

PREVENZIONE, DIAGNOSI E TRATTAMENTO DELLA ALLOIMMUNIZZAZIONE RH IN GRAVIDANZA

Giuliana Simonazzi, Lorena Brondelli, Gianluigi Pilu

Clinica Ginecologica e Ostetrica Università degli Studi di Bologna

Indirizzo per corrispondenza: Dott.ssa Giuliana Simonazzi

U.O. Medicina dell'Età Prenatale

Via Massarenti 13 - 40138 Bologna

tel: +39 051 6364384; fax: +39 051 6364393; e-mail: giulianasimo@yahoo.it

ABSTRACT

Before the introduction of anti-D immune globulin, hemolytic disease of the fetus and newborn affected 9-10% of pregnancies and was a major cause of perinatal morbidity and mortality. Among rh D-alloimmunized pregnancies, mild to moderate hemolytic anemia and hyperbilirubinemia occur in 25-30% of fetuses/neonates, and hydrops fetalis occurs in another 25% of such cases. The administration of anti-D immune globulin is successful in reducing the rate of developing antibodies to the D antigen. Protocols for the antenatal and postpartum administration of anti-D immune globulin have been responsible for the dramatic decrease in alloimmunization and subsequent hemolytic disease in the past two decades. However, Rh D alloimmunization remains a clinical concern, with many cases due to failure to follow established protocols. Measurements of the peak velocity of blood flow in the middle cerebral artery in fetuses at risk for anemia due to maternal red-cell alloimmunization provide an accurate and noninvasive means of determining the degree of anemia. More than 70% of invasive testing can be avoided using this modality to monitor alloimmunized pregnancies. Intrauterine intravascular transfusion is extremely effective in treating fetal red blood cell alloimmunization. Fetal intravascular transfusions allow survival of more than 90% of fetuses with severe hemolytic disease due to red blood cell alloimmunization.

Key words: *Rh alloimmunization ; Anti-D immune globulin; intrauterine transfusion ; hydrops fetalis; middle cerebral artery*

RIASSUNTO

Prima dell'introduzione delle immunoglobuline anti-D, la malattia emolitica fetoneonatale complicava il 10% delle gravidanze, rappresentando la principale causa di morbilità e mortalità perinatali. Il 25-30% dei feti/neonati con alloimmunizzazione anti-D sviluppa un'anemia lieve-moderata, associata ad iperbilirubinemia, mentre in un altro 25% dei casi si manifesta un quadro di idrope franca. La somministrazione prenatale e post partum delle immunoglobuline ha portato ad una drastica riduzione dei casi di alloimmunizzazione e di malattia emolitica nelle ultime due decadi. Tuttavia, l'alloimmunizzazione anti-D resta un problema clinico rilevante, a causa del possibile fallimento dei protocolli per la sua prevenzione. La trasfusione intrauterina è il più classico esempio di terapia prenatale diretta al feto e rappresenta ancora oggi l'unica possibilità di trattamento nei casi di grave anemia fetale. La selezione dei casi da sottoporre a trasfusione intrauterina rappresenta l'aspetto cruciale della gestione delle gravidanze complicate da allo-immunizzazione materno fetale. La recente introduzione nella pratica clinica del Doppler della arteria cerebrale media fetale ha consentito di ridurre di oltre il 70% il numero delle procedure invasive eseguite. La sopravvivenza nei feti trasfusi in utero è superiore al 90%.

Parole chiave: *alloimmunizzazione Rh; Immunoglobuline anti-D; trasfusione intrauterina; idrope fetale; arteria cerebrale media*

Prima dell'introduzione delle immunoglobuline anti-D, la malattia emolitica fetoneonatale complicava il 10% delle gravidanze, rappresentando la principale causa di morbilità e mortalità perinatali. Il 25-30% dei feti/neonati con alloimmunizzazione anti-D sviluppa un'anemia lieve-moderata, associata ad iperbilirubinemia, mentre in un altro 25% dei casi si manifesta un quadro di idrope franca (1). La somministrazione prenatale e post partum delle immunoglobuline ha portato ad una drastica riduzione dei casi di alloimmunizzazione e di malattia emolitica nelle ultime due decadi. Tuttavia, l'alloimmunizzazione anti-D resta un problema clinico rilevante, a causa del possibile fallimento dei protocolli per la sua prevenzione. Il 17% delle donne Rh negative a cui

non vengono somministrate immunoglobuline anti-D, in gravidanza o dopo il parto, svilupperà una alloimmunizzazione, conseguente nel 90% dei casi ad una emorragia al momento del parto e nel restante 10% ad un'emorragia in epoca prenatale, soprattutto nel 3° trimestre. Gli aborti terapeutici e spontanei comportano un rischio di alloimmunizzazione rispettivamente del 4-5% e 1.5-2%; anche le gravidanze ectopiche e, più raramente, gli aborti interni, possono causare una alloimmunizzazione. Per quanto riguarda le procedure invasive di diagnosi prenatale, il rischio che si verifichi una emorragia fetomaterna è del 15% in caso di prelievo dei villi coriali e lievemente più basso (7-10%) in caso di amniocentesi, anche qualora non venga attraversata la placenta. La versione cefalica per

manovre esterne, qualunque sia il suo esito, produce una emorragia fetomaterna nel 2-6% dei casi (1).

La somministrazione di immunoglobuline anti D alle donne Rh D negative entro 72 ore dal parto è in grado di ridurre del 90% la probabilità di alloimmunizzazione in prossimità del parto, mentre l'immunoprofilassi a 28-29 settimane di gravidanza riduce la percentuale di alloimmunizzazioni dovute ad emorragie nel terzo trimestre dal 2% allo 0.1%. La somministrazione di immunoglobuline anti D è poi raccomandata in tutti i casi in cui vengano eseguite procedure invasive che comportino un rischio di emorragie fetomaternali (amniocentesi, prelievo dei villi coriali, ecc.). Il rischio di trasmissione di infezioni virali (HIV, epatite B e C) attraverso le immunoglobuline anti-D è pressoché inesistente (1-3).

Nonostante le raccomandazioni sulla immunoprofilassi, lo 0.1-0.2% delle donne Rh D negative continua ad immunizzarsi. La causa principale di tale fenomeno è da ricercarsi nella mancata somministrazione di immunoglobuline a 28-29 settimane di gravidanza, dopo il parto, dopo una procedura invasiva di diagnosi prenatale o dopo un evento (una emorragia, ad esempio) che esponga la paziente al rischio di immunizzazione. Esiste, inoltre, una piccola quota (0.1-0.2%) di immunizzazioni che si verificano nonostante la corretta applicazione dei protocolli di prevenzione, senza che si possa risalire ad una causa; la rilevanza di questi casi è destinata ad aumentare parallelamente al calo di alloimmunizzazioni da altre cause a cui si sta assistendo.

Un aspetto sul quale si inizia a riflettere riguarda la disponibilità a lungo termine di immunoglobuline anti-D (che si ricavano da donatori di sangue con alti titoli circolanti di anticorpi anti-D) a fronte del crescente numero di indicazioni nelle quali trovano impiego a scopo profilattico. Un gruppo di esperti, nel Regno Unito, ha stimato che le riserve di immunoglobuline anti-D non saranno sufficienti per praticare una immunoprofilassi a tutte le donne Rh D negative, sia primigravide che pluripare, sulla base delle raccomandazioni attuali. Non vi sono dati pubblicati a questo proposito; tuttavia, è probabile che alla lunga si renderà necessario ridurre le somministrazioni nel primo trimestre e diminuire i dosaggi di immunoglobuline anti-D per le profilassi eseguite in epoca prenatale (1, 3).

Di recente è diventato possibile determinare con elevato livello di accuratezza il gruppo e il fattore Rh fetale in modo non invasivo, tramite la analisi del DNA fetale nel circolo materno (4). La tecnica si sta diffondendo in molti paesi europei. Il vantaggio è rappresentato dalla possibilità di limitare la immunoprofilassi e i controlli esclusivamente alle gravidanze nelle quali il feto è Rh positivo.

La condizione che determina l'anemia emolitica fetale in caso di alloimmunizzazione è la produzione materna di IgG dirette contro antigeni eritrocitari del feto, non posseduti dalla madre ed in particolare verso l'antigene D. Se la sua importanza è andata gradualmente riducendosi negli anni, in seguito alla diffusione della immunoprofilassi anti-D, sono divenute tuttavia sempre più importanti le immunizzazioni verso altri antigeni eritrocitari diversi dal D (C, E, c, e) e soprattutto verso l'antigene Kell. Gli anticorpi materni, in grado di attraversare la placenta, si legano agli eritrociti fetali e ne provocano la distruzione da parte dei macrofagi del sistema reticolo-endoteliale, a livello soprattutto di fegato e milza. L'emolisi determina da un lato l'anemia fetale, dall'altro una iperproduzione di prodotti del catabolismo emoglobinico, bilirubina in particolare, nel liquido amniotico e nel circolo fetale. Il feto cerca di compensare questa situazione attraverso un incremento della eritropoiesi, dapprima intramidollare e quindi extramidollare a livello epatico, splenico, renale. Quando l'emolisi supera la capacità di compenso inizia l'anemizzazione che determina una condizione di anossia cronica, dovuta alla ridotta capacità di trasporto dell'ossigeno da

parte del sangue. L'anossia, a sua volta provoca da un lato l'insufficienza cardiaca, dall'altro costituisce un ulteriore stimolo alla emopoiesi. Inoltre, l'alterazione della struttura epatica, conseguente all'attivazione del sistema reticolo endoteliale e alle zone di eritropoiesi extramidollare porta ad aumento della pressione portale ed una ridotta sintesi di proteine, con conseguente ipoprotidemia fetale. Il calo dell'emoglobina e della protidemia, associati all'ipertensione portale, costituiscono i principali fattori responsabili della manifestazione più evidente della malattia emolitica fet-neonatale grave: l'idrope fetoplacentare.

La trasfusione intrauterina è il più classico esempio di terapia prenatale diretta al feto e rappresenta ancora oggi l'unica possibilità di trattamento nei casi di grave anemia fetale insorta in un'epoca della gravidanza troppo precoce per consentire un espletamento del parto sicuro (2, 5, 6). La trasfusione in un vaso del funicolo ombelicale (la vena, preferibilmente) con la tecnica della funicolocenesi, consente da un lato di verificare il grado di anemia fetale, e quindi l'entità dell'apporto ematico necessario a correggerla, dall'altro di infondere il sangue direttamente nel circolo fetale, rendendolo in tal modo immediatamente disponibile per le esigenze fetali.

La selezione dei casi da sottoporre a trasfusione intrauterina rappresenta l'aspetto cruciale della gestione delle gravidanze complicate da alloimmunizzazione materno fetale, sia per i rischi connessi alla procedura sia perché la puntura dell'utero e degli annessi fetali può produrre emorragie fetomaternali in grado di aggravare l'evoluzione della stessa malattia emolitica.

Uno dei principali problemi è legato alla difficoltà di valutare in modo attendibile l'entità della anemizzazione e della compromissione fetale. Il titolo anticorpale rappresenta il primo step nella valutazione delle pazienti sensibilizzate; il suo valore dipende dalla metodica utilizzata per il dosaggio degli anticorpi e pertanto può variare in maniera significativa a seconda del laboratorio che esegue la titolazione; tuttavia, nella maggior parte dei centri viene considerato significativo un titolo anti-D compreso tra 1/16 e 1/32. L'ecografia riveste un ruolo chiave nella gestione delle gravidanze complicate da alloimmunizzazione. Sebbene l'idrope fetale sia facilmente diagnosticabile con l'ecografia, essa rappresenta l'ultimo stadio di una condizione di anemia fetale. La circonferenza addominale, il rapporto circonferenza cranica/circonferenza addominale, il diametro della vena ombelicale intra ed extra-epatica, lo spessore placentare, l'epatomegalia, valutata attraverso la lunghezza del lobo destro del fegato, il perimetro della milza sono alcuni dei parametri ecografici presi in esame dai diversi Autori nel tentativo di poter predire precocemente l'insorgenza di anemia nel feto; nessuno di questi si è tuttavia rivelato di reale utilità nella sorveglianza delle gravidanze con alloimmunizzazione. La recente introduzione nella pratica clinica del Doppler della arteria cerebrale media fetale ha rappresentato una vera e propria rivoluzione nella gestione di queste gravidanze, consentendo di ridurre di oltre il 70% il numero delle procedure invasive eseguite (7, 8). La misurazione della velocità di picco sistolico a livello della arteria cerebrale media, con un valore soglia pari a 1.5 multipli della mediana (MoM), si è dimostrato molto accurato nell'identificare i feti anemici. Il test viene ripetuto ogni 10-14 giorni fino alla 35a settimana, epoca oltre la quale il tasso di falsi positivi aumenta e rende preferibile la valutazione della bilirubina amniotica, qualora non sia indicata l'anticipazione del parto. L'amniocentesi per la determinazione della bilirubina amniotica, indicatore indiretto del grado di emolisi fetale, che per anni ha rappresentato la metodica di scelta per monitorizzare la malattia fetale, nella nostra realtà è stata soppiantata dal Doppler della arteria cerebrale media che presenta l'indiscusso vantaggio di non essere invasivo.

Nei feti anemici, le trasfusioni vengono eseguite mediante puntura

eco-guidata, con ago da 20-21 gauge, della vena ombelicale, a livello dell'inserzione placentare o di un'ansa libera del cordone ombelicale, e l'infusione di globuli rossi concentrati, con un ematocrito dell'80-90%. L'immobilizzazione fetale viene ottenuta mediante la somministrazione intravenosa di pancuronio. All'inizio di ogni trasfusione, si procede alla valutazione dell'emocromo e della conta piastrinica. Il volume di sangue trasfuso viene calcolato con applicando una formula che tiene conto dell'ematocrito del sangue utilizzato, del peso fetale e del grado di anemizzazione. È necessario evitare un sovraccarico volumetrico le cui conseguenze per il feto possono essere altrettanto gravi della stessa anemia. Le trasfusioni successive alla prima vengono programmate tenendo conto dei livelli di emoglobina ed ematocrito raggiunti alla fine della procedura e considerando un calo medio giornaliero di ematocrito dell'1%.

Le trasfusioni intrauterine sono di grande efficacia nel trattare l'alloimmunizzazione Rh materno-fetale. Le perdite fetali sono infrequenti, anche nelle forme più severe della malattia. Questo dato, riportato in letteratura, trova conferma nella nostra esperienza. Dal 1986 ad oggi sono state seguite, presso l'U.O. Medicina dell'Età Prenatale del Policlinico S.Orsola-Malpighi, circa 300 gravidanze complicate da alloimmunizzazione materno-fetale nei confronti di antigeni eritrocitari, rappresentati in circa i 2/3 dei casi dall'antigene D e nel restante 1/3 da altri antigeni (C, E, Kell, M, ecc.). In metà di questi casi è stato necessario ricorrere a trasfusioni intrauterine, al fine di correggere l'anemia fetale, per un totale di 600 trasfusioni in utero. Un terzo dei feti presentava idrope, al momento della prima trasfusione. Fino al 1999, la sopravvivenza nei feti trasfusi presso il nostro Centro era del 90%, in assenza di idrope, mentre risultava leggermente inferiore, intorno all'80%, nei feti idropici, al momento della prima trasfusione. I dati a partire dal 2000, mostrano un incremento della sopravvivenza che ha raggiunto il 100% nei feti non idropici, al momento della prima trasfusione, e l'85% in quelli con idrope.

Per quanto riguarda la provenienza delle pazienti da noi seguite, i dati relativi ai ultimi quattro anni, mostrano la prevalenza di Emilia Romagna (42%) e Veneto (30%); seguono, in ordine di frequenza, Toscana (7%), Marche (6%), Lazio (4%), Liguria (3%), Sardegna (3%), Calabria (2%), Piemonte (1%), Umbria (1%) e Abruzzo (1%). Numerosi studi hanno preso in considerazione lo sviluppo neurologico dei bambini trasfusi in utero e sopravvissuti, giungendo alla conclusione unanime che il rischio di danno cerebrale non è aumentato in questi feti. Tuttavia, il riscontro di forme estremamente severe, anche se transitorie, di anemia fetale solleva alcune preoccupazioni circa la possibilità che si verifichi un danno irreversibile a livello di qualche organo, il cervello in particolare. A questo proposito, la nostra esperienza, relativa a sette feti trasfusi in utero per allo-immunizzazione materno-fetale anti-D che presentavano al momento della prima trasfusione un quadro di idrope generalizzata, si discosta in parte da quella riportata in letteratura. Nonostante il successo della terapia trasfusionale, infatti, in quattro casi sono stati riscontrati reperti cerebrali anomali (due emorragie cerebellari, una leucomalacia periventricolare, una ventricolomegalia lieve monolaterale). Sulla base dei nostri dati, il valore di emoglobina critico per il rischio di danno cerebrale è 2 gr/dl, al momento della prima trasfusione. Il fatto che i nostri risultati si discostino da quelli di altri Autori trova probabilmente spiegazione nella particolare severità della malattia nei casi da noi presi in considerazione. Nei due studi più ampi e recenti, l'assetto ematologico dei feti idropici non era così estremo come nella nostra serie; infatti, la concentrazione iniziale media di emoglobina e l'ematocrito medio erano rispettivamente pari a 5.2 gr/dl (range 2.9-9.2 gr/dl) e 16.5% (\pm 5.8%). Sulla base della nostra esperienza, in presenza di concentrazioni di emoglobina fetale \leq 2 gr/dl è consigliabile uno studio dettagliato dell'anatomia intracranica fetale, mediante ecografia multiplanare ad alta risoluzione (neurosonografia) al fine di escludere la presenza di un danno cerebrale (9).

BIBLIOGRAFIA

1. Moise KJ. Red blood cell alloimmunization in pregnancy. *Semin Hematol* 2005;42(3):169-78
2. Moise KJ. Management of rhesus alloimmunization in pregnancy. *Obstet Gynecol* 2002;100(3):600-11
3. Fung Kee Fung K, Eason E, Crane J, et al. Prevention of Rh alloimmunization. *J Obstet Gynaecol Can* 2003;25(9):765-73
4. Bischoff FZ, Nguyen DD, Marquez-Do D, et al. Noninvasive determination of fetal RhD status using fetal DNA in maternal serum and PCR. *J Soc Gynecol Investig* 1999;6(2):64-9
5. Orsini LF, Pili G, Calderoni P, et al. Intravascular intrauterine transfusion for severe erythroblastosis fetalis using different techniques. *Fetal Ther* 1988;3(1-2):50-9
6. Farina A, Calderoni P, Simonazzi G, et al. Survival analysis of transfused fetuses affected by Rh-alloimmunization. *Prenat Diagn* 2000;20(11):881-5
7. Segata M, Mari G. Fetal anemia: new technologies. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2004;16(2):153-8
8. Mari G, Deter RL, Carpenter RL, et al. Noninvasive diagnosis by Doppler ultrasonography of fetal anemia due to maternal red-cell alloimmunization. Collaborative Group for Doppler Assessment of the Blood Velocity in Anemic Fetuses. *N Engl J Med* 2000;342(1):9-14
9. Ghi T, Brondelli L, Simonazzi G, et al. Sonographic demonstration of brain injury in fetuses with severe red blood cell alloimmunization undergoing intrauterine transfusions. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2004;23(5):428-31