## บทบรรณาธิการ

# Platelet Antigens: Detection and Role in Transfusion

**ภาวิณี คุปตวินทุ[1] และ อ้อยทิพย์ ณ ถลาง[2]**

*[1]ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย [2]บัณฑิตศึกษา คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์*

เป็นที่ทราบกันดีว่าเกล็ดเลือด (platelets) มีบทบาทสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการแข็งตัวของเลือด (hemostasis) และการอักเสบ (inflammation) การเกิดโรคต่างๆ เช่น โรคหัวใจ autoimmunity และโรคมะเร็ง[1] การทำหน้าที่ของเกล็ดเลือดผ่าน ligand-receptor interactions ต้องอาศัยไกลโคโปรตีน (glycoproteins, GP) หลายชนิดที่อยู่บนผิวของเกล็ดเลือด (platelet membrane) Platelet membrane GPs นั้นมียีนที่ควบคุมการแสดงออกของแอนติเจนที่มีความหลากหลาย (polymorphism) ส่วนใหญ่เกิดจากการแทนที่ของคู่เบส (base-pair substitutions) แบบ single nucleotide polymorphism (SNP) ซึ่งส่งผลให้การสังเคราะห์กรดอะมิโนเปลี่ยนแปลงไปและทำให้โครงสร้างของไกลโคโปรตีนที่เป็นแอนติเจนของเกล็ดเลือดกระตุ้นให้เกิดการสร้างแอนติบอดีขึ้นได้หลังจากการตั้งครรภ์หรือการได้รับเลือดและส่วนประกอบของเลือด[1,2] แอนติบอดีต่อ human platelet alloantigens (HPAs) มีความสำคัญทางคลินิกเกี่ยวกับ immune platelet disorders ได้แก่ fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia (FNAIT)[3,4], posttransfusion purpura (PTP)[5] และ multi-transfusion platelet refractoriness (MPR)[6] นอกจากนี้บนผิวของเกล็ดเลือดยังตรวจพบแอนติเจนที่พบได้บนผิวของเซลล์ชนิดอื่นได้ ได้แก่ ABO, human leukocyte antigens (HLA) class I เป็นต้น

### Human platelet alloantigens (HPAs)

ปัจจุบันพบว่ามีแอนติเจนของ HPAs 33 ชนิดอยู่บนไกลโคโปรตีนที่แตกต่างกัน 6 ชนิด คือ GPIIb, GPIIIa, GPIb$\alpha$, GPIb$\beta$, GPIa และ CD109 (Table 1) ส่วนใหญ่แอนติเจนเหล่านี้เป็น platelet specific แต่บางชนิดอาจพบได้บนผิวของเซลล์อื่นเช่น leukocytes, endothelial cells สำหรับแอนติเจนที่จัดอยู่ในกลุ่มที่เป็น biallelic groups จำนวน 6 กลุ่มได้แก่ HPA-1, HPA-2, HPA-3, HPA-4, HPA-5 และ HPA-15 การเรียกชื่อของ HPAs แต่ละแอนติเจนเป็นไปตามความชุกของการตรวจพบ คือ ถ้าเป็น high frequency เรียกชื่อเป็น “a” แต่ถ้าเป็น low frequency เรียกชื่อเป็น ‘b” เช่น HPA-1 แอนติเจนที่เป็น high frequency คือ HPA-1a ส่วนแอนติเจนที่เป็น low frequency คือ HPA-1b ดังนั้นการสร้างแอนติบอดีต่อ HPA-1 จะพบ anti-HPA-1a ได้บ่อยกว่า anti-HPA-1b แต่ HPAs ที่พบการสร้างแอนติบอดีต่อแอนติเจนเพียง 1 หรือ 2 ชนิดจะเขียน “w” สำหรับ workshop ซึ่งต้องมีการศึกษาข้อมูลต่อไป เช่น HPA-8w เนื่องจากความถี่ของแอนติเจน HPAs มีความแตกต่างกันในแต่ละเชื้อชาติ ดังนั้นผู้ป่วยที่สร้างแอนติบอดีต่อ HPA จะพบปัญหาแตกต่างกันในการจัดหาเกล็ดเลือดที่เหมาะสมเช่นเดียวกัน[2,3]

### Platelet alloantigens on GPIIb/IIIa[2,3,7]

การสร้าง GPIIb (intregrin $\alpha$IIb, CD41) และ GPIIIa (intregin $\beta$IIIa, CD61) ควบคุมโดยยีน *ITGA2B* และ *ITGB3* ซึ่งอยู่บนโครโมโซม 17 สำหรับ GPIIb/IIIa complex นั้นจับกันแบบ non-covalent calcium dependent บนผิวของเกล็ดเลือดซึ่งเป็น receptor สำหรับ ligand molecules ของ fibrinogen, vitronectin, fibronectin และ von Willibrand factor (vWF) การเปลี่ยนแปลงของ receptorใน GPIIb/IIIa conformation หลังจาก platelet activation ทำให้เกิดการจับของ fibrinogen ส่งผลให้เกิด platelet aggregation ต่อไป[2,3,7] แอนติเจนของ HPAs 20 ชนิดอยู่บน GPIIb/IIIa ดังแสดงใน Table 1

เนื่องจาก GPIIb/IIIa เป็น GP complex ที่พบมากที่สุดบนผิวของเกล็ดเลือด ทำให้มีคุณสมบัติเป็น highly immunogenic แอนติบอดีที่พบได้บ่อยในคนผิวขาวคือ anti-HPA-1a ที่สร้างโดยคนที่มีฟีโนไทป์เป็น HPA-1b/1b ซึ่งพบได้สูงกว่าร้อยละ 80 ของแอนติบอดีต่อ HPAs ทั้งหมด พบได้ทั้งในผู้ป่วย FNAIT, PTP และ MPR ส่วน anti-HPA-1b นั้นส่วนใหญ่พบได้ในผู้ป่วย PTP แอนติเจน HPA-4a/4b ซึ่งอยู่บน GPIIIa ทำให้เกิดปัญหาคล้ายกับ HPA-1a แต่คนส่วนใหญ่มีแอนติเจน HPA-4a ยกเว้นคนญี่ปุ่นและคนจีนที่ความถี่ของแอนติเจน HPA-4b สูงกว่าคนเชื้อชาติอื่น สำหรับแอนติเจน HPA-3a/3b ซึ่งอยู่บน GPIIb นั้นคนส่วนใหญ่เป็น heterozygous HPA-3a/3b การสร้างแอนติบอดี

**Table 1** Human platelet alloantigens[2,3]

| Antigen | Glycoprotein (GP) | Amino acid change | Encoding gene | Nucleotide change | Immune platelet disorder reports |
|---|---|---|---|---|---|
| HPA-1a | GPIIIa | Leu33Pro | *ITGB3* | 176T>C | FNAIT, PTP, MPR |
| HPA-1b | | | | | |
| HPA-2a | GPIbα | Thr145Met | *GPIBA* | 482C>T | FNAIT, PTP, MPR |
| HPA-2b | | | | | |
| HPA-3a | GPIIb | Ile847Ser | *ITGA2B* | 2621T>G | FNAIT, PTP, MPR |
| HPA-3b | | | | | |
| HPA-4a | GPIIIa | Arg143Gln | *ITGB3* | 506G>A | FNAIT, PTP, MPR |
| HPA-4b | | | | | |
| HPA-5a | GPIa | Glu505Lys | *ITGA2* | 1600G>A | FNAIT, PTP, MPR |
| HPA-5b | | | | | |
| HPA-15a | CD109 | Ser682Tyr | *CD109* | 2108C>A | FNAIT, PTP, MPR |
| HPA-15b | | | | | |
| HPA-6bw | GPIIIa | Arg689Gln | *ITGB3* | 1544G>A | FNAIT |
| HPA-7bw | GPIIIa | Pro407Ala | *ITGB3* | 1297C>G | FNAIT |
| HPA-8bw | GPIIIa | Arg636Cys | *ITGB3* | 1984C>T | FNAIT |
| HPA-9bw | GPIIb | Val837Met | *ITGA2B* | 2602G>A | FNAIT |
| HPA-10bw | GPIIIa | Arg62Gln | *ITGB3* | 263G>A | FNAIT |
| HPA-11bw | GPIIIa | Arg633His | *ITGB3* | 1976G>A | FNAIT |
| HPA-12bw | GPIbβ | Gly15Glu | *GPIBB* | 119G>A | FNAIT |
| HPA-13bw | GPIa | Met799Thr | *ITGA2* | 2483C>T | FNAIT |
| HPA-14bw | GPIIIa | Lys611del | *ITGB3* | 1909_1911delAAG | FNAIT |
| HPA-16bw | GPIIIa | Thr140Ile | *ITGB3* | 497C>T | FNAIT |
| HPA-17bw | GPIIIa | Thr195Met | *ITGB3* | 662C>T | FNAIT |
| HPA-18bw | GPIa | Gln716His | *ITGA2* | 2235G>T | FNAIT |
| HPA-19bw | GPIIIa | Lys137Gln | *ITGB3* | 487A>C | FNAIT |
| HPA-20bw | GPIIb | Thr619Met | *ITGA2B* | 1949C>T | FNAIT |
| HPA-21bw | GPIIIa | Glu628Lys | *ITGB3* | 1960G>A | FNAIT |
| HPA-22bw | GPIIb | Lys164Thr | *ITGA2B* | 584A>C | FNAIT |
| HPA-23bw | GPIIIa | Arg622Trp | *ITGB3* | 1942C>T | FNAIT |
| HPA-24bw | GPIIb | Ser472Asn | *ITGA2B* | 1508G>A | FNAIT |
| HPA-25bw | GPIa | Thr1087Met | *ITGA2* | 3347C>T | FNAIT |
| HPA-26bw | GPIIIa | Lys580Asn | *ITGB3* | 1818G>T | FNAIT |
| HPA-27bw | GPIIb | Leu841Met | *ITGA2B* | 2614C>A | FNAIT |

FNAIT: fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia; PTP: posttransfusion purpura;
MPR: multitransfusion platelet refractoriness

ต่อ HPA-3a และ HPA-3b จึงพบได้น้อยและการตรวจแยกชนิดของแอนติบอดีอาจต้องใช้หลายวิธีร่วมกัน นอกจากนี้แอนติเจนอีก 17 ชนิดที่แสดงออกบนไกลโคโปรตีน GPIIb หรือ GPIIIa ซึ่งส่วนใหญ่เป็น low frequency antigens พบว่า มีรายงานผู้ป่วย FNAIT ซึ่งมารดาสร้างแอนติบอดีที่จำเพาะต่อ GPIIb/IIIa ของบิดาเท่านั้น ยกเว้น HPA-6bw และ HPA-21bw ที่มีความถี่ของแอนติเจนสูงในคนญี่ปุ่นคือร้อยละ 1 และ 2 ตามลำดับ[2,3]

**Platelet alloantigens on GPIb/V/IX**[2,3,7]

GPIb/V/IX complex นั้นจับกับ vWF-mediating platelet adhesion ตรงบริเวณที่มี vessel injuryโดยที่ GPIb ประกอบด้วย beta chain (GPIb-beta, CD42c) ซึ่งเชื่อมกับ alpha chain (GPIb-alpha, CD42b) โดยจับแบบ noncovalent กับ GPIX (CD42a) และ GPV(Cd42d) เพื่อสร้าง GPIb/V/IX complex ยีนที่ควบคุม GPIb-beta, GPIb-alpha และ GPX คือ *GP1BB*, *GP1BA* และ*GP9* บนโครโมโซม 22, 17 และ 3 ตามลำดับ HPA-2a/b และ HPA-12bw อยู่บนไกลโคโปรตีน GPIb-alpha และ GPIb-beta และมีรายงานการสร้างแอนติบอดีที่ทำให้เกิด FNAIT ส่วน GPIX นั้นสามารถทำให้เกิด platelet complex deficiency โดยเฉพาะผู้ป่วยที่มีภาวะเลือดออกง่ายจากสาเหตุทางพันธุกรรม Bernard-Soulier syndrome (BSS)[8,9] ซึ่งผู้ป่วยอาจสร้าง GPIb/IX isoantibodies ได้หากได้รับเลือดหรือตั้งครรภ์[10]

**Platelet alloantigens on GPIa/IIa**[2,3,7]

GPIa/IIa (intregrin $\alpha_2\beta_1$, CD49b/CD29) เป็น major collagen receptor บนเกล็ดเลือด ยีนที่ควบคุมการสร้าง GPIa และ GPIIa คือ *ITGA2* และ *ITGB1* อยู่บนโครโมโซม 5 และ 9 สำหรับ HPA-5a/5b ซึ่งอยู่บน GPIa มีการแสดงออกของแอนติเจนน้อยกว่าแอนติเจนของ HPA-1a ทำให้ผู้ป่วยสร้างแอนติบอดีต่อ HPA-5 มีอาการของ immune platelet disorders รุนแรงน้อยกว่า ส่วน HPA-13bw, HPA-18bw และ HPA-25bw ที่เป็น low frequency antigens อยู่บน GPIa พบรายงานผู้ป่วย FNAIT ด้วยเช่นกัน

**Platelet alloantigens on CD109**[2,3,7]

CD109 นั้นเป็น glycosylphosphatidylinositol (GPI) linked protein ที่อยู่ในกลุ่มของ $\alpha_2$-macroglobulin/complement superfamily ซึ่งยังไม่ทราบหน้าที่ชัดเจนแต่มีรายงานว่า CD 109 ควบคุมทางลบในการ signaling ของ transformimg growth factor นอกจากนี้ CD 109 พบได้บนผิวของ activated T lymphocytes, CD34+ hematopoietic cells และ endothelial cells สำหรับแอนติเจนของ HPA-15 บน CD 109 นั้นความสำคัญทางคลินิกของแอนติบอดีต่อ HPA-15 ยังไม่ชัดเจนเพราะการแสดงออกของ CD 109 บนผิวของเกล็ดเลือดน้อย แต่มีรายงานของต่างประเทศที่ตรวจพบแอนติบอดีต่อ HPA-15 ในซีรัมของมารดา ที่น่าจะเป็นสาเหตุของ FNAIT ซึ่งพบได้ตั้งแต่ร้อยละ 0.22-4 อีกทั้งยังพบแอนติบอดีต่อ HPA-15 ในซีรัมผู้ป่วย MPR ได้[11-13]

**Other platelet antigens**

**GPIV**

เกล็ดเลือด monocytes/macrophages และ nucleated erythrocytes เป็นเซลล์ที่สามารถ express GPIV (CD36) ซึ่งมียีนควบคุมคือ *CD36* บนโครโมโซม 7 GPIV จัดอยู่ใน class B scavenger receptor family และจับ ligands ต่างๆ เช่น LDL cholesterol, thrombospondin, collagen types I & IV และ malaria-infected red blood cells[14] มีรายงานการพบ mutations ของยีน *CD36* ที่ส่งผลต่อ protein expression บนผิวของเกล็ดเลือดและ monocytes ทั้งในคนเอเชียและอัฟริกัน[15-17] แต่เกล็ดเลือดยังทำหน้าที่ได้เป็นปกติ สำหรับผู้ป่วยที่เป็น CD36 deficient จะสร้างแอนติบอดีเมื่อได้รับเกล็ดเลือดของคนที่มี normal expression ของ CD36 และทำให้เกิดปัญหาได้ทั้ง FNAIT, PTP และ MPR[16,18-20]

**GPVI**

GPVI เป็น major collagen receptor บนผิวเกล็ดเลือด ที่อยู่ในกลุ่มของ immunoglobulin superfamily ซึ่งมียีนที่ ควบคุมคือ *GP6* บนโครโมโซมคู่ที่ 19 การทำหน้าที่ของ GPVI ร่วมกับ collagen บน extracellular matrix ทำให้เกิด platelet activation และ aggregation ในปัจจุบันยังไม่พบ HPAs บน GPVI แต่มีรายงานผู้ป่วยที่สร้าง autoantibodies ต่อ GPVI และทำให้เกิด immune thrombocytopenia แต่อาการไม่รุนแรง[21,22]

**Blood group antigens**

เกล็ดเลือดมีการแสดงออกของแอนติเจนหมู่เลือดของเม็ดเลือดแดงได้หลายชนิด แต่มีระดับต่ำ เช่น $Le^a$, $Le^b$, I, i, P, $P^k$ ซึ่งไม่ทำให้เกิด immune platelet disorders[3] ยกเว้นหมู่เลือด ABO ซึ่งมีแอนติเจน A, B และ H ซึ่งมี immunodominant sugars ติดอยู่กับ platelet GPs ส่วนใหญ่จะ express บน GPIIb platelet endothelial cell adhesion molecule (PECAM-1, CD31)[3,23]

ดังนั้นการให้เกล็ดเลือดของผู้บริจาคที่มีหมู่เลือด ABO ไม่ตรงกับผู้ป่วยจำเป็นต้องคำนึงถึงแอนติบอดี คือ anti-A และ anti-B ในพลาสมาของผู้บริจาคด้วยที่อาจเกิดปฏิกิริยากับแอนติเจน A และ/หรือ B ของผู้ป่วยทำให้เกิด platelet transfusion refractoriness อีกทั้งมีรายงานของ FNAIT และ MPR ที่เกิดจาก ABO antibodies ได้[23,24]

**Human leukocyte antigens**

แอนติเจน HLA บนผิวของเกล็ดเลือดนั้นพบเฉพาะ HLA class I คือ A, B และ C antigens เท่านั้นโดยที่ แอนติเจน C จะมีความแรงน้อยกว่าแอนติเจน A และ B การแสดงออกของแอนติเจน HLA class I ในแต่ละบุคคลจะมีความแตกต่างกัน[25] แต่อย่างไรก็ตามพบว่า แอนติบอดีต่อ HLA class I เป็นสาเหตุหลักของการเกิด immune MPR[26] และใน FNAIT ก็มีรายงานว่าน่าจะเกิดจากแอนติบอดีต่อ HLA class I ที่ตรวจพบในซีรัมของมารดาได้ ซึ่งทั่วไปมีการตรวจพบแอนติบอดีดังกล่าวในซีรัมของมารดาที่มีประวัติตั้งครรภ์หลายครั้งนั้นพบได้สูงถึงร้อยละ 30[27,28] โดยที่ทารกอาจไม่มีปัญหา thrombocytopenia จึงยังไม่สามารถสรุปเกี่ยวกับ pathogenesis ของ disorder นี้ได้ชัดเจน

**การตรวจแอนติเจนของ HPAs**

การตรวจแอนติเจนของเกล็ดเลือดเป็นสิ่งจำเป็นในการแก้ปัญหาอาการเกล็ดเลือดต่ำในผู้ป่วยที่เกิดจากการสร้างแอนติบอดีต่อแอนติเจน HPAs โดยเฉพาะในกลุ่มผู้ป่วย MPR การตรวจแอนติเจน HPAs ของผู้ป่วยจะช่วยให้สามารถจัดหาเกล็ดเลือดที่มีแอนติเจน HPAs ตรงกับผู้ป่วย (HPA-matched platelets) ได้ อีกทั้งการตรวจแอนติเจน HPAs ในบิดาและมารดาของผู้ป่วย FNAIT จะช่วยยืนยันสาเหตุของ FNAIT ที่เกิดจากแอนติบอดีที่มารดาสร้างขึ้นต่อแอนติเจน HPAs บนผิวเกล็ดเลือดของบิดาที่ถ่ายทอดทางพันธุกรรมมายังทารกในครรภ์ได้

**HPA-matched platelets**

ผู้ป่วย MPR ส่วนใหญ่พบว่าเกิดจากแอนติบอดีต่อ HLA class I ที่เป็นสาเหตุหลักของการไม่ตอบสนองต่อการให้เกล็ดเลือด แอนติเจน HLA class I พบได้ทั้งบนผิวเม็ดเลือดขาวและเกล็ดเลือด ซึ่งสามารถกระตุ้นให้ผู้ป่วยสร้างแอนติบอดีได้ โอกาสที่ผู้ป่วยสร้างแอนติบอดีต่อ HLA class I สูงถึงร้อยละ 39 ในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับเม็ดเลือดแดง และเกล็ดเลือดเป็นประจำ และโอกาสสร้างแอนติบอดีลดลงเหลือร้อยละ 15 เมื่อผู้ป่วยได้รับเกล็ดเลือด หรือเม็ดเลือดแดงที่มีปริมาณเม็ดโลหิตขาวต่ำ (leukocyte-depleted components)[29] แต่การให้เกล็ดเลือดที่มีปริมาณเม็ดโลหิตขาวต่ำไม่สามารถป้องกันการสร้างแอนติบอดีต่อแอนติเจน HPAs ดังนั้นการใช้ HPAs- matched platelets จะช่วยลดโอกาสการสร้างแอนติบอดีได้[7]

การจัดหา HPA-matched platelets ต้องอาศัยการตรวจแอนติเจน HPAs ในผู้บริจาคโลหิตจำนวนมากเพื่อขึ้นทะเบียนข้อมูลไว้สำหรับคัดเลือกผู้บริจาคที่มีแอนติเจน HPAs ตรงกับผู้ป่วย ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย จึงได้ดำเนินการตรวจแอนติเจน HPAs ในผู้บริจาคโลหิต และผู้บริจาคเกล็ดเลือดที่ผ่านการตรวจ HLA class I ขึ้นทะเบียนไว้แล้ว เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการจัดหาเกล็ดโลหิตที่เหมาะสมให้กับผู้ป่วย

**HPA typing in FNAIT**

การวินิจฉัย FNAIT ทางห้องปฏิบัติการจะเน้นการตรวจหาความแตกต่างของแอนติเจนบนผิวเกล็ดเลือดของบิดาและมารดาที่เป็นสาเหตุให้มารดาสร้างแอนติบอดีต่อเกล็ดเลือดของทารกในครรภ์ การตรวจแอนติเจน HPAs ที่ครอบคลุมทุกระบบที่มีความสำคัญทางคลินิกจะช่วยให้สามารถยืนยันสาเหตุของการเกิด FNAIT ได้ เช่น บิดาเป็น heterozygous HPA alleles (HPA-1a/1b) มารดาเป็น homozygous HPA alleles (HPA-1a/1a) จะมีโอกาสที่แอนติเจน HPA ของทารกในครรภ์กระตุ้นให้มารดาสร้างแอนติบอดีได้ (anti-HPA-1b) จึงจำเป็นต้องตรวจหาแอนติเจน HPAs ในทารกเพื่อยืนยันเพิ่มเติม (Figure 1)[30] โดยใช้ตัวอย่างเลือดทารกแรกเกิด หรือดีเอ็นเอของทารกที่ปนอยู่ในพลาสมาของมารดา[31]

**Techniques for HPA typing**

การตรวจการแสดงออกของแอนติเจน HPAs บนผิวเกล็ดเลือด (antigen phenotype) ด้วยวิธีซีโรโลยีเป็นเทคนิคที่มีข้อจำกัด เนื่องจากปริมาณเกล็ดเลือดในผู้ป่วยต่ำทำให้มีจำนวนไม่เพียงพอต่อการทดสอบ ขาดแอนติซีรัมที่ใช้ในการทดสอบ และไม่มีการพัฒนาโมโนโคลนอลแอนติบอดีสำหรับใช้งาน การนำความรู้ทางด้านการตรวจระดับโมเลกุลของแอนติเจน HPAs มาใช้ตรวจแอนติเจน HPAs จึงถูกนำมาใช้ทดแทนวิธีซีโรโลยีและเป็นที่นิยมแพร่หลายในปัจจุบัน เทคนิคการตรวจแอนติเจน HPAs ที่ถูกนำมาใช้ในงานห้องปฏิบัติการทางคลินิกได้แก่ polymerase chain reaction with sequence-specific primer (PCR-SSP), PCR-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP), Realtime PCR และ high-throughput technology เช่น Multiplex PCR หรือ Bead arrays เป็นต้น[7,30,32] หลักการของการตรวจแอนติเจน HPAs ด้วยเทคนิคโมเลกุลส่วนใหญ่จะตรวจ

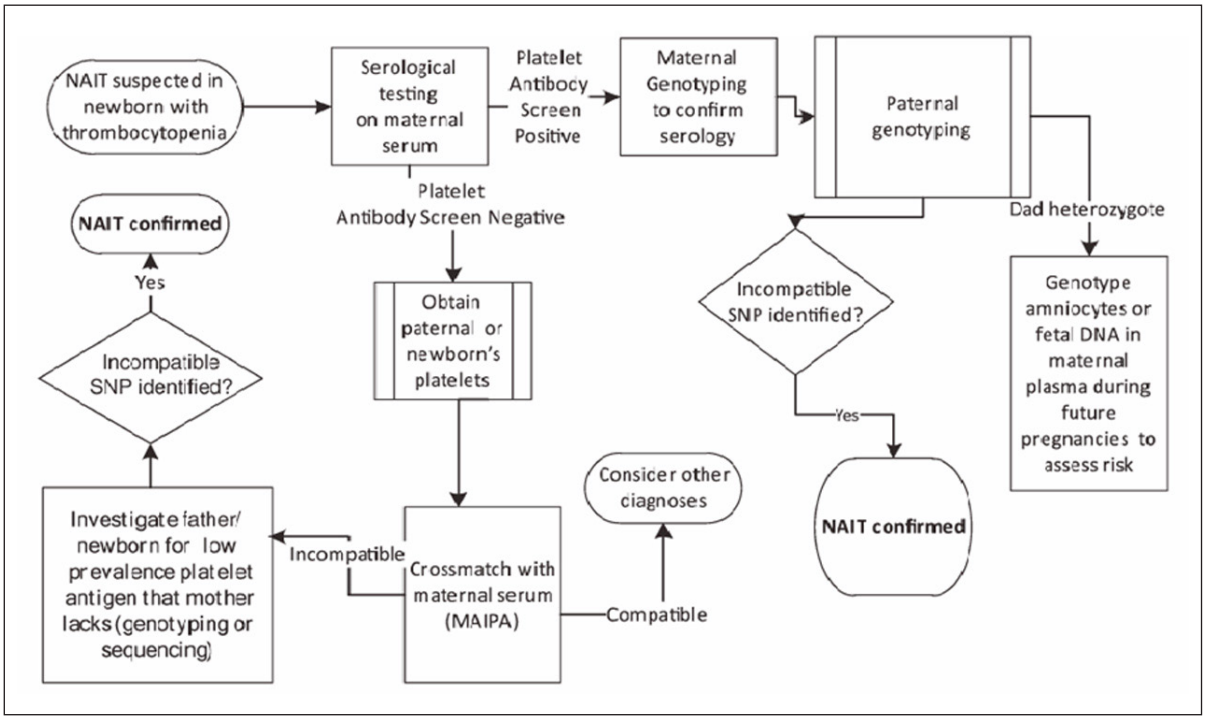


**Figure 1** FNAIT molecular testing algorithm[30]

หาตำแหน่งที่เกิดการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนที่แสดงออกของแอนติเจน (SNP) อย่างไรก็ตามการนำเทคนิคโมเลกุลมาใช้ในการตรวจแอนติเจนนั้นมีข้อควรระวังที่อาจทำให้เกิดผลบวกปลอม (false positive) จากการปนเปื้อนของตัวอย่างดีเอ็นเอ และคุณภาพของดีเอ็นเอที่ใช้ทดสอบ หรือผลลบปลอม (false negative) จากความไม่บริสุทธิ์ของตัวอย่างดีเอ็นเอ หรือความไม่เหมาะสมของสภาวะการทดสอบ

การนำผลการตรวจแอนติเจน HPAs ในระดับโมเลกุล (antigen genotype) มาใช้งานในทางคลินิกด้วยการแปลผลเป็นแอนติเจนที่แสดงออกบนผิวเซลล์ (predicted phenotype) นั้น ต้องคำนึงถึงข้อจำกัดของการทดสอบ เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมระดับโมเลกุล (mutation) ในจุดที่ยังไม่มีการรายงานอาจทำให้ผลการทดสอบผิดพลาด หรืออาจส่งผลที่ยับยั้งการแสดงออกของแอนติเจนได้ ดังนั้นบางกรณีการตรวจสอบควบคู่กับวิธีซีโรโลยีจะช่วยให้สามารถสรุปผลการวินิจฉัยได้ถูกต้องมากขึ้น[30]

สำหรับการจัดหาเกล็ดเลือดที่เข้ากันได้ให้กับผู้ป่วย MPR การทดสอบความเข้ากันได้ของเกล็ดเลือด (platelet crossmatching) ระหว่าง HPA-matched platelets กับตัวอย่างเลือดผู้ป่วย และการวินิจฉัย FNAIT ที่ต้องทดสอบปฏิกิริยาระหว่างแอนติบอดีในตัวอย่างเลือดมารดากับเกล็ดเลือดของบิดาหรือทารกแรกเกิดด้วยวิธีซีโรโลยี จึงเป็นยังมีการใช้ในห้องปฏิบัติการเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของแปลผลการทดสอบ

## สรุป

กรณีที่ผู้ป่วยสร้างแอนติบอดีต่อเกล็ดเลือด อาจเกิดปัญหาการเตรียมเกล็ดเลือดของผู้บริจาคที่เข้ากันได้ ทำให้ผู้ป่วยต้องรอเกล็ดเลือดที่เหมาะสมนาน เพราะนอกเหนือจากการเลือกเกล็ดเลือดที่มีหมู่ ABO ที่ตรงกันหรือเข้ากันได้ การตรวจแอนติเจนทั้ง HLA และ HPA ของผู้ป่วยและผู้บริจาคเพิ่มเติมจะช่วยในการรักษาผู้ป่วยอย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัยยิ่งขึ้น

## เอกสารอ้างอิง


1. *Leslie M. Cell biology. Beyond clotting: the power of platelets. Science 2010;328:562-4.*
2. *Curtis BR, Mc Farland. Human platelet antigens-2013. Vox Sang 2014;106:93-102.*
3. *Curtis BR. Platelet and granulocyte antigens and antibodies. In: Fung MK, Grossman BJ, Hillyer CD, Westhoff M, editors. Technical manual. 18th edition. Bethesda: American Association of Blood Banks 2014:453-74.*
4. *Pacheco LD, Berkowitz RL, Moise KJ, Bussel JB, McFarland JG, Saade GR. Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: a management algorithm based on risk stratification Obst Gynecol 2011;118:1157-63.*
5. *McFarland JG. Post-transfusion purpura. In: Popovsky MA, editor. Transfusion reactions. Bethesda: AABB Press; 2005: 275-300.*
6. *Novotny VM. Prevention and management of platelet transfusion refractoriness. Vow Sang 1999;76:1-13.*

7. Rozman P. Platelet antigens. The role of human platelet alloantigens (HPA) in blood transfusion and transplantation. Transpl Immunol 2002;10:165-81.
8. Kiefel V, Vicariot M, Giovangrandi Y, Kroll H, Böhringer M, Greinacher A, et al. Alloimmunization against Iy, a low-frequency antigen on platelet glycoprotein Ib/IX as a cause of severe neonatal alloimmune thrombocytopenic purpura. Vox Sang 1995;69:250-4.
9. Nurden AT, Freson K, Seligsohn U. Inherited platelet disorders. Haemophilia 2012;18(Suppl 4):154-60.
10. Nurden P, Nurden AT. Congenital disorders associated with platelet dysfunctions. Thromb Haemost 2008;99:253-63.
11. Berry JE, Murphy CM, Smith GA, Ranasinghe E, Finberg R, Walton J, et al. Detection of Gov system antibodies by MAIPA reveals an immunogenicity similar to the HPA-5 alloantigens. Br J Haematol 2000;110:735-42.
12. Ertel K, Al-Tawil M, Santoso S, Kroll H. Relevance of the HPA-15 (Gov) polymorphism on CD109 in alloimmune thrombocytopenic syndromes. Transfusion 2005;45:366-73.
13. Mandelbaum M, Koren D, Eichelberger B, Auerbach L, Panzer S. Frequencies of maternal platelet alloantibodies and auto-antibodies in suspected fetal/neonatal alloimmune thrombocytopenia, with emphasis on human platelet antigen-15 alloimmunization. Vox Sang 2005;89:39-43.
14. Silverstein RL, Li W, Park YM, Rahaman SO. Mechanisms of cell signaling by the scavenger receptor CD36: implications in atherosclerosis and thrombosis. Trans Am Clin Climatol Assoc 2010;121:206 -20.
15. Aitman TJ, Cooper LD, Norsworthy PJ, Wahid FN, Gray JK, Curtis BR, et al. Malaria susceptibility and CD36 mutation. Nature 2000;405:1015-6.
16. Curtis BR, Ali S, Glazier AM, Ebert DD, Aitman TJ, Aster RH. Isoimmunization against CD36 (glycoprotein IV): description of four cases of neonatal isoimmune thrombocytopenia and brief review of the literature. Transfusion 2002;42:1173-9.
17. Rac ME, Safranow K, Poncyljusz W. Molecular basis of human CD36 gene mutations. Mol Med 2007;13:288-96.
18. Bierling P, Godeau B, Fromont P, Bettaieb A,Debili N, El-Kassar N, et al. Posttransfusion purpura-like syndrome associated with CD36 (Naka) isoimmunization. Transfusion 1995;35:777-82.
19. Ikeda H, Mitani T, Ohnuma M, Haga H, Ohtzuka S, Kato T, et al. A new platelet-specific antigen, Naka, involved in the refractoriness of HLA-matched platelet transfusion. Vox Sang 1989;57:213-7.
20. Saw CL, Szykoluk H, Curtis BR, Zelcer S, Eckert K, Forrest D, et al. Two cases of platelet transfusion refractoriness associated with anti-CD36. Transfusion 2010;50:2638-42.
21. Boylan B, Chen H, Rathore V, Paddock C, Salacz M, Friedman KD, et al. Anti-GPVI-associated ITP: an acquired platelet disorder caused by autoantibody-mediated clearance of the GPVI/FcRgamma-chain complex from the human platelet surface. Blood 2004;104: 1350-5.
22. Akiyama M, Kashiwagi H, Todo K, M. Moroi M, Berndt MC, Kojima H, et al. Presence of platelet-associated anti-glycoprotein (GP)VI autoantibodies and restoration of GPVI expression in patients with GPVI deficiency. J Thromb Haemost 2009;7:1373-83.
23. Ogasawara K, Ueki J, Takenaka M, Furihata K. Study on the expression of ABH antigens on platelets. Blood 1993;82:993-9.
24. Curtis BR, Fick A, Lochowicz AJ, McFarland JG, Ball RH, Peterson J, et al. Neonatal alloimmune thrombocytopenia associated with maternal-fetal incompatibility for blood group B. Transfusion 2008;48:358-64.
25. Curtis BR, McFarland JG. Platelet immunology and alloimmunization. In: Simon TL, Dzik WH, Snyder E, Stowell CP, Strauss RG editors. Rossi's principles of transfusion medicine. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2008:203-17.
26. Leukocyte reduction and ultraviolet B irradiation of platelets to prevent alloimmunization and refractoriness to platelet transfusions The Trial to Reduce Alloimmunization to Platelets Study Group. N Engl J Med 1997;337:1861-9.
27. Kakaiya RM, Triulzi DJ, Wright DJ, Steele WR, Kleinman SH, Busch MP, et al. Prevalence of HLA antibodies in remotely transfused or alloexposed volunteer blood donors. Transfusion 2010;50:1328-4.
28. Triulzi DJ, Kleinman S, Kakaiya RM, et al. The effect of previous pregnancy and transfusion on HLA alloimmunization in blood donors: implications for a transfusion-related acute lung injury risk reduction strategy. Transfusion 2009;49:1825-5.
29. Kekomaki R. Used of HLA- and HPA- matched platelets in alloimmunized patients. Vox Sanguinis 1998;74(Suppl 2):359-63.
30. Arinsburg SA, Shaz BH, Westhoff S, et al. Determination of platelet antigen typing by molecular methods: importance in diagnosis and early treatment of neonatal alloimmune thrombocytopenia. Am J Hematolol 2012;87:525-8.
31. Scheffer PG, Ait Soussan A, Verhagen OJ, Page-Christiaens GC, Oepkes D, de Haas M, et al. Noninvasive fetal genotyping of human platelet antigen-1a. BJOG. 2011;118:1392-5.
32. Hurd CM, Cavanagh GA, Schuh A, Ouwehand WH, Metcalfe P. Genotyping for platelet specific antigen: techniques for detection single nucleotide polymorphism. Vox Sang 2002;83:1-12.
33. Kangkate M, Butthep P, Kupatawintu P, Kanunthong S, Chantratita W, Nathalang O. Genotyping of HPA-1 to -7 and -15 in Thai population using multiplex PCR. Transfus Med 2012;22:272-6.