

مقدمه

تا قبل از سال ۱۹۰۰ میلادی، اکثر انتقال خونهایی که انجام می گرفت منجر به مرگ شخص گیرنده خون می شد. دانشمندان هم دلیل این امر را نمی دانستند تا اینکه در سال ۱۹۰۰ میلادی، آقای کارل لند اشتاینر (Karl Landsteiner) آنتی ژنهای گروه خونی ABO را کشف کرد. اگر چه با کشف گروه خونی ABO تا حد زیادی، واکنشهای خطرناک انتقال خون کاهش یافت، ولی به طور کامل نتوانست از این واکنشها جلوگیری نماید. بتدریج در سالهای بعد دانشمندان حدود ۲۰ نوع گروه خونی دیگر من جمله P، Lewis، MNS، Kidd، Kell، Duffy، Rh و ... را با بیش از ۶۰۰ نوع آنتی ژن کشف کردند، که آنتی ژنهای آنها ممکن است بر سطح گلبولهای قرمز افراد وجود داشته باشد. اما در بحث انتقال خون، گروههای خونی ABO و ارهاس (Rh) مهمترین هستند. در علمی به نام ایمونوهماتولوژی درباره گروههای خونی مختلف بحث می شود.

اهمیت مطالعه گروههای خونی

- (۱) انتقال خون سالم و بی خطر (Safe)
- (۲) حل اختلافات اصل و نسبی (ابوت و بنوت). که فقط می توان والدین غیر واقعی را تشخیص داد، اما تشخیص والدین حقیقی با استفاده از روشهای ژنتیکی مانند تعیین نوع HLA (HLA Typing) و یا روش انگشت نگاری DNA (DNA Fingerprinting) صورت می گیرد.
- (۳) رابطه بین بعضی از گروههای خونی با بعضی از بیماری ها. مثلا افراد سیاهپوست نسبت به انگل مالاریا (پلاسمودیوم ویواکس) مقاوم تر هستند. زیرا بر سطح گلبولهای قرمز این افراد آنتی ژنهای a و b سیستم گروه خونی دافی (Duffy) وجود ندارد. مطالعات نشان می دهد که آنتی ژنهای a و b گروه خونی دافی به عنوان گیرنده انگل مالاریا برای ورود به گلبولهای قرمز عمل می کنند.
- (۴) پیوند اعضا. در هنگام پیوند اعضا شخص دهنده و گیرنده پیوند، می بایست از نظر آنتی ژنهای گروه خونی ABO سازگار باشند. زیرا آنتی ژنهای گروه خونی ABO علاوه بر سطح گلبولهای قرمز، بر سطح تمام بافتهای بدن نیز وجود دارند. و در صورت عدم سازگاری موجب رد سریع بافت پیوندی می شوند.
- (۵) رابطه خونی بین مادر و جنین. به خصوص در مورد گروه خونی Rh، که در مبحث گروه خونی ارهاس بطور مفصل در مورد آن بحث شده است.
- (۶) پزشکی قانونی

چگونگی بروز آنتی ژنهای A و B گروه خونی ABO بر سطح گلبولهای قرمز

برای ظهور آنتی ژنهای A و B فعالیت حداقل دو دسته از ژنها در فرد الزامیست: ژن H و ژنهای A و B. که ژن H بر روی کروموزوم ۱۹ و ژنهای A و B بر روی کروموزوم شماره ۹ واقع هستند. ژن H به صورتهای زیر ممکن است به ارث برسد:

(۱) HH (۲) Hh (۳) hh

هر ژن مسئول ساخت یک پروتئین است. در دو حالت ۱ و ۲ ژن H محصول پروتئینی خود را که یک آنزیم است، کد می نماید.

بر سطح RBC ها حدود یک میلیون تا یک میلیون و دویست هزار پیش ساز ماده H، وجود دارد. محصول ژن H آنزیمی به نام **فوکوزیل ترانسفراز** است که قند L فوکوز را به پیش ساز ماده H منتقل می کند و در اثر این انتقال، پیش ساز ماده H به ماده H تبدیل می شود. ماده H سطح گلبولهای قرمز، به عنوان یک پایه یا داربست (Base) برای ساخته شدن آنتی ژنهای A و B عمل می کند.

بر اساس این که شخص چه ژنهایی را از پدر و مادر خود به ارث برده باشد انواع مختلف فنوتیپهای گروه خونی ABO (A, B, AB, O) بوجود می آید.

- اگر فرد ژن A (AA یا AO) را به ارث برده باشد، محصول ژن A آنزیم ان-استیل گالاکتوز آمینیل ترانسفراز (N-Acetyl-galactosaminyl transferase) است که قند ان-استیل گالاکتوز آمین را بر روی ماده H منتقل می کند. با اضافه شدن این قند به ماده H، آنتی ژن A شکل می گیرد. شخصی که آنتی ژن A را بر سطح RBC های خود دارد، دارای گروه خونی A می باشد.
- اگر فرد ژن B (BB یا BO) را به ارث برده باشد محصول ژن B آنزیمی به نام گالاکتوزیل ترانسفراز (galactosyl transferase) است که این آنزیم قند گالاکتوز را به ماده H منتقل می کند، با اضافه شدن این قند به ماده H، آنتی ژن B شکل می گیرد. شخصی که آنتی ژن B را بر سطح RBC های خود دارد دارای گروه خونی B می باشد.
- اگر شخصی هر دو ژن A و B (AB) را به ارث برده باشد هر دو آنزیم عمل کرده، تعدادی از مواد H به آنتی ژن A، و تعدادی دیگر به آنتی ژن B تبدیل می شود و تعداد کمی هم به صورت آزاد بر سطح گلبولهای قرمز باقی می ماند. شخصی که هم آنتی ژن A و هم آنتی ژن B را بر سطح RBC های خود دارد، دارای گروه خونی AB می باشد.
- اگر فرد هیچ ژنی را از پدر و مادر خود به ارث نبرده باشد (صفر یا O) هیچ آنزیمی تولید نمی شود و در نتیجه هیچ قندی به ماده H منتقل نمی شود و ماده H دست نخورده بر سطح گلبولهای قرمز باقی می ماند. شخصی که نه آنتی ژن A و نه آنتی ژن B را بر سطح RBC های خود داشته باشد، دارای گروه خونی صفر یا O می باشد.

Oh بمبئی

اگر فردی از نظر ژنتیکی به صورت hh (حالت ۳) باشد، آنزیم فوکوزیل ترانسفراز ساخته نمی شود و بالطبع پیش ساز H به ماده H تبدیل نخواهد شد. چنین افرادی دارای فنوتیپ بمبئی (Oh Bombay) می باشند، زیرا این افراد برای اولین بار در بمبئی هندوستان دیده شدند.

ژن Se

این ژن بر روی کروموزوم شماره ۱۹ واقع شده است. ژن Se (Secretor یا ترشحی) ممکن است به یکی از حالتیهای زیر از پدر و مادر به ارث رسد:

(۱ Se Se (۲ Se se (۳ se se

در حالتیهای ۱ و ۲ ژن مذکور فعال است. وقتی این ژن فعالیت کند، باعث می شود آنتی ژنهای A و B و H علاوه بر اینکه بر سطح RBC ها دیده می شوند، در مایعات مختلف بدن از جمله بزاق، خلط، عرق، اشک، شیر مادر، پلاسما، مایع منی، شیره معده، مایع آمنیوتیک و غیره ترشح شوند. ۸۰ درصد انسانها ژن Se را دارند (حالتیهای ۱ و ۲) و به اصطلاح سکریتور می باشند و ۲۰ درصد دیگر ژن Se را به ارث نمی برند (حالت ۳) و در اصطلاح نان سکریتور می باشند.

در جدول زیر می توانید، خلاصه مطالب فوق را مشاهده نمایید:

نوع آنتی بادی موجود در سرم	نوع آنتی ژن موجود بر سطح RBC	شاخص قندی	ژنوتیپ	فنوتیپ (گروه خونی)
anti-B	A و H	ان-استیل گالاکتوز آمین	AA AO	A
anti-A	B و H	گالاکتوز	BB BO	B
ندارد	A و B و H	ان-استیل گالاکتوز آمین و گالاکتوز	AB	AB
anti-B و anti-A	H	ال فوکوز	OO	O
anti-H و anti-B و anti-A	ندارد	ندارد	هر کدام از حالات فوق	Oh bambay

تعیین گروه خونی ABO

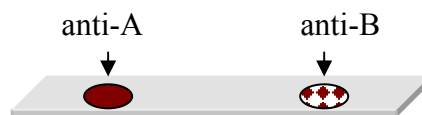
تعیین گروه خونی ABO به دو روش مستقیم (Cell, Direct or front type) و غیر مستقیم (Back, Indirect or reverse type) انجام می شود.

روش مستقیم (Cell Type): که در این روش با استفاده از آنتی بادی ضد آنتی ژن A و B به دنبال آنتی ژنهای A و B بر سطح RBC ها می گردیم.

روش غیر مستقیم (Back Type) : که به دنبال آنتی بادهای ضد آنتی ژن A و B در سرم شخص می گردیم.

روش مستقیم

❖ روش اسلایدی: بروی لام مخصوص در فاصله مشخص دو قطره خون کامل یا دو قطره گلول شسته شده می ریزیم، سپس به یکی از قطره ها anti A و به دیگری anti B اضافه می کنیم و با اپلیکاتور مخلوط می کنیم و قطره را به اندازه یک دایره ۲ سانتی متری پهن می کنیم. لام را در دست گرفته ، به آرامی حرکت دورانی می دهیم. و از نظر آگلوتیناسیون (ذرات درشت RBC های به هم چسبیده که در مایع شناور می باشند) بررسی می کنیم. بسته به اینکه واکنش آگلوتیناسیون در کدامیک یا هر دو و یا هیچکدام از دو قطره خون صورت گرفته باشد گروه خونی فرد را از جدول شماره ۲ می خوانیم. به عنوان مثال در شکل زیر واکنش آگلوتیناسیون تنها در قطره خونی که به آن anti-B اضافه شده است مشاهده می شود پس با توجه به جدول شماره ۲ گروه خونی این فرد B می باشد.



جدول شماره ۲

گروه خونی	واکنش گلبولهای قرمز با		واکنش سرم با گلبولهای قرمز معرف	
	anti-A	anti-B	A cell	B cell
A	+	-	-	+
B	-	+	+	-
AB	+	+	-	-
O	-	-	+	+

❖ آگلوتیناسیون مثبت - آگلوتیناسیون منفی

❖ روش لوله ای: برای انجام این روش، نیاز به سوسپانسیون ۵ درصد از گلبولهای قرمز شخص می باشد.

روش تهیه سوسپانسیون ۵ درصد گلبولهای قرمز

ابتدا مقداری خون کامل (بطور مثال یک سی سی) حاوی ماده ضد انعقاد را در لوله آزمایش ریخته، به آن سرم فیزیولوژی (۸/۵ گرم بر لیتر) اضافه می کنیم. درب لوله را با پارافیلیم بسته و لوله را جهت بهتر مخلوط شدن وارونه می کنیم. سپس لوله را به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۲۵۰۰ rpm سانتریفیوژ می کنیم. بعد از سانتریفیوژ، RBC ها به علت سنگینی و نیروی گریز از مرکز ته نشین می شوند. محلول رویی را که کدر رنگ است بیرون می ریزیم و دوباره سرم فیزیولوژی تمیز اضافه می کنیم و مجدداً سانتریفیوژ می کنیم. سه بار عمل شستشو را انجام می دهیم. پس از اتمام مرحله سوم شستشو و قبل از دور ریختن مایع رویی حجم گلبولهای قرمز ته لوله را می خوانیم. حال پس از دور ریختن مایع رویی ۲۰ برابر حجم قرائت شده، سرم فیزیولوژی تمیز به لوله اضافه می کنیم. سوسپانسیونی که به این ترتیب بدست می آید یک سوسپانسیون ۵

درصد می باشد که از آن برای تعیین گروه خونی به روش لوله ای، استفاده می کنیم. برای انجام این روش، دو لوله را با حروف A و B نام گذاری کرده، در لوله A، anti_A و در لوله B، anti_B می ریزیم، به هر یک از لوله ها یک قطره از سوسپانسیون ۵ درصد اضافه می کنیم، با تکان دادن لوله ها، قطره های داخل لوله ها را مخلوط کرده و سپس لوله ها را به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق می گذاریم و گروه خونی را مثل روش اسلایدی از جدول شماره ۲ تفسیر می کنیم.

روش غیر مستقیم

در این روش به سوسپانسیون ۵ درصد از گلبولهای قرمزی که می دانیم چه نوع آنتی ژنی بر سطح خود دارند (گلبولهای قرمز معرف) نیاز داریم یعنی گلبولهای قرمز معرف A و B. دو لوله را با حروف A و B نام گذاری می کنیم، به هر یک از لوله ها یک قطره از سرم شخصی که نمی دانیم چه آنتی بادی دارد، اضافه می کنیم. سپس به لوله A، گلبول های قرمز معرف A و به لوله B، گلبول های قرمز معرف B را اضافه می کنیم. با تکان دادن لوله ها، قطره های داخل لوله ها را مخلوط کرده و سپس لوله ها را به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق می گذاریم. پس از این مدت لوله ها را از نظر آگلوتیناسیون بررسی کرده و از روی جدول ۲ گروه خونی فرد را تعیین می کنیم.

مطالب این قسمت با همکاری خانمها سیما صادقی و مریم صاحب الزمانی تهیه شده است.