

# Management těhotenství s rizikem rozvoje hemolytické nemoci plodu a novorozence

<sup>1</sup>Doc. MUDr. Marek Lubušský, Ph.D., <sup>2</sup>MUDr. Iva Holusková, Ph.D., <sup>3</sup>prof. MUDr. Martin Procházka, Ph.D., <sup>4</sup>MUDr. Jan Hálek, <sup>5</sup>MUDr. Eva Klásková, Ph.D.

<sup>1</sup>Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci, Fakultní nemocnice Olomouc, Porodnicko-gynekologická klinika

<sup>2</sup>Fakultní nemocnice Olomouc, Transfuzní oddělení

<sup>3</sup>Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci, Fakultní nemocnice Olomouc, Ústav lékařské genetiky

<sup>4</sup>Fakultní nemocnice Olomouc, Neonatologické oddělení

<sup>5</sup>Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci, Fakultní nemocnice Olomouc, Dětská klinika

## SOUHRN

V České republice (ČR) je u všech těhotných žen v I. trimestru prováděn screening nepravidelných antierytrocytárních protilátek. Pozitivní výsledek screeningu je u cca 5 % žen (v ČR ročně 5000 žen), jen u cca 1,5 % (1500 žen) se jedná o klinicky významnou aloprotilátku. Plod je však ohrožen rozvojem hemolytické nemoci pouze v případě, že má na povrchu svých erytrocytů přítomen komplementární antigen, jedná se o cca 0,5 % plodů (500 ročně). Přítomnost komplementárního antigenu lze vyšetřit neinvazivně stanovením genotypu plodu z volné fetální DNA cirkulující v periferní krvi těhotné ženy. Závažná forma hemolytické nemoci plodu vyžadující podání intrauterinní transfúze, do 35. týdne se však rozvine jen u cca 5–10 % z nich (25–50 plodů ročně). Rozvoj anémie u plodu lze diagnostikovat neinvazivně pomocí ultrazvukové dopplerometrie, stanovením maximální průtokové rychlosti v arteria cerebri media (MCA-PSV, Middle Cerebral Artery Peak Systolic Velocity). Kordocentéza by měla být provedena pouze v indikovaných případech.

## KLÍČOVÁ SLOVA

erytrocytární protilátka, hemolytická nemoc plodu a novorozence, MCA-PSV, kordocentéza

## SUMMARY

Lubusky, M., Holuskova, I., Prochazka, M., Halek, J., Klaskova, E. Management of pregnancies at risk of hemolytic disease of the fetus and newborn

In the Czech Republic, all pregnant women in their 1<sup>st</sup> trimester undergo the red blood cell antibody screening. The screening is positive in about 5% of women (5000 women a year in the Czech Republic), but only in about 1.5% of them (1500 women a year) the clinically significant alloantibody is identified. However, the fetuses are at risk of the hemolytic disease only if the complementary antigen is present on their erythrocytes. This is the case of about 0.5% of them (500 fetuses a year). The presence of the complementary antigen can be assessed noninvasively by genotyping from cell-free fetal DNA circulating in the peripheral blood of pregnant women. The severe hemolytic disease of the fetus that requires intrauterine blood transfusion up to the 35<sup>th</sup> week develops only in about 5–10% of them (25–50 fetuses a year). The severe fetal anemia can be predicted noninva-

sively by the Middle Cerebral Artery Peak Systolic Velocity measurement; therefore cordocentesis should be performed only in these specific cases.

## KEY WORDS

erythrocyte antibody, hemolytic disease of the fetus and newborn, MCA-PSV, cordocentesis

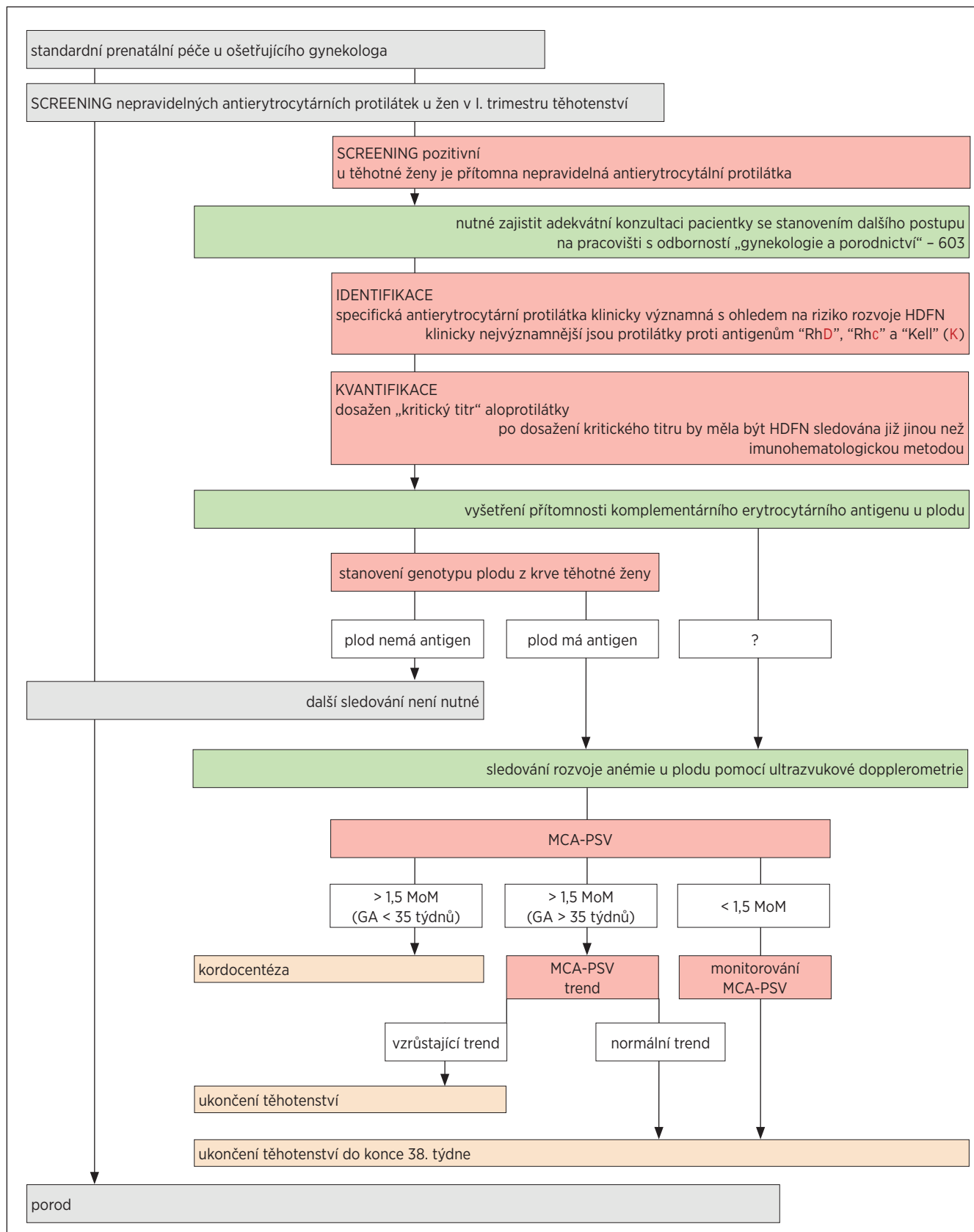
## MANAGEMENT TĚHOTENSTVÍ S RIZIKEM ROZVOJE HDFN

U všech těhotných žen v prvním trimestru by měl být do konce 14. týdne proveden screening nepravidelných antierytrocytárních protilátek (Obr. 1).<sup>(1)</sup>

Je-li výsledek screeningu jiný než negativní, je nezbytné zajistit adekvátní konzultaci pacientky se stanovením dalšího postupu na pracovišti s odborností gynekologie a porodnictví.<sup>(2)</sup>

V případě pozitivního screeningu by měla být provedena identifikace protilátky, a pokud se jedná o specifickou klinicky významnou aloprotilátku, tak by následně měla být provedena i její kvantifikace. (Obr. 2).<sup>(3)</sup> Z tohoto důvodu je vhodné provádět screening nepravidelných antierytrocytárních protilátek v imunohematologické laboratoři, která je schopna rovněž provést i následné došetření protilátkového nálezu včetně identifikace a kvantifikace. Zpráva z laboratoře by měla obsahovat informaci o klinické významnosti diagnostikované aloprotilátky z hlediska rizika rozvoje hemolytické nemoci plodu a novorozence (HDFN, Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn). Po dosažení „kritického titru“ by měla být HDFN sledována již jinou než imunohematologickou metodou, protože titr aloprotilátky nekoreluje se stupněm anémie plodu (Obr. 3, 4).<sup>(4)</sup> Je tudíž nezbytná mezioborová spolupráce gynekologa a imunohematologa.

I když je u těhotné ženy diagnostikována klinicky významná aloprotilátka, je plod ohrožen rozvojem hemolytické nemoci pouze v případě, že má na povrchu svých erytrocytů přítomen komplementární antigen. Je proto vhodné doplnit vyšetření přítomnosti komplementárního erytrocytárního antigenu stanovením genotypu plodu z volné fetální DNA cirkulující v periferní krvi těhotné ženy. V České republice je v současnosti možno takto vyšetřit genotypy RHD,<sup>(5–8)</sup> RHCE<sup>(5)</sup> a KEL.<sup>(9)</sup> Je tudíž nezbytná mezioborová spolupráce gynekologa a laboratoře lékařské genetiky.



**Obr. 1** Algoritmus pro management těhotenství s rizikem rozvoje závažné formy hemolytické nemoci plodu a novorozence

V případě mateřské aloimunizace antigeny “RhD” nebo “RhC” může dojít k rozvoji závažné fetální anémie při titru aloprotilátek  $\geq 16$  („kritický titer“), při aloimunizaci antigenem “Kell” (K) se může rozvinout závažná fetální anémie již při nízkém titru aloprotilátek (např. 2), naopak při aloimunizaci antigenem “RhE” nemusí ani významné zvýšení titru protilátek vést k rozvoji anémie plodu.

HDFN (Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn) – hemolytická nemoc plodu a novorozence; MCA-PSV (Middle Cerebral Artery Peak Systolic Velocity) – maximální průtoková rychlost v arteria cerebri media; GA (gestational age) – gestační stáří; MoM (Multiples of the Median) – násobky mediánu

## antierytrocytární protilátky

		incidence	
pravidelné		n	%
nepravidelné			
chladové			
tepelné		2184	4,81
	autoprotilátky		
	aloprotilátky		
	nespecifické		
	specifické	1022	2,25
	klinicky nevýznamné		
	klinicky významné		
screening	transfúzní kompatibilita		
	HDFN	683	1,50
identifikace	kvantifikace		

**Obr. 2 Screening nepravidelných antierytrocytárních protilátek u žen v I. trimestru těhotenství v olomouckém regionu v letech 2000 až 2011**

Celkem bylo vyšetřeno 45 435 těhotných žen v I. trimestru těhotenství, pravidelné antierytrocytární protilátky (anti-A, anti-B) nebyly při screeningu vyšetřovány, u 4,81 % žen byl screening nepravidelných tepelných antierytrocytárních protilátek pozitivní a bylo následně nutné provést identifikaci protilátek. U 2,25 % žen byla protilátka identifikována a u 1,5 % žen se jednalo z hlediska možného rozvoje HDFN o specifickou klinicky významnou aloprotilátku, kterou bylo tudíž nutné i kvantifikovat. Uvedený výpočet incidence jednotlivých typů protilátek nezohledňuje možnost současného výskytu více typů specifických aloprotilátek u jedné těhotné ženy.

HDFN (Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn) – hemolytická nemoc plodu a novorozence

Upraveno podle: HOLUSKOVA et al., Čes Gynek, 2013, 78, č. 1, s. 56–61.<sup>(4)</sup>

klinicky **NEJVÝZNAMNĚJŠÍ** antierytrocytární protilátky

aloprotilátky proti antigenům **D, c, K**

klinicky **VÝZNAMNÉ** antierytrocytární protilátky

aloprotilátky proti antigenům C, E, e, Ce, cE, Fy<sup>a</sup>, Jk<sup>a</sup>, A, B, C<sup>w</sup>, ce, G, k, S, s

velmi zřídka proti antigenům C<sup>x</sup>, E<sup>w</sup>, M, U, Fy<sup>b</sup>, Kp<sup>a,b</sup>, Js<sup>a,b</sup>, PP<sub>1</sub>P<sup>k</sup>, Jk<sup>b</sup>, Tj<sup>a</sup>, Yt<sup>a</sup>, LW, Di, Ge, En<sup>a</sup>, Jr<sup>a</sup>, Wr<sup>a</sup> a další

klinicky **NEVÝZNAMNÉ** antierytrocytární protilátky

aloprotilátky proti antigenům P<sub>1</sub>, Le<sup>a,b</sup>, H, I, HI, N, Lu

nespecifické protilátky

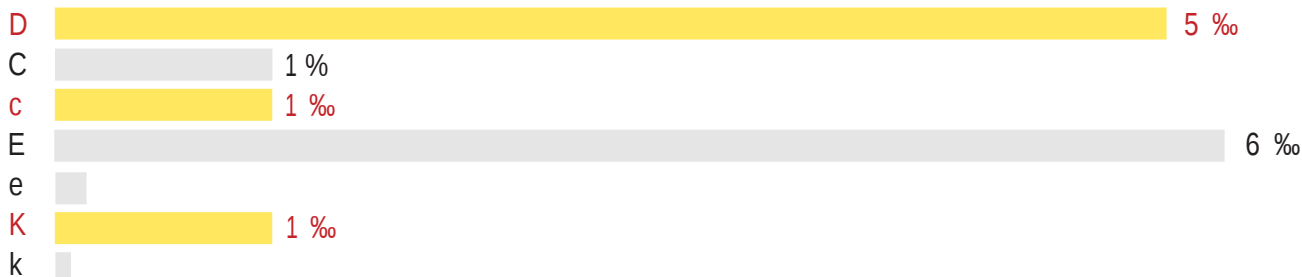
chladové protilátky

protilátky reagující pouze v enzymovém prostředí

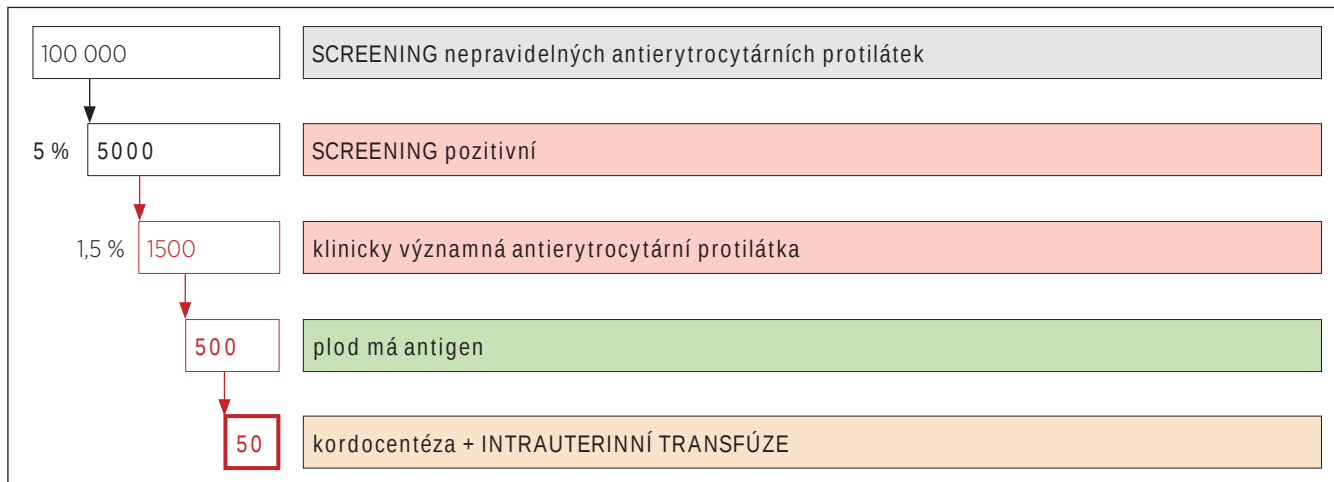
**Obr. 3 Rozdělení antierytrocytárních protilátek u těhotných žen z hlediska klinického významu pro riziko rozvoje hemolytické nemoci plodu a novorozence**

HDFN (Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn) – hemolytická nemoc plodu a novorozence

Upraveno podle: HOLUSKOVA et al., Čes Gynek, 2013, 78, č. 1, s. 89–99.<sup>(3)</sup>

**Obr. 4 Incidence klinicky významných antierytrocytárních protilátek proti antigenům krevně skupinových systémů Rh a Kell u žen v I. trimestru těhotenství**

Upraveno podle: HOLUSKOVA et al., Čes Gynek, 2013, 78, č. 1, s. 56–61.<sup>(4)</sup>



**Obr. 5** Screening těhotenství s rizikem rozvoje hemolytické nemoci plodu a novorozence

V České republice (ČR) je u všech těhotných žen v I. trimestru prováděn screening nepravidelných antierytrocytárních protilátek. Pozitivní výsledek screeningu je u cca 5 % žen (v ČR ročně 5 000 žen), jen u cca 1,5 % (1 500 žen) se jedná o klinicky významnou aloprotilátku. Plod je však ohrožen rozvojem hemolytické nemoci pouze v případě, že má na povrchu svých erytrocytů přítomen komplementární antigen, jedná se o cca 0,5 % plodů (500 ročně). Přítomnost komplementárního antigenu lze vyšetřit neinvazivně stanovením genotypu plodu z volné fetální DNA cirkulující v periferní krvi těhotné ženy. Závažná forma hemolytické nemoci plodu vyžadující podání intrauterinní transfúze do 35. týdne se však rozvine jen u cca 5–10 % z nich (25–50 plodů ročně). Rozvoj anémie u plodu lze diagnostikovat neinvazivně pomocí ultrazvukové dopplerometrie, stanovením maximální průtokové rychlosti v arteria cerebri media (MCA-PSV, Middle Cerebral Artery Peak Systolic Velocity). Kordocentéza by měla být provedena pouze v indikovaných případech.

klinicky významná antierytrocytární protilátka							
Rh					Kell		
D	C	c	E	e	K	k	
500	100	100	600	20	100	10	
RHD					KEL		
300	44	56	96	17	5	9	
plod má antigen							

**Obr. 6** Klinický význam neinvazivního stanovení *RHD*, *RHCE* a *KEL* genotypu plodu v managementu těhotenství s rizikem rozvoje hemolytické nemoci plodu a novorozence

Klinicky významná aloprotilátka anti-D je diagnostikována u cca 0,5 % žen (v ČR ročně 500 žen). Plod je však ohrožen rozvojem hemolytické nemoci pouze v případě, že má na povrchu svých erytrocytů přítomen komplementární antigen, jedná se o cca 60 % plodů (300 plodů ročně). Přítomnost komplementárního antigenu lze vyšetřit neinvazivně stanovením *RHD* genotypu plodu z volné fetální DNA cirkulující v periferní krvi těhotné ženy.

Klinicky významná aloprotilátka anti-C je diagnostikována u cca 0,1 % žen (v ČR ročně 100 žen) a cca 44 % plodů (44 plody ročně) mají přítomen komplementární antigen. Rovněž klinicky významná aloprotilátka anti-c je diagnostikována u cca 0,1 % žen (v ČR ročně 100 žen) a cca 56 % plodů (56 plodů ročně) má přítomen komplementární antigen. Přítomnost komplementárního antigenu lze vyšetřit neinvazivně stanovením *RHCE* genotypu plodu z volné fetální DNA cirkulující v periferní krvi těhotné ženy.

Klinicky významná aloprotilátka anti-E je diagnostikována nejčastěji, u cca 0,6 % žen (v ČR ročně 600 žen), může však vznikat i přirozeně bez erytrocytárního antigenního podnětu, takto vzniklá protilátka není aloprotilátkou a je otázkou, zda vůbec může způsobit rozvoj hemolytické nemoci. Navíc jen cca 16 % plodů (96 plodů ročně) má přítomen komplementární antigen. Přítomnost komplementárního antigenu lze vyšetřit neinvazivně stanovením *RHCE* genotypu plodu z volné fetální DNA cirkulující v periferní krvi těhotné ženy. Naproti tomu klinicky významná aloprotilátka anti-e je diagnostikována jen u cca 0,02 % žen (v ČR ročně 20 žen) a komplementární antigen je přítomen u většiny plodů, u cca 84 % plodů (17 plodů ročně). Vyšetření přítomnosti komplementárního antigenu neinvazivně stanovením *RHCE* genotypu plodu tudíž nemá klinický význam.

Klinicky významná aloprotilátka anti-K (Kell, KEL1) je diagnostikována u cca 0,1 % žen (v ČR ročně 100 žen) a cca 5 % plodů (5 plodů ročně) má přítomen komplementární antigen. Přítomnost komplementárního antigenu lze vyšetřit neinvazivně stanovením *KEL* genotypu plodu z volné fetální DNA cirkulující v periferní krvi těhotné ženy. Naproti tomu klinicky významná aloprotilátka anti-k (Cellano, KEL2) je diagnostikována jen u cca 0,01 % žen (v ČR ročně 10 žen) a komplementární antigen je přítomen u většiny plodů, u cca 95 % plodů (9 plodů ročně). Vyšetření přítomnosti komplementárního antigenu neinvazivně stanovením *KEL* genotypu plodu tudíž nemá klinický význam.

Pokud nelze vyloučit riziko rozvoje HDFN, měla by být pacientka s ohledem na riziko rozvoje anémie plodu sledována na specializovaném pracovišti, které se zabývá touto problematikou. Standardní prenatalní péče by měla probíhat u ošetřujícího gynekologa (Obr. 1).<sup>(1)</sup>

Sledování rozvoje anémie u plodu se provádí pomocí ultrazvukové dopplerometrie, stanovením maximální průtokové rychlosti v arteria cerebri media (MCA-PSV, Middle Cerebral Artery Peak Systolic Velocity).<sup>(10–14)</sup>

Kordocentéza a následné vyšetření stupně anémie plodu by měly být provedeny pouze v indikovaných případech. Těhotenství by mělo být ukončeno nejpozději do konce 38. týdne (Obr. 1).<sup>(15)</sup> S ohledem na riziko rozvoje hemolytické nemoci novorozence je nezbytná mezioborová spolupráce gynekologa a neonatologa. Porod by měl být plánován v Perinatologickém centru intenzivní péče. Ihned po porodu by u novorozence měly být vyšetřeny: krevní obraz, bilirubin, krevní skupina – fenotyp (přítomnost antigenů na povrchu erytrocytů novorozence podle typu aloprotilátky diagnostikované v těhotenství u matky), přímý antiglobulinový (Coombsův) test (přítomnost mateřských aloprotilátek navázaných na antigeně komplementární erytrocyty novorozence). Odběr krve u novorozence by měl být proveden přímo z pupečníku z umbilikální žíly bezprostředně po porodu.

## ZÁVĚR

Je-li výsledek screeningu nepravidelných antierytrocytárních protilátek u těhotných žen v I. trimestru jiný než negativní, je nezbytné zajistit adekvátní konzultaci pacientky se stanovením dalšího postupu na pracovišti s odborností gynekologie a porodnictví. Nelze se řídit jen doporučením imunohematologa, protože nemá odbornou způsobilost ani nezodpovídá za prenatální péči o těhotenství s rizikem rozvoje závažné formy HDFN. Sledování rozvoje anémie plodu se provádí pomocí ultrazvukové dopplerometrie, stanovením MCA-PSV. Kordocentéza a následné vyšetření stupně anémie plodu by měly být provedeny pouze v indikovaných případech. Pro optimální management rizikových těhotenství je velmi důležitá spolupráce gynekologa, imunohematologa, genetika, neonatologa a dětského kardiologa.

Podpořeno MZ ČR – RVO (FNOL, 00098892).

Prohlášení: autoři v souvislosti s tématem práce nemají střet zájmů.

## Literatura

1. UNZEITIG, V., MĚCHUROVÁ, A., LUBUŠKÝ, M., VELEBIL, P., DVORÁK, V. Zásady dispenzární péče ve fyziologickém těhotenství – doporučený postup ČGPS ČLS JEP. Čes Gynekol, 2015, 80, s. 456–458.
2. LUBUSKY, M. The importance of irregular red cell antibodies screening and blood group antigens assessment in pregnant women. Ces Gynekol, 2015, 80, p. 236–238.

3. HOLUSKOVA, I., LUBUSKY, M., STUDNICKOVA, M., et al. Erythrocyte alloimmunization in pregnant women, clinical importance and laboratory diagnostics. Ces Gynekol, 2013, 78, p. 89–99.
4. HOLUSKOVA, I., LUBUSKY, M., STUDNICKOVA, M., et al. Incidence of erythrocyte alloimmunization in pregnant women in Olomouc region. Ces Gynekol, 2013, 78, p. 56–61.
5. HROMADNIKOVA, I., VECHETOVA, L., VESELA, K., et al. Non-invasive fetal RHD and RHCE genotyping using real-time PCR testing of maternal plasma in RhD-negative pregnancies. The journal of histochemistry and cytochemistry: official journal of the Histochemistry Society, 2005, 53, p. 301–305.
6. HROMADNIKOVA, I., VECHETOVA, L., VESELA, K., et al. Non-invasive fetal RHD exon 7 and exon 10 genotyping using real-time PCR testing of fetal DNA in maternal plasma. Fetal diagnosis and therapy, 2005, 20, p. 275–280.
7. HROMADNIKOVA, I., VESELA, K., BENESOVA, B., et al. Non-invasive fetal RHD and RHCE genotyping from maternal plasma in alloimmunized pregnancies. Prenatal diagnosis, 2005, 25, p. 1079–1083.
8. BOHMOVA, J., VODICKA, R., LUBUSKY, M., et al. RHD genotyping from cell-free fetal DNA circulating in pregnant women peripheral blood and sensitivity assessment of innovated diagnostic approaches for introduction into the clinical practice. Ces Gynekol, 2013, 78, p. 32–40.
9. BOHMOVA, J., VODICKA, R., LUBUSKY, M., et al. Clinical Potential of Effective Noninvasive Exclusion of KEL1-Positive Fetuses in KEL1-Negative Pregnant Women. Fetal diagnosis and therapy, 2015.
10. MARI, G., DETER, RL., CARPENTER, RL., et al. Noninvasive diagnosis by Doppler ultrasonography of fetal anemia due to maternal red-cell alloimmunization. Collaborative Group for Doppler Assessment of the Blood Velocity in Anemic Fetuses. New Engl J Med, 2000, 342, p. 9–14.
11. ZIMMERMAN, R., CARPENTER, RJ., Jr., DURIG, P., et al. Longitudinal measurement of peak systolic velocity in the fetal middle cerebral artery for monitoring pregnancies complicated by red cell alloimmunisation: a prospective multicentre trial with intention-to-treat. BJOG, 2002, 109, p. 746–752.
12. OEPKES, D., SEAWARD, PG., VANDENBUSSCHE, FP., et al. Doppler ultrasonography versus amniocentesis to predict fetal anemia. New Engl J Med, 2006, 355, p. 156–164.
13. LUBUSKY, M., PROCHAZKA, M., SANTAVY, J., et al. Actual management of pregnancies at risk for fetal anemia. Ces Gynekol, 2006, 71, p. 272–280.
14. SIMETKA, O., PETROS, M., LUBUSKY, M., et al. Changes in middle cerebral artery velocimetry of fetuses diagnosed postnatally with mild or moderate hemolytic disease. Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica, 2014, 93, p. 1059–1064.
15. LUBUŠKÝ, M., PROCHÁZKA, M. Erytrocytární aloimunizace těhotných žen: Hemolytická nemoc plodu a novorozence. Postgrad Med, 2012, 16, s. 242–246.

**e-mail: marek@lubusky.com**