علوم طبی و بیوتکنولوژی کاتب، علمی – پژوهشی
سال ۱، شماره ۱، پاییز و زمستان ۱۴۰۱

دریافت مقاله: ۱۳۹۹/۸/۱۰
پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۴/۶

صص: ۱۰۱-۸۱

بیماری همولیتیک جنین و نوزادان و تشخیص زودهنگام آن به کمک DNA آزاد جنینی

حوریه تاجیک،[۱] حسین حبیبی[۲]

۱-کارشناس آزمایشگاه، دانشگاه علوم پزشکی وارستگان، گروه علوم آزمایشگاهی، مشهد، ایران

۲-دکتری تخصصی هماتولوژی آزمایشگاهی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی وارستگان، گروه علوم آزمایشگاهی، مشهد،ایران

چکیده

مقدمه و هدف: شایع‌ترین علت HDFN (Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn) مربوط به ناسازگاری Rh در بین مادر و جنین است. نتیجه این ناسازگاری در بدن مادر ساخت آلوآنتی بادی‌هایی است که قابلیت عبور از جفت را دارند و با اتصال به RBC های جنین منجر به لیز می‌شوند. HDFN در جنین عوارضی چون آنمی، زردی، هپاتواسپلنومگالی، کرن ایکتروس، انسفالوپاتی به‌جا گذاشته و در موارد شدیدتر امکان سقط جنین محتمل است. هدف از این مطالعه بررسی روش جدید NIPT (Non Invasive Prenatal Testing) به منظور تشخیص زودهنگام HDFN است.

روش بررسی: در جمع‌آوری اطلاعات از پایگاه‌هایی نظیر PUBMED، Nature وScience Direct استفاده شده‌است. در این پژوهش از مقالات و کتبی استفاده شده که تا سال ۲۰۱۸ منتشر شده‌اند.

یافته‌ها: ناسازگاری گروه‌های خونی در بین مادر و جنین ممکن است آسیب‌های جبران ناپذیری به جنین وارد کند بنابراین تشخیص زودهنگام می‌تواند از بروز این مشکلات جلوگیری کند.

نتیجه‌گیری: NIPT از هفته ۱۰ بارداری قابل انجام است. اختصاصیت و حساسیت این روش در تشخیص HDFN بالا بوده و خطری سقط جنین را تهدید نمی‌کند. بهتر است از این روش در مادران با Rh^- به منظور تشخیص دقیق Rh جنین استفاده شود تا مصرف نابجا رگام کاهش یابد.

واژگان کلیدی: *HDFN*، تشخیص بیماری همولیتیک،*cff DNA*، *NIPT*

مقدمه

بیماری همولیتیک جنین و نوزادان (HDFN)[۱۰]اختلالی است که توسط آنتی‌بادی‌های مادری که غالباً از ایمونوگلوبولین‌های G (IgG)[۱]هستند و قابلیت عبور از جفت را دارند رخ می‌دهد. این آنتی‌بادی‌ها علیه آنتی‌ژن‌های سطح گویچه-های قرمز (RBC)[۲]جنین است که ژن آن از پدر به ارث رسیده است و RBC مادر فاقد آن آنتی‌ژن است بنابراین در بدن مادر بیگانه تلقی می‌شود(۱).

باند شدن آنتی‌بادی‌های مادری با آنتی‌ژن‌های موجود بر RBC جنین منجر به همولیز می‌گردد. درنتیجه آنمی می‌تواند در جنین و یا نوزاد رخ دهد که برای جبران آن خون‌سازی خارج از مغز استخوان رخ می‌دهد. همچنین به علت لیز RBC سطح بیلی‌روبین افزایش‌یافته که در موارد شدید می‌تواند به سیستم عصبی نوزاد آسیب وارد کند و منجر به انسفالوپاتی و کرن‌ایکتیروس شود(۱).

تظاهرات بالینی می‌تواند به شکل زردی، هپاتواسپلنومگالی، نارسایی قلبی، افزایش فشار وریدی، ادم، انسداد ورید پورت و هیدروپس فتالیس دیده شود(۲).

حدود ۳ درصد از جمعیت جوامع آسیایی Rh^- هستند(۳). حساسیت مادران Rh^- هنگامی رخ می‌دهد که در معرض آنتی‌ژن Rh-D قرار گیرند. این فرآیند در مادربادار نیز زمانی رخ خواهد دادکه مادر، جنینی با Rh^+ را باردار باشد. اگرچه که در بارداری اول مادر با Rh^+ جنین مواجهه دارد اما عواقب ناگوار ناسازگاری

---

[۱] Haemolytic disease of the fetus and newborn

[۱] Immunoglobulin G

[۱] Red Blood Cell

Rh معمولاً بر حاملگی اول تأثیر نمی‌گذارد زیرا جنین اغلب قبل از ساخت طیف گسترده‌ای از آنتی‌بادی‌های ضد D متولد می‌شود و خطر ایجاد بیماری‌های همولیتیک در بارداری‌های بعدی جنین را تهدید می‌کند(۴).

پاتوفیزیولوژی

ورود RBC های حاوی آنتی‌ژن به بدن مادری که فاقد این آنتی‌ژن‌ها است منجر به ساخت آلو آنتی‌بادی‌هایی از کلاس IgM و IgG می‌شود. این آنتی‌ژن‌ها ممکن است در فرایند انتقال خون ناسازگار و یا در خون‌ریزی‌های جنینی مادری (FMH)[۳]به بدن مادر وارد شوند. در این میان تنها آنتی‌بادی‌های کلاس IgG هستند که قابلیت عبور از جفت را دارند(۱۰).

با ورود آنتی‌بادی از طریق جفت به بدن جنین، آنتی‌بادی با آنتی‌ژن در سطح گلبول قرمز باند می‌شود. این گلبول‌های حاوی آنتی‌بادی توسط ماکروفاژهای سیستم رتیکولواندوتلیال کبد و طحال از جریان خون برداشته می‌شود و این امر سبب همولیز و کم‌خونی در جنین می‌گردد. سپس به‌منظور جبران، اریتروپوئز تحریک می‌شود اما ممکن است میزان خونی که ساخته می‌شود کافی نباشد(۱۰). همولیز RBCها باعث افزایش سطح بیلی‌روبین می‌شود و ازآنجاکه بیلی‌روبین می‌تواند از جفت عبور کند، مازاد آن در گردش خون مادر پاک‌سازی می‌شود. پس از تولد فرآیند همولیز ادامه دارد اما کبد نارس نوزاد توانایی کنژوگه کردن بیلی‌روبین مازاد را به علت کاهش سطح آنزیم گلوکورونیل ترانسفراز ندارد. ادامه

---

[۱] Fetomaternal hemorrhage

این فرایند باعث ایجاد هایپربیلی‌روبینمی می‌گردد که در این شرایط بیلی‌روبین می‌تواند از سد خونی مغزی عبور کرده و در ساقه مغز و گانگلیون‌های قاعده‌ای مغز رسوب کند و چنانچه درمان انجام نشود باعث ایجاد آسیب‌های جبران‌ناپذیری چون کرن‌ایکتیروس می‌شود(۱۰).

تشخیص غیرتهاجمی قبل از تولد (NIPD)[۱۴]

با تخریب سلول‌های جنینی، DNA درون هسته‌ی آن‌ها آزاد می‌شود و می‌تواند از طریق جفت در گردش خون مادر حضور پیدا کند. این نوع DNA که در هسته حضور ندارد DNA آزاد جنینی (cff DNA)[۱۵]اطلاق می‌شود(۱۲). از هفته چهارم بارداری این مارکر در نمونه خون مادر یافت می‌شود و با پیشرفت بارداری میزان آن افزایش پیدا می‌کند(۱۳).

اصلی‌ترین مکانیزم برای کنترل آزاد شدن DNA جنینی، آپوپتوز است. از روش NIPD به‌منظور تشخیص تری‌زومی‌های ۱۸،۱۳ و ۲۱ همچنین پیش‌بینی پره-اکلامپسی و HDFN و حتی تعیین جنسیت جنین استفاده می‌شود(۱۴) همین طور به منظور تشخیص RH جنین و تعیین لزوم پروفیلاکسی در مادران با Rh $^-$ کاربرد دارد(۱۳). طبق آمار حدود ۴۰ درصد از مادران با Rh^- اشتباهاً anti-D پروفیلاکسی دریافت می‌کنند درحالی‌که به کمک این روش می‌توان این آمار

---

[۱۴] Non-Invasive Prenatal Diagnosis

[6] cell free fetal DNA

کاهش داد(۱۱, ۱۵) زیرا چنانچه جنین Rh^- باشد نیاز به انجام پروفیلاکسی نیست(۱۶).

از دیگر مزایای این روش حساسیت بالای آن است که ۹۹ درصد گزارش‌شده است همچنین این روش غیرتهاجمی است اما محدودیت این روش مربوط به غلظت کم cff-DNA در نمونه خون مادر است. چنانچه نمونه مربوط به هفته‌های کمتر از هفته ۱۱ بارداری باشد ممکن است جواب آزمایش منفی کاذب گزارش شود. بالاترین حساسیت در هفته‌های ۱۱ تا ۱۳ بارداری وجود دارد(۱۲).

ایجاد فنوتیپ خونی D منفی بدلیل فقدان کامل ژن *RHD* در فرد است؛ بنابراین وجود ژن *RHD* در نمونه خون زنان بارداری که D منفی هستند نشان‌دهنده این است که نوزاد آن‌ها دارای RhD مثبت است. روش‌های مختلفی برای شناسایی ژن *RHD* جنین وجود دارد که متداول‌ترین آن استفاده از q-PCR[۱۶]است زیرا این روش آسان و ارزان است همچنین حساسیت بالایی دارد(۳).

پیش‌گیری

در بسیاری از کشورها روش استاندارد مراقب زنان Rh^- برای جلوگیری از حساس شدن با Rh^+، استفاده از RHIg است(۱۸). RHIg که با نام رگام شناخته می‌شود در واقع همان ایمنوگلوبین ضد آنتی ژن D بود و با تخریب اریتروسیت های جنینی ما نع از حساس شدن مادر نسبت به این آنتی‌ژن می شود(۱۸). RHIg از افرادی

[۱۶] quantitative real-time polymerase chain reaction

که سطح گاماگلوبولینی بالایی دارند گرفته می‌شود پس با توجه به منبع دریافت آن امکان انتقال بیماری‌های عفونی وجود دارد به همین علت امروزه مصرف آن رو به کاهش است(۱۲).

استفاده از RHIg می‌تواند برای مادر عوارضی همچون درد، برافروختگی، تب ملایم، سر درد، عرق و ... به همراه داشته باشد که با افزایش دوز تزریقی ممکن-است شدت بروز این علایم افزایش پیدا کند همچنین در موارد نادری اشکال شدیدی از حساسیت گزارش شده است(۲۰).

نتیجه‌گیری

HDFN به علت ناسازگاری‌های آنتی‌ژنی در بین گروه‌های خونی جنین و مادر شکل می‌گیرد که شایع‌ترین علت آن مربوط به ناسازگاری سیستم Rh است. چنانچه مادری با Rh^- فرزندی با Rh^+ را باردار باشد، آنتی‌ژن‌های جنین که از پدر به ارث برده است برای مادر بیگانه تلقی می‌شود و در مقابل آن‌ها آلوآنتی-بادی‌هایی ساخته می‌شود که قابلیت عبور از جفت را دارند و با اتصال به RBC-های جنینی منجر به تحریک سیستم ایمنی جنین و نهایتا لیز RBCها می‌شوند.

HDFN می‌تواند عوارضی چون انسفالوپاتی و یا هیدروپس فتالیس در جنین ایجاد کند و یا در موارد بسیار شدید منجر به سقط جنین شود. چنانچه نوزاد در این شرایط متولد شود عوارض ناشی از لیز RBCهای حساس شده با آلوآنتی‌بادی‌های مادری، همچون کرن‌ایکتروس جبران ناپذیر است.

استفاده از NIPT در تشخیص زودهنگام HDFN اهمیت دارد چرا که نمونه مورد نیاز آن به صورت غیر تهاجمی در سه‌ماهه اول بارداری از مادر گرفته می‌شود

و عوارضی چون سقط، سلامت جنین را تهدید نمی‌کند همچنین اختصاصیت و حساسیت روش نزدیک به ۱۰۰ درصد است. مزیت دیگر این روش کاهش میزان خطا در پیشگیری مادران با Rh^- است چراکه برای تمام این افراد بدون تشخیص دقیق Rh جنین، پروفیلاکسی با RHIg تجویز می‌شود. و همانطور که گفته شد استفاده از RHIg می‌تواند برای مادر عوارضی همچون درد، برافروختگی، تب ملایم، سر درد، عرق و حتی خطر انتقال بیماری های عفونی را بدنبال داشته باشد و NIPT می تواند استفاده غیر ضرور از RHIg را کاهش دهد و همچنین در موارد مثبت بودن RH جنین استفاده از RHIg را کاملا هدفمند نماید.

منابع

۱.Fasano RM. Hemolytic disease of the fetus and newborn in the molecular era. Semin Fetal Neonatal Med. 2016;21(1):28-34.

۲.Raja RJJoH, Diseases T. Hemolytic Disease of the Newborn. 2015.

۳.Clausen FB. Lessons learned from the implementation of non-invasive fetal RHD screening. Expert Rev Mol Diagn. 2018;18(5):423-31.

۴.Costumbrado J, Ghassemzadeh S. Rh Incompatibility. 2017.

۵.Westhoff CMJT. The Rh blood group system in review: a new face for the next decade. 2004;44(11):1663-73.

۶.Wu P, Pai SC, Chen PL. Blood group genotyping goes next generation: featuring ABO, RH and MNS. ISBT Science Series. 2018.

۷. ریچارد ا مف, ماتیو پک, محمد ر, علی م, احمد ف, ناهید نق. خون‌شناسی – انعقاد و طب انتقال خون هنری – دیویدسون ۲۰۱۱: اندیشه رفیع; ۱۳۹۱.

۸. حبیب‌الله گا, صدیقه شز, محمدحسین ق. اصول و روش‌های آزمایشگاهی در بانک خون (ایمونوهماتولوژی): دانشگاه علوم پزشکی شیراز,ادیب مصطفوی; ۱۳۹۳.

۹.Gu J, Sun A-Y, Wang X-D, Shao C-P, Li Z, Huang L-H, et al. Analysis of density and epitopes of D antigen on the surface of erythrocytes from DEL phenotypic individuals carrying the RHD1227A allele. 2014;12(2):244.

۱۰. De Haas M, Thurik F, Koelewijn J, Van der Schoot CJVs. Haemolytic disease of the fetus and newborn. 2015;109(2):99-113.

۱۱. White J, Qureshi H, Massey E, Needs M ,Byrne G, Daniels G, et al. Guideline for blood grouping and red cell antibody testing in pregnancy. 2016;26(4):246-63.

۱۲. van der Schoot CE, de Haas M, Clausen FBJCoih. Genotyping to prevent Rh disease: has the time come? 2017;24(6):544-50.

۱۳. Daley R ,Hill M, Chitty LS. Non-invasive prenatal diagnosis: progress and potential. Archives of Disease in Childhood-Fetal and Neonatal Edition. 2014;99(5):F426-F30.

۱۴. Taglauer E, Wilkins-Haug L, Bianchi DJP. cell-free fetal DNA in the maternal circulation as an indication of placental health and disease. 2014;35:S64-S8.

۱۵. Sørensen K, Kjeldsen-Kragh J, Husby H, Akkök ÇA. Determination of fetal RHD type in plasma of RhD negative pregnant women. Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation. 20.۱۸:۱–۶

۱۶. Harmening DM. Modern blood banking and transfusion practices: FA Davis; 2012.

۱۷. Avent ND. RHD genotyping from maternal plasma: guidelines and technical challenges. Prenatal Diagnosis: Springer; 2008. p. 185-201.

۱۸.Bennardello F, Coluzzi S ,Curciarello G, Todros T, Villa SJBT. Recommendations for the prevention and treatment of haemolytic disease of the foetus and newborn. 2015;13(1):109.

۱۹. Basu S, Kaur R, Kaur G. Hemolytic disease of the fetus and newborn: Current trends and perspectives. Asian J Transfus Sci. 2011;5(1):3-7.

۲۰. Hirose T, Mays DJJoO, Gynaecology. The safety of RhIG in the prevention of haemolytic disease of the newborn. 2007;27(6):545-57.