

**Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa**

**Curso de Mestrado Integrado em Medicina**

**Departamento de Obstetrícia e Ginecologia**

**Director : Professor Luís Graça**

**Orientadora: Dr<sup>a</sup> Luisa Pinto**



# Isoimunização Rh

Trabalho de final de mestrado

**Aluna: Sara Filipa Galhardo Rosa**

**Ano lectivo: 2014/2015**

## **PÁGINA DE ROSTO**

- Sara Filipa Galhardo Rosa
- Título
- Tese apresentada na Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa para a obtenção do grau de mestre
- Dra. Luisa Pinto
- Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa
- Departamento de obstetrícia e ginecologia
- Lisboa
- 2015

## **EPÍGRAFE**

*The only limitations you will ever have are the ones you put on yourself.*

- Kristinna Habashy

## **AGRADECIMENTOS**

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer à Dra. Luisa Pinto, a minha orientadora, por toda a disponibilidade que me dedicou ao longo da elaboração deste trabalho, por todas as sugestões, correcções e todo o apoio que me deu.

Gostaria também de agradecer às minhas amigas e colegas de curso Joana Martins, Inês Sampaio e Vilma Grilo, pela paciência na revisão do texto, pelas sugestões nas frases gramaticalmente menos correctas e pela ajuda na redução de palavras.

Por fim, gostaria de agradecer à minha família, por todo o apoio que me deram ao longo da realização da tese.

## **RESUMO**

A isoimunização Rh(D) é uma condição caracterizada pelo desenvolvimento de anticorpos maternos do grupo das IgG contra o antígeno D dos eritrócitos fetais. Estes atravessam a placenta, revestindo os eritrócitos, os quais vão sofrer hemólise no baço fetal, patologia designada doença hemolítica do feto e recém-nascido. Se a hemólise for grave, pode desencadear uma anemia significativa e eventual hidrósia fetal. Sem intervenção, esta patologia é uma causa importante de mortalidade e morbidade perinatal, assim como de incapacidade a longo prazo. A administração de 300 µg de imunoglobulina anti-D às 28 semanas de gestação e até 72 horas após o parto diminui drasticamente a incidência da isoimunização, pelo que constitui uma medida de prevenção eficaz.

No entanto, apesar da sua ampla divulgação, existe ainda uma pequena percentagem de mulheres que ficam isoimunizadas, sendo importante, nesses casos, vigiar a gravidez num centro terciário para avaliar correctamente a gravidade da anemia fetal e propor ou efectuar terapêutica para a mesma.

**PALAVRAS-CHAVE:** gravidez, isoimunização Rh(D), anticorpos, antígeno D, anemia, imunoglobulina anti-D

## **ABSTRACT**

Isoimmunization Rh(D) is characterized by the production of maternal IgG antibodies against the D antigen expressed in fetal erythrocytes. These antibodies cross the placenta, coating fetal erythrocytes, which leads to hemolytic disease of the fetus and newborn, causing erythrocytes' destruction in the fetal spleen. Severe hemolysis can trigger a significant anemia and possible fetal hydrops. Without intervention, this disease is a major cause of perinatal mortality and morbidity, as well as long-term disability. The administration of 300 µg of anti-D immunoglobulin at 28 weeks of pregnancy and up to 72 hours after delivery decreases the incidence of isoimmunization, being an effective prevention.

However, despite its wide availability, maternal Rh alloimmunization still occurs. It is important in such cases to monitor the pregnancy in a tertiary center in order to correctly assess the severity of fetal anemia, and propose or perform the appropriate treatment.

**KEY WORDS:** pregnancy, isoimmunization Rh(D), antibodies, D antigen, anemia, anti-D immunoglobulin

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

ACM – artéria cerebral média

Ag D- antígeno D

BVC – biópsia de vilosidades coriônicas

HDFN – doença hemolítica do feto e recém-nascido

Ig - imunoglobulina

VMPS – velocidade máxima do pico sistólico

RBC – eritrócito

Rh- Rhesus

# ÍNDICE

INTRODUÇÃO .....	8
CONCEITOS GERAIS .....	9
ISOIMUNIZAÇÃO RHESUS.....	11
PATOGÊNESE .....	12
DIAGNÓSTICO .....	15
GRAVIDEZ COMPLICADA POR ISOIMUNIZAÇÃO.....	16
AVALIAÇÃO DA GRAVIDADE DA ANEMIA FETAL .....	17
PROFILAXIA .....	20
CONCLUSÃO .....	23
BIBLIOGRAFIA .....	24
APÊNDICE .....	26

## INTRODUÇÃO

A isoimunização é uma condição caracterizada pelo desenvolvimento de anticorpos maternos em resposta a antígenos de proteínas eritrocitárias paternas herdadas pelo feto.

Existem vários tipos de isoimunização. A mais frequente e cujo antígeno apresenta maior imunogenicidade é a isoimunização Rhesus D (RhD). Esta apresenta como principal complicação a anemia fetal grave, que pode culminar numa hidrúpsia fetal, podendo ser fatal para o feto. [9]

Antes da introdução da Imunoglobulina (Ig) anti-D nos anos 70, a taxa de isoimunização Rhesus D em grávidas de risco rondava os 16% e a doença hemolítica do feto e recém-nascido era uma causa importante de mortalidade e morbidade perinatal, assim como de incapacidade de longo termo. Graças à utilização da imunoglobulina anti-D na prática clínica, casos graves de isoimunização RhD são raros actualmente, verificando-se uma diminuição significativa da incidência da doença hemolítica fetal. [8,18]

Apesar da ampla divulgação da imunoglobulina anti-D na prevenção da isoimunização, existe ainda uma pequena percentagem de mulheres que ficam isoimunizadas, principalmente em países mais desfavorecidos onde a profilaxia não se encontra disponível, e cujos fetos acabam por desenvolver doença hemolítica fetal. [13]

Actualmente, as principais razões para o desenvolvimento de isoimunização são a falha na administração correcta de imunoglobulina anti-D após eventos de risco e a isoimunização durante a gravidez resultante de hemorragias feto-placentárias «silenciosas». [11] A isoimunização também pode ocorrer se a Ig anti-D não for administrada após o parto, após um aborto (geralmente espontâneo e não reconhecido), após transfusão sanguínea incompatível ou devido à exposição a RBCs (eritrócitos) D positivos *in utero* («grandmother effect»). [2,7]

Uma vez que a doença hemolítica fetal ainda ocorre nalguns casos, sendo pouco provável que desapareça por completo, continua a constituir um problema para as mulheres e fetos afectados. [8, 12]

Desta forma, neste trabalho vai ser abordada a patogénese desta condição, assim como as suas consequências e complicações, recorrendo aos dados mais recentes disponíveis.

## CONCEITOS GERAIS

Actualmente estão identificados mais de 400 antígenos eritrocitários. Alguns, como os do sistema ABO, são estruturas superficiais, enquanto outros (ex: Rh) são transportados em moléculas que se encontram dispersas pela membrana eritrocitária. Qualquer indivíduo que não possua um antígeno eritrocitário específico pode produzir anticorpos contra o mesmo, quando exposto a esse antígeno. [9]

Quando a grávida não possui um grupo sanguíneo fetal herdado pela linha paterna, a passagem de eritrócitos fetais em quantidade suficiente (hemorragias ante ou intra-parto), pode estimular uma reação imunológica materna. Esta reacção pode também ocorrer através de transfusões sanguíneas. A formação de anticorpos maternos neste contexto é designada isoimunização. Dependendo do grau de passagem transplacentar destes anticorpos para a circulação fetal, a resposta imunológica pode ser suficiente para causar a destruição dos eritrócitos fetais. Apesar de exposições precoces aos antígenos fetais poderem levar à produção de anticorpos numa mesma gravidez, a isoimunização surge mais frequentemente na gravidez subsequente. [4]

Contudo, a isoimunização é rara actualmente pelas seguintes razões: (1) baixa prevalência de antígenos eritrocitários; (2) passagem transplacentar insuficiente de antígenos fetais ou anticorpos maternos; (3) incompatibilidade materno-fetal do sistema ABO; (4) antigenicidade variável; e (5) resposta imunológica materna variável ao antígeno, com uma resposta mínima a certos antígenos. [9]

Segundo vários estudos é possível encontrar anticorpos anti-eritrocitários em cerca de 1% das gravidezes. A maior parte destes anticorpos (40-60%) estão dirigidos aos antígenos do sistema Rhesus, sendo o mais comum o anti-D, seguido dos anticorpos anti- E, anti-c e anti- C e de vários antígenos minor que podem desencadear sensibilização materna. A incidência de sensibilização causada por estes antígenos está aumentada em múltiparas e em mulheres com história prévia de transfusões sanguíneas. [9,21]

Existem vários anticorpos RBC minor que tal como os anticorpos anti-D podem causar doença hemolítica fetal. Os mais comuns pertencem ao sistema Kell, sendo o principal antígeno o K. [3] Cerca de 90% dos caucasianos são Kell negativos, pelo que 90% dos casos de sensibilização anti-Kell se deve a incompatibilidade materno-fetal ou resulta de transfusões com sangue Kell positivo. Estes anticorpos são responsáveis por

aproximadamente 10% dos casos de anemia grave mediada por anticorpos em fetos e recém-nascidos. Contrariamente ao que se verifica na sensibilização contra os antígenos D, os anticorpos anti-Kell além de provocarem hemólise, ligam-se a precursores eritrocitários directamente na medula óssea, impedindo uma resposta do sistema hematopoiético à anemia. Este processo pode causar uma anemia grave e de rápida instalação. [3,9] Por esta razão é sugerido por alguns autores que se recorra a investigação quando o título de anti-Kell materno for superior ou igual a 1:8, sendo ainda recomendada a utilização da cordocentese face à amniocentese. [9,21]

Outros antígenos minor que também podem causar HDFN (Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn) ligeira a grave são os antígenos Duffy Fy(a), os antígenos do sistema MNS (N, S, s e U) e os antígenos do sistema P. Existem muitos outros anticorpos RBC minor que têm o potencial de causar anemia fetal, mas esses anticorpos raramente estão presentes em mulheres grávidas e geralmente permanecem com títulos baixos ( $\leq 4$ ). [3]

Existe uma experiência limitada acerca da conduta a assumir em gestações complicadas por anticorpos RBC minor. O American College of Obstetricians and Gynecologists aconselha que o procedimento realizado em grávidas com anticorpos RBC minor seja o mesmo que para a isoimunização Rhesus, que se tem mostrado eficaz em vários estudos. [3]

Apesar da incompatibilidade para os antígenos sanguíneos major A e B ser a causa mais comum de doença hemolítica do recém-nascido, a anemia resultante é geralmente muito ligeira. Cerca de 20% das crianças tem uma incompatibilidade com sistema ABO materno, mas apenas 5% são afectados clinicamente, apresentando apenas anemia e icterícia, sendo esta última tratada com fototerapia. Isto acontece porque a maioria das espécies dos anticorpos anti-A e anti-B pertencem ao grupo das IgM, que não conseguem atravessar a placenta, pelo que não atingem eritrócitos fetais. Além disso, os eritrócitos fetais apresentam menos locais antigénicos A e B do que os eritrócitos adultos, sendo menos imunogénicos. Por estas razões, a incompatibilidade ABO é uma patologia mais do âmbito pediátrico do que do obstétrico. [9]

## ISOIMUNIZAÇÃO RHESUS

A isoimunização Rh é uma patologia imunológica que ocorre em grávidas Rh negativas cujo feto é Rh positivo. Se o pai da criança for D positivo, existe uma probabilidade de 50% de o feto ser D positivo (no caso de heterozigotia paterna) e de 100% no caso de o pai ser homozigótico para o gene D. Aos 30 dias de gestação, o antígeno D já integra a membrana dos eritrócitos. O sistema imunológico da mãe é estimulado a produzir anticorpos contra o antígeno Rh, que pertencem ao grupo das IgG e que atravessam a placenta (principalmente após as 20 semanas), destruindo os eritrócitos fetais. Estes anticorpos são detectados através do teste de Coombs indirecto (teste utilizado para detectar anticorpos anormais no sangue materno). [2,10,16,21]

Aproximadamente 10% das gestações em mulheres caucasianas são incompatíveis relativamente ao sistema Rh. No entanto, uma vez que o risco de isoimunização numa mulher D negativa susceptível é significativamente afectado por diversos factores, menos de 20% destas gestações conduzem a isoimunização materna. Esses factores incluem o volume da hemorragia feto-materna, o grau da resposta imunitária materna, a existência de incompatibilidade ABO concomitante e homozigotia ou heterozigotia fetal para o antígeno D. [1]

A nomenclatura obstétrica standard para designar o tipo sanguíneo de uma grávida não está tecnicamente correcta, uma vez que o sistema Rh consiste em vários outros antígenos (antígenos C, c, E, e, e G), sendo que cada um deles provoca uma resposta imunológica única. Desta forma, uma mulher “Rh negativa” (sem antígeno D) cujos eritrócitos contenham antígeno C pode desenvolver anticorpos anti-c como resultado de uma hemorragia transplacentar (se o seu feto for c positivo). Por se tratar de uma mulher Rh(D) negativa, pode ter realizado profilaxia com imunoglobulina anti-D numa gravidez prévia sem, no entanto, prevenir a isoimunização contra o antígeno c. Estes antígenos são herdados em padrões distintos que refletem a composição genética dos progenitores. Contudo, não existe um antígeno d, pelo que “d” geralmente indica o fenótipo D negativo. [4,16] Os antígenos C, c, E e e também podem causar HDFN grave, no entanto, apresentam menos imunogenicidade do que o antígeno D e uma menor incidência na patogénese da isoimunização (menos de 10% dos casos) [9,10] pelo não serão abordados nesta revisão.

A frequência dos antígenos Rhesus varia consoante as populações. Aproximadamente 15% dos caucasianos, 8% dos afro-americanos e 1 a 2% dos nativos americanos são Rh D negativos (ver Apêndice). Cerca de 40% dos indivíduos Rh positivos são homozigóticos no locus responsável pelo antígeno D (DD), sendo os restantes heterozigóticos (Dd). [16]

Nos caucasianos, a base molecular primária responsável pelo fenótipo Rh (D) negativo é a ausência do gene D (RHD). Noutros grupos étnicos cujo fenótipo é D negativo, o gene pode estar presente mas não ter sido traduzido ou expresso, podendo ainda ser fracamente expresso ou expresso de forma parcial. Existem diversas variantes do antígeno D, nomeadamente o fenótipo D parcial ou mosaico (variante qualitativa do antígeno D, com ou sem enfraquecimento do mesmo, em que existe a possibilidade de produção de anticorpos anti-D) e o fenótipo D fraco (previamente denominado Du, variante quantitativa do antígeno D, em que o portador geralmente não produz anti-D). Tal torna-se importante no contexto de uma gravidez em que a mulher é portadora de um destes fenótipos, que serologicamente podem surgir como D negativos ou positivos. Nesse caso, a grávida deveria ser considerada D negativa, pois dependendo da variante do fenótipo poderia haver produção de anticorpos anti-D, devendo ser realizada profilaxia com imunoglobulina anti-D, de modo a prevenir uma possível aloimunização. Apesar de uma grávida com o fenótipo D parcial poder produzir anti-D, raramente esta situação desencadeia repercussões clínicas para um feto D positivo. [2,16]

De relevar que grávidas com um fenótipo D fraco ou parcial devem ser consideradas D positivas para efeitos transfusionais, para assegurar que o receptor não corre o risco de produzir anticorpos anti-D. Tal significa que, dependendo do contexto, uma grávida pode ser considerada D positiva ou D negativa. [2,16]

## **PATOGÉNESE**

Eventos que contribuam para o contacto de eritrócitos D positivos com a circulação de um indivíduo D negativo são susceptíveis de causar isoimunização, tais como hemorragia feto-materna transplacentária, injeções com agulhas contaminadas por sangue D positivo, transfusões inadvertidas com sangue D positivo e transplante de células tronco hematopoiéticas Rh(D) incompatíveis. As hemorragias feto-maternas são,

na maioria dos casos, a principal causa de aloimunização materna e ocorrem em cerca de 75% das gravidezes. Pequenas quantidades de eritrócitos fetais (0,1 mL) ganham acesso à circulação materna em quase todas as gravidezes. A frequência e o volume das hemorragias feto-maternas espontâneas aumentam com o avançar da idade gestacional e atingem o seu pico no momento do parto. A hemorragia feto-materna também pode surgir associada a descolamento da placenta, aborto (espontâneo ou provocado), mola hidatiforme, gravidez ectópica, procedimentos invasivos *in utero*, morte fetal, trauma abdominal materno, hemorragia materna ante-parto e procedimentos obstétricos (versão cefálica externa, amniocentese, biópsia das vilosidades coriônicas, cordocentese e dequitação manual). [1,16]

Apesar de se considerar que o antigénio D suscita uma resposta imunológica forte, esta varia consideravelmente entre indivíduos. Demonstrou-se que cerca de 30% dos indivíduos D negativos não se tornam isoimunizados, mesmo quando expostos a grandes volumes de sangue D positivo. O grupo sanguíneo ABO também afecta o risco de isoimunização. Num feto compatível do ponto de vista do sistema ABO, o risco global de isoimunização, se não se administrar IgG anti-D, é de aproximadamente 16%. No entanto, num feto que seja incompatível relativamente ao sistema ABO, o risco é apenas 1,5-2 %. Acredita-se que este efeito protector conferido pela incompatibilidade ABO seja devido à destruição materna e subsequente depuração dos eritrócitos fetais incompatíveis antes que a sensibilização ocorra. Aproximadamente 17% das mulheres D negativas cujo feto é D positivo tornam-se isoimunizadas se a IgG anti-D não for administrada correctamente. [1,16]

A percentagem de indivíduos D negativos que desenvolve uma resposta imune a infusões de sangue D positivo depende, em parte, do volume de sangue. A produção de anticorpos desenvolve-se lentamente e normalmente não é detectável serologicamente até 5 a 15 semanas após a imunização. A ocorrência de uma resposta imunológica primária depende de vários factores para além do volume de sangue fetal a que a grávida foi exposta. Essas variáveis incluem a frequência de transfusão feto-materna e a compatibilidade relativa ao sistema ABO. Tanto a imunogenicidade dos eritrócitos fetais como a capacidade de resposta imunológica da grávida desempenham um papel na patogénese. [16]

Geralmente são necessárias duas exposições ao antigénio Rh para produzir uma sensibilização significativa, excepto se a primeira for muito extensa. A primeira exposição desencadeia uma sensibilização primária, enquanto a segunda leva a uma

resposta anamnésica, induzindo a rápida produção de imunoglobulinas. A resposta inicial consiste na produção de anticorpos IgM durante um curto período de tempo, seguida pela produção de anticorpos IgG que conseguem atravessar a placenta. Se o feto for Rh positivo, estes anticorpos vão opsonizar os eritrócitos, que vão sofrer hemólise no sistema reticuloendotelial e ser destruídos por vias mediadas pelo complemento. A hemólise leva à libertação de bilirrubina que, em conjunto com os produtos resultantes da sua degradação, é excretada pelo feto. Se a hemólise for ligeira, o feto pode compensar as perdas aumentando a eritropoiese. No entanto, se a hemólise for grave, pode levar a uma anemia significativa, com hematopoiese extramedular e depuração reticuloendotelial de eritrócitos fetais, que pode culminar em hidrópsia fetal (situação de descompensação fetal com edema generalizado e acumulação de líquido em duas ou mais cavidades serosas fetais, incluindo ainda edema dos tegumentos) por dois mecanismos distintos. Por um lado, a intensificação da eritropoiese hepática e esplênica pode resultar em hepatoesplenomegalia, diminuição da função hepática e consequente hipoproteinémia, ascite e anasarca. Por outro lado, a própria anemia pode desencadear uma insuficiência cardíaca congestiva de alto débito, contribuindo para o mecanismo fisiopatológico da hidrópsia. Sem intervenção, esta patologia resulta frequentemente em morte fetal intrauterina. Desta forma, são necessários cuidados neonatais intensivos, incluindo transfusão urgente. Mesmo sem surgimento de hidrópsia fetal, a anemia pode desencadear kernicterus, condição neurológica observada em lactentes com hiperbilirrubinémia grave que se deve à deposição de bilirrubina não-conjugada no parênquima cerebral. A ausência de depuração placentária e a capacidade fetal imatura de conjugar a bilirrubina podem levar ao aparecimento de sintomas vários dias após o parto e incluem dificuldades na alimentação, inatividade, perda do reflexo de Moro, abaulamento fontanelar e convulsões. [1,4,13]

A maior parte das imunizações ocorre durante o parto e os anticorpos surgem no período pós-parto ou após a exposição ao antígeno na gravidez seguinte. Se foi estabelecido um padrão de doença ligeira, moderada ou grave em duas ou mais gravidezes anteriores, a tendência é que se mantenha o mesmo grau de gravidade ou que se agrave progressivamente nas gestações seguintes. Se uma mulher tem história de hidrópsia fetal numa gravidez prévia, o risco de tal ocorrer numa gravidez subsequente é de aproximadamente 90%, desenvolvendo-se sensivelmente na mesma altura da gestação, embora possa surgir mais cedo. [10]

## DIAGNÓSTICO

Em primeiro lugar deve ser averiguado o grupo sanguíneo (sistemas ABO e Rh) e pedida a titulação de anticorpos (teste de Coombs indireto) na primeira consulta pré-natal a todas as grávidas. Grávidas D negativas com uma titulação de anticorpos negativa não são isoimunizadas, sendo candidatas para a profilaxia de IgG anti-D, se indicado pelo tipo Rh paterno. Se a paternidade estiver assegurada e o pai for D negativo, o feto será D negativo e não ocorrerá doença hemolítica, independentemente dos títulos de anticorpos maternos. No caso de o pai ser D positivo, teoricamente deveria ser determinado o seu genótipo Rh e tipo ABO, embora na prática clínica tal não se verifique. Se for homozigótico, o feto será D positivo. Não sendo possível testar o tipo Rh nem a zigotia do pai, deve-se assumir que o feto é D positivo. Por outro lado, grávidas D negativas com uma titulação de anticorpos positiva são consideradas isoimunizadas (assumindo que não realizou IgG anti-D), devendo proceder-se à identificação do antígeno(s), assim como à determinação de títulos de anticorpos para o mesmo. [1,10] Uma titulação positiva significa que o feto está em risco de desenvolver HDFN, não que esta já tenha ocorrido ou que se venha a desenvolver. [14]

O volume da hemorragia pode ser quantificado através do teste de Kleihauer – Betke. Volumes hemorrágicos suficientes para causar isoimunização ocorrem em 15-50% dos nascimentos. Este volume de sangue fetal que, em mais de 50% dos casos pode ser tão pequeno como 0,1 mL no momento do parto e em casos raros pode exceder 30 mL, faz variar o grau de resposta imunitária materna. [1,10]

Se a paternidade for incerta, como acontece em 3-5% das gravidezes, ou se o pai for heterozigótico para o alelo D, o próximo passo é determinar o antígeno D fetal. Isto pode ser conseguido por meio de ensaios de reacção em cadeia da polimerase (PCR) de elementos celulares fetais em vilosidades coriônicas ou fluido amniótico. No entanto, por se tratarem de procedimentos invasivos não se justifica a sua utilização apenas com este objectivo. Desta forma, se houver outra indicação para a realização de amniocentese ou biópsia de vilosidades coriônicas (BVC) deve proceder-se à avaliação do grupo sanguíneo fetal no líquido amniótico ou no produto de BVC, respectivamente. Além da amniocentese, foram descritos métodos não invasivos para determinar o antígeno D fetal utilizando ADN fetal livre, que pode ser isolado a partir de plasma materno, sendo este método utilizado actualmente na Europa. Embora seja promissor, a

sua sensibilidade não atinge os 100%, o que poderia fazer com que certos casos fossem negligenciados, não havendo administração de IgG anti-D atempada. [1,10]

## **GRAVIDEZ COMPLICADA POR ISOIMUNIZAÇÃO**

O teste de Coombs indirecto é utilizado para detectar a presença e o grau de isoimunização. Um título associado a risco aumentado para hidrópsia fetal é designado título crítico. Este varia consoante as instituições e as metodologias. No entanto, na maioria dos centros, considera-se que um título de anti-D entre 1:8 e 1:32 corresponde ao título crítico, sendo 1:16 um valor geralmente aceite como título crítico. Na primeira gravidez complicada por isoimunização, os títulos de anticorpos são determinados cada 2 a 4 semanas após as 20 semanas de gestação, desde que o título permaneça abaixo do título crítico. Se este for atingido ou excedido, é necessário proceder-se a uma avaliação mais aprofundada para verificar se se encontra presente uma anemia fetal grave, pelo que a determinação dos títulos maternos pode ser interrompida. A administração de imunoglobulina anti-D após a resposta imunitária primária ao antigénio D ter ocorrido, não impedirá um aumento no título de anticorpos. [4,10,14,21]

Em geral, as gestações subsequentes apresentam uma HDFN com maior gravidade devido à resposta anamnésica dos anticorpos maternos face à entrada de células fetais na circulação materna durante o parto. Desta forma, se a grávida teve uma gravidez prévia que foi afectada de forma significativa (por exemplo, hidrópsia fetal, transfusão fetal intra-uterina, parto pré-termo devido à anemia fetal, transfusão neonatal), é muito provável que surja uma anemia fetal grave nas gestações seguintes com um feto D positivo. Por este motivo, a gravidade da anemia fetal é avaliada a partir das 16 a 18 semanas de gestação e os títulos de anticorpos maternos não são avaliados devido à sua limitação na predição da gravidade da anemia fetal, apesar de serem utilizados em alguns centros como auxiliares na decisão de recorrer a outros procedimentos, como a amniocentese e cordocentese. [4,10,14]

## **AVALIAÇÃO DA GRAVIDADE DA ANEMIA FETAL**

Segundo vários estudos observacionais, a avaliação da velocidade máxima do pico sistólico na artéria cerebral média (VMPS na ACM) é o melhor método não invasivo para identificar anemia fetal em gestações de risco. Apesar de terem sido utilizados vários outros parâmetros ultrassonográficos para prever a presença de anemia fetal grave (espessura da placenta, diâmetro da veia umbilical, dimensões hepáticas, dimensões esplênicas, polihidrânio), nenhum provou ser suficientemente fiável na prática clínica. A sonografia bidimensional permite detectar hidrôpsia fetal, no entanto, esta não é observável até o défice de hemoglobina fetal ser, pelo menos, 7 g / dL mais baixo do que a média para a idade gestacional, pelo que idealmente são realizadas transfusões intra-uterinas antes desta fase tardia de anemia fetal. Podem ser utilizadas técnicas invasivas para avaliar a gravidade da anemia fetal (por exemplo, a amniocentese com análise espectral de líquido amniótico, que tem sido progressivamente abandonada) ou podem ser recolhidas amostras de sangue fetal para determinar os valores hematológicos fetais, contudo estas técnicas acarretam riscos, tanto para a mãe, como para o feto. [14,15]

Avaliação através de doppler do VMPS na ACM fetal em gestações complicadas de isoimunização foi baseada no princípio de que um feto anémico preserva o fornecimento de oxigénio ao cérebro, aumentando o fluxo cerebral de sangue de baixa viscosidade. No entanto, em circunstâncias fisiológicas, verifica-se que o principal factor determinante do VMPS na ACM é a relação entre a hemoglobina fetal e a viscosidade sanguínea, que ao diminuir numa anemia fetal devido a um menor número de eritócitos aumenta a velocidade do fluxo sanguíneo. Foram traçadas curvas que correlacionam o VMPS na ACM com o hematócrito fetal de acordo com a idade gestacional. Desta forma, uma elevação do VMPS na ACM para um determinado momento da gestação pode ser utilizado para estimar o hematócrito fetal (em condições fisiológicas varia entre 36 e 44%, sendo inferior a 30% numa anemia fetal grave) e consequentemente, o risco de anemia fetal. [4,14]

Um estudo seminal constatou que um VMPS na ACM aumentado (superior a 1,5 MoMs (multiples of the median)) apresenta uma sensibilidade próxima de 100% na identificação de anemia fetal moderada a grave, na presença ou ausência de hidrôpsia, com uma taxa de falsos positivos de 12 %. Vários estudos subsequentes confirmaram uma sensibilidade de 88 % para detectar anemia moderada a grave (hemoglobina abaixo

de 0,65 MoMs), com especificidade de 87%, valor preditivo positivo de 53 %, e valor preditivo negativo de 98%. Idealmente, o VMPS na ACM deve ser obtido quando o feto está calmo, uma vez que os resultados são mais elevados quando em períodos de maior actividade. O VMPS na ACM aumenta durante a gestação, pelo que os resultados devem ser ajustados para a idade gestacional. As medições podem ser iniciadas às 16 semanas de gestação, se houver antecedentes de anemia fetal precoce grave, caso contrário, a avaliação através de doppler é iniciada mais tarde, uma vez que transfusões intravasculares intra-uterinas são difíceis de realizar antes das 20 semanas de gestação. O intervalo óptimo entre as avaliações ainda não foi determinado, mas é sugerido uma a duas semanas com base na experiência clínica e no conhecimento sobre a progressão da anemia fetal. [10,14,15]

A VMPS na ACM é o método mais utilizado actualmente, mas, no passado, a determinação dos níveis de bilirrubina no líquido amniótico através da amniocentese (espectrofotométrico) era o método mais comum para determinar indirectamente a gravidade da anemia fetal. A bilirrubina presente no líquido amniótico deriva dos efluentes pulmonares e traqueais fetais e correlaciona-se com o grau de hemólise fetal. No entanto, é menos sensível e específico e mais invasivo do que o VMPS na ACM, razão pela qual caiu em desuso actualmente. [1,10,14,15]

A ultrassonografia perinatal pode também ser utilizada na avaliação do bem-estar fetal e na identificação de achados consistentes com hidrúpsia fetal (edema, ascite, derrames pleurais ou peritoneais), que geralmente correspondem a um hematócrito fetal inferior a 15%. Com o acesso aos métodos descritos anteriormente, geralmente a anemia é detectada numa fase mais precoce. [4,10]

A colheita de uma amostra de sangue fetal por punção ecoguiada do cordão (cordocentese) permite o acesso directo à circulação fetal para obter valores de hematócrito, Coombs directo, tipo de sangue fetal, contagem de reticulócitos e contagem de plaquetas. Contudo, este tipo de procedimento está associado a uma taxa de 1 a 2% de perda fetal, pelo que se reserva apenas para quando um dos métodos indirectos indica a existência de risco de anemia fetal [4,9,10,14,15,17]

Quando se detecta uma anemia fetal grave (hematócrito inferior a 30% ou inferior a dois desvios-padrão do hematócrito médio para a idade gestacional) e o feto ainda se encontra longe do termo, tal constitui indicação para a realização de uma transfusão, uma vez que acabará por se desenvolver insuficiência cardíaca fetal. As transfusões intrauterinas consistem na transfusão de eritrócitos O Rh negativos e são

geralmente realizadas entre as 18 e as 35 semanas de gestação. Antes das 18 semanas raramente são bem-sucedidas devido a uma visualização limitada e às reduzidas dimensões das estruturas anatómicas. Antes das 20 semanas de gestação é tecnicamente mais fácil realizar uma transfusão fetal intraperitoneal. Na transfusão intraperitoneal, os eritrócitos são absorvidos através dos vasos linfáticos subdiafragmáticos e entram no compartimento intravascular fetal através do ducto linfático direito. Em fetos sem hidrópia, o sangue é absorvido entre 7 e 9 dias. Na presença da hidrópia, a absorção é variável e pode exigir a remoção de líquido ascítico no momento da transfusão. No entanto, a transfusão intravenosa (que consiste na introdução da agulha na veia umbilical ou na porção hepática do sistema portal venoso ao nível do cordão umbilical no abdómen fetal) apresenta efeitos terapêuticos mais rápidos e fiáveis, pelo que deve ser realizada quando tecnicamente possível, sendo que são obtidos melhores resultados com a anestesia do feto. O volume de eritrócitos a ser transfundido pode ser calculado com base na idade gestacional, na estimativa do peso fetal, no hematócrito da unidade de sangue e na diferença entre o hematócrito fetal actual e o hematócrito desejado. O método de cálculo do volume transfusional apropriado ainda não se encontra estabelecido, apesar de terem sido feitas tentativas por parte de alguns estudos, tendo estes utilizado uma fórmula matemática baseada em projecções de dados iniciais ou recorrido a dados empíricos. [20]

Por se tratar de eritrócitos antigénio-negativos, não estão sujeitos a hemólise pelos anticorpos maternos. O momento e a necessidade de novas transfusões poderá basear-se no curso previsível, dada a gravidade da doença, ou em avaliações do VMPS na ACM. Após 2 a 3 transfusões, a maioria dos eritrócitos circulantes no feto são células transfundidas, uma vez que o sistema hematopoiético fetal se encontra suprimido. Os objectivos das transfusões intrauterinas são a correcção da anemia, com melhoria da oxigenação, e a redução da produção eritrocitária extramedular, com subsequente diminuição da pressão venosa portal e melhoria da função hepática. As transfusões de repetição são realizadas com 1 a 3 semanas de intervalo. Após as 35 semanas, o tratamento neonatal de anemia grave deve ser o parto pré-termo tardio, uma vez que as transfusões intrauterinas são geralmente consideradas mais arriscadas. Se está previsto que o parto ocorra antes das 34 semanas de gestação (ou se a amniocentese sugere imaturidade pulmonar), deve ser administrada betametasona pelo menos 48 horas antes do parto para acelerar a maturação pulmonar fetal. A taxa de sobrevivência global após uma transfusão intrauterina é de cerca de 85%, sendo que em fetos sem

evidência de hidrósia, a taxa de sobrevivência é de cerca de 90 %, apresentando valores de 75% em fetos com hidrósia previamente à transfusão. Quanto mais cedo for necessário realizar uma transfusão, pior é o prognóstico. A presença de hidrósia fetal no momento da primeira transfusão está associada a mau prognóstico. [4,5,10,14,15,21]

Existem casos esporádicos descritos na literatura em que um caso antecipado de HDFN grave não ocorre numa gestação subsequente, mesmo quando o mesmo parceiro homozigótico está envolvido. A simulação *in vitro* do sistema reticuloendotelial fetal indicou ausência de fagocitose devido à existência de anticorpos maternos anti-antígenos leucocitários humanos. Assim, estes anticorpos, que surgem em resposta a antígenos paternos compartilhados com o feto, podem apresentar um fenómeno de bloqueio, tendo sido demonstrado num modelo animal que uma imunização propositada face a leucócitos paternos exibe um efeito protector na prevenção da anemia fetal. Neste contexto, foram realizados vários tipos de terapia na tentativa de modular a resposta imune materna em casos de isoimunização durante a gravidez. Estes incluem plasmáfereze, administração oral de estroma eritrocitário D positivo, de forma a dessensibilizar a grávida, e utilização de prometazina para diminuir a fagocitose pelo sistema reticuloendotelial fetal. No entanto, até agora, nenhuma destas estratégias mostrou benefício constante e significativo nos estudos efectuados. [15]

## **PROFILAXIA**

A exposição materna ao sangue fetal e conseqüente sensibilização, ocorre geralmente durante o parto, mas pode ocorrer em qualquer momento da gestação. Uma vez que a isoimunização resulta desta exposição, o objectivo da profilaxia é a sua prevenção. A administração da imunoglobulina Rh (Rh O- GAM), preparada a partir de plasma humano fraccionado de indivíduos sensibilizados ao antígeno, diminui a disponibilidade do antígeno D para o sistema imune materno, embora o mecanismo envolvido ainda não seja bem compreendido. É eficaz apenas para o antígeno Rh(D), não prevenindo a sensibilização por outros antígenos Rh ou outros antígenos minor. A maioria dos pacientes que são Rh (D) e / ou Rh (C) positivos também são Rh (G) positivos. Quando uma grávida D negativa apresenta anti-D e anti-C com níveis semelhantes de titulação, o laboratório deve determinar se o anticorpo é realmente anti-

D ou anti-G, porque um paciente que desenvolve anticorpos anti-C e anti -G, mas não anti-D, é um candidato para a imunoglobulina anti- D. [16]

A globulina está disponível em várias dosagens para injeção intramuscular ou endovenosa, sem alterações da sua eficácia, pelo que a escolha deve ser baseada nos custos, na preferência da grávida, nas preparações disponíveis e na dose a ser administrada. Desde que começou a ser utilizada, em 1967, a imunoglobulina anti-D reduziu drasticamente a incidência da isoimunização D. Actualmente o procedimento standard para as grávidas D negativas com fetos D positivos é a administração de 300 µg de imunoglobulina anti-D até 72 horas após o parto. Esta prática reduz o risco de sensibilização ao antígeno D de 16% para 2%, sendo que o risco residual resulta provavelmente da sensibilização que ocorre durante a gravidez após uma hemorragia feto-materna, principalmente durante o terceiro trimestre. Por esta razão administra-se 300-µg de imunoglobulina anti-D a todas as mulheres D negativas às 28 semanas de gestação, a menos que o pai do feto seja D negativo, passando o risco a ser de 0,2%. Se houver qualquer dúvida sobre a necessidade de profilaxia, como incerteza da paternidade, deve ser administrada imunoglobulina anti-D. [4,6,8,10,19,21]

Além das situações já referidas, qualquer evento que possa condicionar uma hemorragia feto-materna constitui indicação para a administração de imunoglobulina anti-D (gravidez ectópica, amniocentese, trauma abdominal, versão cefálica externa, entre outros). Se houver suspeita de uma hemorragia feto-materna superior a 30 mL podem ser administradas doses adicionais de Rh O- GAM (10 µg de Rh O- GAM por 1 ml de sangue fetal que tenham entrado na circulação materna). No caso de mola hidatiforme completa, uma vez que as vilosidades coriônicas são avasculares e desprovidas de eritrócitos fetais, provavelmente não é necessária a administração de Rh O- GAM. [10,21]

Numa situação de aborto espontâneo ou induzido existem diferenças na prática entre vários países relativamente à administração de IgG anti- D. Diretrizes canadenses recomendam que após um aborto espontâneo ou induzido nas primeiras 12 semanas de gestação, deve ser administrado um mínimo de 120 ug de IgG anti- D. Nas orientações práticas de alguns países como o Reino Unido, não é administrada IgG anti-D por rotina em abortos espontâneos ou induzidos antes das 12 semanas de gestação, principalmente devido à falta de evidência científica, ao custo do tratamento e ao fornecimento limitado de IgG anti- D. No entanto, apesar da escassez de evidência de qualidade, a maioria dos

especialistas recomenda a administração de IgG anti-D devido aos riscos potenciais de sensibilização materna. [12]

## CONCLUSÃO

Há cerca de 45 anos atrás, uma grávida D negativa cujo feto fosse D positivo, apresentava um risco de 16% de sofrer isoimunização, condição que poderia desencadear uma anemia fetal grave e hidrópsia fetal, que na maior parte dos casos culminava na morte do feto. Actualmente, o risco diminuiu para cerca de 0,2% devido ao protocolo de administração da imunoglobulina anti-D. Embora este tenha apresentado excelentes resultados, a prevenção não é universal e 0,27 % das mulheres suscetíveis ainda se tornam isoimunizadas. Uma das razões é o não cumprimento dos protocolos recomendados. Além disso, apesar da profilaxia, verifica-se uma taxa de 0,1-0,2 % de imunização espontânea. Esses casos foram observados em gestações em que não houve evidência de terem ocorrido eventos que desencadeassem sensibilização. Por outro lado, uma isoimunização que envolve grupos sanguíneos atípicos (Kell e RhC) não é ainda evitável. Desta forma, torna-se indispensável a compreensão e utilização de medidas preditivas e de modalidades de tratamento disponíveis para a HDFN, assim como garantir que uma gravidez complicada de isoimunização seja bem gerida.

Verificou-se uma melhoria significativa do seguimento de uma gravidez complicada de isoimunização, principalmente devido aos métodos disponíveis para avaliação da anemia fetal, sendo que em grávidas sensibilizadas é agora possível monitorizar o grau de anemia fetal através de métodos não invasivos como o VMPS na ACM, que tem vindo a substituir a amniocentese. Se existirem indícios de anemia fetal moderada a grave pode ser necessário colher uma amostra de sangue fetal para programar uma transfusão intrauterina. Desta forma, o aumento progressivo da utilização de métodos não invasivos com sensibilidade elevada na detecção de anemia fetal moderada a grave, que forneçam as informações essenciais, sem necessidade de recorrer a métodos invasivos, poderia consistir num dos aspectos a investir no futuro.

O tratamento com transfusões intrauterinas permitiu uma diminuição das taxas de morbidade e mortalidade perinatal, não sendo, no entanto, desprovido de riscos. Por esta razão, a imunomodulação materna selectiva poderia ser um dos tratamentos promissores no futuro, sendo que na obtenção de resultados satisfatórios, poderia eventualmente vir a substituir as transfusões intrauterinas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Arraut, A. (2013). Erythrocyte Alloimmunization and Pregnancy. [online] Available from Medscape: <http://emedicine.medscape.com/>
2. Avent, N. & Reid, M. (2014). The Rh blood group system: a review. In [www.bloodjournal.org](http://www.bloodjournal.org)
3. Barss, V. & Moise Jr, K. (2014). Significance of minor red blood cell antibodies during pregnancy. [online] Available from UpToDate: <http://www.uptodate.com>
4. Beckmann, C., Ling, F., Barzansky, B., Herbert, W., Laube, D. & Smith, R. (2010). *Obstetrics and Gynecology* (Sixth Edition). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
5. Bowman, J. (1978). The management of rh-isoimmunization. *Obstetrics and Gynecology*. VOL. 52. NO.1.
6. Bowman, J. & Pollock, J. (1978). Antenatal prophylaxis of Rh isoimmunization: 28-weeks' gestation service program. *CMA Journal*.VOL.118.
7. Crepigny, L., Robinson, H., Quinn, M., Doyle, L., Ross, A. & Cauchi, M. (1985). Ultrasound-guided fetal blood transfusion for severe rhesus isoimmunization. *Obstetrics & Gynecology*. VOL.66. NO.4.
8. Crowther, C. & Middleton, P. (2010). Anti-D administration after childbirth for preventing Rhesus alloimmunisation (Review). *The Cochrane Library 1997*. Issue 2.
9. Cunningham, F., Hauth, J., Leveno, K., Gilstrap III, L., Bloom, S. & Wenstrom, K. (2005). *Williams Obstetrics* (22nd Ed.). New York: McGraw- Hill Companies.
10. Hacker, N., Gambone, J. & Hobel, C. (2009). *Hacker and Moore's Essentials of Obstetrics and Gynecology* (Fifth Edition). Saunders.
11. Kamp, I., Klumper, F., Oepkes, D., Meerman, R., Scherion, S., Vandenbussche, F., et al. (2004) Complications of intrauterine intravascular transfusion for fetal anemia due to maternal red-cell alloimmunization. *Am J Obstet Gynecol*. 192(1):171-7.
12. Karanth, L., Jaafar, S., Kanagasabai, S., Nair, N.& Barua, A. (2013). Anti-D administration after spontaneous miscarriage for preventing Rhesus alloimmunisation (Review). *The Cochrane Library 2013*. Issue 3.
13. Kleinman, S. (2014). Hemolytic disease of the newborn: RBC alloantibodies in pregnancy and associated serologic issues. [online] Available from UpToDate: <http://www.uptodate.com>
14. Moise Jr, K. (2014). Management of pregnancy complicated by Rhesus (Rh) alloimmunization. [online] Available from UpToDate: <http://www.uptodate.com>
15. Moise Jr, K. (2002). Management of Rhesus Alloimmunization in Pregnancy. *The American College of Obstetricians and Gynecologists*. VOL. 100, NO. 3.

16. Moise Jr, K. (2014). Overview of Rhesus (Rh) alloimmunization in pregnancy. [online] Available from UpToDate: <http://www.uptodate.com>
17. Moise Jr, K. (2005). Red blood cell alloimmunization in pregnancy. *Semin Hematol.* 42(3):169-78.
18. Montenegro, N., Rodrigues, T., Ramalho, C. & Campos, D. (2014). Protocolos de Medicina Materno-Fetal (3.<sup>a</sup> Edição). Porto: Lidel.
19. Okwundu, C. & Afolabi, B. (2013). Intramuscular versus intravenous anti-D for preventing Rhesus alloimmunization during pregnancy (Review). *The Cochrane Library 2013*. Issue 1.
20. Santiago, M., Rezende, C., Cabral, A., Leite, H., Osanan, G. & Reis, Z. (2010). Determining the volume of blood required for the correction of foetal anaemia by intrauterine transfusion during pregnancies of Rh isoimmunised women. *Blood Transfus.* 8:271-7.
21. Shipman, S., Becker, S., Ko, A., Duroseau, P., Hearne, A., Gossett, A., et al. (2002) *The Johns Hopkins Manual of Gynecology and Obstetrics* 2nd edition. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins Publishers.

## APÊNDICE

<b>Etnia/ País</b>	<b>Percentagem de indivíduos Rh (D) negativos</b>
<b>País Basco</b>	30 – 35%
<b>Caucasianos da América do Norte e Europa</b>	15%
<b>Afro-americanos</b>	8%
<b>África</b>	4 – 6%
<b>Índia</b>	5%
<b>Nativos da América e esquimós</b>	1 – 2%
<b>Japão</b>	0.5%
<b>Tailândia</b>	0.3%
<b>China</b>	0.3%

Tabela 1- Variação étnica dos indivíduos com fenótipo Rh (D) negativo