

Imunohematologické komplikace v graviditě

**Stanovení HLA znaků asociovaných s chorobami
- workshop 2023**

**Mgr. Jana Králová
NRL pro imunohematologii, ÚHKT, Praha**

Imunohematologie - pojmy

- **IMUNOHEMATOLOGIE:**
 - interakce imu sys a krve
- **ANTIGEN:**
 - sach/prot struktura membrány, definovaná lidskou Ab
- **PROTILÁTKA**
- **KREVNÍ SKUPINA**
 - ABO
 - RhD
 - OSTATNÍ ANTIGENY
- **FENOTYP**
 - Exprese Ag
- **GENOTYP**
 - SNP/gen pro daný Ag

Imunohematologie

- Antigeny a protilátky – související procesy
- Prevence nežádoucí reakce po transfuzi
 - Potransfuzní hemolytická reakce
- Protilátkami způsobené patologie
 - Průkaz
 - Léčba
 - Např. AIHA, HON

HON – Hemolytické onemocnění novorozence

- HDFN = Haemolytic Disease of the Fetus and Newborn
- Zkrácené přežívání ery plodu/novorozence
 - Perinatální morbidita, mortalita
- Mateřské aloprotilátky
 - Od 13. tt přestup přes placentu
- Stimulace imunitního systému cizími povrchovými ery antigeny
 - Transfuze
 - Fetomaternální hemoragie (většinou riziko HON až 2. gravidita)

HON patofyziologie

- Transplacentární přenos IgG Ab
 - Jednosměrný: matka -> plod
- Fetální erytrocyty obaleny protilátkou (senzibilizace)
- Destrukce ery v MMS -> hemolýza
 - Hgb – nekonjugovaný bilirubin
 - Prenatálně: játra matky -> konjugace – vyloučení matkou
 - Postnatálně: játra novorozence nestačí - nekonj.bili - afinita k CNS bb. - kernikterus
 - nízká kapacita (do 3.-4. dne minimum glukoronyltransferázy)
- Anémie plodu: zvýšená erytropoéza – extramedul (játra) – portální hypertenze – jaterní dysfunkce – hypoproteinemie – hypoalbuminemie – snížení onkotického tlaku – ascites/hydrops plodu
- Suprese fetální erytropoezy (inhibice BFU a CFU)

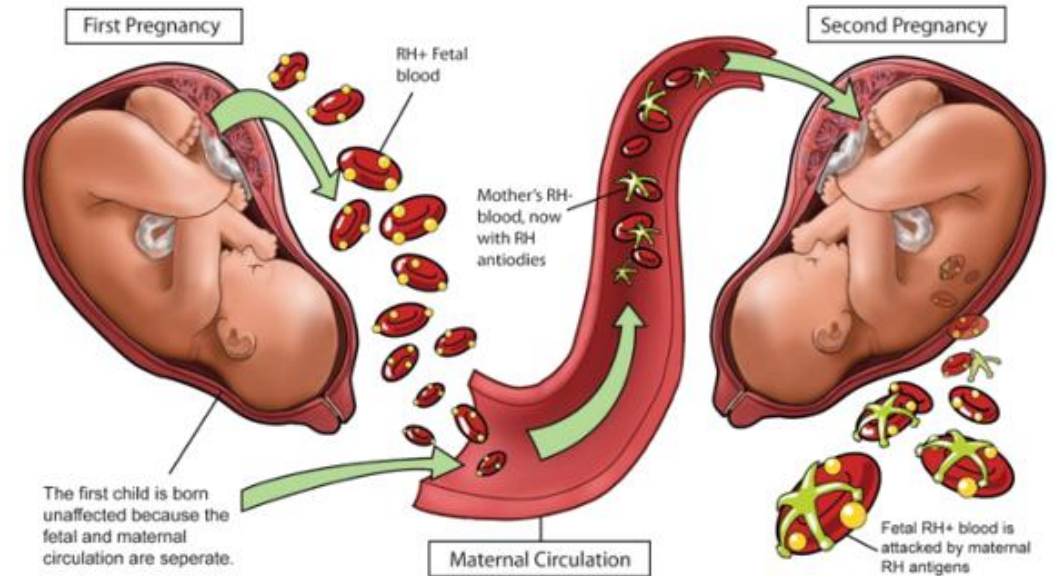
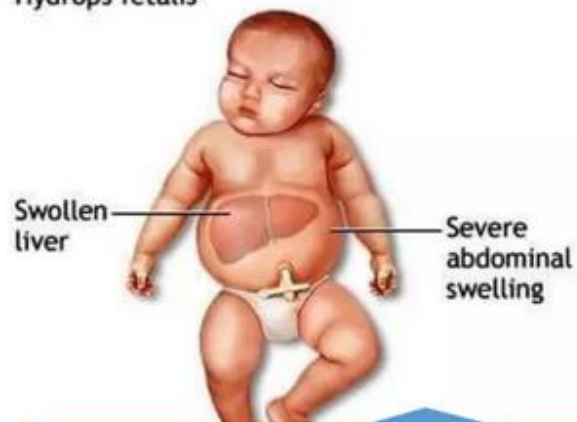


Image obtained from medicoaid.com

Zdroj obrázku: <https://medlabstudyhall.com/hdfn>

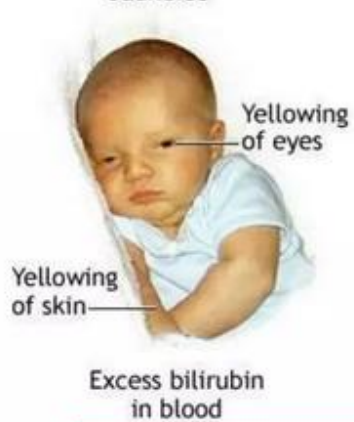
Manifestations of the Hemolytic Disease of the Fetus & Newborn (HDFN)

Hydrops fetalis



Hydrops Fetalis

Jaundice



Icterus gravis neonatorum

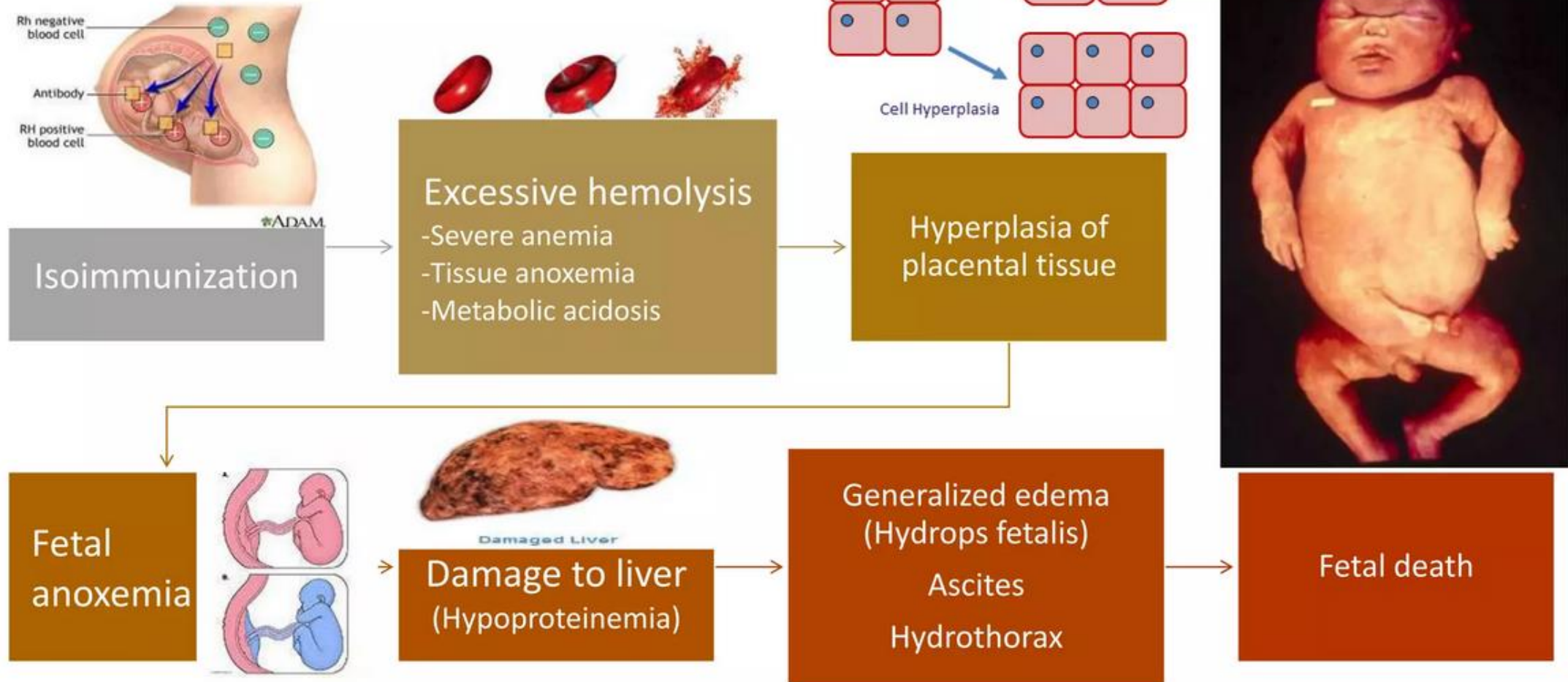
Kernicterus



Congenital anemia of the newborn

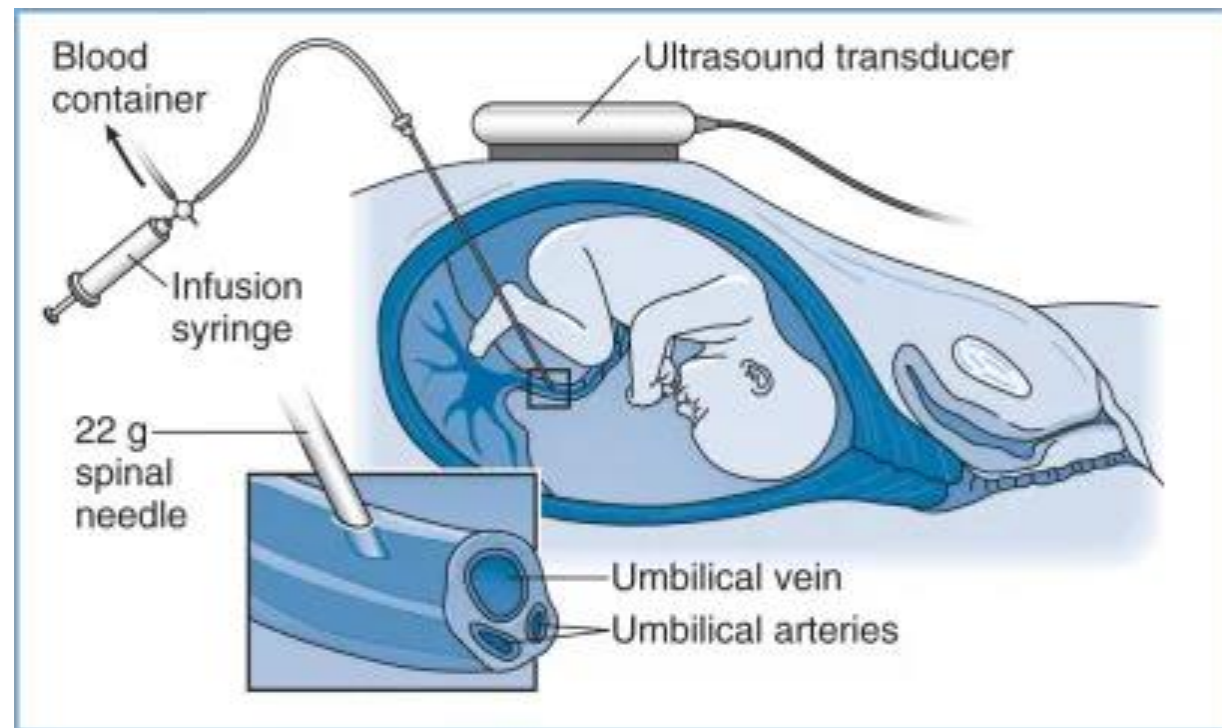
Hydrops Fetalis

- most serious form of HDFN



Terapie HON

- Prenatální
 - IUT = intraumbilikální transfuze
 - Pokles Hct
 - Ultrazvuk: známky ascitu
 - Předčasný porod
 - IVIG
 - Výjimečně výměnná plazmaferéza
- Postnatální
 - Fototerapie UV – snížení bilirubinu
 - Výměnná transfuze



Zdroj obrázku: <https://medlabstudyhall.com/hdfn>

Imunohematologické aspekty HON

- Specifita protilátky
 - Antigen
 - Podtřída (IgM vs. IgG)
 - Fenotyp matky (negativní pro danou specifitu – aloprotilátka)
- Množství (titr) protilátky
 - Dynamika (zvýšení o více než 2 stupně)
- Imunohematologické vyšetření:
 - ABO a RhD
 - Screening nepravidelných protilátek -> ev. ID, titr
 - Vstupní: okolo 12. t.t.
 - Další pravidelný: okolo 28. t.t.
 - Při pozitivním nálezů klin. významných Ab po 4 týdnech (od 28. t. t. po 2 týdnech)

Rh HON

- Anti-D
 - Matka RhD negativní
 - Partner RhD pozitivní
 - Plod RhD pozitivní
- Profylaxe: anti-D imunoglobulin (i.m.) – pre i postpartálně
- Další antigeny Rh systému: C, c, E, e, Cw, .. -> není profylaxe
- Vyšetření otce: klin. významné protilátky, anamnéza potratů
- Vyšetření plodu: RhD plodu
 - cfDNA – z plazmy matky
 - real-time PCR

Kazuistika anti-D: žena, 37 let, II. gravidita

- 1. porod bez komplikací
- Pacientka RhD negativní
- Nyní v plazmě aloprotilátka anti-D

- 12. tt: titr anti-D 16
- 18. tt: titr anti-D 2048 riziko HON !!!
- 22. tt: titr anti-D 4000
- 32. tt: titr anti-D 16000

• CC + IUT

- 28. tt PAT (4+)
- 29. tt PAT neg
- 30. tt PAT neg
- 31. tt PAT neg
- 32. tt PAT (+)

IUT = intraumbilikální transfuze

CC = kordocentéza

Kazuistika anti-D: žena, 37 let, II. gravidita

- Spontánní porod: 37 + 4
- Novorozenec:
 - Hraniční zralost
 - Hyperbilirubinemie -> fototerapie 2 dny
 - Bez transfuzí

Kazuistika z Brna

- Článek Hematologie a Transfuze dnes (MUDr. Kostrouchová)
- Pacientka, 36 let, IIG/IP, žádné transfuze v anamn.
- I. gravidita před 6 lety
 - První SCR negativní
 - Druhý SCR alo-anti-D (titr 32)
 - Ve 38. tt titr 512 -> indukce porodu -> akutní SC
 - Holčička (A RhD pozitivní) -> hyperbili -> fototerapie
 - Progrese anémie: 3. týden po nar. tranfuze ery
 - Sledována dětským hematologem
 - Protilátky vymizely ve 4. měsíci po nar.

Kazuistika z Brna II.gravidita

- cfDNA v 16. tt: plod je RhD pozitivní
- SCR matky v 16. tt:
 - Alo-anti-D (titr 8000), alo-anti-C (titr 4) + aloprotilátka anti-G
- Pravidelná kontrola: Doppler – průtok A. cerebri media
 - 22. tt: 1,5 násobek MoM -> těžká anémie plodu
 - Kordocentéza: Hct < 0,3; PAT silně pozitivní (senzibilizace)
 - IUT (čerstvý přípravek, deleuko, ozáření, zakoncentrování na Hct 0,8)
 - Po 14 dnech, celkem 6 IUT (objemy 25-50 ml)
- Porod: plánovaný SC ve 36. tt
 - Hospitalizace 12 dnů (část v inkubátoru): fototerapie, IVIG
 - 96 hodin po nar. hyperbili + anémie -> výměnná transfuze
 - Transfuze v 11. a 14. týdnu po nar.

Kdyby byl plod RhD negativní,
nebyl by problém

Trocha sérologie a genetiky.. 😊



- Matka RhD negativní -> anti-D profylaxe
- Matka RhD pozitivní -> bez profylaxe (není riziko imunizace Ab Anti-D)
- Matka RhD slabě pozitivní -> ?
 - 0,2-1 % RhD pozitivních má slabý/variantní antigen – tzv. D weak/varianta ($D^{w/v}$)
 - přes 200 typů
- Genotyp metodou PCR-SSP
 - Určení konkrétního typu RhD antigenu (weak/varianta) -> riziko aloimunizace
 - Indikace profylaxe: ANO / NE

Záhada od Apolináře

Přišla gravidní žena s žádankou v ruce

- „Prosíme stanovit RhD“

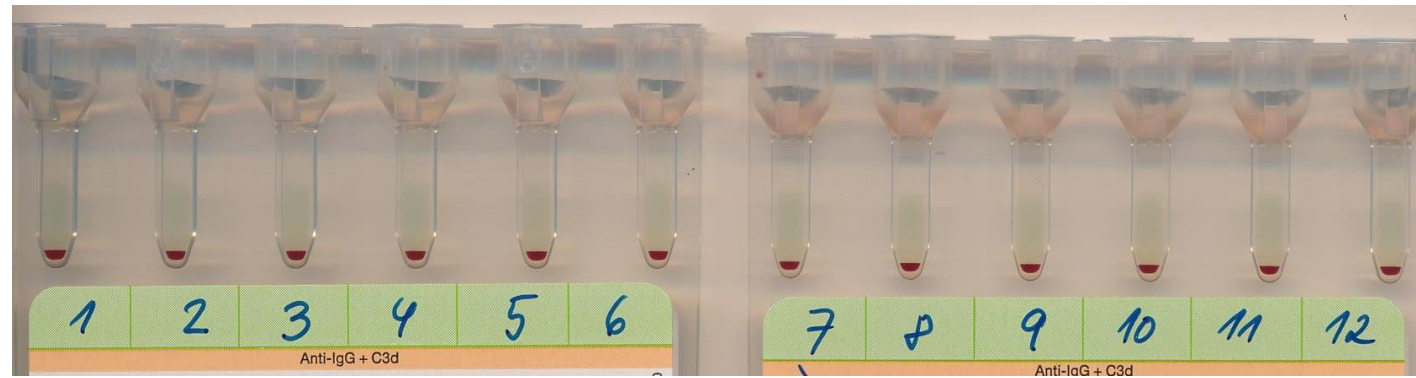


Diskrepance mezi výsledkem z TO a Lab. molekulární diagnostiky

- TO: A RhD negativní (Ccee) + nepravidelná alo-anti-D (titr 512)
- Mol-gen: Neinvazivní vyšetření RhD plodu z mateřské krve (real-time PCR)
 - Plazma matky -> izolace cfDNA -> peak = RhD pozitivní plod
 - Kontrola: RhD matky (z bukálního stěru)
 - Výsledek = matka je z bukálního stěru RhD pozitivní!!!
 - > Status plodu nelze stanovit

Záhada od Apolináře

Vyšetření v NRL



- Potvrzení nálezu z TO
- Ccddee + alo-anti-D (titr 256)
- Panely monoklon. protilátek (anti-D): vše negativní = RhD negativní
- Izolace DNA ze vzorku perif. krve -> PCR-SSP (FluoGene):
 - D weak neprokázán
 - CcD. ee – přítomny reakce pro všechny exony RHD = **gen RHD přítomen**
- Vzorek odeslán na sekvenaci

Záhada od Apolináře

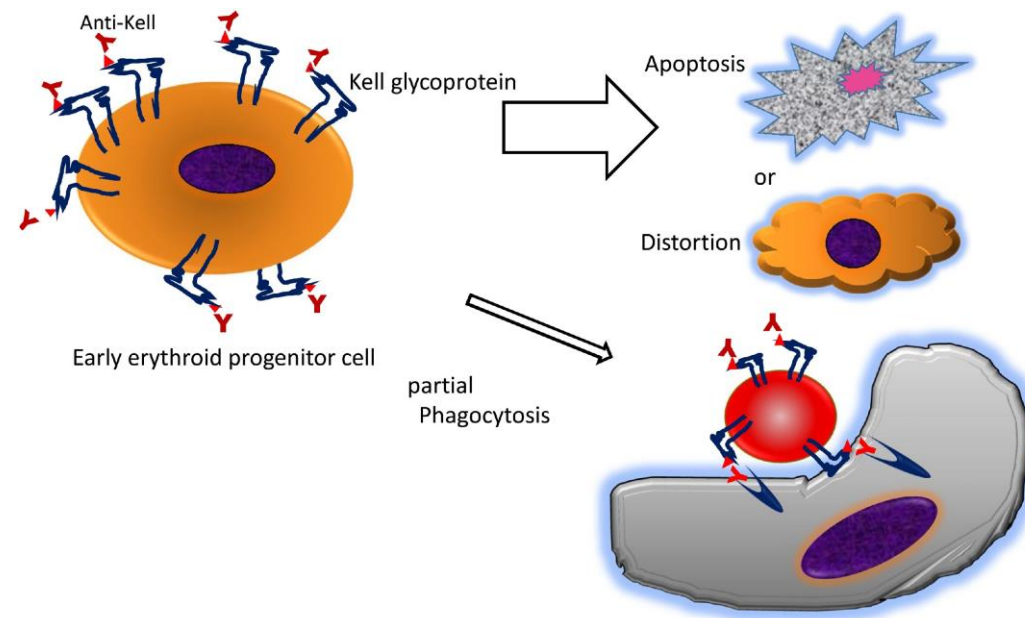
Výsledek

- Průkaz mutace *RHD*DEL04* /c.147delA, frameshift stop/
 - Gen RHD přítomen
- Způsobuje DEL fenotyp
- Sérologická RhD negativita
- Pravdu měla obě pracoviště: genetika i sérologie 😊

- Spolupráce s ÚBGL VFN (Ing. Hořínek)
- Za posledních 5 let máme asi 8 kazuistik obdobných diskrepancí

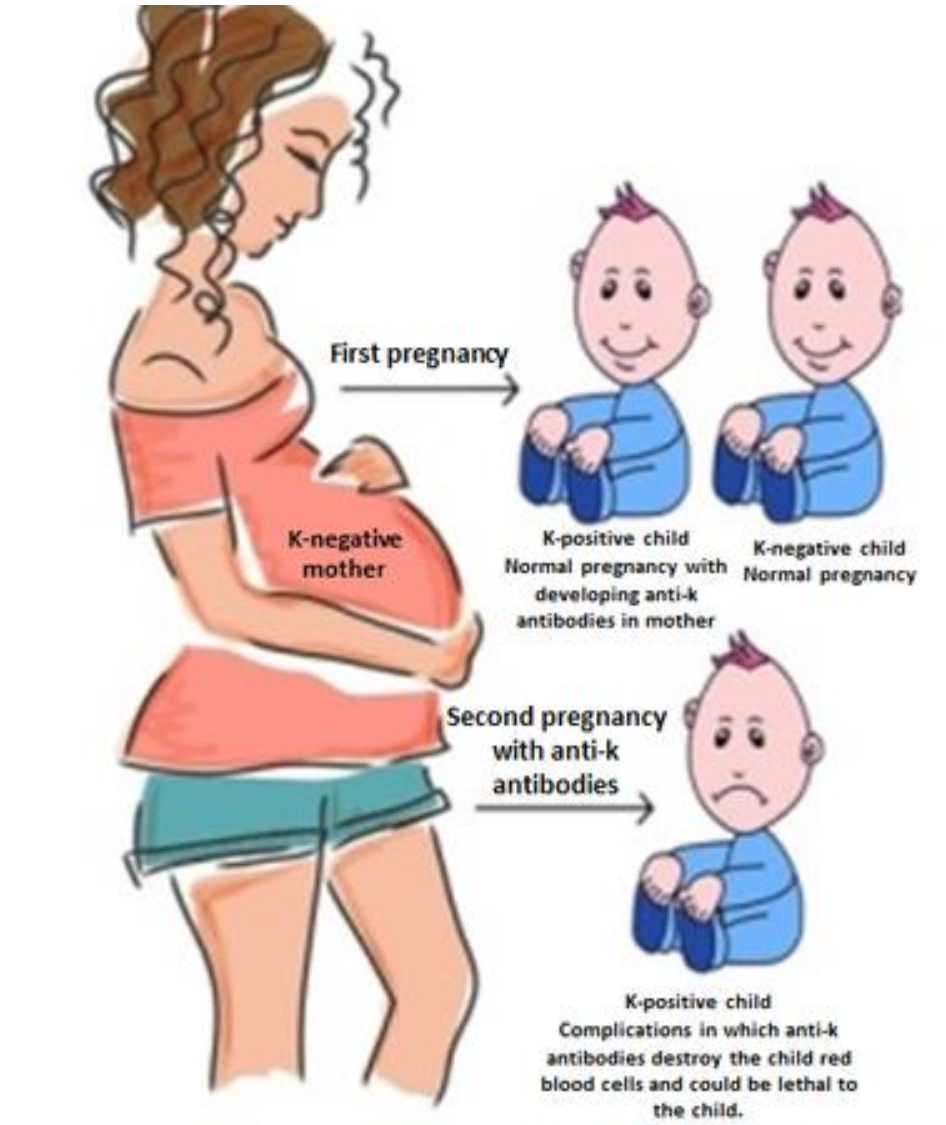
Protilátka anti-Kell a HON

- Kell antigeny:
 - GP
 - Na erythrocytech (+ myeloidní progenitory)
- Immunogenní
- Fetální erythrocyty: od 6.-7. týdne
- Protilátky: IgG
- Útlum erythropoézy (spíše než hemolýza)
- Projevy mírné až těžké
- Nekoreluje titr



Kazuistika anti-K

- Žena, 31 let, IIIIG
- AB RhD pozitivní, K- (kk)
- 23. tt: anti-K v titru 256
- Otec dítěte: KK
- Postupně zvýšení titru + anemizace plodu
- Od 25. tt podáno 6 IUT
 - Po 5. IUT navíc protilátka anti-c
- SC: 33 + 5 (2600 g; 46 cm)
 - Inkubátor
 - Fototerapie 68 hodin
 - 1 transfuze
 - Propuštění za 15 dní



Stanovení feno/genotypu plodu

- Dle nálezu u matky, ev. partnera
- Standartně fenotyp

- RhD: cfDNA z plazmy matky
 - Od 7. tt (lépe okolo 9.-10.)

- Ostatní antigeny se nestanovují

- Kordocentéza: určení fenotypu plodu
 - Někdy nemožné
 - Silně pozitivní PAT – senzibilizace
 - Falešně negativní reakce pro antigen – tzv. blokuující fenomén

Shrnutí

- Hemolytické onemocnění plodu/novorozence
- Patofyziologie
- Různé antigenní systémy
- Nejčastější: Anti-RhD (Rh systém)
 - Možnost profylaxe
- Další antigenní systémy
- Vyšetření protilátek v plazmě matky
- Vyšetření antigenu otce
- Vyšetření antigenu plodu:
 - Neinvazivní: cfDNA (pouze RhD antigen)
 - Invazivní: kordocentéza (limity, interference)

Děkuji za pozornost

