

## پرورشی دوپیست مورد گلبول سرخ جنینی در خون محیطی مادر

(بارنگ آمیزی جدید)

دکتر ملیحه طبیبی \*

این روش برای شناسائی گلبولهای قرمز جنینی در خون مادر بکار می رود، سریع و آسان است و احتیاج بوسائل تخصصی زیاد ندارد. جمع وسایل و محلولهای مورد احتیاج این آزمایش بدین شرح است:

۱- میکروسکپ ۲- ظروف شیشه ای کاملاً تمیز ۳- کاغذ PH متر ۴- ساعت ثانیه شمار ۵- ترازوی حساس.

محلولها: ۱- الکل متیلیک ۰.۸٪ ۲- محلول Mellvaines

که عبارتست از ۱۶۰ میلی لیتر اسید سیتریک و ۴۰ میلی لیتر سدیم فسفات و از محلول ذخیره ای A و B درست میشود.

محلول O/M-A اسید سیتریک (۱۹/۲ گرم در لیتر)

محلول B-۰.۲٪ M فسفات دی سدیم (۲۸/۴ گرم در لیتر)

این محلول باید در یخچال نگاهداری شود تا فاسد نشود.

۳- محلول Biebrich scarlet: برای تهیه آن ۲ گرم

پودر بیبریچ اسکارلت را در آب حل میکنیم و ۰/۶ گرم

فسفو تنگستیک اسید و ۱۰ میلی لیتر اسید استیک گلاسیال و ۲۰۰ میلی

لیتر الکل اتیلیک ۰/۵۰ به آن اضافه میکنیم.

۴- آنیلین بلو Anilin Blue مقدار کمی (یک Pinch)

از آن را در آب حل می نمائیم.

۵- آب مقطر تازه.

روش انجام آزمایش - خون وریدی بیمار را در لوله محتوی

اکسالات آمونیوم و اکسالات پتاسیم ریخته بدقت مخلوط مینمائیم.

در ظرف ۲۴ ساعت از نمونه خونی که در یخچال نگاهداری

شده است اسیر تهیه می نمائیم. اسیر را لااقل ۱۵ دقیقه در برابر

هوا خشک میکنیم و بعد ۵ دقیقه در الکل ۰/۸۰ قرار می دهیم

مقدمه: باطرق رنگ آمیزی مختلف در طی چند سال اخیر موفق شدند که سلولهای جنینی را در خون مادر و در ماههای مختلف حاملگی پیدا نمایند و در طی این مدت نامگذاریهای مختلفی نموده اند:

1- Fetomaternal - Hemorrhage

2- Trans Placental - Hemorrhage

3- Fetomater Transfusion (F.M.T)

تاکنون روشهای مختلف و متعددی برای رنگ آمیزی گلبولهای قرمز جنین در خون زنان باردار پیشنهاد شده است که ساده ترین روش که با حداقل وسایل و امکانات مختصر انجام و در هر آزمایشگاهی میسر است، و با چشم ورزیده امکان اشتباه آن کم است طریقه Clayton و همکارانش [۲] می باشد که مادر بیمارستان شماره ۳ کمک برای تشخیص گلبولهای قرمز جنین در بدن مادر از آن استفاده کرده ایم و با استفاده از این روش سلولهای جنینی همیشه صاف هموزن و برنگ آبی و دارای هاله مشخص دیده میشوند. بایستی متذکر شد که تشخیص گلبولهای قرمز جنین در بدن زنان باردار از نظر پیش گیری در تولید آنتی Rh اهمیت فوق العاده ای دارد.

طریقه آزمایش - دو طریقه رنگ آمیزی [۲] که سلولهای جنینی را بعد از زایمان در خون مادر نشان می دهد و در ۲۰۰ مورد در آزمایشگاه بیمارستان شماره ۳ کمک انجام داده ایم در این مقاله شرح داده میشود:

ابتدا به شرح روش دوم که سهل تر می باشد و همانطوریکه قبلاً ذکر شد در کلیه آزمایشگاهها انجام آن امکان پذیر است میپردازیم.

برای اولین بار با طرق رنگ آمیزی خاصی که قبلا شرح داده شده وجود گلبولهای قرمز جنینی را در خون مادر نشان دادند که بدین ترتیب زمینه تحقیقاتی بزرگی گشوده شده و در جریان کار با اشکالات فراوانی روبرو شدند که از جمله جوا بهای متضادی بود که در ضمن آزمایشها بدست می آمد تا اینکه با سعی و کوشش فراوان توانستند دو رنگ آمیزی پیدا کنند که گلبولهای قرمز جنینی را در بین گلبولهای قرمز بالغ نشان می داد.

در سال ۱۹۶۵ سه دانشمند (Gorman-Fred-Pollak) گزارش دادند که Anti RhD را برای پیشگیری از تولید آنتی Rh در خون زنان پس از زایمان بکار برده اند و نتایج آن موفقیت آمیز بوده است.

Mollison [۳] در سال ۱۹۶۷ نشان داد که آنتی ژن Rh در گلبولهای قرمز جنینی هفته های پنجم و ششم حاملگی وجود دارد [۸]. گلبولهای قرمز جنینی در جریان خون مادر در ماه ششم و هفتم بطور طبیعی زیاد شده است که از آن پس بتدریج زیادتر می شود، این موضوع توسط دانشمندان سوئدی در جنین ده میلی متری نیز به ثبوت رسیده است [۶].

بنابراین در موقعی که جنین سقط میشود و در مرحله اولیه حاملگی ممکن است آنتی Rh در خون مادر بوجود بیاید حتی مقدار خیلی کمی از خون جنینی قابلیت حساس کردن گلبولهای سرخ مادر و تولید آنتی Rh را در بدن مادر دارند و هر چه حاملگی پیشرفت نماید [۸] احتمال وارد شدن گلبولهای قرمز جنین در خون مادر بیشتر است. در مورد سقط جنین و یا ضایعات جفتی و یا کورتاژ یا اعمال جراحی دیگر این امکان وجود دارد ولی در موقع زایمان این امکان افزایش می یابد و بهمین جهت بهتر است هر چه زودتر آزمایشهای پیشنهاد شده را انجام داد تا بتوان درمان پروویلاکتیک نمود.

در سال ۱۹۷۰ [۸] Minchin و Bhoyree تعدادی بیماران در حالات مختلف خونریزی قبل از زایمان و عده ای با خونریزی طولانی را بعلمت تهدید به سقط مورد رسیدگی قرار دادند و در نتیجه معلوم شد که هر چه سلول جنینی بچه (F.M.T) بیشتر باشد زجر جنین و انفارکتوس جفت در موقع زایمان بیشتر است، در مراقبت های بعد از زایمان باید بلافاصله بند ناف را قطع نمود و اجازه داد که خون جنینی بخارج جریان یابد و در نتیجه مقدار F.M.T بطور وضوح در خون مادر کاهش می یابد و در مورد مادران Rh منفی در ظرف ۳۶ ساعت پس از زایمان ایمنو گلوبولین آنتی D تزریق شود که این روش در پیشگیری آنتی بادی ضد Rh خیلی مؤثر و موفقیت آمیز است. گاهی اوقات آنتی F.M.T زیاد است که پیشگیری از پیدایش آنتی بادی را غیر ممکن می سازد و حتی گاهی اوقات در مواردی که سلول جنینی در خون مادر دیده، نمیشود معذک از نظر پیشگیری ممکن است آنتی بادی D ضروری

آنگاه کاملاً شسته می دهیم سپس ۲۰ ثانیه در بافر مک ایلوین مخلوط با انیلین بلو قرار می دهیم و بعد لام را با آب مقطر خوب شستشو داده دو دقیقه در رنگ بی بریج اسکارلت قرار می دهیم. سپس در دو ظرف جداگانه آب مقطر آنرا شسته و داده و بعد در برابر هوا خشک میکنیم در این روش لازم است که اسمیر را ۵ دقیقه در الکل ۰/۸۰ فیکس (ثابت) نمود و پس از شستشو آنرا در بافر مک ایلوین فرورد. (PH = ۲/۹) تهیه شده از ۱۶۵ میلی لیتر اسید استیک و ۳۵ میلی لیتر سدیم فسفات) در ظرف همین مدت محدود همو گلوبین بالغ بر رنگ لاکمی در آمده و همو گلوبین فتال خصوصیات خود را حفظ میکند.

لازم است که لامها خیلی نازک تهیه شود زیرا خواندن آنها خیلی دقیق تر خواهد بود و ماده ضد انعقادی اکسالات دآمونیم و اکسالات پتاسیم عملی تر است و اگر الکل از ۰/۸۰ رقیق تر باشد ممکن است اسمیرها در موقع شسته شدن پاک شوند.

خصوصیات رنگ پذیری: در شاهد مثبت، سلولهای جنینی همیشه بصورت یک سلول هموزن صاف و یکنواخت ظاهر میشوند. سلولهای جنینی خیلی پر بعلمت کاهش مقدار همو گلوبین F مانند یک سلول عادی رنگ می گیرند. رتیکولوسیتها بدون رنگ با مامبران مشخص آبی خاکستری هستند، سیتوپلاسم چند هسته ای کاملاً پاک شده. در حالیکه هسته ها بطور مشخص بر رنگ صورتی شده اند که در آنها رشته های آبی رنگ دیده میشود. در لنفوسیتها سیتوپلاسم کاملاً پاک میشود و هسته قرمز رنگ است و گلبولهای سرخ صاف هموزن بر رنگ قرمز اسکارلت و دارای هاله مشخص می باشد. سلولها تیکه بطور ناقص رنگ شده اند یا سلولهای انترمدیر بر رنگ آبی کم رنگ مشخص و بدون هاله هستند.

در اسلایدهای منفی هیچ سلولی با سلول منفی اشتباه نمیشود بجز هسته های سلولهای لنفوسیت و چنانچه توجه داشته باشید بر رنگ اسکارلت گلبولهای سرخ جنینی در مقابل رنگ قرمز پریده و با صورتی رنگ لنفوسیتها، هیچگونه اشکالی در تشخیص باقی نمی گذارد.

#### بحث

در سال ۱۹۳۹ لوین و همکارانش [۷-۵-۴] موفق شده اند که تئوری خود را در مورد حساس شدن مادر در نتیجه آنتی ژن جنینی که از پدر به بچه به ارث رسیده است در گروه های مختلف خونی شرح داده و بعداً که موضوع Rh کشف گردید آنان نیز بنوبه خود وجود آنتی کورهای مختلف را در زمان حاملگی ذکر کردند و بعد در سال ۱۹۴۱ Katzin-Burnham گزارش دادند که علت وجود آنتی Rh در خون بعضی از مادران تبادل خونی بین جفت و خون مادر است [۷]. در سال ۱۹۵۷ Betke-Kleinauer

\*\*\*

ما تصور می‌کنیم که تکنیک دوم برای مطالعه اسلایدهای بعد از زایمان کافی است و بیشتر از تکنیک Kleihauer - Betke [۲] برای این منظور عملی تر است. مزیت تکنیکی دوم اینست که سهولت تهیه میشود، سرعت عمل بیشتری دارد، زمان کمتری احتیاج دارد و در هر آزمایشگاهی که علاقمند به مطالعه ترانسفوزیون خون جنینی باشند قابل انجام است و از تکنیک اول بایستی در تحقیقات قبل از زایمان برای ترانسفوزیون خون جنینی استفاده کرد و قطعاً روش تحقیقاتی در لابراتورها بشمار می‌آید. چون در این تکنیک دوم اسیدیته شدید بکار میرود که خطر از بین رفتن مایه‌های سلولهای بالغ در جریان پاک شدن وجود دارد. با وجود آنکه دقت این تکنیک مساوی تکنیک اول است باز هم یادآور میشویم که اختلاف رنگ آمیزی مختصری در تکنیک دوم هم وجود دارد. و مهمترین امتیاز هر یک از این متدها در اختلاف به قدرت رنگ آمیزی Biebrich Scarlet و Anilin-Blue می‌باشد.

بنظر برسد در این موارد به کلیه افرادی که اختلاف Rh دارند در صورتیکه نوزاد با مادر اختلاف Rh داشته باشد، باید فوراً ایه و نوگلوبولین D تزریق نمود.

مبدأ جنینی گلوبول قرمز [۱] - در جنین تمام سلولهای خونی از مزانشیم مشتق میشود یعنی از بافت ملتحمه جنینی در دو ماه اول زندگی جنینی خون در داخل کیسه جنینی تشکیل میشود (Yolk Sac) بعداً کبد محل عمده خونسای تا ماه هفتم میشود و در این جریان طحال هم به کبد در امر خونسازی کمک میکند. خونسازی در مغز استخوان از ماه سوم شروع میشود و از ماه پنجم تا موقع زایمان تدریجاً عمل خونسازی را از کبد میگیرد، بطوریکه در ماه هفتم مغز استخوانها محل عمده خونسازی میشوند و بعد از تولد فقط مغز استخوانها محل خونسازی هستند، منظور از خونسازی ساخته شدن سلولهای سری اریتروئید و ماکاروسیت است.

بررسی در نزد دویست بیمار

نوع	تعداد	بیماران مثبت	بیماران منفی	تعداد سلول
زایمان	۱۳۰	۸۰	۵۰	۵-۱۰
کورتاژ	۲۰	۱۲	۸	۳-۴
سقط	۴۰	۱۶	۲۴	۲-۳
سزارین	۱۰	۶	۴	۲-۳

### References

- 1- Clinical Haematology in Medical Practice de Grochy
- 2- Obstetrics Gynecology of 1970 Volume 35 No 4
- 3- Amer. J. Obs. and Gyn. 1967 Volume 99
- 4- Symposium on Rhogon, april 1969
- 5- J. Blood Vol - 23 1964
- 6- J. Obst. and Gyn. Brit Cwlth Feb. 1970 Vol. 77
- 7- Klin Wechr Vol. 35 1957
- 8- J. Obst. and Gyn. Brit Cwlth. Sep. 1970 Vol. 77