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

زمینه 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 RBCهای 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 کتابخانه ای: در جمع‌آوری اطلاعات از پایگاه‌هایی نظیر Pubmed، Nature وScience Direct استفاده شده‌است. در این پژوهش از مقالات و کتبی استفاده شده که تا سال 2018 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. در بین انواع روش های تشخیصی NIPT تهاجمی نیست و عوارضی که ممکن است با روش های قدیمی تر ایجاد شود را ندارد.

نتیجه‌گیری: NIPT از هفته 10 بارداری قابل انجام است. اختصاصیت و حساسیت این روش در تشخیص HDFN بالا بوده و خطری جنین را تهدید نمی‌کند. بهتر است از این روش در مادران با Rh^- به منظور تشخیص دقیق Rh جنین استفاده شود تا مصرف نابجای رگام کاهش یابد.

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

Non-Invasive diagnosis of Hemolytic disease of fetus and newborn by cffDNA

Introduction: The most common cause of HDFN (Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn) is Rh incompatibility between mother and fetus. The result of the incompatibility in the mother's body is the creation of allo-antibodies which can pass through the placenta and lead to lysis of embryo's red blood cells. HDFN may cause anemia, jaundice, hepatosplenomegaly, Kernicterus, encephalopathy and also abortion.

Aim: Conventional methods including cordocentesis and amniocentesis, which are used to detect HDFN, are invasive and may lead to abortion, so the importance of NIPT (Non-Invasive Prenatal Testing) is revealed as this methodology does not have the risks of earlier methods and has high accuracy and sensitivity.

Methods: Data collections have been done using databases: PubMed, Nature and Science Direct. To compare and summarize the different diagnostic methods of HDFN, books and articles that have been published by 2018 are studied.

Result: Incompatibility in maternal and fetal blood groups may cause irreversible damage to the fetus, so an early diagnosis can prevent these problems.

Discussion and Conclusion: NIPT can be done from the 10th week of pregnancy. The specificity and sensitivity of this method is high and the risk of abortion does not exist. It is strongly suggested to do NIPT on mothers with Rh^- blood in order to accurately detect fetal Rh type and reduce excessive Rhogam use.

Keywords: HDFN, hemolytic disease diagnosis, cff DNA, NIPT

مقدمه

بیماری همولیتیک جنین و نوزادان (HDFN)[1] اختلالی است که توسط آنتی‌بادی‌های مادری که غالباً از ایمونوگلوبولین‌های G (IgG)[2] هستند و قابلیت عبور از جفت را دارند رخ می‌دهد. این آنتی‌بادی‌ها علیه آنتی‌ژن‌های سطح گویچه‌های قرمز (RBC)[3] 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(1). 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(2).

حدود 1درصد از جمعیت جوامع آسیایی - Rhهستند(3) حساسیت مادران - Rhهنگامی رخ میدهد که در معرض آنتیژن Rh-Dقرار گیرند. این فرآیند هنگامی رخ میدهد که مادر، جنینی با + Rhرا باردار باشد و یا در معرض خونی با + Rhقرارگرفته باشد. اگرچه که در بارداری اول مادر با + Rhجنین مواجهه دارد اما عواقب ناگوار ناسازگاری Rhمعمولاً بر حاملگی اول تأثیر نمیگذارد زیرا جنین اغلب قبل از ساخت طیف گستردهای از آنتیبادیهای ضد Dمتولد میشود و خطر ایجاد بیماریهای همولیتیک در بارداریهای بعدی جنین را تهدید میکند.(4)

تظاهرات بالینی در این بیماری می‌تواند به شکل زردی، هپاتواسپلنومگالی، نارسایی قلبی، افزایش فشار وریدی، ادم، انسداد وربد پورت و هیدروپس فتالیس دیده شود(2).

تحقیقات نشان داده است که روش هایی از قبیل آمنیوسنتز و کوردوسنتز که برای تشخیص HDFN کاربرد دارند در جنین عارضه ایجاد میکنند. آمنیوسنتز یک روش تهاجمی است که میتواند عوارضی مثل سقط خود به خودی جنین بجا گزارد و یا حتی منجر به نشت مایع آمونیوتیک شود. اگرچه که هر روش تهاجمی دیگر هم ممکن است منجر FMH گردد و نهایتاً منجر به برانگیختگی پاسخهای ایمنی شود.(5) همچنین از عوارض کوردوسنتز میتوان به انتقال آلودگی به

جنین، خونریزی جنینی مادری، کاهش ضربان قلب جنین ، هماتوم در بند ناف و سقط جنین شود.(6)

مکانیزم ایجاد بیماری

ورود RBCهای 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)[4] به بدن مادر وارد شوند. در این میان تنها آنتی‌بادی‌های کلاس IgG هستند که قابلیت عبور از جفت را دارند(7-6).

با ورود آنتی‌بادی از طریق جفت به بدن جنین، آنتی‌بادی با آنتی‌ژن در سطح گلبول قرمز باند می‌شود. این گلبول‌های حاوي آنتی‌بادی توسط ماکروفاژهاي سیستم رتیکولواندوتلیال کبد و طحال از جریان خون برداشته می‌شود و این امر سبب همولیز و کم‌خونی در جنین می‌گردد که سبب تحریک اریتروپوئز شده اما احتمالا میزان خون برای جبران کافی نباشد(8).

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 این فرایند باعث ایجاد هایپربیلی‌روبینمی می‌گردد که در این شرایط بیلی‌روبین می‌تواند از سد خوني مغزي عبور کرده و در ساقه مغز و گانگلیون‌های قاعده‌اي مغز رسوب کند(9) و چنانچه درمان انجام نشود باعث ایجاد آسیب-های جبران‌ناپذیری چون کرن‌ایکتیروس می‌شود(10).

تشخیص غیرتهاجمی قبل از تولد (NIPD)[5]

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)[6] اطلاق می‌شود(12-11). از هفته چهارم بارداری این مارکر در نمونه خون مادر یافت می‌شود و با پیشرفت بارداری میزان آن افزایش پیدا می‌کند(13).

اصلی‌ترین مکانیزم برای کنترل آزاد شدن DNA جنینی، آپوپتوز است. از روش NIPD به‌منظور تشخیص تری‌زومی‌های 18،13 و 21 همچنین پیش‌بینی پره‌اکلامپسی و HDFN و حتی تعیین جنسیت جنین استفاده می‌شود(14) همین طور به منظور تشخیص RH جنین و تعیین لزوم پروفیلاکسی در مادران با Rh^- کاربرد دارد(13). طبق آمار حدود 40 درصد از مادران با Rh^- اشتباهاً anti-D پروفیلاکسی دریافت می‌کنند درحالی‌که به کمک این روش می‌توان این آمار کاهش داد(11, 15)زیرا چنانچه جنین Rh^- باشد نیاز به انجام پروفیلاکسی نیست(16).

از دیگر مزایای این روش حساسیت بالای آن است که 99 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 11 بارداری باشد ممکن است جواب آزمایش منفی کاذب گزارش شود. بالاترین حساسیت در هفته‌های 11 تا 13 بارداری وجود دارد(12).

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 $q\text{-PCR}^7$ است زیرا این روش آسان و ارزان است همچنین حساسیت بالایی دارد(3).

پروفیلاکسی

در بسیاری از کشورها روش استاندارد مراقب زنان Rh^- برای جلوگیری از حساس شدن با Rh^+، استفاده از RHIg است(18). 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(18). RHIg از افرادی 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(12).

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 ممکن‌است شدت بروز این علایم افزایش پیدا کند همچنین در موارد نادری اشکال شدیدی از حساسیت گزارش شده است(20).

بحث و 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 آلوآنتی‌بادی‌هایی ساخته می‌شود که قابلیت عبور از جفت را دارند و با اتصال به RBCهای جنینی منجر به تحریک سیستم ایمنی جنین و نهایتا لیز RBCها می‌شوند.(5) 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.(2)

روش هایی چون آمنیوسنتز و کوردوسنتز که به منظور تشخیص HDFN استفاده میشوند اغلب تهاجمی هستند، اختصاصیت ندارند و یا خود عامل تشدید کننده این بیماری هستند. همچنین اقدامات درمانی از قبیل فتوتراپی، تعویض خون و استفاده از ایمونوگلوبولین داخل وریدی که برای جنین انجام میشود بازده کامل نداشته و یا عاری از عارضه نیست.(4-5)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(21) همچنین اختصاصیت و حساسیت روش نزدیک به 100 درصد است.(13) 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. (18)

اختصارات

1. Hemolytic disease of the fetus and newborn
2. Immunoglobulin G
3. Red Blood Cell
4. Fetomaternal hemorrhage
5. Non-Invasive Prenatal Diagnosis
6. cell free fetal DNA
7. quantitative real-time polymerase chain reaction

منابع

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

2.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. 20.18:1-6

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

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

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

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

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

8.Richard A. Moff, Matthew Pack, Mohammad R., Ali M., Ahmad F. Nahid Naq. Hematology - Coagulation and Artificial Blood Transfusion Medicine - Davidson 2011: Andishe Rafie; 1391.

9. Golafshan H, Sharifzade S, Tamadom GH. Laboratory principles and methods in blood bank (immunohematology). Second ed. Shiraz: Shiraz University of Medical Sciences; 1393.

10. 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.

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

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

13. 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.

14. 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.

15. 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.

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

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

18.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.

19. 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.

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

21. Soleimani M, Shanaki M, Habibi H, Ahmadvand M, Dehghanifard A, Saki N. Anemia and hemoglobinopatia. First ed. Tehran: Khosravi; 1390.