ phenotype frequency ไปคำนวณหา combined phenotype ได้ในกรณีที่ผู้ป่วยมีแอนติบอดีหลายชนิดซึ่งจะทำให้ช่วยคาดได้ว่าจะต้องเลือกตรวจเลือดจากผู้บริจาคจำนวนเท่าใดที่จะเข้ากันได้ให้ผู้ป่วยตามจำนวนที่ต้องการ⁷ คำนวณได้โดยสมการดังนี้

**จำนวนเลือดที่ต้องนำมาทดสอบ
= จำนวนเลือดที่ต้องการใช้ (unit)/compatible frequency**

จะได้จำนวนเลือดที่ต้องนำมาทดสอบ เช่น พบว่าผู้ป่วยมี Anti-Fy^a ต้องการใช้เลือด 5 unit และทราบค่า phenotype frequency ที่ compatible คือ 9% (Fy^a negative) ตามตารางที่ 8 ดังนั้นจำนวนที่จะต้องนำมาทดสอบคือ 5/0.09=56 units

เอกสารอ้างอิง

1. เยาวลักษณ์ พันธุ์พิศุทธิ์ชัย. Blood group immunology. วารุณี คุณาชีวะ (บรรณาธิการ), เอกสารประกอบการสอนวิชาภูมิคุ้มกันวิทยาโลหิตและธนาคารเลือด (Imm.506312) ภาควิชาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2544: 4-1
2. วารุณี คุณาชีวะ. หมู่เลือดอาร์เอสและอื่นๆ. ใน : วารุณี คุณาชีวะ (บรรณาธิการ), เอกสารประกอบการสอนวิชาภูมิคุ้มกันวิทยาโลหิตและธนาคารเลือด (Imm.506312) ภาควิชาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2544: 8-1
3. ปรียานาถ วงศ์จันทร์. Antiglobulin test. วารุณี คุณาชีวะ (บรรณาธิการ), เอกสารประกอบการสอนวิชาภูมิคุ้มกันวิทยาโลหิตและธนาคารเลือด (Imm.506312) ภาควิชาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์

- มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2544:6-1
4. ทศนัยานี จันทนียังยง. เวชศาสตร์การธนาคารเลือด พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : ชารกมลการพิมพ์, 2541
 5. Race RR, Sanger R. Blood groups in Man. 6th Edition. Oxford : Blackwell Scientific Publication, 1975.
 6. Mollison PL. Blood transfusion in Clinical Medicine. 6th Edition. Oxford : Blackwell Scientific Publication, 1979.
 7. Hoffstadter Lynn K. Case studies in Transfusion Medicine. Chicago : ASCP PRESS, page 160.