

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI
FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH VĚD
Ústav porodní asistence

Jana Vávrová

Fetomaternální hemoragie

Bakalářská práce

Vedoucí práce: Doc. MUDr. Marek Lubušský, Ph.D.

Olomouc 2011

ANOTACE

Bakalářská práce

Název práce:

Fetomaternální hemoragie

Název práce v AJ:

Fetomaternal haemorrhage

Datum zadání: 2011-02-02

Datum odevzdání: 2011-05-05

Vysoká škola, fakulta, ústav: Univerzita Palackého v Olomouci
Fakulta zdravotnických věd
Ústav porodní asistence

Autor práce: Jana Vávrová

Vedoucí práce: Doc. MUDr. Marek Lubušský, Ph.D.

Abstrakt v ČJ:

Bakalářská práce je věnovaná problematice fetomaternální hemoragie vyskytující se při amniocentéze. Práce obsahuje informace o Rh systému, fetomaternální hemoragii, erytrocytární aloimunizaci matky, novorozenecké žloutence a novorozenecké anémii. Také jsou zde důležité informace o amniocentéze a jejích komplikacích. Cílem práce bylo zjistit incidenci fetomaternální hemoragie a objem fetálních erytrocytů, které pronikly do krevního oběhu matky při amniocentéze a určit rizikové stavy, které mohou vést k excesivní fetomaternální hemoragii. Určení těchto parametrů umožní optimalizovat doporučení k provádění prevence RhD aloimunizace.

Abstrakt v AJ:

The thesis is devoted to the issue of fetomaternal haemorrhage occurring during amniocentesis. The work contains informatik about the Rh systém, fetomaternal haemorrhage, erythrocytal aloimmunization maternal, neonatal icterus and neonatal anemia. There are also important information about amniocentesis and its complications. The objective was to determine the incidence of fetal haemorrhage and volume of fetal red blood cells tha have penetrated into the mother's bloodstream during

amniocentesis and to determine the risk conditions that can lead to excessive fetal haemorrhage. Finally, recommendations for optimizing the implementation of the prevention of RhD alloimmunization.

Klíčová slova:

Fetomaternální hemoragie, erytrocytární aloimunizace, RhD aloimunizace, novorozenecká žloutenka, novorozenecká anémie, matka, plod, amniocentéza.

Klíčová slova v AJ:

Fetomaternal haemorrhage, erythrocytal alloimmunization, RhD alloimmunization, neonatal icterus, neonatal anemia, mother, fetus, amniocentesis.

Rozsah: 49 s., 1 příl.

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a použila jen uvedené bibliografické a elektronické zdroje.

Olomouc 30. dubna 2011

podpis

Děkuji Doc. MUDr. Markovi Lubuškýmu, Ph.D., za odborné vedení mé bakalářské práce. Celému personálu z ústavu Lékařské genetiky ve FN Olomouc za jejich pomoc při realizaci výzkumného šetření.

Obsah

ÚVOD.....	8
1 Systém Rh	10
2 Fetomaternální hemoragie.....	12
2.1 Incidence	12
2.2 Klinický význam	13
2.2.1 Příznaky a symptomy svědčící pro excesivní fetomaternální krvácení	13
2.2.2 Události, při kterých by měla být vyšetřena fetomaternální hemoragie z důvodu podezření na excesivní fetomaternální krvácení	13
2.3 Novorozenecká žloutenka	14
2.4 Novorozenecká anémie	14
3 Stanovení objemu fetomaternálního krvácení.....	16
3.1 Stanovení RhD genotypu plodu	16
3.2 Možnosti stanovení fetomaternální hemoragie	16
3.2.1 Kleihauer-Betke screening – kyselá eluce	17
3.2.2 Rozetový test.....	17
3.2.3 Průtoková cytometrie	17
4 Amniocentéza.....	19
4.1 Indikace k amniocentéze	19
4.2 Metoda provedení amniocentézy.....	20
4.3 Komplikace amniocentézy	21
5 Erytrocytární aloimunizace těhotných žen.....	22
5.1 Definice	22
5.2 Patofyziologie.....	22
5.3 Diagnostika a léčebný postup.....	23
5.4 Časování ukončení gravidity	24
5.4.1 Závažné formy anémie plodu.....	24
5.4.2 Střední forma anémie plodu	25
5.4.3 Lehká forma anémie plodu.....	25
6 Doporučení k provádění prevence RhD aloimunizace u RhD negativních žen.....	26
7 Cíle práce	28
8 Metodika práce.....	28
8.1 Metodika výzkumné práce	28

8.2 Popisné charakteristiky souboru.....	29
8.3 Charakteristika výzkumného prostředí.....	31
9 Interpretace dat ve vztahu k cílům	33
9.1 Interpretace dat k cílům č. 1, 2	33
9.2 Interpretace dat k cíli č. 3	34
9.3 Interpretace dat k cíli č. 4	37
10 Diskuze.....	39
ZÁVĚR	42
LITERATURA A PRAMENY	44
SEZNAM TABULEK.....	46
SEZNAM GRAFŮ	47
SEZNAM ZKRATEK.....	48
SEZNAM POŘÍLOH	49

ÚVOD

Fetomaternální hemoragie vzbuzuje poslední dobou zájem u mnoha odborníků z oborů gynekologie a porodnictví, lékařské genetiky a fetální medicíny. Již od roku 2009 probíhá ve Fakultní nemocnici Ostrava a Fakultní nemocnici Olomouc výzkum zaměřený na zjištění objemu fetomaternální hemoragie po porodu. Vzhledem k zajímavosti tohoto tématu jsem se ráda zapojila do dalšího výzkumu fetomaternální hemoragie, tentokrát zaměřeného na odběry plodové vody (amniocentéza).

Ve své práci jsem se zaměřila na zjištění výskytu fetomaternální hemoragie při amniocentéze. Také jsem chtěla zjistit objem fetálních erytrocytů, které pronikly do krve matky. Důležitá byla i identifikace rizikových stavů, které vedou k excesivní fetomaternální hemoragii. A v neposlední řadě optimalizace doporučení k provádění prevence RhD aloimunizace.

Fetomaternální hemoragie označuje stav, při kterém dochází k prostupu fetálních erytrocytů do mateřské cirkulace. Je to způsobeno narušením přirozené bariéry mezi fetální a maternální cirkulací. Jestli-že plod od otce zdědí některý antigen, který se nachází na fetálních erytrocytech a zároveň jej nevlastní matka, může dojít následkem fetomaternální hemoragie k podráždění mateřského imunitního systému a k vytváření protilátek – aloimunizaci. Fetomaternální krvácení je klinicky významné i pro plod, který může být ohrožen anémií.

Abychom předešli erytrocytární aloimunizaci matky a také anémii plodu, je v běžné praxi RhD negativním ženám preventivně aplikován anti-D imunoglobulin (IgG anti-D). V současné době je jeho aplikace paušální a také jeho dávky jsou mnohem větší, než je ve skutečnosti třeba. Proto je velmi důležité zaměřit se na stanovení objemu fetomaternální hemoragie, díky čemuž můžeme následně určit optimální dávku IgG anti-D. Tím také docílíme lepší prevenci RhD aloimunizace a snížíme finanční náklady s ní spojené.

Teoretická část bakalářské práce je věnována problematice Rh systému, fetomaternální hemoragie, amniocentézy, erytrocytární aloimunizace matky, novorozenecké žloutenky a novorozenecké anémie.

V praktické části je vyhodnocena incidence a objem fetomaternální hemoragie u žen ve druhém trimestru těhotenství po provedení amniocentézy. Jsou zde také určeny statisticky významné rizikové stavy, při nichž dochází častěji k větší fetomaternální hemoragii:

- délka trvání těhotenství v době provedení amniocentézy
- průnik jehly placentární tkání.

V průběhu výzkumu byl použit informovaný souhlas, který těhotné ženy podrobně informoval o obsahu výzkumu. Celkem bylo provedeno 151 vyšetření. Vzorby byly získány ve Fakultní nemocnici Ostrava a ve Fakultní nemocnici Olomouc.

1 Systém Rh

„Krevní systém Rh (rhesus faktor) byl nazván podle reakce, při níž sérum s protilátkami proti krvinkám opice *Macacus rhesus* shlukovalo v 85% případů i krvinky lidské. Postupem času se ukázalo, že antigenní systém Rh je vysoce komplexní.“ (W. F. Ganong, Přehled lékařské fyziologie, 2005, str. 543)

Nejvýznamnějšími antigeny jsou C, D, E, c, d, e, které se vždy vyskytují ve trojici. Je-li přítomen antigen D, který je charakteristický svou největší antigenitou, jedná se o osobu RhD pozitivní. Jestli-že přítomen není, jedná se o jedince RhD negativního. Polypeptidy jsou hlavní složky tohoto systému. Jsou vázány s fosfolipidy, které se nachází v zevní vrstvě buněčné membrány červené krvinky.

Protilátky anti-D vzniknou pouze v případě imunizace RhD negativního příjemce a to krvinkami od RhD pozitivního dárce. Jedná se o imunoglobuliny typu IgG anti-D.

V bílé populaci je 85% jedinců, kteří jsou RhD pozitivní a jen 15% je RhD negativních. RhD pozitivních Asiatů je přes 99%.

Anti-D protilátky vznikají pouze v případě, kdy se setká RhD negativní jedinec s krvinkami, které jsou RhD pozitivní. Dochází k tomu během transfúze nebo při přestupu fetálních krvinek do krevního oběhu matky. Jestli-že dojde k podání transfúze, která je RhD pozitivní RhD negativnímu jedinci, je možné, že i po několika letech je přítomný významný anti-D titr. Pokud dojde k opakované aplikaci RhD pozitivní krve, může se u těchto jedinců vyvinout potransfúzní reakce.

„Tvorba protilátek začne teprve tehdy, když jsou RhD pozitivní erytrocyty na konci jejich života odbourávány v systému monocytů a makrofágů. Po úpravě antigenního materiálu prostřednictvím T-lymfocytů dají podnět k aktivaci B-lymfocytů, které mají specifické receptory pro antigen.“ (A. Zwinger et. al., Porodnictví, 2004, str. 258)

Antigen D je velmi silný. K zahájení tvorby protilátek stačí parenterální podání 0,1 ml krve, která je RhD pozitivní, jedincům RhD negativním. Při prvním setkání s RhD pozitivními červenými krvinkami, dochází k tvorbě protilátek zvolna.

Většinou je to až za 3 měsíce po setkání s antigenem. V tomto čase dochází k tvorbě především protilátek typu IgM. Tyto protilátky nemohou pronikat přes placentární bariéru. Z toho vyplývá, že pokud se jedná o těhotenství s RhD inkompatibilitou a došlo k prvnímu styku fetálních červených krvinek s mateřským imunologickým systémem, možnost vzniku hemolytického onemocnění novorozence je velmi malá.

Ovšem po opakovaném styku se dostaví vystupňovaná odpověď imunologického systému velmi rychle. V průběhu několika dnů dojde k tvorbě protilátek IgG anti-D, které však placentární bariérou pronikat mohou.

„Transport některých protilátek přes placentu od matky k plodu probíhá prostou difúzí, ale nejčastěji vazbou na povrchové receptory trofoblastu a následným aktivním transportem přes buňku.“ (A. Zwinger et. al., Porodnictví, 2004, str. 258) Ty se potom uvolňují ve fetálním oběhu.

Krvácení představuje nejčastější příčinu imunizace. Při něm totiž dochází k průniku fetálních erytrocytů do mateřského krevního oběhu.

2 Fetomaternální hemoragie

Fetomaternální hemoragie označuje stav, při kterém dochází k prostupu fetálních červených krvinek do mateřské cirkulace. Při narušení přirozené bariéry mezi fetální a maternální cirkulací mohou fetální krvinky přestupovat do mateřského krevního oběhu na základě pozitivního gradientu tlaku. Klinicky nejvýznamnější situací je porod, při kterém je fetomaternální krvácení nejčastější.

2.1 Incidence

Je pravděpodobné, že do mateřské cirkulace pronikne fetální krev při každém těhotenství.

„V I. trimestru lze diagnostikovat FMH $\geq 0,01$ ml u 3% těhotných žen, ve II. trimestru u 12% a ve III. trimestru u 45%.“ (Pařízek et. al., Kritické stavy v porodnictví, 2011)

Objem červených krvinek plodu pronikajících do oběhu matky je velmi nízký „(v 75% případů $< 0,025$ ml, v 96% $< 0,5$ ml, ve více než 99% < 15 ml)“ (Pařízek a kol., Kritické stavy v porodnictví, 2011), plod tudíž není ohrožen anémií, ale může dojít k rozvoji mateřské erytrocytární aloimunizace.

„Naopak k excesivní fetomaternální hemoragii dochází relativně vzácně, incidence je cca 3/1000 porodů (>30 ml plné krve), 0,9/1000 porodů (>80 ml) a 0,2/1000 porodů (>150 ml). Nejčastěji ve III. trimestru těhotenství a při porodu, ve většině případů příčina není známa.

Přibližně u 98,5 % porodů dochází k fetomaternální hemoragii < 5 ml plné krve, u 99,5 % porodů dochází k fetomaternální hemoragii < 10 ml a u zbývajících 0,5 % porodů dochází k excesivní fetomaternální hemoragii >25 ml. U více než 50 % všech případů však není přítomen žádný rizikový faktor.“

(Pařízek et. al., Kritické stavy v porodnictví, 2011)

2.2 Klinický význam

Riziko rozvoje mateřské aloimunizace.

Je zde přítomné riziko rozvoje mateřské aloimunizace při neshodě erytrocytárních antigenů mezi plodem a matkou.

Riziko rozvoje anémie u plodu a novorozence.

Při masivním fetomaternálním krvácení záleží jak na celkovém množství fetomaternální hemoragie, tak na objemu uteroplacentárního oběhu. Také je důležité zvážit časové rozmezí, v jakém došlo ke ztrátě krve. Stejně množství ztracené krve má různé důsledky pro plod, u kterého došlo ke krevní ztrátě v průběhu několika týdnů. Rozdílné důsledky má i krevní ztráta, ke které došlo v průběhu několika hodin.

2.2.1 Příznaky a symptomy svědčící pro excesivní fetomaternální

krvácení

- novorozenecká anémie
- snížená pohybová aktivita plodu nebo její úplné chybění
- foetus mortus
- patologický kardiokografický záznam: tachykardie, snížení variability, prolongované decelerace, sinusoidní oscilace
- hydrops plodu
- intrauterinní růstová retardace
- fibrilace síní plodu

2.2.2 Události, při kterých by měla být vyšetřena fetomaternální

hemoragie z důvodu podezření na excesivní fetomaternální

krvácení

- nevysvětlitelné narození mrtvého dítěte
- přetrvávající snížené mateřské vnímání činnosti plodu

- hydrops
- zvýšený doppler v arteria cerebri media v souladu s anémií
- novorozenecká anémie

2.3 Novorozenecká žloutenka

„Časná novorozenecká žloutenka (obvykle do 24 hodin po porodu) může být doprovázena hemolytickou anémií, trombocytopenií a někdy i neutropenií.

Primárním cílem fototerapie a výměnné transfúze je zabránit hromadění toxických hladin bilirubinu u novorozence.“ (Pařízek et. al., Kritické stavy v porodnictví, 2011)

Organismus matky vylučuje volný bilirubin až do porodu. Po porodu není organismus novorozence schopen jej dostatečně eliminovat kvůli nezralosti jater.

„Rychlý vzestup hladiny bilirubinu může mít za následek ukládání v tučných rozpustného nekonjugovaného bilirubinu v oblasti bazálních ganglií mozku. Pokud překročí jeho koncentrace kritickou hodnotu, hrozí v krátké době rozvoj jádrového iktu (kernikterus) s akutní encefalopatií, dlouhodobá expozice může mít za následek atetoidní mozkovou obrnu a/nebo senzorieurální (percepční) hluchotu.“ (Pařízek et. al., Kritické stavy v porodnictví, 2011)

2.4 Novorozenecká anémie

Anémie u novorozence přetrvává i po porodu, dokonce se prohlubuje. Příčinu časně anémie tvoří protilátky pasivně získané od matky, ty zůstávají v oběhu novorozence a způsobují další hemolýzu. Jelikož se velká část hemolytických protilátek nachází extravaskulárně, výměnná transfúze sníží jejich koncentraci jen mírně.

Suprese erythropoézy, která je způsobena opakovanými transfúzemi, tvoří nejčastější příčinu u pozdní anémie (hyporegenerativní). „Charakteristická je nepřítomnost, nebo velice nízká hodnota retikulocytů a relativně nízká hladina erythropoetinu vzhledem ke stupni anémie. Sekrece erythropoetinu je po opakovaných transfúzích utlumena a její obnova může trvat týdny i měsíce.“

(Pařízek et. al., Kritické stavy v porodnictví, 2011)

„Jako možné příčiny vzniku pozdní anémie při Rh hemolytické nemoci jsou uvažovány tři mechanismy:

- anti-D destrukce erytrocytárních prekurzorů v kostní dřeni,
- anti-D destrukce retikulocytů v periferní krvi,
- nepřiměřeně nízká produkce erytropoetinu.“ (Pařízek et. al., Kritické stavy v porodnictví, 2011)

Pozdní anémie se léčí pomocí opakovaných převodů „resuspendovaného, ozářeného filtrovaného erytrocytového transfuzního přípravku“. (Pařízek et. al., Kritické stavy v porodnictví, 2011) Nejsou-li u pacienta přítomny klinické příznaky, je doporučováno počkat, až koncentrace hemoglobinu klesne pod 50-60 g/l.

3 Stanovení objemu fetomaternálního krvácení

Ke stanovení množství červených krvinek plodu, které prostoupily do mateřské cirkulace, slouží průtoková cytometrie. Po porodu můžeme odebrat 0,5 ml – 1 ml venózní krve od matky. Odběr se provádí nejdříve za 1 hodinu po porodu a do zkumavky, která obsahuje protisrážlivý roztok.

Jestli-že jsou ženy RhD negativní, provede se nejdříve vyšetření RhD dítěte. Po porodu RhD pozitivního dítěte se provede vyšetření objemu fetomaternální hemoragie. Díky čemuž můžeme stanovit optimální dávku IgG anti-D jako prevenci RhD aloimunizace matky. Dávku 125 µg IgG anti-D aplikujeme vždy, když zjistíme, že dítě je RhD pozitivní.

„Optimální a ekonomicky nejefektivnější by však bylo RhD negativním ženám, nebyla-li v jejich séru prokázána přítomnost anti-D protilátek, aplikovat ve 28. týdnu IgG anti-D v dávce 250µg. Po porodu pozitivního dítěte následně stanovit objem fetálních erytrocytů, které pronikly do oběhu matky a jen v indikovaných případech podat potřebnou dávku IgG anti-D i postpartálně. Objem fetomaternální hemoragie by měl být rovněž stanoven u všech RhD negativních žen, nebyla-li v jejich séru prokázána přítomnost anti-D protilátek, v případě potenciálně senzibilizující události po 20. týdnu těhotenství.“ (www.lubusky.com, cit. 2011-03-11)

3.1 Stanovení RhD genotypu plodu

„Na začátku těhotenství je možné u RhD negativních žen stanovit RhD genotyp plodu z volné fetální DNA cirkulující v mateřské periferní krvi. Je-li plod RhD negativní, není nutné RhD negativním ženám podávat IgG anti-D ve 28. týdnu těhotenství, ani provádět prevenci RhD aloimunizace v případě potenciálně senzibilizující události.“ (www.lubusky.com, cit. 2011-03-11)

3.2 Možnosti stanovení fetomaternální hemoragie

Pro určení míry fetomaternálního krvácení existuje několik metod. Řadíme mezi ně Kleihauer-Betke screening, Rozetový test, průtokovou cytometrii a další.

3.2.1 Kleihauer-Betke screening – kyselá eluce

„Využívá skutečnosti, že erythrocyty obsahující fetální hemoglobin jsou rezistentní k vymývání kyselinou.“ (www.lubusky.com, cit. 2011-03-11) Po inkubaci můžeme v mikroskopu vidět fetální erythrocyty zbarvené jasně růžově, bledé buňky jsou buňky od matky. Tato metoda slouží také k určení potencionálního krvácení u novorozenců. Hlavně je to v případech, kdy je podezření na krvácení z rekta. U dospělých se využívá k diagnostice u některých forem anémií.

Kyselá eluce má své výhody, ale také mnoho nevýhod. K výhodám patří nezávislost na RhD antigenu a také její nízká finanční zátěž. Mezi nevýhody řadíme nízkou senzitivitu metody, dále její nízkou specificitu a semikvantitativní stanovení výsledku.

Proto tuto metodu využíváme jako metodu pro screening. K přesnějším vyšetřením je nutno užít přesnější testování.

3.2.2 Rozetový test

„Tato metoda využívá nepřímý antiglobulinový test. Zvýšené senzitivity je dosaženo přidavkem RhD pozitivních indikátorových erythrocytů. Tyto buňky adherují k protilátkám anti-D, které pokrývají minoritní populaci RhD pozitivních fetálních erythrocytů a dohromady vytvářejí rozety či klustery. Výsledek se pak odečítá mikroskopicky.“ (www.lubusky.com, cit. 2011-03-11)

I tato metoda má své klady i zápory. Testování není finančně náročné, není příliš složité, ale ani příliš přesné. Dalšími zápory jsou neschopnost kvantitativního stanovení a hlavně možnost užití této metody jen pokud RhD negativní matka má RhD pozitivní plod. Také je schopen záchytu krvácení, pokud je větší než 4 ml fetálních červených krvinek. Vzhledem k těmto omezením je Rozetový test užíván jako screeningový.

3.2.3 Průtoková cytometrie

„Princip průtokové cytometrie spočívá v kvantifikaci malého počtu buněk přítomných ve velké buněčné populaci. Diferenciace a kvantifikace je dosaženo nejčastěji pomocí fluorescenčně značených protilátek. Jednu z nejpřesnějších možností představuje

tzv. duální fluorescenční detekce dvou intracelulárních antigenů - hemoglobinu F (HbF) a karbonické anhydrázy (CA). Oba antigeny jsou detekovány ze vzorku periferní krve s EDTA (kyselina ethylendiamintetraoctová).“(www.lubusky.com, cit. 2011-03-11)

Jak již bylo uvedeno, při této analýze využíváme dvou protilátek. Jedna je zaměřena na fetální hemoglobin. Ten je obsažen v červených krvinkách plodu a v malém množství v erytrocytech dospělého. Proti karbonické anhydráze je zaměřena druhá protilátka. Karbonická anhydráza je enzym a nachází se v dospělých erytrocytech. Můžeme ji také najít v erytrocytech plodu, které se nachází v pozdním stádiu.

Díky této analýze můžeme stanovit kvantitativní množství fetálních červených krvinek, které se dostaly do krevního oběhu matky. K jejím přednostem řadíme vysokou citlivost a přesnost, díky čemuž je zaručena objektivita výsledku. Dále je to množství fetálních červených krvinek, které je toto vyšetření schopno detekovat a to je 0,1 ml, což zároveň představuje množství, které může vyvolat RhD aloimunizaci. K nevýhodám patří vysoké náklady a nízká dostupnost této metody.

4 Amniocentéza

Amniocentéza je vyšetřovací metoda sloužící k identifikaci některých vážných vrozených vad plodu, která se provádí ve druhém trimestru těhotenství. Buňky, které se nachází v plodové vodě je možné vyšetřit cytogeneticky (určení karyotypu) a imunofluorescenční (detekce genů pomocí imunofluorescenčních sond) a analýzou DNA.

„Před cytogenetickým vyšetřením je nutná asi 10 denní kultivace amniocytů, která je v dobrých laboratořích neúspěšná v méně než 1%. Přesnost chromozomální analýzy amniocytů je 99,9%. Biochemické vyšetření plodové vody zahrnuje určení hladiny alfa-fetoproteinu a acetylcholinesterázy, jež je indikováno při zvýšeném riziku rozštěpů neurální trubice. Tato dvě stanovení pomáhají k diagnostice anencefalie a otevřených rozštěpů neurální trubice z 99%, falešně pozitivní výsledek je 0,03%. Plodovou vodu lze také vyšetřovat cytologicky a kultivačně.“(Z. Hájek et. al., Rizikové patologické těhotenství, 2004, str. 63)

Nevýhodu klasické amniocentézy představuje kultivace buněk trvající déle než dva týdny. Amniocyty je možné vyšetřit i bez potřebné kultivace. To je umožněno prostřednictvím finančně náročných metod molekulární analýzy DNA (PCR, FISH).

4.1 Indikace k amniocentéze

- věk matky vyšší než 35 let
- otec starší 50 let
- pozitivní triple test
- abnormální karyotyp rodičů
- vrozené poruchy metabolismu
- předcházející porod/potrat plodu s chromozomální abnormalitou
- ultrazvukem zjištěné morfologické odchylky u plodu, včetně tzv. „soft markerů“

4.2 Metoda provedení amniocentézy

Vyšetření spočívá v transabdominální punkci amniální dutiny, která probíhá pod ultrazvukovou kontrolou. Odběr se provádí jehlou určenou k jednomu použití o síle 20 gauge = 0,9 mm o délce 9 – 12 cm, mandin není podmínkou.

Užitá jehla je velmi dobře patrná ultrazvukem, hlavně její hrot, který je speciálně upraven. Množstvím zkušeností operátora se snižuje riziko abortu. To však naopak roste s počtem vpichů.

Velké množství amniocentéz se provádí mezi 15. – 17. týdnem gestace. Od časně amniocentézy, která se prováděla mezi 11. – 14. týdnem těhotenství, se v současnosti upustilo vzhledem k vyššímu riziku. „Dodnes neexistuje přesná definice hranice mezi „konvenční“ a časnou amniocentézou, ale většina pracovišť považuje odběr plodové vody před 15. týdnem těhotenství za „časný“. U této metody bylo prokázáno zvýšené riziko malformací dolních končetin plodu (pedes equinovares) a velmi pravděpodobně i redukčních vad končetin způsobených amniálními provazci, které vzniknou traumatem amniochoriální membrány při jejím nedostatečném splynutí v časně fázi těhotenství. Proto se odběr plodové vody dnes odkládá po 15. týdnu těhotenství.“ (Z. Hájek et. al., Rizikové a patologické těhotenství, 2004, str. 63)

Výkon se provádí za sterilních podmínek, bez anestezie či sedace klientky. Množství odebrané plodové vody závisí na týdnu těhotenství. Maximální množství je 20 ml. Vzhledem k možné kontaminaci plodové vody mateřskými buňkami se ke kultivaci nepoužívá první mililitr odebrané plodové vody. Děloha se punktuje pokud možno mimo placentu. Přibližně 20 % amniocentéz je provedeno transplacentárně, Avšak riziko potratu se tím nezvýší. Po odběru plodové vody u RhD negativních žen s nepřítomností aloprotilátek je nutné aplikovat IgG anti-D.

„U vícečetného těhotenství, pokud jsou plody dizygotické, punktuje se dvě dutiny z jednoho nebo dvou různých vpichů pod kontrolou ultrazvuku. Máme-li nejasnost o punktované dutině, lze použít barvivo (indigokarmín) k jejímu označení. Někteří autoři považují tento postup za obsolentní, ale při nedobrych akustických poměrech může být použití indigokarmínu velmi užitečné. Metylénová modř je z důvodu rizika jejunální atrezie kontraindikována. U monozygotických dvojčat se provádí ve II. trimestru kordocentéza. Amniocentéza u dvojčat zvyšuje riziko potratu 3,5x oproti jednočetným graviditám.“ (Z. Hájek et. al., Rizikové a patologické těhotenství, 2004, str. 64)

Proto musí být odběry plodové vody u dvojčat prováděny jen v přísně indikovaných případech a provádět by je měl zkušený lékař.

4.3 Komplikace amniocentézy

Matka

- Riziko amnionitidy je menší než 0,1 %
- Mezi bezprostřední komplikace řadíme krvácení, bolest břicha, amniální leakage (částečné odtékání plodové vody) do 4 týdnů po výkonu.
- Vzhledem k možné aloimunizaci RhD negativní matky je doporučeno po výkonu podávat IgG anti-D v dávce 100 µg. Ovšem pokud nejsou u matky přítomné aloprotilátky.
- Strach a úzkost matky je převážně způsobeno očekáváním samotného výsledku než vlastním výkonem.

Plod

„Počet potratů v souvislosti s amniocentézou nepřesahuje na základě randomizované studie 0,5 – 1%. Zvýšené riziko spontánního abortu je u pacientek se zatíženou anamnézou, např. krvácení v I. trimestru, infertilita, léčená sterilita, pacientky s myomem, vývojovými vadami dělohy.“ (Z. Hájek et. al., Rizikové a patologické těhotenství, 2004, str. 64)

Novorozenec

Amniocentéza nemá vliv na zvýšení počtu předčasných porodů, mrtvorozenosti či perinatální mortality. U plodů, u kterých byl proveden odběr plodové vody mezi 15. – 18. týdnem gestace, nebylo nalezeno zvýšené riziko pro kongenitální postižení končetin. „Nicméně dle dvou randomizovaných studií časná amniocentéza významně zvyšuje prevalenci pes equinovarus proti biopsii choria.“ (Z. Hájek et. al., Rizikové a patologické těhotenství, 2004, str. 64)

5 Erytrocytární aloimunizace těhotných žen

5.1 Definice

Jestli-že plod od otce zdědí některý antigen, který se nachází na fetálních erythrocytech a zároveň jej nevlastní matka, může dojít následkem fetomaternální hemoragie během porodu či v průběhu gravidity k podráždění mateřského imunitního systému a k vytváření protilátek - aloimunizaci. Ke stejné reakci může dojít po aplikaci transfúze s antigeně inkompatibilními erythrocyty.

Hemolytické aloprotilátky matky mohou během gravidity prostupovat placentou do fetálního krevního oběhu, kde se naváží na erythrocyty plodu, které jsou dále ničeny v systému retikulo-endoteliálním. Dochází k rozvoji hemolytického onemocnění plodu a novorozence.

Nedojde-li ke včasné diagnostice mateřské aloimunizace a vhodné léčbě hemolytické nemoci plodu a novorozence, může dojít k vážné perinatální úmrtnosti a morbiditě.

Pokud došlo během gravidity k prvnímu styku s inkompatibilním fetálním erythrocytárním antigenem, vzniká vážné hemolytické onemocnění jen vzácně. Závažnými formami hemolytického onemocnění jsou hlavně ohroženy plody, které jsou antigeně inkompatibilní až v průběhu dalších gravidit.

5.2 Patofyziologie

Známe mnoho příčin, které vedou k rozvoji vážné fetální anémie. RhD aloimunizace je však stále nejčastější.

Vlastní poškození plodu je závislé na míře rozvoje anémie. Mírné formy jsou pro plod dobře snášenlivé. Při anémii dochází ke snížení objemového množství kyslíčnicku v krvi, ale nemá vliv na parciální tlaky oxidu uhličitého a kyslíku. Proto nedochází ke krevní redistribuci s přednostním zásobením mozku. Výjimku tvoří vážná forma anémie, u které je přítomná hypoxémie a acidóza.

U plodu dochází ke zvýšení srdečního výdeje a průtoku krve v cévách v závislosti na stupni anémie, která se převážně odráží v hematokritu plodu. Můžeme sledovat

hyperdynamickou cirkulaci. Tyto změny ve fetální hemodynamice můžeme pozorovat pomocí ultrazvukového vyšetření s využitím pulzní a barevné dopplerometrie.

U rozvinutých forem dochází k acidóze a hypoxémii. Pokud jsou hodnoty hematokritu menší jak 12%, dochází k rozvoji hydropsu plodu.

Ke vzniku hydropsu plodu přispívá:

- Srdeční selhávání, jehož příčinou jsou nejspíš hypoxické změny.
- Hepatomegalie, při které dochází ke zhoršení cirkulace játry vedoucí ke vzniku portální hypertenze.
- Hypoalbuminémie.

„Při srdečním selhávání jsou při ultrazvukovém vyšetření patrné charakteristické patologické změny, jako je zvětšený biventrikulární průměr srdce, rozvoj systolické atrioventrikulární regurgitace krve, rozšíření umbilikální žíly, ztlustění placenty a polyhydramnion.“ (Pařízek et. al., Kritické stavy v porodnictví, 2011)

5.3 Diagnostika a léčebný postup

Na počátku gravidity je u všech žen určena krevní skupina a Rh faktor a provedeno vyšetření nepravidelných antierytrocytárních protilátek. U matky se prokazují cirkulující protilátky proti červeným krvinkám plodu nepřímým Coombsovým testem. U dítěte je možno prokázat protilátky, které jsou vázané na povrchu erytrocytů přímým Coombsovým testem.

Jestliže je u matky prokázán pozitivní Coombsův test pro jednu nebo více protilátek, které jsou spojené s hemolytickou nemocí plodu a novorozence, je plod ohrožen anémií.

Pokud jsou u žen prokázány aloprotilátky, je důležité zaměřit se i na porodnickou anamnézu. Hraje důležitou roli i při plánování diagnostických a léčebných výkonů. Znalost závažnosti a průběhu choroby v předchozích těhotenstvích je důležitá pro plánování invazivních výkonů.

Zjistilo se, že provádění barevné a pulzní dopplerometrie spolehlivě predikuje stupeň anémie u plodu. Hlavním přínosem je, že došlo ke snížení prováděných invazivních vyšetření v diagnostice.

„Implementace neinvazivního stanovení maximální průtokové rychlosti v arteria cerebri media plodu (MCA-PSV) do managementu těhotenství s rizikem rozvoje fetální anémie umožňuje snížit počet dosud prováděných diagnostických invazivních výkonů (amniocentéz a kordocentéz) o více než 70%. Nejedná se ale o standardní vyšetření a je velmi důležité dokonalé zvládnutí správné techniky měření MCA-PSV. Pacientky s rizikem rozvoje fetální anémie by proto měly být odesílány ke sledování do specializovaných center s pracovníky zaškolenými a erudovanými v této metodice. Ve specializovaných centrech při zavedení MCA-PSV do managementu však vzniká problém zajištění dostatečného počtu indikovaných kordocentéz s podáním intrauterinní transfúze nutných k zachování potřebné erudice.“

(Pařízek et. al., Kritické stavy v porodnictví, 2011)

Na začátku gravidity je možné určit u plodu Rh genotyp a to vyšetřením volné DNA plodu z mateřské periferní krve. Tímto vyšetřením můžeme v případech maternální Rh aloimunizace vyloučit plody RhD negativní a není nutné je i nadále sledovat.

5.4 Časování ukončení gravidity

U těhotenství, kde je přítomno riziko rozvoje anémie u plodu, je cílem prodloužit graviditu do doby, kdy není přítomno riziko prematurity. Zvažují se dvě důležitá hlediska. Prevence těžkého poškození plodu, ale také jeho životaschopnost.

„Dostatečná zralost plicních a jaterních enzymatických systémů snižuje riziko potřeby prolongované fototerapie i nutnosti provedení výměnné transfúze u novorozence.“ (Pařízek et. al., Kritické stavy v porodnictví, 2011)

5.4.1 Závažné formy anémie plodu

Je zde potřeba opakovaných invazivních výkonů. Je však nutné myslet na rizika spojená s opakovaným prováděním kordocentéz a aplikací intrauterinních transfúzí z důvodu předčasného porodu.

35. týden gravidity je poslední termín pro provádění intrauterinní transfúze. Těhotenství, ve kterém se prováděly opakované intrauterinní transfúze, se ukončuje nejpozději ve 37. týdnu a to obvykle císařským řezem.

5.4.2 Střední forma anémie plodu

U této formy není nutné provádět intrauterinní transfúze. Těhotenství se snažíme ukončovat až ve 38. týdnu s ohledem na dokončení zralosti jater. Výjimku tvoří stav, kdy se objeví příznaky vážné anémie plodu a těhotenství se ukončuje ihned.

5.4.3 Lehká forma anémie plodu

Pokud není nutná intrauterinní transfúze a kompenzace fetální anémie je dobrá, plánujeme ukončení těhotenství do konce 39. týdne. Po porodu je nutná péče pediatra, u vážnějších stavů je nutná výměnná transfúze, někdy i opakovaně. V lehčích případech postačí fototerapie.

6 Doporučení k provádění prevence RhD aloimunizace u RhD negativních žen

Události, při kterých by měl být podán anti-D imunoglobulin RhD negativním ženám, nejsou-li u nich již přítomny protilátky anti-D: ⁽⁹⁾

- indikace v I. trimestru (50 μ g)
 - umělé ukončení těhotenství
 - samovolný potrat instrumentální revizí dutiny děložní
 - operace mimoděložního těhotenství
 - biopsie choria z genetické indikace
 - evakuace molární gravidity
- indikace ve II. a III. trimestru (100 μ g)
 - amniocentéza
 - kordocentéza
 - jiné invazivní výkony prenatální diagnostiky a fetální terapie
 - indukovaný abort
 - intrauterinní úmrtí plodu
 - pokus o zevní obrat konce pánevního
 - břišní poranění
 - porodnické krvácení
- antepartální profylaxe ve 28. týdnu (1 x 250 μ g)
- porod RhD pozitivního plodu (100 μ g)
 - i v případech, kdy RhD fenotyp plodu není znám

Minimální dávka:

- před 20. týdnem těhotenství 50 μ g (250 IU)
- po 20. týdnu těhotenství 100 μ g (500 IU)
- současně by měl být stanoven objem fetomaternální hemoragie k upřesnění dávky

Načasování:

Co nejdříve, ale nejpozději do 72 hodin po události. Při opomenutí provedení prevence RhD aloimunizace do 72 hodin po potencionálně senzibilizující události má ještě smysl podat IgG anti-D do 13 dní, v mimořádných případech je doporučeno podání s odstupem maximálně 28 dní po porodu.

Fetomaternální hemoragie

Je-li provedeno kvantitativní stanovení množství fetálních erytrocytů proniklých do oběhu matky, je indikováno podání 10 µg IgG anti-D na 0,5 ml fetálních erytrocytů nebo 1 ml plné krve.

Než se provede screening antierytrocytárních protilátek, je nezbytné zjistit, zda nebylo ženě během nynější gravidity aplikováno IgG anti-D. Pokud ano, je možné, že hladina anti-D protilátek bude stále přetrvávat, což by mohlo vést k chybnému závěru o RhD aloimunizaci matky. Toto zjištění je také nutno zapsat do žádanky na vyšetření antierytrocytárních protilátek.

„RhD negativním ženám, nebyla-li v jejich séru prokázána přítomnost anti-D protilátek, se podává ve 28. a ve 34. týdnu těhotenství IgG anti-D v dávce 125 µg nitrosvalově. IgG anti-D lze podat i jednorázově jen ve 28. týdnu v dávce 250 µg. Při pokračujícím nebo opakujícím se krvácení po 12. týdnu těhotenství se podává 100 µg IgG anti-D opakovaně v 6 týdenních intervalech.

RhD negativním ženám po porodu RhD pozitivního dítěte, nebyla-li v jejich séru prokázána přítomnost anti-D protilátek, je nutné aplikovat IgG anti-D v dávce 50-100 µg nitrosvalově + stanovit objem fetomaternální hemoragie (FMH) k upřesnění dávky IgG anti-D potřebné k prevenci RhD aloimunizace matky.

Není-li stanoven objem FMH, podává se dávka 200-300 µg. Efektivita paušálního podávání dávky větší než 100 µg nebyla však prokázána.“ (www.lubusky.com, cit. 2011-03-11)

7 Cíle práce

Ve výzkumné části jsem si stanovila následující cíle:

- Cíl 1 Zjistit výskyt fetomaternální hemoragie při amniocentéze.
- Cíl 2 Určit objem fetálních erytrocytů, které pronikly do krve matky.
- Cíl 3 Určit rizikové stavy, které vedou k excesivní fetomaternální hemoragii.
- Cíl 4 Optimalizovat doporučení k provádění prevence RhD aloimunizace.

8 Metodika práce

8.1 Metodika výzkumné práce

Vyšetření fetomaternálního krvácení bylo provedeno ze vzorků mateřské venózní krve. Krev byla odebrána venepunkcí 30 minut po odběru plodové vody do zkumavky obsahující protisrážlivou látku (EDTA, heparin). Množství odebrané krve činilo 0,5 – 1 ml. Poté byly vzorky skladovány při teplotách 2 – 8°C v lednici. Následné vyšetření vzorků krve bylo provedeno do 24 hodin po odběru.

Množství fetálních červených krvinek, které pronikly do krevního oběhu matky, bylo stanoveno pomocí průtokové cytometrie.

Byly použity tyto přístroje:

- BDFACSCanto (Becton Dickinson International) – Fakultní nemocnice Olomouc
- CYTOMICS-FC500 (Beckman Coulter) – Fakultní nemocnice Ostrava.

Laboratorní zpracování:

- Fetal Cell Count™ kit (Diagnosis of Feto-maternal Transfusion by flow cytometry), IQ Products, IQP-379.

Fetal Cell Count™ kit slouží k diferenciaci a kvantitativnímu stanovení fetálních erytrocytů v krvi matky. Je založen na citlivé a přesné metodě průtokové cytometrie, jejíž součástí je duální fluorescenční detekce dvou intracelulárních antigenů. Těmi jsou hemoglobin F (HbF) a karboická anhydráza (CA). Při této metodě jsou využity dvě protilátky. Jedna je namířena na fetální hemoglobin, který je obsažen v červených

krvinkách plodu a v malém množství v erythrocytech dospělého. Proti karbonické anhydráze je zaměřena ta druhá protilátka. Karbonická anhydráza je enzym a nachází se v dospělých erythrocytech. Můžeme ji také najít v erythrocytech plodu, které se nachází v pozdním stádiu.

Erythrocyty jsou diferencovány díky jasné expresi fetálního hemoglobinu, přičemž exprese karbonické anhydrázy je kompletně nepřítomná. Oproti tomu erythrocyty matky nemají žádný HbF signál při jasné expresi karbonické anhydrázy.

Výpočet celkového objemu fetálních erythrocytů pronikých do oběhu matky:

- Scientific Subcommittee of the Australian and New Zealand Society of Blood Transfusion. Guidelines for laboratory assessment of fetomaternal haemorrhage. 1st ed. Sydney: ANZSBT, 2000: 3-12.

Těhotné ženy byly vždy po výkonu podrobně informovány o obsahu výzkumu, postupu při odběru krve a účelu vyšetření. Každé ženě byl předložen informovaný souhlas se zařazením do výzkumu, který si podrobně přečetly, následně vyplnily své údaje a podepsaly.

Na každý informovaný souhlas byly posléze zapsány doplňující informace o těhotných ženách:

- RhD pozitivita či negativita ženy,
- týden těhotenství,
- zda jehla při výkonu pronikla či nepronikla placentou.

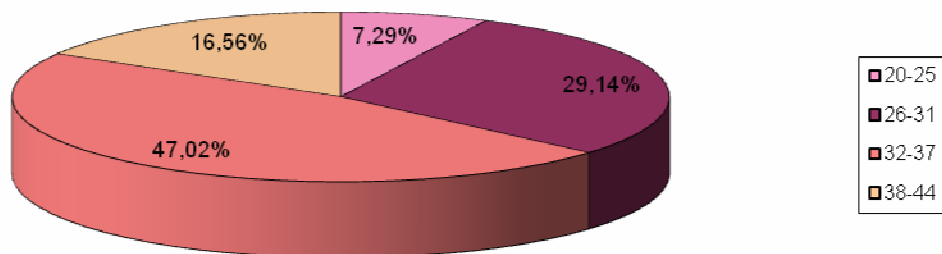
8.2 Popisné charakteristiky souboru

Výzkum byl zaměřen na zjištění incidence a objemu fetomaternální hemoragie při amniocentéze a stanovení rizikových stavů, které vedou k excesivní fetomaternální hemoragii. Výzkum byl tedy zaměřen na těhotné ženy ve II. trimestru těhotenství, u kterých byla provedena amniocentéza.

Celkový počet těhotných žen činil 151 a gestační stáří plodu v době vyšetření bylo 15. – 23. g.h. (medián 17). Těhotné ženy byly ve věku 20 – 44 let (medián 34).

Tab. 1 - Věkové zastoupení

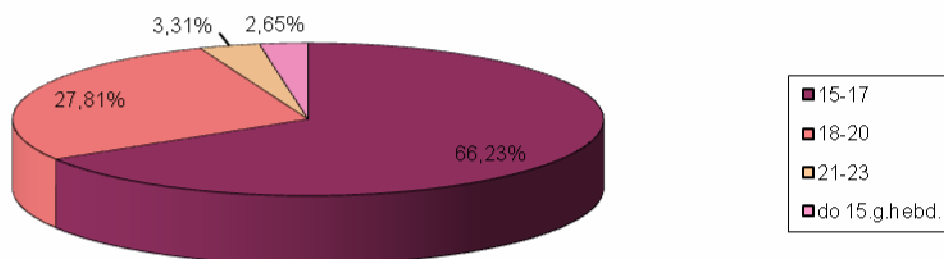
Věková skupina	Absolutní četnost N	Relativní četnost v %
20 – 25	11	7,29 %
26 – 31	44	29,14 %
32 – 37	71	47,02 %
38 – 44	25	16,56 %
celkem	151	100 %



Graf 1 Věkové zastoupení

Tab. 2 – Gestační stáří v době odběru plodové vody

Týden gestace	Absolutní četnost N	Relativní četnost v %
15 – 17	100	66,23 %
18 – 20	42	27,81 %
21 – 23	5	3,31 %
< 15	4	2,65 %
celkem	151	100 %



Graf 2 Gestační stáří v době odběru plodové vody

8.3 Charakteristika výzkumného prostředí

Výzkum probíhal za spolupráce následujících pracovišť:

- Porodnicko-gynekologická klinika LF UP a FN Olomouc,
- Ústav lékařské genetiky a fetální medicíny LF UP a FN Olomouc,
- Porodnicko-gynekologická klinika FN Ostrava,
- Oddělení alergologie a klinické imunologie LF UP a FN Olomouc,
- chirurgická klinika LF UP a FN Olomouc.

Ve Fakultní nemocnici Ostrava se ročně provede cca 400 amniocentéz, ve Fakultní nemocnici Olomouc je to cca 300 amniocentéz ročně. Na těchto pracovištích se provádí od roku 2009 vyšetření fetomaternální hemoragie po porodu.

Již bylo provedeno více než 1000 vyšetření. To je umožněno podporou grantového projektu MZ ČR IGA NS 10311-3/2009.

Vzhledem k tomu, že amniocentéza je další klinicky významnou událostí spojenou s fetomaternálním krvácením a v České republice se jich provádí téměř 20 000 ročně, byl další výzkum fetomaternální hemoragie zaměřen právě na toto invazivní vyšetření.

Znalost objemu FMH ke které dochází při amniocentéze, by umožnilo optimalizovat nastavení paušální dávky IgG anti-D, která by měla být aplikována RhD negativním ženám po provedení výkonu. Řešení tohoto projektu je podpořeno Grantem IGA MZ ČR NT-11004-3/2010.

9 Interpretace dat ve vztahu k cílům

9.1 Interpretace dat k cílům č. 1, 2

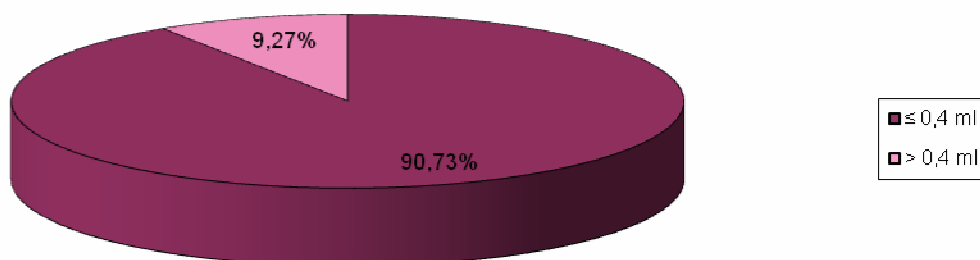
- Zjistit výskyt fetomaternální hemoragie při amniocentéze.
- Určit objem fetálních erytrocytů, které pronikly do krve matky.

Objem fetomaternální hemoragie při amniocentéze

Fetomaternální hemoragie $\leq 2,5$ ml (5ml plné krve) byla přítomna u 100 % případů při amniocentéze (n = 151, 90. percentil = 0,4 ml). Fetomaternální hemoragie $\leq 0,4$ ml byla přítomna u 137 (90,73%) vzorků. Fetomaternální hemoragie $< 0,4$ ml byla přítomna u 14 (9,27%) vzorků. U žádné ženy nedošlo během odběru plodové vody k fetomaternálnímu krvácení většímu než 2,5 ml.

Tab. 3 – Objem fetomaternální hemoragie při amniocentéze.

Fetomaternální hemoragie	Absolutní četnost N	Relativní četnost v %
$\leq 0,4$ ml	137	90,73 %
$> 0,4$ ml	14	9,27 %
$> 2,5$ ml	0	0 %



Graf 3 Objem fetomaternální hemoragie při amniocentéze.

Cíle č. 1, 2 byly splněny.

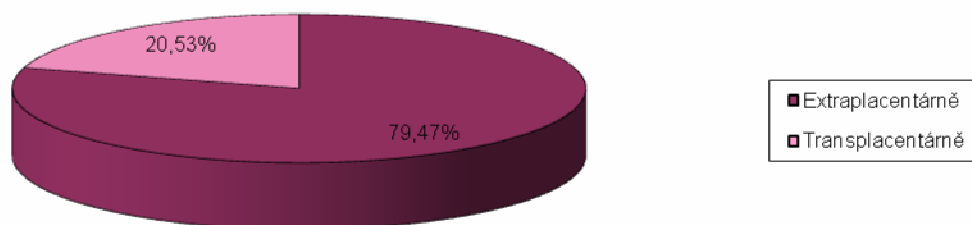
9.2 Interpretace dat k cíli č. 3

- Určit rizikové stavy, které vedou k excesivní fetomaternální hemoragii.

Celkem bylo dosud provedeno 151 vyšetření. Rizikovou skupinu pro vznik větší FMH představovaly dle hypotézy výkony, při kterých jehla pronikla placentární tkání. Z celkových 151 (100%) amniocentéz, bylo extraplacentárně provedených 120 (79,47%) a transplacentárně 31 (20,53%).

Tab. 4 – Průnik jehly placentou při výkonu.

Průnik jehly placentou	Absolutní četnost N	Relativní četnost v %
Extraplacentárně	120	79,47 %
Transplacentárně	31	20,53 %



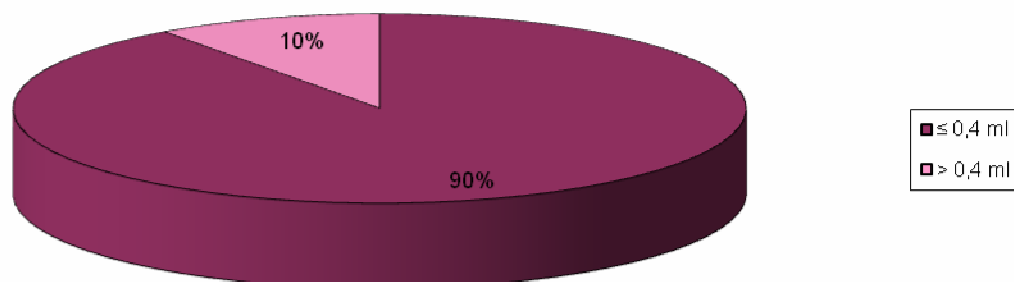
Graf 4 Průnik jehly placentou při výkonu.

Objem fetomaternální hemoragie při extraplacentárním odběru plodové vody

Při extraplacentárním odběru plodové vody byla fetomaternální hemoragie $\leq 0,4$ ml u 108 (90%) případů, fetomaternální hemoragie $< 0,4$ ml byla přítomna ve 12 (10%) případech. Celkový počet extraplacentárních odběrů byl 120 (100%).

Tab. 5 – Objem fetomaternální hemoragie při extraplacentárním odběru plodové vody

Fetomaternální hemoragie	Absolutní četnost N	Relativní četnost v %
$\leq 0,4$ ml	108	90 %
$> 0,4$ ml	12	10 %



Graf 5 Objem fetomaternální hemoragie při extraplacentárním odběru plodové vody.

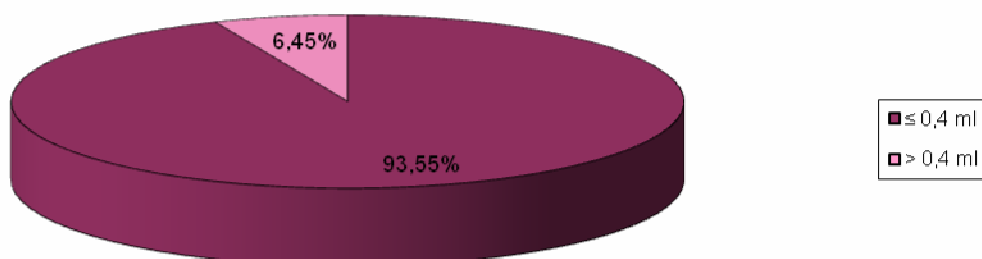
Objem fetomaternální hemoragie při transplacentárním odběru plodové vody

U amniocentéz, při kterých došlo k průniku jehly placentou, byla fetomaternální hemoragie $\leq 0,4$ ml přítomná u 29 (13,55%) žen. Fetomaternální hemoragie $< 0,4$ ml se vyskytla u 2 (6,45%) žen. Celkový počet transplacentárních odběrů plodové vody byl 31 (100%).

Z toho vyplývá, že průnik jehly placentou nepředstavuje rizikový faktor pro excesivní fetomaternální hemoragii.

Tab. 6 – Objem fetomaternální hemoragie při transplacentárním odběru plodové vody.

Fetomaternální hemoragie	Absolutní četnost	Relativní četnost
$\leq 0,4$ ml	29	93,55 %
$> 0,4$ ml	2	6,45 %

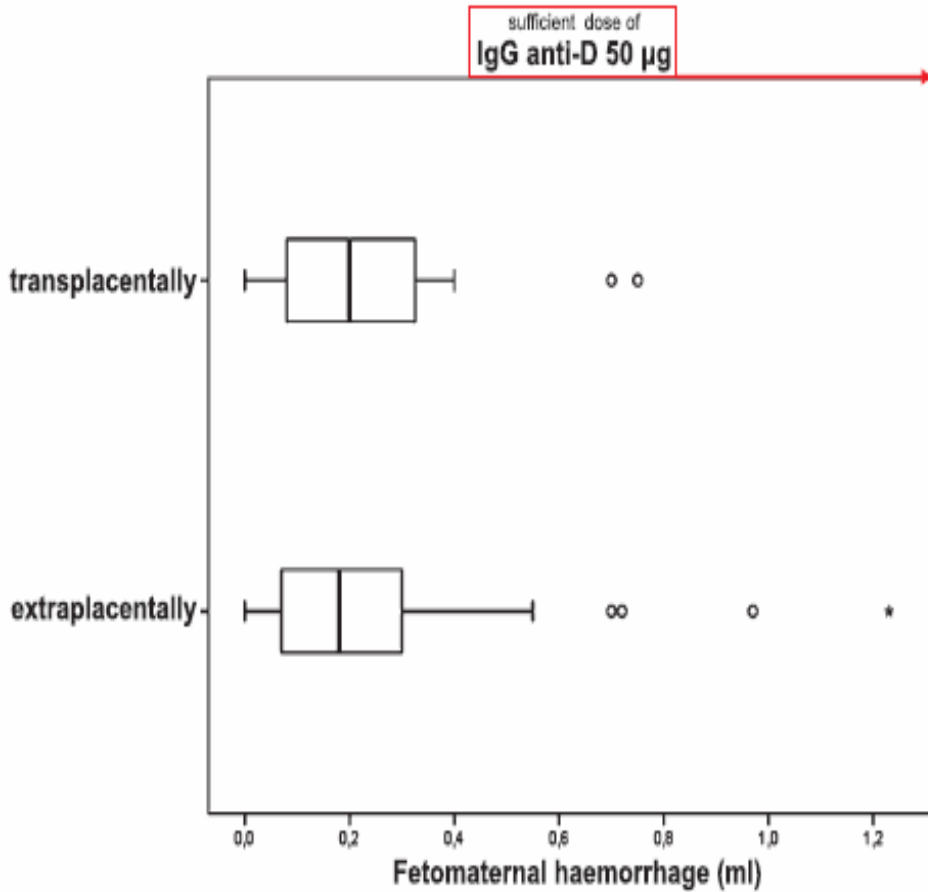


Graf 6 Objem fetomaternální hemoragie při transplacentárním odběru plodové vody.

Cíl č. 3 byl splněn.

9.3 Interpretace dat k cíli č. 4

- Optimalizovat doporučení k provádění prevence RhD aloimunizace.



	Total n	Fetomaternal haemorrhage		
		≤ 0.4 ml n	> 0.4 ml n (%)	> 2.5 ml n (%)
amniocentesis	151	137	14 (9.3)	0
extraplacentally	120	108	12 (11.3)	0
transplacentally	31	29	2 (6.9)	0

transplacental needle penetration

FMH (ml)	n (%)	Control group n (%)	Odds Ratio	95% Confidence Interval		P value
				Lower	Upper	
> 0.4	2/31 (6.9)	12/120 (11.3)	0.62	0.13	2.93	0.7
> 2.5	0					

Graf 7 Distribuce objemu FMH.

Tab. 7 – Distribuce objemu FMH.

Tab. 8 – Výskyt FMH > 0,4 ml při extraplacentárním a transplacentárním odběru PV.

Graf č. 7 a tabulka č. 7

Distribuce objemu fetomaternální hemoragie (FMH) zjištěné po odběru plodové vody v kontrolní (extraplacentární průnik jehly při výkonu) a rizikové skupině (transplacentární průnik jehly při výkonu). Při FMH $\leq 2,5$ ml je postačující dávka IgG anti-D 50 μg (tlustá červená čára). Všechny zkoumané vzorky se nachází před touto hranicí.

Tabulka č. 8

Výskyt fetomaternální hemoragie $> 0,4$ ml při extraplacentárním a transplacentárním odběru plodové vody. Rizikovou skupinu tvoří těhotné ženy, u kterých bylo nutné při amniocentéze proniknout jehlou transplacentárně. Kontrolní skupinu tvoří ženy, u kterých byl odběr plodové vody proveden extraplacentárně. Fetomaternální hemoragie, která byla $> 0,4$ ml byla přítomna u 2 (6,9%) žen z rizikové skupiny a u 12 (11,3%) žen z kontrolní skupiny. Porovnání kontrolní a rizikové skupiny ve výskytu FMH $> 0,4$ ml bylo provedeno Fisherovým přesným testem a bylo spočítáno odds ratio, které uvádí kolikrát je větší pravděpodobnost výskytu FMH $> 0,4$ ml v rizikové skupině oproti skupině kontrolní. Jelikož je „odds ratio“ menší než 1, můžeme konstatovat, že průnik jehly placentární tkání během odběru plodové vody působí naopak „protektivně“. Hodnota $p = 0,7$ však znamená, že výsledek není statisticky významný. Může to být způsobeno nízkým počtem provedených vyšetření.

Z výsledků výzkumu vyplývá, že během amniocentézy nedochází k fetomaternální hemoragii větší než 5 ml plné krve. Tudíž pro prevenci RhD aloimunizace u RhD negativních žen představuje postačující dávku IgG anti-D 50 μg .

Cíl č. 4 byl splněn.

10 Diskuze

Mateřské aloprotilátky anti-D mohou způsobovat vážnou formu hemolytického onemocnění plodu i novorozence. RhD antigen je velmi silný, tudíž tvorbu protilátek způsobí již parenterální podání 0,1 ml RhD pozitivních erytrocytů RhD negativním jedincům. Nejčastější příčinu RhD aloimunizace představuje krvácení, při kterém pronikají fetální erytrocyty do mateřského krevního oběhu. Všem případům RhD aloimunizace však lze teoreticky předcházet preventivním podáním anti-D imunoglobulinu v potřebné dávce a to při každé potencionálně senzibilizující události.

IgG anti-D v dávce 10 µg aplikované nitrosvalově by mělo pokrýt 0,5 ml fetálních RhD pozitivních erytrocytů nebo 1 ml plné krve. Z toho vyplývá, že 125 µg IgG anti-D by mělo zabránit aloimunizaci při fetomaternální hemoragii 12,5 ml plné krve.

V učebnicích a odborné literatuře, která se zabývá problematikou prevence RhD aloimunizace matky, které byly vydané v České republice po roce 1990 (Hájek, 1999; Mrázek, 2004; Ventruha, 2001; Žižka, 2004) je citován následující metodický návod Ministerstva zdravotnictví a sociálních věcí ČR č.j. LP/2-252-5.4.89: OCHRANA PROTI Rho (D) ALOIMUNIZACI.

- Po amniocentéze ve 2. a 3. trimestru, proniká-li jehla placentární tkáně, se u žen Rho (D) negativních podává 250 µg IgG anti-D nitrosvalově.

V roce 2010 bylo schváleno následující doporučení k provádění prevence RhD aloimunizace u RhD negativních žen:

- Indikací v I. trimestru pro aplikaci 50 µg IgG anti-D jsou umělé ukončení těhotenství, samovolný potrat s instrumentální revizí dutiny děložní, operace mimoděložního těhotenství, biopsie choria z genetické indikace a evakuace molární gravidity.
- Indikací ve II. a III. Trimestru pro aplikaci 100 µg IgG anti-D jsou amniocentéza, kordocentéza, jiné invazivní výkony prenatalní diagnostiky a fetální terapie, indukovaný abort, intrauterinní úmrtí plodu, pokus o zevní obrat konce pánevního, břišní poranění a porodnické krvácení.

- Antepartální profylaxe prováděná ve 28. týdnu těhotenství je v dávce 250 μg IgG anti-D.
- Po porodu RhD pozitivního plodu a pokud nejsou u matky přítomné aloprotilátky, se aplikuje 100 μg IgG anti-D.

Z toho vyplývá, že dříve aplikovaná dávka IgG anti-D byla mnohem větší než bylo ve skutečnosti potřeba.

Ve své práci jsem se zaměřila na následující cíle:

- Zjistit výskyt fetomaternální hemoragie při amniocentéze.
- Určit objem fetálních erytrocytů, které pronikly do krve matky.
- Určit rizikové stavy, které vedou k excesivní fetomaternální hemoragii.
- Optimalizovat doporučení k provádění prevence RhD aloimunizace.

Do výzkumu bylo zařazeno 151 žen ve druhém trimestru těhotenství, u kterých byla provedena amniocentéza. Těhotné ženy byly ve věku 20 – 44 let (medián 34). Nejpočetnější skupinu tvořily ženy ve věku 32 – 37 let, kterých bylo 71 (47,02%). Další početnou skupinu tvořily ženy ve věku 26 – 31 let, kterých bylo 44 (29,14%). Žen ve věku 38 – 44 let bylo 25 (16,56%). A poslední věkovou skupinu tvořily ženy ve věku 20 – 25 let, kterých bylo 11 (7,29%).

Důležitým faktorem bylo i gestační stáří plodu v době vyšetření. V 15. – 17. týdnu gestace bylo během vyšetření 100 (66,23%) žen. V 18. – 20. týdnu gestace se nacházelo 42 (27,81%) žen. Druhou nejméně početnou skupinu tvořily ženy ve 21. – 23. týdnu těhotenství, kterých bylo 5 (3,31%). Nejméně početnou skupinou byly ženy, u kterých bylo gestační stáří plodu < 15. týden gestace. Tyto ženy byly 4 (2,65%).

Fetomaternální hemoragie $\leq 2,5$ ml (5ml plné krve) byla přítomna u 100 % případů při amniocentéze ($n = 151$, 90. percentil = 0,4 ml). Fetomaternální hemoragie $\leq 0,4$ ml byla přítomna u 137 (90,73%) vzorků. Fetomaternální hemoragie < 0,4 ml byla přítomna u 14 (9,27%) vzorků. U žádné těhotné ženy nedošlo během odběru plodové vody k fetomaternálnímu krvácení většímu než 2,5 ml.

Rizikovou skupinu, u které by mohlo dojít k excesivní fetomaternální hemoragii zde představovaly ženy, u kterých došlo během amniocentézy k průniku jehly placentární tkáně. Z celkových 151 (100%) amniocentéz, bylo extraplacentárně provedených 120 (79,47%) a transplacentárně provedených 31 (20,53%).

Při extraplacentárním odběru plodové vody byla fetomaternální hemoragie $\leq 0,4$ ml u 108 (90%) případů, fetomaternální hemoragie $< 0,4$ ml byla přítomna ve 12 (10%) případech.

U amniocentéz, při kterých došlo k průniku jehly placentou, byla fetomaternální hemoragie $\leq 0,4$ ml přítomná u 29 (13,55%) žen. Fetomaternální hemoragie $< 0,4$ ml se vyskytla u 2 (6,45%) případů. Z toho vyplývá, že průnik jehly placentou nepředstavuje rizikový faktor pro excesivní fetomaternální hemoragii.

Z výsledků výzkumu vyplývá, že během amniocentézy nedochází k fetomaternální hemoragii, která by byla větší než 5 ml plné krve. Tudíž pro prevenci RhD aloimunizace u RhD negativních žen představuje postačující dávku IgG anti-D 50 μ g.

ZÁVĚR

Bakalářskou práci jsem věnovala problematice fetomaternální hemoragie. V teoretické části jsem se věnovala systému Rh, fetomaternální hemoragii a možnosti jejího stanovení, amniocentéze a jejím komplikacím. Dále jsem se zaměřila na erytrocytární aloimunizaci těhotných žen, novorozeneckou žloutenku a novorozeneckou anémii.

Praktická část je zaměřena na incidenci a objem fetomaternální hemoragie po amniocentéze. Zjišťovala jsem také jaký má vliv průnik jehly placentární tkáně během odběru plodové vody na objem fetomaternální hemoragie. Výzkum probíhal ve Fakultní nemocnici Ostrava a ve Fakultní nemocnici Olomouc.

Ve své bakalářské práci jsem stanovila čtyři cíle. Prvním cílem bylo zjistit výskyt fetomaternální hemoragie při amniocentéze. Během výzkumu bylo provedeno celkem 151 vyšetření a fetomaternální hemoragie $\leq 2,5$ ml (5 ml plné krve), byla přítomna u 100 % případů.

Jako další cíl jsem si stanovila určit objem fetálních erytrocytů, které pronikly do krve matky. Fetomaternální hemoragie $\leq 0,4$ ml byla přítomna u 137 (90,73%) vzorků. Fetomaternální hemoragie $< 0,4$ ml byla přítomna u 14 (9,27%) vzorků. U žádné těhotné ženy nedošlo během odběru plodové vody k fetomaternálnímu krvácení většímu než 2,5 ml.

V dalším cíli jsem se zaměřila na určení rizikových stavů, které vedou k excesivní fetomaternální hemoragii. Rizikovou skupinu tvořily těhotné ženy, u kterých během amniocentézy pronikla jehla placentární tkáně. Tuto skupinu tvořilo 31 těhotných žen. U amniocentéz, při kterých došlo k průniku jehly placentou, byla fetomaternální hemoragie $\leq 0,4$ ml přítomná u 29 (13,55%) těhotných žen. Fetomaternální hemoragie $< 0,4$ ml se vyskytla ve 2 (6,45%) případech. Z toho vyplývá, že průnik jehly placentární tkáně nepředstavuje rizikový faktor pro excesivní fetomaternální hemoragii.

Jako poslední cíl jsem si stanovila optimalizovat doporučení k provádění prevence RhD aloimunizace. IgG anti-D v dávce 10 μ g podané nitrosvalově by mělo pokrýt 0,5 ml fetálních RhD pozitivních erytrocytů nebo 1 ml plné krve.

Z výsledků výzkumu vyplývá, že během amniocentézy nedochází k fetomaternální hemoragii, která by byla větší než 5 ml plné krve. Tudíž pro prevenci RhD aloimunizace u RhD negativních žen představuje postačující dávku IgG anti-D 50 µg.

Výše jmenované cíle se mi podařilo splnit.

LITERATURA A PRAMENY

Bibliografické zdroje

1. GANONG, William F. *Přehled lékařské fyziologie*. 20. Praha : Galén, 2005. 890 s. ISBN 80-7262-311-7.
2. HÁJEK, Zdeněk, et al. *Rizikové a patologické těhotenství*. 1. Praha : Grada Publishing, 2004. 444 s. ISBN 80-247-0418-8.
3. PAŘÍZEK, et. al. *Kritické stavy v porodnictví, kapitola Fetomaternální hemoragie*, autoři M. Lubušský, M. Procházka (kniha je v tisku).
4. PAŘÍZEK, et. al. *Kritické stavy v porodnictví, kapitola Erytrocytární aloimunizace těhotných žen*, autoři M. Lubušský, M. Procházka (kniha je v tisku).
5. PAŘÍZEK, et. al. *Kritické stavy v porodnictví, kapitola Hemolytická nemoc plodu a novorozence*, autoři M. Lubušský, M. Procházka (kniha je v tisku).
6. ZWINGER, Antonín, et al. *Porodnictví*. 1. Praha : Galén, 2004. 532 s. ISBN 80-7262-257-9.

Internetové zdroje

7. LUBUŠKÝ, Marek, et al. *Doporučení k provádění prevence RhD aloimunizace u RhD negativních žen*. Čes. Gynek. [online]. 2010, 75 (4), [cit. 2011-03-12]. Dostupný z WWW: <<http://www.lubusky.com/archiv-clanku.asp>>.
8. LUBUŠKÝ, Marek. *Evidence Based Medicine a přehled doporučených postupů*. Postgraduální medicína [online]. 2010, 12 (2), [cit. 2011-03-11]. Dostupný z WWW: <<http://www.lubusky.com/archiv-clanku.asp>>.

9. LUBUŠKÝ, Marek, et al. Doc. MUDr. Marek Lubusky Ph.D. [online]. 2006 [cit. 2011-04-08]. Prevence Rh (D) aloimunizace u Rh (D) negativních žen. Dostupné z WWW: <<http://www.lubusky.com/postery.asp>>.

10. STUDNÍČKOVÁ, Martina, et al. *Možnosti stanovení fetomaternální hemoragie*. Čes. Gynek. [online]. 2010, 75 (4), [cit. 2011-03-11]. Dostupný z WWW: <<http://www.lubusky.com/archiv-clanku.asp>>.

SEZNAM TABULEK

<i>Tab. 1 - Věkové zastoupení.....</i>	<i>30</i>
<i>Tab. 2 – Gestační stáří v době odběru plodové vody</i>	<i>31</i>
<i>Tab. 3 – Objem fetomaternální hemoragie při amniocentéze.</i>	<i>33</i>
<i>Tab. 4 – Průnik jehly placentou při výkonu.....</i>	<i>34</i>
<i>Tab. 5 – Objem fetomaternální hemoragie při extraplacentárním odběru plodové vody.....</i>	<i>35</i>
<i>Tab. 6 – Objem fetomaternální hemoragie při transplacentárním odběru plodové vody.</i>	<i>36</i>
<i>Tab. 7 – Distribuce objemu FMH.....</i>	<i>37</i>
<i>Tab. 8 – Výskyt FMH > 0,4 ml při extraplacentárním a transplacentárním odběru PV.</i>	<i>37</i>

SEZNAM GRAFŮ

<i>Graf 1 Věkové zastoupení.....</i>	<i>30</i>
<i>Graf 2 Gestační stáří v době odběru plodové vody.....</i>	<i>31</i>
<i>Graf 4 Průnik jehly placentou při výkonu</i>	<i>34</i>
<i>Graf 5 Objem fetomaternální hemoragie při extraplacentárním odběru plodové vody.....</i>	<i>35</i>
<i>Graf 6 Objem fetomaternální hemoragie při transplacentárním odběru plodové vody.....</i>	<i>36</i>

SEZNAM ZKRATEK

č.	číslo
FMH	fetomaternální hemoragie
IgG anti-D	anti-D imunoglobulin
MCA-PSV	průtoková rychlost v arteria cerebri media
PV	plodová voda
str.	strana
Tab.	tabulka

SEZNAM POŘÍLOH

<i>1 Informovaný souhlas</i>	<i>50</i>
------------------------------------	-----------

1 Informovaný souhlas

Vážená paní,

obracíme se na Vás v souvislosti s projektem, jehož cílem je zjistit zda a v jakém množství mohou při odběru plodové vody pronikat červené krvinky plodu do krve matky.

V případech, kdy je krevní skupina těhotné ženy RhD negativní a při odběru plodové vody proniknou do její krve RhD pozitivní krvinky plodu, musí být těhotné ženě podán preparát IgG anti-D v potřebné dávce dle množství proniklých krvinek. Není-li podána matce dostatečná dávka IgG anti-D tak si vytvoří její organismus protilátky, které mohou v dalším těhotenství poškodit RhD pozitivní plod. Znalost množství pronikajících červených krvinek umožní přesně stanovit potřebnou dávku IgG anti-D, která by měla být RhD negativním těhotným ženám po odběru plodové vody podávána.

Pokud souhlasíte, aby Vám byl po odběru plodové vody proveden odběr krve ze žíly a vyšetřeno zda a jaké množství červených krvinek proniklo do vaší krve, prosíme o potvrzení vašeho souhlasu podpisem přiloženého letáku.

Prohlášení o dobrovolnosti a ochraně osobních údajů:

Všechny údaje, které nám poskytnete, považujeme za důvěrné. Budou zpracovány tak, aby nebylo možné jejich zneužití a výsledky z nich získané budou prezentovány vždy v souhrnu bez možnosti Vaší identifikace.

Doc. MUDr. Marek Ľubušký, Ph.D.

Porodnicko-gynekologická klinika FN Olomouc

MUDr. Ondřej Šimetka

Porodnicko-gynekologická klinika FN Ostrava

Já (jméno a příjmení, rodné číslo).....

souhlasím, aby mi byl po odběru plodové vody proveden odběr krve ze žíly a vyšetřeno zda a jaké množství červených krvinek proniklo do mojí krve.

Mé osobní údaje nebudou zveřejňovány.