

Hemolytická choroba novorodenca

Hemolytic disease of newborn

Eva Brnická¹, Jaromír Tupý^{1,2}, Miriam Tupá^{1,2}

¹Fakulta zdravotníctva, Katolícka univerzita v Ružomberku

²Klinika hematológie a transfúziológie, Ústredná vojenská nemocnica SNP Ružomberok - FN

<https://doi.org/10.54937/zs.2022.14.1.30-37>

Abstrakt

Hemolytická choroba novorodenca predstavuje ochorenie charakterizované skráteným prežívaním a deštrukciou erytrocytov plodu alebo novorodenca následkom hemolýzy spôsobenej materskými aloprotilátkami. Vyznačuje sa variabilným spektrom a rôznym stupňom závažnosti klinických príznakov, ktoré sa aj napriek súčasnému pokroku v diagnostike a manažmente môžu skončiť perinatálnou úmrtnosťou.

Kľúčové slová: Hemolytická choroba novorodenca. Aloimunizácia. Inkompatibilita. Anémia.

Abstract

Neonatal hemolytic disease is a disease characterized by shortened survival and destruction of fetal or neonatal erythrocytes due to hemolysis caused by maternal alloantibodies. It is characterized by a variable spectrum and varying degrees of severity of clinical symptoms, which, despite current advances in diagnosis and management, may result in perinatal mortality.

Key words: Hemolytic disease of the newborn. Alloimmunization. Incompatibility. Anemia.

Úvod

Antierytrocytové protilátky sú imunoglobulíny väčšinou triedy IgG alebo IgM (niekedy aj triedy IgA). Podľa vzniku sa delia na prirodzené a imúnne a podľa laboratórnych reakcií v imunohematológii rozlišujeme protilátky na kompletne a inkompletne. Ku kompletným patria prirodzené pravidelné aglutiníny anti-A a anti-B, ktoré sú triedy IgM a sú schopné vyvolať *in vitro* viditeľnú aglutináciu. Priamo v cirkulácii deštruujú erytrocyty, čím spôsobujú intravaskulárnu hemolýzu [1.] Väčšina klinicky významných antierytrocytových protilátok je triedy IgG reagujúcich pri 37°C. Tieto protilátky nie sú schopné vyvolať priamu intravaskulárnu hemolýzu, pôsobia ako opsoníny senzibilizujúce erytrocyty, ktoré sú následne vychytávané, fagocytované a extravaskulárne hemolyzované v makrofágoch sleziny a pečene [1-3]. V tehotenstve, po stimulácii matky antigénmi, ktoré neexprimuje na svojich erytrocytoch, dochádza k tvorbe špecifických protilátok a k ich aktívnemu prieniku cez placentu do krvného obehu plodu. Tieto antigény sa do tela dostanú buď transfúziou alebo tehotenstvom v dôsledku antigénnych rozdielov. V súčasnosti medzi klinicky významné protilátky, ktoré spôsobujú HCHN sú , anti-A a anti-B, anti-D, anti-c, anti-K, anti-E, anti-C, anti-e, anti-Ce, anti-cE, anti-Fy^a, anti-Jk^a [4,5].

Hemolytická choroba novorodenca – definícia a patofyziológia

Hemolytická choroba novorodenca (HCHN) je ochorenie, ktoré je charakterizované skráteným prežívaním erytrocytov plodu alebo novorodenca následkom väzby materských aloprotilátok, ktoré spôsobia ich hemolýzu [2]. Vzniká pri inkompatibilite medzi erytrocytárnymi antigénmi matky a plodu. Po stimulácii imunitného systému matky týmito antigénmi (počas fetomaternalného krvácania) dochádza k tvorbe špecifických protilátok triedy IgG a k ich aktívnemu prieniku

cez placentu do krvného obehu plodu. Prechod je realizovaný pomocou väzby Fc fragmentu IgG na Fc receptory tkanivových makrofágov, ktoré sa nachádzajú na syncytiotrofoblastoch. Erytrocyty s naviazanými protilátkami majú skrátené prežívanie. Dochádza k ich fagocytóze a odbúraniu pomocou MMS (monocyto-makrofágový systém) predovšetkým v slezine. Tento mechanizmus sa uplatňuje hlavne u IgG1 a IgG3 podtried IgG. Fc receptory na bunkách MMS nereagujú s Fc fragmentami IgG2 a IgG4, preto samotná väzba týchto podtried na erytrocytoch nevedie k bezprostrednej hemolýze. Práve preto nález pozitívneho PAT (priameho antiglobulínového testu) u novorodenca po pôrode nie je vždy synonymom pre klinicky manifestnú HCHN. Pri patologickej hemolýze sa tvorí nadmerné množstvo nekonjugovaného bilirubínu, ktorý sa dostáva do pečene matky, kde je následne konjugovaný. U novorodenca sa po pôrode zvyšuje nekonjugovaný bilirubín v krvi, pretože pečeň plodu do 3.-4. dňa tvorí veľmi málo glukuronyltransferázy. Tento v tukoch rozpustný bilirubín má dobrú afinitu k bunkám CNS a bez liečby môže dôjsť k poškodeniu mozgu novorodenca. Na anémiu plod reaguje zvýšenou extramedulárnou erytropoézou, čo môže viesť k portálnej hypertenzii a následnej pečenej dysfunkcii až tkanivovej hypoxii. Hypoalbuminémia je príčinou zníženia onkotického tlaku, ktorý vedie k ascitu až hydrospu plodu. Niekedy môže plod intrauterinne odumrieť na kardiovaskulárne zlyhanie [2,4-6].

Kategórie hemolytickej choroby novorodenca

Hemolytickú chorobu novorodenca môžeme rozdeliť podľa špecifickosti príčinných protilátok do 3 základných skupín:

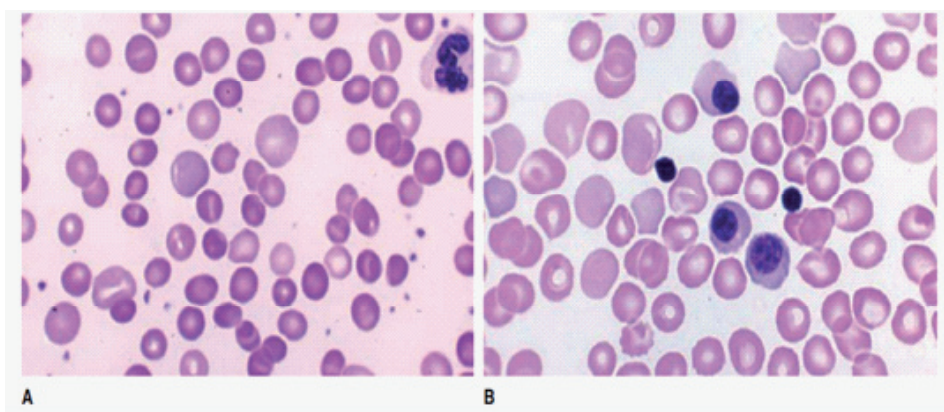
- Rh hemolytická choroba novorodenca,
- ABO hemolytická choroba novorodenca,
- ostatné hemolytické choroby novorodenca [7].

Rh (anti-D) hemolytická choroba novorodenca

Pri Rh HCHN (obrázok č. 1, B), ktorá spôsobuje najvyšší počet úmrtí plodov, RhD negatívna matka vytvára anti-D protilátky z expozície D-antigénu buď prostredníctvom imunizácie v predchádzajúcom tehotenstve s D pozitívnym dieťaťom alebo z predchádzajúcej transfúzie krvných produktov s D pozitívnymi erytrocytmi. Pri prvej expozícii D antigénu je počiatočná odpoveď IgM pomalá. IgM neprechádzajú placentou, takže sa nepozorujú žiadne účinky na plod. V nasledujúcich tehotenstvách anti-D protilátka prechádza placentou a ak je plod RhD pozitívny, anti-D (už IgG protilátka) sa viaže na epitopy antigénu D, nachádzajúce sa na fetálnych erytrocytoch. Tieto anti-D - senzibilizované fetálne červené krvinky sú odstránené z krvného obehu makrofágmi vo fetálnej slezine - rozvíja sa anémia a hyperbilirubinémia. Amniocentéza je presná pri predpovedaní závažnej fetálnej anémie, ale je invazívna a nesie určité riziko straty plodu [8,9]. Ak je podozrenie na ťažkú fetálnu anémiu a hemolytickú chorobu novorodenca spôsobenú anti-D, možno získať perkutánnu vzorku z pupočníkovej krvi a následne ju testovať na hladinu hemoglobínu kvôli určeniu závažnosti anémie; okrem toho, neinvazívne hodnotenie anémie možno vykonať ultrazvukovým meraním prietoku krvi v mozgu plodu [8,10].

AB0 hemolytická choroba novorodenca

AB0 HCHN (obrázok 1. A) sa vyskytuje bežnejšie ako Rh HCHN a môže sa objaviť už počas prvého tehotenstva. Len u približne 1:1000 narodených detí sa vyskytuje závažná forma tejto hemolytickej anémie. Inkompatibilita v AB0 systéme má podobnú patofyziológiu, ochorenie je však relatívne miernejšie – tabuľka č. 1 [11]. Pravdepodobnou príčinou je skutočnosť, že antigény A a B sú ešte slabo vyvinuté na fetálnych erytrocytoch, erytrocytoch novorodenca a ostatných bunkách a tkanivách exprimujúcich A a B antigény, čo znižuje množstvo materských protilátok namierených proti fetálnym erytrocytom. Ochorenie je zväčša asymptomatické alebo vyvoláva len miernu hyperbilirubinémiu a anémiu. AB0 HCHN sa vyskytuje u niektorých novorodencov s krvnou skupinou A alebo B, ktoré sa narodilo matke s krvnou skupinou 0. U matky sa začnú produkovať protilátky IgG anti-A a anti-B, ktoré sú schopné prechádzať placentou. Výsledok PAT (priamy antiglobulínový test) novorodenca s AB0 HCHN je len slabo pozitívny a dokonca môže vyjsť aj negatívny. V nátere periférnej krvi môžeme vidieť sférocyty a polychromáziu [12].



Obr. 1 Aloimunitná hemolytická anémia novorodenca, krvný náter

A. Novorodenec s AB0 hemolytickou chorobou novorodenca.

B. Novorodenec s Rh hemolytickou chorobou novorodenca (Kaushansky et al., 2016; [8]).

Pri AB0 hemolytickej chorobe novorodenca sa počas tehotenstva matkám nevyšetruje prítomnosť a titer protilátok anti-A a anti-B IgG triedy v plazme alebo sére. Identifikácia tehotných žien s vysokými titrami týchto protilátok nemá zmysel, keďže nemá žiadny význam v predikcii incidencie AB0 HCHN [7].

Tab. 1 Charakteristika Rh a AB0 hemolytickej choroby novorodenca [12].

	Rh	AB0
Krvné skupiny	Matka: Rh (D) negatívna Dieťa: Rh (D) pozitívne	Matka: 0 Dieťa: A alebo B
Závažnosť ochorenia	ťažká	mierna
Žltáčka	ťažká	mierna
Sférocyty v krvnom nátere	zriedkavé	zvyčajne prítomné
Priamy antiglobulínový test	pozitívny	negatívny alebo slabo pozitívny

Ostatné hemolytické choroby novorodenca

Potenciál spôsobovať hemolytickú chorobu novorodenca majú aj ďalšie protilátky, väčšinou je ľahký priebeh tohto ochorenia, iba výnimočne môže dôjsť k ťažkým stavom [7].

Kell HCHN

Úroveň hemolýzy spôsobenej anti-Kell protilátkami je menšia ako hemolýza spôsobená anti-D protilátkami, pričom útlm erytropoézy prevažuje nad hemolýzou. Preto majú plody alebo novorodenci s hemolytickou anémiou v dôsledku anti-Kell protilátky nižší počet retikulocytov a nižšiu celkovú hladinu bilirubínu ako anti-D anemické plody. Na rozdiel od RhD antigénu, kde je väčšina populácie RhD pozitívna, je väčšina z populácie Kell-antigén negatívna. Glykoproteín Kell patrí medzi erytroidné proteíny, ktorý sa ako jeden z prvých proteínov objavuje počas erytropoézy, a preto protilátka anti-K spôsobuje, že dochádza k odstráneniu ranných prekursorov erytropoézy. Transfúzia Kell pozitívnych erytrocytov (KK, Kk) môže viesť k aloimunizácii, a preto ženám, ktoré sú vo fertiltom veku, sa neodporúča podávať Kell pozitívne transfúzie erytrocytov [7,13].

Ostatné protilátky

Protilátky patria do triedy IgG a vznikajú, ak sú príslušné antigény exprimované na fetálnych erytrocytoch. Anti-C, -E, -C, -e, -Ce, -CE, -Fy^a, Jk^a, anti-A, anti-B a aj vzácné ďalšie IgG, ktoré reagujú pri 37 °C v NAT sú klinicky významné protilátky, ktoré môžu spôsobiť HCHN, pričom anti-C a anti-E môžu spôsobiť aj ťažkú formu tohto ochorenia vyžadujúcu si až výmennú transfúziu [7].

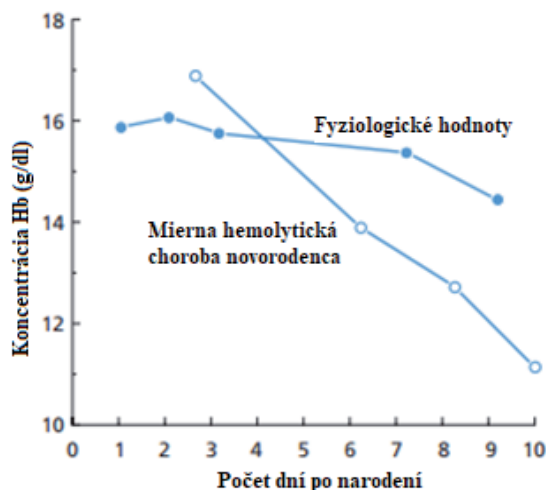
Vysoké titry anti-C protilátky sú často spojené s neonatálnou hemolytickou chorobou. Avšak, rutinný skrining titrov anti-C počas tehotenstva nie je odôvodnený, pretože titry týchto protilátok neodrážajú závažnosť hemolytického ochorenia. C^w je málo frekvenčný antigén v Rh skupinovom systéme s prevalenciou asi iba 2 % medzi belochmi [14].

Klinické príznaky HCHN

Medzi charakteristické znaky hemolytickej choroby novorodencov (HCHN) patrí anémia, žltáčka (ikterus) a hepatosplenomegália. Klinické spektrum postihnutých novorodencov je veľmi variabilné. Pri Rh HCHN má polovica dojčiat mierne ochorenie a nevyžaduje zásah. U jednej štvrtiny postihnutých detí narodených v termíne sa vyvinie stredne ťažká anémia so závažnou žltáčkou. Pri Kell HCHN, klinické spektrum hemolytickej choroby je menej predvídateľné, od miernej anémie až po hydrops; žltáčka môže byť menej závažná ako ikterus pozorovaný pri Rh HCHN. Žltáčka je prevládajúcim znakom AB0 HCHN, ale možno pozorovať aj anémiu a miernu hepatosplenomegáliu. Ťažká fetálna anémia a hydrops sú neobvyklé pri hemolytickom ochorení AB0 [8,15].

Hemolytická anémia

Novorodenci s miernou formou HCHN môžu mať koncentrácie hemoglobínu len o trochu nižšie, ako je fyziologické rozmedzie zdravých novorodencov. Hodnoty Hb však zvyčajne po narodení naďalej klesajú. Hemolýza pokračuje dovtedy, pokým všetky nekompatibilné červené krvinky a/alebo všetky cirkulujúce aloprotilátky matky sú vylúčené z krvného obehu. U novorodencov so stredne ťažkou až ťažkou anémiou sa prejavuje bledosť, tachykardia a tachypnoe [16].



Graf 1 Rýchlosť poklesu koncentrácie hemoglobínu (Hb) u novorodenca postihnutého miernou hemolytickou chorobou (upravené podľa: Klein, Ainstee, 2014 [2]).

Po narodení množstvo materských protilátok v cirkulácii u novorodenca klesá počas nasledujúcich 12 týždňov – graf č.1. Preto sa u dojčiat so stredne ťažkým až ťažkým hemolytických ochorením môže vyvinúť anémia, ktorá trvá až 8-12 týždňov života. Táto oneskorená anémia je zapríčinená z dôvodu pretrvávania materských protilátok v krvnom obeh dieťaťa [8].

Neonatálna žltáčka

Väčšina detí s hemolytickou chorobou novorodenca nemá pri narodení žltáčku, pretože placenta dokáže účinne transportovať väčšinu nekonjugovaného fetálneho bilirubínu, ktorý je rozpustný v tukoch [17]. Po narodení je však pečeň ešte nezrelá na to, aby bola schopná zvládnuť takú veľkú záťaž bilirubínu, ktorá vzniká pri prebiehajúcej deštrukcii novorodeneckých erytrocytov pokrytých protilátkou. Žltáčka sa preto rozvinie už počas prvého dňa života, často môže vzniknúť už v priebehu prvých hodín života hlavne u ťažko postihnutých novorodencov. U detí s miernym ochorením dosahuje nekonjugovaný bilirubín v sére najvyššie hodnoty na štvrtý alebo piaty deň a v priebehu ďalších dní pomaly klesá. Deti, ktoré boli predčasne narodené, môžu mať vyššie hladiny sérového bilirubínu dlhšiu dobu z dôvodu nižšej aktivity pečenej glukuronyltransferázy [8].

Kernikterus

Významnou komplikáciou, ktorá môže nastať pri zvýšenej hladine nepriameho bilirubínu v sére u novorodenca, je rozvoj bilirubinovej encefalopatie [18]. Táto porucha sa nazýva aj kernikterus. Je to poškodenie mozgu novorodenca spôsobené ukladaním bilirubínu do jadier a bazálnych ganglií mozgového kmeňa, čím dochádza k nekróze neurónov [19]. Klinické príznaky bilirubinovej encefalopatie sa typicky vyvíjajú v 3 fázach. Fáza 1 je poznačená slabým saním a hypotóniou. Horúčka a hypertónia sú pozorované vo fáze 2 a niekedy stav progreduje do opistotonu. Fáza 3 je charakterizovaná prenikavým plačom, poruchami sluchu a zraku, zlým kŕmením a atetózou. K dlhodobým následkom patrí choreoatetoidná mozgová obrna, abnormality pohľadu dieťaťa (najmä pri pohľade nahor), senzorineurálna strata sluchu, hypoplázia zubnej skloviny mliečnych zubov a menej často mentálna retardácia [20].

Diagnostika hemolytickej choroby novorodenca

Existuje veľké množstvo metód hodnotenia rizika hemolytickej choroby novorodenca. Pri podozrení na HCHN významnú úlohu zohráva anamnéza matky, predchádzajúce gravidity, údaj o profylaxii pred imunizáciou imunoglobulínom IgG anti-D, fetomaternálne krvácanie, prípadné transfúzie, aborty, mimomaternicové tehotenstvá, amniocentéza, pôrody novorodencov s už diagnostikovanou HCHN alebo hydrpsom fetalis [6]. Medzi ďalšie potrebné vyšetrenia patria imuno hematologické a serologické vyšetrenia, DNA testy, fetálna kardiokardiografia – sledovanie zmien srdcového rytmu, monitorovanie pohybov plodu, sledovanie morfológie placenty a plodu pomocou ultrazvuku. Imuno hematologické vyšetrenie napriek jeho nepriamej výpovednosti o vzniku ochorenia patrí k základným vyšetreniam. Jeho účelom je určiť ženy s rizikom HCHN v prenatalnom období [4].

Imuno hematologické vyšetrenia

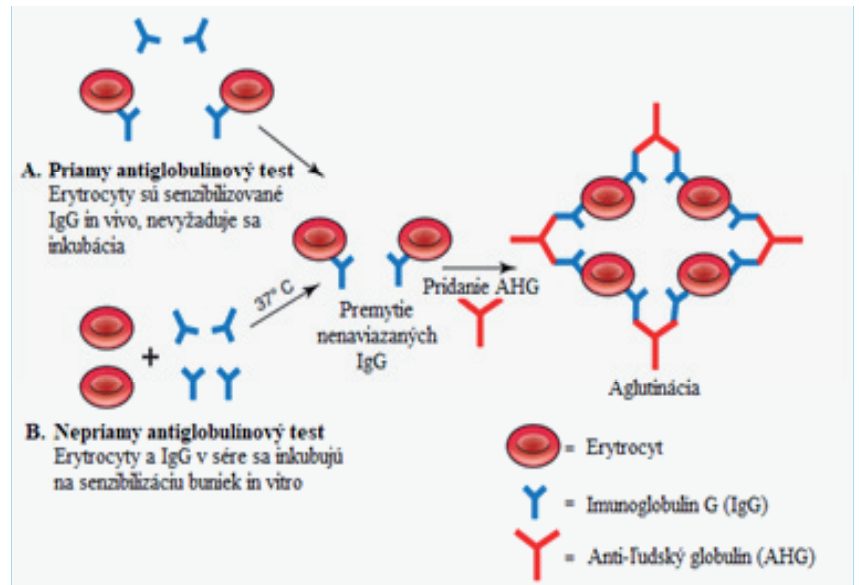
Hlavné ciele prenatalného testovania tehotných žien sú hlavne identifikovať ženy, ktoré už boli aloimunizované pred aktuálne prebiehajúcim tehotenstvom a tie ženy, u ktorých existuje vysoké riziko aloimunizácie počas aktuálneho tehotenstva. Každá tehotná žena by mala absolvovať testovanie medzi 10. a 16. týždňom tehotenstva, ktoré pozostáva z vyšetrenia krvnej skupiny (AB0 a RhD). Tieto materské vzorky by sa mali tiež vyšetriť na prítomnosť protilátok pomocou NAT – nepriameho antiglobulínového testu, ktorý zisťuje prítomnosť IgG protilátok. Opätovná vzorka by sa mala odobrať v 28. týždni tehotenstva a slúži na potvrdenie krvnej skupiny matky a na vyšetrenie ďalších aloprotilátok, ktoré mohli byť primárne nestále alebo ešte neprítomné v skoršom období tehotenstva [8,21].

Prenatálne imuno hematologické vyšetrenia, zamerané na diagnózu a stupeň poškodenia plodu hemolytickým procesom:

1. *Vyšetrenie krvnej skupiny AB0 a Rh faktora u všetkých tehotných žien v prvom trimestri tehotenstva.*

2. *Skríning nepravidelných antierytrocytových protilátok.* U RhD pozitívnych tehotných žien, ak je výsledok testu negatívny, tak sa do ukončenia gravidity vyšetrenie už neopakuje. RhD negatívne ženy sú kontrolované v každom trimestri aj pri negatívnom výsledku. Ak je RhD negatívna tehotná imunizovaná, sleduje sa hladina a dynamika vzostupu antierytrocytarnej protilátky v závislosti od výšky titra v 14-18 dňových intervaloch [21,22]. Detekcia antierytrocytových protilátok je veľmi dôležitá pri zachytení a monitorovaní prípadov, u ktorých je riziko pôrodu novorodencov s hemolytickou chorobou novorodenca. Test na detekciu týchto neaglutinujúcich, voľných imúnnych protilátok, opísali v roku 1945 Coombs a kolektív preto ma označenie aj Coombsov test alebo nepriamy antiglobulínový test (NAT) – obrázok č. 5. Test je považovaný za najspoľahlivejší a najúčinnější na detekciu klinicky významných protilátok. Na vyšetrenie sa používajú reagenčné erythrocyty, ktoré majú na svojom povrchu exprimované antigény C, c, D, E, e, K, k, Fy^a, Fy^b, S,

s, Jk^a, Jk^b, Le^a, M, N v homozygotnej a heterozygotnej forme [23]. Na dokázanie prítomnosti protilátky naviazanej na erythrocytoch plodu slúži PAT (priamy antiglobulínový test, priamy Coombsov test) – obrázok č. 2. Ak chceme tieto naviazané protilátky uvoľniť, použijeme elučný test. Výsledky vyšetrenia matky a vyšetrenia dieťaťa sa musia vždy zhodovať [24].



Obr. 2 Grafické znázornenie priamej a nepriamej antiľudskej globulínovej reakcie

Priamy antiglobulínový test (PAT) deteguje IgG protilátky, ktoré sú naviazané na zodpovedajúce antigény na erythrocytoch. Nepriamy antiglobulínový test (NAT) si vyžaduje inkubáciu pri 37 °C na in vitro naviazanie IgG protilátok na zodpovedajúce antigény na erythrocytoch (upravené podľa: Keohane et al., 2020; [12]).

3. *Kvantifikácia protilátky – titrácia plazmy/séra.*

Táto jednoduchá metóda dáva semikvantitatívne hodnotenie hladiny protilátky. Titre sa uvádzajú ako prevrátené hodnoty najvyššieho riedenia, pri ktorom môžeme pozorovať aglutináciu. Kritický titer je definovaný ako titer spojený s veľkým rizikom fetálnej anémie alebo hydrpsu. Po dosiahnutí tohto kritického titra by sa mal plod ďalej monitorovať pomocou ultrasonografie alebo amniocentézy, pričom ďalšia titrácia protilátok už nehrá žiadnu rolu pri hodnotení stavu plodu. Kritická hladina titra pri anti-D protilátke je 1:32. Pri hladine nižšej ako 1:8 vyšetrenou metódou NAT nehrozí HCHN. Z mechanizmu deštrukcie erythrocytov senzibilizovaných IgG protilátkou vyplýva, že neexistuje presná korelácia medzi titrom IgG protilátky vyjadrenej titračne, ktorá neaktivuje komplement alebo ich množstvom, vyjadreným kvantitatívne a ich lytickým potenciálom na erythrocyty. Z týchto dôvodov nie je možné len z titra protilátky predpovedať stupeň poškodenia plodu.

4. *Vyšetrenie otca na zgyozytu antigénu D pri inkompatibilite v Rh systéme.*

Ak je otec homozygot D/D, plod je pozitívny, ak otec je heterozygot D/d plod je v 50% pozitívny.

5. *Analýza subtypov IgG [8,25].*

Neinvazívne metódy diagnostiky

Medzi neinvazívne metódy diagnostiky HCHN patrí ultrasonografia (USG), ktorá môže zobrazit' niektoré z patofyziologických zmien u plodu v dôsledku anémie [23]. USG môžeme vykonávať sériovo a takisto v kombinácii s inými diagnostickými vyšetreniami na správne posúdenie stavu plodu. Pri hydropse anemického plodu môžeme pozorovať polyhydramnion (nadbytok plodovej vody), ďalej zväčšenie placenty, hepatomegáliu, perikardiálny výpotok, ascites a pleurálne výpotky. Pri absencii hydropsu však ultrasonografické parametre, ako je obvod hlavy a brucha, intraperitoneálny objem, veľkosť sleziny a pečene, nie sú príliš spoľahlivé na rozlíšenie miernej od ťažkej anémie vyvíjajúceho sa plodu [26]. Napriek tomu, dopplerovské meranie maximálnej rýchlosti systolického prietoku krvi v cerebrálnej artérii plodu, je mimoriadnou pomocnou a cennou technikou slúžiacou na určenie stupňa anémie plodu, keďže má až 100 % senzitivitu a veľmi vysokú špecifickosť [7].

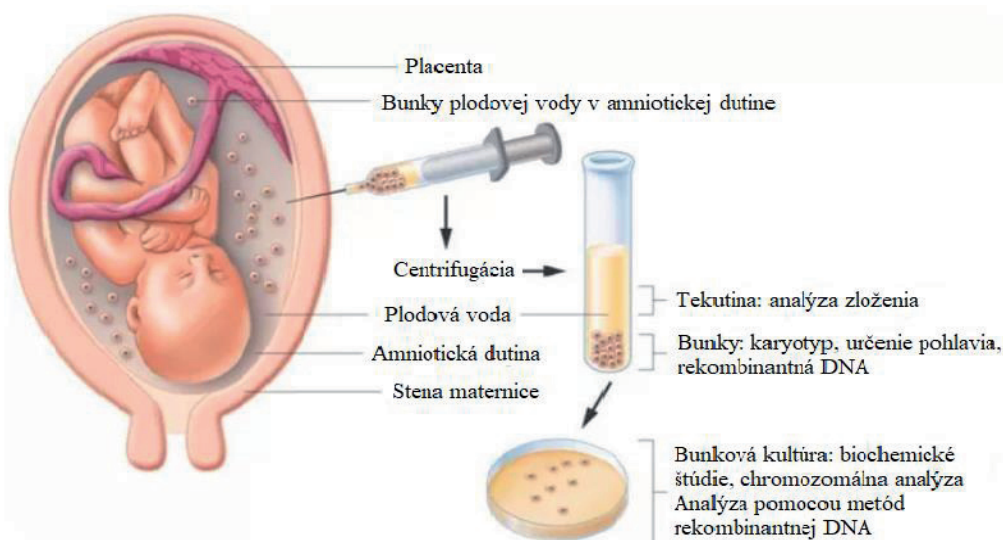
Invazívne metódy diagnostiky

Invazívne metódy diagnostiky hemolytickej choroby novorodenca zahŕňajú amniocentézu a kordocentézu, pri ktorých sa odoberá plodová voda, či krv plodu, ktoré slúžia na zistenie

stupňa ohrozenia plodu hemolytickou chorobou. Tieto metódy sú však vo veľkej miere nahradené neinvazívnymi technikami monitorovania plodu, z dôvodu mnohých možných vedľajších účinkov vrátane straty plodu [8].

Amniocentéza

Amniocentéza je invazívna technika, pri ktorej sa odoberá malé množstvo plodovej vody z dutiny maternice pomocou ihly – obrázok č.3. Tento zákrok sa vykonáva transabdominálne a je vykonávaný hlavne vyškoleným pôrodnikom pod vedením ultrazvuku. Prvýkrát bola vykonaná amniocentéza v roku 1956. Služi na diagnostické a terapeutické účely. Môže sa vykonať medzi 15.-20. týždňom tehotenstva, avšak je možné ju uskutočniť aj v skorých alebo neskorších týždňoch tehotenstva. Získaná plodová voda pozostáva z fetálnych, exfoliovaných buniek, transudátov, moču a iných sekrétov [27]. Amniocentéza, je nápomocná pri zisťovaní celkového stavu plodu a býva indikovaná, keď je klinicky významný titer materských protilátok 1:32, resp. väčší, vo štvrtom alebo piatom mesiaci tehotenstva. Ak už predchádzajúce tehotenstvo bolo spojené s hemolytickým ochorením novorodenca, amniocentéza je indikovaná bez ohľadu na súčasný titer protilátok v sére matky [23].



Obr. 3 Amniocentéza (upravené podľa [23,27]).

Pri vyšetrení plodovej vody sa v poslednom polstoročí využíva spektrofotometria s použitím bilirubínu ako indikátora na meranie hemolýzy plodu. Odhad množstva žltového pigmentu v plodovej vode sa vykonáva meraním rozdielu pri optickej hustote 450 nm medzi pozorovanou hustotou a očakávanou optickou hustotou. Tento rozdiel je napokon vyznačený na grafe navrhnutom na predpovedanie závažnosti ochorenia [4].

Kordocentéza

Perkutánný odber pupočníkovej krvi (kordocentéza) je jeden z preferovaných spôsobov získania krvi z plodu *in utero* pomocou ihly zavedenej do pupočníkovej žily pod prísny ultrasonografickým monitorovaním. Zákrok sa vykonáva v lokálnej anestézii. Je nevyhnutné potvrdenie, že získaná vzorka je čistá krv plodu. Rýchly spôsob na overenie čistoty fetálnej

krvi je určenie stredného objemu erytrocytov. Vzorky fetálnej krvi sa odoberajú na priame meranie kompletného krvného obrazu, počtu retikulocytov, fenotypizáciu antigénov červených krviniek, bilirubínu, krvných plynov a laktátu na posúdenie acidobázického stavu [2,8].

Liečba a prevencia hemolytickej choroby novorodenca

Ak je počas tehotenstva podozrenie alebo zistená hemolytická choroba plodu *in utero*, je potrebné čo najskôr vyhľadať odbornú lekársku pomoc pre matku a dieťa. Liečba plodu ovplyvneného HCHN môže zahŕňať vnútro maternicovú transfúziu, pričom sa nahromadená hemolyzovaná krv odstráni amniocentézou z brucha plodu a je nahradená malým množstvom čerstvých

erytrocytov. Tento postup možno použiť na korekciu fetálnej anémie zabrániť hydropsu plodu. Používa sa aj kordocentéza, pričom sa čerstvé červené krvinky vstreknú do pupočnej žily. Miera prežitia plodov dostávajúcich transfúziu je 85 % až 90 %; a riziko predčasného úmrtia počas týchto procedúr sa pohybuje od 1 % až 3 % [28]. Po pôrode môže novorodenec potrebovať výmenné transfúzie a fototerapiu na zníženie hladiny nepriameho bilirubínu v sére a zabránenie kernikteru (akumulácii bilirubínu v mozgu). Predĺžená postnatálna anémia môže byť výsledkom pomalého poklesu materských protilátok v obehu novorodenca. U dojčiat, ktoré dostali vnútramaternicové transfúzie sú zdokumentované zriedkavé prípady dlhotrvajúcej anémie [12].

Prenatálna liečba

Najúspešnejšou možnosťou prenatálnej liečby HCHN je intrauterinná transfúzia. Medzi ďalšie varianty patrí plazmaferéza matky, podanie intravenózneho gamaglobulínu či predčasný pôrod anemického dieťaťa.

Intraumbilikálna transfúzia

Pred zavedením intraumbilikálnej transfúzie (IUT) mnoho ťažko postihnutých plodov zomrelo už v maternici alebo krátko po pôrode. Transfúzia má charakter intravaskulárneho podania – do pupočnej žily, riadenej ultrazvukom. Táto transfúzia umožňuje zlepšenie fetálnej anémie a takisto znižuje riziko kongestívneho zlyhania srdca a hydropsu plodu. IUT sa podávajú pri hladinách fetálneho hematokritu 25-30 % alebo menej, v intervale približne 2-3 týždne od 20. do 34. týždňa tehotenstva. Pokles hematokritu u plodu s ťažkým hemolytickým ochorením je veľmi rýchly a často si tieto prípady vyžadujú opätovnú transfúziu už do 7-14 dní po prvej transfúzii. Erytrocyty na intraumbilikálnu transfúziu sú zvyčajne krížovo kompatibilné s plazmou matky a sú antigénne negatívne na akúkoľvek identifikovanú protilátku. Takisto musia byť ožiarené a deleukotizované [8].

Plazmaferéza u matky

Plazmaferéza u matky je liečebný postup, pri ktorom sú z plazmy matky odstránené niektoré látky s vysokou molekulovou hmotnosťou pomocou separátora a tým dôjde k zníženiu titra protilátok v krvnom obehu matky. Využíva sa najmä, keď je hemolytická choroba novorodenca vyvinutá vo včasnom štádiu tehotenstva, ešte pred 20. týždňom [23]. Vykonáva sa zvyčajne už v 1. trimestri tehotenstva (medzi 10. až 12. týždňom) až po dobu, kedy je možné uskutočniť intraumbilikálnu transfúziu. Pri plazmaferéze je nutné použiť 2-3 objemy plazmy, keďže stimulácia anti-D protilátky stále pokračuje a veľká časť tejto protilátky sa vracia do krvného obehu [7].

Podanie intravenózneho gamaglobulínu (IVIG)

Jednou z alternatívnych možností liečby je použitie intravenózneho imunoglobulínu (IVIG) podaného tehotnej na zvládnutie vážneho aloimunizovaného tehotenstva. Mechanizmus, ktorým IVIG môže pôsobiť, je saturácia FcRn (neonatálny Fc receptor), čím sa inhibuje prenos anti-D placentou na plod. Výsledkom podania IVIG je, že dochádza k redukcii materských protilátok až na približne 50 %. Tehotnej žene sa podáva injekčne buď 1 g/kg jedenkrát týždenne alebo 2 g/kg počas piatich dní jednorazovo. Podanie IVIG plodu nepreukázalo žiadny priaznivý účinok [7,23].

Predčasný pôrod

V minulosti sa zistilo, že približne pri 50 %o všetkých mŕtvo narodených detí došlo k úmrtiu plodu po 35. týždni tehotenstva v dôsledku hemolytickej choroby. Kvôli vysokej úmrtnosti predčasne narodených detí sa často v minulosti vyhýbalo vykonávaniu predčasného pôrodu pred tridsiatym piatym týždňom tehotenstva, ale s neustále rastúcim úspechom v starostlivosti o predčasne narodené deti z dôvodu možnosti súčasnej medicíny, je pôrod detí s HCHN možné realizovať už od 30.-32. týždňa tehotenstva, a to s vysokou mierou prežitia týchto novorodencov [2].

Rozhodnutie o vhodnom čase predčasného pôrodu dieťaťa je založené na jeho gestačnom veku, zrelosti pľúc plodu a jeho hmotnosti, odpoveďou plodu na intraumbilikálnu transfúziu a tiež na prenatálnej ultrasonografii a dopplerovskej štúdii fetálnej anémie [8].

Postnatálna liečba

Pri narodení sa prerušuje spojenie medzi materským obehom a obehom dieťaťa, a tým sa výrazne zvyšuje riziko novorodeneckej hyperbilirubinémie. Hoci väčšinou je u novorodencov žltacka benígna, liečba hyperbilirubinémie je v novorodeneckom období veľmi dôležitá kvôli riziku vzniku bilirubinovej encefalopatie. Postihnuté deti zväčša potrebujú fototerapiu či výmennú transfúziu [21]. Liečba má byť zahájená ihneď po pôrode, ak je zo vstupných vyšetrení pupočníkovkej krvi (zistenie krvnej skupiny AB0 a Rh faktora, a takisto by sa mal vykonať PAT) a matky zrejme, že materské sérum obsahuje aloprotilátky proti erytrocytom s potenciálnym klinickým významom alebo ak novorodenec vykazuje príznaky hemolytickej choroby [8].

Výmenná transfúzia

Výmenná transfúzia môže byť potrebná hlavne u silne anemických novorodencov. Charakterizuje ju nahradenie erytrocytov dojčiat antigén-negatívnymi erytrocytmi, čím sa zabráňuje ďalšej hemolýze [6]. Výmenná transfúzia odstraňuje z krvi novorodenca cirkulujúci bilirubín a erytrocyty senzibilizované protilátkou a nahrádza ich erytrocytmi kompatibilnými s materským sérom, čím poskytuje nové väzbové miesta pre bilirubín. Tento proces zahŕňa umiestnenie katétra cez pupočnú žilu do dolnej dutej žily s následným postupným odstránením a nahradením 5 až 10 ml krvi, až kým sa nedosiahne približne dvojnásobok objemu cirkulujúcej krvi novorodenca. Tento proces odstráni asi 70-90 % erytrocytov plodu. Ideálny objem pre transfúziu je dvojnásobok objemu krvi novorodenca. Prekročením objemu by sa dosiahol len malý prínos, pretože účinnosť klesá exponenciálne, ako transfúzia pokračuje. Takisto je nutné zohľadniť objem výmennej transfúzie medzi donosenými a predčasne narodenými deťmi. Keďže väčšina bilirubínu je v extravaskulárnom priestore dieťaťa, výmennou transfúziou sa odstráni len asi 25 % celkového bilirubínu. Výmenná transfúzia nie je bez rizika, odhadovaná morbidita je 5 % a mortalita až 0,5 % [8,20]. Medzi potencionálne nežiaduce účinky transfúzie patrí hypokalcémia, hyperglykémia/hypoglykémia, neutropénia, trombocytopenia, umbilikálna venózna a/alebo arteriálna trombóza a infekcia. Trombocytopenia a hypokalcémia sa uvádzajú ako najfrekvencovanejšie komplikácie. Dojčatá s trombocytopeniou kvôli závažnej HCHN sa musia pozorne sledovať, pretože môžu vyžadovať aj transfúziu krvných doštičiek [8].

Fototerapia

Fototerapia bola zavedená v 70. rokoch 20. storočia a stala sa hlavným spôsobom liečby novorodenckej hyperbilirubinémie a spôsobom zníženia potreby výmenných transfúzií. Fotoizomerizácia spôsobuje premenu bilirubínu na izomér rozpustný vo vode, ktorý sa potom môže vylučovať obličkami a stolicou bez potreby spracovania v pečeni. Účinnosť fototerapie je ovplyvnená hlavne vlnovou dĺžkou a intenzitou použitého svetla, celkovou dávkou svetla (čas a plocha expozície) a prahom, pri ktorom sa fototerapia začína. Optimálne svetlo používané na fototerapiu má vlnovú dĺžku 460–490nm a malo by byť v blízkosti vzdialenosti nad dieťaťom (asi 20 cm). Účinnejšia sa ukázala dvojitá fototerapia ako jednoduchá [29].

Včasná a intenzívna fototerapiasa má začať u dojčiat so stredne ťažkou alebo ťažkou hemolýzou alebo u dojčiat s rýchlo stúpajúcimi hladinami bilirubínu >0,5 mg/dl za hodinu [8].

Liečba intravenóznymi imunoglobulínmi

Intravenózne imunoglobulín (IVIG) blokuje miesta Fc receptora na bunkách retikuloendotelového systému, čím sa zabráni hemolýze senzibilizovaných buniek. Liečba IVIG sa väčšinou používa pri AB0 HCHN, pri Rh HCHN nie je veľmi účinná [23]. Zistilo sa, že IVIG preukázateľne znižuje potrebu výmennej transfúzie u novorodenca. Okrem toho tiež znížil potrebu a množstvo liekov, dĺžku fototerapie novorodenca, či dĺžku pobytu v nemocnici. Na rozdiel od jednorázovej dávky, viacnásobné podanie je ešte účinnejšie pri znížení výskytu neskorkej anémie. Hoci sa podávanie IVIG preukázalo ako bezpečné, retrospektívny pohľad zaznamenal takmer 30-násobné zvýšenie rizika nekrotizujúcej enterokolitídy [20].

Prevenia HCHN

Preveniu hemolytickej choroby novorodenca možno rozdeliť na primárnu a sekundárnu. Primárna prevencia sa zameriava na zabránenie aloimunizácie tehotnej ženy v prvom tehotenstve. Spočíva v tom, že podávanie transfúzií erytrocytov ženám vo fertílno období je viac prispôbené a kontrolované ako štandardné transfúzie, a to z dôvodu prevencie transfúziou vyvolanej senzibilizácie erytrocytov. Na základe aplikácie tejto prevencie sú v niektorých európskych krajinách ženám mladším ako 45–50 rokov transfundované len Kell negatívne transfúzne prípravky.

Sekundárna prevencia HCHN sa zameriava na RhD-antigén erytrocytov. Protilátka anti-RhD imunoglobulín (RhIG) sa bežne využíva na prevenciu aloimunizácie u RhD negatívnych žien, ktoré by mohli byť senzibilizované po expozícii malého množstva RhD+ erytrocytmi. Vhodným podaním RhD Ig sa riziko aloimunizácie RhD negatívnej matky znižuje zo 16 % na 0,1 % [21]. RhD Ig profylaxia je veľmi účinná, keď je podávaná ženám, ktoré boli vystavené RhD pozitívnym erytrocytom buď z predchádzajúceho tehotenstva alebo z transfúzie. Avšak po aloimunizácii, RhD Ig nie je účinný na prevenciu alebo zníženie závažnosti HCHN. Na rozdiel od RhD Ig neexistujú žiadne komerčne dostupné imunoglobulínové produkty na prevenciu aloimunizácie voči ostatným minoritným erytrocytovým antigénom (vrátane non-D Rh antigénov). Ak sa nájde netehotná žena, ktorá už má vytvorené aloprotilátky, malo by jej byť poskytnuté poradenstvo týkajúce sa potenciálnych účinkov protilátok na budúce tehotenstvo.

Medzi ďalšie možnosti prevencie vysoko rizikovej hemolytickej choroby novorodenca, ktoré sa využívajú veľmi zriedka sú: umelé oplodnenie spermiami od antigén-negatívneho darcu, predimplantačná genetická diagnostika na selekciu antigén-negatívnych embryí a náhradné tehotenstvo, ktoré naša legislatíva momentálne nedovoľuje [8].

Záver

Hemolytická choroba novorodenca predstavuje ochorenie charakterizované skráteným prežívaním erytrocytov plodu alebo novorodenca následkom hemolýzy spôsobenej materskými aloprotilátkami. Vyznačuje sa rôznym stupňom závažnosti klinických príznakov, ktorý aj napriek súčasnému pokroku v diagnostike a manažmente môže skončiť perinatálnou úmrtnosťou. Diagnostika je komplexná - vyžaduje dôkladnú anamnézu, laboratórne a zobrazovacie vyšetrenia. Liečba ťažších prípadov je už prenatálna, s potrebou umbilikálnej transfúzie, plazmaferézy alebo intravenózných imunoglobulínov. Postnatálne je dôležitá výmenná transfúzia alebo fototerapia. V opodstatnených prípadoch má zásadný význam profylaxia anti-RhD imunoglobulínom.

Zoznam bibliografických odkazov

1. Drakulová M, Ceizelová L. Antigény erytrocytov a význam antierytrocytových protilátok. *Gynekológia pre prax*. 2008; 368: 213-217.
2. Klein GH, Anstee JD. *Mollison's blood transfusion in clinical medicine* (12. vyd.). West Sussex: Wiley Blackwell; 2014.
<https://doi.org/10.1002/9781118689943>
3. Kindt, J.T., Goldsby, A.R., Osborne, A.B., Kuby, J. (2007). *Kuby Immunology* (6. vyd.). New York: W. H. Freeman. ISBN: 9781429202114.
4. Quinley DE. *Imunohematology. Principles and practise* (3. vyd.). Philadelphia, PA: Wolters Kluwer; 2011.
5. Masopust J. Hemolytické onemocnění plodu a novorozence (HON). In ŘEHÁČEK, V. a kol., *Transfúzní lékařství*. Praha: Garda; 2013.
6. Hall V, Avulakunta DI. (2021). Hemolytic Diseases Of The Newborn. StatPearls Publishing LLC; 2021.
7. Masopust J, Písačka M. *Praktická imunohematologie. Erytrocyty*. Praha: Mladá fronta a. s.; 2016.
8. Kaushansky K, Lichtman AM, Prchal TJ. et al. *Williams Hematology* (9. vyd.). New York: McGraw-Hill; 2016.
9. Sarwar A, Citla Sridhar D. Rh-Hemolytic Disease. StatPearls Publishing LLC; 2021.
10. Fung KM, Eder FA, Spitalnik S, Westhoff MC. *Technical Manual* (19. vyd.). Bethesda, MD: American Association of Blood Banks; 2017.
11. Lokeshwar MR, Nitin S, Sachdeva A, et al. *Textbook of Pediatric Hematology & Hemato-Oncology*. India: Jaypee Brothers Medical Publishers; 2016.
12. Keohane ME, Otto NC, Walenga MJ, al. *Rodak's hematology. Clinical principles and applications* (6. vyd.). St. Louis: Elsevier; 2020.
13. Greer PJ, Rodgers MG, Glader B, et al. *Wintrobe's clinical hematology* (14. vyd.). Philadelphia, PA: Wolters Kluwer; 2019.
14. Stefanovic V. Fetomaternal hemorrhage complicated pregnancy: risks, identification, and management. *Current opinion in obstetrics & gynecology*. 2016;28(2): 86-94.
<https://doi.org/10.1097/GCO.0000000000000248>
15. Ziprin JH, Payne E, Hamidi L, Roberts I, Regan F. ABO incompatibility due to immunoglobulin G anti-B antibodies presenting with severe fetal anaemia. *Transfusion medicine (Oxford, England)*. 2005;15: 57-60.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-3148.2005.00549.x>
16. Thilaganathan B, Salvesen DR, Abbas A, et al. Fetal plasma erythropoietin concentration in red blood cell-isoimmunized pregnancies. *American journal of obstetrics and gynecology*. 1992;167(5):1292-1297.
[https://doi.org/10.1016/S0002-9378\(11\)91703-7](https://doi.org/10.1016/S0002-9378(11)91703-7)
17. Sikkil E, Pasmán SA, Oepkes D, Kanhai HH, Vandenbussche FP. On the origin of amniotic fluid bilirubin. *Placenta*. 2004;25(5):463-468.
<https://doi.org/10.1016/j.placenta.2003.10.015>
18. Shapiro SM. Definition of the clinical spectrum of kernicterus and bilirubin-induced neurologic dysfunction (BIND). *Journal of perinatology* : official journal of the California Perinatal Association. 2005;25(1):54-59.
<https://doi.org/10.1038/sj.jp.7211157>
19. Kuzniewics M, Newman T B. Interaction of hemolysis and hyperbilirubinemia on neurodevelopmental outcomes in the collaborative perinatal project. *Pediatrics*. 2009;123(3):1045-1050.
<https://doi.org/10.1542/peds.2007-3413>
20. Wagle S. Hemolytic disease of the newborn. *Medscape*. 2017. <https://emedicine.medscape.com/article/974349-overview>. Accessed April 10, 2022.
21. Delaney M, Matthews CD. Hemolytic disease of the fetus and newborn: managing the mother, fetus, and newborn. *Hematology: the American Society Hematology Education Program*. 2015;146-151.
<https://doi.org/10.1182/asheducation-2015.1.146>
22. American Academy of Pediatrics Subcommittee on Hyperbilirubinemia. Management of hyperbilirubinemia in the newborn infant 35 or more weeks of gestation. *Pediatrics*. 2014;114(1):297-316.
<https://doi.org/10.1542/peds.114.1.297>
23. Das S. Hemolytic disease of the fetus and newborn. *Bloodgroups*. 2019.
<https://doi.org/10.5772/intechopen.85316>
24. Fábryová V, Cupaniková D, Grmanová E, a kol. *Imunohematologie a transfúzna medicína pre prax*. Praha: Grada Publishing a.s.; 2012.
25. Moise KJ Jr. Management of rhesus alloimmunization in pregnancy. *Obstetrics and gynecology*. 2008;112(1):164-176.
<https://doi.org/10.1097/AOG.0b013e31817d453c>
26. Dukler D, Oepkes D, Seaward G, Windrim R, Ryan G. Noninvasive tests to predict fetal anemia: a study comparing Doppler and ultrasound parameters. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2003;188(5):1310-1314.
<https://doi.org/10.1067/mob.2003.265>
27. Jindal A, Sharma M, Chaudhary C. *Amniocentesis*. StatPearls Publishing. 2021.
28. Dodd MJ, Windrim CR, van Kamp LI. Techniques of intrauterine fetal transfusion for women with red-cell isoimmunisation for improving health outcomes. *The Cochrane database of systematic review*. 2012;(9):CD007096.
<https://doi.org/10.1002/14651858.CD007096.pub3>
29. Ree MCI, Smits-Wintjens EV, Bom GJ, Klink MJ, et al. Neonatal management and outcome in alloimmune hemolytic disease. *Expert Review of Hematology*. 2017;10(7):607-616.
<https://doi.org/10.1080/17474086.2017.1331124>

Kontakt:

Eva BRNICKÁ
Katolícka univerzita v Ružomberku
Fakulta zdravotníctva
Nám. A. Hlinku 48
034 01 Ružomberok
e-mail: e.brnicka@mail.com