Gynäk. Rdsch. 1985;25:40-41

Nachweis fetaler Erythrozyten mittels fluoreszenzaktiviertem Zellsorter (FACS) im mütterlichen Blut unmittelbar nach der Geburt

A.L.	Arnold L.	Medearis
P.A.	Paul A.	Hensleigh
D.R.	David R.	Parks
L.A.	Leonhard A.	Herzenberg

Departments of Gynecology and Obstetrics and Genetics, Stanford University Medical School, Stanford, Calif, USA

Der transplazentare Übertritt fetaler Erythrozyten ist ein bekanntes biologisches Phänomen, welches während der Wehen und Geburt ein vor-herrschendes Problem darstellt. Erstmals wurde dieses Phänomen 1954 von Chown aufgezeigt. Erste Versuche, die Häufigkeit dieses Geschehens und die Menge der fetalen Erythrozyten im mütterlichen Blutkreislauf nachzuweisen, wurden 1957 von Kleinhauer und Mitarbeitern nach dem Kleinhauer-Betke-Test, einer Säureverdünnungsmethode, durchgeführt. Aber erst durch die sogenannte Fluoreszenz-AK-Methode war es möglich, auch eine sehr geringe Anzahl fetaler Erythrozyten im mütterlichen Blut nachzuweisen. In zahlreichen Arbeiten wurde mittels verschiedenster Methoden das Vorhandensein fetaler Zellen unmittelbar post partum im mütterlichen Blut in 15-55% der Fälle nachgewiesen. Auch die verwendeten hochspezifischen Erythrozyten-Marker waren ungenau, wenn die Anzahl der kleineren Zellpopulationen zu gering war.

Der fluoreszenzaktivierte Zellsorter, welcher von Bonner und Mitarbeitern entdeckt und von Herzenberg beschrieben wurde, bietet die Möglichkeit, fluoreszenzmarkierte Zellen entsprechend ihrer Grösse und der Fluoreszenzintensität zu analysieren und zu sortieren. In diesem Zellsorter werden Zellen in einer Einzelzellsuspension durch einen Laserstrahl geführt. Die Reflexion und Brechung des Laserstrahls sowie die durch den Laserstrahl angeregte Fluoreszenz von an der Oberfläche gebundenen Fluorochromen kann damit exakt gemessen werden. Die Analyse der Messdaten ermöglicht die Kenntnis der Zellgrösse, Zellstruktur und – nach entsprechender Vorbehandlung – auch der Oberflächenantigene

Kurzfassungen von Zeitschriftenartikeln

41

sowie der intrazellulären Antigene (AG) der Zelle. Das Auszählen und Anreichern einer sehr geringen AG-positiven Zellpopulation innerhalb einer grossen Population AG-negativer Zellen ist durch den Zellsorter möglich.

Nach dieser empfindlichen Methode der indirekten Immunfluoreszenz mittels Zellsorter wurden in dieser Studie die Häufigkeit und Menge fetaler Blutungen in das mütterliche System während der Wehentätigkeit und Geburt anhand der Anzahl fetaler Zellen im mütterlichen Blutkreislauf unmittelbar nach spontan vaginaler Entbindung bestimmt. Bei allen 15 Müttern, welche unmittelbar post partum untersucht wurden, fand man zirkulierende Rh-positive Zellen, wobei

das Verhältnis von Rh-positiven zu Rh-negativen Erythrozyten 1:14 100 im mütterlichen Blut betrug, was einem mittleren fetalen Blutübertritt von 156 µl entspricht. Für diese Analyse wurden nur Rh-negative Frauen herangezogen, welche von Rh-positiven, ABO-kompatiblen Kindern entbunden worden waren. Keine dieser Frauen hatte einen positiven Coombs-Test oder war vor der Geburt oder postpartalen Blutabnahme mit Rh-Ig behandelt worden. Nur 1 Patientin musste wegen einer vorangegangenen Splenektomie ausgeschlossen werden.

Man konnte mittels Zellsorter sowohl in dieser Studie wie auch in früher durchgeführten – allerdings nicht publizierten – Untersuchungen nachweisen, dass alle Rh-negativen Frauen post partum Rh-positive fetale Erythrozyten hatten, was vermuten lässt, dass der fetal-maternale Blutübertritt in jedem Fall stattfinden dürfte, dass es jedoch erst ab einer Menge von über 100 µl fetalem Blut bzw. ab einem Verhältnis von über 1:20 000 (Verhältnis von fetalen zu mütterlichen Erythrozyten) zu einer Immunisierung kommen dürfte.

Für die Praxis hätten wir mittels FACS eine Methode, welche empfindlich genug ist, auch kleinste Rh-positive Erythrozytenmengen zu registrieren, womit wir nicht in jedem Fall prophylaktisch Rh-Immunoglobulin-gaben post partum verabreichen müssten, sondern nur dann, wenn eine Immunisierung anzunehmen ist.

Für die Klinik bedeutet der Einsatz von FACS, abgesehen vom Gebiet der Pränataldiagnostik, auch grosse Möglichkeiten auf zytogenetischem und vor allem onkologischem Gebiet, da es mittels hochspezifischer, monoklonaler Antikörper möglich ist, morphologisch unterscheidbare, jedoch funktionell unterschiedliche Zellen zu erfassen und mittels Zellsorter zu isolieren.

Elisabeth Vytiska-Binstorfer, Wien Detection of Fetal Erythrocytes in Maternal Blood post partum with the Fluorescence-Activated Cell Sorter