

گزارش یک مورد هیدروپس مکرر به علت آلوایمونیزاسیون مادر با آنتیژن Kell

دکتر امیرحسین زرنانی^۱، دکتر افسانه محمدزاده کازرگاه^۲، دکتر معرفت غفاری نوین^۳، دکتر سهیلا عارفی^۴،
دکتر محمدحسین مدرسی^۵، دکتر فاضل شکری^۶، دکتر پونه دوکوهکی^۷، دکتر محمدرضا صادقی^۸، دکتر محمدمهردی آخوندی^۹،
دکتر احمد قره باغیان^{۱۰}، دکتر محمود جلدی تهرانی^{۱۱}

چکیده سابقه و هدف

در خلال بارداری آنتیبادی‌های ضدآنتیژن‌های غیر شایع گروه‌های خونی که از طریق تزریق خون و یا حاملگی‌های قبلی القا می‌شوند، می‌توانند به طور جدی سلامت جنین را تهدید نمایند. در این گزارش یک مورد از آلوایمونیزاسیون مادر با آنتیژن Kell شرح داده شده است.

مورد

بیمار ۲۳ ساله که در تاریخچه پزشکی خود یک مول ناقص و چهار مرگ داخل رحمی جنین به علت هیدروپس فتالیس را ذکر می‌کرد. یک هفته پس از آخرین سقط، به‌منظور بررسی علت سقط مکرر به این مرکز مراجعه نمود.

نتیجه گیری

غربالگری آنتیبادی‌های ضد گروه‌های فرعی خون نشان داد که وی دارای تیتر بالایی از آنتیبادی ضد K (۴۰۹۶:۱) می‌باشد. هم‌چنین آنالیز‌های ژنتیکی نشان داد که وی دارای موتاسیون هموزیگوت C677T در ژن MTHFR است که به طور بالقوه می‌تواند اثرات مخرب آنتیبادی ضد Kell را تشديد نماید. این گزارش اهمیت آگاهی از حضور آنتیبادی‌های ضد آنتیژن‌های غیر شایع گلbulول‌های قرمز را در خلال بارداری نشان می‌دهد.

کلمات کلیدی: حاملگی، هیدروپس، واکنش‌های ایمنی، آنتیژن Kell

-
- مؤلف مسؤول: PhD ایمونولوژی- عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات آنتیبادی منوکلونال پژوهشکده ابن‌سینا- تهران
 - پژوهش عمومی- عضو هیئت گروه جنین شناسی پژوهشکده ابن‌سینا- تهران
 - PhD ایمونولوژی- عضو هیئت علمی گروه جنین شناسی پژوهشکده ابن‌سینا- تهران
 - متخصص زنان و زایمان- عضو هیئت علمی گروه جنین شناسی پژوهشکده ابن‌سینا- تهران
 - PhD ایمونولوژی- عضو هیئت علمی ژنتیک پژوهشکده ابن‌سینا- تهران
 - PhD ایمونولوژی- عضو هیئت علمی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران
 - PhD ایمونولوژی- عضو هیئت علمی گروه ایمنی شناسی پژوهشکده ابن‌سینا- تهران
 - PhD بیوشیمی- عضو هیئت علمی گروه جنین شناسی پژوهشکده ابن‌سینا- تهران
 - PhD جنین شناسی- عضو هیئت علمی گروه جنین شناسی پژوهشکده ابن‌سینا- تهران
 - PhD ایمونوهماتلولوژی بالینی- استادیار مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون- ایران
 - PhD ایمونولوژی- عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات آنتیبادی منوکلونال پژوهشکده ابن‌سینا- تهران

گزارش مورد

فیزیکی نیز نکته مثبتی به دست نیامد. هر دو زوج دارای کاریوتیپ طبیعی بودند. در حاملگی آخر، بیمار آمینوسترن شد ولی براساس نتیجه منفی کومبس غیرمستقیم تنها کاریوتیپ جنین (46XX) مورد بررسی قرار گرفت ولی سطح هموگلوبین جنینی اندازه‌گیری نشد. گروه خون B/RhD بیمار A/RhD مثبت و گروه خون همسر وی B/RhD مثبت بود. در آزمایش‌های هماتولوژی و بیوشیمی نیز نکته خاصی مشاهده نگردید. نتیجه حاصل از دوبار آزمایش کومبس غیرمستقیم منفی بود. بررسی بیمار از نظر آزمایش‌های ایمونولوژی نشان داده بیمار دارای آنتی‌بادی آزمایش CMV¹, روبلا، توکسپلاسمما و هرپس، از کلاس IgG و همچنین دارای آنتی‌بادی ضد پاروروپیروس 19 از کلاس IgM می‌باشد ولی از نظر تمام اتوآنتی‌بادی‌های مورد بررسی منفی است. همچنین CD مارکرهای CD2, CD3, CD4, CD5, CD8, CD19, CD16, CD56 در خون محیطی همگی طبیعی بودند. در الکتروفورز پروتئین، سطح آلبومین پایین تر از حد طبیعی و میزان α2 و گاماگلوبولین بالاتر از حد طبیعی بودند. در الکتروفورز هموگلوبین، مورد غیرطبیعی یافت نشد. بررسی موتاسیون‌های شایع زنی مرتبط با سقط مکرر نشان داد که بیمار از نظر FVL² و پروترومین طبیعی می‌باشد ولی دارای موتاسیون هموزیگوت C677T MTHFR³ در زن⁴ است. در آزمایش‌های هورمونی، به جز افزایش مختصر در پرولاکتین، سایر هورمون‌ها طبیعی بودند. بررسی مجدد کومبس غیرمستقیم در آزمایشگاه تخصصی سازمان انتقال خون نشان داد که آزمایش بیمار برخلاف دفعات قبل مثبت بوده و بیمار دارای تیتر بالایی از آنتی‌بادی ضد K1 (1:4096) می‌باشد. بررسی آنتی‌زن‌های گروه‌های فرعی خون نشان داد که بیمار از نظر سیستم خونی Kell، K2/K2 و همسر وی K1/K2 می‌باشد.

بحث

در این گزارش یک مورد هیدروپس مکرر به علت آلایمونیزاسیون مادر با آنتی K1 مورد بررسی قرار گرفته

سیستم خونی Kell یکی از سیستم‌های آنتی‌زنی گلبول‌های قرمز انسان است که شامل ۲۴ آنتی‌زن مختلف می‌باشد. مطالعات انجام شده نشان می‌دهند که از میان ۲۴ آنتی‌زن مذکور، حداقل ۸ آنتی‌زن با بیماری همولیتیک نوزادان (HDN)^۱ مرتبط هستند. شایع‌ترین این آنتی‌زن‌ها آنتی‌زن‌های این سیستم خونی که موجب HDN می‌شوند (KP^a, K4) Rautenberg^a, Penny^b, K3 (Kp^a, K3) (Ku, K5) Peltz (Js^b, K7) Mattews^a, (Js^a, K6) sutter^a, (Ku, K5) Peltz (Ui^a, K10) Karhulla مطابق با مطالعات اپیدمیولوژیک، آلل K2 در ۹۹/۸٪ افراد فرقه‌ای و ۱۰۰٪ جمعیت سیاه‌پوستان وجود دارد و این در حالی است که فراوانی آلل K1 در دو جمعیت مذکور به ترتیب ۹٪ و ۲٪ می‌باشد (۲). ناسازگاری آنتی‌زنی سیستم Kell بین مادر و جنین می‌تواند به HDN منجر گردد (۳).

جالب است که آنتی‌زن Kell از نظر ایمونوژنیسیتی نسبت به آنتی‌زن RhD در ردیف دوم اهمیت قرار می‌گیرد (۴). با توجه به فراوانی بسیار کمتر آلل K1 در مقابل آلل K2، آلایمونیزاسیون مادر بر علیه آنتی‌زن K1 یک اتفاق نادر در حاملگی به شمار می‌رود. یک خانم ۲۳ ساله یک هفتنه پس از آخرین سقط خود جهت بررسی علت سقط مکرر به این مرکز مراجعه نمود. ولی در طی ۸ سال زندگی مشترک، ۵ بار به طور خودبه‌خودی (بدون استفاده از دارو) باردار شده بود. اولین حاملگی به علت مول ناقص در سن ۱۸ هفتگی خاتمه یافته بود. به دنبال آن بیمار ۴ واحد خون هم‌گروه و سازگار دریافت نموده بود. حاملگی بعدی در سن ۳۰ هفتگی و سه حاملگی آخر در سنین ۱۸ تا ۲۰ هفتگی و همگی به علت مرگ داخل رحمی جنین و هیدروپس خاتمه یافتند. بیمار سیکل منظم داشت و در بررسی‌های ژنیکولوژی غیر از اریتم واژن و التهاب سرویکس مورد خاص دیگر مشاهده نشد. بیمار هیچ رابطه فamilی باشوهر خود نداشت و مورد خاصی از عادات مضر نظری اعتیاد به سیگار و یا مشروب‌های الکلی را ذکر نمی‌کرد. در معاینات

1- Hemolytic Disease of Newborn

2- Cytomegalovirus

3- Factor V Laien

4- Methylentetrahydrofolate reductase

در گلbul‌های قرمز افراد جامعه بسیار کم می‌باشد، با استفاده از آنها نمی‌توان آنتی‌بادی ضد K1 و یا آنتی‌ژن‌های غیرشایع دیگر را ردیابی نمود.

جالب توجه این که حاملگی دوم تا سن ۳۰ هفتگی و حاملگی‌های بعدی تنها تا ۱۸ تا ۲۰ هفتگی ادامه داشته است. به نظر می‌رسد که افزایش تیتر آنتی‌بادی ضد K1 متعاقب هر بار حاملگی، علت اصلی این امر باشد. اگرچه تیتر آنتی‌بادی ضد K1 در بیمار مورد مطالعه بسیار بالا بود ولی مطالعه لگات و همکارانش نشان داد که بین تیتر آنتی‌بادی و شدت بیماری جنین ارتباط معنی‌داری وجود ندارد (۱۰). از طرف دیگر تمام موارد آلایمونیزاسیون مادر برعلیه آنتی‌ژن K1 منجر به مرگ داخل رحمی جنین نمی‌شود (۱۱، ۱۲).

با توجه به توضیحات فوق این احتمال وجود دارد که چهار مرگ داخل رحمی ناشی از هیدروپس در بیمار مورد مطالعه، علاوه بر وجود آنتی‌بادی ضد K1 علت دیگری نیز داشته باشد. مطالعه ژنتیکی سه ژن FVL، پروترومبین و MTHFR نشان داد که بیمار دارای موتاسیون هموژیگوت C677T در ژن MTHFR می‌باشد. اگرچه مطابق با تحقیقات اخیر، موتاسیون‌های هموژیگوت به وسیله القا ترومبوز داخل عروقی با مرگ داخل رحمی جنین در سه ماهه دوم ارتباط معنی‌داری دارد، ولی چنین مواردی معمولاً با هیدروپس همراه نیست (۱۱، ۱۲). بنابراین به نظر می‌رسد که موتاسیون ژن MTHFR در بیمار مورد بررسی بتواند سیر مرگ جنین را تسريع کرده و یا عوارض ناشی از آنتی‌بادی ضد K1 را تشديد نماید.

بررسی آنتی‌بادی ضد پارووویروس B19 پس از آخرین هیدروپس نشان داد که بیمار دارای آنتی‌بادی IgM برضد این ویروس می‌باشد. وجود این آنتی‌بادی نمی‌تواند علت هیدروپس مکرر در بیمار را توضیح دهد، چرا که سیر بالینی اغلب عفونت‌های ویروسی از فاز حاد و با تولید IgM شروع شده و به فاز غیرفعال و بهبود یابنده با تولید IgG می‌انجامد. با توجه به این که بیمار مذکور در طول ۸ سال ازدواج چهار هیدروپس پشت سرهم و با فواصل زیاد را تجربه کرده است، بعيد به نظر می‌رسد که عفونت با ویروس مذکور علت تمام موارد هیدروپس باشد ولی

است. مطالعه جامع اسماعیل و همکارانش نشان می‌دهد که ۲/۷٪ از موارد هیدروپس، علت ایمونولوژیک دارد. از این میان آنتی D، آنتی Kell و آنتی C به ترتیب ۶۲/۵٪، ۲۵٪ و ۱۲/۵٪ موارد را به خود اختصاص می‌دهند. سایر علل هیدروپس (۸۷/۳٪) عمدهاً غیرایمیون بوده و شامل عفونت با پارووویروس B19، انوپلوقیتیک، هیدرووتوراکس اولیه، علل قلبی، سیستیک هیگروم، خونریزی وسیع جفتی، اکنیزی جنین، دیستروفی عضلانی و علل ایدیوپاتیک می‌باشد (۵).

میزان شیوع آنتی‌بادی ضد Kell در مادران حامله بسیار کم است. در یک مطالعه گذشته‌نگر میزان شیوع آنتی‌بادی‌های مهم از نظر بالینی شامل Anti-Fy^a, Anti-D^a و Anti-Kell در زنان حامله‌ای که در طی ۱۲ سال به یک مرکز زنان و زایمان در سوئد مراجعه کرده بودند، تنها ۰/۲۴٪ بود (۶). در یک مطالعه دیگر میزان شیوع آنتی‌بادی ضد Kell در طی حاملگی ۱۱٪ گزارش گردید (۷). هم‌چنین از ۷۶۰۷۶ مورد حاملگی، آنتی‌بادی ضد Kell تنها در ۱۲۷ نفر (۱۲٪) یافت شد. جالب توجه این که با توجه به فراوانی کم ژن K1 تنها ۱۳ جنین واجد آنتی‌ژن K1 بودند (۸).

مطالعات انجام شده نشان می‌دهند که ترانسفوزیون خون و حاملگی هر دو از علل ایمونیزاسیون مادر بر علیه آنتی‌ژن Kell می‌باشند (۷، ۹). اگرچه بیمار پس از اولین بارداری و سقط ناشی از مول ناقص خون دریافت کرده بود، ولی از آنجایی که فراوانی آلل K1 در جمعیت بسیار کم می‌باشد، بعيد است که ترانسفوزیون خون علت پیدایش آنتی‌بادی ضد K1 در وی باشد. از طرف دیگر با توجه به این که شوهر وی از نظر سیستم خونی Kell/K2 می‌باشد، حاملگی و تبادل خونی بین جنین و مادر محتمل ترین راهی است که وی را نسبت به آنتی‌ژن K1 ایمن ساخته است. علیرغم دوبار آزمایش کومبس غیرمستقیم، نتیجه در هر دو مورد منفی بود؛ ولی در آزمایش سوم در سازمان انتقال خون و با استفاده از پانلی از گلbul‌های قرمز که واجد آنتی‌ژن‌های غیرشایع گروه‌های خونی فرعی بودند نتیجه مثبت گزارش گردید. علت منفی بودن آزمایش‌های اول، استفاده از خون جمعیت طبیعی در این دو آزمایش بود و با توجه به این که شیوع آنتی‌ژن K1

ضد Kell، تشخیص ژنتیکی قبل از لانه گرینی جنین است. در مطالعه اخیر ورلینسکی و همکارانش با استفاده از روش PCR، بلاستوسیستهای فاقد آنتی K1 را انتخاب و به طور موفقیت‌آمیزی به مادر واجد آنتی‌بادی ضد Kell متقل نوزادان حاصله (دو قلو) فاقد آنتی‌ژن Kell بودند و کردند. نوزادان حاصله (دو قلو) فاقد آنتی‌ژن Kell بودند و بدون هیچ عارضه‌ای متولد شدند (۱۷).

در مجموع به نظر می‌رسد که غربالگری کلیه موارد مرگ داخل رحمی جنین، HDN و هیدروپس از نظر حضور آنتی‌بادی‌های ضد آنتی‌ژن‌های گروه‌های فرعی خون مادر و هم‌چنین تعیین فنوتیپ آنتی‌ژن‌های گروه‌های خونی فرعی پدر و مادر بتواند در کشف علت نارسایی جنین مؤثر و مفید باشد.

احتمال دخیل بودن این ویروس را در حاملگی آخر نمی‌توان رد کرد.

با توجه به هتروزیگوت بودن شوهر بیمار و هموزیگوت بودن خود بیمار از نظر آنتی‌ژن Kell، در هر حاملگی ۵۰٪ شانس تشکیل جنین فاقد آنتی‌ژن K1 وجود دارد. بررسی آنتی‌ژن‌های گروه خونی Kell به روش PCR با استفاده از سلول‌های مایع آمنیوبیتیک راه قابل اعتمادی برای تشخیص زودرس احتمال هیدروپس در بیمار مذکور می‌باشد (۳، ۱۳-۱۶). در موارد کم خونی شدید جنین، پلاسمافرز و تعویض خون داخل رحمی جنین، راه مؤثری برای درمان کم خونی می‌باشد (۴، ۵، ۶).

یکی از راه‌کارهای جدید و بسیار مؤثر در جلوگیری از هیدروپس جنین و سایر عوارض ناشی از آنتی‌بادی‌های

منابع

- 1- Moise KJ Jr. Non-anti-D antibodies in red-cell alloimmunization. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2000, 92(1): 75-81. Review.
- 2- Vengelen-Tyler V. Technical manual of the American association of blood banks. Bethesda, Maryland: American Association of Blood Banks, 1999.
- 3- Online Mendelian Inheritance in Men (OMIM). Baltimore: John Hopkins University, 2001, at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Omin> [MIM 110900].
- 4- Beadling WV, Cooling L, Henry JB. Immunohematology, In: Clinical diagnosis and management by laboratory methods, Henry JB (ed), Twentieth edition, W.B. Saunders company, 2001, 681-684.
- 5- Ismail KM, Martin WL, Ghosh S, Whittle MJ, Kilby MD. Etiology and outcome of hydrops fetalis. *J Matern Fetal Med*. 2001, 10(3): 175-81.
- 6- Filbey D, Hanson U, Wesstrom G. The prevalence of red cell antibodies in pregnancy correlated to the outcome of the newborn: a 12 year study in central Sweden. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 1995; 74(9): 687-92.
- 7- Mayne KM, Bowell PJ, Pratt GA. The significance of anti-Kell sensitization in pregnancy. *Clin Lab Haematol*. 1990; 12(4): 379-85.
- 8- Caine ME, Mueller-Heubach E. Kell sensitization in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 1986, 154(1): 85-90.
- 9- Grant SR, Kilby MD, Meer L, Weaver JB, Gabra GS, Whittle MJ. The outcome of pregnancy in Kell alloimmunisation. *BJOG*. 2000, 107(4): 481-5.
- 10- Leggat HM, Gibson JM, Barron SL, Reid MM. Anti-Kell in pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol*. 1991, 98(2): 162-5.
- 11- Zetterberg H, Regland B, Palmer M, Ricksten A, Palmqvist L, Rymo L, Arvanitis DA, Spandidos DA, Blennow K. Increased frequency of combined methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C mutated alleles in spontaneously aborted embryos. *Eur J Hum Genet*. 2002, 10(2): 113-8.
- 12- Faas BH, Maaskant-van Wijk PA, Beuling EA, Overbeeke MA, van der Schoot CE, Christiaens GC. Prenatal typing of Rh- and Kell-blood group system antigens. *Ned Tijdschr Geneeske*. 1999, 143(36): 1804-7.
- 13- Lipitz S, Many A, Mitrani-Rosenbaum S, Carp H, Frenkel Y, Achiron R. Obstetric outcome after RhD and Kell testing. *Hum Reprod*. 1998, 13(6): 1472-5.
- 14- Van Kamp IL, Klumper FJ, Meerman RH, Brand A, Bennebroek Gravenhorst J, Kanhai HH. Blood group immunization: results of treatment of fetal anemia with intra-uterine intravascular blood transfusion in the Netherlands, 1987-1995. *Ned Tijdschr Geneesk*. 1999, 143(50): 1517-31.
- 15- Collinet P, Subtil D, Puech F, Vaast P. Successful treatment of extremely severe fetal anemia due to Kell alloimmunization. *Obstet Gynecol*. 2002, 100(5 Pt 2): 1102-5.
- 16- van Kamp IL, Klumper FJ, Meerman RH, Oeples D, Scherjon SA, Kanhai HH. Treatment of fetal anemia due to red-cell alloimmunization with intrauterine transfusions in the Netherlands, 1988-1999. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2004; 83(8): 731-7.
- 17- Verlinsky Y, Rechitsky S, Ozen S, Masciangelo C, Ayers J, Kuliev A. Preimplantation genetic diagnosis for the Kell genotype. *Fertil Steril*. 2003; 80(4): 1047-51.

A case report of recurrent hydrops fetalis due to maternal alloimmunization with Kell antigen

Zarnani A.H.¹, Mohammadzadeh Kazorgah A.², Ghaffari Novin M.³,
Arefi S.⁴, Modarresi M.H.³, Shokri F.⁶, Dokuhaki P.⁵, Sadeghi M.R.²,
Akhoondi M.M.², Gharehboghian A.⁴, Jeddi Tehrani M.¹

¹Monoclonal Antibody Research Center, Avecina Research Center, Tehran

²Embryology Department, Avecina Research Center, Tehran

³Genetic Department, Avecina Research Center, Tehran

⁴Iranian Blood Transfusion Organization-Research Center

⁵Immunology Department, Avecina Research Center, Tehran

⁶Health College of Tehran Medical University

Abstract

Background and Objectives

During pregnancy, irregular blood group antibodies originating either from earlier pregnancies or from blood transfusions may severely affect child health. In this report, a case of maternal alloimmunization to Kell antigen is described.

Case

The mother had a history of partial mole and four repeated intrauterine fetal death due to hydrops fetalis.

Conclusions

Screening of irregular blood group antibodies revealed that she has anti-Kell with the titer of 1:4096. Also in genetic analysis, a C677T homozygous mutation of MTHFR gene was found, which could potentially enhance destructive effects of anti-Kell antibody. The described case emphasizes the importance of being informed about the presence of irregular blood group antibodies during pregnancy which may cause recurrent hydrops.

Key words: Pregnancy, Hydrops, Immunization, Kell antigen

Correspondence: Zarnani A.H., PhD, Monoclonal Antibody Research Center, Avecina Research Center
Tel.: (+9821) 2402011; Fax : (+9821) 2413641
E-mail: zarnani25@yahoo.com