

# RH SENZIBILIZACIJA TIJEKOM TRUDNOĆE

---

Švenjak, Monika

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Rijeka, Faculty of Medicine / Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:184:571073>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-31**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository](#)



SVEUČILIŠTE U RIJECI  
MEDICINSKI FAKULTET  
INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I DIPLOMSKI  
SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINE

Monika Švenjak

RH SENZIBILIZACIJA TIJEKOM TRUDNOĆE

Diplomski rad

Rijeka, 2020

SVEUČILIŠTE U RIJECI  
MEDICINSKI FAKULTET  
INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I DIPLOMSKI  
SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINE

Monika Švenjak

RH SENZIBILIZACIJA TIJEKOM TRUDNOĆE

Diplomski rad

Rijeka, 2020

Mentor rada: Prof.dr.sc. Oleg Petrović, dr. med.

Diplomski rad ocjenjen je dana \_\_\_\_\_ u/na \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_, pred povjerenstvom u sastavu:

1. Doc. dr. sc. Aleks Finderle, dr. med. (predsjednik Povjerenstva)

2. Doc. dr. sc. Vedran Frančišković, dr. med.

3. Doc. dr. sc. Ozren Mamula, dr. med.

Rad sadrži 53 stranice, 12 slika, 2 tablice, 60 literaturnih navoda.

*Zahvaljujem se svojemu mentoru prof.dr.sc. Oleg Petroviću na lijepoj suradnji, svojoj pomoći i savjetovanju literature, iskrenim savjetima, te pružanju slobode u odabiru teme rada.*

*Također, duboko se želim zahvaliti svojoj obitelji na velikom razumijevanju, mentalnoj i emocionalnoj podršci, na tome što je uvijek bila uz mene i omogućila mi da dostignem svoj cilj.*

*Hvala majci na velikoj snazi i tome što je uvijek čvrsto vjerovala u ono što jesam, ocu bez čije bi stručne pomoći u kasnim noćima iscrpni sati mog rada bili izgubljeni, dragome bratu na izdvojenom vremenu, korisnim savjetima, te također stručno udijeljenom znanju koji mi je uvelike olakšao pisanje ovog rada. Iskreno hvala kolegici Ivani na velikom razumijevanju, prijateljstvu, slušanju, savjetovanju; i hvala velikom prijatelju Amiru za sve. Posebno hvala mom suprugu na svojoj potpori, pomoći, strpljenju i ljubavi.*

## POPIS SKRAĆENICA I AKRONIMA

Rh – eng. Rhesus

RBC – crvene krvne stanice (*eng. Red blood cells*)

HTR – hemolitička transfuzijska reakcija (*eng. Hemolytic transfusion reaction*)

HBFN – hemolitička bolest fetusa i novorođenčeta (*eng. Hemolytic disease of the newborn*)

HZTM – Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

ET - eksangvinotransfuzija (*eng. Exsanguinotransfusion/Exchange transfusion*)

CO – ugljični monoksid

IPT – intraperitonealna transfuzija (*eng. Intraperitoneal transfusion*)

IUIVT - intrauterina intravaskularna transfuzija (*eng Intrauterine intravascular transfusion*)

FDA – Američka Agencija za hranu i lijekove (*eng. Food and Drug Administration*)

ISBT – Međunarodno društvo za transfuziju krvi (*eng. International Society of Blood Transfusion*)

FMK – fetomaternalno krvarenje (*eng. Fetomaternal hemorrhage*)

IgM – imunoglobulin M klase

RES – retikuloendotelni sustav (*eng. reticuloendothelial system*)

ADCC – stanična citotoksičnost ovisna o antitijelima (*eng. Antibody dependent cell-mediated cytotoxicity*)

CNS – središnji živčani sustav

Hb – hemoglobin

SD – standardna devijacija

cfDNA - slobodna DNA (*eng. cell-free fetal DNA*)

IAT – indirektni antiglobulinski test (*eng. Indirect Antiglobulin Test*)

ICT – indirektni Coombsov test

CTG – kardiokografija (*eng. cardiotocography*)

HbF – fetalni hemoglobin

HbA – adultni hemoglobin

FMT – fetomaternalna transfuzija

RhIg – Rh imunoglobulin

MCA-PSV – maksimalna brzina protoka središnje moždane arterije (*eng. Middle cerebral arterial - peak systolic velocity*)

SMV – srčani minutni volumen

Ht - hematokrit

GVHD - reakcija transplantata protiv primatelja (*eng. Graft vs host disease*)

BCSH – Britansko društvo za hematologiju (*eng. British Society for Haematology*)

IVIG – intravenski imunoglobulini

DCT – direktni Coombsov test

# SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. Definicija i značaj .....	1
1.2. Pregled kroz povijesne činjenice .....	2
2. SVRHA RADA.....	5
3. PREGLED LITERATURE NA ZADANU TEMU.....	6
3.1. Epidemiologija.....	6
3.1.1. Globalna prevalencija Rh(D) faktora .....	7
3.1.2. Prevalencija Rh(D) faktora u Hrvatskoj .....	8
3.2. Sustav eritrocitnih antigena i antitijela.....	9
3.2.1. Rh sustav .....	10
3.3. Etiopatogeneza.....	11
3.3.1. Produkcija i dinamika anti-D protutijela.....	12
3.3.2. Prenatalna promjena na razini tkiva .....	15
3.4. Hemolitička bolest fetusa i novorođenčeta (HBFN) .....	16
3.4.1. Kliničko očitovanje .....	17
3.4.2. Klasifikacija težine hemolitičke bolesti .....	19
3.5. Prenatalna dijagnostika.....	23



3.5.1. Imunohematološko testiranje.....	24
3.5.2. Daljnja obrada dokazane Rh senzibilizacije .....	25
3.5.2.1. Značaj titra antitijela .....	26
3.5.2.2. Uloga amniocenteze, dopler sonografije i kordocenteze .....	28
3.6. Terapija.....	30
3.6.1. Terapijski postupci postnatalno.....	32
3.7. Prevencija.....	34
3.7.1. Antenatalna imunoprofilaksa .....	35
3.7.2. Postnatalna profilaksa.....	37
3.7.3. Kleihauer - Betke test .....	38
4. RASPRAVA .....	40
5. ZAKLJUČCI.....	42
6. SAŽETAK.....	43
7. SUMMARY .....	44
8. LITERATURA .....	45
9. ŽIVOTOPIS .....	53

## 1. UVOD

### 1.1. Definicija i značaj

U današnje doba Rhesus senzibilizacija (izoimunizacija, aloimunizacija) predstavlja vrlo mali udio patoloških stanja koja se javljaju za vrijeme trudnoće. Međutim, neliječena Rh imunizacija može rezultirati razvojem vrlo teške patologije fetusa i novorođenčadi, koja u značajnoj mjeri ugrožava intrauterini razvoj, kao i život novorođenog djeteta.

Kroz vremenski period u kojem nije postojala djelotvorna terapija ovakvo je stanje značajno ugrožavalo zahvaćenu trudnoću i stoga je desetljećima praćeno visokim udjelom perinatalnog morbiditeta i mortaliteta, koji je iznosio i do 50%. (1)

U osnovi, Rh imunizacija predstavlja komplikaciju trudnoće koja se očituje prenaplašenim imunološkim odgovorom Rh(D) negativne majke odnosno formiranjem antitijela koji se vežu za površinske antigene eritrocita nosećeg Rh(D) pozitivnog fetusa.

Rh negativnu krvnu grupu nosi osoba čiji eritrociti ne ekspimiraju Rh proteine (antigene) na površini i to isključivo Rh(D) proteine unutar Rh sustava, za razliku od Rh pozitivne osobe koja sadrži Rh(D) antigene na površini crvenih krvnih stanica (RBC).

Sve do 40-tih godina prošlog stoljeća i primjene Rh genotipizacije najčešći uzrok Rh imunizacije bila je transfuzija krvi između nekompatibilnog donora i primatelja, a koja se nerijetko klinički očitovala hemolitičkom transfuzijskom reakcijom (HTR). Točnije, sve do upotrebe genotipizacije većinu HTR uzrokovala je upravo Rh inkompatibilnost. (3)

Danas se razvoj senzibilizacije najčešće povezuje s trudnoćom, a kao značajna posljedica moguć je razvoj hemolitičke bolesti fetusa i novorođenčeta (HBFN). Ovisno o više čimbenika ishod bolesti

može varirati u nekoliko stupnjeva, a među one najteže spadaju intrauterina smrt i neurološka oštećenja. (1,4)

Zahvaljujući adekvatnoj i brzom dijagnostici te uspješnim mjerama prevencije i liječenja, mogući neželjeni ishodi danas su svedeni na minimum. Pritom u odnosu na prošlost kada nije postojao izbor, sada svaka trudnica ima mogućnost odabira primitka imunoprofilakse i prevencije senzibilizacije. (5)

## 1.2. Pregled kroz povijesne činjenice

Rezus faktor naziv je koji potječe od imena *Rhesus macaque*, vrste primata iz porodice majmuna (*Macaca mulatta*) na čijim je eritrocitima pronađen protein nalik površinskom proteinu ljudskih eritrocita. Iako dosta slični, rezus proteini između čovjeka i ostalih životinja međusobno se razlikuju.

Prvim opisanom slučajem fetalnog hidropsa (lat. *hydrops fetalis*) smatra se Hipokratov izvještaj iz 400. godine pr.n.e., dok je renesansni švicarski liječnik Felix Plater istu patologiju prvi put detaljno opisao prvom polovicom 17. stoljeća.

1892. godine pojavio se termin „sindrom zrcala“ kojim je Ballantyne opisao edeme majke, fetusa i posteljice, te čestice bilirubina unutar amnionske tekućine. Dodatno je iznio ostale simptome fetalnog hidropsa kao što su anemija te povećana jetra i slezena. (1-6)

K. Landsteiner je 1900. godine prvi put u povijesti opisao fenomen aglutinacije kojeg je uočio u reakciji humanog seruma i životinjskih eritrocita, a također i eritrocita drugih ljudi. 1907. godine u svojoj je monografiji opisao 4 krvne grupe, za što je dobio i Nobelovu nagradu. (7,8)

1912. godine H. Rautmann je prvi put upotrijebio termin erythroblastosis fetalis zbog pronađenih nezrelih eritrocita (eritroblasta) u krvi fetusa. 20 godina poslije Diamond, Blackfan i Baty su fetalnu eritroblastozu povezali s fetalnim hidropsom, novorođenačkom žuticom (icterus gravis neonatorum) i kongenitalnom anemijom. (1)

Otprilike četiri desetljeća nakon otkrića ABO sustava krvnih grupa, Landsteiner i A.S. Wiener došli su do spoznaje o postojanju još jednog sustava. Injiciranjem ljudskog seruma i seruma Rhesus majmuna u zečeve izazvali su reakciju aglutinacije eritrocita u 85% slučajeva (1937. godine). Na učinkovitosti anti-Rh seruma radilo se nekoliko godina pa je rad o otkriću objavljen tek 1940. godine. U New York Times časopisu objavljen je kratki članak u kojem stoji: „Dr. Wiener vjeruje u mogućí razvoj određene metode kojom bi se majke desenzibilizirale, kako bi se spasile njihove bebe“.

1939. godine P. Levine i R. E. Stetson prijavili su slučaj transfuzijske reakcije kod trudnice koja je primila krv partnera. Unatoč tome što su klinički aspekti HBFN bili poznati dugi niz godina, etiologija i patogeneza bile su nerazjašnjene sve dok Levine naknadno nije povezoao utvrđene činjenice te potvrdio postojanje anti-Rh antitijela 1941. godine. (3,7-10)

1946. godine H. Wallerstein i L. Diamond uspješno su primijenili eksangvinotransfuziju (ET) na stotinjak novorođenčadi oboljele od HBFN. Iako otada ET ulazi u praktičnu primjenu, prve uspješne ET proveli su B. Robertson i A. Hart 20-tak godina prije u svrhu liječenja fetalne eritroblastoze i otrovanja ugljičnim monoksidom (CO).

Bevis je 1956. godine kroz postupak amniocenteze zaključio da povišena koncentracija „krvnog pigmenta“ (bilirubina) nije uzrok HBFN već manifestacija hemolizom ugroženog fetalnog metabolizma, a također je ukazao na važnost primjene spektrofotometrije u procjeni težine HBFN.

1958. godine pokazalo se da ABO inkompatibilnost majke i fetusa smanjuje rizik Rh senzibilizacije (Levine).

1957. godine započeti su prvi pokušaji liječenja intraperitonealnom transfuzijom. Nakon nekoliko neuspjelih pokušaja A.W. Liley je 1963. uspio provesti prvu uspješnu intrauterinu transfuziju, na način da je samu transfuziju primijenio u više navrata: in utero i postpartalno.

Početakom 60-tih godina istovremeno se u različitim centrima diljem svijeta započinje sa ispitivanjima imunoprofilakse, čime je istodobno i pokrenuta njezina klinička primjena. Prve zadovoljavajuće rezultate s anti-Rh protutijelima primijenjenima postpartalno postigli su V. J. Freda, J. G. Gorman, W. Pollack i J. C. Woddrow 1965. godine, a tri godine nakon Američka Agencija za hranu i lijekove (FDA) odobrila je postpartalnu uporabu anti-Rh protutijela u Americi.

1967. godine A. Zipurski i L. G. Israels prvi su dali na prijedlog prenatalnu profilaktičnu primjenu anti-Rh imunoglobulina, što je rezultiralo vrlo učinkovitom praksom kroz više od četiri desetljeća, sve do danas.

1981. godine Rodeck je učinio prvu uspješnu intravaskularnu transfuziju (IUIVT), a prva IUIVT učinjena za vrijeme Jugoslavije bila je 1987. godine u Beogradu, te godinu kasnije i u Zagrebu.  
(1,5,7,11-40)

## 2. SVRHA RADA

Svrha ovog rada bila je prikazati što više esencijalnih činjenica vezano za epidemiologiju Rh senzibilizacije, povijesni slijed koji je prati, etiologiju i patogenezu, kliničko očitovanje hemolitičke bolesti fetusa i novorođenčeta, te dijagnostiku, liječenje i profilaksu.

Kroz rad su sažeto ujedinjeni podaci koji datiraju iz prošloga stoljeća pa sve do najnovijih saznanja modernog doba, u cilju što jasnijeg shvaćanja dinamike bolesti i postupaka koji bi je spriječili ili učinili što blažom za podnijeti.

### 3. PREGLED LITERATURE NA ZADANU TEMU

#### 3.1. Epidemiologija

Izuzev hemolitičkih transfuzijskih reakcija koje se danas rijetko javljaju, Rh senzibilizacija najčešće se razvija u sklopu trudnoća i to heterospecifičnih odnosno, tj. onih trudnoća u kojem Rh negativne majke „nose“ Rh pozitivni plod (suprotna konstelacija). Udio heterospecifičnih trudnoća čini otprilike 10% svih trudnoća, ali ABO inkompatibilnost najveći je razlog hemolitičke bolesti današnjice.

Incidencija hemolitičke bolesti fetusa i novorođenčadi (HBFN) u razvijenim je zemljama iznosila 1% a danas se javlja u otprilike 0,1% - 0,4% novorođene djece, s većim udjelom blago izražene bolesti.

Prije uporabe imunoprofilakse incidencija Rh imunizacije iznosila je i do 13,2%. Najugroženije su bile ABO kompatibilne trudnoće s incidencijom od 16%, u razlici s ABO inkompatibilnim gdje je incidencija iznosila 2%. Pomoću rutinske postpartalne primjene anti-D imunoglobulina sveukupna učestalost pojavnosti smanjila se na 1% do 2% a dodatno je s antenatalnom primjenom reducirana na svega 0,1% do 0,3%.

Unatoč kontinuiranoj provedbi adekvatne prevencije i dalje postoji mogućnost razvoja imunološkog neslaganja majke i ploda, no napretkom terapije i primjenjivane imunoprofilakse postignuto je značajno smanjenje mortaliteta s visokih 50% na 0,02% do 0,03%. (1-5-8-13-15)

### 3.1.1. Globalna prevalencija Rh(D) faktora

Pojavnost Rh imunizacije ovisna je o samoj prevalenciji Rh negativne krvne grupe. S obzirom da ekspresiju Rh faktora uvjetuje genska predodređenost, prevalencija Rh negativne krvne grupe uvelike se razlikuje među etničkim populacijama, a dalje varira i unutar manjih etničkih grupa.

U većini geografskih područja najveći udio čini Rh(D) pozitivna krvna grupa. Prema različitim studijama koje prikazuju globalne trendove, prevalencija Rh negativnih osoba u općoj populaciji nalazi se unutar prosječnog raspona od 5% do 17%.

Najveća učestalost Rh negativiteta prisutna je kod pripadnika bijele rase (oko 15%), otprilike dvostruko manja kod pripadnika crne rase (8%) a najmanja među Azijatima odnosno pripadnicima žute rase (do 0,5%). (18-20) Među pojedinim nacijama uočava se da kineska pokazuje značajno nižu prevalenciju u odnosu na globalnu, a koja iznosi od 0,1% do 0,4%. (21)

U okviru određenih subpopulacija, najveća se učestalost RhD negativiteta uočila kod specifičnog Baski naroda Španjolske i čini više od 47%, dok nasuprot tome najniža incidencija je prisutna među Nativnim Amerikancima i Australskim domorodačkim plemenima (Aboridžini). Na prvim studijama koje su se provodile polovicom prošlog stoljeća nije se otkrio nijedan slučaj Rh negativnih domorodačkih Amerikanaca kao ni fetalne eritroblastoze, dok se kod domorodaca Australije otkrilo tek 4 slučaja. Usporedbom s novijim podacima, smatra se da su takve skupine bile obilježene i do 100% Rh pozitivnim faktorom sve dok se nije oformilo križanje s pripadnicima ostalih dijelova svijeta, čime su stvoreni novi genski okviri. (19,20-22-23-24-24)



### 3.1.2. Prevalencija Rh(D) faktora u Hrvatskoj

Prema Hrvatskom zavodu za transfuzijsku medicinu (HZTM) pojavnost RhD negativnog faktora u Hrvatskoj korelira s Europskom pojavnošću te iznosi oko 15%. (25)

Tijekom razdoblja od 6 godina (od 2012. do 2017. godine) provedena je retrospektivna studija u kojoj je obuhvaćeno 43 740 trudnica na području Sjeverozapadne Hrvatske. Od sveukupnog broja trudnica Rh imunizaciju razvilo je 0,6%, od čega se u 1/3 slučajeva radilo o aktivnoj anti-D imunizaciji, a ostale 2/3 bile su pasivne imunizacije (anti-D profilaksa). Istovremeno, testiranjem 45 978 trudnica iz cijele Hrvatske otkriveno je 2% imunizacija, od čega su 0,9% bile Rh imunizacije.

Od ukupnog broja antitijela Rh sustava kojih ujedno ima najviše, u najvećem su postotku detektirana anti-D protutijela (69,8%), značajno manje otkriveno je anti-E protutijela (14,8%) a najmanje anti-C protutijela (2,16%).

Praćenjem i usporedbom prevalencije Rh-D imunizacije kroz svih šest godina uočena je značajna razlika odnosno pad prevalencije s 1,8% tijekom 2012. godine na 0,3% u 2017. godini. (27)

### 3.1. Sustav eritrocitnih antigena i antitijela

Krvna grupa je sustav crvenih krvnih stanica (RBC) međusobno povezanih značajkom da na vlastitoj membrani nose određenu skupinu antigena. Antigen je stanična komponenta koja izaziva specifičan imunološki odgovor domaćina produkcijom antitijela. Dosljedno tome, površinski RBC markeri služe razlikovanju onog što je vlastito od onog što je strano organizmu.

Do danas je prema Međunarodnom društvu za transfuziju krvi (ISBT) opisano najmanje 33 sustava krvnih grupa, koje su predstavljene s više od 700 eritrocitnih antigena. Antigene osobine se nasljeđuju, a neke od njih kao što je imunogenost predstavljaju ključnu razliku između pojedinih antigenskih grupa. Na osnovi toga izdvaja se otprilike 30 antigena (aglutinogena) koji mogu izazvati razvoj HBFN, a 2/3 spomenutih aglutinogena pripada ABO ili Rh sustavu krvnih grupa. Valja dodatno napomenuti još nekoliko klinički značajnih krvnih antigenskih sustava kao što su MNS, Lutheran, Kell, Lewis, Duffy i Kidd.

Aglutinini izrazito jakih svojstava su anti-A i anti-B imunoglobulini, stalno prisutni unutar krvožilnog sustava. Ova vrsta protutijela prirodno se formira između 2. i 8. mjeseca života. Navedena protutijela nastaju kao odraz imuno-reakcije na antigene hrane ili mikroorganizama u okolišu.

Vezano za navedena anti-A i anti-B protutijela, otprilike 20% svih trudnoća prezentira se oprečnom konstelacijom majke i ploda unutar ABO sustava krvnih grupa. Međutim, kliničke manifestacije ABO neslaganja nisu česta, a i većinom se prezentiraju blagom hemolitičkom reakcijom nakon poroda. (5-27-28-29-30-31)

### 3.2.1. Rh sustav

Rh sustav je najveći i najkompleksniji, također najpolimorfiji i daleko najviše imunogeni sustav krvnih grupa utemeljen na 49 dosad poznatih antigena (najznačajniji: D, d, C, c, E, e). Jedan od prvih otkrivenih antigena unutar sustava, a također i klinički najznačajnijih, je D antigen ili tzv. Rh faktor. Rh(D) antigen ističe se zbog svoje jake imunogenosti koja je među antigenima svih sustava krvnih grupa slabija samo od A i B antigena. Rh(D) transmembranski proteini stanično su specifični odnosno nalaze se isključivo na membrani eritrocita i njihovih neposrednih prekursora (progenitornih stanica). Time se objašnjava težak tijek hemolitičke reakcije u specifičnom imunološkom vezanju antigena s antitijelima.

Kodirajući homologni geni Rh lokusa (RHD i RHCE) nasljeđuju se zajedno i usko vezano preko 1. kromosoma. Obzirom na gensku ekspresiju osoba se klasificira kao Rh pozitivne ili Rh negativne krvne grupe.

Rh pozitivnu krvnu grupu ima osoba čiji eritrociti na svojoj membrani izražavaju D antigen. S obzirom da se Rh faktor nasljeđuje autosomno dominantno, Rh pozitivna osoba ima najmanje jedan Rh (+) alel, te u tom slučaju može biti homozigot (DD) ili heterozigot (Dd).

Rh(D) negativne osobe najčešće imaju potpunu deleciju RHD gena i stoga njihovi RBC ne ekspimiraju Rh antigen na površini. To znači da ne sadrže ni jedan Rh (+) alel i tada je njihov genotip isključivo Rh-/Rh- (dd). U manjem postotku (poglavito crna i žuta rasa) javlja se inaktivni ili tihi RHD gen, odnosno RHD smanjene ekspresije kojom je D antigen izgubio svoju osobitost, a fenotip se isto izražava kao Rh (-). (3-5-17-31-32-33-34)

## 3.2. Etiopatogeneza

Imunizacija nastaje pri susretu imunokompetentne Rh(D) negativne krvne grupe i stranih Rh(D) prezentirajućih eritrocita. Pravilo ovakvog scenarija je Rh(D) negativna trudnica te istovremeno fetus koji nosi Rh(D) faktor naslijeđen od oca. Međutim, izuzetno postoje i opisani slučajevi obratnog mehanizma gdje se Rh(D) negativni ženski fetus imunizira na Rh(D) faktor prisutan u majke.

U današnje vrijeme Rh imunizacija se najčešće formira u tijeku heterospecifičnih trudnoća ili za vrijeme porođaja. Osim kroz period ranog puerperija, spontanog ili inducirano pobačaja, ektopične i molarne trudnoće, traume te invazivnih opstetričkih postupaka, iznimno se javlja i putem transplantacije koštane srži, ubodnog incidenta ili transfuzijskog procesa Rh nepodudarne krvi.

Dakle, imunizacija nastaje uslijed izlaganja fetalne krvi majčinoj, prije ili tijekom porođaja. Takozvano fetomaternalno krvarenje (FMK) tolerira se kao normalna pojava tijekom porođaja a fiziološko je i za vrijeme trudnoće, ako se izražava u jako malim količinama. Kako učestalost i volumna količina FMK rastu s gestacijskom dobi, intenzitet krvarenja značajno se povisuje tijekom porođajnog doba. Stoga porođajno doba ujedno nosi i najveći rizik za razvoj imunizacije. Podaci govore da vrlo mali volumen fetalne krvi koji dospije do majčine cirkulacije izaziva imunizaciju. Uobičajeno se radi o količini manjoj od 0,5 mL fetalne krvi, što se praktično vidi kao jedna kap krvi ili otprilike 10 mL retroplacentalnog hematoma.

Antenatalna FMK po etiologiji mogu biti idiopatska ili kako je već spomenuto mogu nastati u sklopu različitih traumatskih ozljeda ili abrupcije placente. Idiopatska (spontana) FMK najvećim

su dijelom krvarenja malih volumena zbog čega nemaju hemodinamski značaj, ali mogu potaknuti razvoj imunizacije.

Manifestacija Rh senzibilizacije ovisna je o gestacijskoj dobi, volumenu FMK, ABO odnosu majke i ploda, količini izraženih Rh antigena kao i njihovom imunogenom kapacitetu, titru protutijela, mogućnosti prolaska protutijela kroz placentu, imunološkoj kompetentnosti majke, tijeku trudnoće, paritetu, komplikacijama trudnoće i određenim medicinskim postupcima primijenjenim za vrijeme trudnoće. (15-17-19,35-36-37-38)

### 3.3.1. Produkcija i dinamika anti-D protutijela

Imunološki odgovor na prisutne antigene izrazito je brz proces. Rh(D) antigeni već se za vrijeme prvog tromjesečja mogu potpuno eksprimirati na membrani fetalnih eritrocita, te razvoj senzibilizacije može započeti već u 6. tjednu gestacije.

Eritrociti koji na površini nose ove specifične antigene u mogućnosti su izazvati formaciju specifičnih protutijela prelaskom transplacentalne barijere ili limfnih puteva. (17) Kada se unutar limfnog tkiva fetalni Rh pozitivni antigeni prepoznaju od strane humoralnog imunološkog sustava pomagački T limfociti potaknu odgovor memorijskih B limfocita. Imunološko prepoznavanje rezultira stvaranjem plazma stanica koje će u konačnici cirkulaciju ispuniti specifičnim anti-D protutijelima.

**Primarni imunološki odgovor** ostvaruje se formiranjem IgM (kompletnih) protutijela, sporog je i kratkog trajanja te se uglavnom razvije nakon 1,5 do 12 mjeseci od prepoznavanja antigena. Imunoglobulini M (IgM) zbog svoje mase ne prelaze placentalnu barijeru i kao takva nemaju direktan utjecaj na razvoj hemolitičke reakcije i hemolitičke bolesti fetusa i novorođenčeta.

Uslijed razvijene imunološke memorije, **sekundarni imunološki odgovor** kao i svi koji slijede, karakterizirani su bržim stvaranjem protutijela. Sinteza protutijela traje 1 do 2 tjedna od ponovnog susreta s antigenskim sustavom eritrocita, a isti se mogu se detektirati i nakon 24 do 48 sati.

Prvotno se, ali sada u manjoj mjeri, ponovno stvaraju IgM protutijela, a nakon toga i visoki titar specifičnih IgG (inkompletnih) antitijela. Imunoglobulini G (aglutinini) su ona antitijela koja zbog svoje malene molekularne težine prelaze posteljicu, a prelazak je omogućen aktivnim transportom prijanjanjem na Fc receptore sinciciotrofoblasta.

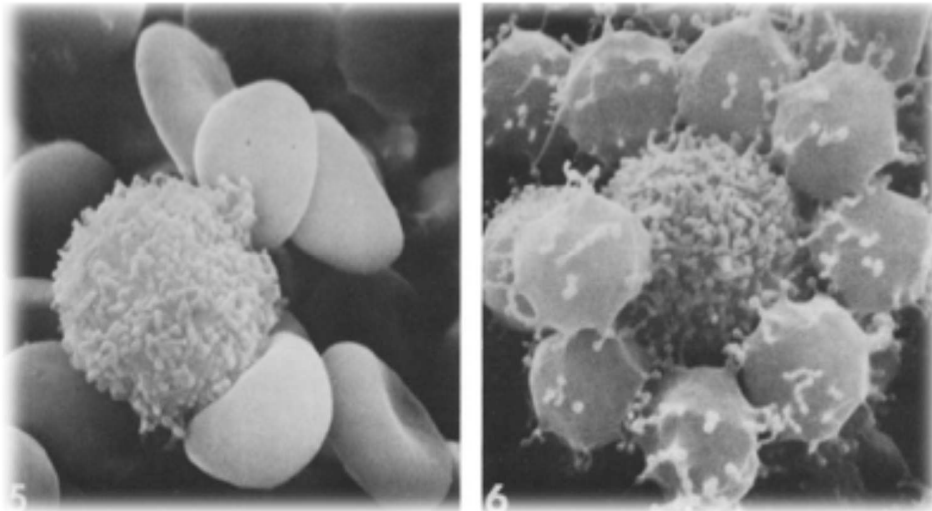
Kroz prvo tromjesečje trudnoće antitijela se prenose u najmanjoj mjeri i tada je njihova koncentracija u fetalnoj krvi najniža. Otprilike poslije 2. tromjesečja bilježi se eksponencijalni porast transporta antitijela koja se u odnosu na majčinu krv, karakteristično pri kraju trudnoće u većim koncentracijama nalaze u fetalnoj krvi. U postporođajnom dobu titar antitijela može oscilirati sve do druge heterospecifične trudnoće, kada ponovno počinje s rastom.

Sve dok protutijela opstaju u krvotoku, krvne stanice novorođene bebe biti će podložne opsonizaciji i uništenju.

Formirana anti-D aloprotutijela obavijaju Rh pozitivne fetalne eritrocite poput rozete, vežu se s tzv. aglutinogenima i započinju njihovu aglutinaciju i hemolizu. Hemolizu pokreće kaskadna aktivacija sustava komplementa i olakšani fagocitni učinak retikuloendotelnog sustava (RES) unutar tkiva slezene i jetre. Reakcija se očituje kao stanična citotoksičnost ovisna o antitijelima (ADCC).

Prva heterospecifična trudnoća ne ugrožava plod već se smatra senzibilizirajućom, a svaka sljedeća trudnoća u kojoj se nosi Rh pozitivno dijete, smatra se rizičnom.

Majčina primoimunizacija na Rh(D) antigen dugog je vijeka i obično doživotna. (5,39-43)



**Slika 1.** Formacija rozete prikazana elektronskim mikroskopom (SEM).  
Ljudski limfocit nalazi se centralno, okružen ovčjim eritrocitima

*Polliak A, Fu SM, Douglas SD, Bentwich Z, Lampen N, de Harven E. Scanning electron microscopy of human lymphocyte – sheep erythrocyte rosettes. The Rockefeller University: New York; 1974.*

### 3.3.2. Prenatalna promjena na razini tkiva

Cjelokupan patološki proces razgradnje eritrocita odvija se u najvećoj mjeri u tkivu slezene i jetre, a primarno se odražava u obliku anemije različitog intenziteta. Membrane fetalnih eritrocita su već 40 dana nakon oplodnje obilježene Rh antigenima. Tijek hemolize nije izrazito progresivan, ali se ona razvija kroz narednih nekoliko mjeseci. U svrhu eritropoeze, kompenzatornim se mehanizmima unutar navedenih tkiva pojačano stvara eritropoetin te posljedično raste broj retikulocita (retikulocitoza), dismorfičnih eritrocita (sferocitoza) i eritroblasta u fetalnoj krvi. Anemija visokog stupnja očekivano dovodi do hipoksije tkiva, oksidativnog stresa, oštećenja kapilarne membrane, povećane kapilarne propusnosti i generaliziranog edema ploda (anasarka), edema posteljice i pupkovine.

Koštana srž postaje hipercelularna, a nekoliko mjeseci nakon potaknutog imunološkog odgovora dolazi do značajnog povećanja ekstramedularnih žarišta hematopoeze, prvenstveno u jetri i slezeni. Kod velikog nadomještanja eritropoetina proces hematopoeze dopunjuju nadbubrežne žlijezde, tubularno i intersticijsko tkivo bubrega, te intestinalna sluznica. Slijedi razvitak portalne hipertenzije i funkcijskog poremećaja jetre, a posljedični razvoj hipoalbuminemije i smanjenje koloidno-osmotskog tlaka dodatno pridonose patofiziologiji edema i smatraju se vjerojatnijim uzročnicima fetalnog hidropsa.

Oslobađanjem hemoglobina uspostavlja se nekonjugirana hiperbilirubinemija kao još jedan indirektan učinak hemolize eritrocita.

Teški ikterus nastao zbog formiranih depozita unutar bazalnih ganglija i jezgri moždanog debla povezan je s funkcionalnim oštećenjem središnjeg živčanog sustava (CNS-a), a krajnji je ishod intrauterina ili postpartalna smrt djeteta. (1-5-15-17-40-41-42-43)



### 3.4. Hemolitička bolest fetusa i novorođenčeta (HBFN)

Uzevši u obzir da intenzitet nastale hemolize ovisi o nekoliko čimbenika, razumljivo je i da klinička slika hemolitičke bolesti fetusa varira unutar šireg raspona.

Težina kliničke slike kao i tijeka hemolitičke bolesti prvotno je podređena tipu aloprotutijela koja opsoniziraju eritrocitne stanice. U patofiziološkom smislu presudna su već spomenuta anti-D protutijela koja izazivaju najteže oblike HBFN.

Osim anti-D protutijelima razvoj HBFN mogu potaknuti i neka protutijela drugih sustava krvnih grupa. To su prvenstveno ABO sustav, zatim Kell, Duffy, Kidd sustav te još neki drugi. Za razliku od Rh sustava klasa protutijela koja se stvara u sklopu ABO nepodudarnosti, može potaknuti hemolitičku reakciju već u tijeku primarne imunizacije ili često za vrijeme prve trudnoće.

Osim o kategoriji majčinih protutijela težina kliničke slike zavisi o njihovoj koncentraciji i aviditetu, a nasuprot tome i o kompenzatornoj mogućnosti fetusa, odnosno novorođenčeta da nadoknadi posljedice anemije. (35-43)

### 3.4.1. Kliničko očitovanje

Razvoj fetalne/neonatalne eritroblastoze (*erythroblastosis fetalis/neonatorum*) započinje u vrijeme intrauterinog razvoja. Može varirati od blagog oblika u smislu laboratorijski detektabilne anemije do vrlo teških, ali rijetkih oblika gdje je mogući ishod trajno oštećenje CNS-a ili unutar maternična smrt ploda, koja je moguća od 7. tjedna gestacije pa nadalje.

Simptomatski neonatusi u sklopu hemolize niskog intenziteta uglavnom se prepoznaju unutar prvih 48 sati života, kada se javi blaga (novorođenačka) žutica i pridruženi pad hemoglobina (Hb) u krvi. Razlog žutici je činjenica da se fetalni bilirubin u periodu do poroda adekvatno metabolizira putem majčine cirkulacije. Nakon poroda, mogućnosti novorođenčeta same po sebi nisu dovoljne da odstrane višak bilirubina.

Blaga hemoliza također je karakterizirana umjerenom hepatosplenomegalijom, a krvna slika može biti urednih vrijednosti. Međutim, normalne vrijednosti hemoglobina ne mogu smisleno ukazati na težinu hemolitičke bolesti s obzirom da je novorođenački pad Hb poznata fiziološka pojava i traje sve do uspostave koncentracije Hb na nekih 100 g/L.

Kod težeg izražaja HBFN razvit će se progresivnija žutica (icterus gravis neonatorum) i kernikterus (bilirubinska encefalopatija). Kernikterus je očitovanje teške hiperbilirubinemije (>20 mg/dL), a prezentira se vrućicom, tresavicom, letargijom, hipo/hipertonijom, opistotonusom i retrokolisom (hiperekstenzija i mišićni spazam), te neurološkim oštećenjima u smislu cerebralne paralize i oštećenja sluha.



**Slika 2.** Novorođenče sa znakovima retrokolisa i opistotonusa

<https://obgynkey.com/clinical-features-of-bilirubin-encephalopathy/>

U vrlo teškim oblicima javljaju se znakovi fetalnog hidropsa u smislu perikardijalnog i pleuralnog izljeva, ascitesa, kožnog i placentalnog edema kao i kardiomegalija. Novorođenče je izrazito blijedo i otežano diše, s distendiranim abdomenom i podbuhlim licem, a očekivano srčano zatajenje naposljetku vodi prema letalnim ishodu.

Unutar trudnoće s postojećom serološki nedokazivom HBFN, jedini klinički dijagnostički oslonac su nespecifični znakovi poput smanjenih fetalnih pokreta ili fetalne iznenadne smrti. Otprilike  $\frac{1}{4}$  svih neliječenih slučajeva razvit će teški ili vrlo teški oblik bolesti. (5-35-43-44-45-46-47-48)



**Slika 3.** Žuta diskoloracija kože novorođenčeta

<https://winniepegneonatal.wordpress.com/2016/04/20/has-the-magic-bullet-to-prevent-kernicterus-been-rediscovered/>



**Slika 4.** Hidropični neonatus sa izrazito uvećanom jetrom i umjereno uvećanom slezenom

*Bowman JM: Blood-group incompatibilities. In Iffy L, Kaminetzky HA (eds): Principles and Practice of Obstetrics and Perinatology, p 1193. New York, John Wiley & Sons, 1981*

### 3.4.2. Klasifikacija težine hemolitičke bolesti

Slučajevi iz prakse ukazuju na višestruki utjecaj različitih čimbenika koji pridonose težini bolesti. Pored kliničke slike, stupanj ozbiljnosti hemolitičke bolesti novorođenčeta može se procijeniti kvantitativnom i kvalitativnom analizom majčinih aloprotutijela uz pomoć seroloških i staničnih testova.

Precizna kvantifikacija protutijela uvelike pridonosi raščlanjivanju težine bolesti i u većoj mjeri nego manje precizne serološke metode. U pravilu težina bolesti korelira s količinom protutijela, no iznimno se ponekad jave blaži slučajevi HBFN kod kojih su pronađene više razine protutijela u odnosu na teže slučajeve bolesti u kojima je razina protutijela znala biti prilično niska.

Zasada se težina HBFN objašnjava postojanjem različitih podrazreda aloprotutijela, zatim avidnošću (afinitet vezanja) te titrom protutijela, strukturom i gustoćom receptora, stupnjem zrelosti te tkivnom distribucijom antigena, efikasnošću transplacentalnog prijelaza imunoglobulina, te funkcionalnom zrelošću slezene fetusa da kompenzira hemolitički učinak, ali i nekim drugim elementima.

Stanični se testovi zbog vlastite osjetljivosti na navedene čimbenike koriste kao korisna nadopuna u predviđanju težine bolesti, dodatno pojašnjavajući stanični odgovor na vanjske stimulanse.

Težinu bolesti prije svega je potrebno evaluirati zbog terapijskog postupka, a količina indirektnog bilirubina zajedno s procjenom anemije i kliničkim znakovima pripomoći će u klasifikaciji težine hemolitičke bolesti (Tablica 1).

Za vrijeme trudnoće karakterističan je fiziološki, linearan porast srednje vrijednosti Hb sa 100 g/L (16. tjedan) na 150 g/L (40. tjedan) pri čemu standardna devijacija (SD) iznosi 12 g/L.

Na umjerenu anemiju ukazuje pad hemoglobina za 2 do 4 SD, dok tešku anemiju sugerira sniženje Hb veće od 4 SD zajedno s hematokritom ispod 25% od normalnih vrijednosti. Ukoliko je smanjenje veće od 5 SD funkcionalna rezerva krvožilnog sustava se iscrpljuje i time uvodi bolest u krajnji stadij.

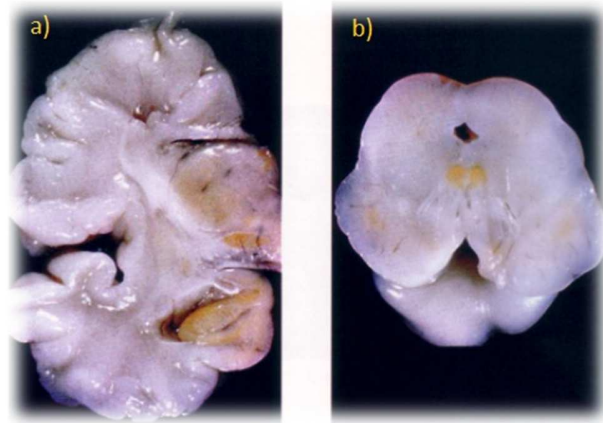
<b>Težina bolesti</b>	<b>Značajke</b>	<b>Učestalost</b>
<b>Blaga</b>	Nekonjugirani bilirubin < 16-20 mg/dl. Anemija minimalno izražena. Terapija nije potrebna.	45-50%
<b>Srednje teška</b>	Izrazita hiperbilirubinemija i rizik za razvoj kernikterusa bez postnatalne terapije. Anemija umjerena. Bez znakova fetalnog hidropsa.	25-30%
<b>Teška</b>	Intrauterini razvoj fetalnog hidropsa. < 34 .tj gestacije > 34. tj. gestacije	20-25% 10-12% 10-12%

**Tablica 1.** Klasifikacija težine hemolitičke bolesti fetusa i novorođenčadi (HDFN)

Esan AJ. Hemolytic Disorders of the Newborn, Current Methods of Diagnosis and Treatment: A Review Study. Journal of Hematology, Blood Transfusion and Disorders. 2016; 3:008

**Blagi oblik** HBFN je ujedno i najčešći, a prezentira se nikakvom ili slabom anemijom usprkos pozitivnom Coombs-ovom testu. Hb iz pupkovine prelaziti će 120 g/L, a bilirubin iz pupkovine biti će niži od 3,5 g/L. Čak i desetljećima prije znanog uzroka ovakva novorođenčad porađala su se zdrava i bez terapije, te je princip do današnjeg dana ostao isti.

U **srednje teškom obliku** kompenzatorni mehanizmi uspijevaju spriječiti razvoj teške anemije, ali s vremenom će se razviti određeni znakovi poput hepatomegalije. Veće poteškoće nastaju u postporođajnom dobu kada novorođenče više ne ovisi o majčinom metaboliziranju produkata hemolize. Samim time detektira se porast neurotoksičnog nekonjugiranog bilirubina u plazmi koji istovremeno prelazi u moždano tkivo.

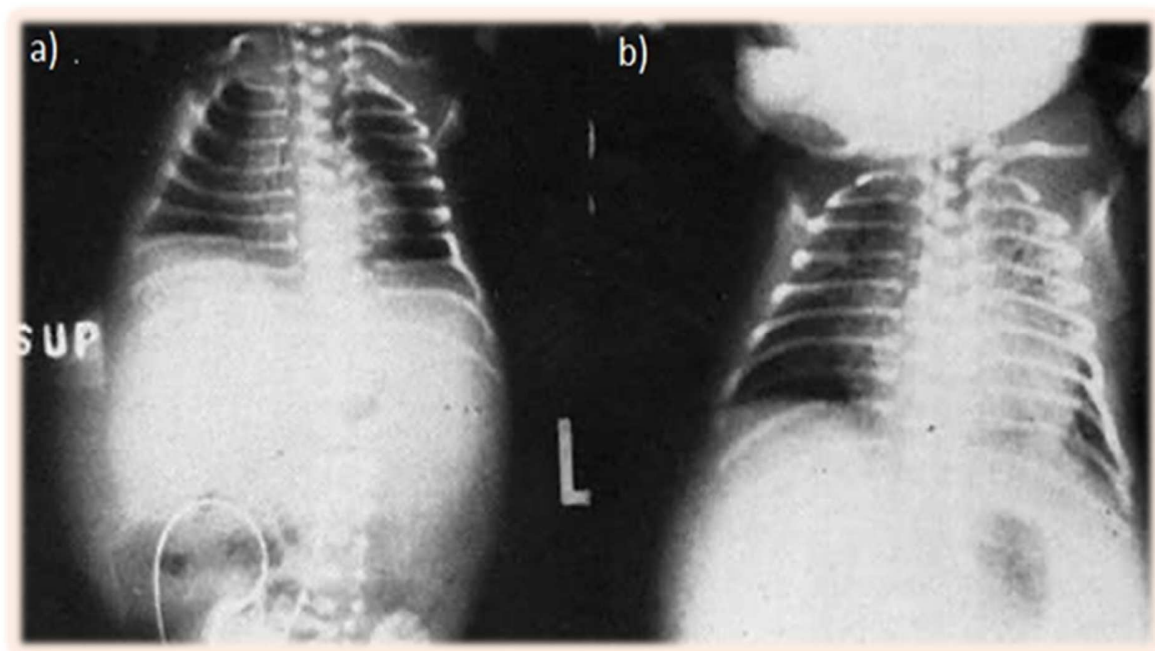


**Slika 5.** Makroskopski prikaz žutog obojenja moždanih struktura – a) cerebelarnog flokulusa; b) globus pallidusa, mamilarnih tijela, subtalamičkih jezgara i talamusa

[http://www.brainology.net/neurology/devpath\\_25\\_kernicterus.html](http://www.brainology.net/neurology/devpath_25_kernicterus.html)

Akumulacija bilirubina uzrokuje kernikterus čiji se znakovi javljaju 3. do 5. dana poslije poroda. Mali broj preživljene djece (10%) ipak kroz odrastanje razvije sliku teškog neurološkog oštećenja.

**Tešku** HBNF može se prepoznati kod najmanjeg broja novorođenčadi. Težinu ovog stanja određuje razvoj generaliziranog edema (fetalni hidrops) koje uobičajeno završava smrću in utero. Ukoliko se porodi živo dijete s hidropsom ono će imati poremećaj na razini plućne ventilacije, upravo zbog kompresije koju osigurava velika količina slobodne tekućine i koja će vremenom rezultirati razvojem hipoplastičnih pluća. (15-16-41-49)



**Slika 6.** RTG snimak novorođenčeta sa ekstremnim ascitesom - a) maleno srce (pri rođenju); b) izrazito povećanje srca sa znakovima plućne kongestije (6 h nakon transfuzije)

*Bowman JM: Blood-group incompatibilities. In Iffy L, Kaminitzky HA (eds): Principles and Practice of Obstetrics and Perinatology, p 1193. New York, John Wiley & Sons, 1981*

### 3.5. Prenatalna dijagnostika

Početak prenatalne dijagnostike vrši se u sklopu primarne zdravstvene zaštite već pri prvom ginekološkom pregledu trudnice. Ono se provodi rutinskim uzimanjem anamneze, te određivanjem krvne grupe i Rh statusa majke. Po preporukama razvijenih zemalja navedene je mjere poželjno provesti kroz period rane trudnoće između 10. i 14. tjedna.

Daljnji tijek dijagnostike ponajprije ovisi o samim nalazima. Kod Rh negativne trudnice ujedno se ispituje i krvna grupa te Rh status oca djeteta. Svakako, ukoliko je trudnica Rh pozitivna ili Rh negativna zajedno s ocem koji je također Rh negativan, tada nema bojazni ni osnove da se razvije senzibilizacija pa se nema potrebe za daljnjim specifičnim dijagnostičkim testiranjima. U ovakvim situacijama također je presudno da majka sa sigurnošću zna tko je otac djeteta. U nejasnim slučajevima ginekolog može informirati bračni par o genetskom testiranju u svrhu utvrđivanja očinstva, ako za to postoji mogućnost.

Kod Rh negativnih trudnica, a neovisno o očevom Rh statusu, temeljna pitanja iz anamneze su ona kojima se saznaje o mogućoj senzibilizaciji putem onih rjeđih stanja, poput primljenih transfuzija krvi, ranijih pobačaja, abrupcije placente, vaginalnog krvarenja, traume abdomena ili amniocenteze. Dodatno, ukoliko postoji pozitivna anamneza spomenutih scenarija ili ako je otac Rh pozitivan, trudnici se mora utvrditi ili isključiti prisutnost regularnih i iregularnih antitijela.

U slučajevima kad je otac RhD pozitivan heterozigot postoji 50%-tna mogućnost da je i samo dijete ipak RhD negativno. Prenatalna RhD genotipizacija djeteta zahtijeva invazivan postupak amniocenteze u 15. tjednu gestacije ili neinvazivnu metodu izoliranja cfDNA (slobodne DNA) iz majčinog seruma. Navedenim postupcima izolira se uzorak fetalne DNK koji se zatim podvrgne „*real time*“ PCR obradi. (35-40-50-51-53-54)



### 3.5.1. Imunohematološko testiranje

Prisutnost IgG antitijela rutinski se određuje putem indirektnog antiglobulinskog testa (IAT) senzibilizacije ili Coombs-ovog testa, te u manjoj mjeri pomoću papainskog ili tripsinskog testa. Pozitivan indirektni Coombs-ov test (ICT) označava prisutnost specifičnih antitijela u majčinom serumu te se u najvećem broju dokazuju regularna anti-D protutijela (u više od 95% slučajeva sama anti-D protutijela ili u kombinaciji s nekim drugim antigenom), anti-C/c i anti-E/e. Uz navedena anti-D, anti-C i anti-E protutijela od kliničkog su značaja još atipična anti-K protutijela (Kell sustav antigena). Ovakav tip protutijela obzirom na visoku imunogenost može prouzročiti snažan imunološki odgovor koji će zahtijevati nekakvu vrstu terapije, dok ostala protutijela (izuzev anti-D) to neće učiniti ili će prouzročiti tek blaži oblik hemolitičke bolesti.

Kod RhD pozitivnih majki Coombs-ov test preporučeno se prvi put provodi između 10. do 12. tjedna, a nakon toga ponovno u 34. tjednu gestacije. Kod svih RhD negativnih trudnica ICT se kontrolno obavlja još između 28. i 30. tjedna. Važnost ponavljanja ICT testova je u nemogućnosti otkrivanja primarne imunizacije tijekom rane trudnoće. Razlog tome je da se do 12. tjedna gestacije ne razvijaju značajna fetomaternalna krvarenja (FMK) koja mogu izazvati porast titra antitijela u tolikoj mjeri da bi bila detektabilna. Kako FMK eksponencijalno rastu i traju sve do poroda, protutijela će se najčešće moći dokazati tek kasnije tokom posljednjeg tromjesečja, kada pređu minimalan prag identifikacije.

Isto tako negativan ICT ne isključuje prisutnost specifičnih antitijela, već postoji mogućnost da se ona zbog svoje nedovoljne količine ne mogu detektirati. No, izuzetno je rijetka pojava da se prisustvo klinički značajnih protutijela ne može dokazati.

ICT pozitivan test unutar vremena rane trudnoće ukazuje na protutijela formirana prije ostvarenja trenutačne trudnoće. (17-27-34-40-43)

### 3.5.2. Daljnja obrada dokazane Rh senzibilizacije

Ukoliko se probir usmjeren na aloprotutijela (Coombs-ov test) pokaže pozitivnim, tada cjelokupno stanje trudnoće zahtijeva jedinstveni nadzor i evaluaciju daljnjim dijagnostičkim postupcima. Na samom početku anamnestičkim se podacima može uspostaviti okvirni dojam fetalne ugroženosti. Takva procjena se temelji na saznanju da je zbog redovitih fetomaternalnih krvarenja svaka sljedeća trudnoća opterećenija od prethodne, stoga se pomoću određenih podataka uzetih iz anamneze ustanovila podjela trudnica u četiri skupine, obzirom na težinu poremećaja.

<i>I. skupina</i>	<b>Prvi put razvijena protutijela (primoimunizacija)</b>
<i>II. skupina</i>	Senzibilizacija u prethodnoj trudnoći sa bolesnim djetetom (bez EST)
<i>III. skupina</i>	Senzibilizacija u prethodnoj trudnoći sa bolesnim djetetom (sa EST)
<i>IV. skupina</i>	Senzibilizacija u prethodnoj trudnoći sa djetetom umrlim intrauterino, tokom poroda ili postpartalno; Senzibilizacija transfuzijom Rh pozitivne krvi

**Tablica 2.** Podjela trudnica po težini bolesti s obzirom na anamnestičke podatke *Kurjak A i sur. Ginekologija i perinatologija I.: Rhesus imunizacija (Hemolitička bolest novorođenčeta)*. 3. izd. Varaždinske toplice: Tonimir; 2003.

Unutar sljedeće faze potrebno je učiniti genotipizaciju oca, definirati i pratiti titar IgG protutijela majke, a uz to i dodatno (po potrebi) ustanoviti fetalno stanje. Ukoliko je otac nositelj RhD gena savjetuje se i genotipizacija fetusa.

Dakle procjenom titra, ponajviše se predviđa je li dijete aktualno ugroženo, ali samo u slučaju da je ono Rh pozitivno. Stanje Rh negativnog djeteta nije ugroženo, te u tom slučaju, bez obzira na titar protutijela, intervencija neće biti potrebna. Osim za procjenu fetalne ugroženosti definiranje imunološkog stanja majke također služi kao orijentir za odabir imunoprofilakse.

U prosudbi težine bolesti dodatno će pripomoći invazivne i neke manje invazivne pretrage: kardiokografija (CTG) s biofizičkim profilom, ultrasonografija, amniocenteza i kordocenteza.

Svakako će se definitivna potvrda dijagnoze dobiti pozitivnim serološkim nalazom majčinih aloprotutijela unutar vlastitog seruma. (34-35-40-40-50-51-53)

### 3.5.2.1. Značaj titra antitijela

Svaki laboratorij zasebno propisuje graničnu vrijednost titra anti-D protutijela pomoću kojeg se fetus smješta u rizik razvoja teške anemije.

Ovisno o području, još nejasno definirani nivo kritičkog titra varira unutar nešto većeg raspona od 1:8 do 1:32. Za Kell sustav (visoke imunogenosti) kritična razina titra je stroža i iznosi oko 1:8. U Hrvatskoj za primarnu imunizaciju raspon varira između 1:32 i 1:16, a time što laboratoriji još uvijek nisu normirani, nalaze bi trebalo uvijek oprezno interpretirati. Unutar riječkog Kliničkog bolničkog centra (KBC) definirana je jasna granica koja upozorava na ugroženost djeteta, a iznosi 1:16.

U poredbi s Hrvatskom, određenim europskim zemljama kao orijentir služi sveukupna količina cirkulirajućih antitijela umjesto vrijednosti dobivenih Coombsovim testom (ICT). Koncentracija se opisuje međunarodnim jedinicama po mL (IU/mL). Na primjer, titar koji iznosi 1:32 odgovara vrijednosti 15 IU/mL, a to je razina koja zahtijeva primjenu daljnjih invazivnih metoda dijagnostike (amniocenteze, kordocenteze), uz hematološku analizu temeljnih fetalnih parametara.

Umjereni rizik anemije određen je intervalom od 4 do 15 IU/mL, a minimalni rizik vrijednostima ispod 4 IU/mL. Općenito donje granice titra antitijela od 1:4 i 1:8 (izuzev Kell sustava) isključuju potrebu za amniocentezom.

Osim definiranja prve vrijednosti titra u dijagnostici se i opetovano prati dinamika titra koja je jednako važna. Zabilježeni porast titra antitijela implicira aktivaciju tzv. „booster učinka“ ili anamnestičke imunosne reakcije, jer ona nastaje u ponovnom susretu imunoloških stanica s već poznatim antigenom. Porast titra antitijela indikator je pogoršanja anemije, a četverostruki porast indikacija je za amniocentezu, te eventualno kordocentezu.

Unutar primarne imunizacije preporuka je da se titar antitijela prati svaka 3 tjedna (do 28. tjedna trudnoće), a potom u dvotjednim intervalima do kraja trudnoće. Kod trudnica koje su prethodno imunizirane titar i dinamika antitijela ne mogu poslužiti za adekvatnu procjenu anemije. (5-34-40-42-51-55)

### 3.5.2.2. Uloga amniocenteze, dopler sonografije i kordocenteze

Fiziološka karakteristika plodove vode je žućkasto obojenje prisutno do otprilike 20. tjedna trudnoće, pa se iz tog razloga aspiracija plodove vode (amniocenteza) prvi put pravi nakon završetka tog perioda. Iako rizična metoda amniocenteza se izvodi serijski, prvenstveno jer se kontrolom ultrazvuka uvelike smanjuje vjerojatnost nastanka komplikacije.

Iz uzorka plodove vode određuje se genotip djeteta i apsorpcijskom se spektrofotometrijom (promjenom optičke gustoće pri 450 nm valne duljine) reflektira pa samim time se određuje koncentracija nekonjugiranog i konjugiranog bilirubina. Na osnovu izračuna bilirubina i gestacijskog tjedna fetalna se anemija putem poznatog Liley-evog dijagrama (1961) prikazuje unutar tri kategorije: lake, srednje teške i teške, no taj prikaz je moguć isključivo nakon 27. tjedna trudnoće. (16-34-41-42)

Amniocenteza je kroz posljednja dva desetljeća skoro u potpunosti (ovisno o mogućnostima) zamijenjena suvremenijom i pouzdanijom metodom koja težinu anemije procjenjuje doplerskim mjerenjem *maksimalne brzine protoka krvi kroz središnju moždanu arteriju* (MCA-PSV). U poredbi s amniocentezom mjerenje PSV jednostavna je i neinvazivna metoda. MCA-PSV pokazala je veću osjetljivost, specifičnost te pozitivnu i negativnu prediktivnu vrijednost, a dodatna prednost je mogućnost primijene već od 18. tjedna trudnoće. Njome su također izbjegnute sve moguće komplikacije koje mogu nastati uslijed amniocenteze kao spontani pobačaj, nastanak ili potenciranje aloimunizacije, inficiranje majke ili njenog ploda, abrupcija posteljice i poticaj trudova. Na temelju svih spomenutih značajki doplersko mjerenje maksimalne brzine protoka kroz MCA danas ujedno predstavlja i zlatni standard u procjeni težine HBFN.

Fetalna anemija obilježena je smanjenom viskoznošću krvi te redukcijom minutnog volumena srca (SMV), što doprinosi ubrzanom protoku krvi kroz MCA. Težina anemije temelji se na izračunu

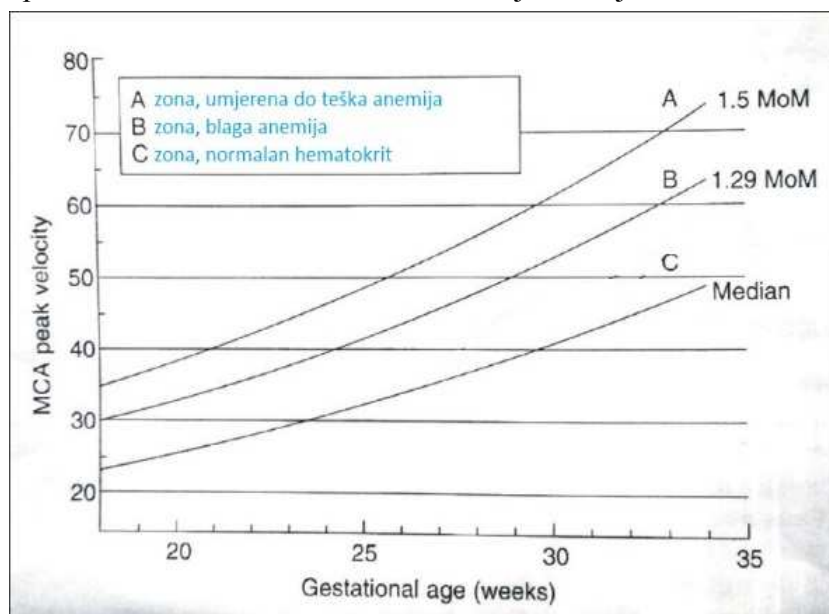
MCA-PSV u usporedbi s gestacijskom dobi (slika 7).

Brzina protoka izražena u MoM (eng. *multiples of median*) služi kao putokaz koji usmjerava prema kordocentezi kao daljnem dijagnostičkom postupku, s napomenom da se ona ne radi prije 20. tjedna gestacije.

Minimalna kritična vrijednost

za anemiju iznosi 1,5 MoM, a zajedno sa vrijednostima MCA-PSV direktno koreliraju i vrijednosti hemoglobina. Mjerenje PSV također se provodi serijski, prosječno u intervalima od 1 do 2 tjedna.

Jedini sigurni, te konačni pristup u dijagnostici fetalne anemije je uzorkovanje fetalne krvi putem kordocenteze. Riječ je o još jednoj invazivnoj tehnici koja nosi veću vjerojatnost težih komplikacija, ali i sigurno definiranje realnih vrijednosti fetalnog hemoglobina, proteina, hematokrita, retikulocita, eritrocita, eritroblasta, acidobaznog statusa i bilirubina. Aspiracija krvi iz pupkovine se zbog postojećih alternativnih metoda u današnje vrijeme izbjegava, ali se uzima u obzir kod već navedenih rezultata amniocenteze ( MCA-PSV > 1,5 MoM), ultrazvučno dokazanog hidropsa, edema posteljice, a prijeko je potrebna i neizbježna u terapijskom postupku intravaskularne transfuzije. (15-40-41-42-53-55)



**Slika 7.** Maksimalna brzina u sistoli središnje moždane arterije

Deepti J. Rh isoimmunized pregnancy managed noninvasively: A report of two cases. 2017; 7(1):73-76

### 3.6. Terapija

Povijest terapije HBFN obilježena je uporabom raznovrsnih metoda gdje su osnovni zadaci terapije bili dovođenje titra antitijela na što niže vrijednosti, te prevencija daljnje hemolize. U tu svrhu koristile su se kortikosteroidna terapija, plazmafereza, imunoglobulini, pa i transplantacija koštane srži fetusu.

Danas je osnova liječenja fetalne anemije intrauterina transfuzija (IUT). Trenutačno se IUT opravdano smatra jedinom nadom za život novorođenčeta zahvaćenog anemijom prije 34. tjedna gestacije. Počeci implementacije u kliničku praksu obilježeni su intraperitonealnim oblikom transfuzije (IPT) (Liley, 1963), dok se danas bez obzira na češću pojavu komplikacija klasično koristi intravaskularni oblik intrauterine transfuzije (IUIVT).

Uz fetalni hidrops, hematokrit (Ht) ispod 30% normalnog i hemoglobin ispod 100-110 g/L indikacija za IUT temelji se na procjeni već spomenute brzine protoka kroz MCA. Za primjenu IUIVT preporučeno je čekati do 20. tjedna trudnoće, a ovisno o indikaciji najranije se može izvesti u 17. tjednu.

Krv za transfuziju mora biti što koncentriranija da bi se krvožilni sustav fetusa mogao optimalno prilagoditi danom volumenu, te da bi se izbjegla pojava acidoze. Tipično se odabire RhD negativna krvna grupa 0 s visokom vrijednosti hematokrita (oko 80%) i starosti najviše 72 sata (svježa krv), a sama krv može biti uzeta od majke ili nekog drugog davatelja.

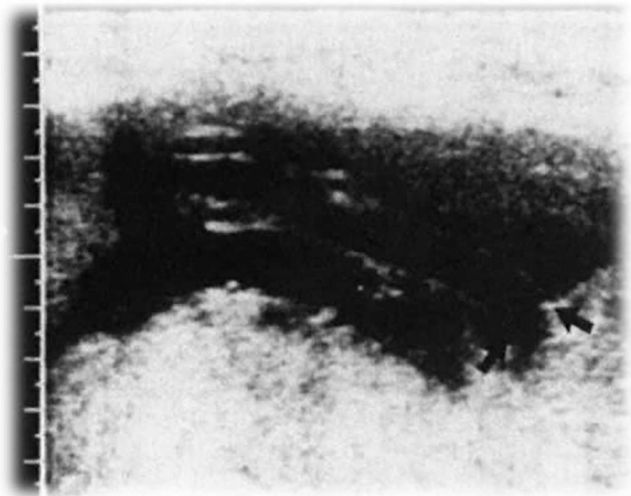
Prethodno se tretira gama zračenjem (25 Gy) da bi se izbjegla pojava reakcije transplantata protiv primatelja (GVHD).

Mjesto uboda ovisi o smještaju ploda i sijelu posteljice. Preporuča se transplacentarni ulaz igle na mjestu insercije pupkovine u posteljicu. U praksi se najčešće viđa transfuzija preko umbilikalne vene (bolji prikaz, manja krvarenja), iako je transfuzija preko umbilikalne arterije sigurnija, ali u tehničkom smislu teže izvedenija (uži lumen) i s većim brojem komplikacija. Cijeli proces se nadzire ultrazvučnim prikazom.

Ako je fetus nedovoljno zreo, te istovremeno zahtijeva IUIVT prije 20. tjedna gestacije, u obzir dolaze i privremene alternativne metode poput liječenja plazmaferezom i intravenske primjene imunoglobulina (IVIG). Uporaba IVIG još uvijek je diskutabilna i nedovoljno istražena, ali i obećavajuća.

Terapijski ciljni hematokrit (Ht) iznosi od 35% do 45%. Kada se dogodi ponovni pad Ht ispod granične vrijednosti postupak intrauterine transfuzije se ponavlja, u prosjeku unutar par dana do par tjedana. IUIVT se smatra najboljom metodom terapije do 32. tjedna, a nakon 32 do 34 tjedna gestacije razmišlja se o porođaju i izmjeni krvi (eksangvinotransfuziji).

Ako vrijednosti MCA-PSV nisu kritične ( $< 1,5$  MoM) porod bi idealno bilo inducirati oko 37. do 38. tjedna trudnoće. Pri određivanju idealnog trenutka u obzir će se uzeti gestacijska dob, težina razvijene anemije i funkcijska zrelost fetalnih pluća. Dakako, u fetusa zahvaćenih blagom anemijom trebao bi se omogućiti spontani porod.



**Slika 8.** Ultrazvučni prikaz insercije umbilikalne vene u posteljicu (strelice). Ciljno područje za ubod igle pri izravnoj intravaskularnoj transfuziji.

Bowman JM: Maternal Blood Group Immunization. In Creasy RK, Resnik R (eds): Maternal-Fetal Medicine: Principles and Practice, 2nd ed, pp 613–655. Philadelphia, WB Saunders, 1989



Jedna od prednosti IUIVT je poznata količina krvi koja se unosi u fetalnu cirkulaciju. Komplikacije lokalnog karaktera mogu se javiti u obliku krvarenja pupkovine, vazospazma, zatim hematoma i posljedično tamponade umbilikalne vene te abrupcije posteljice. Također je moguć razvoj infekcija, povišenja titra antitijela, kontrakcija maternice, prijevremenog poroda i bradikardija, na temelju kojih se zaustavlja IUT te se po potrebi indicira porod ili hitan carski rez. Iznimno se mogu očekivati srčano zatajenje fetusa i određene komplikacije u majke. (15-40-41-42-52-53)

### 3.6.2. Terapijski postupci postnatalno

Neonatalna skrb sastoji se od detaljnog promatranja i praćenja novorođenčeta neposredno nakon poroda, obzirom da je već pri samom rođenju moguć razvoj asfiksije, koja zahtijeva reanimaciju. U svrhu procjene stanja i odabira terapije laboratorijski se prati broj eritrocita, koncentracija hemoglobina, hematokrita i bilirubina.

Kod nepoznatog Rh statusa novorođenčeta napraviti će se genotipizacija i dodatno odrediti krvna grupa. Za *in vivo* detekciju vezujućih imunoglobulina uradi se direktni Coombsov test (DCT).

Zavisno o težini anemije, liječenje novorođenčeta bazira se na metodama jednostavne transfuzije (*eng. simple transfusion*), fototerapije i eksangvinotransfuzije, a u obzir dolazi i intravenska primjena imunoglobulina (IVIG).

IVIG konkuriraju majčinim imunoglobulinima u vezanju za receptore makrofaga čime se smanjuje učinak hemolize i korigira hiperbilirubinemija.

Fototerapija se sastoji od izlaganja neonatusa fluorescentnom modrom ili žutom svjetlu kroz vremenski period od 12 do 24 sata. Fluorescentno svjetlo razlaže bilirubin u netoksičan produkt tzv. fotobilirubin.

Fototerapija uglavnom je zadovoljavajuća za novorođenčad s blagom ili umjerenom anemijom, kao i za onu novorođenčad koja je bila podvrgnuta intrauterinoj transfuziji. Isto tako smanjuje potrebu za eksangvino-transfuzijom.



**Slika 9.** Fototerapija novorođenčeta

Esan AJ. Hemolytic Disorders of the Newborn, Current Methods of Diagnosis and Treatment: A Review Study. *Journal of Hematology, Blood Transfusion and Disorders.* 2016; 3:008

Unatoč tome što transfer majčinih imunoglobulina završava rođenjem, neonatalna anemija može perzistirati kroz dulje vrijeme prvenstveno potaknuta suprimiranom eritropoezom.

Eksangvino-transfuzija (ET) ili izmjena krvi korigira prisutnu anemiju i pruža dodatnu količinu kisika bez cirkulatornog opterećenja. Služi smanjenju bilirubina i prevenciji kernikterusa, a istovremeno osigurava novu količinu albumina. Odstranjuje udio majčinih protutijela i senzibiliziranih eritrocita.

Preporuke za ET su teška anemija s koncentracijom hemoglobina ispod 100 g/L, bilirubina iznad 20 mg/dL ili brzi rast bilirubina  $> 0,6$  mg/h. Čak i slučaju negativnog indirektnog Coombs-ovog testa, a zbog perzistirajućih imunoglobulina mjesecima nakon rođenja, neonatalna transfuzija indicirana je kroz najmanje prva 3 mjeseca života.

Sa svim prednostima fototerapije ET je u praksi rijetko potrebna. Među pedijatrijskom populacijom češće je potrebna nedonoščadi nego donošenoj djeci zbog slabije sposobnosti konjugacije bilirubina.

Iako vrlo korisna, ET nosi i svoje komplikacije potencijalno opasne po život djeteta. Kako se ciklusi transfuzije odvijaju preko umbilikalne vene mogući je razvoj perforacije i zračne embolije. Uz navedeno, ne isključuje se ni poremećaj acidobaznog statusa u smislu acidoze a dekstroza kao sastavni dio antikoagulansa povisuje nivo inzulina i uzrokuje hipoglikemiju. (15-59-60)

### 3.7. Prevencija

Početak organizirane imunoprofilakse 1968. godine označio je veliku prekretnicu u dinamici imunizacije i njenoj terapiji. Obzirom na učinak postignut posljednjih 50-tak godina imunoprofilaksa drži značajan položaj u perinatalnoj medicini. Integrirana je komponenta rutinske kliničke prakse diljem svijeta te se uredno provodi u Hrvatskoj.

Primjena anti-Rh Ig ide parenteralnim putem klasično – intramuskularno, ali je moguća i intravenska primjena.

Sekundarna prevencija predstavljena je svim onim dijagnostičkim mjerama koje će u što promptnijem vremenu otkriti znakove fetalne anemije.

Primarna, preventivna mjera Rh senzibilizacije provodi se u pasivnom obliku primjenom anti-D imunoglobulina. Negativnom povratnom spregom injicirani imunoglobulini koče hemolizu i sintezu majčinih protutijela (klasa IgG), putem aglutinacije fetalnih antigena. Hiperimuni anti-D gamaglobulini daju se u sklopu svih stanja gdje je moguć razvoj FMK: tijekom trudnoće,

postporođajno, pri prekidu trudnoće, te u slučajevima imunizacije u periodu trajanja trudnoće (preeklampsija, ektopična trudnoća, spontani pobačaj, intrauterina fetalna smrt, abrupcija placente, placenta praevia, trauma abdomena, invazivni dijagnostički i terapijski postupci).

Među razvijenim zemljama standardizirane su različite doze profilakse, kao i vremenski periodi unutar kojih se primjenjuju. U osnovi se RhD imunoprofilaksa provodi u obliku antenatalne i postnatalne zaštite.

Obzirom da su imunoglobulini D-antigen specifični, nedostatak imunoprofilakse je nemogućnost ostvarenja učinka aglutinacije i na ostalim tipovima antigena Rh sustava.

### 3.7.1. Antenatalna imunoprofilaksa

Razlog postojanju antenatalne profilakse je to što se oko 2% trudnica senzibilizira kroz posljednje tromjesečje trudnoće.

Svim RhD negativnim trudnicama koje nisu senzibilizirane, nudi se rutinska antenatalna profilaksa (anti-D IgG), bilo u jednokratnoj dozi oko 32. tjedna ili kroz dvije doze u 28. i 34. tjednu. Antenatalna imunoprofilaksa daje se ukoliko je na prvoj kontroli i narednim ponavljajućim kontrolama (kroz 4-tjedne intervale) ICT bio negativan. Provodi se u 28. tjednu graviditeta, jer imunoglobulini ostvaruju vrijeme poluživota od otprilike 12 tjedana, a to je taman dovoljan period do kraja trudnoće.

Kod potencijalne senzibilizacije anti-D IgG primjenjuje se u što kraćem roku (unutar 72 sata od incidenta). Iznimno, ako cijepljenje nije ispunjeno unutar preporučenog roka, dodatno se pruža mogućnost cijepljenja do pet dana nakon senzibilizirajućeg događaja.

U trudnoćama ispod 12 tjedana gestacije profilaksa je indicirana nakon ektopične trudnoće, molarne trudnoće, pobačaja i u slučajevima intrauterinih krvarenja kada se daje doza od 120 i 150 mikrograma. Između 12 i 20 tjedana gestacije primjenjuje se minimalna doza od 250  $\mu\text{g}$ , a nakon 20 tjedana ide minimalna doza od 500  $\mu\text{g}$ , u roku od 72 sata od senzibilizirajućeg događaja.

U majki koje pak iz određenih razloga ne prime profilaksu, procjenjuje se 10-15%-tna vjerojatnost senzibilizacije do kraja prve heterospecifične trudnoće, za vrijeme porođaja ili unutar 6 mjeseci nakon poroda.

### 3.7.2. Postnatalna profilaksa

Ukoliko je Rh status djeteta nepoznat, neposredno nakon poroda učini se fenotipizacija čime se potpomogne odluka o provedbi postnatalne zaštite. Postnatalna profilaksa ordinira se u slučajevima Rh pozitivnih neonatusa.

Kako je pozitivan učinak profilakse neupitan, a postnatalno provedena profilaksa smanjuje vjerojatnost senzibilizacije sljedeće trudnoće na 0,4%, indikacija za primjenu anti-D imunoglobulina može se postaviti i u slučaju negativnog ICT.

Anti-D IgG daju se u dozama od najmanje 500 µg unutar 72 sata od porođaja. Uz to se pomoću Kleihauer-Betke testa izračuna volumen fetomaternalnog krvarenja (FMK) i utvrdi eventualna potreba za dodatnim dozama imunoglobulina. Propuštena doza može se nadoknaditi kroz vremenski period od 28 dana nakon poroda.

Sve spomenute doze obično zbrinjavaju prijelaz fetalnih eritrocita u količini od 10 mL. No unatoč količini doze potpuni se učinak profilakse neće ostvariti u primjerima kada je FMK preveliko, a standardna profilaktična doza (300 µg) nedostatna da ostvari optimalno ciljano djelovanje.

Ipak, obilnije hemoragije mogu se na vrijeme detaljno utvrditi, a istovremeno i spriječiti, te je u tu svrhu od iznimne važnosti pravovaljana uporaba Kleihauer-Betke testa. (17-35-40-41-42-50-55-56)

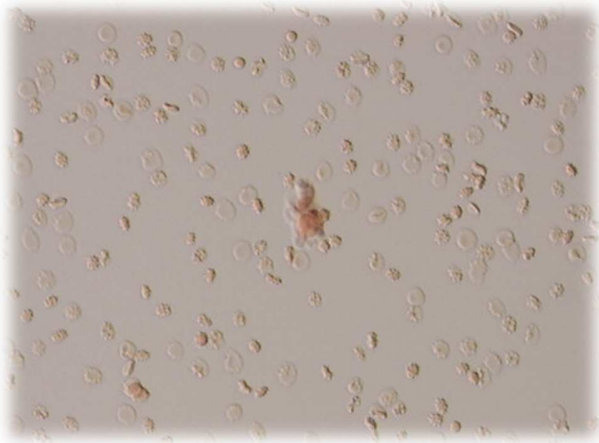
### 3.7.3. Kleihauer - Betke test

Precizna identifikacija te kvantifikacija fetomatemalnog krvarenja (FMK) prvenstveno je značajna u smislu prevencije Rh senzibilizacije. Zbog svoje jednostavne primjene i niske cijene najčešće primjenjivani je Kleihauer-Betke test. Test služi za potvrdu prelaska fetalnih eritrocita u majčinu cirkulaciju i izračun volumena FMK.

Princip rada testa leži u činjenici da su fetalni eritrociti zbog visokog sadržaja fetalnog hemoglobina (HbF) rezistentni na bojenje kiselim otopinom (*eng. acid-elusion*), dok nasuprot tome adultni hemoglobin (HbA) pokazuje osjetljivost na kiselinu. Obzirom da je test visoko specifičan, te nisko osjetljiv postoji još jedan optimalniji izbor, tzv. anti-HbF protočna citometrija koja je s druge strane pouzdanija, ali skuplja te time i slabije korištena.

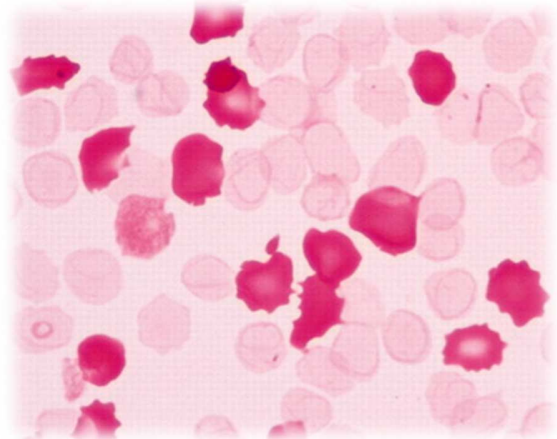
Test probira (*eng. rosette test*) je inicijalni serološki test koji visokom osjetljivošću kvalitativno može odrediti minimalnu količinu fetalne krvi od 10 mL (preko spomenute količine su makrotransfuzije) ili 0,2% unutar majčine cirkulacije. Ukoliko je navedeni kvalitativni test negativan preporuča se profilaktična primjena jedne bočice Rh imunoglobulina (Rh Ig) od 300 µg koja bi učinkovito prevenirala razvoj senzibilizacije čak 99% trudnica, s FMK do 30 mL.

Svaki pozitivan test (>10 mL) te svaki rezultat veći od 0 mL su abnormalni i ukazuju na FMK. Pozitivan test zahtijeva daljnje kvantitativno određivanje FMK Kleihauer-Betke testom (ili protočnom citometrijom).



**Slika 10.** Pozitivan test rozete (svjetlosni mikroskop 50x).  $\geq 3$  nakupine aglutiniranih crvenih krvnih stanica

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ajh.22255>



**Slika 11.** Pozitivan Kleihauer-Betke test. Eritrociti koji sadrže HbF boje se eozinom (crveno); Eritrociti bez HbF su svijetlo obojeni

*American Society of Hematology (ASH) Image Bank. John Lazarchick Kleihauer-Betke Hemoglobin F Acid Resistance-1 ASH Image Bank. 2004; 00002370*

Potrebne doze Rh IgG dobiju se indirektno, računicom poznate formule (slika 12) koja „pretvara“ postotak fetalnih stanica utvrđenih Kleihauer-Betke testom u volumen FMK. Raspon izračunatih doza iznosi od 100 pa do preko 1000 mikrograma, a one se injiciraju kao dodatne doze u slučaju obilnog FMK i posljedično neadekvatnog učinka profilakse. (15-17-34-57-58 )

$$\text{Volumen FMK (mL)} = (\% \text{ fetalnih Er} / 100) \times 5,000 \text{ mL}$$

**Slika 12.** Formula za izračun obujma fetomaternalnog krvarenja

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ajh.22255>



## 4. RASPRAVA

Rh senzibilizacija nije učestali javnozdravstveni problem, ali se u različitim mjerama odražava na onaj najpodložniji i najugroženiji fetalni život i krhku populaciju novorođenčadi. Ovisno o geografskom položaju i genetskom uređenju određene populacije imunizacija se izražava u različitoj učestalosti. Postoje rase s učestalijim pojavljivanjem Rh negativnosti, te one kod kojih Rh negativnost praktično niti ne postoji.

U slučaju senzibilizacije Rh faktorom tijekom bolesti može biti neprimijećen ili izrazito težak i životno ugrožavajući. Rh negativna majka koja nije primila imunoprofilaksu a nosi Rh pozitivno dijete, okvirno ima 13%-tnu vjerojatnost da će formirati specifična protutijela i potencijalno ugroziti svoju sljedeću trudnoću. No, kroz povijest razvile su se tehnike kojima se može izbjeći i majčino odbacivanje vlastitog ploda.

Unatoč kontinuiranom provođenju adekvatne prevencije i dalje postoji mogućnost očitovanja imunološkog neslaganja majke i ploda. Razvoj profilakse napravio je značajan pomak i spasio velik broj života „malenih i velikih“, pa je time ona postala važan segment tretiranja Rh senzibilizacije. Također, studije se usmjeravaju na razvoj što benignijeg oblika terapije i istražuju se mogućnosti kojima krajnja terapija ne mora nužno biti invazivna i potencijalno opasna. Postoje pozitivna mišljenja u svezi selektivne imunomodulacije majke, a koja se zasada temelji na istraživanjima životinjskih modela.

Terapijski izbor nije malen, ali liječenje samo po sebi može pridonijeti razvoju komplikacija kojih treba biti svjestan i o kojima je poželjno razmišljati, pogotovo u slučajevima nedonošene novorođenčadi.

Dijagnostika pridonosi jednostavnoj i sigurnoj analizi, jer se bazira na genetskim ispitivanjima i serološkim testiranjima. Dodatnu prednost pruža i kvantitavno određivanje fetomaternalnog krvarenja kojime se može precizirati količina anti-D imunoglobulina.

Ključ je ne previdjeti Rh negativnu trudnicu pomoću rutinske dijagnostike, a onu koja se potvrdi kao Rh negativna treba pravilno informirati. Od pomoći je dati korisne savjete, vršiti redovite kontrole i prevenirati jako hemolitičko oštećenje, odnosno ako je moguće omogućiti majci prirodan porođaj.

## 5. ZAKLJUČCI

Rh senzibilizacija prenaplašeni je imunološki odgovor majke na prisutnost Rh antigena vlastitog ploda. U današnje vrijeme, usprkos izrazito malenoj incidenciji pojavnosti i uspješno razvijenim profilaktičnim i terapijskim mjerama, mogući je razvoj vrlo teške patologije fetusa, koja u značajnoj mjeri može ugroziti intrauterini razvoj i život ploda, te život novorođenčeta.

Unatoč tome značajno obilježje koje prati Rh senzibilizaciju je izrazito smanjenje perinatalnog mortaliteta. Danas je smrtnost drastično smanjena, kao i razvoj teškog kliničkog tijeka bolesti, a u tome presudnu važnost osim otkrića imunoprofilakse i učinkovitih terapijskih mjera imaju proaktivne strategije provođenja istih.

U prvom redu ključnu ulogu u prosvjećivanju imaju liječnici koji bi na adekvatan način trebali pravovremeno dijagnosticirati zdravstveni problem i educirati trudnicu i obitelj o svim dostupnim mogućnostima.

Poznavanje neinvazivne prenatalne dijagnostike uz praćenje Rh senzibilizirane trudnice olakšat će tijek ugrožene trudnoće i uz minimalno ili nikakvo oštećenje ploda dati će korisne informacije za svaki daljnji korak koji bi trebalo poduzeti.

U svim onim slučajevima gdje se ipak razvila hemolitička bolest novorođenčeta potrebno je procijeniti težinu stanja i po potrebi posegnuti za onim invazivnim dijagnostičkim i terapijskim metodama koje će bez obzira na moguće komplikacije, poboljšati krajnji ishod.

## 6. SAŽETAK

Rhesus imunizacija desetljećima je u visokom postotku završavala intrauterinom fetalnom smrću čiji je uzrok najčešće bila inkompatibilna transfuzija krvi. Otkrićem transfuzijske reakcije i Rh faktora te razvojem uspješnih profilaktičnih mjera takvi ishodi svedeni su na minimum. Obzirom da se transfuzija nepodudarne krvi praktično više ne viđa, danas se stanje Rh imunizacije prvenstveno promatra kao karakteristično stanje heterospecifične trudnoće, iako ne isključuje ostale uzroke.

Rh senzibilizacija rezultat je međudjelovanja više različitih imunoloških faktora i faktora trudnoće. Heterospecifičnih trudnoća je oko 10% svih trudnoća, dok je uporabom imunoprofilakse incidencija senzibilizacije reducirana na svega 0,2%.

Majčina imunizacija na Rh antigene vlastitog ploda klinički se očituje razvojem hemolitičke bolesti fetusa i novorođenčeta (HBFN), čija težina ovisi o intenzitetu hemolize eritrocita. HBFN se dijeli na bolest blagog, srednjeg i teškog intenziteta.

Dijagnostički i terapijski postupci provode se u prenatalnom i postnatalnom periodu. Rana dijagnostika obilježena je neinvazivnim metodama u svrhu otkrivanja titra stvorenih protutijela i odabira terapije. Danas je liječenje HBFN primarno usmjereno na prevenciju. U stanjima razvijene bolesti, fototerapija te intrauterina transfuzija i eksangvinotrasfuzija čine temelj liječenja. Obzirom na recentne studije razvile su se nove metode zbog kojih se pomalo napuštaju invazivne dijagnostičke i terapijske metode.

**Ključne riječi:** Rh imunizacija, heterospecifična trudnoća, hemolitička bolest fetusa i novorođenčeta, prevencija, fototerapija, intrauterina transfuzija, eksangvinotransfuzija

## 7.1. SUMMARY

For the last few decades, rhesus immunization resulted in high percentage of intrauterine fetal death, most commonly caused by incompatible blood transfusions. Discovery of the transfusion reaction and Rh factor, together with the development of successful prophylactic measures have reduced mortality to a minimum. Since mismatched blood transfusion is no longer seen, the state of Rh immunization is now primarily viewed as a characteristic state of heterospecific pregnancy, although it does not exclude other causes.

Rh sensitization depends on the interaction of several different immune and pregnancy factors. It accounts for about 10% of all pregnancies while the use of immunoprophylaxis has reduced the incidence of sensitization to only 0.2%.

Maternal immunization with fetal Rh antigens is clinically manifested by the development of fetal and neonatal hemolytic disease (HDFN) whose severity depends on the intensity of erythrocyte hemolysis. In practice, HDFN is divided into mild, moderate and severe disease.

Diagnostic and therapeutic procedures are performed in the prenatal and postnatal period. Early diagnosis is marked with non-invasive methods for the purpose of detecting created antibodies titer and for choosing the therapy. Today, HDFN treatment is primarily focused on prevention. In terms of a progressed disease, phototherapy as well as intrauterine transfusion and exanguinotransfusion represent the basis of recovery from HDFN. As a result of recent studies, there is a tendency to abandon invasive therapy methods because of new insights.

**Key words:** Rh immunization, heterospecific pregnancy, hemolytic disease of the fetus and newborn, prevention, phototherapy, intrauterine transfusion, exanguinotransfusion

## 8. LITERATURA

1. Šulović V, Plećaš D. Rh – faktor u trudnoći. Beograd – Zagreb: Medicinska knjiga; 1986.
2. M.C. Ree I, E.H.J. Smits-Wintjens V, G. van der Bom J, M. M. van Klink J, Oepkes D, Lopriore E. Neonatal management and outcome in alloimmune hemolytic disease, *Expert Review of Hematology* 2017; 10(7):607-616
3. Dean L. Blood Groups and Red Cell Antigens: Chapter 7, The Rh blood group [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2005. - [citirano 1.03.2020.] Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2269/>
4. Dean L. Blood Groups and Red Cell Antigens: Chapter 4, Hemolytic disease of the newborn [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2005. - [citirano 1.03.2020.]. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2266/>
5. Brumec V, Kurjak A. Perinatalna medicina: Hemolitička bolest fetusa i novorođenčeta (Rhesus) – dijagnostika i terapija. Zagreb: Medicinska naklada; 1977.
6. Harfi HA, Stapleton FB, Nazer H, Oh W, Whitley RJ. Textbook of Clinical Pediatrics [Internet]. 2. izd. Berlin: Springer; 2012. - [citirano 11.ožujka, 2020.] Dostupno na: [https://books.google.hr/books?id=cdnRMEiIJ0cC&dq=1892.+ballantyne&source=gbs\\_navlinks\\_s](https://books.google.hr/books?id=cdnRMEiIJ0cC&dq=1892.+ballantyne&source=gbs_navlinks_s)
7. Liunbruno GM, D'Alessandro A, Rea F. The role of antenatal immunoprophylaxis in the prevention of maternal-foetal anti-Rh(D) alloimmunisation. *Blood Transfusion* 2010; 8(1):8–16.

8. Schwarz HP, Dornier F. Karl Landsteiner and his major contributions to haematology. *British Journal of Haematology* 2003; 121(4):556-565
9. Bakalar N. Rh Factor, 1944. *The New York Times* [Internet]. 3. siječnja, 2011. [ažurirano 14. travnja, 2019., citirano 11. ožujka 2020. Dostupno na: <https://www.nytimes.com/2011/01/04/health/04first.html>
10. Yousuf R, Abdul Aziz S, Yusof N, Leong CF. Hemolytic disease of the fetus and newborn caused by anti-D and anti-S alloantibodies. *Journal of Medical Case Reports* 2012;6:71
11. Cosmi E.V. Clinical Management of Mother and Newborn - Exchange Transfusion of the Newborn Infant [Internet]. New York: Springer; 1979 - [citirano 11.ožujka, 2020.] Dostupno na: [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4612-6173-5\\_13#citeas](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4612-6173-5_13#citeas)
12. Leininger NI, Gardner DL, Lower BR, Barker AD, Dennis AJ I sur. An Assessment of the Role of Research Involving Living Human Fetuses in Advances in Medical Science and technology. U.S. Department of Health, Education, and Welfare 1976; 15-62
13. O'Connor K. Albert William Liley (1929-1983) [Internet]. Arizona State University: Embryo Project Encyclopedia; 2011 - [citirano 11.ožujka, 2020.] Dostupno na: <http://embryo.asu.edu/handle/10776/2277>
14. Kurjak A. Fetus kao pacijent. Zagreb: Medicinska biblioteka; 1991.
15. Esan AJ. Hemolytic Disorders of the Newborn, Current Methods of Diagnosis and Treatment: A Review Study. *Journal of Hematology, Blood Transfusion and Disorders* 2016; 3:008

16. Dražančić A i sur. Porodništvo: Rh imunizacija i ABO imunizacija. Zagreb: Školska knjiga; 1999.
17. Paro-Vidolin R. Vrijednost profilakse Rh-D imunizacije [magistarski rad]. Rijeka; 1995. 63p.
18. Jahanpour O, Pyuza, JJ, Ntiyakunze EO. ABO and Rhesus blood group distribution and frequency among blood donors at Kilimanjaro Christian Medical Center, Moshi, Tanzania. *BMC Research Notes* 2017; 10(1):738
19. Costumbrado J, Mansour T, Ghassemzadeh S. Rh Incompatibility. *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020. [Ažurirano 24. studenog, 2019.; citirano 13. Ožujka, 2020.] Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459353/>
20. Yahia A, Miskeen E, Sohail S, Algak T, Saad A. Blood Group Rhesus D-negativity and Awareness Toward Importance of Anti-D Immunoglobulin Among Pregnant Women in Bisha, Saudi Arabia. *Cureus* 2020; 12(10):5
21. Weinstock C. It is worthwhile filling in the remaining blank spots for blood group antigen frequencies. *Blood Transfusion* 2014; 12(1):3–6
22. Flores-Bello A, Mas-Ponte D, Rosu ME, Bosch E, Calafell F, Comas D. Sequence diversity of the Rh blood group system in Basques. *European Journal of Human Genetics* 2018; 26: 1859-1866
23. Boyd WC. Rh and the Races of Man. *Scientific American* 1951; 185(5):22-25
24. Erber WN, Buck AM, Threlfall TJ. The Haematology of Indigenous Australians. *Hematology* 2014; 9(5-6):339-350



25. O'Neil D. Distribution of Blood Types: Other Blood Type Systems [Internet]. San Marcos (California): Palomar College, Behavioral Sciences Department; 1998-2012 [ažurirano 19. srpnja, 2012. ; citirano 19. ožujka, 2020.] Dostupno na: [https://www2.palomar.edu/anthro/vary/vary\\_3.htm](https://www2.palomar.edu/anthro/vary/vary_3.htm)
26. Hztm.hr: O krvi [Internet]. Zagreb: Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu. [citirano 9. ožujka, 2029.] Dostupno na: <https://www.hztm.hr/hr/content/2/darivanje-krvi/15/o-krvi/#11>
27. Perković T. Učestalost pojavnosti Rh senzibilizacija kod trudnica u sjeverozapadnoj Hrvatskoj [diplomski rad]. Osijek: Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku; 2019. 42p.
28. Golassa L, Tsegaye A, Erko B, Mamo H. High rhesus (Rh(D)) negative frequency and ethnic-group based ABO blood group distribution in Ethiopia. BMC Research Notes 2017; 10(1):330
29. Mitra R, Mishra N, Rath GP. Blood groups systems. Indian journal of anaesthesia 2014; 58(5):524–528
30. Dorresteyn Stevens C. Clinical Immunology & Serology: A Laboratory Perspective [Internet]. 4. izd. Philadelphia, Pennsylvania: F.A. Davis Company; 2017
31. Dean L. Blood Groups and Red Cell Antigens: Chapter 5, The ABO blood group [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2005. - [citirano 24.04.2020.] Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2267/>
32. Avent ND, Reid ME. The Rh blood group system: A review. Blood 2000; 95(7):375

33. Westhoff CM. The structure and function of the Rh antigen complex. *Seminars in hematology* 2007; 44(1):42–50
34. Petrović O. Rh-senzibilizacija i trudnoća. 2020.
35. Dujic S. Analiza imunohematološkog testiranja trudnica u periodu 2012. do 2016. u Sisačko-moslavačkoj županiji [diplomski rad]. Osijek: Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku; 2018. 32p.
36. Ahmed M, Abdullatif, M. Fetomaternal transfusion as a cause of severe fetal anemia causing early neonatal death: a case report. *Oman medical journal* 2011; 26(6):444–446.
37. Zipursky A, Israels LG. The Pathogenesis and Prevention of Rh Immunization. *The Canadian Medical Association Journal* 1967; 97(4):1245
38. Moise KJ. Spontaneous massive fetomaternal hemorrhage. U: UpToDate, Post TW ur. UpToDate [Internet]. Waltham, MA: UpToDate; 2020 [citirano 25. travnja, 2020.] Dostupno na: <https://www.uptodate.com/contents/spontaneous-massive-fetomaternal-hemorrhage>
39. Justiz Vaillant AA, Zito PM. Immediate Hypersensitivity Reactions. Na: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020. [Ažurirano 9. siječnja, 2020.; citirano 25. Travnja, 2020.] Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513315/>
40. Kurjak A i sur. Ginekologija i perinatologija I.: Rhesus imunizacija (Hemolitička bolest novorođenčeta). 3. izd. Varaždinske toplice: Tonimir; 2003.

41. Delmiš J, Orešković S i sur. Fetalna medicina i opstetricija: Rh-imunizacija. Zagreb: Medicinska naklada; 2014.
42. Matijević R, Knežević M. Novije spoznaje u dijagnostici, liječenju i prevenciji Rh imunizacije. *Gynaecologia et perinatologia: journal for gynaecology, perinatology, reproductive medicine and ultrasonic diagnostics* 2009; 18(2):66-71
43. Dajak S. Značaj antieritrocitnih protutitijela otkrivenih na kontrolnom testiranju za razvoj hemolitičke bolesti fetusa i novorođenčeta [disertacija]. Varaždin: Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet; 2011. 75p
44. De Haas M, Thurik FF, Koelewijn JM, van der Schoot CE. Haemolytic disease of the fetus and newborn. *The international Journal of Transfusion Medicine: Vox Sanguinis* 2015; 109, 99–113
45. Klein HG, Anstee DJ. *Mollison's Blood Transfusion in Clinical Medicine: Hemolytic disease of the fetus and newborn*. 12. izd. London: Wiley Blackwell 2014. 509-510
46. Sumit D, van Landeghem FKH. Clinicopathological Spectrum of Bilirubin Encephalopathy/Kernicterus. *Diagnostics (Basel)* 2019; 9(1):24
47. Koufakis T, Gabranis I. A Case of Generalized Tetanus from a Nonendemic Country. *Journal of global infectious diseases* 2016; 8(2):93-94
48. Delaney M, Matthews DC. Hemolytic disease of the fetus and newborn: managing the mother, fetus, and newborn. *The American Society of Hematology: Education Program* 2015; 2015(1): 146–151

49. Hadley AG. Laboratory assays for predicting the severity of haemolytic disease of the fetus and newborn. *Transplant Immunology* 2002; 10(2-3): 191-198
50. Nassar GN, Wehbe C. Erythroblastosis Fetalis. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020. [Ažurirano 24. studenog, 2020.; citirano 10. svibnja, 2020.] Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513292/>
51. Hrvatsko društvo za ginekologiju i opstetriciju (HDGO). Dijagnostika i liječenje Rh imunizacije. [Citirano 10. svibnja, 2020.] Dostupno na adresi: <http://www.hdgo.hr/Pages/Print.aspx?sifraStranica=865&kultura=hr>
52. Bowman JM. Alloimmune Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn (Erythroblastosis Fetalis): Diagnosis, Management, and Prevention. *The Global Library of Women's Medicine* 2008.; 3(66)
53. Cacciatore A et al. Obstetric management in Rh alloimmunized pregnancy. *Journal of prenatal medicine* 2009, 3(2): 25-7
54. Hossein AM et al. Fetal RHD Genotyping from Circulating Cell-Free Fetal DNA in Plasma of Rh Negative Pregnant Women in Iran. *Indian journal of hematology & blood transfusion: an official journal of Indian Society of Hematology and Blood Transfusion* 2016; 32(4): 447-453
55. Drpić-Šušula J. Rh-imunizacija [diplomski rad]. Split: Sveučilište u Splitu; 2014. 35p.
56. Qureshi H, Massey E, Kirwan D, Davies T, Robson S, White J, Jones J, Allard S. BCSH guideline for the use of anti-D immunoglobulin for the prevention of haemolytic disease of

the fetus and newborn. Official Journal of the British Blood Transfusion Society 2014; 24(1): 8-20

57. Krywko DM, Shunkwiler SM. Kleihauer Betke Test In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020. . [Ažurirano 20. siječnja, 2020; citirano 13. svibnja, 2020.] Dostupno na adresi: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430876/>
58. Yeowon AK, Makar RS. Detection of fetomaternal hemorrhage. American Journal of Hematology 2011; 87(4): 417-423
59. Mardešić D i sur. Pedijatrija. 8. izd. Zagreb: Školska knjiga; 2013.
60. Dubey R, Trigunait P, Pawar A, Yadav AK. Haemolytic Disease of the Fetus and Newborn: Past, Present and Future Considerations. Acta Scientific Medical Sciences 2019; 3(10)

## 9. ŽIVOTOPIS

Monika Švenjak rođena je u Zadru. Pohadala je osnovnu školu „Bartola Kašića“ u Zadru, nakon čega završava gimnaziju „Jurja Barakovića“. Iste godine upisuje Studij medicine na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Rijeci.