۱۱۸۳۷۲

سازمان انتقال خون ايران
مركز تحقيقات

پايان نامه جهت دريافت درجه كارشناسي ارشد خون شناسي و بانك خون

عنوان :

ارزيابي كمي خونريزي جنيني- مادري (Fetomaternal hemorrhage,FMH) با استفاده از مونوكلونال آنتي بادي عليه هموگلوبين جنيني (HbF) و آنتي ژن D به روش فلو سايتومتري و مقايسه آن با روش Kleihauer-Betke

Quantification of feto-maternal hemorrhage (FMH) by using anti-Fetal hemoglobin and anti-D monoclonal antibody by flow cytometry in comparison with Kleihauer-Betke method

استاد راهنما:
سركار خانم دكتر مريم خيرانديش

استاد مشاور:
سركار خانم دكترمهناز آقايي پور

نگارنده :
فهيمه خوش نقش

۱۳۸۸/۷/۱۸
مركز اطلاعات و خدمات علمي
تحويل مدارك

شهريور
۱۳۸۸

شماره پايان نامه ۴۸

۱۱۸۳۷۲

تقدیم به

پدر، مادر و خواهر عزیزم

که وجودشان برایم همه مهر است و زیبایی و تمام
هستی من از محبت، گذشت و فداکاری آنها
سرچشمه می گیرد.

تقدیم به
همسر مهربانم

یار همیشه پایدارم

و

مظهر امید زندگی ام

و با تشکر و قدردانی از اساتید ارجمند و گرانقدر

سرکار خانم دکتر مریم خیر اندیش
سرکار خانم دکتر مهناز آقایی پور
که در تمام مراحل،از راهنمایی های ارزنده ایشان بهره مند بوده ام و

با سپاس فراوان
از استاد گرانقدر **سرکار خانم دکتر افسانه نثری** که در این مهم من را صمیمانه یاری نمودند

و با تشکر از اساتید و مربیان ارجمندی که در طول دوره تحصیل از محضرشان بهره مند شدم.

اکنون که با عنایت پروردگار متعال و در سایه الطاف او موفق به اتمام پایان نامه خود شده ام،بر خود لازم می دانم از تمامی کسانی که به نوعی در انجام این هدف کوچک سهیم بوده اند تشکر و قدردانی نمایم.

- سرکار خانم خیر اندیش که همواره با صبر و شکیبایی و قوت قلب بنده را در حل مشکلات یاری نمودند.

- سرکار خانم دکتر آقایی پور که با راهنمایی های ارزنده در انجام هرچه بهتر امور پایان نامه بنده را آگاه نمودند.

- سرکار خانم دکتر نثری که با سعه صدر خاص امکان استفاده بهینه از زمان را فراهم نموده و همواره یار و پشتیبان من بودند.

- بخش زنان و زایمان بیمارستان میلاد به خصوص سرکار خانم دکتر نیرومنش،خانمها خجک نژاد و تفکری که زحمات نمونه گیری را تقبل کردند.

- مادران عزیزی که با تولد فرزند و اهدای خون بند ناف قدم اول را برای انجام این تحقیق برداشتند.

- بخش فلو سایتومتری انتقال خون : سرکارخانم دکتر آقایی پوروآقای حاجتی

- بخش سرولوژی سازمان انتقال خون :سرکار خانم لطفی

- بخش ایمونولوژی سازمان انتقال خون : سرکارخانم مستخدمین، معتقد و یکتا

- بخش بیوشیمی سازمان انتقال خون : جناب آقای دیهیم،سرکار خانم فروتن،عابدینی و میرزایی

- بخش بانک خون بیمارستان میلاد: جناب آقای لطفی

- بخش آموزش سازمان انتقال خون : جناب آقای دکتر قره باغیان ،سرکار خانم دکتر خدیر،خانم داننده و خانم فقیه

- بخش پژوهش سازمان انتقال خون : جناب آقای دکتر کریمی و سرکار خانم دکتر رهبری

- کتابخانه سازمان انتقال خون :سرکار خانم دهقان و مختاری

- همکلاسی ها و دوستان عزیزم که سعادت مصاحبت با ایشان را داشتم: خانمها عادلی،نوروزی و آقایان یحیوی،عدالتی، رنجبران و هاشمی

خلاصه :

اندازه گیری کمی گلبول های قرمز نوزاد در جریان خون مادر نقش مهمی در تعیین میزان دقیق آنتی گلبولین Rh جهت جلوگیری از ایمونیزاسیون فعال در مادر RhD منفی که نوزاد RhD مثبت به دنیا آورده است ،دارد.به همین دلیل بسیاری از مراکز درمانی امروزه از تکنیک فلوسایتومتری جهت ارزیابی خونریزی مادری-جنینی بهره جسته اند.اینکه کدام روش فلو سایتومتری میتواند تخمین صحیح تر و دقیق تری از میزان خونریزی ارائه نماید،نامشخص است.در این تحقیق میزان خونریزی (FMH) به روش فلو سایتومتری RhD و HbF ارزیابی شد و این نتایج با روش بیو شیمیایی Kliehauer-Betke لوله ای مقایسه گردید.

روش کار:

۳۴ نمونه خون بند ناف نوزاد با خون فرد بالغ RhD منفی به صورت رقیق سازی سریالی در ۶ رقت (۰/۱۲۵ ، ۰/۲۵ ،۰/۵ ، ۱، ۵ و ۱۰ درصد) که بیانگر ۹۹,۹ درصد خونریزی های مادری جنینی بود،تهیه شد و به هر سه روش فلو سایتومتري HbF و RhD و روش لوله اي Kleihauer-Betke مورد مطالعه قرار گرفت و با آزمون آماري student T test و آنالیز رگرسیون ارزیابي شد.

ضمنا ۲۵ نمونه خون از مادران RhD منفی که نوزاد RhD مثبت بدنیا آورده بودند در روز اول زایمان تهیه و به روش فلوسایتومتری HbF ، RhD و روش Betke با آزمون T test مورد مقایسه قرار گرفت.

نتایج :

هر دو روش فلو سایتومتری و روش بیو شیمیایی Betke که مورد انجام قرار گرفتند ، همبستگی قابل قبولی را با یکدیگر نشان دادند.فلوسایتومتری HbF و Betke (r=0.883) فلو سایتومتری HbF و RhD (r=0.897) و فلو سایتومتری RhD و Betke (r=0.978) .

در بررسی نتایج FMH بدست آمده و نتایج مورد انتظار مشاهده شد نتایج فلو سایتومتری HbF حساسیت بالاتری در تعیین دقیق مقادیر کم خونریزی را دارد در حالیکه نتایج بدست آمده از روش RhD با وجود همبستگی بیشتر (r= 0.984)،در تعیین مقادیر پایین FMH افزایش کاذبی را نشان می دهد ولی توانایی آنها در مقادیر بالاتر خونریزی قابل توجه است.در روش بیو شیمایی Betke نیز همبستگي قابل توجهي مشاهده شد (r=0.985) لیکن این تست تنها توانایی اندازه گیری مقادیر بالاتر از ۱ درصد خون بند ناف در خون مادر را نشان داد.

بحث:

استفاده از مونوکلونال آنتی بادی های اختصاصی در روش فلو سایتومتری امکان ارزیابی دقیق میزان خونریزی و به تبع آن تعیین دقیق دوز ایمونوگلبولین RhIg جهت محافظت مادران از آلو ایمونیزاسیون بر علیه آنتی ژن D را ایجاد می کند.نتایج نشان داد که رنگ آمیزی گلبول های قرمز با Anti- HbF جهت ارزیابی FMH سبب بدست آمدن تخمین صحیح تری از FMH در مقایسه با RhD بود.

واژگان کلیدی :

اندازه گیري خونریزی مادری – جنینی (FMH) / فلوسایتومتري HbF / RhD /Kliehauer-Betke

فهرست مطالب

عنوان صفحه

۱- دلایل انتخاب موضوع ۱

۲- بیان مساله ۲

۳- مقدمه..... ۳

۳-۱ تعریف واژه بیماری همولتیک نوزادان..... ۳

۳-۲ پاتوژنز بیماري..... ۳

۳-۳ خونریزی مادری- جنینی..... ۶

۳-۳-۱ خونریزی مادری- جنینی وسیع..... ۷

۳-۳-۲ حاملگی به عنوان یک محرک ایمو نیزاسیون..... ۷

۳-۳-۳ فاکتور های ایمونولوژیکی موثر در بروز FMH ۹

۴- بازنگری منابع و اطلاعات موجود بیماری همولتیک نوزادان..... ۱۱

۴-۱ تاریخچه بیماری ۱۱

۴-۲ غشاء گلبول قرمز و آنتی ژن های مرتبط ۱۳

۴-۳ مکانیسم تخریب گلبول های قرمز ۱٤

۴-۳-۱ نقش ساب کلاس های IgG در شدت بروز علایم خونریزی مادری- جنینی..... ۱٤

۴-۳-۲ مکانیسم همولیز خارج عروقی. ۱۵

۴-۴ ساختمان و آنتی ژن های سیستم گروه خونی Rh ۱۷

۵- ساختمان هموگلوبین بالغین و هموگلوبین جنینی ۱۹
۶- پیشگیری محافظتی با ایمونوگلبولین آنتی D..... ۲۱
۷- نسبت آنتی ژن و آنتی بادی ۲٤
۷-۱ فرضیه های مرتبط با عملکرد ایمونوگلبولین Anti-D..... ۲٤
۷-۲ غربالگری خونریزی با حجم بالا ۲٦
۷-۳ ارزیابی میزان خون ریزی مادری جنینی (FMH) به روشهای مختلف..... ۲۷
۷-۳-۱ آزمایش میکرو D^U ۲۷
۷-۳-۲ آزمایش روزت ۲۷
۷-۳-۳ روش اسید الوشن (Kliehauer-Betke)..... ۲۷
۷-۳-۴ تکنیک فلو سایتو متری ۲۸
۷-۳-۴-۱ فلوسایتومتر ۲۹
۷-۳-۴-۲ پراکنش نور ۳۰
۷-۳-۴-۳ فلورسنس ۳۰
۷-۳-۴-۴ کاربرد های فلوسایتو متری ۳۱
۸- بررسی مقالات ۳۲
۹- اهداف این تحقیق ۳۵
۹-۱ هدف کلی ۳۵
۹-۲ اهداف اختصاصی ۳۵
۹-۳ فرضیه ۳٦

۹-۴ سئوالات ۳۶
۱۰- متغیرهای تحقیق،وضعیت متغییر ها،ابزار و نحوه سنجش متغییر ها و فرم اطلاعاتی ..۳۶
۱۰-۱ متغییر های تحقیق ۳۶
۱۰-۲ وضعیت متغییر ها ۳۶
۱۰-۳ ابزار و نحوه سنجش متغیر ها ۳۷
۱۰-۴ فرم اطلاعاتی ۳۸
۱۱- جامعه مورد مطالعه،حجم نمونه و روش نمونه گیری ۳۹
۱۱-۱ جامعه مورد مطالعه ۳۹
۱۱-۲ حجم نمونه ۳۹
۱۱-۳ روش نمونه گیری ۳۹
۱۱-۴ آزمون آماری ۳۹
۱۲- نحوه اجرای تحقیق ۳۹
۱۲-۱ جمع آوری نمونه و تهیه سوسپانسیون های مختلف آزمایشگاهی ۴۰
۱۲-۱-۱ محلول ها ۴۰
۱۲-۱-۲ روش انجام تست لوله ای Betke ۴۱
۱۲-۱-۳ اندازه گیری HbF با استفاده از مونوکلونال آنتی بادی HbF-FITC..... ۴۲
۱۲-۱-۴ اندازه گیری HbF با استفاده از کیت Fetal cell count kit ۴۳
۱۲-۱-۴-۱ اساس تست ۴۳
۱۲-۱-۵ تهیه نمونه و آماده سازی جهت استفاده کیت Fetal Cell Count ۴۴

۱۲-۱-۵-۱ مراحل فیکس ونفوذ پذیر کردن سلول ٤٤
۱۲-۱-۵-۲ رنگامیزی ایمونوفلورسنس ٤٥
۱۲-۱-۶ رنگامیزی گلبول های قرمز از نظر شاخص آنتی ژنیک Rh-D ٤٥
۱۲-۲ تنظیمات دستگاه فلو سایتومتر ٤٦
۱۲-۲-۱ آنالیز فلو سایتومتری ٤٦
۱۳- آنالیز آماری نتایج ٤٨
۱۳-۱ فرمول های بکار رفته جهت محاسبه میزان FMH در روش های مورد استفاده ... ٥٥
۱۳-۱-۱ فرمول Mollison جهت محاسبه میزان FMH در روش فلو سایتومتری RhD ٥٥
۱۴- بررسی میزان خونریزی مادری-جنینی در مادران RhD منفی مراجعه کننده به بیمارستان میلاد تهران ٥٩
۱۵- بحث ۶۶
۱۶- پیشنهادها ۷۴
۱۷- دیدگاه های آینده ۷۴
۱۸- منابع ۷۶
۱۹- خلاصه ۸۴

۱- دلایل انتخاب موضوع

با انجام این تحقیق به این سئوال علمی پاسخ داده می شود که آیا اندازه گیری کمی خونریزی جنینی-مادری با روش فلوسایتومتری در مقایسه با روش بیوشیمیایی اندازه گیری هموگلوبین F حساس تر و دقیق تر است یا خیر؟

در صورتیکه پاسخ این سئوال مثبت باشد، میتوان با تنظیم آزمایشگاهی تست های HbF و آنتی ژن RhD (CD240) به روش فلوسایتومتری در مرکز انتقال خون ایران گام بلندی در جهت تعیین دقیق میزان خونریزی در مادران و پیشگیری از تولد نوزادانی با نقیصه هیدروپس[1]،آنمی و یرقان ناشی از ناسازگاری Rh برداشت.

در صورتی که بتوان میزان دقیق خون ریزی را در مادران Rh منفی به طور کمی اندازه گیری کرد،امکان تجویز میزان مناسبی از ایمونوگلبولین Rh [2]توسط پزشکان محترم زنان و زایمان نیز فراهم می شود.

نتیجه تحقیقات مشابه در این زمینه نشان می دهد که :

- روش فلو سایتو متری روش مناسب،سریع ،دقیق و قابل اعتمادی جهت ارزیابی های مختلف از جمله،ارزیابی میزان خونریزی های مادری-جنینی [4]است.
- روش بیو شیمیایی[3] که سالها به عنوان روش مرجع در اندازه گیری HbF بکار میرود از دقت و تکرار پذیری خوبی بر خوردار نمی باشد.
- نتایج بدست آمده در روش بیو شیمیایی Betke دارای مقادیر افزایش یافته کاذب در مقایسه با نتایج روش فلو سایتومتری است.
- استفاده از دو مشخصه گلبول قرمز به طور همزمان در اندازه گیری میزان خونریزی به روش فلو سایتومتری سبب افزایش اختصاصیت ودقت شده و ارزیابی بهتری به ارمغان می آورد.

1- Hydrops Fetalis
2- Rh Immunoglobin
3- Kleihauer- Betke
4- Fetomaternal haemorrhage (FMH)

۲- بیان مسئله

اگر چه خون نوزاد از مادر به واسطه غشاهای جفت و عروق موئینه نوزاد جدا هستند ولیکن سلولهای خونی بین گردش خون مادر و جنین در زمانهای متفاوتی در طی دوران حاملگی در گردش هستند. ۳% خونریزی های مادری- جنینی در ۳ ماهه اول حاملگی،۱۲% در سه ماهه دوم حاملگی و ۴۵% در ۳ ماهه سوم حاملگی و ۶۴% تا ۱۰۰% بعد از زایمان اتفاق می افتد.این در حالیست که فاکتورهایی در میزبان می توانند در ریسک آلو ایمونیزاسیون بر علیه گلبولهای قرمز جنینی موثر باشند.در واقع مقادیر بسیار کم از سلول های خونی مادر و نوزاد که در زمانهای مختلفی در طول دوران بارداری میتوانند از مرز جفت عبور کنند،در ۵۰ تا ۷۰ درصد حاملگی ها دیده میشود ولی درطول ۳ماهه اول حاملگی ها ناشایع و در حدود ۳% می باشد و در ۳ ماهه سوم شایع تر هستند.(۱)

میزان این تبادلات نیز کم و در حدود ۰/۰۱ سی سی تا ۰/۱ سی سی می باشد و به ندرت به میزان بیشتری دیده می شود.در حدود ۱ در ۴۰۰ حاملگی شاهد خونریزی بیشتر از ۳۰ سی سی و ۱ در ۲۰۰۰ حاملگی شاهد خونریزی در حدود ۱۰۰ سی سی و یا بیشتر هستیم.

میانگین حجم خون در گردش بین جفت و نوزاد[1] به سختی در حد 10 ml/kg است. در نتیجه از دست دادن حتی میزان بسیار کمی از این خون می تواند حجم خون قابل ملاحظه ای در نوزاد باشد.هر چقدر میزان خونریزی بیشتر باشد احتمال بروز کم خونی نوزادی[2] و متعاقب آن نیاز به تزریق خون افزایش خواهد یافت.

فرآیندی که به طور معمول جهت شناسایی و ارزیابی میزان خونریزی انجام می گیرد، تهیه نمونه خون مادر و اندازه گیری پارامتر های مورد نظر به روش های فلو سایتومتری و بیوشیمیایی می باشد و از آنجایی که گلبول های قرمز جنین ممکن است سریعا از جریان خون مادر حذف شوند،تاخیر در تهیه نمونه و ارزیابی آن ممکن است سبب تخمین نا درستی از این واقعه باشد.(۲)

1-Fetoplacental Circulation

2-Neonatal Anemia

۳- مقدمه

۳-۱تعریف واژه بیماری همولتیک نوزادان[1] :

بيماري همولیتيك نوزادان بیماری است که در روند آن طول عمر گلبول قرمز نوزاد به واسطه عملكرد آنتي بادي هاي اختصاصي مادر كه از طريق جفت عبور كرده اند، كوتاه مي شوند.(۳)

شروع بيماري از زندگي داخل رحمي جنين شروع مي شود كه به همين جهت به درستي تحت عنوان بيماري همولتيك جنيني (Haemolytic Disease of the Fetus(HDF)

و يا بيماري همولیتيك نوزادان ناميده ميشود، و امروزه از لغت كوچک HDN استفاده شده و بيانگر HDF نيز مي باشد.(۴)

۳-۲پاتوژنز بيماري:

تخريب سريع گلبو ل هاي قرمز خون عامل مهمي در تحريك افزايش ساخت آنها مي باشد به طوريكه تعداد زيادي از آنها پس از توليد به صورت نابالغ و هسته دار وارد گردش خون مي شوند كه آن را اريتروبلاستوز جنيني می گویند.(۵)

نوزادي كه به شدت مورد تاثير قرار گرفته است ممكن است علايمي مانند خیز عمومی[2] از خود نشان دهد كه به آن سندروم هيدروپس فتاليس[3] گفته می شود كه هنوز پاتوژنز آن به طور كامل مشخص نمي باشد.(۶)

اريتروپوئز كبدي در پروسه HDN در نوزاد، ممكن است به قدري شديد باشد كه سبب بزرگی ارگان كبد، افزايش فشار خون ورید پورت وعدم كارايی كبد به طور مناسب شده ومتعاقبا توليد آلبومين را نيز مختل نمايد، در نتيجه شاهد كاهش فشار كلوئيد – اسموتيك در نوزاد خواهيم بود.(۷)

كم خونی شديد ممكن است سبب نارسايي قلبي – عروقي ،هايپوكسي بافتي و نهايتا مرگ داخل رحمي[4] شود.بيماری شديد حتی ميتواند در هفته های ۱۸ تا ۲۰ حاملگی نيز رخ دهد.تزريق خون داخل رحمي در اين شرايط مي تواند به عنوان يك روش حيات بخش عمل كند.(۵-۳)

چنانچه نوزاد متولد شده شديدا متاثر شده باشد، مي تواند علايم شديد كم خوني و نارسايي

1.Hemolytic Disease of Newborn (HDN)
2.General Edema
3- Hydrops Fetalis
4-Intra uterine death (IUD)

قلبي را نشان دهد.نوزاداني كه كمتر تحت تاثير قرار گرفته اند، دچار افزايش تخريب گلبول قرمز بوده كه آن نيز به نوبه خود سبب توليد و افزايش سطح بيلي روبين مي شود.(۳,۵)

تخریب گلبول های قرمز نوزاد سبب رهایی محتوای هموگلوبینی آنها می شود که متعاقب آن ملکول های هموگلوبین شکسته شده و بیلی روبین ایجاد می کنند. قبل از تولد به علت جدا بودن گردش خون مادر و نوزاد ، بيلي روبين نوزاد توسط جريان خون مادر برداشت شده و در كبد مادر متابوليزه (كونژوگه) مي شود.بیلی روبین غیر کونژوگه در پلاسما با اتصال به آلبومین حمل می شود اما زمانی که ظرفیت ملکول های ناقل پر می شود ملکول های چربی دوست [۱] بیلی روبین آزاد، می توانند از سد مغزی عبور کنند.این در حالیست که پس از تولد کبد نارس نوزاد نیز توانایی موثری درساخت آنزیم گلوکورونیل ترانسفراز [۲] و متابولیزه کردن بيلي روبين غير كونژوگه كه ماده سمي براي سيستم اعصاب مركزي [۳] نوزاد محسوب مي شود، نداشته و بیلی روبین غیر کونژوگه می تواند از سد خونی- مغزی نارس نوزاد عبور کند و عارضه جبران ناپذیری را به مغز وارد نماید. این واقعه را کرن ایکتروس [۴] می نامند .(۳،۶)

براي نوزاد متولد شده با HDN ،افزايش سطح بيلي روبين غير كونژوگه كه مي تواند سبب پديده " كرن ايكتروس" شود، خطر كلينيكي بزرگتري نسبت به كم خوني محسوب مي شود.نارس بودن نوزاد،هايپوكسي،كاهش سطح آلبومين نوزاد سبب افزايش ريسك آسيب هاي سيستم مغزي نخاعي می شود.تصميم براي تعويض خون نوزاد عمدتا بر پايه سطح بيلي روبين خون،سرعت بر داشت بيلي روبين و به مقدار كمتري بر پايه شدت كم خوني نوزاد انجام مي پذيرد.(۴،۶)

بیشتر از ۴۰ آنتی ژن مختلف در ارتباط با آلوایمونیزاسیون مادران شناخته شده اند.این در حالیست که آزمایش های غربالگری پیش از زایمان در خانم های باردار تنها قادر به شناسایی ۰/۴۲ تا ۱ درصد آنتی بادی های مهم کلینیکی می باشد.(۸)

بیماری همولیتیک نوزادان به طور معمول بر پایه اختصاصیت و علت آنتي بادي IgG به سه دسته تقسیم بندي مي شود. علايم باليني بيماران در اين سه گروه به صورت نزولي كاهش نشان می دهند:

۱- بيماري همولتيك ناشي از آنتي D به تنهايي يا به طور كمتر همراه با anti-c يا anti-E .

1- Lipophil
2- Glucoronil Transferase
3- Central Nervous System (CNS)
4- Kern Icterus

۲- بيماري هاي همو لتيك دوم كه به واسطه آنتي باديهاي ضد آنتي ژنهاي ديگر ايجاد شده اند. anti-c و anti-K در گروه دوم به صورت شايع تري سبب گرفتاري می شوند.

۳- بيماري همولتيك ناشي از ناسازگاري ABO كه به طور معمول توسط Anti-A و Anti-B و يا Anti-AB در مادران داراي گروه خوني O ايجاد مي شود.(۱۰-۸)

در تمامي موارد ياد شده به جز ناسازگاری ABO ، آنتي بادي هاي مادري نشانه آلو ايمونيزاسيون در طي دوران بارداري و يا از طريق انتقال خون بوده اند.تيترهاي افزايشي ميتوانند مدركي بر اين موضوع باشند.در بيماري همولتيك نوزادان ناشي از ABO ،وضعيت نوزاد در طول دوران بارداري قابل تشخيص نمي باشد و نوزاد غالبا به ندرت در زمان تولد داراي علايم است.اين بيماری همولیتیک تنها محدود به مادرانی است که دارای گروه خونی O هستند و نوزادانی با گروه های A یا B به دنیا می آورند.اگر چه این ناسازگاری در ۱۵ درصد مادران گروه خونی O دیده میشود اما بیماری همولیتیک ناشی از این ناسازگاری تنها در ۳% آنها مشاهده میشود .(۶)

بیماری همولیتیک نوزادان ناشی از ناسازگاری ABO معمولا خفیف و به ندرت سبب مرگ نوزاد می شود. جدول۱-۱ تفاوت های دو ناسازگاری شایع در نوزادان را نشان می دهد.(۸)

جدول ۱-۱مقایسه بیماری همولیتیک نوزادان ناشی از ناسازگاری ABO و Rh (۸)

مشخصات	Rh	ABO
مادر	منفی	O
نوزاد	مثبت	A or B
نوع آنتی بادی	IgG1 یا IgG3	IgG2
بروز در اولین حاملگی	۵%	۴۰% تا ۵۰%
نوزاد مرده یا هیدروپس	شایع	نادر
آنمی شدید	شایع	نادر
میزان یرقان	+ + +	+
هپاتو اسپلینو مگالی	+ + +	+
آنتی بادی های مادری	همیشه حضور دارند	به ندرت یافت می شوند
تست کومبس مستقیم (نوزاد)	+	+
اسفروسیتوز	+	+
تشخیص قبل از تولد	بلی	خیر
تعویض خون یا تزریق گلبول قرمز	شایع	نادر
خون اهداء شده به نوزاد	Rh منفی و در صورت نیاز اختصاصی گروه	فقط گروه O
شیوع آنمی تاخیری	شایع	نادر

۳-۳ خونريزي ها ي مادري - جنيني

زمانيكه گلبول هاي قرمز نوزاد از طريق جفت وارد جريان خون مادر ميشوند،از اين واقعه به خونريزي مادري – جنيني ياد ميكنند.

خونريزي مادري – جنيني در ۷۵% حاملگي ها و به طور معمول در سه ماهه سوم حاملگي و بلافاصله بعد از زايمان مشاهده مي شود.(۸،۱۰)

زايمان شايع ترين عامل ايمونيزاسيون مي باشد، اما گلبول هاي قرمز نوزاد مي توانند بعد از آمنيو سنتز[1]، سقط خود به خودي و يا القاء شده ،نمونه گيري از ويلي هاي جفت ،نمونه گيری از جفت،حاملگی های خارج رحمی و ضربه به ناحيه شكمی نيز مشاهده شوند.(۱۱)(جدول شماره ۱-۲)

جدول ۱-۲ شيوع وقايعي در دوران حاملگی كه مي تواند سبب خونريزي مادري-جنيني شود

Event	Incidence (%)
Early pregnancy loss	3-5
Elective abortion	6-20
Ectopic pregnancy	5-8
Amniocentesis	4-11
Chorionic villous sampling	8-15
Cordocentesis	30-50
Antepartum trauma	Variable
Placental abruption	Low
Fetal demise	Variable
Manual placental extraction	Variable
External version	Variable

1- Amniocentesis

۳-۳-۱ خونريزي مادري-جنيني وسيع [1]:

در خونریزی های مادری- جنینی وسیع جهت جلوگیری از ایمونیزاسیون مادر با گلبول قرمز نوزاد تزریق ایمونوگلبولین محافظتی Rh-D پیشنهاد شده است.این در حالیست که در شرایط خونريزي شدید که میزان خونریزی بیشتر از ۳۰ میلی لیتر می باشد، ممکن است حتی يك دوز از ایمونوگلبولین محافظتی RhIg (روگام)[2] که تنها توانایی پاکسازی ۳۰ میلی لیتر خون کامل نوزاد را داراست ،جهت خنثي سازي گلبول هاي قرمز نوزاد كافي نباشد. آمپول روگام از جنس IgG anti Rh0(D) است.کلیه مادران با گروه منفی Rh-D که نوزاد ی با فنوتیپ Rh-D مثبت یا D^u به دنیا می آورند باید یک بار در هفته ۲۸ حاملگی و بار دوم در عرض کمتر از ۷۲ ساعت بعد از زایمان یک آمپول روگام به صورت تزریق داخل ماهیچه ای دریافت دارند.نظریات مختلفی درباره چگونگی عملکرد آمپول روگام مطرح شده است .برخی معتقدند که تزریق آنتی D به مادر قبل از حساس شدن موجب پوشش آنتی ژن های D گلبول های جنینی در گردش خون مادر شده و از این طریق سیستم ایمنی مادر را در پاسخ دهی به آنتی ژن بیگانه مصون می دارد . نیمه عمر روگام یا آنتی D حدود ۲۳ روز است و بعد از تزریق یک دوز کامل امکان دارد تا ۶ ماه آنتی D در سرم قابل تشخیص باشد. (۵،۱۲)

Ness و همکارانش در مطالعات خود در سال ۱۹۸۷ شیوع کمی از واقعه خونریزی مادری- جنینی وسیع مشاهده کردند.آنها ۸۰۰ مادر RhD منفی که دارای نوزادان RhD مثبت بودند را مورد مطالعه قرار دادند و تنها در ۱ مورد این زایمان ها شاهد خونریزی به میزان بیش از ۳۰ میلی لیتر بودند . ۵/۶ درصد از این مادران خونریزی بین ۱۱ تا ۳۰ میلی لیتر داشتند.(۸،۱۳،۱۴)

۳-۳-۲ حاملگی به عنوان یک محرک ایمو نیزاسیون:

ایمونیزاسیون مادری به طور معمول پدیده ای است که در اثر عبور جفتی گلبول های قرمز نوزاد و مواجه سیستم ایمنی مادر با آنتی ژن های به ارث رسیده از پدر در جریان خون مادر دیده می شود.(۷) بعد از آنتی ژن های A و B گروه خونی ABO، آنتی ژن D از سیستم

1- Masive Fetomaternal Haemorrhage
2- RhoGAM

گروه خونی Rh مهمترین دلیل بررسی های انجام شده در انتقال خون و عامل شایع بیماری همولتیک نوزادان است و همچنین این آنتی ژن ایمونوژن بالقوه قوی حدودا ۵۰ برابر قوی تر نسبت به دیگر آنتی ژن های سیستم Rh در گلبول قرمز می باشد.(۵،۱۵)

میزان ایجاد حساسیت در مادرانی که نوزادی Rh مثبت با گروه ABO نا متجانس با مادر دارند در حدود ۲ درصد است.این موضوع بیانگر این است که ناسازگاری ABO در این موارد سبب محافظت بهتر و جلوگیری از ایمونیزاسیون اولیه بر علیه Rh می شود زیرا گلبول های قرمز نوزاد خیلی سریع و قبل از تشخیص شاخص های آنتی ژنیک Rh توسط سلول های صلاحیت دار ایمنی مادر، توسط ایزو آگلوتینین های طبیعی ضد گروهای خونی (Anti A,Anti B) پوشیده شده و از بین می روند.(۸)

وقوع HDN ناشی ازناسازگاری Rh مربوط به ایمونوژنیسیتی بالای آنتی ژن D است.

همچنین در مورد آنتی ژن های بیگانه دیگر که نسبت به آنتی ژن D کمتر ایمونوژنیک می باشند،حجم گلبول (نوزاد) وارد شده به گردش خون مادر نیزتعیین کننده است.(۱۲،۱۶)

اگر چه مواجهه با آنتی ژن الزاما سبب تولید آنتی بادی نمی شود و یک سری دوزهای کوچک ایمن کننده بهتر از یک دوز به تنهایی می توانند سبب ایجاد حساسیت در فرد شوند،حساسیت ایجاد شده در طی دوران حاملگی به صورت نسبی و به واسطه خونریزی های کوچک از طریق جفت صورت می گیرد و در حجم زیاد تر در لحظه زایمان و لحظه جدایی جفت از رحم مادر اتفاق می افتد. به دلایل نا معلوم مادرRhD منفی که تاکنون با آنتی ژن D برخورد نداشته است و بواسطه ایمونوگلبولین نیز محافظت نشده است، ۱۶% در هر حاملگی احتمال دارد بر علیه نوزاد RhD مثبت خود ایمن شود که ۸% در نوزاد RhD مثبت و ناسازگار از نظر ABO و ۲% در نوزاد RhD مثبت و سازگار از نظر ABO در زایمان اول و ۸% به صورت پاسخ ثانویه در حاملگی با وجود نوزاد RhD مثبت اتفاق می افتد. (۵،۱۲،۱۷)

ایمونیزاسیون با آنتی ژن D می تواند با حجم خونی کمتر از ۰/۱ میلی لیتر خون نوزاد به وقوع بپیوندد. حجم خون مورد نیاز جهت حساس شدن مادر Rh منفی معمولا بسیار کم است، به طوری که تنها با ۰/۵ سی سی گلبول قرمز Rh مثبت در ۸۰% افراد Rh منفی ایجاد حساسیت می شود و این در حالیست که در ایجاد پاسخ ثانویه حتی میزان ۰/۳۰سی سی گلبول قرمز Rh مثبت کافیست.(۱،۷،۱۷)

پاسخ آنتی D به آهستگی بعد از ورود گلبول های قرمز +D به گردش خون مادر وسعت شروع و بعد از مدت ۱۵-۵ هفته با آزمایش های سرولوژیکی قابل ردیابی می باشد.به طور معمول پاسخ به این آنتی ژن از کلاس IgG و ساب کلاسهای IgG_1 و IgG_3 که در پاسخ

های سیستم ایمنی به پروتئین ها دیده میشود، میباشد. تنها IgG قادر به عبور از سد جفت است وشدت بیماری همولیتیک در جنین و نوزاد میتواند متاثر از کلاس و ساب کلاس های IgG ،میزان غلظت IgG در خون مادر و سرعت انتقال جفتی باشد.

علاوه بر این، فاکتورهایی در نوزاد سبب تفاوت در شدت بروز بیماری می شوند، که از آن جمله می توان به درصد وفور آنتی ژنها ی موجود بر سطح گلبول های قرمز نوزاد،اثر رقابتی آنتی ژنهای مشابه موجود بر سطح RBC ها و دیگر سلول های بافتی و صلاحیت سیستم مونونوکلئر نوزاد نام برد.(۲)

به علاوه شیوع بیماری همولتیک نوزادان در پاسخ به آنتی ژن در نژادها و جمعیت های مختلف ممکن است متفاوت باشد (۱۷)

پاسخ آنتی بادی درمادر در ابتداء ضعیف بوده و بعضا IgM نیز تولید می شود اما به سرعت به IgG تبدیل میشود.از آنجایی که IgG می تواند در طی نیمه دوم حاملگی مادر از خلال جفت عبور کند(تامین کننده ایمنی غیر فعال در نوزاد)، آنتی D به گلبول های قرمز جنین متصل شده و سپس توسط Fcγ رسپتورهای موجود در ماکروفاژهای طحالی برداشت و حذف می شود.با اینکه آنتی ژن Rh از هفته ۷ حاملگی بر سطح گلبول قرمز نوزاد قابل شناسایی است ولی سرعت انتقال فعال IgG از طریق جفت تا هفته ۲۴ حاملگی آهسته است.(۱۸،۱۹)

۳-۳-۳ فاکتورهای ایمونولوژیکی موثر در بروز FMH :

فاکتور هایی که بر پاسخ ایمنی به گلبول های RhD مثبت موثر هستند عبارتند از:

۱- ناسازگاری همزمان ABO و Rh می تواند مادر را در برابر ایمونیزاسیون محافظت کند زیرا گلبول های قرمز وارد شده سریعا توسط ایزو هماگلوتینین های (IgM) گروه های خونی پوشیده شده و توسط سیستم مونونوکلئر[1] عمدتا در کبد که از نظر پاسخ دهند گی ایمنی ضعیف تر از طحال می باشد، برداشت می شود ودر نتیجه با احتمال کمتری سبب تحریک ساخت آنتی بادی می شود.

1- Mononuclear Phagocyte System