

Strokovni prispevek/Professional article

HEMOLITIČNA BOLEZEN PLODA IN NOVOROJENČKA (HBPN) – PRIKAZ PRIMERA

HAEMOLYTIC DISEASE OF THE FETUS AND NEWBORN (HDFN) – CASE REPORT

Irena Bricl¹, Ksenija Ogrizek-Pelkič², Andrej Vogler³¹ Zavod Republike Slovenije za transfuzijsko medicino, Šlajmerjeva 6, 1000 Ljubljana² Služba za ginekologijo in perinatologijo, Oddelek za perinatologijo, Splošna bolnišnica Maribor, Ljubljanska 5, 2000 Maribor³ Ginekološka klinika, Klinični center, Šlajmerjeva 3, 1525 Ljubljana

Prispelo 2003-07-21, sprejeto 2003-10-27; ZDRAV VESTN 2003; 72: 671-3

Gljučne besede: imunizacija RhD; preprečevanje imunizacije RhD; titer protiteles anti-D; test ADCC; izmenjalna transfuzija; prikaz primera

Izveček – Izhodišča. Hemolitična bolezen ploda in novorojenčka (HBPN) nastane zaradi prenosa materinih eritrocitnih aprotiteles skozi posteljico, ki povzročijo skrajšanje življenjske dobe plodovih oziroma novorojenčkovih eritrocitov. Za hudo obliko bolezni so najpogosteje odgovorna protitelesa anti-D. HBPN lahko povzročijo tudi protitelesa anti-K, anti-c, anti-E, anti-A, anti-B in še nekatera druga.

Bolniki in metode. Predstavljena je nosečnica, ki je bila štirikrat noseča. Med prvo nosečnostjo je razvila eritrocitna protitelesa anti-D, po tretjem porodu pa še protitelesa anti-C. Med prvo nosečnostjo je prišlo zaradi hemolitične bolezni ploda do smrti ploda v maternici, drugi otrok je umrl dan po rojstvu. Tretjemu in četrtemu plodu je bilo potrebno zaradi visokega titra in agresivnosti protiteles anti-D dati več intrauterinih izmenjalnih transfuzij. Pri obeh novorojenčkih je bilo potrebno tudi po porodu opraviti izmenjalne transfuzije. Oba sta po rojstvu zaradi anemije še dodatno prejela koncentrirane eritrocite.

Zaključki. HBPN je huda bolezen z visoko obolevnostjo in umrljivostjo kljub najsodobnejšim možnostim zdravljenja, ki pa jo lahko preprečimo z doslednim izvajanjem ustreznih preventivnih ukrepov, ki so tudi zakonjeni.

Uvod

Hemolitična bolezen ploda in novorojenčka (HBPN) nastane zaradi skrajšane življenjske dobe plodovih oziroma novorojenčkovih eritrocitov. Hemolizo povzročijo protitelesa v krvi nosečnice, ki prehajajo skozi posteljico v plodov krvni obtok in se vežejo na eritrocitne antigene, ki jih je plod podedoval od očeta (1, 2).

Za hudo obliko HBPN so najpogosteje odgovorna protitelesa anti-D. HBPN lahko povzročijo še številna druga protitelesa. Najpogosteje so to protitelesa specifičnosti anti-A in anti-B, sledijo anti-K, anti-c, anti-E in anti-C. Poleg teh so opisani tudi bolj ali manj številni primeri protiteles drugih specifičnosti, kot so anti-C^w, -C^x, -e, -ce, -k, -Kp^a, -Kp^b, -Js^a, -Js^b, -Fy^a, -Fy³, -Jk^a, -Jk^b, -M, -N, -S, -s, -LW, -U, -Le^a in -Le^b (3, 4).

Key words: RhD immunization; hemolytic disease of the fetus and newborn; prevention of RhD immunization; anti-D antibody titer; test ADCC; exchange transfusion; case report

Abstract – Background. Hemolytic disease of the fetus and newborn (HDFN) develops because of the passage of maternal erythrocyte alloantibodies through the placenta. These antibodies cause a reduction of the erythrocyte life span in the fetus and newborn. This severe form of the disease is most commonly caused by anti-D antibodies. Besides those, the hemolytic disease can also be caused by anti-K, anti-c, anti-E, anti-A, anti-B and some other antibodies.

Methods and material. A case of a pregnant woman who has been pregnant four times is presented. During the first pregnancy, she developed anti-D erythrocyte antibodies, and after the third pregnancy also additional anti-C antibodies. During the first pregnancy, hemolytic disease of fetus led to the intrauterine death of the fetus. The second child died one day after birth. The third and fourth fetuses required several intrauterine exchange transfusions due to high titers and great hemolytic activity of anti-D antibodies. In both newborns, exchange transfusions had to be performed after birth, and both received additional transfusions of concentrated erythrocytes because of anemia.

Conclusions. HDFN is a severe disorder that can be successfully prevented with appropriate legalized measures.

Znaki HBPN so polihidramniji, povečano srce, ascites, perikardialni izliv, hiperdinamični plodov obtok, slabši plodovi gibi in patološki CTG.

Prikaz primera

Prikazan je primer bolnice, ki ima v krvnem obtoku prisotna protitelesa specifičnosti anti-D in anti-C in je bila štirikrat noseča.

Bolničina krvna skupina (KS) je A RhD-negativna, partnerjeva KS je AB RhD-pozitivna, najverjetnejši partnerjev genotip Rh je CDe/cde. Prvič je bila noseča leta 1990. V 16. tednu nosečnosti so na Oddelku za transfuziologijo in imunohematologijo v Mariboru naredili indirektni Coombsov test (ICT), ki je bil

negativen. V 35. tednu nosečnosti so ICT ponovili in dokazali protitelesa anti-D. Titer protiteles s Coombsovim testom je bil 2. Nosečnica je bila v 35. tednu nosečnosti napotena v porodnišnico v Maribor, kjer so ugotovili smrt ploda z močno izraženim hidropsom.

Drugič je bila bolnica noseča leta 1993. V 12. tednu druge nosečnosti so opravili ICT, ki je bil pozitiven. Titer protiteles anti-D s Coombsovim testom je bil 128. V 18. in 22. tednu nosečnosti je bil titer protiteles anti-D s Coombsovim testom 512. V 28. tednu nosečnosti je bila sprejeta v porodnišnico v Maribor. Ultrazvočno je bil pri plodu ugotovljen začetni ascites. Narejena je bila amniocenteza in nato intraperitonealna transfuzija. Plodu so transfundirali 0 RhD-negativne eritrocite. Po sedmih dneh je prišlo do predčasnega razpoka plodnika in poroda. Uro in pol po rojstvu je bila narejena izmenjalna transfuzija (ET). Transfundirali so 0 RhD-negativne eritrocite. Otrok je dan po rojstvu umrl.

Tretjič je bolnica zanosila leta 1997. Na Zavod za transfuzijsko medicino (ZTM) smo 1. 9. 1997 prejeli vzorec krvi nosečnice v tretjem mesecu nosečnosti za določitev agresivnosti protiteles. Vzorec krvi smo poslali v *Central Laboratory of the Netherlands Red Cross Blood Transfusion Service (CLB)* v Amsterdam, kjer so naredili preiskavo »antibody dependent cell cytotoxicity test« (ADCC). Rezultat testa ADCC je napovedal visoko agresivnost protiteles anti-D in s tem pričakovano obsežno hemolizo plodovih eritrocitov. Titer protiteles s Coombsovim testom je bil 256. Amniocentezo smo naredili v 16. tednu nosečnosti in vzorec plodovnice poslali v CLB v Amsterdam, kjer so dokazali prisotnost plodovega gena *RHD*. V 22. tednu nosečnosti smo poskušali na bolnišničnem oddelku v Mariboru narediti kordocentezo, vendar zaradi neugodne insercije popkovnice poseg ni uspel. Tudi na Kliničnem oddelku za perinatologijo Ginekološke klinike v Ljubljani se zaradi neugodne insercije popkovnice za poseg niso odločili. Bolnico smo napotili k profesorju Nicolaidesu v *Harris Birthright Research Center v London*, ki ima bogate izkušnje s takšnimi posegi. Prva kordocenteza in intrauterina izmenjalna intravaskularna transfuzija (IIT) je bila narejena v 24. tednu nosečnosti. Ultrazvočni izvid je pokazal že blag perikardialni izliv. V plodovi krvi je bil določen fetalni hemoglobin (Hb) 73 g/l. Po izmenjalni transfuziji je bil Hb pri plodu 117 g/l. Druga IIT je bila narejena v 26. tednu nosečnosti. Ultrazvočni izvid je bil brez posebnosti. Pred transfuzijo je bil Hb ploda 71 g/l, po posegu pa 139 g/l. Tretja IIT je bila v 29. tednu, Hb pred transfuzijo je bil 56 g/l, po transfuziji pa 137 g/l. Zadnja IIT je bila v 32. tednu. Ultrazvočno je bil plod ves čas primerne velikosti in ni kazal znakov anemije. Hemoglobin pred transfuzijo je bil 101 g/l, po posegu je bila vrednost hemoglobina 135 g/l. Plodu so vedno transfundirali materine A RhD-negativne eritrocite. Zadnji izvid titra protiteles pri materi je bil 8. 1. 1998, 512 določen s Coombsovim testom. Otroka smo porodili z elektivnim carskim rezom 4. 2. 1998 v 34. tednu nosečnosti v Porodnišnici Ljubljana. Novorojenčku smo določili A RhD-negativno KS. Takoj po rojstvu je bila narejena ET z dvema enotama 0 RhD in C negativnih eritrocitov. Direktni Coombsov test (DCT) je bil negativen. V krvnem obtoku otročnice smo razen protiteles anti-D dokazali še protitelesa anti-C. Otrok je bil ponovno hospitaliziran zaradi anemije in sepse marca 1998. Prejel je transfuzijo 0 RhD in C negativnih eritrocitov 25. 3. 1998. DCT je bil negativen. Iz poslanega vzorca krvi smo otroku določili 0 RhD-negativno KS, ki smo jo 6. 4. 1998 ponovno določili in ugotovili prisotnost eritrocitov 0 RhD-negativne in A RhD-pozitivne krvne skupine, DCT je bil pozitiven, ICT negativen. Enak rezultat testiranja smo dobili 21. 5. 1998. V starosti enega leta smo lahko otroku dokončno določili A RhD-pozitivno KS. DCT je bil negativen.

Četrtič je bolnica zanosila leta 2002. Na ZTM smo prvič prejeli vzorec njene krvi za določitev titrov protiteles 6. 3. 2002 v osmem tednu nosečnosti. Titer protiteles anti-D s Coombsovim

testom je bil 256. Protitelesa anti-C so bila dokazljiva le z gelsko tehniko, rezultat testa ADCC je kazal na zelo agresivna protitelesa. Ponovna določitev titra protiteles anti-D 10. 4. 2002 s Coombsovim testom je bila 512 in 25. 4. 2002 tudi s Coombsovim testom 1024, titer protiteles anti-C s Coombsovim testom je bil 2. V 16. tednu nosečnosti smo naredili amniocentezo in iz vzorca plodovnice na ZTM dokazali prisotnost plodovega gena *RHD*. Zaradi naraščanja titra protiteles in glede na prejšnje nosečnosti smo indicirali IIT v 21. tednu nosečnosti, ki jo je opravil profesor Nicolaides. Plod je ultrazvočno že kazal znake anemije z blagim perikardialnim izlivom, blago dilatacijo srca in regurgitacijo v področju trikuspidalne zaklopke. Ostali ultrazvočni izvidi so bili normalni. V plodovi krvi, odvzeti iz popkovnične vene, je bil Hb 25 g/l. Tokrat so transfundirali 0 RhD-negativne eritrocite. Po izmenjavi je bil fetalni Hb 149 g/l. IIT je bilo potrebno narediti še petkrat. V 23. tednu nosečnosti je imel plod ponovno znake anemije. Srce je bilo dilatirano z vidno regurgitacijo v področju trikuspidalne zaklopke. Pred posegom je bil Hb 65 g/l, po posegu je fetalni Hb narasel na 141 g/l. Tretja IIT je bila potrebna že po enem tednu, v 24. tednu nosečnosti. Hb pred posegom je bil 90 g/l, po IIT pa 170 g/l. V 26. tednu nosečnosti je bila narejena četrta IIT. Plod ultrazvočno ni kazal znakov HBPN. Vrednost Hb pred transfuzijo je bila 126 g/l, po IIT pa 152 g/l. Peto IIT so naredili v 29. tednu. Hb pred IIT je bil 100 g/l, po posegu pa 126 g/l. V 31. tednu nosečnosti je bila narejena zadnja IIT. Velikost ploda je bila ultrazvočno primerna in ni kazal znakov HBPN. Pred IIT je bila vrednost Hb 88 g/l, po posegu je bila vrednost 140 g/l.

Z elektivnim carskim rezom smo 28. 8. 2002 v Porodnišnici Ljubljana porodili dečka. Po rojstvu je bila ugotovljena zmerana anemija. Zaradi hitrega naraščanja zlatenice, slabšanja anemije in podatka o zelo visokem titru materinih protiteles specifičnosti D in C je bila v starosti 26 ur narejena izmenjalna transfuzija krvi. Transfundirali smo 0 RhD in C negativne eritrocite. Določitev novorojenčkove KS ob rojstvu zaradi intrauterinih transfuzij ni bila mogoča. Ob testiranju pred izmenjalno transfuzijo smo v otrokovem krvnem obtoku dokazali eritrocite krvne skupine AB RhD-pozitivne in 0 RhD-negativne, DCT je bil pozitiven, ICT pozitiven, dokazali smo protitelesa anti-D. Sedemnajstega oktobra smo otroku določili KS AB RhD-pozitivno, DCT je bil ponovno pozitiven, otrok je prejel transfuzijo AB RhD-negativnih eritrocitov.

Razpravljanje

Protitelesa anti-D, ki smo jih dokazali pri bolnici, povzročajo hudo obliko HBPN in v primeru neskladne transfuzije hudo hemolitično transfuzijsko reakcijo (2). Imunski odziv na antigen RhD med nosečnostjo in po porodu lahko preprečimo z injiciranjem imunoglobulina anti-D (Ig anti-D). Injiciranje Ig anti-D prepreči primarno imunizacijo, kadar je razmerje med protitelesi in eritrociti vsaj 20–25 µg protiteles/ml eritrocitov (1). V Sloveniji velja doktrina, da vsaki RhD-negativni nosečnici injiciramo 300 µg Ig anti-D v 28. tednu nosečnosti. Po porodu injiciramo vsaki RhD-negativni otročnici, ki je rodila RhD-pozitivnega otroka, 150 µg Ig anti-D in določimo količino fetomaternalne krvavitve (FMK). Če dokažemo krvavitev, večjo od 15 ml, moramo otročnici injicirati dodaten odmerek Ig anti-D. Ob prekinitvi nosečnosti injiciramo 50 µg do 12. tedna nosečnosti, po 12. tednu nosečnosti pa 300 µg Ig anti-D. Prav tako moramo Ig anti-D injicirati ob znotrajmaterničnih posegih ter krvavitvah med nosečnostjo. Količino odmerka Ig anti-D prilagodimo trajanju nosečnosti v tednih (5). Glede na anamnezo sklepamo, da se je naša bolnica imunizirala med prvo nosečnostjo med 16. in 35. tednom. Večina FMK se pojavi v zadnjem trimesečju in ob porodu, kar je lahko vzrok imunizacije (6, 7). Dokazano je, da lahko že fetomaternalna krvavitev, manjša od 0,5 ml, sproži primarno imunizacijo (1).

Običajno se HBPN razvije šele v drugi nosečnosti, vendar se lahko v posameznih primerih razvije huda oblika hemolitične bolezni že med prvo nosečnostjo (8). Podatka o predporodni imunoprofilaksi, ki bi lahko preprečila tvorbo protiteles anti-D, pri nosečnici nimamo. Dosledno izvajanje predporodne in poporodne imunoprofilakse je v svetu znižalo odstotek imuniziranih RhD-negativnih žensk po prvi nosečnosti z RhD-pozitivnim plodom s prvotnih 17% na 0,18–0,32% (9). Pri nas je izvajanje predporodne imunoprofilakse obvezno od leta 1994.

Titer protiteles anti-D pred prvim porodom je bil nizek v primerjavi s titrom protiteles, ki so ga določili v prvem trimesečju druge nosečnosti, vendar nimamo podatka o agresivnosti protiteles anti-D. Dokazano je, da lahko povzroči hudo obliko HBPN tudi nizka koncentracija protiteles, ki so agresivna. Zato smo v začetku tretje nosečnosti določili razen titra protiteles anti-D tudi agresivnost protiteles. Ocenjujejo, da je za napoved stopnje hemolize plodovih eritrocitov najbolj primeren test ADCC (10). Uporabna je tudi preiskava, ki se imenuje *monocyte monolayer assay* (11). V našem laboratoriju za prenatalno diagnostiko na ZTM uporabljamo za napoved ogroženosti ploda zaradi materinih eritrocitnih protiteles titer protiteles in test ADCC.

Glede na partnerjev fenotip RhD, ki bi bil lahko homozigoten ali heterozigoten, smo se odločili tudi za določitev plodovega genotipa *RHD* iz plodovnice. Določitev plodovega genotipa *RHD* iz vzorca plodovnice je danes na ZTM rutinska preiskava. Danes lahko z genotipizacijo iz vzorca periferne krvi tudi natančno določimo partnerjev genotip *RHD*, kar nam omogoča že predporodno svetovanje pri RhD imuniziranih nosečnicah.

Med tretjo nosečnostjo so plodu v Londonu transfundirali eritrocite matere. V večini primerov transfundirajo koncentrirane 0 RhD-negativne eritrocite, vendar pa se v nekaterih centrih odločajo za transfuzijo materinih eritrocitov (6). S tem zmanjšajo izpostavljenost ploda različnim dajalcem (12). Zaradi prisotnosti materinih eritrocitov oziroma 0 RhD-negativnih eritrocitov smo imeli po rojstvu tretjega in četrtega otroka težave pri določitvi KS AB0 in RhD. Izmenjalno transfuzijo smo zato opravili z 0 RhD-negativnimi eritrociti.

Protitelesa anti-C, ki smo jih poleg protiteles anti-D dokazali pri otročnici, so bila najverjetneje posledica FMK po drugem porodu, vendar jih z našimi preiskavami med tretjo nosečnostjo nismo dokazali. Po tretjem porodu smo jih dokazali le z gelsko tehniko, ki je občutljivejša od standardne tehnike v raztopini (13). Protitelesa anti-C sicer ne povzročajo tako hude oblike HBPN kot protitelesa anti-D.

Pri enomesečnem, tretjerojenem otroku, določitev KS še vedno ni bila možna. Zaradi prisotnosti dajalčevih eritrocitov po izmenjalni transfuziji in prisotnosti protiteles anti-D smo otroku ponovno transfundirali 0 RhD-negativne eritrocite. Anemija, ki se je pri otroku razvila, je bila verjetno posledica supresije eritropoeze zaradi IIT, ki lahko vztraja tudi do četrtega

meseca otrokove starosti in zaradi še vedno prisotnih materinih protiteles anti-D, ki so povzročila hemolizo plodovih RhD-pozitivnih eritrocitov (12). Podobna klinična slika se je kazala tudi pri naslednjem otroku, ki smo mu po opravljenih IIT in ET v starosti enega meseca in pol ponovno transfundirali eritrocite. Zaradi prisotnih materinih protiteles anti-D in anti-C smo otroku transfundirali RhD in C negativne eritrocite.

Zaključki

HBPN je zelo težka bolezen ploda oziroma novorojenčka, ki ima kljub najsodobnejšim možnostim zdravljenja negotov izid. Število imuniziranih nosečnic RhD v Sloveniji je nizko in primerljivo z večino visoko razvitih držav. To smo dosegli s prilagajanjem strokovne doktrine najnovejšim spoznanjem na področju imunoprofilakse RhD. Z doslednim izvajanjem preventivnih ukrepov imunizacije RhD, ki so pri nas uzakonjeni, lahko pojavnost HBPN še zmanjšamo in se s tem izognemo nevarnostim HBPN in ne nazadnje znižamo stroške zdravljenja, ki so praviloma zelo visoki. V primeru imunizacije RhD med nosečnostjo je pomembno sodelovanje med porodničarjem, transfuziologom in neonatologom.

Literatura

1. Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M. Haemolytic disease of the fetus and newborn. In: Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M eds. Blood transfusion in clinical medicine. 10th ed. Oxford: Blackwell Science, 1997: 390–424.
2. Bowman JM. Historical overview: Haemolytic disease of the fetus and newborn. In: Kennedy HS, Wilson SM, Kelton JG eds. Perinatal transfusion medicine. Arlington: AABB, 1990: 1–52.
3. Carreras-Versico LA, Torres OW, Virgilio OS, Pizzolato M. Mild haemolytic disease of the newborn due to Anti-Lewis a. *Vox Sang* 1993; 64: 194–5.
4. Bharucha ZS, Joshi SR, Bhatia HM. Haemolytic disease of the newborn due to Anti-Le^b. *Vox Sang* 1981; 41: 36–9.
5. Bricl I, Vogler A. Preprečevanje imunizacij anti-D z imunoprofilakso RhD. *Med Razgl* 2000; 39: Suppl 4–7: 195–8.
6. Vengelen-Tyler V. Perinatal concerns in transfusion practice. In: Vengelen-Tyler V ed. Technical manual. Bethesda: AABB, 1999: 495–512.
7. Stedman CM, Baudin JC, White CA, Shanon-Cooper E. Use of the erythrocyte rosette test to screen for excessive fetomaternal haemorrhage in Rh negative women. *Am J Obstet Gynecol* 1986; 154: 1363–9.
8. Napier JAF. Haemolytic disease of the newborn. In: Napier JAF ed. Handbook of blood transfusion therapy. 2nd ed. Chichester, New York, Toronto, Brisbane, Singapore: John Wiley & Sons, 1995: 287–315.
9. Urbaniak SJ. The scientific basis of antenatal prophylaxis. *Br J Obstet Gynaecol* 1998; 105: Suppl 18: 11–8.
10. Garner SF, Gorick BD, Lai WYY et al. Prediction of the severity of the haemolytic disease of the newborn. *Vox Sang* 1995; 68: 169–76.
11. Larson PJ, Thorp JM, Miller RC, Hoffman M. The monocyte monolayer assay: a non-invasive technique for predicting the severity of in utero haemolysis. *Am J Perinat* 1995; 12: 157–60.
12. Skupski DW, Wolf CFW, Bussell JM. Fetal and perinatal transfusion therapy. In: Petz LD, Swisher SN, Kleinman S, Spence RK, Strauss RG eds. Clinical practice of transfusion medicine. 3rd ed. New York: Churchill Livingstone, 1996: 607–29.
13. Lapiere Y, Rigal D, Adam J et al. The gel test: a new way to detect red cell antigen-antibody reactions. *Transfusion* 1990; 30: 109–13.