



6. podiplomski seminar
zdravljenje s krvjo

■ transfuzijska medicina v porodništvu

6th postgraduate course
blood therapy

■ transfusion medicine in obstetrics



Fotografija: Foto Spring

Portorož, Slovenija, 3–4 December 2004

ORGANIZATORJI:

ZAVOD REPUBLIKE SLOVENIJE ZA TRANSFUZIJSKO MEDICINO
BLOOD TRANSFUSION CENTRE OF SLOVENIA

KLINIČNI CENTER LJUBLJANA
UNIVERSITY MEDICAL CENTRE LJUBLJANA

EVROPSKA ŠOLA ZA TRANSFUZIJSKO MEDICINO
EUROPEAN SCHOOL OF TRANSFUSION MEDICINE

ZBORNIK STROKOVNIH PRISPEVKOV
6. PODIPLOMSKEGA SEMINARJA
ZDRAVLJENJE S KRVJO

»Transfuzijska medicina v porodništvu«
Portorož, 3. in 4. december 2004

Izdajatelj:
ZAVOD REPUBLIKE SLOVENIJE ZA TRANSFUZIJSKO MEDICINO
KLINIČNI CENTER LJUBLJANA
EVROPSKA ŠOLA ZA TRANSFUZIJSKO MEDICINO

Urednici:
Irena Bricl
Natalija Lampreht

Lektor:
Jože Faganel

Tisk in prelom:
Euroraster d.o.o.

Naklada:
300 izvodov

Tiskano:
december 2004

CIP - Kataložni zapis o publikaciji
Narodna in univerzitetna knjižnica, Ljubljana

618.2/.5:616.15(063)

PODIPLOMSKI seminar Zdravljenje s krvjo (6 ; 2004 ; Portorož) Transfuzijska medicina v porodništvu = Transfusion medicine in obstetrics / 6. podiplomski seminar Zdravljenje s krvjo = 6. Postgraduate Course Blood therapy, Portorož, Slovenija, 3-4 December 2004 ; [organizatorji Zavod RS za transfuzijsko medicino [in] Klinični center Ljubljana [in] Evropska šola za transfuzijsko medicino ; urednici Irena Bricl, Natalija Lampreht]. - Ljubljana :

Zavod Republike Slovenije za transfuzijsko medicino : Klinični center : Evropska šola za transfuzijsko medicino, 2004

ISBN 961-90827-3-7 (Zavod Republike Slovenije za transfuzijsko medicino)

1. Gl. stv. nasl. 2. Vzp. stv. nasl. 3. Zdravljenje s krvjo 4. Blood therapy 5. Bricl, Irena 6. Zavod Republike Slovenije za transfuzijsko medicino 7. Klinični center (Ljubljana) 8. Evropska šola za transfuzijsko medicino (Ljubljana)

216766464

KOORDINATORJI in STROKOVNI ODBOR
COORDINATORS and SCIENTIFIC COMMITTEE:

Slavenka Beljanski - Rogan

Tanja Blejec

Irena Bricl

Vanda Brubnjak - Jevtič

Umberto Rossi

ORGANIZACIJSKI ODBOR
ORGANIZING COMMITTEE:

Božidar Voljč

Irena Bricl

Franc Hočevar

Zoran M. Arnež

Vanda Brubnjak - Jevtič

Helena Meden - Vrtovec

Umberto Rossi

Natalija Lampreht

Tea Tollazzi

KOORDINATORJI / COORDINATORS

asist. Slavenka BELJANSKI - ROGAN, dr. med., spec. anesteziologije in reanimatologije

Klinični center Ljubljana, SPS Ginekološka klinika
Skupne medicinske službe - služba za anesteziologijo
Štajmerjeva 3, 1000 Ljubljana, Slovenija

prim. Tanja BLEJEC, dr. med., spec. ginekologije in porodništva

Klinični center Ljubljana, SPS Ginekološka klinika
Klinični oddelek za perinatologijo
Štajmerjeva 3, 1000 Ljubljana, Slovenija

prim. Irena BRICL, dr. med., spec. transfuzijske medicine

Zavod RS za transfuzijsko medicino
Štajmerjeva 6, 1000 Ljubljana, Slovenija

prim. Vanda BRUBNJAK - JEVTIČ, dr. med., specialist anesteziologije in reanimatologije

Klinični center Ljubljana
Zaloška 2, 1000 Ljubljana, Slovenija

prof. dr. Umberto ROSSI, MD

ESTM President
Viale Beatrice D'Este 5, I - 20122 MILANO, Italy

PREDAVATELJI / LECTURERS

doc. dr. Dušan ANDOLJŠEK, dr. med., spec. interne medicine

Klinični center Ljubljana, SPS Interna klinika
Klinični oddelek za hematologijo
Zaloška 7, 1000 Ljubljana, Slovenija

asist. Slavenka BELJANSKI - ROGAN, dr. med., spec. anesteziologije in reanimatologije

Klinični center Ljubljana, SPS Ginekološka klinika
Skupne medicinske službe - služba za anesteziologijo
Štajmerjeva 3, 1000 Ljubljana, Slovenija

prim. Tanja BLEJEC, dr. med., spec. ginekologije in porodništva

Klinični center Ljubljana, SPS Ginekološka klinika
Klinični oddelek za perinatologijo
Štajmerjeva 3, 1000 Ljubljana, Slovenija

prim. Irena BRICL, dr. med., spec. transfuzijske medicine

Zavod RS za transfuzijsko medicino
Štajmerjeva 6, 1000 Ljubljana, Slovenija

prim. dr. Vasilij CERAR, dr. med., spec. ginekologije in porodništva

Klinični center Ljubljana, SPS Ginekološka klinika
Klinični oddelek za perinatologijo
Štajmerjeva 3, 1000 Ljubljana, Slovenija

mag. Dragoslav DOMANOVIĆ, dr. med., spec. transfuzijske medicine

Zavod RS za transfuzijsko medicino, Oddelek za preskrbo s krvjo
Štajmerjeva 6, 1000 Ljubljana, Slovenija

dr. Loredana GATTI, MD, Haematologist

Centro Trasfusionale
Istituti Clinici di Perfezionamento
Via Morosini 45, I - 20135 MILANO, Italy

Hans GOMBOTZ, MD

General Hospital Linz
Department of Anaesthesiology and Intensive Care Medicine
Krankenhausstrasse 9, A - 4020 LINZ, Austria

Thorsten HAAS, MD

Medical University of Innsbruck
Department of Anaesthesiology and Critical Care Medicine
A - INNSBRUCK, Austria

dr. Matjaž JERAS, mag. farm.

Zavod RS za transfuzijsko medicino, Oddelek za diagnostične storitve
Center za tipizacijo tkiv
Štajmerjeva 6, 1000 Ljubljana, Slovenija

dr. Lucilla LECCHI

Milano Cord Blood Bank, Centro Trasfusionale e di Immunologia dei Trapianti
IRCCS Ospedale Maggiore,
Via Francesco Sforza 35, I - 20122 MILANO, Italy

dr. Natalia MASHAROVA, MD

Head, Dept. of Immunohaematology
National Centre of Haematology and Transfusiology
Plovdivsko Pole Street 6, BG - 1756 SOFIA, Bulgaria

prim. Veruška MEGLIČ - MATOH, dr. med., spec. interne medicine

Klinični center Ljubljana, SPS Ginekološka klinika
Skupne medicinske službe
Štajmerjeva 3, 1000 Ljubljana, Slovenija

Barbka NOVAK - SUPE, dr. med., spec. anesteziologije in reanimatologije

Klinični center Ljubljana, SPS Ginekološka klinika
Skupne medicinske službe - služba za anesteziologijo
Štajmerjeva 3, 1000 Ljubljana, Slovenija

mag. Irena PRELOŽNIK - ZUPAN, dr. med., spec. interne medicine

Klinični center Ljubljana, SPS Interna klinika
Klinični oddelek za hematologijo
Zaloška 7, 1000 Ljubljana, Slovenija

asist. dr. Tanja PREMRU - SRŠEN, dr. med., spec. ginekologije in porodništva

Klinični center Ljubljana, SPS Ginekološka klinika
Klinični oddelek za perinatologijo
Štajmerjeva 3, 1000 Ljubljana, Slovenija

prim. Jože PRETNAR, dr. med., spec. interne medicine

Klinični center Ljubljana, SPS Interna klinika
Klinični oddelek za hematologijo
Zaloška 7, 1000 Ljubljana, Slovenija

prim. Marjeta POTOČNIK, dr. med., spec. transfuzijske medicine

Zavod RS za transfuzijsko medicino
Služba za svetovanje uporabnikom krvnih komponent
Štajmerjeva 6, 1000 Ljubljana, Slovenija

prof. dr. Umberto ROSSI, MD

ESTM President
Viale Beatrice D'Este 5, I - 20122 MILANO, Italy

doc. dr. Primož ROŽMAN, dr. med., spec. transfuzijske medicine

Zavod RS za transfuzijsko medicino, Center za imunohematologijo,
Štajmerjeva 6, 1000 Ljubljana, Slovenija

asist. mag. Barbara ŠAJINA - STRITAR, dr. med., spec. ginekologije in porodništva

Klinični center Ljubljana, SPS Ginekološka klinika
Klinični oddelek za perinatologijo
Štajmerjeva 3, 1000 Ljubljana, Slovenija

mag. Miha TONEJC, dr. med., spec. transfuzijske medicine

Zavod RS za transfuzijsko medicino, Oddelek za diagnostične storitve
Center za tipizacijo tkiv
Štajmerjeva 6, 1000 Ljubljana, Slovenija

prim. Vera URLEP - ŠALINOVIĆ, dr. med., spec. transfuzijske medicine
Splošna bolnišnica Maribor, Oddelek za transfuziologijo in imunohematologijo
Ljubljanska 5, 2000 Maribor, Slovenija

doc. dr. Andrej VOGLER, dr. med., spec. ginekologije in porodništva
Klinični center Ljubljana, SPS Ginekološka klinika
Klinični oddelek za reprodukcijo
Štajmerjeva 3, 1000 Ljubljana, Slovenija

dr. Anita VALCHANOVA, MD
Head of Dept., First Clinic of Obstetrics and Gynaecology "Sveta Sofia"
"Mihalaki Tashev" street 2, BG – SOFIA, Bulgaria

VODJE UČNIH DELAVNIC / WORKSHOP MODERATORS

asist. Slavenka BELJANSKI - ROGAN, dr. med., spec. anesteziologije in reanimatologije

Klinični center Ljubljana, SPS Ginekološka klinika
Skupne medicinske službe - služba za anesteziologijo
Štajmerjeva 3, 1000 Ljubljana, Slovenija

prim. Tanja BLEJEC, dr. med., spec. ginekologije in porodništva

Klinični center Ljubljana, SPS Ginekološka klinika
Klinični oddelek za perinatologijo
Štajmerjeva 3, 1000 Ljubljana, Slovenija

prim. Irena BRICL, dr. med., spec. transfuzijske medicine

Zavod RS za transfuzijsko medicino
Štajmerjeva 6, 1000 Ljubljana, Slovenija

prim. dr. Vasilij CERAR, dr. med., spec. ginekologije in porodništva

Klinični center Ljubljana, SPS Ginekološka klinika
Klinični oddelek za perinatologijo
Štajmerjeva 3, 1000 Ljubljana, Slovenija

Janja JEVŠEVAR, dipl. med. sestra

Klinični center Ljubljana, SPS Ginekološka klinika
Skupne medicinske službe - služba za anesteziologijo
Štajmerjeva 3, 1000 Ljubljana, Slovenija

Martina PETRIC, dipl. med. sestra

Klinični center Ljubljana, SPS Ginekološka klinika
Skupne medicinske službe - služba za anesteziologijo
Štajmerjeva 3, 1000 Ljubljana, Slovenija

Anita PRELEC, dipl. babica

Klinični center Ljubljana, SPS Ginekološka klinika
Porodni blok
Štajmerjeva 3, 1000 Ljubljana, Slovenija

Urša VOZELJ, dipl. med. sestra

Klinični center Ljubljana, SPS Ginekološka klinika
Enota intenzivna nege KO za perinatologijo
Štajmerjeva 3, 1000 Ljubljana, Slovenija

ZAHVALE / THANKS:

Za sodelovanje in pomoč pri organizaciji 6. podiplomskega seminarja se zahvaljujemo:

Octapharma Nordic AB

Baxter AG

Mediline

Lek

Valkarton

Johnson & Johnson S.E.

Krka

Zahvaljujemo se tudi vsem, ki zaradi kasnejšega pristopa k sodelovanju niso omenjeni v publikaciji.

PROGRAM /PROGRAMME

Petek, 3. december 2004

Friday, 3rd December

Spremembe v nosečnosti – Changes in Pregnancy

Moderatorja / Moderators: Blejec T., Rožman P.

- 9.00–9.20 **Blejec T.**
Fiziološke spremembe v krvi
Physiological haematological changes
- 9.20–9.40 **Premru - Sršen T.**
Anemije
Anaemias
- 9.40–10.00 **Andoljšek D., Preložnik-Zupan I., Pretnar J.**
Koagulacija v nosečnosti in ob porodu
Coagulation in pregnancy and delivery
- 10.00–10.20 **Meglič-Matoh V., Novak-Supe B.**
Trombocitopenije v nosečnosti
Trombocitopenias in pregnancy
- 10.20–10.40 **Rožman P.**
Diagnostika trombocitopenij v nosečnosti
Diagnostics of thrombocitopenias in pregnancy
- 10.40–11.00 **Urlep-Šalinovič V.**
Laboratorijska diagnostika hemostatskih motenj
Laboratory diagnostics of haemostatic disorder
- 11.00–11.15 **Odmor / Coffee break**

Urgentna stanja – Emergencies

Moderatorja / Moderators: Cerar V., Haas T.

- 11.15–11.55 **Masharova N., Valchanova A.**
Anemije v nosečnosti: diagnostika in preprečevanje
Anaemias in pregnancy: diagnosis and prevention
- 11.55–12.35 **Gombotz H.**
Racionalna raba krvi pri urgentnih stanjih v porodništvu
Blood-sparing in obstetrical emergencies
- 12.35–13.15 **Haas T.**
Ukrepanje pri urgentnih stanjih med nosečnostjo in ob porodu
Haemostatic emergencies in pregnancy and delivery
- 13.15–13.30 **Razprava / Discussion**
- 13.30–15.00 **Odmor / Break**

Krvavitve – Haemorrhage

Moderatorja / Moderators: Beljanski-Rogan S., Vogler A.

- 15.00–15.20 **Vogler A., Bricl I.**
Krvavitve v zgodnji nosečnosti
Haemorrhage in early pregnancy
- 15.20–15.40 **Blejec T.**
Krvavitve v drugi polovici nosečnosti
Haemorrhage in late pregnancy
- 15.40–16.00 **Cerar V.**
Krvavitve ob in po porodu
Intrapartum and postpartum haemorrhage
- 16.00–16.20 **Beljanski-Rogan S.**
Anestezijske tehnike in obvladovanje ob- in poporodnih krvavitvev
Antepartum and postpartum haemorrhage – anaesthetic technique
and management
- 16.20–16.40 **Šajina-Stritar B.**
Avtotransfuzija
Autologus transfusion
- 16.40–17.00 **Razprava / Discussion**
19.00 **Večerja / Gala Dinner**

Sobota, 4. december
Saturday, 4th December

Krvotvorne matične celice iz popkovnične krvi – Cord blood

Moderatorja / Moderators: Domanović D., Lecchi L.

- 9.00–9.40 **Lecchi L.**
Krvotvorne matične celice iz popkovnične krvi
Cord-blood banking and transplantation
- 9.40–10.00 **Domanović D.**
Zbiranje in predelava KMC iz placentne krvi
Collection and processing of cord blood
- 10.00–10.20 **Jeras M.**
Vpliv tkivne (ne)skladnosti pri transplantaciji KMC iz popkovnične krvi
The impact of histo(in)compatibilities in cord blood transplantation
- 9.40–10.00 **Tonejc M.**
Banka in register KMC
Cord blood bank – cord blood registry
- 10.40–11.00 **Razprava / Discussion**
11.00–11.20 **Odmor / Coffee break**

Učne delavnice – Workshops

11.20–12.05 **Blejec T., Bricl I.**

Vodenje nosečnice

Management of pregnant woman

12.05–12.50 **Beljanski-Rogan S., Cerar V., Jevševar J., Petric M.,
Prelec A., Vozelj U.**

Ukrepi pri krvavitvah v nosečnosti, ob in po porodu

Guidelines for emergency management in major obstetric haemorrhage

Sklepna konferenca – Closing Conference

Moderatorja / Moderators: Potočnik M., Rossi U.

13.00–13.35 **Rossi U., Gatti L.**

Specialni problemi hemovigilance v porodništvu

Special problems of haemovigilance in the obstetrical ward and in
the delivery room

13.35–13.50 **Potočnik M.**

Delovanje sistema hemovigilance v Sloveniji

Implementation of haemovigilance system

Zaključki – Conclusion

14.00 Moderatorji / Moderators: Beljanski - Rogan S., Blejec T., Bricl I.,
Brubnjak - Jevtič V.

KAZALO / INDEX

- 17 Tanja Blejec
FIZIOLOŠKE SPREMEMBE V NOSEČNOSTI – PRILAGODITEV NOSEČNICE NA NOSEČNOST
- 23 Tanja Premru - Sršen
ANEMIJE V NOSEČNOSTI
- 37 Veruška Meglič - Matoh, Barbka Novak - Supe
TROMBOCITOPENIJE V NOSEČNOSTI
- 46 Primož Rožman
DIAGNOSTIKA TROMBOCITOPENIJE – TROMBOCITNE PREISKAVE V NOSEČNOSTI
- 59 Vera Urlep - Šalinović
LABORATORIJSKA DIAGNOSTIKA HEMOSTATSKIH MOTENJ V PORODNIŠTVU
- 67 Natalia Masharova, Anita Valchanova
ANAEMIAS IN PREGNANCY: DIAGNOSIS AND PREVENTION
- 78 Hans Gombotz
BLOOD SPARING IN OBSTETRICAL EMERGENCIES
- 82 Thorsten Haas
HAEMOSTATIC EMERGENCIES IN PREGNANCY AND DELIVERY
- 84 Andrej Vogler, Irena Bricl
KRVAVITVE V ZGODNJI NOSEČNOSTI
- 89 Tanja Blejec
KRVAVITVE V DRUGI POLOVICI NOSEČNOSTI
- 92 Vasilij Cerar
KRVAVITEV MED PORODOM IN PO PORODU (PPK)
- 96 Slavenka Beljanski - Rogan
ANESTEZIJSKE TEHNIKE IN OBVLADOVANJE KRVAVITEV V PORODNIŠTVU
- 106 Lucilla Lecchi, Paolo Rebutta
CORD BLOOD BANKING AND TRANSPLANTATION
- 113 Dragoslav Domanović
ZBIRANJE IN PREDELAVA KRVOTVORNIH MATIČNIH CELIC IZ PLACENTNE KRVI
- 119 Matjaž Jeras
VPLIV TKIVNE (NE)SKLADNOSTI PRI TRANSPLANTACIJI KRVOTVORNIH MATIČNIH CELIC IZ POPKOVNIČNE KRVI

- 128 Miha Tonejc
REGISTRI KOSTNEGA MOZGA IN REGISTRI POPKOVNE KRVİ DOMA IN PO SVETU
- 133 Umberto Rossi, Loredana Gatti, Marco Luigi Sala
SPECIAL PROBLEMS OF HAEMOVIGILANCE IN THE OBSTETRICAL WARD AND IN THE DELIVERY ROOM
- 147 Marjeta Potočnik
DELOVANJE SISTEMA HEMOVIGILANCE V SLOVENIJI

FIZIOLOŠKE SPREMEMBE V NOSEČNOSTI – PRILAGODITEV NOSEČNICE NA NOSEČNOST

Tanja Blejcek

Ključne besede: nosečnost; fiziološke spremembe

Key words: pregnancy; physiologic changes

Izvleček: v prispevku so opisane nekatere fiziološke spremembe, ki jih doživi žensko telo v času nosečnosti.

Abstract: in the article some physiologic changes of women's bodies during pregnancy are described.

Uvod

Nosečnost spremljajo obsežne fiziološke spremembe, ki se pojavijo že zgodaj po zanositvi. Pogosto nastanejo velike spremembe, še preden se ženska zave, da je noseča. Na kaj pomislimo pri ženi v rodnem obdobju, kadar »pade skupaj«, ima napad slabosti in bruhanja, ali je upadla in utrujena? Na nosečnost najprej in šele nato na bolezen. Žensko telo se prilagodi, da lahko prenese izzive nosečnosti. Poznavanje in razumevanje teh sprememb nam omogoča razlikovanje med nosečnostnimi simptomi in simptomi bolezni. Nosečnost ni bolezen, ampak je »drugo stanje«, kot ga lepo imenujejo preprosti ljudje.

Telesne tekočine, srce in krvni obtok

Najbolj neverjetno je, da so spremembe v nosečnosti tako velike, da bi v normalnih razmerah pomenile bolezensko stanje. Simptomi in znaki normalnega in bolezenskega se v nosečnosti močno prekrivajo; kolaps (sinkopa), subjektivno težko dihanje (dispneja), edemi in šumi na srcu so v nosečnosti normalni. Nosečnica zadržuje in kopiči vodo v vseh organih. Volumen krvi pri enoplodni nosečnosti naraste za 30 % do 50 %. Še večji porast je pri velikih plodovih in pri večplodni nosečnosti.

Volumen plazme raste bolj in hitreje kot volumen rdečih krvničk, zaradi tega se zmanjša hematokrit. Fiziološka anemija – slabokrvnost – je najbolj izražena v tretjem trimesečju nosečnosti.

Srčni minutni volumen je zmnožek srčne frekvenca in utripnega volumna. Srčni minutni volumen začne naraščati že zgodaj v prvem trimesečju. V normalni enoplodni nosečnosti poraste od 35 % do 50 % ali povprečno za 1,5 l na minuto. Največjo raven doseže okrog 24. tedna in ostane takšen do poroda. Večina tega porasta minutnega volumna upade kmalu po porodu.

Srčna frekvenca v mirovanju se poviša že v 7. tednu nosečnosti, vse do 15 utripov nad vrednostmi pred nosečnostjo. Razporeditev minutnega volumna se v nosečnosti spreminja. Zgodaj v nosečnosti maternica prejema 2 % do 3 % minutnega srčnega volumna in dojki manj kot 1 %; na koncu nosečnosti maternica dobiva 17 % in dojki 2 %. Povečan pretok krvi skozi kožo pomaga odvajati toploto, ki nastaja zaradi povečane mase matere in ploda in porasta dela obtočil in dihal. Možgani, ledvice in venčne arterije dobivajo isto razmerje minutnega volumna srca (vendar večje absolutne količine) med vso nosečnostjo. Če nosečnica leži na

boku, se del krvi preusmeri v maternico. Če pa nosečnico izpostavimo večji telesni dejavnosti, bodo to kri uporabile skeletne mišice za svojo prehrano.

Položaj nosečnice močno vpliva na srčni minutni volumen. Ležanje na hrbtu ga lahko zmanjša za 25 %. Pritisk na spodnjo veno kavo, ki ga povzroči noseča maternica, zmanjša dotok krvi v srce, kar zmanjša utripni in minutni volumen srca. Temu pojavu pravimo sindrom spodnje vene kave (syndroma venae cavae inferioris – SVCI). To so zmanjšanje krvnega pritiska, bradikardija, omotica, slabost in kolaps, če nosečnica predolgo ostane v tem položaju. SVCI se pojavi pri 10 % nosečnic.

Zmanjšan periferni upor v žilah je ena od prvih materinih prilagoditev na nosečnost. Najbolj se zmanjša v drugem trimesečju, nato pa povečuje proti roku poroda. Mehanizem, odgovoren za zmanjšanje systemskega žilnega upora, ni popolnoma znan. Svoj vpliv na žile imajo npr. hormoni, progesteron povzroči periferno vazodilatacijo. Prostaciklin zmanjša odgovor perifernega žilja na kateholamine, katerih koncentracija je sicer povišana. Ta neobčutljivost pomaga pri žilni relaksaciji. Pri arterijski in venski vazodilataciji imata svoj vpliv tudi endotelin in dušikov oksid. (1)

Krvni tlak se zniža v normalni nosečnosti, bolj diastolni kot sistolni. V sredini nosečnosti je sistolni tlak nižji za 5 do 10 mmHg in diastolni za 10 do 15 mmHg. Ob roku poroda se krvni tlak vrne na normalne vrednosti. Položaj pri merjenju krvnega tlaka ni standardiziran, vrednosti so nižje pri nosečnici, ki leži na levem boku, višje pa so sede ali stoje.

Pri dvoplodni nosečnosti minutni volumen srca naraste še za 15 % nad vrednostmi pri enoplodni nosečnosti. Povečanje gre predvsem na račun višje srčne frekvence. Bolj se poveča tudi volumen krvi in velikost levega preddvora, istočasno pa se pri dvojčkih še dodatno zmanjšata krvni tlak in periferni žilni upor. Pri večjem številu plodov se spremembe v obtočilih nosečnice še povečajo, kar je še dodaten stres za nosečnično srce.

Kljub velikim spremembam, ki se pojavijo, je prehod v nosečnostno fiziologijo obtočil miren in gladek.

Krvne spremembe

Že v 10. tednu nosečnosti se začne povečevati masa rdečih krvničk in se povečuje do predvidenega datuma poroda. Pri nosečnici, ki jemlje železo, se rdeča celična masa poveča za 30 % ali 400 do 450 ml, medtem ko brez dodatnega železa volumen rdečih krvničk naraste le za 18 % oziroma 250 ml.

Ker volumen plazme poraste sorazmerno bolj kot masa eritrocitov, se zmanjša odstotek rdečih krvničk (hematokrit). Vrednosti okoli 100 gr/l še ne pomenijo slabokrvnosti - anemije. Istočasno se zmanjša afiniteta materinega hemoglobina za kisik, kar olajša prenos kisika plodu skozi maternično-posteljčno pregrado.

Prednost večjega volumna rdečih krvničk in plazme je boljše prenašanje krvavitve med porodom in po njem. Povprečna izguba krvi med porodom je 300 ml krvi, povečana pa 500 ml in več.

V normalni nosečnosti je kar veliko povečanje števila levkocitov normalno. Najbolj se poveča koncentracija granulocitov; poraste tudi koncentracija monocitov. Koncentracija limfocitov se zmanjša, nekoliko manj koncentracija eozinofilnih in bazofilnih granulocitov. Te normalne spremembe fiziološke levkocitoze je potrebno poznati, da jih lahko ločimo od patološke levkocitoze.

Absolutna vrednost belih krvničk se od začetka nosečnosti zveča s 5000 na 12000/ mm³ ob roku poroda. Med porodom in neposredno po porodu naraste koncentracija levkocitov tudi na 25.000 do 30.000/ mm³. Takšne vrednosti

ne kažejo na vnetje in neizkušenega zdravnika lahko zavedejo in zmedejo.

Ves čas nosečnosti se manjša število trombocitov, povprečno za 20 %. To zmanjšanje le deloma lahko razložimo z razredčitvijo krvi, ostalo pa gre na račun večje porabe. Vrednosti se vrnejo na normalne v 6 tednih po porodu.

Raven fibrinogena narašča ves čas nosečnosti in s tem povzroča povečano sedimentacijo krvi v normalni nosečnosti. Poveča se tudi koncentracija faktorjev VII, X, XI in XIII, raven antitrombina III pa se zmanjša. Te spremembe skupaj z vedno večjim zastojem krvi v spodnjih udih vodijo do povečane nagnjenosti k strjevanju krvi v nosečnosti. To stanje doseže vrh okrog časa poroda in traja še šest tednov po porodu, ko je nevarnost trombemboličnih pojavov največja.

Dihanje in dihalni organi

Povečan volumen krvi in vazodilatacija povzročita dobro prekrvljenost in edem sluznice zgornjih dihalnih poti, kar povzroča slabo prehodnost nosu (kongestija), krvavitev (epistaksa) in celo spremembe v glasu.

Za nosečnost so tipične velike spremembe prsne stene in trebušne prepone. Zaradi relaksacije vezivne povezave reber se subkostalni kot poveča s približno 68° na 103°. Prečni in anteroposteriorni premer prsnega koša se povečata za 2 cm, kar poveča obseg prsnega koša za 5 do 7 cm. Naraščajoča velikost maternice dvigne prepono za okoli 4 cm, vendar njena funkcija ni zmanjšana, ker se njeni pomiki povečajo za 2 cm. Z napredovanjem nosečnosti se zmanjšuje popustljivost stene prsnega koša, kar poveča delo pri dihanju. Rentgenske slike pljuč pokažejo skrajšanje in razširitev pljuč ter pomik srca navzgor in navzven. (8)

Minutna ventilacija, zmnožek dihalnega volumna in frekvence dihanja se poveča za 30 % do 40 %, predvsem zaradi povečanega dihalnega volumna ob nespremenjeni frekvenci dihanja. Povečan dihalni volumen omogočata povečan prsni koš in večja potreba po dihanju. Pri povečani potrebi po dihanju igra ključno vlogo progesteron, ki zmanjša občutljivost respiracijskega centra za kisik in deluje kot primarni spodbujevalec dihalnega centra.

Dihalni volumen se poveča zaradi zmanjšanja funkcijske rezervne kapacitete, ki se zmanjša za 10 %–25 %. Debelost in položaj leže jo še dodatno zmanjšata. Ekspiracijski rezervni in rezidualni volumen sta zmanjšana za približno 20 %. Ni večjih sprememb v vitalni kapaciteti, inspiracijski rezervni kapaciteti, forsirani vitalni kapaciteti, difuzijski kapaciteti in v pljučni popustljivosti. (9)

Poraba kisika naraste za 15 % do 20 % za pokritje dodatne materine in plodove mase ter povečanega dela obtočil in dihal. Te zahteve skupaj z zmanjšano funkcijsko rezidualno kapaciteto zmanjšujejo kisikovo rezervo matere.

Pljučni volumni in kapacitete v nosečnosti

Povečana minutna ventilacija olajšuje izmenjavo plinov v nosečnosti. Povečana sta oba parcialna tlaka; parcialni tlak kisika v alveolah in arterijski parcialni tlak kisika. Fiziološka hiperventilacija zmanjšuje arterijski parcialni tlak ogljikovega dioksida, kar poveča razliko tlaka ogljikovega dioksida med plodom in materjo.

60–70 % nosečnic brez pljučne bolezni občuti dispnejo – težko dihanje. Ta simptom se pojavi že v prvem trimesečju in doseže vrh v tretjem trimesečju. Ne povzroča ga samo rastoča maternica. Ni nobene povezave med nosečnostno dispnejo in abnormalnimi funkcijskimi testi pljuč. Pojav dispneje verjetno zrcali povečano zavedanje nosečnice o fiziološki hiperventilaciji. (10)

Meritve	Definicija	Spremembe v nosečnosti
Frekvenca dihanja	Število dihov na minuto.	Nespremenjena
Vitalna kapaciteta	Največja količina zraka, ki jo forsirano izdihnemo po maksimalnem vdihu.	Nespremenjena
Inspiracijska kapaciteta	Maksimalna količina zraka, ki jo lahko vdihnemo po normalnem izdihu.	Povečana do 5 %
Dihalni volumen	Količina zraka, ki jo vdihnemo in izdahnemo pri normalnem dihanju.	Povečan 30–40 %
Inspiracijski rezervni volumen	Maksimalna količina zraka, ki jo lahko vdihnemo po koncu normalnega vdiha.	Nespremenjen
Funkcijska rezidualna kapaciteta	Količina zraka v pljučih pri koncu izdiha v mirovanju.	Zmanjšana za 20 %
Ekspiracijski rezervni volumen	Maksimalna količina zraka, ki jo lahko izdihnemo po normalnem izdihu.	Zmanjšan za 20 %
Rezidualni volumen	Količina zraka v pljučih po maksimalnem izdihu.	Zmanjšan za 20 %
Celokupna pljučna kapaciteta	Celotna količina zraka v pljučih po maksimalnem vdihu.	Zmanjšana za 5 %

Delo v nosečnosti spremljata pospešeno dihanje in večjo porabo kisika. Med porodom boleči popadki povzročijo iste spremembe. Z nosečnostjo povzročene spremembe se začnejo zmanjševati v prvih 24 do 48 urah po porodu in popolnoma izzvenijo po 7 tednih.

Ledvice in njihovo delovanje

Ledvice se povečajo v dolžino, poveča se njihova teža. Sečevodi se razširijo in podaljšajo, desni veliko bolj kot levi. To je posledica mehaničnih učinkov noseče maternice in povišane koncentracije progesterona. Poveča se zastoj urina in s tem možnost za okužbo sečil.

V nosečnosti sta povečana glomerularna filtracija in pretok krvi (plazme) skozi ledvici. Glomerularna filtracija poraste za 50 % in taka ostane še 20 tednov po porodu. Pretok plazme se poveča za 25 % do 50 % v sredi nosečnosti in verjetno nekoliko upade do predvidenega datuma poroda.

Kljub tako povečanemu delu ledvic v nosečnosti diureza ne naraste. Pogosto uriniranje v nosečnosti je povezano predvsem s pritiskom povečane maternice. Mehur je potisnjen navzgor in je sploščen. Zmanjšan tonus gladke mišične hkrati poveča kapaciteto mehurja.

Očistek kreatinina se precej poveča, tudi za 50 %. Koncentraciji sečnine in kreatinina se zmanjšata sorazmerno s povečano glomerularno filtracijo. Vrednosti kreatinina in sečnine na zgornji meji normalnega v nosečnosti lahko že pomenijo odpoved delovanja ledvic.

Povečana glomerularna filtracija in motena reabsorpcija glukoze v ledvičnih tubulih povzročita pojavljane glukoze v urinu. To je fiziološka glukozurija v nosečnosti, ki jo je potrebno ločiti od glukozurije, ki jo povzroča gestacijski diabetes. Glukoza v urinu tudi povečuje možnost bakterijske okužbe.

Izločanje beljakovin v urinu se v nosečnosti skoraj ne spremeni. V urinu jih najdemo največ 200 do 300 mg v 24-urnem obdobju. Pojav večje količine beljakovin v urinu je slab znak za nosečnico in nosečnost. Najpogostejši vzrok je preeklampsija.

Prebavila

Jutranje slabosti, ki nato trajajo ves dan, zaprtje, zgaga in spremembe v potrebi po različni hrani so tipične nosečnostne težave.

Slabosti in bruhanje doživi 50 % do 90 % nosečnic. Odstotek nosečnic z bruhanjem v nosečnosti je odvisen od mnogo dejavnikov. Te težave ne poznajo pri domorodnih Amerikancih, v Afriki in v Aziji (razen v industrializirani Japonski). Pogostejša je pri privesnicah. Na splošno psihološki in socialnokulturni dejavniki okolja določajo, kako nosečnice prenašajo slabosti in bruhanje in kdaj se bo pojavilo čezmerno bruhanje (hyperemesis gravidarum).

Veliko simptomov povzročajo učinki progesterona na prebavila. Počasno praznjenje želodca in upočasnjena peristaltika skupaj z relaksacijo spodnje zažemalke požiralnika povzročajo zgago (pirozo), zaprtje in hemeroide. Še večje težave povzročajo dvojčki, velik plod in hidramnion, ki potisnejo želodec še višje in pritiskajo na organe v zgornjem delu trebuha.

Tudi žolčnik se razširi in je slabše gibljiv. Žolč je gostejši, zastoj žolča je bolj verjeten. Pojavi se holestaza, ki je povezana z večjo zboleznostjo in umrljivostjo plodov.

V nosečnosti so pogostejši žolčni kamni, vnetje žolčnika in trebušne slinavke.

Zaključki

1. Volumen celotne krvi nosečnice in srčni minutni volumen se pri enoplodni nosečnosti povečata za 50 %.
2. Fiziološka anemija nastane zaradi razredčitve krvi; volumen plazme naraste bolj kot masa rdečih krvničk.
3. Krvni tlak se v nosečnosti zmanjša in se pred predvidenim datumom poroda vrne na raven pred nosečnostjo.
4. Število levkocitov se v nosečnosti precej poveča.
5. Koncentracija trombocitov se zniža v povprečju za 20 %.
6. Nosečnost je stanje povečane nagnjenosti k strjevanju krvi (hiperkoagulabilnost) in je zato povezana z večjim tveganjem za nastanek tromboemboličnih dogodkov.
7. Poraba kisika se poveča za 15 % do 20 %, da lahko nosečnica zadovolji povečani presnovi (metabolizmu).
8. Fiziološka hidronefroza (razširitev ledvičnega meha in čašic) in hidroureter (razširjen sečevod) sta pogosta v nosečnosti in povzročata počasnejši pretok urina ter s tem večje tveganje za ledvično okužbo.
9. Pretok plazme skozi ledvice in glomerularna filtracija sta povečana, kar povzroči zmanjšano koncentracijo sečnine in kreatinina.
10. Zvišana koncentracija nosečnostnega hormona (progesterona) upočasni praznjenje želodca, zmanjšo gibljivost črevesja in sprostitvev zažemalke požiralnika, kar vse skupaj prispeva k zaprtju, hemeroidom in zgagi.

LITERATURA

1. Steinfeld YD, Wax JR. Maternal physiologic adaptation to pregnancy. In Seifer Db, Samuels P, Kniss DA eds. *The physiologic basis of gynecology and obstetrics.*, Philadelphia, Baltimore, New York, London, Buenos Aires Hong Kong, Sydney, Tokio: Lippincott Williams & Wilkins 2001, 365–73.
2. Kim KM, Shukhani R, Slogoff S et al. Central hemodynamic changes associated with pregnancy in a long-term cardiac transplant recipient. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174: 1651–3.
3. Clark SL, Cardiac disease. In: Clark SL, Cotton DD, Hankins GDV et al. eds. *Critical care obstetrics.* 3rd ed. Malden, MA: Blackwell Science, 1997.
4. Oakley CM. Valvular disease in pregnancy. *Curr Opin Cardiol* 1996; 5: 155–9.
5. Gordon CF, Johnson MD. Anesthetic management of the pregnant patient with Marfan syndrome. *J Clin Anesth* 1993; 5: 248–51.
6. Brown CS, Bertoler BD. Pericardium cardiomyopathy: a comprehensive review. *Am J Obstet Gynecol* 1998;178: 409–14.
7. Elkus R, Popovich J Jr. Respiratory physiology in pregnancy. *Clin Chest Med* 1992; 13: 555–65.
8. Thomson KJ, Cohen ME. Studies on the circulation. II. Vital capacity observations in normal pregnancy. *Surg Gynecol Obstet* 1938; 66: 591–603.
9. Alaily AB, Carroll KB. Pulmonary ventilation in pregnancy. *Br J Obstet Gynecol* 1978; 85: 518–24.
10. Gilbert R, Epifano L, Auchincloss JH. Dyspnea of pregnancy: a syndrome of altered respiratory control. *JAMA* 1962; 128: 1073–7.

ANEMIJE V NOSEČNOSTI

Tanja Premru - Sršen

Uvod

V normalni nosečnosti se sestava krvi pomembno spremeni. Povečanje celokupnega volumna krvi in hemostatske spremembe so fiziološke spremembe, ki omogočajo, da porodnica brez posledic prenese normalno izgubo krvi med porodom. Plazemski volumen se v nosečnosti poveča za 50 %, masa eritrocitov pa za 18 do 25 %, odvisno od razpoložljivega železa. Te spremembe povzročijo razredčitveni padec koncentracije hemoglobina, kar poznamo kot fiziološko anemijo v nosečnosti. Fiziološka anemija doseže vrh v 32. tednu nosečnosti.

Zaradi fizioloških sprememb odkrijemo s presejalnimi testi v nosečnosti mnoge anemije, ki bi sicer ostale neodkrite. Povečane ali spremenjene prehranske in presnovne zahteve v nosečnosti povzročijo, da postanejo že prej obstoječi subklinični patofiziološki procesi opazni. Anemija je tako ena od bolezenskih stanj, s katerimi se perinatologi pogosto srečamo.

Definicija anemije v nosečnosti

Anemija v nosečnosti se po SZO definira s koncentracijo hemoglobina manj kot 110 g/l. Center za nadzor bolezni v ZDA (CDC, 1990) je upošteval fiziološko gibanje koncentracije hemoglobina v nosečnosti, zato je definiral anemijo v nosečnosti pri koncentraciji hemoglobina manj kot 110 g/l v prvem in tretjem trimesečju in manj kot 105 g/l v drugem trimesečju. Hematokrit, manjši od 31 %, je v nosečnosti značilen za anemijo. V puerperiju koncentracija hemoglobina, če ni večje krvavitve med porodom, ni pomembno manjša kot pred porodom. Po porodu koncentracija hemoglobina nekaj dni običajno zmerno niha okoli predporodne koncentracije, nato pa se poveča na koncentracijo pred nosečnostjo. Povečanje koncentracije hemoglobina v puerperiju je odvisno od povečanja količine hemoglobina v nosečnosti in izgube krvi med porodom. Na to pa vpliva poporodno zmanjšanje plazemskega volumna.

Klasifikacija anemij

Anemije lahko razdelimo glede na vzroke ali morfološke spremembe in/ali kvantitativne značilnosti eritrocitov (*Tabela 1 in 2*). Druga razvrstitev je klinično bolj uporabna, saj se perinatolog sreča najprej s spremembami v hemogramskih vrednostih, te pa ga vodijo k nadaljnjim preiskavam.

Redno prenatalno presejanje in vrednotenje rezultatov

Določanje anemije zgolj na osnovi zmanjšane hematokrita in/ali zmanjšane koncentracije hemoglobina lahko pripelje do zmot. V nosečnosti je potrebno eritrocite oceniti tudi morfološko, kar najpogosteje naredimo z avtomatiziranimi metodami. Velikost eritrocitov in koncentracija hemoglobina v eritrocitih sta pomembna podatka za ugotavljanje najverjetnejšega mehanizma nastanka anemije. Za nadaljnjo opredelitev anemije je potrebno določiti tudi število trombocitov in levkocitov.

Predporodno presejanje mora zajemati tudi določitev krvne skupine, Rh faktorja in indirektni Coombsov test. Čeprav tovrstno presejanje v osnovi opravljamo zaradi hemolitične bolezni pri novorojenčku, lahko z njim odkrijemo redke primere hemolitičnih anemij. Retikulocite določamo, ko želimo oceniti odgovor kostnega mozga na anemijo.

Tabela 1: Patofiziološki mehanizmi pri nastanku anemije.

Patofiziološki mehanizmi pri nastanku anemije
I. Zmanjšana tvorba eritrocitov
A. presnovna/nutritivna
– pomanjkanje železa
– pomanjkanje folne kisline
– pomanjkanje vitamina B ₁₂
B. odpoved kostnega mozga
– aplastična anemija
– mielofistična anemija
– kronična vnetna anemija/anemija pri kroničnih boleznih
– endokrinopatije
– zdravila
II. Povečana razgradnja eritrocitov
A. nepravilnosti eritrocitov
– sferocitoza in druge membranske nepravilnosti
– pomanjkanje G6PD in druge bolezni pomanjkanja encimov
– hemoglobinopatije
B. zunanje nepravilnosti
– imunske
– mikroangiopatije
– splenomegalija
– bakterijske okužbe (Clostridia)
III. Krvavitev
A. akutna
– abrupcija placente
– placenta previja
– poškodba
B. zunanje nepravilnosti
– gastrointestinalni tumorji
– ulkus

Anemija zaradi pomanjkanja železa

Anemija zaradi pomanjkanja železa je v nosečnosti najpogostejša. Prikrita izguba železa v nosečnosti je približno 1 mg/dan. Izven nosečnosti se dnevno iz hrane vsrka 1 do 2 mg železa. V nosečnosti je dnevna potreba po železu povprečno 4 mg (od 2,5 mg v zgodnji nosečnosti do 6,6 mg v zadnjem trimesečju). Nosečnica lahko zadosti povečani potrebi le z mobilizacijo zalog železa in, če so te izpraznjene pred zanositvijo, se bo razvila anemija v nosečnosti. Vegetarjanke so pri tem še bolj ogrožene.

Z razvojem pomanjkanja železa, se najprej zmanjša feritin in šele nato serumsko železo. Povprečen volumen eritrocitov (MCV) se prav tako zmanjša in je pomemben znak anemije zaradi pomanjkanja železa. Pomanjkanje železa vpliva na encime, odvisne od železa, ki so prisotni v vsaki celici. To povzroči pomembne spremembe v telesnem delovanju, kot so moteno delovanje mišic, moteno nevrotansmitorsko delovanje, zmanjšana sposobnost za telesno dejavnost, epiteljske spremembe in spremembe v delovanju prebavil.

Tabela 2: Morfološka razvrstitev anemij.

Morfološka razvrstitev anemij
I. Mikrocitna/hipohromna <ul style="list-style-type: none">– pomanjkanje železa– talasemije– hemoglobinopatije
II. Normocitna <ul style="list-style-type: none">A. izguba eritrocitov (povečane vrednosti retikulocitov)<ul style="list-style-type: none">– akutna krvavitev– hemolitične anemije<ul style="list-style-type: none">• intravaskularne<ul style="list-style-type: none">◦ mikroangiopatična hemolitična anemija◦ paroksizmalna nočna hemoglobinurija◦ akutna G6PD◦ sepsa, ki jo je povzročil <i>Clostridium perfringens</i>◦ telesna poškodba ali opekline• ekstravaskularne<ul style="list-style-type: none">◦ intrinzične motnje<ul style="list-style-type: none">▪ hemoglobinopatije▪ G6PD▪ sferocitoza▪ eliptocitoza◦ ekstrinzične motnje<ul style="list-style-type: none">▪ avtoimunska hemolitična anemija▪ sekundarne imunske hemolitična anemije<ul style="list-style-type: none">□ zdravila□ limfoproliferativne motnje□ vezivnotkivne bolezni◦ hipersplenizemB. zmanjšana tvorba eritrocitov (zmanjšane vrednosti retikulocitov)<ul style="list-style-type: none">– kronične bolezni/vnetje– depresija kostnega mozga/infiltracija– sideroplastična anemija– aplazija/hipoplazija eritrocitov
III. Makrocitna <ul style="list-style-type: none">A. nutritivna<ul style="list-style-type: none">– pomanjkanje železa– pomanjkanje folne kisline– pomanjkanje vitamina B₁₂B. malabsorpcijska<ul style="list-style-type: none">– Chronova bolezen– celiakija– trakulja– perniciozna anemija

Tveganje za nosečnico in plod

Pomanjkanje železa vpliva na delovanje tkivnih encimov, ki so odvisni od železa, kar ima lahko pomemben učinek na celično delovanje in na centralni živčni sistem. Različni učinki pomanjkanja železa na celično delovanje so lahko vzrok za večjo pojavnost prezgodnjega poroda pri anemiji v nosečnosti. Majhna koncentracija hemoglobina (< 3SD) v 12. tednu nosečnosti nosi 1,7-kratno tveganje za prezgodnji porod. Anemija pri nosečnici lahko vpliva na placentno vaskularizacijo s spremenjeno angiogenezo v zgodnji nosečnosti in je lahko povezana z zastojem plodove rasti. Obstaja odvisna povezava med anemijo zaradi pomanjkanja železa pri nosečnici in večjo težo placente ter večjim razmerjem med težo placente in porodno težo. Z zastojem plodove rasti pa so povezane mnoge kronične bolezni, ki se razvijejo kasneje v življenju, kot so povečan arterijski pritisk, srčno-žilne bolezni, manjša gostota glomerulov.

Pri nosečnicah s pomanjkanjem železa je krvavitev ob porodu lahko večja. Pri tem krvavitev težje prenesejo. Zdrave nosečnice lahko brez večjega padca v koncentraciji hemoglobina prenesejo krvavitev do 1000 ml. Pri ženskah z anemijo zaradi pomanjkanja železa lahko traja leto dni, da se koncentracija hemoglobina povrne na vrednost pred zanositvijo.

Otroci, rojeni materam z anemijo zaradi pomanjkanja železa, imajo pomembno manjše koncentracije feritina v popkovni krvi. Manjša zaloga železa pri novorojenčkih anemičnih mater vpliva na zalogo železa in na razvoj anemije v prvem letu otrokove starosti, ko je vnos železa majhen. Pri otrocih s pomanjkanjem železa so opazili motnje v vedenju zaradi sprememb v koncentraciji kemičnih mediatorjev v možganih. Pomanjkanje železa tudi v odsotnosti anemije vodi v zmanjšano mentalno razvojno sposobnost, kar lahko pri nekaterih otrocih izboljšamo z dodajanjem železa.

Diagnoza

Koncentracija hemoglobina

Zmanjšanje koncentracije hemoglobina v krvi je razmeroma pozen znak v razvoju pomanjkanja železa, vendar je trenutno najpreprostejši neinvazivni test. Koncentracija hemoglobina, manjša od 105 g/l v drugem in tretjem trimesečju, najverjetneje ni normalna in zahteva nadaljnje preiskave.

Značilnosti eritrocitov

Spodbujena eritropoeza je vzrok za pojav večjega deleža mladih velikih eritrocitov, ki maskirajo učinek pomanjkanja železa na MCV v nosečnosti tudi takrat, ko je anemija očitna. Pri nosečnicah z normalno zalogo železa se volumen eritrocitov poveča za povprečno 4 fl, pri nekaterih pa je to povečanje lahko tudi 20 fl. MCV je slab kazalec anemije zaradi pomanjkanja železa v nosečnosti. Pri nosečnicah, ki imajo ob zanositvi že razvito anemijo ali zmanjšano zalogo železa, se hitro razvije anemija z zmanjšanim MCV, zmanjšano količino hemoglobina v eritrocitih (MCH) in koncentracijo hemoglobina v eritrocitih (MCHC). Največji diagnostični problem so torej nosečnice, ki imajo ob zanositvi normalne zaloge železa.

Serumsko železo in TIBC (total iron binding capacity)

Serumsko železo skupaj s TIBC omogoča oceno zasičenosti transferina. Zmanjšana zasičenost transferina kaže na zmanjšano oskrbo tkiv z železom in na razvoj pomanjkanja železa. V tem času je motena eritropoeza in pojavijo se slabi učinki na tkivne encime, ki so odvisni od železa.

Pri zdravih nenosečih ženskah so meje normalne koncentracije serumskega železa med 13 in 27 $\mu\text{mol/l}$. Koncentracija serumskega železa kaže precejšnje dnevne spremembe in se lahko spreminja iz ure v uro. Koncentracija TIBC z razponom pri nenosečih ženskah med 45 in 72 $\mu\text{mol/l}$ se veča v povezavi s pomanjkanjem železa in manjša pri kroničnih vnetjih. V nosečnosti je povečana zaradi povečanega plazemskega volumna. Pri osebah brez anemije je zasičenega z železom približno ena tretjina TIBC.

V nosečnosti sta serumsko železo in zasičenost TIBC večinoma zmanjšana. Serumsko železo je tudi v povezavi s TIBC zaradi velikega nihanja nezanesljiv kazalec zalog železa. Kljub temu serumsko železo, manjše od 12 $\mu\text{mol/l}$ in zasičenost TIBC, manjša od 15 %, kažeta na pomanjkanje železa v nosečnosti.

Feritin

Pri zdravih nenosečih ženskah je normalen razpon koncentracij med 15 in 300 $\mu\text{g/l}$. Koncentracija feritina, manjša od 12 $\mu\text{g/l}$, kaže na pomanjkanje železa.

Feritin je stabilen in zadovoljivo zrcali zaloge železa v odsotnosti vnetja. V razvoju anemije zaradi pomanjkanja železa je majhna koncentracija feritina prvi nenoramljen laboratorijski test.

Receptor za transferin (TfR)

Serumski TfR je nova in dokaj zanesljiva metoda za določanje stanja železa v celicah. Prisoten je v vseh celicah kot transmembranski protein, ki veže železo, vezano na transferin, in ga prenaša v celico. Občutljive imunološke tehnike so pokazale, da TfR kroži v manjših količinah v plazmi vseh ljudi, koncentracija TfR pa je premosorazmerna celokupni masi TfR v telesu. Pri anemiji zaradi pomanjkanja železa je koncentracija plazemskega TfR približno trikrat večja in je dober kazalec zgodnjega pomanjkanja železa v tkivih. V nosečnosti je še posebno koristen, ker pomaga razlikovati nosečnice z anemijo zaradi pomanjkanja železa od nosečnic, ki imajo majhno koncentracijo feritina zaradi mobilizacije uskladiščenega železa, ali od nosečnic, ki imajo majhno koncentracijo hemoglobina zaradi hemodilucije. V pomoč je tudi pri razlikovanju tistih z normalno ali povečano koncentracijo feritina zaradi kroničnih vnetnih bolezni od tistih z zmanjšano zalogo železa, kar vodi v pravo pomanjkanje železa v tkivih. Medtem ko feritin kaže stanje celokupnih zalog železa, TfR kaže stanje železa v tkivih.

Zdravljenje

Pred zanositvijo

Ženske z dokazano anemijo zaradi pomanjkanja železa, je potrebno zdraviti s pripravki železa še pred zanositvijo. Ženske moramo opozoriti na spremembo barve blata zaradi zdravil, nelagodje s strani prebavnega trakta in zaprtje.

Prenatalno

SZO priporoča dodajane 30 do 60 mg železa na dan nosečnicam z normalno zalogo železa in 120 do 240 mg na dan nosečnicam z zmanjšano zalogo ali brez zalog železa.

Ali potrebujejo dodatno železo vse nosečnice, ni v celoti razjasnjeno. Eden od predlogov za ugotavljanje nosečnic, pri katerih obstaja večje tveganje za razvoj anemije zaradi pomanjkanja železa, je določanje koncentracije feritina v prvem trimesečju. Mejna koncentracija za dodajanje železa v nosečnosti je koncentracija serumskega feritina, manjša od 50 µg/l, medtem ko nosečnice s koncentracijo serumskega feritina, večjo od 80 µg/l, najverjetneje ne bodo potrebovale dodajanja železa.

Anemijo zaradi pomanjkanja železa zdravimo s peroralnimi pripravki, običajno v kombinaciji s folno kislino. Nekatero nosečnice se pritožujejo zaradi simptomov v želodcu, najpogostejši stranski učinek pa je zaprtje. Stranski učinki so pogosto vzrok za nedoslednost pri jemanju zdravil, zato je v redkih primerih potrebno parenteralno zdravljenje. Injekcije železovih pripravkov v mišico so boleče, pri dajanju železa v veno pa lahko pride do anafilaktične reakcije, običajno po prvih mililitrih. Železov dekstran lahko dajemo v obliki zaporednih intramuskularnih injekcij ali v celokupnem odmerku kot intravensko infuzijo. Zdravljenje je ustrezno, če se koncentracija hemoglobina povečuje za 8 g/l na teden. Z oralnim zdravljenem nadaljujemo še 3 mesece po izboljšanju anemije. V izjemnih primerih pri hujši anemiji zaradi pomanjkanja železa, zlasti tik pred porodom, zdravimo tudi s transfuzijo.

Postnatalno

Pri ženskah z očitno anemijo zaradi pomanjkanja železa, zlasti še pri doječih ženskah, je potrebno nadaljevati jemanje zdravil.

Anemija zaradi pomanjkanja folne kisline

Tveganje za nosečnico in plod

Potreba po folni kislini v nosečnosti se poveča zaradi potreb ploda, placente, hipertrofije maternice in povečanja mase eritrocitov. Folna kislina je nujno potrebna za celično rast in deljenje, zato so tkiva, ki hitro rastejo ali se hitro obnavljajo, bolj občutljiva na pomanjkanje folne kisline. Kostni mozeg in epiteljske celice so zato še posebej občutljivi.

Folna kislina v plazmi pada z napredovanjem nosečnosti in doseže ob porodu približno polovično vrednost nenoseče ženske. Očistek folne kisline skozi ledvici se podvoji že v 8. tednu nosečnosti.

Vzrok za megaloblastno anemijo v nosečnosti je skoraj vedno pomanjkanje folne kisline, pomanjkanje vitamina B₁₂ pa le redkokdaj. Incidenca megaloblastne anemije v nosečnosti naj bi bila 0,2 do 5,0 %. Megaloblastna anemija zaradi pomanjkanja folne kisline se razvije kar pri tretjini nosečnic, ki so odvisne od vnosa folne kisline samo iz prehrane. Incidenca megaloblastne anemije je večja pri večplodnih nosečnostih. Mnoga živila so bogata s folno kislino, toda kar 90 % folne kisline se razgradi v prvih minutah vrenja. S prehrano naj bi vnesli v telo povprečno 200 µg folne kisline na dan (od 129 do 600 µg). SZO priporoča dodajanje 800 µg folne kisline v prenatalnem obdobju in 600 µg med dojenjem.

Novorojenček, ki se rodi materi z megaloblastno anemijo, ima večje tveganje za megaloblastno anemijo, še zlasti, če se rodi prezgodaj. Obstaja tudi povezava med pomanjkanjem folne kisline ob spočetju in anomalijami pri plodu: harelip, razcepljeno nebo in, najpomembnejše, napake zaradi nepravilnega zapiranja živčne cevi, kot je spina bifida. Incidenca napak živčne cevi pri plodu zmanjšamo za več kot polovico, če ženska jemlje 400 do 800 µg folne kisline vsaj tri mesece pred zanositvijo in prve tri mesece nosečnosti.

Diagnoza

Diagnoza anemije zaradi pomanjkanja folne kisline je v nosečnosti zahtevna. Pri nenoseči ženski je pojav makrocitoze (povečan MCV) glavni znak megaloblastne anemije. V nosečnosti so eritrociti lahko fiziološko večji za 4 do 20 fl, pri anemiji zaradi pomanjkanja železa pa je v začetnem obdobju makrocitoza še izrazitejša. Tudi hipersegmentacija levkocitov, ki je izrazita pri pomanjkanju folne kisline, medtem ko v nosečnosti normalno opazujemo pomik v levo, je lahko prisotna tudi pri pomanjkanju železa. Določanje plazemske folne kisline je nezanesljivo, saj so možna precejšnja dnevna nihanja. Bolj zanesljivo je določanje folne kisline v eritrocitih, vendar se pomanjkanje folne kisline v eritrocitih zaradi počasnega obrata eritrocitov, izrazi šele pozno v razvoju anemije.

Na megaloblastno eritropoezo moramo pomisliti, ko ne dosežemo ustreznega odgovora na zdravljenje s pripravki železa.

Nosečnice z megaloblastno anemijo lahko razvijejo tudi klinične simptome, kot so huda slabost, bruhanje in anoreksija.

Zdravljenje

Pred zanositvijo

S tveganjem za nosečnico in plod zaradi pomanjkanja folne kisline moramo ženske seznaniti še pred zanositvijo. CDC in Ameriško združenje za porodništvo in ginekologijo (ACOG) priporočata ženskam v reproduktivnem obdobju uživanje 400 µg folne kisline dnevno s prehrano ali farmakološkimi pripravki. V nekaterih državah, kot sta Velika Britanija in Kanada, dodajajo folno kislino osnovnim prehranskim proizvodom. Za nosečnice, ki so že rodile otroka z napako pri zapiranju živčne cevi, je priporočljivo dodajanje 4 mg folne kisline dnevno.

Prenatalno

Razlogi za profilaktično zdravljenje s folno kislino vso nosečnost so dokaj trdni. CDC in ACOG priporočata dnevni odmerek folne kisline 400 µg. Nekateri ob tem priporočajo tudi dodajanje železa.

Tveganje za zaplete pri jemanju folne kisline v nosečnosti pri nosečnicah s pomanjkanjem vitamina B₁₂ je zelo majhno. Bolnice s tako hudim pomanjkanjem vitamina B₁₂ so navadno neplodne. Do sedaj nihče ni poročal o subakutni kombinirani degeneraciji hrbtenjače pri nosečnicah, ki so jemale pripravke folne kisline.

Pri odkritju megaloblastne hematopoeze v nosečnosti zdravimo s 5 mg folne kisline peroralno na dan. Zdravljenje nadaljujemo še več tednov po porodu. Pri neodzivnosti na peroralno zdravljenje dajemo folno kislino parenteralno.

Nosečnice z antikonvulzantno terapijo, predvsem tiste, ki prejemajo fenitoin in fenobarbiton, imajo dodatno porušeno folatno ravnovesje. Zgodnejše raziskave so pokazale, da je vodenje epilepsije pri nosečnicah, ki prejemajo 5 mg folne kisline dnevno, težavno. Novejši izsledki pa kažejo, da dodajanje 100 do 1000 µg folne kisline dnevno ne povzroča tovrstnih težav. Antikonvulzantno zdravljenje je povezano z večjo pojavnostjo anomalij pri plodu, prezgodnjim porodom in majhno porodno težo, kar je še dodatni razlog za dodajanje folne kisline nosečnicam z epilepsijo.

Ženske s hemolitično anemijo, predvsem zaradi hemoglobinopatij in prirojene sferocitoze, potrebujejo dodajanje pripravkov folne kisline od zanositve, če se želimo izogniti razvoju megaloblastne anemije. Priporočeni odmerek je 5 do 10 mg dnevno. Tudi pri anemiji zaradi talasemije je priporočeno dodajanje 5 mg folne kisline dnevno. Dodajanje folne kisline je pomembno tudi pri sindromih srpastih celic, Chronovi bolezni, alkoholizmu in nekaterih vnetnih kožnih boleznih.

Postnatalno

V šestih tednih po porodu se vse vrednosti tudi folne kisline vrnejo na vrednosti pred zanositvijo. Vedeti pa moramo, da dojenje predstavlja dodatno izgubo približno 25 µg folne kisline dnevno.

Anemija zaradi pomanjkanja vitamina B₁₂

Koncentracija vitamina B₁₂ v mišicah, eritrocitih in serumu v nosečnosti normalno pade. Koncentracija pade z 205 do 1025 µg/l pri nenosečih ženskah na 20 do 510 µg/l ob roku poroda, pri večplodni nosečnosti pa so te vrednosti še manjše.

Tveganje za nosečnico in plod

Megaloblastna anemija zaradi vitamina B₁₂ v nosečnosti je izjemno redka. Absorbcija vitamina B₁₂ se v nosečnosti ne spremeni, povečan je le vnos v tkiva zaradi delovanja estrogena. Koncentracija vitamina B₁₂ v popkovni krvi je večja kot v materini. Do padca koncentracije vitamina B₁₂ pri nosečnici pride zaradi prednostnega prenosa absorbiranega vitamina B₁₂ k plodu. Nosečnost ne vpliva pomembno na zaloge vitamina B₁₂, ki so pri odraslem 3000 µg, pri novorojenčku pa 50 µg.

Addisonova perniciozna anemija, za katero je značilna zmanjšana resorb-cija vitamina B₁₂ zaradi pomanjkanja intrinzičnega faktorja, je izredno redka avtoimunska bolezen v reproduktivnem obdobju. Če je ne zdravimo pri mlajših ženskah, je vzrok za neplodnost. V nosečnosti se megaloblastna anemija zaradi pomanjkanja vitamina B₁₂ lahko razvije pri nosečnicah z delno ali parcialno resekcijo želodca, pri Chronovi bolezni, resekciji ileuma, bakterijski invaziji tankega črevesja ali kronični tropski sprue.

Zdravljenje

Pred zanositvijo

Ženske z anemijo zaradi vitamina B₁₂ se zdravijo še pred zanositvijo, saj so zaradi bolezni navadno neplodne.

Prenatalno

Priporočljiv vnos vitamina B₁₂ pri nenoseči ženski je 2,0 µg dnevno in pri nosečnici 3,0 µg dnevno. To količino lahko zadovoljimo z normalno prehrano, ki vsebuje tudi živalske izdelke. Strogim vegetarijankam moramo vitamina B₁₂ dodajati.

Aplastična in hipoplastična anemija

Aplastična in hipoplastična anemija se redkokdaj pojavi v nosečnosti, sta pa zelo resen zaplet. Diagnozo določimo, ko ugotovimo anemijo navadno s trombocitopenijo, levkopenijo in hipocelularnim kostnim mozgom. V približno tretjini primerov anemijo sprožijo zdravila in druge kemikalije, okužbe, obsevanje, levkemija in imunološke motnje. Fanconijeva anemija in Diamond-Blackfanov sindrom sta dedni bolezni. V dveh tretjinah primerov vzroka ne odkrijemo. Pri hudi obliki anemije, ko je celularnost kostnega mozga manjša od 25 %, je enoletno preživetje samo 20 %.

Aplastična anemija v nosečnosti

V večini primerov sta aplastična anemija in nosečnost hkrati zgolj slučajni. Pri nekaj ženskah so ugotovili hipoplastično anemijo prvič v nosečnosti, ki se je po porodu oziroma prekinitvi nosečnosti izboljšala oziroma pozdravila, in se ponovno pojavila v naslednji nosečnosti. Opisana sta dva primera nosečnosti pri ženskah z Diamond-Blackfanovo anemijo, avtosomno recesivno boleznijo z aplazijo eritrocitov. Nekatere bolnice se dobro odzovejo na zdravljenje z glukokortikosteroidi, večina pa je odvisna od transfuzij. Gaucherjeva bolezen je avtosomno recesivna s pomanjkanjem lizosomnih encimov. Anemija in trombocitopenija se poslabšata v nosečnosti. Nadomeščanje algluceraznega encima lahko izboljša izid v nosečnosti.

Dve največji nevarnosti za nosečnice z aplastično anemijo sta okužba in krvavitev. Smrtnost med nosečnostjo ali po njej je 50 %, glavna razloga pa sta ravno sepsa in krvavitev. Fanconijeva anemija ima boljšo prognozo, vendar imajo bolnice, ki zanosijo, lažjo obliko bolezni.

Zdravljenje

Najučinkovitejše zdravljenje aplastične anemije je presaditev kostnega mozga. Za bolnike z lažjo obliko aplastične anemije ali za bolnice, za katere ne najdemo ustreznega darovalca, je najboljšo možno zdravljenje z antitimocitnimi globulini. Imunosupresivno zdravljenje izboljša odgovor na zdravljenje z antitimocitnimi globulini. Zdravljenje je možno tudi s kortikosteroidi ter z velikimi odmerki testosterona ali drugega androgenega steroida. Ob tem lahko plod ženskega spola razvije znake virilizacije, psevdohermafraditizem.

Aktivno moramo iskati možne okužbe. Zdravljenje mora biti takojšnje. Transfuzije granulocitov dajemo le med okužbo. Transfuzije eritrocitov dajemo le pri simptomatski anemiji tako, da vzdržujemo hematokrit na vrednosti okoli 20. Pri hudi trombocitopeniji damo transfuzije trombocitov. Priporočljiv je vaginalni porod s čim manj poškodbami in dajanjem učinkovitih uterotonikov takoj po porodu ploda, da zmanjšamo izgubo krvi.

Nosečnost pri ženskah s presajenim kostnim mozgom pospeši zavrnitveni odgovor organizma. Preživetje pri bolnikih z dveletnim obdobjem brez bolezni je 90 %. Večino smrti v prvih dveh letih po presaditvi povzroči zavrnitveni odgovor presadka proti prejemniku. Vse pogostejša so poročila o uspešnih nosečnostih po presaditvi kostnega mozga. Približno polovica jih po presaditvi zanosi. Pri teh nosečnicah pa so lahko pogostejši zapleti, kot sta prezgodnji porod (25 %) in hipertenzija (15 %).

Anemija zaradi akutne krvavitve

Anemija zaradi akutne krvavitve se najpogosteje razvije v puerperiju. Krvavitve je lahko huda pri placenti previji, abrupciji placente, atoniji uterusa po porodu, adherentni placenti, poškodbah mehkih porodnih poti in pri carskem rezu. V zgodnji nosečnosti so hude krvavitve možne pri spontanem splavu, zunajmaternični nosečnosti in hidatiformni moli. Pri hudi krvavitvi moramo najprej vzpostaviti hemostazo in žensko volumsko stabilizirati, šele nato zdravimo anemijo. Rezidualno anemijo zdravimo z železom.

Anemija pri kroničnih boleznih

Šibkost, hujšanje in bledica so od nekdaj znani simptomi kronične bolezni. Ob tem se pogosto odkrije zmerna in včasih celo huda anemija, ki je običajno hipohromna mikrocitna. Včasih so bile kronične okužbe, kot so tuberkuloza, endokarditis in osteomielitis, glavni vzroki za anemijo, danes pa anemijo bolj pogosto odkrijemo pri kronični ledvični odpovedi, rakavih boleznih in kemoterapiji, okužbi s HIV in kroničnih vnetnih boleznih.

Pri nenosečih bolnicah je hemoglobin redko manjši od 70 g/l, serumsko železo je pod normalno mejo, TIBC je zmanjšana, serumski feritin pa je povečan. V nosečnosti se anemija še poslabša zaradi večanja plazemskega volumna.

Pri kronični ledvični bolezni se anemija razvije zaradi pomankljive tvorbe eritropoetina. Zato se anemija v nosečnosti ob povečanju plazemskega volumna, ki mu ne sledi povečanje mase eritrocitov, zelo poslabša.

Anemija zaradi kroničnih boleznih dobro odgovori na zdravljenje z rekombinantnim eritropoetinom. Tovrstno zdravljenje je uspešno pri kronični ledvični odpovedi, kroničnih vnetnih boleznih in rakavih boleznih.

Hemolitične anemije

Pridobljene hemolitične anemije

Avtoimunska hemolitična anemija

Avtoimunska hemolitična anemija je redka. Povzročajo jo lahko na toploti ali na mrazu aktivna protitelesa ali kombinacija obeh. Klasificiramo lahko primarne ali idiopatske, polovica pa jih je sekundarnih pri levkemijah, limfomih, vezivnotkivnih boleznih, nekaterih okužbah, kroničnih vnetnih boleznih ali po jemanju nekaterih zdravil.

Pri avtoimunskih hemolitičnih anemijah sta direktni in indirektni antiglobulinski (Coombsov) test pozitivna. Hemolizo in pozitiven antiglobulinski test lahko povzročijo IgG ali IgM antieritrocitna protitelesa. V perifernem razmazu krvi sta značilni sferocitoza in retikulocitoza.

V nosečnosti lahko pri ženskah z avtoimunsko hemolitično boleznijo opazujemo posešeno hemolizo. Zdravljenje z glukokortikosteroidi je običajno uspešno. Zdravilo izbire je prednizon 1 mg/kg telesne teže na dan. Spremljajoča trom-

bocitopenija prav tako reagira na kortikosteroidno zdravljenje. Potrebno pa je pogostejše spremljanje bolezni zaradi hitrih sprememb plazemskega volumna in hormonov v nosečnosti in po porodu.

IgM protitelesa ne prehajajo placent in ne ogrožajo plodovih eritrocitov. IgG protitelesa posteljico prehajajo in lahko vplivajo tudi na plodove eritrocite kot pri materini izoimunizaciji.

Transfuzija krvi je včasih potrebna, vendar se lahko zaplete zaradi cirkulirajočih antieritrocitnih protiteles.

Z zdravili povzročena hemolitična anemija

Nekatera zdravila lahko delujejo kot visokoafinitetni hapteni in izzovejo imunsko poškodbo eritrocitov. Hemolitična anemija je navadno blaga do zmerna, izjemoma je lahko huda akutna. Simptomi izzvenijo, ko prenehamo z dajanjem zdravila. Direktni antiglobulinski test je pozitiven, opazujemo sferocitozo in retikulocitozo.

Zdravila, ki lahko povzročijo hemolitično anemijo, so: acetaminofen, cefalosporini, klorpromazin, eritromicin, ibuprofen, izoniazid, metildopa, penicilini, probenecid, kinidin, rifampin, tiopental.

Z nosečnostjo izzvana hemolitična anemija

Hemolitična anemija v nosečnosti je redka. Huda hemoliza se pojavi že v zgodnji nosečnosti in izzveni nekaj mesecev po porodu. Značilno zanjo je, da ni dokazov za imunski mehanizem ali katerekoli nepravilnost znotraj ali izven eritrocitov. Verjetno je osnovno dogajanje vseeno imunsko, saj lahko opazimo prehodne motnje tudi pri plodu oziroma novorojenčku. Zdravljenje s kortikosteroidi je običajno učinkovito.

Paroksizmalna nočna hemoglobinurija

Paroksizmalna nočna hemoglobinurija je pridobljena nepravilnost matične hematopoetske celice, iz katere se razvijejo trombociti, granulociti in eritrociti z membransko nepravilnostjo, ki jih naredi bolj občutljive na lizo s komplementom. Nastanejo iz enega nepravilnega klona celic z mutacijo na X vezanega gena PIG-A.

Klinično nastopi nenadoma in ima kronični potek. Hemoglobinurija se pojavlja v nerednih intervalih. Bolezen je lahko blaga do huda. Približno 40 % bolnikov trpi zaradi venkih tromboz. Možen je tudi razvoj Budd-Chiarijevega sindroma zaradi tromboze hepatične vene. Pogoste so okvare ledvic in hipertenzija. Srednje preživetje po postavitvi diagnoze je 10 let, pri 15 % pa pride do spontane remisije. Zdravljenje je možno le s presaditvijo kostnega mozga.

Tveganje za nosečnico

Paroksizmalna nočna hemoglobinurija je resna in nepredvidljiva bolezen in za nosečnost pomeni veliko tveganje. Zapleti se lahko pojavijo pri dveh tretjinah do treh četrтинah nosečnic. Maternalna smrtnost je 10 %, polovica nosečnic ima lahko postpartalno vensko trombozo. Tveganje za fetalno/neonatalno smrt je povečano. Življenjsko nevarna zapleta sta hemoliza in krvavitev.

Druge pridobljene hemolitične anemije

Mikroangiopatična hemolitična anemija se lahko pojavi kot zaplet preeklampsije kot eden od znakov sindroma HELLP (Hemolysis, ELevated liver encime, Low Platelets). Najbolj fulminantno pridobljeno hemolitično anemijo v nosečnosti lahko povzroči eksotoksin *Clostridium perfringens* ali A β -hemolitičnega streptokoka. Endotoksin po Gramu negativnih bakterij, predvsem pri hudem pielonefritisu, lahko povzroči hemolizo z blago do zmerno anemijo.

Prirojene hemolitične anemije

Normalno so eritrociti bikonkavne oblike z večjo membransko površino glede na volumen, kar omogoča lažje prilagajanje eritrocitov pri prehodu skozi krvne žile. Mnoge membranske nepravilnosti in pomanjkanje nekaterih encimov destabilizira membranski lipidni sloj, kar zmanjša površino eritrocitov in zmožnost spreminjanja oblike med prehodom skozi krvne žile ter povzroči hemolizo. Med prirojenimi membranskimi nepravilnostmi, ki vodijo v hemolizo, so najpogostejše sferocitoza, piropoikilocitoza in ovalocitoza.

Prirojena sferocitoza

Prirojena sferocitoza je posledica pomanjkanja različnih membranskih proteinov. Lahko je avtosomno dominantna bolezen z različno penetracijo s pomanjkanjem spektrina, druge sferocitoze so avtosomno recesivne bolezni s pomanjkanjem ankirina ali proteina 4.2. Klinično se bolezen kaže z različno stopnjo anemije in zlatenico. Diagnozo potrdimo z dokazom sferocitov v razmazu periferne krvi, retikulocitozo in povečano občutljivostjo na ozmozo. Vranica je navadno povečana. Splenektomija zmanjša hemolizo, anemijo in zlatenico. Okužba poveča hemolizo, zato moramo vsakršno okužbo takoj zdraviti.

Tveganje za nosečnico in plod

V splošnem nosečnice s prirojeno sferocitozo nimajo večjih zapletov. Priporočljivo je dodajanje folne kisline (5–10 mg dnevno). Tudi za plod tveganje ni pomembno povečano.

Novorojenček s prirojeno sferocitozo lahko že v neonatalnem obdobju razvije hiperbilirubinemijo ali pa tudi ne.

Pomanjkanje eritrocitnih encimov

Za anaerobno presnovo glukoze potrebujejo eritrociti številne encime. Pomanjkanje mnogih od teh lahko povzročijo prirojeno nesferocitozno anemijo. Najpogostejši sta hemolitična anemija zaradi pomanjkanja glukoze-6fosfat-dehidrogenaze (G6PD) in piruvatne kinaze. Pomanjkanje G6PD je na kromosomu X vezana prirojena bolezen, pomanjkanje piruvatne kinaze pa je avtosomno recesivna bolezen. Anemija se pri hemolizi zaradi pomanjkanja eritrocitnih encimov pojavlja obdobjno. Hemolizo navadno izzovejo okužbe ali oksidativna zdravila.

Tveganje za nosečnico in plod

V nosečnosti priporočamo dodajanje pripravkov železa in folne kisline (5–10 mg dnevno). Vsako okužbo takoj zdravimo in se izogibamo oksidativnim zdravilom. Transfuzijo eritrocitov damo, ko pade hematokrit pod 20 razen, če niso že prej prisotni znaki srčne odpovedi zaradi hipoksije. Pri nosečnici s pomanjkanjem piruvatne kinaze so opisali ponavljajoči se fetalni hidrops pri homozigotnem plodu.

Hemoglobinopatije

Hemoglobinopatije so prirojene nepravilnosti hemoglobina, ki nastanejo zaradi motene sinteze globina (talasemije) ali strukturne nepravilnosti globina (različice hemoglobina).

Prirojene nepravilnosti hemoglobina povzročajo pomembno obolevnost in umrljivost povsod po svetu. Ogrožene so predvsem populacije v vzhodnem Sredozemlju, Srednjem vzhodu, delih Indije, Jugovzhodni Aziji, Afriki in Zahodni Indiji.

V normalnih razmerah prenašalci hemoglobinopatij nimajo težav in imajo normalno pričakovano trajanje življenja. V nosečnosti pa nastopi povečana hematopoeza, ki lahko zaplete nosečnost. Možni so že prenatalni testi za ugotavljanje bolezni pri plodu.

Talasemije

Osnovna nepravilnost pri talasemijah je zmanjšana tvorba verig globina. Delimo jih v dve glavni skupini α - in β -talasemije, glede na to, tvorba katere verige je zmanjšana.

β -talasemija

Talasemija major je razširjena v Sredozemlju in na Srednjem vzhodu. Preden je bila možna redna transfuzija, so otroci s talasemijo major umirali v prvih letih življenja zaradi odpovedi srca in ponavljajočih se okužb. Z rednimi transfuzijami se je življenjska doba bolnikov s talasemijo major podaljšala do zgodnjih dvajsetih let. Ob tem se razvijejo motnje v delovanju jeter in žlez ter predvsem poškodba srčne mišice. Do sedaj so opisali le en primer uspešne nosečnosti pri dekletu, odvisnem od transfuzij. V bodočnosti bo mogoče gensko zdravljenje. Zaenkrat je možna le alogena transplantacija kostnega mozga.

Zdravljenje in postopki v nosečnosti

V redkih primerih ženske s talasemijo major preživijo brez rednih transfuzij, vendar trpijo zaradi hudih kostnih deformacij, ki so posledica masivne razširitve kostnega mozga. Ob tem je običajno prisotna preobremenitev z železom. Zato v nosečnosti dodajamo zgolj folno kislino (5 mg dnevno). Anemijo zdravimo s transfuzijami.

Najpogosteje se v nosečnosti srečamo z ženskami s talasemijo minor, pri katerih se razvije mikrocitna hipohromna anemija. V nosečnosti dodajamo železo in folno kislino (5 mg dnevno). Železa ne smemo dajati parenteralno. V začetku nosečnosti določimo koncentracijo feritina, saj nekatere nosečnice nimajo majhnih zalog železa. Občasno so potrebne transfuzije.

α -talasemija

Pri α -talasemija obstajata dve vrsti prenašalcev: α^+ -talasemija z delecijo enega gena in α^0 -talasemija z delecijo dveh genov. HbH bolezen je vmesna oblika α -talasemije, kjer deluje samo en gen. HbH je ime za neobstojeen hemoglobin iz štirih β -verig (β_4). α -talasemija major, kjer ni nobenega delujočega gena, je nezdržljiva z življenjem. Plodovi, ki so prizadeti, pa so hidropični, se rodijo prezgodaj in umrejo navadno nekaj ur po porodu. Bolezen je v glavnem razširjena v Jugovzhodni Aziji.

Zdravljenje in postopki v nosečnosti

Pred nosečnostjo je potrebno ustrezno svetovanje o tveganju za plod in nosečnico. V nosečnosti se lahko razvije anemija, predvsem pri α^0 -talasemiji. Anemija je mikrocitna z različno koncentracijo hemoglobina, čeprav je količina hemoglobina v eritrocitih običajno v normalnih mejah. Nosečnicam dodajamo železo in folno kislino (5 mg dnevno). Železa ne dajemo parenteralno. Včasih je potrebna transfuzija.

Bolnice s HbH boleznijo imajo kronično hemolitično anemijo. Pričakovano trajanje življenja ni krajša, potrebujejo pa dnevno nadomeščanje folne kisline (5 mg dnevno).

Pri nosečnici z α -talasemija hidropsom se razvije huda preeklampsija, vaginalni porod pa se zaplete zaradi velikega ploda in velike placente. Nosečnice z večjim tveganjem za fetalni hidrops pozorno spremljamo, svetujemo prenatalno diagnostiko in prekinitve nosečnosti pri prizadetem plodu, da preprečimo hude zaplete v nosečnosti in med porodom.

Sindromi srpastih celic

Srpasto celični hemoglobin nastane kot posledica zamenjave glutaminske kisline z valinom v β -verigi. Najpogostejše bolezni srpastih celic so anemija zaradi srpastih celic (HbSS), bolezen srpastoceličnega hemoglobina C (HbSC), bolezen srpastocelične β -talasemije (HbS- β talasemija) in bolezen prenašalcev srpastih celic (HbAS). Srpastocelične bolezni se pojavljajo predvsem pri afriških črncih ter deloma pri saudskih Arabcih, Indijcih in Sredozemcih.

Značilna za HbSS bolezen so obdobja zdravja, ki se izmenjujejo z obdobji kriz. Kronična hemolitična anemija se razvije med 3. in 6. mesecem starosti. Simptomi zaradi anemije so pravzaprav redki zaradi manjše afinitete hemoglobina S za kisik, kar omogoča dobro oksigenacijo tkiv. Najpomebnejši zaplet v obdobju krize srpastih celic je ishemija s posledičnimi infarkti v različnih organih. Kriza se klinično kaže s pojavom hudih bolečin v različnih delih telesa. Krizo najpogosteje izzove okužba, dodatno pa jo poslabša dehidracija. Smrt najpogosteje nastopi po okužbi zaradi pljučne embolije. Zapleti s strani ledvic so prisotni skoraj pri vseh bolnikih. Kažejo se z nezmožnostjo koncentriranja urina, motnjami v izločanju proteinov in kalija in s hematurijo. Pri bolnicah navadno pride do avtosplenektomije, prisotna je hepatomegalija, ventrikularna hipertrofija, cerebrovaskularni dogodki, ulkusi na nogah, bolnice so bolj oobčutljive za razvoj sepse pri po Gramu pozitivnih in negativnih mikroorganizmih. Nezmožnost koncentriranja urina pri nosečnici poveča tveganje za dehidracijo med porodom. Pri nosečnicah pogosteje zasledimo hiperkalcemijo.

HbSC bolezen je bolj blaga oblika HbSS bolezni z normalno ali skoraj normalno ravnjo hemoglobina. Nevarnost bolezni je v tem, da nosečnica in porodničar ne vesta za njen obstoj. Ženske s HbSC boleznijo imajo večje tveganje za masivno, včasih celo smrtno, krizo v nosečnosti in zlasti v puerperiju.

HbS- β talasemijo včasih težko razlikujemo od HbSS bolezni. Ženske, ki imajo večji delež HbA, so manj prizadete, kljub temu pa imajo večje tveganje za razvoj krize v nosečnosti.

Prenašalke HbAS v normalnih razmerah nimajo anemije. Nosečnice prav tako niso anemične razen, če ne pride do dodatnih zapletov. Do krize pride le pri skrajni anoksiji, dehidraciji in acidozi.

Nosečnice z boleznijo srpastih celic predstavljajo poseben problem. Fetalne smrti so pogoste zaradi ishemije in infarktov v placenti. Splavi, prezgodnji porodi in drugi zapleti so bolj pogosti kot pri nosečnicah z normalnim hemoglobinom.

Zdravljenje in postopki

Pred zanositvijo

Pred zanositvijo je pomembno vzdrževati dobro zdravstveno stanje ženske. Preveriti je potrebno delovanje ledvic. Ženskam svetujemo glede možnega tveganja, da bo imel otrok enako bolezen. Diagnostične teste zato opravimo pri obeh starših.

Prenatalno

Zaenkrat dolgoročno ne moremo na noben način zmanjšati možnosti za nastanek srpastih celic. V obdobju krize z nobenim postopkom ali zdravilom ne moremo izboljšati nastalega stanja. Strog nadzor v nosečnosti in podporno zdravljenje sta edina postopka, ki lahko nekoliko zmanjšata možnost resnejših kriz. Zelo pomembna je skrb za dobro hidracijo.

Obstajata dva protokola za vodenje nosečnic z boleznijo srpasti celic. Po prvem protokolu dajemo nosečnici transfuzijo v rednih razmikih na 6 tednov, dokler ne dosežemo 60–70 % HbA. S tem razredčimo cirkulirajoči srpasti hemoglobin in zmanjšamo stimulacijo kostnega mozga, ki tako tvori manj nenormal-

nega hemoglobina. Nevarnost transfuzij je razvoj aloimunizacije, prenosa okužb in zapletov zaradi transfuzije. Zagovorniki drugega protokola menijo, da moderno prenatalno varstvo nosečnic samo brez transfuzij zmanjšuje maternalno obolevnost in umrljivost in izboljša izid nosečnosti. Transfuzijo v takem primeru damo samo ob razlogih. Pri večplodnih nosečnostih pa je redno dajanje transfuzij neizogibno.

Med porodom

Med porodom moramo skrbeti za dobro hidracijo. Skrbeti moramo, da ne pride do hipoksije, acidoze in sepse. Porod ne sme predolgo trajati. Zaradi nevarnosti aspiracije pri splošni anesteziji ima prednost regionalna anestezija. Pri tem moramo preprečiti nastanek hipotenzije s povijanjem in dvigom nog. Potrebno je sodelovanje porodničarja, anesteziologa in hematologa.

Postnatalno

Zavedati se moramo povečanega tveganja za razvoj trombembolije.

LITERATURA

1. Letsky EA. Anemia. In: James KJ, Steer PJ, Weiner CP, Gonik B ed. High risk pregnancy. Management options. Second edition. London, Edinburgh, New York, Philadelphia, Sydney, Toronto: W.B. Saunders, 1999: 729–47.
2. Cunningham FG, Gant NF, Leveno KJ, Gilstrap LC III, Hauth JC, Wenstrom KD ed. Hematological disorders. In: Williams obstetrics. 21st edition. New York: McGraw-Hill, 2001: 1308–38.
3. Pauerstein CJ ed. Hematological complications in pregnancy. In: Clinical obstetrics. New York, Edinburgh, London, Melbourne: Churchill Livingstone, 1987: 593-626.

TROMBOCITOPENIJE V NOSEČNOSTI

Veruška Meglič - Matoh, Barbka Novak - Supe

Ključne besede: trombocitopenija; nosečnost; gestacijska trombocitopenija; idiopatska trombocitopenična purpura; preeklampsija; sindrom HELLP

Key words: Thrombocytopenia; pregnancy; gestational thrombocytopenia; preeclampsia; idiopathic thrombocytopenic purpura; HELLP syndrome

Izvleček: V zadnjih letih z uporabo avtomatskih krvnih analizatorjev pri nosečnicah pogosteje ugotavljamo trombocitopenijo.

V nosečnosti se običajno srečujemo s sekundarnimi oblikami trombocitopenij, najpogosteje z gestacijsko trombocitopenijo. Pri približno 3 odstotkih vseh v nosečnosti ugotovljenih trombocitopenij pa gre za samostojno bolezen (ITP).

V večini primerov je v nosečnosti število trombocitov blago do zmerno zmanjšano. Pri hudih oblikah trombocitopenije se število trombocitov zmanjša pod $50 \times 10^9/l$. Huda trombocitopenija ogroža mater in plod zaradi krvavitve.

Opredelitev in spremljanje boleznih ter pravočasno zdravljenje so izrednega pomena.

V retrospektivni raziskavi smo pregledali dokumentacijo 142 nosečnic s trombocitopenijo, ki so rodile v ljubljanski porodnišnici v obdobju od januarja 1996 do decembra 2003, in predstavili rezultate.

Abstract: The incidence of thrombocytopenia in pregnancy appears to have increased since the advent of automated blood counters.

In pregnancy, secondary thrombocytopenias prevail, mostly gestational thrombocytopenia. Primary autoimmune thrombocytopenia (ITP) accounts for 3% of cases of thrombocytopenia in pregnancy.

Thrombocytopenia in pregnancy is usually mild to moderate. In its severe form, when the platelet count falls below $50 \times 10^9/l$, the risk of bleeding to the mother and the baby is increased.

Evaluation and monitoring of the condition and early implementation of specific treatment are of importance.

A retrospective study of thrombocytopenia in 142 pregnant women, who delivered at the Clinical department of perinatology of the Medical centre Ljubljana between January 1, 1996 and December 31, 2003, was conducted. The results of the study are presented.

Uvod

Trombocitopenija je druga najpogostejša nenormalnost v krvni sliki nosečnice. O trombocitopeniji govorimo, če je število trombocitov manjše od normalnega (manj kot $140 \times 10^9/l$). Z uporabo avtomatskih krvnih analizatorjev pogosteje ugotovimo trombocitopenijo, predvsem blage oblike in sekundarne oblike boleznih brez anamnestičnih podatkov o klinični sliki. Pravo trombocitopenijo moramo razlikovati od lažne (psevdotrombocitopenije), ki jo analizator zabeleži zaradi zlepljanja trombocitov – laboratorijski artefakt z antikoagulantom EDTA.

O blagi trombocitopeniji govorimo takrat, ko je število trombocitov med $100 \times 10^9/l$ in $140 \times 10^9/l$. Pri številu trombocitov med $50 \times 10^9/l$ in $100 \times 10^9/l$

govorimo o zmerni trombocitopeniji, pri številu trombocitov pod $50 \times 10^9/l$ pa o hudi obliki bolezni.

Trombocitopenijo v nosečnosti odkrijemo pri 5 % do 10 % vseh nosečnic (1–3). Trombocitopenije v nosečnosti so pretežno blage do zmerne in ne ogrožajo nosečnice in ploda, nekatere pa lahko povzročajo resno obolevnost in smrtnost matere ali otroka.

Vzroki za trombocitopenije so:

- a) zmanjšano nastajanje megakariocitov v kostnem mozgu,
- b) zvečano zadrževanje trombocitov v vranici,
- c) zvečan razpad in porabljanje trombocitov,
- č) kombinacija vzrokov.

Večina trombocitopenij ($\frac{3}{4}$) je sekundarnih, povezanih z nosečnostjo. Govorimo o gestacijski trombocitopeniji, ki je lahko samostojna (izolirana gestacijska trombocitopenija) ali v zvezi z nosečnostnimi hipertenzivnimi boleznimi. Med ostalo četrtino trombocitopenij je najpogostejša idiopatična trombocitopenija (ITP) (4), sledijo pa še druge sekundarne trombocitopenije zaradi povečanega porabljanja trombocitov (DIK, HUS, TTP, proteze srčnih zaklopk) ali zaradi povečanega razpada trombocitov zaradi aloprotiteles (neonatalna, po transfuziji), protiteles pri okužbah z virusi in po zdravljenih, pri avtoimunih boleznih (SLE, AFS) in limfoproliferativnih boleznih (*tabela 1*) (5).

Tabela 1: Vzroki trombocitopenije v nosečnosti (5).

ITP – idiopatična trombocitopenična purpura, AFS – antifosfolipidni sindrom,
SLE – sistemski lupus eritematosus, DIK – diseminirana intravaskularna koagulacija,
TTP – trombotska trombocitopenična purpura, HUS – hemolitično-uremični sindrom

PORABA / RAZPAD TROMBOCITOV

- Izolirana gestacijska trombocitopenija
- Avtoimunska trombocitopenija:
 - Primarna (ITP)
 - Sekundarna
 - AFS
 - SLE in druge bolezni vezivnega tkiva
 - Zdravila
 - Virusne okužbe (HIV, EBV, CMV...)
 - Limfomi
- Neimunska trombocitopenija:
 - DIK
 - Preeklampsija / sindrom HELLP
 - TTP / HUS
 - Heparin

ZADRŽEVANJE TROMBOCITOV V VRANICI

- Splenomegalija:
 - Portalna hipertenzija (jetrne bolezni, tromboza portalne / jetrne vene)
 - Mieloproliferativne bolezni
 - Limfoproliferativne bolezni
 - Lizosomske bolezni (Gaucherjeva bolezen)
 - Okužbe (malarija)

OKVARJENO NASTAJANJE TROMBOCITOV

- Zavrto delovanje kostnega mozga:
 - Zdravila
 - Aplastična anemija
 - Paroksizmalna nočna hemoglobinurija
 - Okužbe
- Infiltracija kostnega mozga pri različnih malignomih
- Hudo pomanjkanje vitamina B₁₂ in/ali folne kisline

Posledica trombocitopenije so krvavitve (petehije, purpura, ekhimoze) v koži, sluznicah ali notranjih organih. Lahko so spontane (brez očitnega vzroka) ali nastanejo zaradi poškodb, vnetja, razjed, operacij. Prav krvavitve ob porodu pri materi in plodu so velik problem. Različne raziskave poskušajo opredeliti smer-nice o načinu dokončanja poroda. Večina avtorjev meni, da carski rez ni metoda izbire (1,6–10).

Za opredelitev trombocitopenije v nosečnosti je zelo pomembno število trombocitov v zgodnji nosečnosti. Z natančno anamnezo in podatkom o številu trombocitov v zgodnji nosečnosti lahko z veliko gotovostjo opredelimo trom-bocitopenijo kot samostojno (ITP) ali sekundarno bolezen.

Za potrditev diagnoze ITP je potrebno določiti protitrombocitna protitelesa in citološko pregledati vzorec kostnega mozga (11). Po mnenju mnogih avtorjev določitev trombocitnih protiteles nima v nosečnosti jasne diagnostične vred-nosti za razlikovanje med ITP in gestacijsko trombocitopenijo (1,2,5,12,13).

Zdravljenje je odvisno od oblike trombocitopenije.

Pri sekundarnih oblikah trombocitopenije zdravimo osnovno bolezen in s tem posredno tudi trombocitopenijo.

Za zdravljenje ITP imamo več možnosti. Zdravljenje pričnemo z glukoko-rtikoidi - prednizolon (1 mg/ kg TT) pri nosečnicah s krvavitvijo ob nizkem številu trombocitov ali pred pričakovanim porodom oziroma pred načrtovanimi invazivnimi posegi, če je število trombocitov nižje od $50 \times 10^9/l$. Glukokortikoidi pri približno polovici bolnikov v nekaj dneh do enem tednu povzročijo porast števila trombocitov. Na žalost pride po zmanjšanju njihovega odmerka ali po prenehanju zdravljenja do ponovnega zmanjšanja števila trombocitov. Trajno zdravljenje z glukokortikoidi v večjih odmerkih ni izvedljivo zaradi škodljivih stranskih učinkov.

Če glukokortikoidi niso učinkoviti ali pa nimamo časa do njihovega priča-kovanega učinka, uporabimo imunoglobuline (0,4 g/ kg TT/ dan). Učinkovati začnejo že v 6 do 72 urah, vendar je njihov učinek žal le prehodni (zdravljenje je tudi drago).

Transfuzijo trombocitov uporabimo le pri hudih krvavitvah, ki bolnico živ-ljenjsko ogrožajo. Trombocitna protitelesa povzročajo razpad transfundiranih trombocitov, poleg tega pa transfundirani trombociti spodbudijo še močnejše nastajanje protiteles.

Splenektomija pri dveh tretjinah bolnikov povzroči remisijo bolezni, vendar je v nosečnosti zaradi problematičnosti praktično ne izvajamo (8).

Na Kliničnem oddelku za perinatologijo Ginekološke klinike smo opravili retrospektivno raziskavo o trombocitopenijah v nosečnosti v obdobju od 1. janu-arja 1996 do 31. decembra 2003.

Metode in material

Osnovne podatke o porodnicah s trombocitopenijo smo dobili iz Perinatal-nega informacijskega sistema in s pregledom knjig porodov za omenjena leta. S pomočjo teh podatkov smo iz arhiva Ginekološke klinike za vsako od teh porod-nic poiskali in pregledali celotno obporodno zdravstveno dokumentacijo.

Zanimala nas je starost in pariteta nosečnic s trombocitopenijo, vrste trom-bocitopenije, zdravljenje med nosečnostjo, potek in način poroda, zdravljenje obporodnih zapletov, število trombocitov pri novorojencih.

Rezultati

V ljubljanski porodnišnici je v obdobju od 1. januarja 1996 do 31. decembra 2003 rodilo 38.381 nosečnic.

Pri 149 so ugotavljali trombocitopenijo.

V 7 primerih (1/5.500 porodnic) je šlo za lažno trombocitopenijo (psevdo-trombocitopenijo).

Trombocitopenijo je imelo 142 nosečnic (1/270 vseh porodov oz. 0,37 %). V 66,4 % je bila povezana z nosečnostjo. Pri nosečnicah s preeklampsijo nismo imeli podatkov o trombocitopeniji, zato smo preučili samo tiste s sindromom HELLP. Pri 27,5 % nosečnic s trombocitopenijo je šlo za samostojno bolezen (ITP). Preostale porodnice so imele trombocitopenijo v sklopu drugih osnovnih bolezni (*tabela 2*).

Tabela 2: Vzroki trombocitopenij pri 142 preučevanih nosečnicah.

ITP – idiopatična trombocitopenična purpura

Vzroki trombocitopenij	Število nosečnic (n= 142)
Sindrom HELLP	55
Izolirana gestacijska trombocitopenija	44
ITP	39
Ostalo	4

Trombocitopenija je bila pri dobri polovici (51,5 %) zmerna, pri 19,7 % pa huda.

S carskim rezom je rodilo 52 nosečnic (67 % od teh je bilo porodnic s sindromom HELLP). Indikacije za carski rez so bile v vseh primerih porodniške.

Lastnosti populacije nosečnic s trombocitopenijo, ki so rodile v ljubljanski porodnišnici v obdobju od 1. januarja 1996 do 31. decembra 2003, prikazuje *tabela 3*.

Tabela 3: Trombocitopenije pri nosečnicah, ki so rodile v Ljubljani v obdobju od 1.1.1996 – 31.12.2003.

ITP – idiopatična trombocitopenična purpura

	Izolirana gestacijska trombocitopenija (n = 44)	ITP (n = 39)	Sindrom HELLP (n = 55)
Starost (leta)			
≤ 19	–	–	1
20 – 29	32	16	26
30 – 39	12	21	25
≥ 40	–	2	3
Pariteta (število porodov)			
1	18	13	30
2	21	16	15
≥ 3	5	10	10
Najmanjše število trombocitov (× 10⁹/l)			
> 100	29	4	5
50 – 100	15	24	26
< 50	–	11	14
Način poroda			
vaginalni	32	34	20
carski rez	12	5	35

Izolirano gestacijsko trombocitopenijo smo ugotovili pri 44 od 142 nosečnic s trombocitopenijo oz. pri 1/1000 vseh nosečnic (0,11 %). Pri dveh tretjinah je šlo za blago trombocitopenijo. Nosečnice s to obliko trombocitopenije so v 73 % rodile vaginalno. Pri nobeni porodnici in pri nobenem novorojencu ni bilo zapletov zaradi krvavitev ob zmanjšanem številu trombocitov.

V osmih letih je v Ljubljani rodilo 39 nosečnic z ITP (0,1 % vseh porodov). Za svojo bolezen je že pred nosečnostjo vedela dobra polovica (53,8 %), pri preostalih pa se je razkrila šele med nosečnostjo. Trombocitopenija je bila večinoma zmerna (pri 61 %). Pri 11 nosečnicah smo ugotavljali hudo trombocitopenijo. Med nosečnostjo smo zdravili 59 % nosečnic z ITP, večinoma z glukokortikoidi.

Večina nosečnic z ITP je rodila vaginalno, le pri 5 je bilo potrebno porod zaradi porodniških indikacij končati s carskim rezom. V 10 % (pri 4 porodnicah – 3 po vaginalnem porodu, 1 po carskem rezu) je ob porodu nastopila večja krvavitev (> 800 ml). Pri vseh smo morali ukrepati s transfuzijo eritrocitov in trombocitov, pri treh pa še z imunoglobulini.

Novorojenčki mater z ITP so bili po porodu natančneje nadzorovani. Vsem so preverili število trombocitov v krvi. Trombocitopenijo ($30 \times 10^9/l$) so odkrili le pri enem (2,5 %), ki pa ni imel nobenih kliničnih znakov krvavitev v notranje organe. Pri tem otroku se je do odpusta število trombocitov zvišalo na $57 \times 10^9/l$. Vsi ostali novorojenčki so imeli normalno število trombocitov. Vsi novorojenčki mater z ITP so bili zdravi.

Sindrom HELLP se je razvil pri 55 nosečnicah (0,14 % vseh nosečnic). Najmlajša je bila 19-letna prvorodka, najstarejša pa 45-letna četrtrodka. Trombocitopenija, ki je sestavni znak sindroma in merilo za slabšanje bolezni, je bila pri slabi polovici zmerna, pri eni četrtini pa huda. Dobra četrtina jih je rodila po 36. tednu nosečnosti. Največkrat (v 40 %) so morali nosečnost prekiniti v obdobju med 30. in 35. gestacijskim tednom, pri 9 % pa še pred dopolnjenim 28. tednom nosečnosti. Porod so pri 64 % nosečnic s sindromom HELLP dokončali s carskim rezom. Do večje poporodne krvavitve je prišlo pri 8 porodih (14,5 %), od tega 7-krat pri carskem rezu. Pet porodnic je prejelo transfuzijo eritrocitov in trombocitov.

Razprava

Pogostnost lažne trombocitopenije naj bi bila različna: pojavljala naj bi se pri 0,1 % normalnih nosečnosti (13), pri 1 na 2.000 do 6.000 bolnikov, oziroma v 0,85 % do 1,9 % vseh pregledanih vzorcev krvi (14). Izsledki naše raziskave (1/5.500) kažejo podobno.

Na podlagi pregledane literature in naših podatkov srečujemo v nosečnosti najpogosteje sekundarno trombocitopenijo (izolirano gestacijsko trombocitopenijo in gestacijsko trombocitopenijo pri hipertenzivnih boleznih povezanih z nosečnostjo) in ITP.

Izolirana gestacijska trombocitopenija

Običajno je število trombocitov blago do zmerno zmanjšano, vrednosti so nad $80 \times 10^9/l$ (izjemoma jo tudi nižje vrednosti ne izključujejo) (13). Pri naših nosečnicah je bilo najmanjše število trombocitov $70 \times 10^9/l$.

Pomemben podatek za diagnozo izolirane gestacijske trombocitopenije je normalno število trombocitov pred nosečnostjo ali v zgodnji nosečnosti.

Vzrok izolirane gestacijske trombocitopenije ni popolnoma jasen. K njemu nastanku prispevajo večja prostornina plazme, večje zadrževanje in razpad trombocitov v ožilju posteljice.

Je asimptomatska in ne predstavlja nevarnosti za mater in plod. Po porodu se število trombocitov pri materi normalizira v 24 do 72 urah. Novorojenček ima normalno ali blago zmanjšano število trombocitov.

Pri preiskovani populaciji nosečnic v naši raziskavi se je izolirana gestacijska trombocitopenija pojavljala manj pogosto, kot to navaja literatura (1–4). Predvidevamo, da je vzrok nepopolna evidenca teh nosečnic v začetnih letih raziskave.

Gestacijska trombocitopenija pri preeklampsiji in sindromu HELLP

Trombocitopenija je običajno zmerna.

Pojavlja se predvsem pri hudih oblikah bolezni (preeklampsija, eklampsija, sindrom HELLP). Vzrok trombocitopenije je v zvečani porabi in znotrajžilnem razpadu trombocitov. Zmanjševanje števila trombocitov je lahko napovedni znak slabšanja bolezni. Blago zniževanje števila trombocitov lahko ugotovljamo že pred pojavom kliničnih znakov hipertenzivnih bolezni.

Najhujšo stopnjo trombocitopenije srečamo pri sindromu HELLP (H – hemoliza, EL – zvečane vrednosti jetrnih encimov, LP – trombocitopenija, posebna oblika preeklampsije), ki pomeni posebno veliko tveganje za nosečnico (10,15–18).

Preeklampsija se pojavi samo ob navzočnosti posteljice in začne izginjati takoj po njeni odstranitvi iz telesa. Zato je tudi zdravljenje te vrste trombocitopenije le porod.

Če pride do večje krvavitve ob porodu, damo transfuzijo trombocitov. Trombocitopenija izzveni v nekaj dneh do 12 tednih po porodu.

Predčasno rojeni otroci imajo lahko zmanjšano število trombocitov in posledično znotrajlobanjsko krvavitev in krvavitve v prebavila. Pri donošenih novorojencih je krvavitev manj.

Z nosečnostjo povezane hipertenzivne bolezni naj bi bile vzrok za 21 % vseh trombocitopenij v nosečnosti (2). Pogostnost trombocitopenije pri hudih preeklampsijah (pri katerih se v 4–12 % razvije sindrom HELLP) je 15–18 % (4,10,14,18).

Po podatkih iz ljubljanske porodnišnice se huda preeklampsija razvije pri 5–6 % nosečnic (15).

V naši raziskavi nismo pregledali dokumentacije vseh nosečnic s hudo preeklampsijo, ker pri vseh nismo imeli na razpolago podatkov o trombocitopeniji. Pozornost smo namenili le trombocitopeniji pri sindromu HELLP, zato je v primerjavi z literaturo ta vrsta trombocitopenije pri nas nenavadno pogosta.

Idiopatična trombocitopenična purpura (ITP)

Je lahko akutna ali kronična.

Akutna idiopatična trombocitopenična purpura (AITP) nastane po izpuščajnih virusnih boleznih ali virusni okužbi zgornjih dihalnih poti. Pri odraslih je bolezen redka, zato je pri nosečnicah skoraj ne srečamo.

AITP nastane verjetno zaradi imunskih kompleksov, ki vsebujejo virusni antigen. Kompleksi se vežejo na receptor na površini trombocita. Lahko gre za protitelesa, ki križno reagirajo z antigeni trombocitov. Značilne so krvavitve v kožo in sluznice, zelo redke so krvavitve v prebavila ali osrednje živčevje.

AITP moramo razlikovati od prehodne imunske trombocitopenije, ki nastane kot zaplet okužbe s toksoplazmo, citomegalovirusom, Epstein-Barrovim virusom ali v prodromalni fazi okužbe z virusom hepatitisa B.

Zdravljenje AITP po mnenju mnogih ni potrebno. Pri večini bolnikov pride do spontane ozdravitve v obdobju enega do šestih mesecev.

Kronična idiopatična trombocitopenična purpura (ITP) pogosteje prizadene ženske v drugem in tretjem desetletju življenja, zato jo, ne tako redko, srečamo v nosečnosti. Bila naj bi vzrok za 3–5 % trombocitopenij pri nosečnicah (2,4,5).

Je avtoimunska bolezen. IgG trombocitna protitelesa proti antigenom trombocitnega receptorja GP Ib in GP IIb/IIIa (GP – glikoproteinska membrana) povzročajo razpad trombocitov, ki se dogaja v retikuloendoteltnem sistemu, predvsem v vranici. Razpad trombocitov je večji od njihovega nastajanja.

Klinična slika je odvisna od števila trombocitov. Nevarnost predstavljajo spontane krvavitve v pomembne organe. Po mnenju avtorjev večine raziskav nosečnost ne poslabša ITP (1,2,5).

Protitelesa prehajajo skozi posteljico in pri plodu povzročajo trombocitopenijo, ki ga lahko ogroža zaradi krvavitev, zlasti ob porodu.

Diagnozo ITP v nosečnosti pogosto lahko postavimo že na podlagi anamneze (nosečnice vedo za svojo bolezen). Če v zgodnji nosečnosti ugotovimo število trombocitov, manjše od $100 \times 10^9/l$, nas ta podatek usmeri k pravi diagnozi. V vzorcu kostnega mozga, dobljenem s punkcijo, najdemo povečano število megakariocitov. Vranica praviloma ni povečana.

Izsledki naše raziskave in številni podatki iz literature (1,6–8) kažejo, da med obema načinoma dokončanja poroda (vaginalnim in s carskim rezom) ni razlike v pogostnosti krvavitev pri novorojenčku. Pri carskem rezu so, glede na literaturo (2,6,13), pogostejši zapleti zaradi krvavitev pri materi. To so potrdili tudi izsledki naše raziskave – do večje poporodne krvavitve (več kot 800 ml) je prišlo pri 20 % (1/5) carskih rezov in pri 8,8 % (3/34) porodov.

Število trombocitov pri novorojenčku matere z ITP je prve dni po porodu lahko znižano, vendar se normalizira v nekaj dneh.

Po izsledkih naše raziskave ugotavljamo, da so vsem novorojencem mater z ITP po porodu preverili število trombocitov v krvi. Trombocitopenijo ($30 \times 10^9/l$) so odkrili le pri enem (2,5 %), vendar ni imel kliničnih znakov krvavitev v notranje organe. Pri tem otroku se je do odpusta število trombocitov zvišalo na $57 \times 10^9/l$. Vsi ostali novorojenčki so imeli normalno število trombocitov. Vsi novorojenčki so bili zdravi.

Druge sekundarne trombocitopenije v nosečnosti

So redke. Ugotovili smo jih pri 2,8 % nosečnic s trombocitopenijo. Trombocitopenija se je pojavila pri akutni limfatični levkemiji, SLE, DIK in sepsi.

Zaključek

Trombocitopenija je razmeroma pogosta nenormalnost v krvni sliki nosečnice. Na srečo najpogosteje ugotavljamo blage ali zmerne oblike bolezni, ki so običajno sekundarne. Trombocitopenije v nosečnosti so pretežno blage do zmerne in ne ogrožajo nosečnice in ploda, nekatere pa lahko povzročajo resno obolevnost in smrtnost matere ali otroka.

Gestacijska trombocitopenija se največkrat pojavlja kot samostojna oblika ali v zvezi s preeklampsijo. Druge oblike sekundarnih trombocitopenij so v nosečnosti redke.

Za razlikovanje med obema vrstama trombocitopenij je pomembna natančna anamneza in podatek o številu trombocitov v zgodnji nosečnosti ali pred njo. Trombocitopenija v prvem in zgodnjem drugem trimesečju nosečnosti je običajno ITP. Gestacijska trombocitopenija se pojavlja v drugi polovici drugega in v tretjem trimesečju. Trombocitopenija v tretjem trimesečju, ob ali po porodu je povezana s preeklampsijo.

Sekundarne trombocitopenije, razen hudih oblik (sindrom HELLP), ne pomenijo velike nevarnosti za mater in plod. Pri ITP prehajajo protitelesa skozi posteljico in povzročajo trombocitopenijo pri plodu, ki je zaradi tega ob porodu ogrožen.

Blagih in zmernih trombocitopenij ne zdravimo.

Pri sekundarnih oblikah hudih trombocitopenij damo v primeru krvavitve ali poroda transfuzijo trombocitov. Sicer pri sekundarni trombocitopeniji zdravimo osnovno bolezen.

Pri ITP se odločamo za zdravljenje v primerih spontanih krvavitev in pri številu trombocitov, manjšem od $50 \times 10^9/l$ v zadnjih tednih pred terminom poroda. Transfuzijo trombocitov damo izjemoma pri življenjsko ogrožujočih krvavitvah.

LITERATURA

1. Levy JA, Murphy LD. Thrombocytopenia in pregnancy. *J Am Board Fam Pract* 2002; 15: 290–7.
2. Kam PCA, Thompson SA, Liew ACS. Thrombocytopenia in the parturient. *Anaesthesia* 2004; 59: 255–64.
3. Boehlen F, Hohlfeld P, Extermann P, Perneger TV, De Moerloose P. Platelet count at term pregnancy: a reappraisal of the threshold. *Obstet Gynecol* 2000; 95: 29–33.
4. Shehata N, Burrows R, Kelton JG. Gestational thrombocytopenia. *Clin Obstet Gynecol* 1999; 42: 327–34.
5. Horn EH, Davies J, Kean L. Other hematological conditions in pregnancy. In: James DK, Steer PJ, Weiner CP, Gornik B, eds. *High risk pregnancy. Management options*. London: W.B.Saunders, 1999: 749–72.
6. Payne SD, Resnik R, Moore TR, Hedriana HL, Kelly TF. Maternal characteristics and risk of severe neonatal thrombocytopenia and intracranial hemorrhage in pregnancies complicated by autoimmune thrombocytopenia. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 177: 149–55.
7. Burrows RF. Platelet disorders in pregnancy. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2001; 13: 115–9.
8. Burrows RF. Haematological problems in pregnancy. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2003; 15: 85–90.
9. Webert KE, Mittal R, Sigouin C, Heddle NM, Kelton JG. A retrospective 11-year analysis of obstetric patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2003; 102: 4306–11.
10. Sibai BM. Diagnosis, controversies, and management of the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count. *Obstet Gynecol* 2004; 103: 981–91.
11. Andoljšek D. Trombocitopenija. In: Kocijančič A, Mrevlje F, eds. *Interna medicina*. Ljubljana: DZS, 1993: 1015–6.
12. Lescale KB, Eddelman KA, Cines DB, et al. Antiplatelet antibody testing in thrombocytopenic pregnant women. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174: 1014–8.
13. Johnson JR, Samuels P. Review of autoimmune thrombocytopenia: pathogenesis, diagnosis and management in pregnancy. *Clin Obstet Gynecol* 1999; 42: 317–26.
14. Sullivan CA, Martin JN. Management of the obstetric patient with thrombocytopenia. *Clin Obstet Gynecol* 1995; 38: 521–34.
15. Zorn B. Sindrom HELLP – patofiziologija, diagnostika in zdravljenje. *Zdrav Vestn* 1998; 67: 405–10.
16. Saphier CJ, Repke JT. Hemolysis, elevated liver enzymes and low platelet (HELLP) syndrome: a review of diagnosis and management. *Semin Perinatol* 1998; 22: 118–33.
17. Egerman RS, Sibai BM. HELLP syndrome. *Clin Obstet Gynecol* 1999; 42: 381–9.
18. Roberts WE, Perry KG, Woods JB, et al. The intrapartum platelet count in patients with HELLP syndrome: is it predictive of later hemorrhagic complications? *Am J Obstet Gynecol* 1994; 171: 799–804.

DIAGNOSTIKA TROMBOCITOPENIJE – TROMBOCITNE PREISKAVE V NOSEČNOSTI

Primož Rožman

Ključne besede: avtoimunska trombocitopenična purpura, etiologija, laboratorijska diagnoza, nosečnost, preeklampsija, trombocitopenija, sindrom HELPP, trombotična trombocitopenična

Key words: immune thrombocytopenic purpura, etiology, laboratory diagnostics, pregnancy, thrombocytopenia, HELLP syndrome, thrombotic thrombocytopenic

Izvleček: Razlogov za trombocitopenijo pri nosečnicah je več. Nekateri so povezani s škodljivimi učinki nosečnosti, drugi z boleznijo nosečnice ali ploda. Vzroki so lahko imunski, pri čemer gre za uničenje trombocitov zaradi protiteles, ali pa porabnostni. Ker se klinične slike pri različnih boleznih pogosto prekrivajo, je določitev natančnega vzroka trombocitopenije pri nosečnicah mnogokrat otežena. Poznavanje osnovnih kliničnih in laboratorijskih pristopov pri posameznih stanjih je nujno za diagnozo in ustrezno ukrepanje. V tem preglednem članku avtor povzema najbolj pogoste oblike trombocitopenij, povezanih z nosečnostjo, in njihovo diagnostiko s poudarkom na laboratorijskih preiskavah.

Abstract: There are several causes of thrombocytopenia in pregnancy. Some of them are related to side effects of pregnancy itself, other are caused by a pathological states of the pregnant women or the fetus. Most of pathologies involve either immune-mediated platelet destruction or platelet consumption. Since the clinical signs of different etiologies merge in many cases, the exact diagnosis is sometimes complicated. A proper expertise in clinical and laboratory principles is necessary for the correct diagnosis and therapeutical decisions. In this review, the most common forms of pregnancy related thrombocytopenias and appropriate laboratory diagnostic approaches are described.

Uvod

Normalno število trombocitov (TR) v krvi je od 150 do $400 \times 10^9/L$. Trombocitopenijo (TP) torej definiramo kot število trombocitov, manjše kot $150 \times 10^9/L$ krvi. Ker zadnjih 20 let že uporabljajo avtomatske števec krvnih celic, opažajo, da je trombocitopenija pri nosečnicah bolj pogosta, kot bi pričakovali, saj jo opazijo v do 10 % vseh nosečnosti. Pri tem kaže, da število TR v nosečnosti normalno pade za okrog 10 %, vendar pri večini nosečnic ostaja znotraj normalnih vrednosti. Ta fiziološki pojav nastaja ponavadi v tretjem trimesečju in ga porodničarji ponavadi prezrejo (1). Namen prispevka je prikazati trombocitne preiskave, ki omogočajo ustrezno zdravljenje pri dejanskih trombocitopeničnih stanjih.

Trombocitopenija v nosečnosti lahko nastane zaradi iz številnih razlogov, navedenih v *Tabeli 1*. Ti vzroki so lahko benigni, kot je npr. gestacijska trombocitopenija, lahko pa povzročajo tudi resne zaplete. Mnogokrat imajo bolnice več znakov, ki zrcalijo značilnosti različnih vrst trombocitopenij. Vendar lahko v večini primerov ob pojavu TP ugotovimo osnovne vzroke na podlagi klinične slike in laboratorijskih preiskav (2,3).

Tabela 1: Vzroki trombocitopenije v nosečnosti (po(4))

Izolirana trombocitopenija

- Gestacijska trombocitopenija
- Avtoimunska trombocitopenija (AITP)
- Od zdravil odvisna trombocitopenija (ZITP)
- Tip IIb von Willebrandove bolezni
- Prirojena (sindrom Wiscott-Aldrich, May-Hegglinova anomalija, Bernard-Soulierov sindrom, Fanconijev sindrom, itd.)

Trombocitopenija, povezana s sistemskimi boleznimi

ZNAČILNA ZA NOSEČNOST

- Preeklampsija
- Sindrom HELLP (hemolysis, elevated liver function tests, low platelets syndrome)
- Akutna maščobna degeneracija jeter

NEZNAČILNA ZA NOSEČNOST

- Trombotične mikroangiopatije
 - Trombotična trombocitopenična purpura (TTP)
 - Hemolitično uremični sindrom (HUS)
- Sistemski lupus eritematosus (SLE)
- Antifosfolipidni sindrom
- Diseminirana intravaskularna koagulacija (DIK)
- Virusne in druge okužbe (HIV, EBV, CMV)
- Okvara kostnega mozga (primarna ali sekundarna)
- Podhranjenost
- Hipersplenizem
- Drugo: okvare ščitnice, rak, zunajtelesna cirkulacija (EKC), masivna transfuzija

Trombocitne preiskave pri trombocitopenijah

Štetje trombocitov in trombocitna morfologija pri trombocitopeniji

Osnovna preiskava pri trombocitopeniji je štetje trombocitov. Štetje lahko izvajamo ročno s hemocitometrom (Neubauerjevo komoro) in mikroskopom ali pa z avtomatskimi števci z elektrostatskim ali laserskim načinom štetja. Za to preiskavo je potreben pravilno odvzet vzorec venske krvi v EDTA. Štetje iz kapilarne krvi je manj zanesljivo. Predvsem je pomembno, da pri odvzemanju krvi ne pride do poškodbe žil in tkiva. Napake pri ročnem štetju so posledica slabega vzorčenja, nezadostnega mešanja vzorca, nenatančnega pipetiranja in redčenja, uporabe nekalibriranih pipet ali površnega štetja. Sodobne avtomatske naprave so zelo zanesljive in natančnejše od ročnega štetja.

Avtomatski števci izmerijo tudi povprečni volumen TR. Povprečni premer TR je 1–3 mikroM, večje TR (do 5 mikroM) pa opazujemo v krvi, kadar je nastajanje trombocitov pospešeno, npr. pri imunskih trombocitopenijah.

Nizko število, a velik volumen TR nas lahko opozorita na napake pri štetju. Pri štetju TR lahko pride do **lažne trombocitopenije**, ki je posledica artefaktov, pomanjkljivega mešanja z antikoagulansom, predolgega čakanja vzorca, nečistoč ali napak pri štetju. Poznan je tudi pojav **psevdotrombocitopenije**, ki ga opazujejo pri okrog 1 % oseb in je lahko posledica od EDTA odvisnih protiteles ali pa sočasne uporabe antiagregacijskih zdravil, antagonistov GP IIb/IIIa - npr. zdravila abciximab pri nosečnicah. Pri obeh pojavih prihaja do tvorjenja velikih skupkov TR in vitro, zato je ocenjeno število TR premajhno. Zaradi teh

pojavov svetujejo, da v vseh primerih trombocitopenije vedno kontroliramo tudi razmaz krvi in ocenimo morebiten pojav in velikost trombocitnih skupkov, s čimer lahko ločimo med pravo in psevdotrombocitopenijo (5,6).

Določitev trombocitnih protiteles (TRPT)

Pri sumu na imunske trombocitopenije, ki so ponavadi povezane s prisotnostjo avtoprotiteles (avto-PT), le te lahko določimo s serološkimi preiskavami. Pri tem optimalne tehnike še vedno ni (7). Dolgo so uporabljali preiskavo za določanje skupnega trombocitnega imunoglobulina (Ig). Vendar tudi na membrani TR pri zdravih ljudeh najdemo vezane imunoglobuline razredov IgG, IgM in IgA ter komponenti komplekta C3c in C3d. Večina IgG pa se nahaja v notranjosti TR, kamor ga poleg drugih proteinov iz plazme vključijo in shranijo v sekretorne α -granule že megakariociti s pomočjo endocitoze. Na površino TR je zato normalno vezano manj kot 1% skupnega trombocitnega IgG. S pretočno citometrijo so dokazali, da je na površino TR pri zdravem človeku vezanih okrog 1400, pri bolnikih z AITP pa okrog 11.000 molekul IgG (8).

Danes velja, da je pri bolniku s sumom na imunsko povzročeno TP najprej potrebno opraviti **presejalni test**. Pri tej preiskavi najprej določimo PT, vezana na TR bolnika – t.i. **direktni test (DT)**, hkrati pa določimo tudi prisotnost PT v serumu – t.i. **indirektni test (IT)**. Pri pozitivnem izidu presejalne preiskave opravimo lahko še **specifikacijo protiteles**, pri čemer uporabimo panel poznanih trombocitov ali izoliranih glikoproteinov (9).

Obstaja mnogo tehnik za določanje trombocitnih avtoprotiteles. Starejša preiskava je bila **preiskava porabe antiglobulinskega seruma**, ki omogoča poleg dokaza prisotnosti PT hkrati tudi oceno njihove koncentracije z ozirom na standardno krivuljo. Je zapletena in daje nesorazmerno visoke ocene na TR-vezanega IgG (10).

Določanje skupnega TR-IgG (platelet-associated IgG) je preiskava, pri kateri merimo skupni trombocitni IgG na membrani in v notranjosti z nefelometrijo ali radioaktivno metodo. Ta preiskava ni več v uporabi, ker določitev skupnega trombocitnega IgG pri trombocitopenijah nima več diagnostične veljave, pač pa je treba določiti membransko vezanega (11–15).

Imunofluorescenčna preiskava (PIFT- platelet immunofluorescence test) (16) je hitra in enostavna preiskava, pri njej ne potrebujemo svežega vzorca za IT, lahko jo uporabimo za dokazovanje trombocitnih protiteles, odvisnih od zdravil (ZITP), in je dobro ponovljiva. Pomanjkljivosti te metode so subjektivna interpretacija mikroskopskih rezultatov, za ločevanje med PT HLA in PT trombocitne specifičnosti zahteva modifikacijo, ne določa zanesljivo epitopov na GPIa/Iia in zahteva velik izbor (t.i. panel) darovalcev trombocitov za določanje specifičnosti mešanice PT(17).

Pretočna citometrija (FC - flow cytometry) je avtomatizirana in računalniško vodena oblika imunofluorescenčnega testa, ki se izvaja na pretočnem citometru. Lahko doseže večjo občutljivost od navadne PIFT in se lahko avtomatizira. Je hitra, občutljiva, natančna in objektivna (8,18,19).

Radioaktivna preiskava (RIA - radioimmuno assay) se uporablja za odkrivanje TRPT z antiglobulinskim serumom (AGS), ki je označen z radioaktivnim izotopom, rezultat pa odčitavamo v števcu sevanja. Njena prednost je visoka občutljivost, pomanjkljivost pa, da je okolju nevarna.

Mešana pasivna hemaglutinacija (MPHA - mixed passive haemagglutination), imenovana tudi mešana eritrocitna adherenca, je oblika reverzne pasivne hemaglutinacije. Panelne TR (oz. delce njihovih membran) najprej pritrdimo na površino mikroplošče in z njimi lovimo TRPT. Za označevanje služijo eritrociti, ki so prekriti z AGS (ponavadi zajčjim anti-humani IgG). Ti se pri pozitivnem rezultatu nalepijo po celotni površini vdolbine, zato lahko rezultate odčitamo tudi s prostim očesom. To preiskavo uporabljamo predvsem za detekcijo aloprotiteles (20,21).

Encimska preiskava (EIA - enzyme immuno-assay, ELISA - enzyme linked immuno sorbent assay) uporablja za detekcijo PT AGS, označen z encimom, ki povzroči barvno reakcijo substrata v pozitivnih vzorcih. Rezultate merimo spektrofotometrično (22). Slabost te metode je pasivna vezava Ig bolnika na ploščico, kar lahko pripelje do lažno pozitivnega rezultata. ELISA ima več izpeljank. Pri osnovnih verzijah v II. generaciji so TR porazdeljeni v suspenziji (mokre metode), pri novejših pa so na čvrsto podlago pritrjeni TR (preiskave čvrste faze). Kot antigene (AG) uporabljajo v zadnjem času izolirane ali umetno sintetizirane glikoproteine (GP).

Preiskava ACE (Antigen capture ELISA) uporablja za tarčo proteine, ki jih izlužimo iz membrane TR z detergenti. Tako dobljene proteine pritrdimo na mikrotitrsko ploščo s pomočjo mišjih monoklonski protiteles (MKPT). Sledi normalen postopek preiskave ELISA. Pritrjevanje mikrotitrsko na ploščo imenujejo tudi lovljenje ("capture"). Mikrotitrsko plošče s pritrjenimi peptidi lahko hranimo več let, ker je kompleks GP zelo stabilen, zato se lahko industrijsko pripravijo (23,24). ACE ima več pomanjkljivosti: tarčni kompleksi vsebujejo mišja MKPT, ki jih včasih odkrijejo naravno prisotna protimišja PT v serumu preiskovanca, kar daje lažno pozitiven rezultat. Osnovno mišje MKPT pa lahko včasih prekrije pomembne epitope pri lepljenju na ploščo, kar daje lažno negativen rezultat.

Preiskava MAIPA (Monoclonal Antibody-specific Immobilization of Platelet Antigens) (25) omogoča hkratno določitev prisotnosti in specifičnost protiteles, ki se vežejo na poznane panelne TR. Trombocite inkubiramo s serumom preiskovanca in z mišjimi MKPT znane specifičnosti (npr. anti-GP IaIIa, itd.) in jih potem solubiliziramo z detergentom. Dobljene komplekse »bolnikovo PT- GP – mišje MKPT« v lizatu lovimo z monoklonskim anti-mišjim IgG PT, ki so bili prej vezani na mikrotitrsko ploščo. Prisotnost humanih PT v tem kompleksu nato določimo z običajnim encimskim testom. Prednost te preiskave je visoka občutljivost. Omogoča tudi hkratno določanje prisotnosti in specifičnosti protiteles proti GPIa/IIa, omogoča ločevanje med HLA in avto-PT, ima dobro ponovljivost, rezultati preiskave pa so obenem kvantitativni. Panelne trombocite lahko za to preiskavo hranimo zamrznjene dalj časa. Pomanjkljivosti MAIPA preiskave so tehnična zapletenost in uporaba panela poznanih trombocitov, ki jih je težko dobiti. Določena mišja MKPT imajo včasih specifičnost za isti epitop kot preiskovano trombocitno PT, zato se obojna vežejo nanj kompetitivno in dobimo lažno negativen rezultat preiskave.

Preiskava imunoblot (IB), imenovana tudi **Western blot**, je imunokemična preiskava III. generacije. IB je sorazmerno enostavna in referenčna preiskava, vendar ni za rutinsko uporabo. Pripravljene antigene na membrani lahko dolgo časa hranimo, vendar se sčasoma okvarijo. Interpretacija izsledkov je težka, saj včasih normalni serum reagirajo z določenimi sestavinami trombocitne notranjosti.

Imunoprecipitacija (IP) je preiskava III. generacije, pri kateri proteine na površini testnih TR označimo z radioaktivnim jodom (^{125}I) ali z biotinom, komplekse GP-PT nato precipitiramo in ločimo z elektroforezo. Tarčne antigene razpoznamo na podlagi elektroforetske mobilnosti. Prednost IP pred preiskavo IB je v tem, da PT ponudimo antigene, ki so na TR v svoji normalni konfiguraciji. Hibe te preiskave so zapletenost ter dejstvo, da nam včasih ne uspe označiti vseh GP z radioaktivnim elementom (10).

V zadnjem času glede na rezultate mednarodnih delavnic (26) za presejalni test priporočajo imunofluorescenčno preiskavo PIFT, preiskavo MAIPA ali pretočno citometrijo, ki so najbolj občutljive (do 90 %). Pri interpretaciji se je potrebno zavedati, da je membransko vezani IgG pogosto povišan tudi pri neimunskih boleznih, npr. pri limfomih, levkemijah, TTP, preeklampsiji ali sepsi, sistemskem lupusu, itd.

Za specifikacijo PT pa isti forumi priporočajo predvsem tehnike MAIPA, immunoblot ter razne oblike encimskih preiskav z imobilizacijo nativnih ali rekombinantnih GP, npr. preiskavo ACE (antigen capture ELISA). Slednje so dokaj specifične (69 % do 90 %), a na žalost slabo občutljive (47 % do 60 %) (26,27).

Posebne preiskave so namenjene določanju heparinskih protiteles in jih opisujemo v poglavju »Preiskave pri trombocitopeniji, povzročeni s heparinom« - glej tam.

Preživetje trombocitov

Metoda temelji na radioaktivnem označevanju TR z izotopi. Ponavadi je to izotop indija ^{111}In . Označene trombocite preštejemo in vbrizgamo bolniku ter v rednih presledkih na 6 ali 12 ur odvezamo vzorce krvi in izmerimo njihovo preostalo radioaktivnost. Preživetje izražamo v odstotkih preživetja na dan ali v razpolovnem času. Pri zdravih ljudeh je doba preživetja TR okrog 8–10 dni. Pri AITP je preživetje bistveno skrajšano na 2–3 dni, podobno je tudi pri porabnostnih koagulopatijah in pri TTP. Če gre za zmanjšano nastajanje TR, je preživetje, če ni krvavitev, normalno. Ta metoda omogoča, da določimo tudi mesta, kjer se TR uničujejo. Ponavadi se nahaja v vranici okrog 30 % celotnih TR. Ta delež je zvečan pri splenomegaliji, pri AITP pa se s protitelesi prekriti TR lahko uničujejo tudi v drugih organih, kjer se nahajajo makrofagi, npr. v jetrih (5).

Funkcijske preiskave

Funkcijskih preiskav pri trombocitopeniji v nosečnosti ponavadi ne opravljamo, razen če sumimo, da gre za prirojene okvare TR. Izjema je od heparina odvisna trombocitopenija, pri kateri so funkcijski testi patološki, ker so TR aktivirani, kar ugotavljamo s preiskavami SRA (serotonin release assay), HIPA (heparin-induced platelet activation) ali z določanjem P-selektina s pretočno citometrijo. Občutljivost teh preiskav je med 65 %–95 %, specifičnost pa od 70 % do 98 % (28).

Preiskave pri trombocitopenijah v nosečnosti

Trombocitne preiskave pri gestacijski trombocitopeniji

Gestacijska trombocitopenija je najbolj pogost vzrok trombocitopenije med nosečnostjo, ki zajame 5 % vseh nosečnic in predstavlja več kot 75 % vseh TP v nosečnosti (3). Nosečnice z gestacijsko TP niso nagnjene h krvavitvam in nimajo večje incidence zapletov med nosečnostjo ali porodom, niti nimajo trombocitopeničnih otrok. Patogeneza te TP ni jasna, najverjetneje gre za bolj izraženo obliko fiziološke trombocitopenije, ki spremlja normalno nosečnost. Pri sicer zdravi nosečnici s številom TR nad $70 \times 10^9/L$ in brez TP v anamnezi ni potrebno ukrepati. Pričakovali bi, da so preiskave trombocitnih protiteles negativne, a tudi pri teh bolnicah včasih opisujejo zvišano raven.

Trombocitne preiskave pri avtoimunski trombocitopenični purpuri

Avtoimunska trombocitopenična purpura (AITP) je najbolj pogost vzrok hujše TP v prvem trimesečju nosečnosti. Njena incidenca je približno 1 na 1.000 nosečnosti oz. 5% vseh primerov TP v nosečnosti (29,30). AITP je posledica nastanka avtoprotiteles proti tarčnim antigenom na trombocitih, ki povzročijo odstranjevanje in uničenje TR, prekritih s protitelesi IgG, v retikuloendotelijskem sistemu. Obstajata dve obliki – **akutna**, ki je bolj značilna za otroško dobo in je posledica virusnih okužb, in **kronična**, ki je bolj značilna za odraslo dobo in tudi za nosečnice. Pri akutni obliki pade število TR v nekaj dneh na manj kot $20 \times 10^9/L$, a bolezen spontano izzveni v nekaj tednih, Tarčni avtoantigeni na trombocitih so ponavadi določena nepolimorfna mesta na GP membrane trombocitov. Večina teh AG je odvisna od konformacije proteinov, saj jih lahko uničimo z dodatkom EDTA ali z denaturacijo z detergenti, drugi pa so od konformacije neodvisni peptidi. Najpogosteje se nahajajo na domenah, bogatih s cisteinom (angl. cysteine-rich domains) glikoproteinov GP IIb/IIIa ali GP Ib-IX-V (v okrog 80 % primerov), redkeje (v okrog 38 %) na GP IV (CD36 ali trombospondinski receptor) in na GP Ia/IIa (28 %). Redkeje najdemo PT specifičnosti, kot je GMP140 (CD62). Često so protitelesa usmerjena proti več GP ali epitopom hkrati (31–34).

Število TR pri kronični AITP se ponavadi giblje med 10 do $75 \times 10^9/L$, kar je precej več kot pri akutni obliki AITP. Čas krvavitve je podaljšan, retrakcija strdka manjša, kapilarna fragilnost po Rumpel-Leedu pa povečana. Megakariociti v kostnem mozgu (KM) so številnejši, a kažejo znake motnje dozorevanja, ker se trombocitna PT vežejo tudi na megakariocite in okvarjajo diferenciacijo. Preživetje TR je skrajšano z normalnega 7–10 dni na 2–3 dni ali manj. Diagnoza AITP ponavadi ni težka, še posebno, če je število trombocitov manjše kot $50 \times 10^9/L$. V primerih, ko ima bolnica le delno znižano število TR in prej ni imela TP, je težko razlikovati med gestacijsko in avtoimunsko trombocitopenijo, še posebno zato, ker je število molekul IgG, vezanih na trombocite, lahko zvišano v obeh primerih. V praksi za potrditev AITP pri nosečnici zadostuje značilna TP v prvem trimesečju nosečnosti (število TR $< 100 \times 10^9/L$), medtem ko se gestacijska TP razvije bolj pogosto v drugem in tretjem trimesečju (30).

Zaradi transplacentnega prehoda trombocitnih protiteles razreda IgG, še posebno v tretjem trimesečju nosečnosti, lahko razvije trombocitopenijo tudi plod. Od 10–20 % takih novorojenčkov ima število trombocitov pod $50 \times 10^9/L$, okrog 5 % pa celo manj kot $20 \times 10^9/L$. Na žalost ni povezave med stopnjo matrine trombocitopenije, (tj. med številom TR, titrom protiteles ali splenektomijo) in TP novorojenca, tako da je napoved težje TP pri novorojencu nezanesljiva. Še najbolj zanesljiv kazalec pomembnosti TP je anamneza TP pri prejšnjem sorojencu (30,35–37).

Večina študij navaja, da za varen porod in uporabo epiduralne anestezije zado-
stuje že več kot $50 \times 10^9/L$ TR, čeprav nekateri zagovarjajo število $100 \times 10^9/L$ TR.
Nekateri v primerih, če je število trombocitov nosečnice manjše kot $50 \times 10^9/L$,
svetujejo štetje TR ploda z invazivnimi metodami, kot sta kordocenteza ali punk-
cija plodovega skalpa med porodom, in po potrebi tudi carski rez. Oba ome-
njena diagnostična posega sta nevarna in povezana s številnimi zapleti vsaj v 1 %
primerov, kar je bolj nevarno od same TP. Zato skoraj 60 % porodničarjev v ZDA
ne svetuje štetja zarodkovih TR, pač pa navaden porod (30).

Avtoprotitelesa, ki nastanejo pri bolnikih z AITP, so dobro preučena. S sero-
loškimi tehnikami zasledimo trombocitna PT pri večini primerov AITP, vendar
ne pri vseh. Pojavnost protiteles je seveda odvisna od občutljivosti tehnik, s ka-
terimi jih ugotavljamo. Najdemo jih pri 70–90 % primerov AITP (38).

Pri patogenezi AITP igrajo glavno vlogo protitelesa razreda IgG, protitelesa
razreda IgM in IgA so redkejša in tudi manj pomembna. Najbolj pogosto so
prisotna PT razreda IgG1 in IgG3 (oboja v 60 %), manj pogosta pa PT razreda
IgG2 in IgG4 (pri 13 % in 9 % bolnikov). Ponavadi je število različnih protiteles
klonsko omejeno, ker je omejeno tudi število B-limfocitov, ki jih proizvajajo.
So strogo specifična za omejeno število antigenskih epitopov na trombocitni
membrani (39). Pogosto med številom vezanih molekul Ig na TR in stopnjo
trombocitopenije niso potrdili klinične korelacije (40).

TRPT pri AITP lahko določimo na dva načina: z indirektnim testom v se-
rumu ali z direktnim testom na TR bolnika. Bolj pomembno je identificirati
prisotnost PT, vezanih na TR, kot prisotnost PT v plazmi. Torej je bolj pomem-
ben rezultat direktnega kot indirektnega testa (33). Vendar v praksi opažamo, da
imajo preiskovanci zelo nizko število TR. Zato direktnega testa iz razpoložljivih
vzrocev krvi ni moč zanesljivo opraviti in mnogokrat dokažemo samo PT v se-
rumu preiskovanca.

Trombocitne preiskave pri imunski trombocitopeniji, odvisni od zdravil

Od zdravil odvisna imunska trombocitopenija (ZITP) je redka bolezen, do
katere pride po uživanju določenih zdravil. Pri bolnikih zasledimo od zdravil
odvisna protitelesa, ki reagirajo z normalnimi TR samo v prisotnosti določenega
zdravila in povzročajo imunsko destrukcijo TR. Omenjena zdravila so lahko
kinin, kinidin (41), sulfamethoxazol, rifampicin, cefalosporini (42), karbimazol,
cimetidin, diklofenak (43) in druga. ZITP lahko povzročijo tudi določeni meta-
boliti zdravil, na katere pri preiskavah sploh ne pomislimo in jih spregledamo.
To so lahko metaboliti trimetoprima-sulfamethoksazola, ibuprofena in paraceta-
mola itd. (41,44–48). Nekatera od omenjenih zdravil neredko predpisujejo tudi
nosečnicam.

Klinična slika je podobna akutni postinfekcijski AITP. Število TR pade okrog
7–10 dni po uvedbi določenega zdravila. Trombocitopenija izgine ponavadi
nekaj dni do tednov po koncu zdravljenja. Bolniki, ki so že bili senzibilizirani, jo
razvijejo v nekaj urah in število TR jim lahko pade na $< 10 \times 10^9/L$. Zato je pri
bolnikih z ZITP večja nevarnost hemoragičnih zapletov kot pri drugih bolnikih
z običajno AITP. Prevalenca ZITP ni znana, je pa verjetno podcenjena (47,49).

Patogeneza ZITP ni jasna. Od zdravil odvisna trombocitna protitelesa imajo
enako specifičnost kot druga PT pri AITP. Tarčni AG so ponavadi nepolimorfni
epitopi na GP IIb/IIIa ali GP Ib/V/IX, redkeje tudi trombospondinski receptor

GP IV ali druge molekule membrane TR, kot npr. PECAM-1. Neposredna tarča vezave protiteles so lahko tudi fosfolipidi na trombocitni membrani. Protitelesa, ki se vežejo na antigene z F(ab')₂- fragmenti, se pri zmanjšani koncentraciji zdravila ponovno eluirajo. Ni jasno, ali začetno razmerje poteka med zdravilom in PT ali med zdravilom in AG na TR (50).

V bolnikovem serumu najprej ugotovimo prisotnost trombocitno specifičnih avtoprotiteles z indirektnim testom. Uporabimo lahko tehnike PIFT, ELISA ali MAIPA. Če imamo na razpolago dovolj bolnikovih TR, lahko pripravimo tudi eluat PT z bolnikovih TR in ga preiščemo z enakim indirektnim testom. Pri ZITP moramo bolnikov serum inkubirati s panelnimi TR v prisotnosti osumljenega zdravila. V vseh primerih je potrebno vključiti tudi dve kontroli: prvo kontrolo z bolnikovim serumom, a brez zdravila; ter drugo kontrolo z zdravilom in serumom zdrave osebe. Na prisotnost od zdravil odvisnih TRPT lahko sklepamo samo pri tistem vzorcu, ki reagira s panelnimi TR in ima obe kontroli negativni. Če je prva kontrola pozitivna, je v vzorcu lahko prisotno kakšno drugo alo- ali avto-protitelo. Če je pozitiven drugi vzorec, pa je zdravilo verjetno povzročilo nespecifično vezavo Ig na TR. Pomembno je tudi, da dodajamo zdravilo tudi v vse raztopine za pranje TR med izvajanjem testa, saj sicer večina od zdravil odvisnih TRPT eluira z membrane TR.

Vse omenjene preiskave so zelo zamudne in težavne, saj imajo bolniki mnogokrat večkratno zdravljenje. Zato je pri sumu na ZITP najenostavneje zamenjati osumljeno zdravilo z drugim in ne čakati na izvide preiskav.

Preiskave pri trombocitopeniji, povzročeni s heparinom

Bolniki, ki jih zdravijo s heparinom, včasih zbolijo za trombocitopenijo, ki jo povzroči heparin (angl. heparin induced thrombocytopenia - HIT). Obstajata dva tipa te trombocitopenije, to sta HIT tip I, zmerna trombocitopenija, ki je ne povzročajo protitelesa in lahko mine sama od sebe, kljub temu, da se zdravljenje s heparinom nadaljuje, ter HIT tip II, ki se pojavi kot preobčutljivostna reakcija imunskega sistema in z nastankom protiteles proti kompleksu heparina z molekulami PF₄ (platelet factor 4) – tj. znotrajtrombocitnim peptidom, ki se sprošča v okolico pri aktivaciji trombocitov. Za HIT tip II je značilno nenadno znižanje števila trombocitov, ki se ponavadi pojavi v 5–15 dneh po začetku prvega zdravljenja s heparinom, lahko pa tudi takoj po uvedbi heparina. Nenadno znižanje števila trombocitov pod $150 \times 10^9/L$ (v povprečju okrog $60 \times 10^9/L$) pogosto spremljajo arterijske ali venske tromboze. Če ne pride do zapletov, se število trombocitov normalizira v dveh do treh dneh po prekinitvi zdravljenja bolnikov s heparinom (47,49,51–54).

Patofiziološko dogajanje je posledica tvorbe imunskih kompleksov med molekulami protiteles IgG in kompleksi heparin - PF₄, ki se vežejo na Fc gammaRII receptorje na membrani TR, jih navkrižno povežejo in povzročijo njihovo aktiviranje, agregacijo, hkrati pa sproščanje prokoagulantnih dejavnikov. Pri tem nastaja veliko trombina in prihaja do tvorbe strdkov v malih žilah. Terapija z antitrombinom je zato pri bolnikih s HIT učinkovita. Glavna lastnost te bolezni je paradoksnost: kljub TP ne prihaja do krvavitve, temveč do tromboz, ki lahko povzročijo gangrene ali celo smrt (53).

Heparinska protitelesa so prisotna v približno 85 % klinično potrjenih primerov HIT. Protitelesa mnogokrat reagirajo tudi navkrižno s kompleksi, ki jih tvori PF₄ s polivinil sulfonatom (PVS), z nizko molekularnim heparinom ali z

drugimi polisaharidi (npr. pentosan polisulfat). V glavnem so protitelesa razreda IgG, lahko pa tudi razreda IgA ali IgM.

Trombocitne preiskave pri tej bolezni lahko razdelimo v dve skupini: funkcijske in serološke. Funkcijske ugotavljajo, ali je prišlo do aktivacije TR, druge pa, ali so prisotna specifična heparinska protitelesa proti kompleksu heparin-PF4 ali drugim polianionom. **Funkcijske preiskave** so sproščanje serotonina (¹⁴C-serotonin release assay -SRA), ki velja za zlati standard ima visoko napovedno vrednost pozitivnega rezultata (blizu 100 %), napovedno vrednost negativnega rezultata pa samo okrog 20 % in zato negativen izsledok ne jamči, da bolnik nima HIT. Preiskava HIPA (heparin-induced platelet activation test) (28) je naslednja tehnika in je primerljiva s SRA, vendar zahteva izjemne izkušnje in validacijo. **Serološke preiskave** so predvsem encimske (ELISA) in aglutinacijske. Protitelesa pri tem "lovimo" s kompleksom PF4-heparin ali PF4-polivinil sulfonat. Občutljivost ELISE je več kot 90 %, napovedna vrednost rezultatov pa ne presega 90 %. Preiskava ELISA daje kar 10 do 20 % lažno pozitivnih rezultatov (bolniki dobivajo heparin, imajo PT, nimajo pa HIT). Pri bolnikih po srčnih operacijah pa je ta odstotek še višji - do 50 %. Zato je pri interpretaciji ključnega pomena, da poznamo prav vse klinične okoliščine. Vsekakor negativen rezultat pomaga izključiti HIT. Funkcijski testi so zelo zapleteni, zato dandanes bolj uporabljajo serološke teste. Le malo laboratorijev lahko ponudi obe vrsti preiskav.

Obstaja nekaj zelo občutljivih testov, ki dajejo visoko napovedno vrednost negativnega rezultata. Če so negativni, verjetno ne gre za HIT. Vendar ima mnogo bolnikov, zdravljenih s heparinom, tudi nepatogena protitelesa, nimajo pa kliničnih znakov HIT. Pozitivni rezultat preiskave torej ne pomeni zanesljivo tudi bolezni HIT (nizka napovedna vrednost pozitivnega rezultata). Zato je vse rezultate potrebno presojati v luči klinične situacije. Nekateri avtorji svetujejo, da pri sumu na HIT nemudoma spremenimo terapijo s heparinom z nadomestnimi pripravki hirudina, kajti čakanje na laboratorijski izvid preiskave protiteles, ki lahko traja več kot en dan, ni dopustno (55).

Trombocitne preiskave pri preeklampsiji, sindromu helpp in mikroangiopatijah **Preeklampsija**

Preeklampsija prizadene približno 6 % vseh nosečnic, večinoma primigravid in v 17,6 % povzroči smrtnost. Ponavadi se razvije po 20. tednu gestacije. Značilnosti preeklampsije sta hipertenzija in proteinurija (več kot 300 mg proteina/24 ur). Njen vzrok še ni pojasnjen, morda gre za pomanjkljivo preoblikovanje uteroplacentarnega žilja že zgodaj v nosečnosti, kar je posledica premajhne invazivnosti trofoblastov posteljice, abnormalnosti adhezijskih molekul ali aktivacije metaloproteinaz trofoblasta. Vse skupaj vodi v progresivno hipoksijo placente, sproščanje prostaglandinov in endotelina, pospešeno peroksidacijo lipidov, skupaj pa ti dejavniki vodijo v hipertenzijo, aktiviranje trombocitov in sistemsko disfunkcijo endotela (35).

Trombocitopenijo opazujejo pri približno 50 % bolnic s preeklampsijo. V posameznih primerih je trombocitopenija znanilec drugih znakov preeklampsije. Pri tem vzrok za TP pri bolnicah s preeklampsijo ni še dovolj raziskan, domnevajo pa, da prihaja do adhezije trombocitov na poškodovan ali aktiviran endotel, do aktiviranja trombocitov in njihove pospešene porabe. Pri večini bolnic pride tudi do aktiviranja koagulacije. Pri tem sicer ostanejo protrombinski čas, aktivirani parcialni tromboplastinski čas in vrednosti fibrinogena normalne, zvišajo pa se vrednosti D-dimera fibrinogena in kompleksa trombin-antitrombin. Preiskave trombocitnih protiteles so v večini primerov negativne.

Sindrom HELLP

Sindrom HELLP (hemolysis, elevated liver function tests, low platelets) smatrajo za različico preeklampsije. Ta okvara nastaja predvsem pri belkah, starih nad 25 let, povzroči pa poškodbe jeter pri nosečnicah. Bolnica pri tem izpolnjuje naslednja merila:

- 1) ima mikroangiopatično hemolitično anemijo (MAHA),
- 2) koncentracijo aspartat aminotransferase (AST, SGOT) več kot 70 U/L, in
- 3) trombocitopenijo (število TR manj kot $100 \times 10^9/L$). Bolnice s HELPP imajo v 10 % tudi bolečino v predelu trebuha, hipertenzijo in proteinurijo, kar je podobno preeklampsiji, vendar je HELLP bolj nevaren za nosečnico in plod kot preeklampsija (35).

Otroci mater z sindromom HELLP in preeklampsijo lahko razvijejo trombocitopenijo šele po rojstvu, kar pripisujejo nedonošenosti in njenim zapletom – sepsi in akutnemu respiratornemu distresu, ali pa zmanjšanemu odgovoru na trombopoietin. Občasno imajo oboji lahko zvišan TR-vezani IgG, ki pa ni v korelaciji s stopnjo bolezni.

Trombotična trombocitopenična purpura in hemolitično uremični sindrom

Trombotična trombocitopenična purpura (TTP) in hemolitično uremični sindrom (HUS) sta bolezni z znaki trombocitopenije in mikroangiopatske hemolitične anemije (MAHA). Njuna incidenca v nosečnosti je povečana, saj npr. do 10 % vseh primerov TTP opazimo med nosečnostjo. Za TTP je značilna peterica znakov: MAHA, trombocitopenija, nevrološke nepravilnosti (zmedenost, glavobol, krči, itd.), vročina in okvara ledvične funkcije, čeprav ima vseh pet znakov manj kot 40 % vseh bolnikov. Klinični znaki HUS so podobni TTP, vendar so nevrološke nepravilnosti manj pogoste kot pri TTP, okvara ledvic pa je težja pri bolnikih s HUS. TTP nastane zaradi prevelike količine von Willebrandovega faktorja (vWF) in je lahko prirojena ali pa pridobljena. Gre za posledico okvare ali pomanjkanja specifične proteaze, ki sicer razgrajuje vWF v krvi (ADAMTS13 metaloproteaza). Koncentracija te proteaze je pri bolnikih s pridobljeno varianto TTP zmanjšana zaradi avtoprotiteles proti proteazi, pri prirojeni obliki TTP pa je pomanjkanje proteazne aktivnosti posledica mutacije v genu ADAMTS13. Zanimivo je, da se vrednost metaloproteaze med normalno nosečnostjo zmanjšuje, kar je povod za razvoj trombocitne mikroangiopatije (35,56,57).

Preiskave pri ostalih trombocitopenijah, povezanih z nosečnostjo

Akutna maščobna degeneracija jeter v nosečnosti - AFLP (acute fatty liver of pregnancy) nastane pri eni na 5.000 do 10.000 nosečnic in je pogosta v tretjem trimesečju nosečnosti. Vzrok zanjo je primankljaj 3-hidroksil-acil-CoA dehidrogenaze (LCHAD) ali drugih encimov, vpletenih v oksidacijo mitohondrijskih maščobnih kislin, pri plodu. Trombocitopenija je manjša kot pri HELLP, TTP ali HUS, čeprav do 50 % bolnic z AFLP izpolnjuje merila za preeklampsije. Tudi pri teh bolnicah so pogosto prisotni pozitivni izvidi trombocitnih avtoprotiteles, katerih geneza ni jasna.

Poznani so tudi drugi vzrok trombocitopenije v nosečnosti kot npr. okužba z virusom HIV. Podobno nastane TP tudi pri do 25 % bolnikov s sistemskim lupusom (SLE). Pri njih pride do propada trombocitov zaradi protitrombocitnih protiteles, v krvi krožečih imunskih kompleksov ali drugih vzrokov. Izvid preiskave trombocitnih protiteles so lahko pozitivni.

Možen vzrok TP so lahko antifosfolipidna protitelesa, ki poleg tega, da pripomorejo k tromboemboličnim zapletom in izgubi ploda, povečajo pa tudi verjetnost preeklampsije. Vloga antifosfolipidnih protiteles v patogenezi trombocitopenije pri bolnikih s sindromom antifosfolipidnih protiteles in sistemskim lupusom ni popolnoma jasna. (58,59). Trombocitne tarče v primeru fosfolipidnopovzročene AITP so ponavadi drugačne kot pri običajnih AITP, kjer so tarče površinski glikoproteini. Pri bolnikih s primarnim antifosfolipidnim sindromom prisotnost trombocitnih protiteles ni povezana s tromboemboličnim dogajanjem, navajajo pa da imajo nekatere bolnice z antifosfolipidnimi protitelesi znake, ki posnemajo sliko HELLP, HUS ali TTP (60).

Nevarnejša oblika trombocitopenije lahko nastane pri sindromu DIK, ki ponavadi spremlja zaplete nosečnosti, kot so abrupcija placente, embolija amnijske tekočine, ruptura maternice in zastoj mrtvega ploda. Diagnoza v teh primerih ni težka. Tudi pri omenjenih boleznih so trombocitna protitelesa večkrat prisotna, a njihova klinična vloga ni jasna.

Zaključek

Zaradi kompleksnosti preiskav trombocitnih protiteles je izjemnega pomena, da pri naročilu preiskave lečeči zdravnik obvesti laboratorij tudi o vseh anamnestičnih podatkih bolnice. Najbolj pomembni so podatki o zgodovini in poteku trombocitopenije, natančen opis vseh diagnoz bolezni in spremljajočih težav, podatki o vseh vrstah in odmerkih zdravil ter podatki o transfuzijah, nosečnostih in presaditvah. Šele na podlagi teh podatkov se v laboratoriju lahko odločimo za učinkovito strategijo trombocitnih preiskav, obenem pa lažje interpretiramo njihove izsledke v korist nadaljnjih kliničnih odločitev.

LITERATURA

1. Sainio S, Joutsu L, Jarvenpaa AL, Kekomaki R, Koistinen E, Riikonen S et al. Idiopathic thrombocytopenic purpura in pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1998; 77(3): 272–7.
2. McCrae KR, Samuels P, Schreiber AD. Pregnancy-associated thrombocytopenia: pathogenesis and management. *Blood* 1992; 80(11): 2697–714.
3. Crowther MA, Burrows RF, Ginsberg J, Kelton JG. Thrombocytopenia in pregnancy: diagnosis, pathogenesis and management. *Blood Rev* 1996; 10(1): 8–16.
4. McCrae KR, Bussel JB, Mannucci PM, Remuzzi G, Cines DB. Platelets: an update on diagnosis and management of thrombocytopenic disorders. *Hematology (Am Soc Hematol Educ Program)* 2001; 282–305.
5. Lewis SM, Bain BJ, Bates I. *Dacie and Lewis Practical Haematology*. 9th ed. London: Churchill Livingstone, 2001.
6. Kozak M, Dovc T, Rozman P, Blinc A. A case of pseudothrombocytopenia after infusion of abciximab in vivo and anticoagulant-independent platelet clumping after rechallenge with abciximab in vitro. 112 ed. 2000.
7. Beardsley DS, Ertem M. Platelet autoantibodies in immune thrombocytopenic purpura. *Transfus Sci* 1998; 19(3): 237–44.
8. Christopoulos CG, Kelsey HC, Machin SJ. A flow-cytometric approach to quantitative estimation of platelet surface immunoglobulin G. *Vox Sang* 1993; 64(2): 106–15.
9. Metcalfe P, Allen D, Chapman J, Ouwehand WH. Interlaboratory variation in the detection of clinically significant autoantibodies against human platelet alloantigens. *Br J Haematol* 1997; 97(1): 204–7.
10. Warkentin TE, Kelton JG. A 14-year study of heparin-induced thrombocytopenia. *Am J Med* 1996; 101(5): 502–7.
11. Huisman JG. Immunoblotting: an emerging technique in immunohematology. *Vox Sang* 1986; 50(3): 129–36.
12. McMillan R, Tani P, Millard F, Berchtold P, Renshaw L, Woods VL, Jr. Platelet-associated and plasma anti-glycoprotein autoantibodies in chronic ITP. *Blood* 1987; 70(4): 1040–5.
13. George JN. Platelet IgG: measurement, interpretation, and clinical significance. *Prog Hemost Thromb* 1991; 10: 97–126.
14. George JN. Platelet immunoglobulin G: its significance for the evaluation of thrombocytopenia and for understanding the origin of alpha-granule proteins. *Blood* 1990; 76(5): 859–70.
15. George JN, Saucerman S, Levine SP, Knieriem LK, Bainton DF. Immunoglobulin G is a platelet alpha granule-secreted protein. *J Clin Invest* 1985; 76(5): 2020–5.
16. von dem Borne AE, Verheugt FW, Oosterhof F, von Riesz E, Brudel de la Riviere A, Engelfriet CP. A simple immunofluorescence test for the detection of platelet antibodies. *Br J Haematol* 1978; 39(2): 195–207.
17. Tjihuis GJ, Klaassen RJ, Modderman PW, Ouwehand WH, dem Borne AE. Quantification of platelet-bound immunoglobulins of different class and subclass using radiolabelled monoclonal antibodies: assay conditions and clinical application. *Br J Haematol* 1991; 77(1): 93–101.
18. Janisw M, Eichelberger B, Koren D, Panzer S. Screening for platelet auto-antibodies by flow cytometry and their evaluation by the MAIPA technique. *Wien Klin Wochenschr* 1998; 110(15): 531–4.
19. McFarland JG. Detection and identification of platelet antibodies in clinical disorders. *Transfus Apheresis Sci* 2003; 28(3): 297–305.
20. Shibata Y, Juji T, Tohyama H, Sakamoto H, Ozawa N, Kano K. Mixed passive hemagglutination with soluble platelet antigens. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1984; 74(1): 93–6.
21. Zhang X, Araki N, Ito K. Post-transfusion alloimmunization to granulocytes and platelets in Japanese patients as determined by the MPHA method. *Transfus Apheresis Sci* 2001; 25(3): 163–72.
22. Hegde UM, Powell DK, Bowes A, Gordon S. Enzyme linked immunoassay for the detection of platelet associated IgG. *Br J Haematol* 1981; 48(1): 39–46.
23. Aster RH, George JN, McMillan R, Ganguly P. Workshop on autoimmune (idiopathic) thrombocytopenic purpura: pathogenesis and new approaches to therapy. *Am J Hematol* 1998; 58(3): 231–4.
24. Aster RH. Freeze-dried blood cells: therapeutic advance or laboratory curiosity? *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92(7): 2419–20.
25. Kiefel V, Santoso S, Weisheit M, Mueller E. Monoclonal antibody-specific immobilization of platelet antigens (MAIPA): a new tool for the identification of platelet-reactive antibodies. *Blood* 1987; 70(6): 1722–6.
26. Panzer S. Report on the Tenth International Platelet Genotyping and Serology Workshop on behalf of the International Society of Blood Transfusion. *Vox Sang* 2001; 80(1): 72–78.
27. Teramura G, Slichter SJ. Report on the Sixth International Society of Blood Transfusion Platelet Serology Workshop. *Transfusion* 1996; 36(1): 75–81.
28. Greinacher A, Michels I, Kiefel V, Mueller-Eckhardt C. A rapid and sensitive test for diagnosing heparin-associated thrombocytopenia. *Thromb Haemost* 1991; 66(6): 734–6.
29. Bell WR, Kickler TS. Thrombocytopenia in pregnancy. *Rheum Dis Clin North Am* 1997; 23(1): 183–94.
30. Gill KK, Kelton JG. Management of idiopathic thrombocytopenic purpura in pregnancy. *Semin Hematol* 2000; 37(3): 275–89.

31. Hou M, Stockelberg D, Kutti J, Wadenvik H. Immunoglobulins targeting both GPIIb/IIIa and GPIb/IX in chronic idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP): evidence for at least two different IgG antibodies. *Br J Haematol* 1997; 98(1): 64–7.
32. Kiefel V, Santoso S, Kaufmann E, Mueller E. Autoantibodies against platelet glycoprotein Ib/IX: a frequent finding in autoimmune thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 1991; 79(2): 256–62.
33. Kiefel V, Freitag E, Kroll H, Santoso S, Mueller E. Platelet autoantibodies (IgG, IgM, IgA) against glycoproteins IIb/IIIa and Ib/IX in patients with thrombocytopenia. *Ann Hematol* 1996; 72(4): 280–5.
34. He R, Reid DM, Jones CE, Shulman NR. Spectrum of Ig classes, specificities, and titers of serum antiglycoproteins in chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood* 1994; 83(4): 1024–32.
35. McCrae KR. Thrombocytopenia in pregnancy: differential diagnosis, pathogenesis, and management. *Blood Rev* 2003; 17(1): 7–14.
36. Burrows RF, Kelton JG. Fetal thrombocytopenia and its relation to maternal thrombocytopenia. *N Engl J Med* 1993; 329(20): 1463–6.
37. Samuels P, Bussell JB, Braitman LE, Tomaski A, Druzin ML, Mennuti MT et al. Estimation of the risk of thrombocytopenia in the offspring of pregnant women with presumed immune thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* 1990; 323(4): 229–35.
38. Taub JW, Warrier I, Holtkamp C, Beardsley DS, Lusher JM. Characterization of autoantibodies against the platelet glycoprotein antigens IIb/IIIa in childhood idiopathic thrombocytopenia purpura. *Am J Hematol* 1995; 48(2): 104–7.
39. Stockelberg D, Hou M, Jacobsson S, Kutti J, Wadenvik H. Evidence for a light chain restriction of glycoprotein Ib/IX and IIb/IIIa reactive antibodies in chronic idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP). *Br J Haematol* 1995; 90(1): 175–9.
40. Fujisawa K, Tani P, O'Toole TE, Ginsberg MH, McMillan R. Different specificities of platelet-associated and plasma autoantibodies to platelet GPIIb-IIIa in patients with chronic immune thrombocytopenic purpura. *Blood* 1992; 79(6): 1441–6.
41. Nieminen U, Kekomaki R. Quinidine-induced thrombocytopenic purpura: clinical presentation in relation to drug-dependent and drug-independent platelet antibodies. *Br J Haematol* 1992; 80(1): 77–82.
42. Aljittawi OS, Krishnan K, Curtis BR, Bougie DW, Aster RH. Serologically documented loracarbef (Lorabid)-induced immune thrombocytopenia. *Am J Hematol* 2003; 73(1): 41–3.
43. Meyer O, Hoffmann T, Aslan T, Ahrens N, Kiesewetter H, Salama A. Diclofenac-induced antibodies against RBCs and platelets: two case reports and a concise review. *Transfusion* 2003; 43(3): 345–9.
44. Aster RH. Can drugs cause autoimmune thrombocytopenic purpura? *Semin Hematol* 2000; 37(3): 229–38.
45. Burgess JK, Lopez JA, Gaudry LE, Chong BH. Rifampicin-dependent antibodies bind a similar or identical epitope to glycoprotein IX-specific quinine-dependent antibodies. *Blood* 2000; 95(6): 1988–92.
46. de Q, Pinto V, Hevia S, Vigon R. Immune complex-mediated haemolytic anaemia and Evans syndrome induced by diclofenac. *Vox Sang* 1997; 72(2): 121–3.
47. Greinacher A, Eichler P, Lubenow N, Kiefel V. Drug-induced and drug-dependent immune thrombocytopenias. *Rev Clin Exp Hematol* 2001; 5(3): 166–200.
48. Kotanagi H, Ito M, Koyama K, Chiba M. Pancytopenia associated with 5-aminosalicylic acid use in a patient with Crohn's disease. *J Gastroenterol* 1998; 33(4): 571–4.
49. Aster RH. Drug-induced immune thrombocytopenia: an overview of pathogenesis. *Semin Hematol* 1999; 36(1 Suppl 1): 2–6.
50. Kroll H, Sun QH, Santoso S. Platelet endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM-1) is a target glycoprotein in drug-induced thrombocytopenia. *Blood* 2000; 96(4): 1409–14.
51. Newman PM, Chong BH. Heparin-induced thrombocytopenia: new evidence for the dynamic binding of purified anti-PF4-heparin antibodies to platelets and the resultant platelet activation. *Blood* 2000; 96(1): 182–7.
52. Amiral J, Meyer D. Heparin-induced thrombocytopenia: diagnostic tests and biological mechanisms. *Baillieres Clin Haematol* 1998; 11(2): 447–60.
53. Chong BH. Heparin-induced thrombocytopenia. *J Thromb Haemost* 2003; 1(7): 1471–8.
54. Fabris F, Luzzatto G, Stefani PM, Girolami B, Cella G, Girolami A. Heparin-induced thrombocytopenia. *Haematologica* 2000; 85(1): 72–81.
55. Warkentin TE, Hedde NM. Laboratory diagnosis of immune heparin-induced thrombocytopenia. *Curr Hematol Rep* 2003; 2(2): 148–57.
56. Levy JA, Murphy LD. Thrombocytopenia in pregnancy. *J Am Board Fam Pract* 2002; 15(4): 290–7.
57. Karim R, Sacher RA. Thrombocytopenia in pregnancy. *Curr Hematol Rep* 2004; 3(2): 128–33.
58. Macchi L, Rispoli P, Clofent S, Pellegrin JL, Nurden P, Leng B et al. Anti-platelet antibodies in patients with systemic lupus erythematosus and the primary antiphospholipid antibody syndrome: their relationship with the observed thrombocytopenia. *Br J Haematol* 1997; 98(2): 336–41.
59. Shechter Y, Tal Y, Greenberg A, Brenner B. Platelet activation in patients with antiphospholipid syndrome. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1998; 9(7): 653–7.
60. Panzer S, Gschwandner ME, Hutter D, Spitzauer S, Pabinger I. Specificities of platelet autoantibodies in patients with lupus anticoagulants in primary antiphospholipid syndrome. *Ann Hematol* 1997; 74(5): 239–42.

LABORATORIJSKA DIAGNOSTIKA HEMOSTATSKIH MOTENJ V PORODNIŠTVU

Vera Urlep - Šalinović

Ključne besede: nosečnost; porod; krvavitev; diseminirana intravaskularna koagulacija

Key words: pregnancy; delivery; bleeding; disseminated intravascular coagulation

Izvelek - Izhodišča. Normalna nosečnost je povezana s hiperkaogulabilnostjo zaradi povečane aktivacije koagulacijskih faktorjev, zmanjšane funkcije inhibitorjev koagulacije in zmanjšane fibrinolitične aktivnosti plazme. Krvavitve se pogosto pojavljajo v tretjem trimesečju nosečnosti, med porodom in neposredno po porodu. Hemostatske motnje, med katerimi je najpogostejša akutna diseminirana intravaskularna koagulacija (DIK), se pojavljajo pri naslednjih patoloških stanjih: preeklampsija, eklampsija, predležča posteljica, predčasna ločitev pravilno ležeče posteljice, sepsa, embolija s plodovo vodo, smrt ploda v maternici in sindrom HELLP (hemolitična anemija, zvišane vrednosti jetrnih encimov, nizki trombociti). DIK je sindrom, ki se klinično zrcali v poškodbi različnih organov zaradi tromboze v mikrocirkulaciji in hudih življenjsko ogrožajočih krvavitvah zaradi porabe koagulacijskih faktorjev in trombocitov ter sekundarne aktivacije fibrinolize. Mehanizem aktivacije koagulacije je rezultat sproščanja placentalnih encimov, amnijske tekočine in fetalnega nekrotičnega tkiva. V hemostatskih testih, značilnih za DIK, najdemo, odvisno od stopnje aktivacije koagulacije, neznatno ali zelo podaljšan protrombinski čas, podaljšan trombinski čas, podaljšan aktivirani parcialni tromboplastinski čas, znižan fibrinogen, znižane koagulacijske faktorje (F II, F V, F VIII), znižan antitrombin III, znižano število trombocitov in zvišan D-dimer. Zaradi naglih sprememb v hemostatskem mehanizmu moramo testiranje ponavljati. Poleg intenzivnega zdravljenja vzroka diseminirane intravaskularne koagulacije moramo zaustaviti trombotično dogajanje in nadomestiti porabljene faktorje koagulacije in trombocite.

Zaključki: DIK je akuten in zelo težak zaplet v porodništvu. Zgodnja diagnoza, ki se postavlja na osnovi klinične slike in laboratorijskih izvidov ob tesnem sodelovanju klinika in laboratorijskega zdravnika, omogoča pravočasno ukrepanje in preprečuje hude zaplete.

Abstract – Background. Normal pregnancy is connected with hypercoagulability due to an increase in coagulation, diminished function of inhibitors and diminished fibrinolytic activity. Hemorrhages occur commonly in the third trimester, during delivery or immediately after delivery. Hemostatic disorders, disseminated intravascular coagulation (DIC) being the most frequent, occur in the following pathologic conditions: preeclampsia, eclampsia, placenta previa, placental abruption, sepsis, amniotic fluid embolism, retained dead fetus, and HELLP (hemolytic anemia, elevated liver enzymes, low platelets) syndrome. DIC is a syndrome resulting in multiple organ failure due to microvascular thrombosis and severe bleeding due to consumption of coagulation factors and platelets as well as secondary activation of fibrinolysis. The mechanism of coagulation system activation is a result of the release of placental enzymes, amni-

otic fluid or necrotic fetal tissue factor. Depending on the degree of coagulation system activation, the hemostatic tests characteristic of DIC show a slightly or a very prolonged prothrombin time, prolonged thrombin time, prolonged activated thromboplastin time, decreased fibrinogen, decreased coagulation factors II, V and VIII, decreased antithrombin III, decreased platelet number, increased D-dimer. The hemostatic tests must be repeated due to rapid changes in the hemostatic mechanism. Beside intensive treatment of the primary disorder causing DIC, we must stop the thrombotic event and substitute the consumed coagulation factors and platelets.

Conclusions. DIC is an acute and very severe obstetrical complication. Early diagnosis based on clinical symptoms and laboratory findings and good collaboration between clinician and hemostasiologist leading to intensive treatment may reduce the development of serious complications of pregnancy as well as mortality.

Uvod

V normalni nosečnosti je prisotna hiperkoagulabilnost kot zaščitni dejavnik pred krvavitvijo, predvsem zaradi povečane aktivnosti koagulacijskih dejavnikov, znižanja inhibitorjev koagulacije in zmanjšane fibrinolitične aktivnosti plazme. V testih hemostaze lahko zaznamo spremembe, kot so skrajšan protrombinski čas (PČ), skrajšan trombinski čas (TČ), skrajšan aktivirani parcialni tromboplastinski čas (aPTČ), zvišan fibrinogen, zvišano število trombocitov, znižan protein C (PC), znižan protein S (PS) in zvišan trombin antitrombin kompleks (TAT) ter zvišan D-dimer (1,2).

Krvavitve v pozni nosečnosti, predvsem pa med porodom in neposredno po porodu, so pomemben zaplet v približno 5 % vseh nosečnosti (3). Hude krvavitve zaradi hemostatskih motenj, med katerimi je najpogostejša akutna diseminirana intravaskularna koagulacija (DIK), se pojavljajo pri različnih patoloških stanjih, kot so: preeklampsija, eklampsija, predležeča posteljica (placenta previa), prezgodnja ločitev pravilno ležeče posteljice (abruptio placentae), predležeče žilje posteljice (vasa previa), raztrganje maternice, poškodba porodnega kanala, miom, malignom maternice, zaostala posteljica, sepsa, embolija s plodovo vodo, sindrom HELLP (hemolitična anemija, zvišane vrednosti jetrnih encimov, nizki trombociti) in odmrtje ploda v maternici (4–8).

Diseminirana intravaskularna koagulacija

Prvo DIK je opisal Walter Seegers v ZDA leta 1950 pri porodnici in ugotovil, da je klinična slika rezultat tromboze in krvavitve. V preteklosti so DIK imenovali porabna koagulopatija zaradi porabe koagulacijskih dejavnikov, vendar so pozneje ugotovili, da sekundarno aktivirani plazmin razgradi več koagulacijskih dejavnikov, kot se jih porabi (8,9). DIK ni bolezen, ampak sindrom različnih patofizioloških sprememb, ki so odvisne od bolezni, ki je povzročila intravaskularno koagulacijo, od zdravstvenega stanja bolnika in spremljajočih bolezni (10,11). Po današnjih spoznanjih je DIK trombo-hemoragična motnja, ki se pojavlja v dobro znanih kliničnih stanjih, z laboratorijsko zaznavo aktiviranja koagulacije in fibrinolize, porabo inhibitorjev in biokemično zaznavo poškodbe organov (12). Pri nosečnici ali porodnici se DIK razvije v že omenjenih patoloških stanjih. Klinično se lahko zrcali s težkimi okvarami različnih organov zaradi hipoksije, ki je posledica mikrovaskularne tromboze v teh organih, in s hudimi, včasih neobvladljivimi krvavitvami zaradi sekundarne

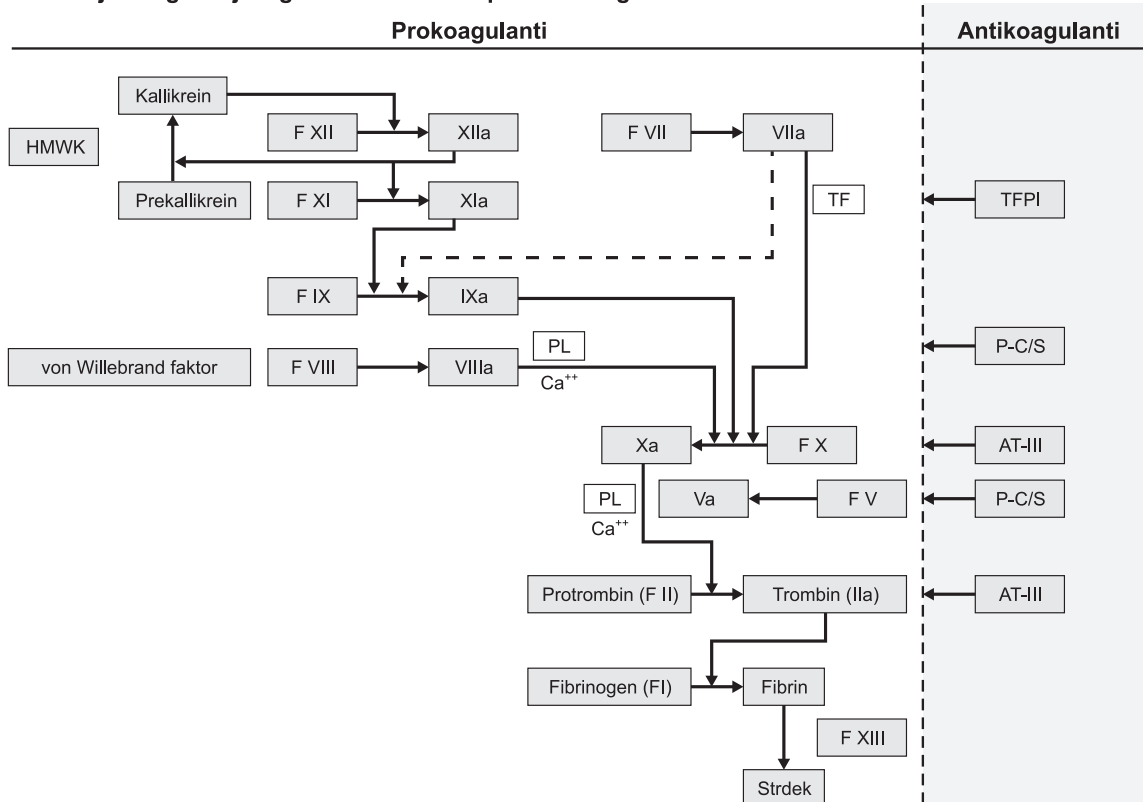
aktivacije fibrinolize kot zaščitnega mehanizma pred širjenjem mikrovaskularne tromboze in porabe koagulacijskih faktorjev in trombocitov (12–17). Mehanizem aktivacije koagulacije je odvisen od patološkega procesa, pri katerem se sproščajo placentalni enzimi, amnijska tekočina in nekrotično tkivo ploda v materin krvotok; v septičnih stanjih bakterijski toksini stimulirajo sproščanje prokoagulantnih snovi iz odmrlih limfocitov, nevtrofilov in trombocitov (7–14). V patoloških stanjih je koagulacija primarno aktivirana preko ekstrinzične poti z aktivacijo tkivnega dejavnika ali preko intrinzične poti z aktivacijo F XII na poškodovanem endotelu krvnih žil; v sepsi iz limfocitov in nevtrofilov sproščeni citokini aktivirajo koagulacijo (12).

Etiologija in diagnostična merila

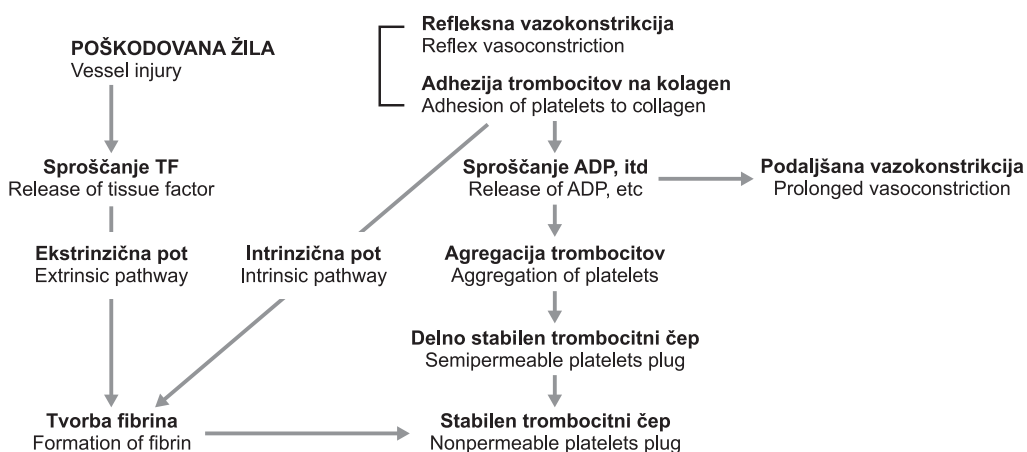
V porodništvu je DIK naglo se spreminjajoče in dramatično klinično dogajanje, s sliko hudih krvavitev in težkih okvar različnih organov. Najtežji in življenje ogrožajoči pojav je DIK pri emboliji s plodovo vodo, ki v materničnem in sistemskem krvotoku matere aktivira koagulacijo. Pri prezgodnji ločitvi pravilno ležeče posteljice, predležecem žilju posteljice in zaostali posteljici se sproščajo v materin krvotok placentalni enzimi, ki aktivirajo koagulacijo, medtem ko pri raztrganju maternice, poškodbi porodnega kanala in miomu aktivirajo koagulacijski mehanizem tromboplastinu podobne snovi, ki se sproščajo iz poškodovanega tkiva. V primerih, ko ostane odmrli plod v maternici več kot 5 tednov, se pri približno 50 % pojavi DIK, ki je v začetku kompenziran, nato pa naglo preide v fulminantno trombo-hemoragično obliko. V teh primerih enzimi fetalnega nekrotičnega tkiva, ki se sprošča v materin krvotok, delujejo na različnih mestih in aktivirajo koagulacijo in fibrinolitični sistem (5–8,13–16). Pri preeklampsiji in eklampsiji pogosteje ostane DIK omejen na placentalni in ledvični mikroobtok, le v 10–15 % žena preide v sistemski obtok (5,7,8,17,18). V vseh omenjenih patoloških stanjih mora porodničar pomisliti na DIK, zato je potrebno pravočasno opraviti teste hemostaze, ki se pri akutnem DIK zelo naglo spreminjajo. Spremljanje testov hemostaze omogoča pravočasno ukrepanje in nadomeščanje hemostatskih dejavnikov (19,20).

Diagnozo določimo na osnovi patološkega stanja, ki lahko sproži DIK, kliničnih znakov in laboratorijskih testov. Aktivacija koagulacije lahko začne preko ekstrinzične ali intrinzične poti ali obeh hkrati, odvisno od sprožilnega mehanizma, torej od osnovne bolezni. Na *sliki 1* je prikazan mehanizem aktivacije koagulacijskega sistema in vpliv inhibitorjev koagulacije. Aktivacija koagulacije poteka po intrinzični poti preko kalikreina, ki aktivira F XII. Nato teče kaskadno aktiviranje ostalih koagulacijskih dejavnikov vse do nastajanja trombina, ki pretvarja fibrinogen v fibrin, in po ekstrinzični poti, ki začneja z aktivacijo F VII. Rezultat medsebojnega delovanja vseh dejavnikov je nastanek fibrinskega strdka in preprečitev nadaljnje krvavitve. Skrajno aktiviranje koagulacije preprečujejo fiziološki inhibitorji, kot so antitrombin III, PC, PS in inhibitor tkivnega faktorja (TPAI – tissue pathway activator inhibitor). Antitrombin III deluje kot najvažnejši inhibitor na trombin in v koagulacijski kaskadi na aktivirane koagulacijske faktorje (F IXa, Xa, XIa, XIIa in kompleks VIIa-tkivni faktor). Aktivirani PC deluje inhibicijsko na F Va in VIIIa. V nosečnosti sta znižanje PC in PS povezana s hiperkoagulabilnostjo, saj je zmanjšana inhibicija koagulacijskega sistema.

Aktivacija koagulacijskega mehanizma in vpliv antikoagulantov



Slika 1: Aktivacija koagulacijskega mehanizma in vpliv antikoagulantov
Figure 1: Activation of coagulation mechanism and influence of anticoagulants

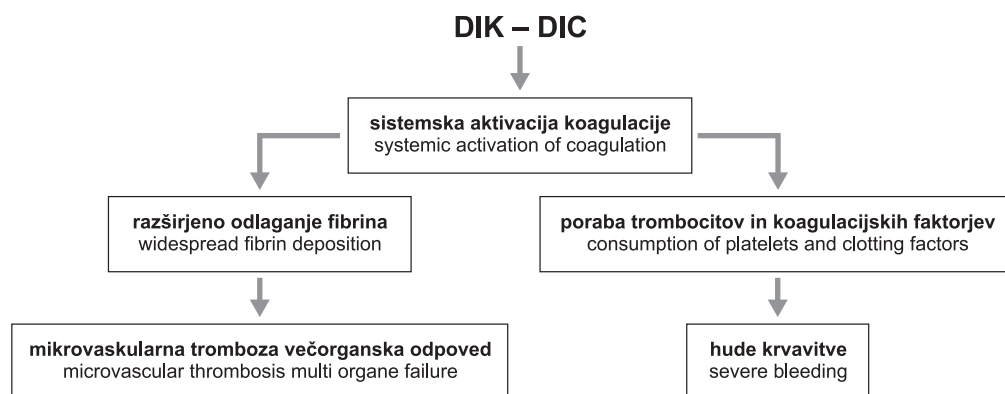


Slika 2: Reakcija krvne žile, aktivacija trombocitov in koagulacijskega mehanizma pri poškodbi (povzeto po Sirridge MS, Shannon R. Laboratory evaluation of hemostasis and thrombosis 1983;2)
Figure 2: Interrelationship in hemostasis in small arteries and arterioles

Na *sliki 2* je prikazan medsebojni vpliv poškodovane krvne žile, koagulacijskega mehanizma in reakcije trombocitov (18). Iz poškodovane žile se sprošča tkivni faktor (TF- tissue factor), ki aktivira ekstrinzično pot koagulacijskega mehanizma; hkrati nastopi vazokonstrikcija poškodovane žile; na kolagen se prilepijo trombociti in z aktivacijo F XII se začneja intrinzična pot koagulacije.

Iz adheriranih trombocitov se sproščajo vazoaktivne snovi, ki podaljšujejo vazokonstrikcijo. Trombociti iz obtoka se aglomerirajo na poškodovani žili in nastane trombocitni čep, ki s fibrinom tvori neprepustni trombocitni strdek.

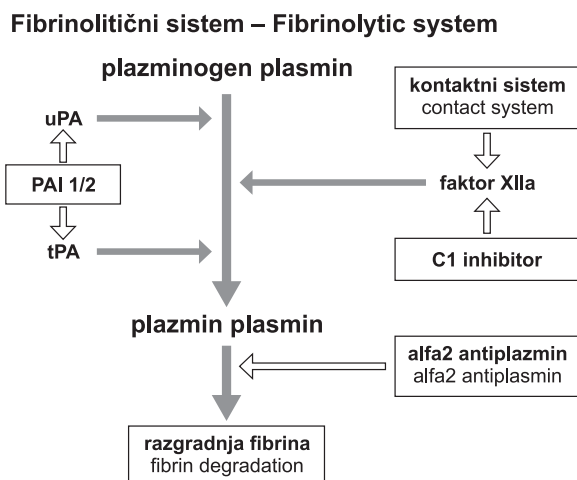
Na *sliki 3* je shematsko prikazana klinična slika diseminirane intravaskularne koagulacije, ki zaradi porabe koagulacijskih faktorjev in trombocitov vodi do hudih krvavitev, a zaradi mikrovaskularne tromboze do hipoksije in odpovedi s trombozo prizadetih organov.



Slika 3: Klinična slika DIK

Figure 3: Clinical picture of DIC

Na *sliki 4* je prikazano aktiviranje fibrinolitičnega sistema, ki je v DIK sekundarno aktiviran, da bi se preprečilo širjenje mikrovaskularne tromboze. V normalni nosečnosti je zmanjšana fibrinolitična aktivnost plazme zaradi zvišanja PAI (plazminogen aktivator inhibitorja). V DIK različni sprožilni dejavniki aktivirajo preko tkivnega aktivatorja plazminogena (tPA- tissue plasminogen activator) ali urokinaznega aktivatorja plazminogena (uPA- urokinase plasminogen activator) in kontaktnega sistema plazminogen, ki se pretvarja v aktivni plazmin, ki ne razgrajuje samo fibrinskih strdkov, temveč tudi koagulacijske dejavnike (18–22). Razgradnja koagulacijskih faktorjev in njihova poraba vodita do hudih krvavitev.



Legenda: uPA – urokinazni aktivator plazminogena, tPA – tkivni aktivator plazminogena
PAI 1/2 – plazminogen aktivator inhibitor, F XIIa – aktivirani F XII
prazne puščice – inhibitorji, polne puščice – aktivatorji

Slika 4: Aktiviranje fibrinolitičnega sistema

Figure 4: Activation of fibrinolytic system

Laboratorijska diagnostika DIK

Zaradi kompleksnih patofizioloških dogajanj v DIK so laboratorijski testi variabilni, zato je njihova interpretacija težka. **Osnovni presejalni testi, ki dovoljujejo hitro vrednotenje poteka DIK, so: PČ, TČ, aPTČ, fibrinogen, število trombocitov, AT III in D-dimer.** V *razpredelnici 1* so prikazani globalni testi hemostaze in specifični molekularni označevalci, ki so značilni za DIK.

Laboratorijske teste lahko razdelimo v tri skupine, ki odgovarjajo trem fazam DIK. V prvi fazi zajemajo hiperkoagulabilnost s povišanimi vrednostmi označevalcev aktivacije koagulacije (FII, V, VIII, F1+2, TAT, D-dimer).

Razpredelnica 1: Vrednotenje testov hemostaze v vseh stopnjah DIK

Table 1: Evaluation of hemostatic tests in all steps of DIC

test test	I. faza hiperkoagulabilnost I st step hypercoagulability	2. faza kompenzacija 2 nd step compensation	3. faza dekompenzacija 3 th decompensation
PČ PT	skrajšan/normalen shortened/normal	normalen normal	podaljšan prolonged
TČ TT	skrajšan/normalen shortened/normal	normalen normal	podaljšan prolonged
aPTČ aPTT	skrajšan/normalen shortened/normal	normalen normal	podaljšan prolonged
fibrinogen fibrinogen	zvišan high	normalen normal	znižan/zelo znižan low/very low
F II, V, VIII	zvišani/normalni high/normal	normalni normal	znižani/zelo znižani low/very low
D-dimer D-dimer	zvišan high	zvišan high	zelo zvišan very high
trombociti platelets	zvišani/normalni high/normal	normalni/znižani normal/low	znižani/zelo znižani low/very low
AT III	normalen normal	znižan low	zelo znižan very low
F I + 2	zvišan high	zvišan high	zelo zvišan very high
TAT	zvišan high	zvišan high	zelo zvišan very high

Legenda okrajšav:

PČ - protrombinski čas, PT- prothrombin time,

TČ - trombinski čas, TT - thrombin time,

aPTČ - aktivirani parcialni tromboplastinski čas, APTT - activated partial thromboplastine time,

TAT - trombin antitrombin kompleks,

AT III - antitrombin III,

F I + 2 - fragment protrombina.

Globalni koagulacijski testi (PČ, TČ, aPTČ) so lahko pri nosečnici ali porodnici v prvi fazi normalni ali celo skrajšani zaradi hiperkoagulabilnosti.

V drugi fazi se aktivacija koagulacije nadaljuje, vendar so že prisotni znaki porabe, ki se pri nosečnicah in porodnicah kažejo v normalizaciji globalnih testov hemostaze. Trombociti so le v posameznih primerih znižani, prav tako je znižan AT III. Vrednosti globalnih testov lahko pravilno vrednotimo le, ko jih primerjamo s predhodnimi. V ospredju so okvare vitalno važnih organov zaradi mikrovaskularne tromboze, opažamo lahko že manjše krvavitve. Tretjo fazo imenujemo tudi hiperfibrinolitična faza zaradi sekundarno aktivirane fibrino-

lize, ki lahko povzroči raztapljanje mikrotrombov in celo izboljša mikrocirkulacijo v prizadetih organih (19–23). V klinični sliki so v ospredju hude krvavitve zaradi porabe koagulacijskih faktorjev (fibrinogen, FII, V, VIII) in dodatne plazminske razgradnje koagulacijskih faktorjev in porabe trombocitov (17,22–24). V tej fazi zasledimo tudi zelo zvišane vrednosti D-dimerja kot kazalca specifične plazminske razgradnje fibrina. Rezultate testov lahko mnogo bolje vrednotimo, če imamo začetne vrednosti. Ker so spremembe v hemostatskih testih nagle, je pomembno teste ponavljati. Tako lahko sledimo kontinuirano zniževanje fibrinogena in števila trombocitov, ki sta lahko zgodnja kazalca DIK, čeprav so vrednosti lahko prav pri nosečnicah in porodnicah v mejah normale. V tretji fazi DIK zasledimo podaljšanje globalnih testov in zelo znižan fibrinogen zaradi porabe in plazminske razgradnje ter posledično močno zvišan D- dimer.

Zaključek

Ker je diseminirana intravakularna koagulacija pri nosečnicah in porodnicah hud zaplet, katerega izhod je lahko smrten, je izredno pomembno, da jo pravočasno prepoznamo. Nujno je takojšnje in intenzivno zdravljenje vzročnega dejavnika, spremljati spremembe v hemostatskih testih, jih pravilno vrednotiti in pravočasno ukrepati, saj dekompenzirana oblika vodi v smrt.

LITERATURA

1. Joist JH. Hypercoagulability: introduction and perspective. *Semin Throm Hemost* 1990; 16: 151–7.
2. Konje JC, Taylor DJ. Bleeding in late pregnancy. In: James DK, Steer PJ, Weiner CP, Gonik B. High risk pregnancy. 2nd ed. London: W.B. Saunders Company; 1999: 111–28.
3. Samuels P. Acute care of thrombocytopenia and disseminated coagulation complicating pregnancy. In: Foley MR, Strong TH. *Obstetric Intensive care. A practical manual.* Philadelphia; W.B. Saunders Company; 1997: 47–62.
4. Adachi T, Nayabayashi M, Sakura M, Ando K. Involvement of fibrinolytic factors in mid-trimester amniotic fluid with development of early-onset preeclampsia. *Semin Throm Hemost* 1999; 25: 447–50.
5. Kobayashi T, Tokunaga N, Sugimura M, et al. Coagulation / fibrinolysis disorder in patients with severe preeclampsia. *Semin Throm Hemost* 1999; 25: 451–5.
6. Kruithof EKO, Tran-Thang C, Gudinchet A, et al. Fibrinolysis in pregnancy: A study of plasminogen activator inhibitors. *Blood* 1987; 69: 460–6.
7. Kobayashi T, Terao T. Preeclampsia as chronic disseminated intravascular coagulation. *Gynecol Obstet Invest* 1987; 24: 170–8.
8. Kobayashi T, Tokunaga N, Sugimura M, Kamayama N, Terao T. Predictive values of coagulation / fibrinolysis parameters for termination of pregnancy complicating by severe preeclampsia. *Semin Throm Hemost* 2001; 27: 137–41.
9. Strong TH. Obstetric hemorrhage. In: Foley MR, Strong TH. *Obstetric Intensive care. A practical manual.* Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1997: 31–46.
10. Baker WF. Clinical aspects of disseminated intravascular coagulation: A clinician's point of view. *Semin Throm Hemost* 1989; 15: 1–57.
11. Kobayashi T, Terao T, Maki M, Ikenoue T. Diagnosis and management of acute obstetrical DIC. *Semin Throm Hemost* 2001; 27: 161–7.
12. Sirridge MS, Shanon R. *Laboratory evaluation of hemostasis and thrombosis.* Third edition Philadelphia: Lea & Febiger; 1983: 1–16.
13. Bick RL. Disseminated intravascular coagulation: objective clinical and laboratory diagnosis, treatment and assesment of therapeutic response. *Semin Thromb Hemost* 1996; 22: 69–88.
14. Kobayashi T, Terao T, Maki M, Ikenoue T. Activated protein C is effective for disseminated intravascular coagulation associated with placental abruption. *Thromb Haemost* 1999; 82: 1363.
15. Maki M. AT III: Recent advances in obstetrical disseminated intravascular coagulation. *Biomed Prog* 1992, 5: 5–8.
16. Beljanski – Rogan S. Masivne krvavitve v porodništvu in bolezenska stanja z motnjami v strjevanju krvi. 4. podiplomski seminar zdravljenje s krvjo v kirurgiji- intenzivna nega in terapija. Portorož, 13-15.dec. 2001; 92–100.
17. Bonar J, McNicol GP, Douglas AS. Coagulation and fibrinolytic systems in pre-eclampsia and eclampsia. *BMJ* 1971; 1: 12–6.
18. Nilsson IM. *Haemorrhagic and thrombotic diseases.* London: John Wiley & Sons. 1974: 121–7.
19. Slack Sm, Cui Yw, Turrilo VT. The effect of blood flow on coagulation and thrombosis. *Thromb Haemost* 1993; 70: 129–34.
20. Roberts JM, May WJ. Consumption coagulopathy in severe pre-eclampsia. *Obstet Gynecol* 1976; 48: 163–6.
21. Nelson WE, RE Behrman, RM Kliegman, Arvin AM. *Textbook of pediatrics.* Philadelphia: W. B. Saunder Company. 2000. 1505–25.
22. Bick RL. Disseminated intravascular coagulation and related syndromes: a clinical review. *Semin Thromb Hemost* 1988; 14: 299–338.
23. Bick RL. Disseminated intravascular coagulation: objective laboratory diagnostic criteria and guidelines for management. *Clin Lab Med* 1994; 14: 729–68.
24. Bick RL. Disseminated intravascular coagulation: pathophysiological mechanisms and manifestations. *Semin Thromb Hemost* 1988; 24: 3–18.
25. Bick RL. Disseminated intravascular coagulation: Current concepts of etiology, pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Hematol Oncol Clin N Am* 2003; 17: 149–76.

ANAEMIAS IN PREGNANCY: DIAGNOSIS AND PREVENTION

Natalia Masharova, Anita Valchanova

I. Physiological and haematological changes during pregnancy

Pregnancy induces physiological changes that often confuse the diagnosis of several haematological disorders and the assessment of their treatment. This is especially true for anaemia.

A number of marked haematological changes are induced by pregnancy. One of the most significant changes is that of blood volume expansion by a mean of 50 percent. Plasma volume increases disproportionately compared with red cell mass, resulting in physiological decrease in haematocrit. During this time, iron requirement for mother and fetus average nearly 1.000 mg.

I. Increase in plasma volume

During pregnancy there is an increase about 50% of plasma volume, which reaches its maximum by week 32 of gestation. This is accompanied by a similar increase of the cardiac output. These changes:

- Increase blood supply to the uterus
- Increase the excretory capacity of the kidneys
- Help dissipate heat produced by the elevated metabolic rate during pregnancy
- Protect the fetus against impaired placental perfusion as a result of aortal caval compression by the gravid uterus.

2. Red blood cells

The mother's red cell mass increases by 18–25% during pregnancy. This occurs more slowly than the increase in plasma volume. The discrepancy between the rates of increase in plasma volume and red cell mass results in a physiological reduction in the haemoglobin concentration during pregnancy. Normal or elevated haemoglobin during pregnancy may be a sign of pre-eclampsia in which plasma volume is reduced.

3. Iron metabolism

The mother's iron requirement is increased during the last two trimesters of pregnancy because of the demand of the fetus and the increase of the maternal red cell mass. Up to 80% of the increased requirements occur in the last trimester. The total iron requirement over the whole pregnancy is approximately 1.300 mg.

II. Anaemia in pregnancy

I. Definition of anaemia

A precise definition of anaemia in women is complicated by normal differences in the concentration of haemoglobin between women and men, between white and black women, between women who are pregnant and those who are not, and between pregnant women who receive iron supplement and those who do not. Anaemia in non-pregnant women is defined as haemoglobin concentration less than 12 g/dL and less than 10 g/dL during pregnancy or the puerper-

ium. The haemoglobin concentration is lower in the second trimester; early in pregnancy and again near term, the haemoglobin level of most healthy women with iron stores is 11 g/dL or higher. Anaemia in pregnancy, as defined by WHO, is a haemoglobin concentration of less than 11 g/dL in the first and third trimesters. In the second trimester a fall of 0,5 g/dL due to increased plasma volume is allowed and a cut-off value of 10,5 g/dL is used.

2. Frequency of anaemia

Acute blood loss and chronic anaemia in pregnancy are major causes of maternal morbidity and mortality worldwide.

The frequency of anaemia during pregnancy varies considerably, depending primarily upon whether supplemental iron is taken during pregnancy. There is a reported observation that haemoglobin levels averaged 12,7 g/dL among women who received supplemental iron compared with 11,2 g/dL for women who did not.

3. Effects of anaemia on pregnancy

Anaemia in pregnancy increases the likelihood of fetal growth retardation, premature birth and fetal loss. Its effects on maternal and perinatal morbidity and mortality can be avoided by effective prevention and treatment, taking early corrective measures and thus reducing the need for transfusion if obstetric haemorrhage occurs.

4. Etiology of anaemia

The causes of anaemia during pregnancy are the same as those encountered in non-pregnant women. Any anaemia common to childbearing age women may complicate pregnancy. A classification based primarily on etiology and including most of the common causes of anaemia is shown on *table 1*:

Table 1. Causes of anaemia during pregnancy

Acquired anaemia	Hereditary anaemia
Iron-deficiency anaemia	Thalassaemias
Anaemia caused by acute blood loss	Sickle-cell haemoglobinopathies
Anaemia of infection or malignancy	Other haemoglobinopathies
Megaloblastic anaemia	Hereditary haemolytic anaemia
Acquired haemolytic anaemia	
Aplastic or hypoplastic anaemia	

Although laboratory error as a cause of apparent anaemia has not been included, the results from clinical laboratories may sometimes be inaccurate. A common source of error during pregnancy stems from the rapid erythrocyte sedimentation rate, which is induced by hyperfibrinogenemia of normal pregnancy. If the specimen of blood is not mixed immediately before sampling, the results will likely be inaccurate. Most automated devices used currently have constant mixing features that obviate this problem.

5. Acquired anaemias

5.1. Iron-deficiency anaemia

The two most common causes of anaemia during pregnancy and the puerperium are iron-deficiency and acute blood loss. Not infrequently the two are intimately related, because excessive blood loss with its concomitant loss of haemoglobin iron and exhaustion of iron stores in one pregnancy can be an important cause of iron-deficiency anaemia in the next pregnancy.

The absolutely prevalent importance of iron-deficiency anaemia in preg-

nancy and puerperium needs to be underlined, as well as the ease of its recognition and the economy of its treatment.

The iron requirements of pregnancy are considerable. In a typical gestation with a single fetus, the maternal needs of iron induced by pregnancy averages close to 800 mg, about 300 mg for the fetus and placenta and about 500 mg, if available, for maternal haemoglobin expansion. Approximately 200 mg more are shed through the gut, urine and skin. This total amount, 1.000 mg, exceeds considerably the iron store of most women. Unless the difference between the amount of stored iron available to the mother and iron requirements of normal pregnancy cited above is compensated for by absorption of iron from the gastrointestinal tract, iron-deficiency anaemia develops.

Because the amount of iron diverted to the fetus from an iron-deficient mother is not much different from the amount normally transferred, the newborn infant of a severely anaemic mother does not suffer from iron-deficiency anaemia. Iron stores in the infant are influenced much more when the cord is clamped.

Maternal iron-deficiency anaemia is associated with lower scores on tests of motor and mental development in infancy.

Diagnosis

Classical morphological evidence of iron-deficiency anaemia -erythrocyte hypochromia and microcytosis- is less prominent in the pregnant woman compared with the non-pregnant woman with the same haemoglobin concentration. Moderate iron-deficiency anaemia during pregnancy, for example, a haemoglobin concentration of 9 g/dL is not accompanied by obvious morphological changes in erythrocytes. With this degree of anaemia from iron-deficiency serum ferritin levels are lower than normal, and there is non-stainable bone marrow iron. The serum iron-binding capacity is elevated, but by itself is of little diagnostic value, because it is also elevated in normal pregnancy in the absence of iron-deficiency. Moderate normoblastic hyperplasia of the bone marrow also is found to be similar to the normal pregnancy. Thus, iron-deficiency anaemia during pregnancy is the consequence primarily of expansion of plasma volume without normal expansion of maternal haemoglobin mass.

Treatment

The objectives of treatment are correction of the deficit in haemoglobin mass and eventually restitution of iron stores. Both of these objectives can be accomplished with orally administration of iron compounds (ferrous sulfate, fumarate or gluconate) that provide a daily dose of 180–200 mg of elemental iron. Iron treatment should continue for at least another two or three months to build up iron stores to about 200-300 mg, which is equivalent to a serum ferritin of 30 mg/L. Folic acid may be given along with the iron as a safeguard against folate deficiency in a daily dose of 2 mg folate.

5.2. Anaemia from acute blood loss

Anaemia resulting from recent haemorrhage is more likely to be evident during puerperium. Both abruptio placentae and placenta previa may be sources of serious blood loss and anaemia before as well as after the delivery. Earlier in pregnancy, anaemia caused by acute blood loss is common in instances of abortion, ectopic pregnancy, and hydatiform molla.

Treatment

Massive haemorrhage demands immediate blood replacement with whole blood or packed red cells and volume expanders in amounts that restore and maintain adequate perfusion of vital organs. Even though the amount of blood replaced commonly does not completely repair the haemoglobin deficit created by the haemorrhage, the residual anaemia should be treated with iron.

5.3 Anaemia of infection or malignancy

- HIV infection - if a patient has anaemia with leucopenia, thrombocytopenia, lymphadenopathy and oral candidiasis, the possibility of HIV infection must be considered.
- Malaria - haemolysis due to malaria is an important cause of severe anaemia in pregnancy. Where malaria is suspected in a pregnant woman, early diagnosis and treatment is essential to minimize the risk of maternal morbidity and mortality and the need for transfusion. Chloroquine, quinine and sulfadoxine-pyrimethamine combination are considered safe in all three trimesters of pregnancy.

5.4. Megaloblastic anaemia

Megaloblastic anaemias are a family of haematological disorders whose characteristic blood and bone marrow abnormalities are caused by impaired DNA synthesis. The prevalence of megaloblastic anaemia during pregnancy varies considerably throughout the world.

- Folic acid deficiency - it usually is found in women who do not consume fresh leafy vegetables or foods with high contents of animal proteins. In some instances high ethanol ingestion either is the cause or contributes to its development. Women with megaloblastic anaemia may develop troublesome nausea, vomiting, and anorexia during pregnancy.

Treatment

The treatment of pregnancy-induced megaloblastic anaemia should include folic acid, a nutritious diet and iron. As little as 1 mg of folic acid administered orally once daily produces a striking haematological response.

- Vitamin B₁₂ deficiency

Megaloblastic anaemia caused by vitamin B₁₂ deficiency during pregnancy is exceedingly rare. It is due to malabsorption or to dietary deficiency.

5.5. Acquired haemolytic anaemia

Autoimmune haemolysis is an uncommon condition mediated by the patient's own immunological mechanisms. The cause of aberrant antibody production is unknown. Anaemia due to these factors may be due to warm-active or cold-active antibodies, or a combination. These syndromes also may be classified as primary (idiopathic) and secondary autoimmune haemolysis, caused by underlying disease or other factors. With autoimmune haemolytic anaemia, typically both the direct and indirect antiglobulin tests are positive. Haemolysis and the positive antiglobulin tests may be consequence of either IgM or IgG anti-erythrocyte antibodies. Spherocytes and reticulocytes are characteristic of the peripheral blood smear.

Women with haemolytic anaemia sometimes demonstrate marked acceleration of haemolysis during pregnancy. Glucocorticoids usually are effective as in non-pregnant state and treatment with prednisone, 1 mg/Kg per day, or its equivalent.

6. Hereditary anaemias

6.1. Sickle-cell disease

Anaemia is usually severe and may be exacerbated by acute sequestration of sickle-cells in spleen or, more commonly, by aplastic crisis that occurs when bone marrow red cells production slows down during acute infections. Folate deficiency is common in sickle-cell disease because red cell production is increased. Because the body does not excrete iron and reutilize the iron from the red cells, iron-deficiency in patients with sickle-cell anaemia is no more common than in the general population.

The avoidance or early treatment of infections and administration of folate are important in the management of sickle-cell disease in pregnancy.

6.2. Thalassaemia

The genetically determined haemoglobinopathies that are classified as thalassaemias are characterized by an impaired production rate of one or more of the peptide chains that are normal components of globin. The abnormal synthesis rates may result in ineffective erythropoiesis, haemolysis and varying degrees of anaemia. The different forms of thalassaemias are classified according to the globin chain which is deficient in amount compared to its partner chain. The two major forms of thalassaemias involve either impaired production of alpha-peptide chains causing α -thalassaemia, or beta-chain to cause β -thalassaemia.

- **α -thalassaemia:** because there are two α -globin genes, the genetics of α -thalassaemia is more complicated than β -thalassaemia. For each syndrome, a close correlation has been established between clinical severity and the degree of impairment of α -globin chains. There are two major phenotypes. The deletion of all four α -globin chains characterizes homozygous α -thalassaemia.

The fetus dies either in utero or very soon after birth and demonstrates the typical clinical features of non-immune hydrops fetalis. The compound heterozygous state of α^0 and α^+ results in the deletion of three or four genes, leaving only one functional α -globin gene per diploid genome. The disease is characterized by haemolytic anaemia of varying severity and, in some patients, disease severity is similar to β -thalassaemia. Anaemia in these women usually is worsened during pregnancy. A deletion of two genes results clinically in α -thalassaemia minor, which is characterized by minimal to moderate hypochromic microcytic anaemia. Women with α -thalassaemia minor appear to tolerate pregnancy quite well. The single gene deletion ($-\alpha/\alpha\alpha$) is the silent carrier state. No clinical abnormality is evident in the individual with a single gene deletion.

Diagnosis

Diagnosis of α -thalassaemia minor, as well as α -thalassaemia major in the fetus, can be accomplished by DNA analysis using molecular techniques.

- **β -thalassaemias** are the consequence of impaired production of β -globin chains. This basic defect leads to the panorama of pathology that characterizes homozygous thalassaemia, so-called β -thalassaemia major or Cooley anaemia. With heterozygous β -thalassaemia minor, hypochromia, microcytosis, and mild to moderate anaemia develop without the intense haemolysis in the homozygous state. In the typical case of thalassaemia major, the neonate is healthy in birth, but as the haemoglobin F levels fall, the infant becomes severely anaemic

and fails to thrive. If children are entered into an adequate transfusion programme, they develop normally until the end of the first decade when effects of iron loading become apparent. Those female who do survive beyond childhood are usually sterile if they are not treated in accordance with the last modern practice in this respect. β -thalassaemia minor is characterized with mild anaemia and hypochromic and microcytic cells. The haemoglobin concentration typically is 8 to 10 g/dL. There is usually pregnancy-induced augmentation of erythropoiesis. There is no specific therapy for β -thalassaemia minor during pregnancy. Most often the outcomes for the mother and fetus are satisfactory.

The diagnostic recognition of heterozygous β -thalassaemia may be occasionally made difficult, during pregnancy, by slight modification of some haematological parameters (microcytosis, HbA₂ level), suggesting to repeat a confirmatory diagnostic investigation some time after delivery.

7. Prevention and management of chronic anaemia in pregnancy

The prevention of anaemia and the needs for transfusion during pregnancy can be reduced by:

- Prevention and management of nutritional anaemia.
- Adequate antenatal care.

7.1. Prevention of nutritional anaemia in pregnancy

The following measures are important in preventing nutritional anaemia in pregnant women:

1. Education about nutrition, food preparation and breast-feeding.
2. The provision of adequate maternal and child health care.
3. Access to family planning information, education and service.

7.2. Dietary sources of iron

Iron-deficiency is mainly due to inadequate nutrition. There are two types of dietary iron:

- Haem iron, which is well absorbed and is contained in foods of animal origin.
- Non-haem iron, which is poorly absorbed and is contained in foods of plant origin.

The absorption of non-haem iron requires the presence of vitamin C in the diet.

7.3. Prophylactic administration of haematinics

Prophylactic administration of haematinics is strongly indicated in countries where iron and folate deficiency is common. The optimum daily doses to prevent anaemia in pregnant women are:

- 120 mg elemental iron: e.g. 200 mg tablet of ferrous sulfate.
- 500 μ g folate.

8. Transfusion

It is important to remember that transfusion does not treat the cause of anaemia or correct the non-haematological effects of iron-deficiency.

The decision to transfuse blood must not be based on patient's haemoglobin

concentration alone, but also on her clinical needs, including stage of pregnancy and clinical conditions.

III. Haemolytic Disease of the Newborn (HDN)

Destruction of fetal red cells resulting from maternal alloimmunisation still remains a significant cause of neonatal mortality and brain damage as a result of Haemolytic Disease of the Newborn (HDN). Such infants are often grossly edematous and are said to have hydrops fetalis. Clinical management of these cases entails a series of laboratory-based and obstetric investigation that can predict the severity of fetal anaemia and indicate where in utero transfusion would be life-saving.

I. Causes of alloimmune fetal anaemia

Potentially any paternally inherited antigen that is carried on the surface of fetal red cells, which traffic between fetal and maternal circulation, can prompt a maternal immune response. If this response is of sufficient magnitude, maternal antibodies can cross the placenta and cause destruction of the fetal cell that initially caused the alloimmunization.

Obviously in women who have been transfused there is a greater chance that the first child will have a HDN. In some 0,5% to 1% of transfused women, a blood group antibody will be formed and may cause HDN if the fetus red cells carry the antigen against which it is directed.

In the past, relatively small volumes of blood from one person were injected into others in a practice known as heterohaemotherapy (it was believed that immunity to disease could be passively transferred). Cases of immunization and later, HDN, followed this practice. There are documented cases in which the use of syringes, that have become contaminated with blood (for the injection of illegal drugs: "blood brotherhood" rituals) and the exchange of blood (for "emotional gratification" purposes) have resulted in immunization and subsequently in HDN.

The transfer of IgG antibody from mother to fetus is a normal physiological event and is essential in regard to antibodies other than those directed against red cells. Mechanisms of immunoglobulin synthesis are not fully developed at birth, so those transferred maternal antibodies are necessary for protection against various infections for the first few weeks of the infant's life.

The mechanism of in vivo red cell clearance, when a blood group antibody causes HDN, is the extravascular one. Indeed HDN can be thought of as a form of warm antibody-induced haemolytic anaemia, albeit one caused by an alloantibody not an autoantibody. That is to say, in HDN antibody is made in the mother and red cell destruction occurs in the fetus.

Antibodies to blood group antigens that cause fetal anaemia

Despite the introduction of immunoprophylaxis programmes, Rh D incompatibility still remains the major cause of HDN. The D antigen is the most immunogenic protein structures that arise from the surface of the erythrocyte, and this is most likely due to the fact that D-negative individuals completely lack this protein. All other antibodies of the Rh system should be considered to be capable of causing HDN, but only c antibody often causes severe HDN. HDN due to anti-C, -E, -e is rare and the outcome seldom severe. Recently more attention has been paid to anti-G. These antibodies react with red cells expressing D and/or C, thus it may be mistaken for anti-D; it may also be present together with anti-D or -C. Other Rh system antibodies that have been reported to have caused serious HDN are -ce (-f), -CE, -Hr0 (Rh17).

Among the antibodies outside the Rh system responsible for HDN is anti-K from the Kell system. The HDN caused by anti-K is often very severe. Its pathogenesis differs from that due to anti-D, mainly because anti-K destroys not only peripheral red cells but also suppresses erythropoiesis through the immune destruction of early erythroid progenitors in the fetal liver. For this reason the prediction of the severity of HDN is more difficult than that caused by anti-D. The correlation between the anti-K titre and the severity of disease is lower, lower concentration of amniotic bilirubin and lower hyperbilirubinemia in babies with anaemia, reduced reticulocytosis and erythroblastosis, lower predictive value of cellular functional assays.

ABO incompatibility and immunization to D antigen

Levine first noticed that immunization to D in D- women who deliver D+ infants is less common when the fetal red cells are incompatible with an ABO system antibody in the mother's plasma than when they are compatible. Other authors confirmed this observation. It was reasoned that the protective effect of ABO incompatibility was related to the rate of clearance of the fetal red cells from the maternal circulation. When group A D+ red cells enter the circulation of a group O D- woman, those cells are rapidly destroyed by women anti-A. Thus they comprise a single immunogenic challenge. When group O D+ fetal red cells enter the circulation of a group O D- woman, whose serum does not contain anti-D, they survive normally. A few cells are removed from the woman's circulation each day as they reach the end of their normal life-span. Thus the entry of a volume of group O D+ fetal red cells into the circulation of the group O D- women will result in a series of small immunizing doses (as a few cells are removed each day) over a period of months. A series of small immunizing dose is more likely to initiate antibody production than is a single dose.

2. Diagnosis of HDN

2.1. Laboratory methods

Routine serological methods

For many years it has been routine practice to perform immunohaematological tests during pregnancy to predict the risk of HDN. Although the methodology and quality of serological testing have improved significantly, the ability of these tests to predict haemolytic disease with certainty is far from perfect. Such tests will always be considered supplementary to obstetric monitoring.

- ABO and Rh D group

The ABO and Rh D group of all pregnant women should be determined as early as possible during each pregnancy, when they first attend for antenatal care.

- Blood groups antibody detection

At the first antenatal visit mother's serum should also be screened for any IgG antibodies to red cells, which can cause HDN or could cause problems in obtaining compatible blood in the event of obstetric haemorrhage. If no antibodies are detected, although the risk of occurrence of D alloimmunisation between the first trimester visit and 28 weeks' gestation is quite low (on the order of 18%), the pregnant woman should have a further antibody check at 28-30 weeks gestation.

- Quantification of antibodies

Once detected, the ability of an antibody to cause HDN is generally estimated by antibody quantification. Serial testing (at least once monthly) provides useful information regarding the antibody trend through pregnancy. Rising levels may be indicative of HDN developing in the fetus, but not confirm the blood group of the fetus or the severity of haemolysis.

- Detection of fetal red cells in the maternal circulation

There are many different methods in use for the detection of a larger than usual fetal to maternal haemorrhage (FMH). One of the earliest methods used to detect fetal red cells in maternal circulation was described by Kleihauer and Betke. The rosette test, the test with fluorescein-labeled antibodies, the enzyme-linked antiglobulin test and other tests are used nowadays for evaluation of the fetomaternal haemorrhage.

Functional cellular assays

Serological tests indicate whether an antibody is of clinical importance, but they do not predict its functional activity. Immune destruction is a complex process, in which the interaction between sensitized erythrocytes and cells of the mononuclear system (monocytes, lymphocytes via their Fc gamma-receptors), plays an important role, although the mechanisms of *in vivo* immune red cell destruction are far from clear. Presently there are three functional assays: the monocytes monolayer assay (MMA), antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC) assay, and the chemiluminescence test (CLT).

Fetal genotyping

With recent advances in molecular biology, DNA amplification, and the cloning of RH and KEL genes, it has been possible to establish the fetal blood groups from chorionic villi or from amniocytes. These tests are of great value to predict or exclude fetal haemolytic disease, when a woman has a high antibody level at the beginning of pregnancy and the partner is heterozygous for the corresponding blood groups. However, because of the invasive means by which such samples are obtained, these approaches increase the risk of future sensitizing of the mother. The demonstration of free fetal DNA in maternal plasma by the end of 90-ties raised a new possibility. Using maternal plasma and real time PCR with its automation opened the possibility for examining a large number of samples.

2.2. Obstetric monitoring

Amniocentesis

The level of bilirubin in the amniotic fluid gives an indirect assessment of the severity of fetal haemolysis.

Ultrasound examination

Ultrasound examinations are of limited use in predicting moderately severe HDN. Measurement of the liver and spleen size, polyhydramnios, and enlargement of the heart has been used to diagnose the prehydropic changes.

Fetal Doppler ultra-sonography

Ultra-sonography is a non-invasive method that can be used to study fetal haemodynamics and show physical indications of developing anaemia before hydrops develops.

Fetal blood sampling

The best method to assess haemolytic disease is the direct determination of fetal haemoglobin, haematocrit, and blood groups by testing a blood sample obtained by cordocentesis. This procedure is not without risk even in experienced hands; the risk of fetal loss is 1 %–2 %. Furthermore, there is a risk of feto-maternal haemorrhage and the problem of boosting the antibody level as well as stimulating the development of new antibodies.

3. Prevention of HDN

The administration of prophylactic of anti-D will remain the single most critical clinical intervention to prevent HDN, caused by anti-D antibodies (Rhesus disease). The development of fetal anaemia is most often caused by the failure of anti-D prophylaxis, either by non-administration, at insufficient dose or unrecognized fetal leak late in pregnancy.

Approaches to prevention of Rhesus disease include:

- Postpartum administration of anti-Rh D immunoglobulin to those Rh D-negative women who give birth to a Rh D-positive fetus.
- Selective administration of Rh D immunoglobulin antenatally to cover procedures or accidents.
- Routine antenatal prophylaxis.

Postpartum prophylaxis

Postpartum prophylaxis is the most common approach to the prevention of Rhesus disease. The immunization to D of Rh D-negative mother following delivery of Rh D-positive child can be prevented in 98% to 99% of women providing a suitable quantity of anti-D immunoglobulin. Although 20 µg (100 IU) of anti-D per 1 mL of D+ fetal red cells appears to be sufficient to prevent immunization to D, it has been suggested that 25 µg (125 IU) / 1 mL D+ fetal red cells could be used to provide a safety margin. At least 100 µg (500 IU) dose of anti-Rh D immunoglobulin should be administered to an Rh D-negative mother within 72 hours of delivery if the fetus is Rh D-positive. A dose of 100 µg of anti-Rh D immunoglobulin gives protection for up to 4 mL of fetal red cells. If the Kleihauer or other test is performed and shows more than 4 mL of fetal red cells in the maternal circulation, further anti-Rh D immunoglobulin must be given. It must be noted that other dosages (300, 250 and 200 µg) are suggested by different guidelines (as the American one) and are in use in different countries, depending mostly on medical traditions and on local availability of different commercial preparations.

Selective prophylaxis

If any sensitizing event (procedures during pregnancy, abortion, antepartum haemorrhage etc) occurs during the antenatal period, 50 µg (250 UI) of anti-Rh D immunoglobulin should be administered up to 20 gestation weeks. It is recommended, for all events after 20 weeks, the application of 100 µg (500 UI) anti-D immunoglobulin, followed by a test to identify FMH greater than 4 mL red cells. Additional anti-D immunoglobulin should be given as required.

Antenatal prophylaxis

Since not all cases of feto-maternal haemorrhage are detected during pregnancy, there is still a risk (estimated as 1%) that maternal sensitization to Rh D-positive red cells may occur. For this reason, some countries now recommend that all pregnant women who are Rh D-negative should receive routine anti-Rh D prophylaxis.

ylaxis (reducing sensitization to 0,2% or less), being the extent of the practice of course also depending on different availability of financial resources.

Use of monoclonal anti-D for prophylaxis

Monoclonal antibodies are now being developed for use as prophylactic anti-D, and novel anti-D antibodies have been engineered that do not react with immune system effector cells, in the hope that such antibodies can be used to “block” Rh haemolytic disease of the newborn. Additionally those therapeutic reagents are decreasing the potential risk of transmission of human blood-borne infectious agents.

REFERENCES

1. Avent N. D.: Assessment of fetal anaemia. Plenary and state of the art book. 8th ISBT European Congress, Istanbul, 2003.
2. Bowman J.M., Choron B., Lewis M., Pollock J.M.: Rh isoimmunisation during pregnancy: antenatal prophylaxis. *CMAJ*, 118, 623–7, 1978.
3. Carbonell-Uberos F., De Silva M.: La physiopathologie et la prévention de la maladie hémolytique du nouveau-né. *Médecine Transfusionnelle*, CNED, 1994.
4. Cunningham F.G., MacDonald P.C., Gant N.F., Leveno K.J., Gilstrap L.C.III: *Williams Obstetrics*; 19th edition; pp. 1171–95. 1993.
5. Issit P.D., Anstee D.J.: *Applied blood group serology*; 4th edition. pp. 1045–83, Montgomery Scientific Publication, 1999.
6. Judd W.J. (Scientific Section Coordinating Committee of the AABB): Practice guidelines for prenatal and perinatal immunohaematology, revisited. *Transfusion*, 41, 1445–52, 2001.
7. Lee D., Contreras M., Robson S.C., Rodeck C.H., Whittle M.J. (Joint Working Group for the British Blood Transfusion Society and the Royal College of Obstetricians and Gynecologists): Recommendations for the use of anti-D immunoglobulin for Rh prophylaxis. *Transfusion Medicine*, 9, 93–27, 1999.
8. Mollison P. L., Engelfried C.P., Contreras M.: *Blood Transfusion in Clinical Medicine*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1993.
9. Overbeeke M.A.M.: Haemolytic disease of the newborn: clinical aspects. In: Daniels G.L., Zupanska B.: *Red Cell Immunohematology 1998*. Proceedings of the ESTM residential course, Warsaw, 26-29/9/1998; pp. 79–84. ESTM, Milano, 1998.
10. Scott M.L., Voak D.: Monoclonal antibodies to Rh D - Development and Use. *Vox Sanguinis*, 2, 2000.
11. World Health Organisation: *The clinical use of blood in medicine, obstetrics, paediatrics, surgery and anaesthesia, trauma and burns*. WHO/BTS/99.2. WHO, Geneva, 2001.
12. Zupanska B: Important aspects of the diagnosis of haemolytic disease of the fetus and newborn. *Blood Banking and Transfusion Medicine*, 1, (1), 18–23, 2003.

BLOOD SPARING IN OBSTETRICAL EMERGENCIES

Hans Gombotz

Introduction

In contrast to underdeveloped countries peripartur haemorrhage has steadily declined in western hemisphere but is still the leading cause of maternal and fetal morbidity and mortality. Peripartur haemorrhage occurred in approximately 6.7 per 1000 deliveries (1) and accounted for 17% of maternal deaths in the US between 1991 and 1999 (2). Among white women, the risk ratios for death from haemorrhage - but also infection, embolisms, hypertensive disorders of pregnancy, cardiomyopathy, cerebrovascular accidents, or other medical conditions ranged from 1.8 to 2.7 for those aged 35–39 years and from 2.5 to 7.9 for those 40 years and older. Among black women the risk ratios for death from these conditions ranged from 2.0 to 4.1 for those aged 35–39 years and from 4.3 to 7.6 for those 40 years and older (3). In another investigation a maternal age of \geq 35 years was also an independent risk factor for excess blood loss irrespective of the mode of delivery, even after adjusting for age-related complications such as leiomyoma, placenta previa, and low lying placenta (4).

Peripartur blood transfusion

The increased blood volume associated with normal pregnancy typically accommodates the obligatory blood loss that occurs during vaginal or cesarean delivery. However, in some patients blood loss may overwhelm compensatory mechanisms and may result in hypovolemia and shock with a significant threat for both the mother and the fetus.

Peripartur haemorrhage includes a wide variety of pathophysiologic events (abruptio placentae, placenta praevia and postpartur haemorrhage being the main causes) and despite advances in prevention, diagnosis and treatment massive blood loss during pregnancy remains still a threat. As a consequence, blood transfusions cannot be avoided under all circumstances. Thus it is not surprising, that the first successful transfusion of human blood was performed in a patient for the treatment of postpartur hemorrhage by James Blundell in 1818 (5). On the other hand, women who are Jehovah's Witnesses have been shown to be at a 44-fold higher risk of maternal death due to obstetric haemorrhage (6).

Under normal circumstances blood transfusion in obstetrics is a rare event. In 14,267 consecutive term deliveries without placenta previa red-cell transfusion was used in only 150 deliveries (1.1%). Altogether a total of 424 units was transfused (2.9 per 100 deliveries). Four risk factors were significantly ($p < 0.05$) predictive of peripartur red-cell transfusion: preeclampsia (adjusted odds ratio 3.69), multiple gestation (2.82), elective cesarean (1.71), and nulliparity (1.51). There was no association between transfusion and previous postpartur hemorrhage, previous cesarean with trial of labor, prior abortions, induction of labor, or ethnic group (7). Ransom et al found that out of 16,291 patients admitted for an expectant vaginal delivery, only 76 (0.47%) required blood transfusion during the time of their admission. Most of the blood transfusions were related to previously identified risk factors, including previous postpartur hemorrhage,

multiple pregnancies, previous cesarean delivery, abruptio placentae, and admission anemia (8). During or after their cesarean delivery out of 9596 women a total of 336 received RBC transfusions (9). The overall incidence of transfusion in this patient population declined from 6.2 to 3.2 percent during the study period (p less than 0.001). Slightly more than one-half (54.4%) of all transfusions were given in the operating room or recovery room. The majority of patients (68.4%) received 2 units of RBCs, 11.6 percent received a 1-unit transfusion, and 8.3 percent received 5 units or more. The most common obstetric diagnoses associated with RBC transfusion were disorders of placental implantation, preeclampsia, premature labor with tocolytic therapy, fetal distress, and augmentation of dysfunctional labor. In another evaluation out of 3,962 patients who also underwent cesarean section, 132 (3.3%) required a blood transfusion during their hospital stay. Since then the necessity of an admission type and screen for all women has been questioned because of the low transfusion frequency (8, 10).

Blood conservation methods in obstetrics

Predeposit of autologous blood (PDAB)

PDAB before elective surgery has been questioned in the last few years, because the use of PABD alone provides only a relatively small benefit and is not cost-effective (11). The original premise underlying PABD was that RBC volume would be removed before elective surgery, and sufficient time would elapse to allow the patient's marrow to reconstitute all or a significant portion of the donate. For many patients, however, donating autologous blood in the few weeks immediately before surgery, the only result is chronic hemodilution which may actually place patients at higher risk of leaving the hospital with a lower hematocrit than if they had not engaged in PDAB. To maximize the PDAB benefit, regenerative erythropoiesis must occur, and this may require a longer interval before surgery or the use of erythropoietin.

Although many trials of PDAB showed a reduction in the need for allogeneic blood the methodological quality of the published trials was poor and the overall transfusion rates (allogeneic and/or autologous) were high. In addition, the transfusions were increased by recruitment into the PDAB arms of the trials. This raises questions about the true benefit of PABD. Nowadays in the absence of large, high quality trials using clinical endpoints, it is impossible to say whether the benefits outweigh the harms of PABD (12). The percentage of PABD has also never approached the predicted 10% for either collection or transfusion. In fact, apparent interest in PABD peaked in 1992 (8.5% collected, 5.0% transfused) and has declined in recent years (4.7% collected, 3.0% transfused in 1999).

The donation of 1 unit of autologous blood in the 3rd trimester was well tolerated by both mother and fetus (13–15). However, in the light of even high-risk obstetric population and the difficulty of accurately predicting those likely to require transfusions antepartum, autologous blood donation may not be justified. For example in 251 women with traditionally accepted risk factors only four (1.6%) required transfusions (16). Among the 150 patients, who delivered by repeat cesarean section, only one (0.7%) required blood, one of 27 (3.7%) multiple gestations, two of eight (25%) patients with placenta previa; and none of the 66 grandmultiparous women had transfusions. In addition, 12 of these 13 women required more than one unit of red cells (92%). Combs et al calculated that a hypothetical antepartum blood donation program restricted to patients with three or more risk factors would cost \$32,800–130,700 per case to prevent

transfusion-related hepatitis and \$26,000,000–78,000,000 per case to prevent human immunodeficiency virus infection. They concluded that in obstetric patients without placenta previa, the need for peripartum red-cell transfusion cannot be predicted with sufficient accuracy to justify the costs of antepartum autologous blood donation (7).

Normovolemic hemodilution (NHD)

The net gain of NHD is small and dependent on preoperative hematocrit, the volume collected and the surgical blood loss. There exists only limited experience with NHD in obstetrics (7, 17). NHD is well tolerated in parturients, but may be only indicated in Jehovah's Witness patients with an expected high blood loss.

Intraoperative blood salvage

Except in emergency situations malignancy, bacterial infection, use of collagen or hemostatic material are contraindicated for the use of cell salvage (18–20). Another concern may be that amniotic fluid and fetal debris may not be adequately removed and transfusion may precipitate the anaphylactoid syndrome of pregnancy. With newer devices alpha-fetoprotein, phospholipids, tissue factor, fetal squamous cells and other cellular debris can be removed or can be at least significantly reduced (21). The salvaged blood product improved with the additional use of a leukocyte depletion filter after washing (20, 22). However, even after this procedure, washed blood is likely to contain fetal red blood cells. As a consequence, isoimmunization of the mother is possible, and anti-D immune globuline should be administered when appropriate. The use of autotransfusion by cell salvage with leucocyte depletion filtration should be limited to life-threatening obstetric haemorrhage and offered to Jehovah's Witnesses.

Conclusions

- Although life-threatening bleeding complications may still occur, the requirement for allogeneic red cell transfusions in obstetrics is rare and hardly predictable.
- Apart from the tolerance of low hematocrit values blood conservation methods like predonation of autologous blood or normovolemic hemodilution cannot be recommended for routine obstetric procedures.
- For emergency situations or in Jehovah Witness patients only blood salvage in combination with leukocyte reduction filters can be recommended.
- In case of coagulopathy combined with life threatening peripartal bleeding the application of recombinant factor VII may be a more direct approach to activating the coagulation system and may be a life saving strategy in some instances (23, 24).

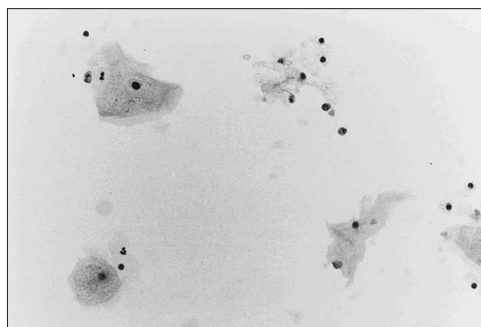


Figure 1: Squamous cells in a typical prewash sample are shown with numerous white blood cells. Red cells are visible but difficult to differentiate from the other contaminants (Papanicolaou stain) (20).

LITERATURE

1. Waterstone M, Wolfe C, Hooper R, Bewley S. Postnatal morbidity after childbirth and severe obstetric morbidity. *BJOG* 2003 Feb; 110(2): 128–33.
2. Chang J, Elam-Evans LD, Berg CJ, Herndon J, Flowers L, Seed KA, et al. Pregnancy-related mortality surveillance—United States, 1991–1999. *MMWR Surveill Summ* 2003 Feb 21; 52(2): 1–8.
3. Callaghan WM, Berg CJ. Pregnancy-related mortality among women aged 35 years and older, United States, 1991–1997. *Obstet Gynecol* 2003 Nov; 102(5 Pt 1): 1015–21.
4. Ohkuchi A, Onagawa T, Usui R, Koike T, Hiratsuka M, Izumi A, et al. Effect of maternal age on blood loss during parturition: a retrospective multivariate analysis of 10,053 cases. *J Perinat Med* 2003; 31(3): 209–15.
5. Baskett TF. James Blundell: the first transfusion of human blood. *Resuscitation* 2002 Mar; 52(3): 229–33.
6. Singla AK, Lapinski RH, Berkowitz RL, Saphier CJ. Are women who are Jehovah's Witnesses at risk of maternal death? *Am J Obstet Gynecol* 2001 Oct; 185(4): 893–5.
7. Combs CA, Murphy EL, Laros RK, Jr. Cost-benefit analysis of autologous blood donation in obstetrics. *Obstet Gynecol* 1992 Oct; 80(4): 621–5.
8. Ransom SB, Fundaro G, Dombrowski MP. The cost-effectiveness of routine type and screen admission testing for expected vaginal delivery. *Obstet Gynecol* 1998 Oct; 92(4 Pt 1): 493–5.
9. Camann WR, Datta S. Red cell use during cesarean delivery. *Transfusion* 1991 Jan; 31(1): 12–5.
10. Ransom SB, Fundaro G, Dombrowski MP. Cost-effectiveness of routine blood type and screen testing for cesarean section. *J Reprod Med* 1999 Jul; 44(7): 592–4.
11. Brecher ME, Goodnough LT. The rise and fall of preoperative autologous blood donation (editorial). *Transfusion*. 2001; 41: 1459–62. *Transfusion* 2002 Dec; 42(12): 1618–22.
12. Henry DA, Carless PA, Moxey AJ, O'Connell D, Forgie MA, Wells PS, et al. Pre-operative autologous donation for minimising perioperative allogeneic blood transfusion. *Cochrane Database Syst Rev* 2002; (2): CD003602.
13. Droste S, Sorensen T, Price T, Sayers M, Benedetti T, Easterling T, et al. Maternal and fetal hemodynamic effects of autologous blood donation during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1992 Jul; 167(1): 89–93.
14. Kruskal MS, Leonard S, Klapholz H. Autologous blood donation during pregnancy: analysis of safety and blood use. *Obstet Gynecol* 1987 Dec; 70(6): 938–41.
15. McVay PA, Hoag RW, Hoag MS, Toy PT. Safety and use of autologous blood donation during the third trimester of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1989 Jun; 160(6): 1479–86.
16. Andres RL, Piacquadio KM, Resnik R. A reappraisal of the need for autologous blood donation in the obstetric patient. *Am J Obstet Gynecol* 1990 Nov; 163(5 Pt 1): 1551–3.
17. Estella NM, Berry DL, Baker BW, Wali AT, Belfort MA. Normovolemic hemodilution before cesarean hysterectomy for placenta percreta. *Obstet Gynecol* 1997 Oct; 90(4 Pt 2): 669–70.
18. Rainaldi MP, Tazzari PL, Scagliarini G, Borghi B, Conte R. Blood salvage during caesarean section. *Br J Anaesth* 1998 Feb; 80(2): 195–8.
19. Rebarber A, Lonser R, Jackson S, Copel JA, Sipes S. The safety of intraoperative autologous blood collection and autotransfusion during cesarean section. *Am J Obstet Gynecol* 1998 Sep; 179(3 Pt 1): 715–20.
20. Waters JH, Biscotti C, Potter PS, Phillipson E. Amniotic fluid removal during cell salvage in the cesarean section patient. *Anesthesiology* 2000 Jun; 92(6): 1531–6.
21. Bernstein HH, Rosenblatt MA, Gettes M, Lockwood C. The ability of the Haemonetics 4 Cell Saver System to remove tissue factor from blood contaminated with amniotic fluid. *Anesth Analg* 1997 Oct; 85(4): 831–3.
22. Catling SJ, Williams S, Fielding AM. Cell salvage in obstetrics: an evaluation of the ability of cell salvage combined with leucocyte depletion filtration to remove amniotic fluid from operative blood loss at caesarean section. *Int J Obstet Anesth* 1999 Apr; 8(2): 79–84.
23. Price G, Kaplan J, Skowronski G. Use of recombinant factor VIIa to treat life-threatening non-surgical bleeding in a post-partum patient. *Br J Anaesth* 2004 Aug; 93(2): 298–300.
24. Boehlen F, Morales MA, Fontana P, Ricou B, Irion O, de MP. Prolonged treatment of massive postpartum haemorrhage with recombinant factor VIIa: case report and review of the literature. *BJOG* 2004 Mar; 111(3): 284–7.

HAEMOSTATIC EMERGENCIES IN PREGNANCY AND DELIVERY

Thorsten Haas

During normal pregnancy the haemostatic balance changes in the direction of hypercoagulability, based on an increase of near all coagulation factors (with exception of Factor XI) including fibrinogen and through activation of platelets. In parallel free protein S and fibrinolytic capacity are diminished. Those changes may be a result of increased estrogen levels. Major changes take place during the third trimester and normalized four to six weeks after delivery.

Nevertheless, during pregnancy and delivery, both, the risks of bleeding and of thromboembolic complications are increased. Eclampsia, HELLP-Syndrom, placental abruption, amniotic fluid embolism and several other conditions can induce disseminated intravascular coagulation (DIC) and subsequently multiorgan failure. Therefore it was essential to detect haemostatic derangements timely. In this context standard global coagulation test provide little information, results are available only after unacceptable delay and furthermore provide no definite information on ongoing DIC and hyperfibrinolysis. In contrast, thrombelastographic measurements allow detecting hypercoagulability, hyperfibrinolysis, deficiencies of coagulation factors, as well as the differentiation of a deficiency of fibrinogen from that of platelets. The automatic pipetting system is easy to use and results are available immediately, thus appropriate therapy can be initiated without delay. Furthermore in the occurrence of postoperative bleeding thrombelastographic measurements can be used to decide whether surgical revision is necessary or whether coagulopathy needs to be corrected firstly.

Postpartum hemorrhage is defined as a blood loss greater than 500 ml after vaginal delivery, and greater than 1000 ml after a cesarean delivery. Given that such estimates of blood loss are subjective approximations at best, the American College of Obstetrics and Gynecology recently advocated defining postpartum hemorrhage as either a 10% change in haematocrit between admission and the postpartum period, or a need for erythrocyte transfusion. Using this definition, vaginal deliveries have a 3.9% incidence of haemorrhage and cesarean deliveries a 6.4% incidence. Whenever excessive blood loss is expected, it is imperative that an adequate infusion device is available and that blood components are prepared.

Most common aetiologies for postpartum hemorrhage consist of uterine atony, retained placental fragments and lower genital tract laceration. Less common causes include uterine rupture, placenta accrete and coagulopathy. Uterine atony is still the leading cause of primary postpartum haemorrhage, also the leading cause of maternal mortality in USA and the main indication of emergency peripartum hysterectomy.

The successful use of recombinant factor VIIa was subject of several case reports about peripartum haemorrhage management. However, every attempt should be made firstly to temporarily achieve fibrinogen concentrations of 100mg/dL and platelet counts of 30 G/L, because these are pivotal in the coagulation-promoting action of rFVIIa.

Certain coagulopathic conditions are the consequence of pathology that is unique to pregnancy. Although these are very rare causes of postpartum haemorrhage, they should be considered, especially in the absence of more common aetiologies. Such conditions include coagulopathy due to DIC associated with eclampsia, abruption placenta, amniotic fluid embolism, severe infections, and dead foetus syndrome.

Obstetrical DIC is usually a very acute, serious complication of pregnancy. However, diagnosis of DIC in obstetrics may be difficult. There are several reliable laboratory markers for the presence of DIC, including measurements of thrombin-antithrombin complex (TAT), and fibrin degradation products (FDP, D-Dimer). Unfortunately, these tests are not helpful for clinical practice because they are not available in clinical routine and also too time consuming. Generally in the early course of DIC treatment of bleeding is of primary concern while in the late course thrombembolic complications are the dominating problem. ROTEM® measurements allow to monitor these patients very closely through the entire course and enable directed therapy, which have been shown to lead to a reduction of blood components transfused. In most of the patients showing considerable blood loss and volume demand fibrinogen deficiency will develop firstly, followed by a deficiency in other procoagulant haemostatic factors and finally platelet deficiency need to be corrected. However this general observed derangements of the hemostatic system are influenced by inter-individual differences in haemostatic competence. Therefore repeated ROTEM® measurements of the individual patients are needed.

In addition severe blood loss might also be due to hyperfibrinolysis, which is also detectable by thrombelastographic monitoring and needs to be corrected by the administration of aprotinin, followed by correction of fibrinogen deficiency.

Activated protein C (APC) is a serine protease derived from vitamin K-dependent zymogen, protein C, via activation by thrombin/thrombomodulin complex. APC can inhibit thrombin generation, accelerate fibrinolytic activity and thus might be a useful therapy in the late course of DIC.

Heparin therapy is rarely indicated in obstetrical DIC because these patients usually have a large postoperative wound and severe bleeding may occur following heparin therapy.

Because prolongation of exposure to the triggering factors will aggravate DIC, it is most important to eliminate the etiologic factor as rapidly as possible.

In conclusion, thrombembolic as well as severe bleeding might complicate pregnancy and delivery. Immediate diagnosis and therapy are needed in order to manage these patients safely. Global coagulation test provide only limited information after unacceptable delay while ROTEM® measurements can be done at bedside, allow differential diagnosis and thus early and appropriate treatment.

KRVAVITVE V ZGODNJI NOSEČNOSTI

Andrej Vogler, Irena Bricl

Uvod

Krvavitve v nosečnosti v zvezi z zdravljenjem s krvjo in krvnimi pripravki obravnavamo predvsem z dveh stališč:

1. nadomeščanje izgubljene krvi, kadar to zahteva splošno stanje nosečnice in
2. s stališča feto-maternalne krvavitve (FMK) in posledično možne imunizacije RhD-negativnih nosečnic.

Vsaka krvavitev v nosečnosti, razen rahla krvavitve ob začetku poroda, je nenormalna. Krvavitve iz rodil v zgodnji nosečnosti so krvavitve, ki nastanejo pred 20. tednom nosečnosti in so zelo pogoste, saj krvavi od 30 do 40 % nosečnic. Približno polovica nosečnic, ki krvavi, kasneje tudi splavi (1). S klinično dokazanim splavom se konča približno 15 do 20 % nosečnosti. Dejanska pogostnost splavov je še bistveno večja, verjetno med 30 in 50 % vseh nosečnosti. Ta razlika nastane zaradi zgodnje prekinitve nosečnosti, ki nastane približno v času pričakovane menstruacije, ko nosečnost še ni klinično ali laboratorijsko dokazana. Ti primeri s stališča zdravljenja s krvjo oziroma krvnimi pripravki niso pomembni, ker ne gre za bistveno večjo izgubo krvi kot pri normalni menstruaciji, nosečnost pa se konča, preden se razvijejo plodovi eritrocitni antigeni in tako ne more priti do imunizacije RhD-negativnih nosečnic.

Vzroki krvavitev in FMK v zgodnji nosečnosti

Najpogostejši vzroki za krvavitve v zgodnji nosečnosti so: spontani splav, zunajmaternična nosečnost (ZN), mola hydatidosa, bolezni nožnice in materničnega vratu, iatrogene krvavitve zaradi različnih posegov v nosečnosti.

Spontani splav

Spontani splav je prekinitev nosečnosti, preden je plod sposoben življenja zunaj maternice. Zaradi napredka perinatologije in predvsem intenzivne neonatologije se je v zadnjih dveh desetletjih meja med splavom in porodom stalno nižala. V Republiki Sloveniji velja, da gre za splav, če se nosečnost konča pred dopolnjenim 22. tednom nosečnosti oziroma preden plod doseže 500 g telesne teže. Ta meja je po svetu lahko višja ali celo nekoliko nižja. Spontani splav je najpogostejša nepravilnost v zgodnji nosečnosti. Približno 80 % splavov je v prvem trimesečju nosečnosti, pogostnost se nato znižuje z vsakim nadaljnjim tednom (2). Najpogostejši vzrok za spontani splav so kromosomopatije zarodka (do 60 %), prirojene in pridobljene nepravilnosti maternice, okužbe (salmonela, citomegalo virus, toksoplazma, mikoplazma, klamidija), endokrinološke motnje, imunološke motnje, cerviko istmična insuficienca, kemične snovi (arzen, benzen, etilen oksid, topila, pesticidi, svinec, živo srebro) in duševne motnje.

Splav razdelimo glede na vrsto oziroma potek na:

- grozeči splav (abortus imminens),
- potekajoči splav (abortus in tractu),
- nepopolni splav (abortus incompletus),
- popolni splav (abortus completus),
- snetljivo jajce (blighted ovum, anembrijska nosečnost) in
- zadržani splav (missed abortion).

Grozeči splav je definiran kot krvavitev iz nožnice pred 22. tednom nosečnosti. Krvavitev je praviloma blaga in jo lahko spremljajo rahli krči v spodnjem delu trebuha. Z ultrazvočno preiskavo ugotovimo živ plod v maternici. Pogosto lahko z ultrazvočno preiskavo opazimo tudi manjšo subhorionsko krvavitev oziroma hematoma. Krvavitev pri grozečem splavu do 12. tedna nosečnosti nastane v večini primerov iz maternalnih žil decidue ali materničnega vratu in manj pogosto iz plodovih žil horionskih resic. Zato je tveganje za FMK minimalno (3). Kljub temu lahko tudi pri grozečem splavu pride do krvavitve iz horio-decidualnega prostora. Čeprav je količina fetalnih eritrocitov majhna (<0,1 ml), se lahko do 3 % RhD-negativnih nosečnic imunizira tudi pri FMK manjši od 0,1 ml (4, 5).

O **potekajočem splavu** govorimo, ko se maternično ustje odpira in ima nosečnica popadke. Krvavitev je obilnejša in je odvisna predvsem od trajanja nosečnosti, tako da je v drugem trimesečju lahko tudi zelo obilna.

Pri **nepopolnem splavu** gre za nepopoln iztis. Pogost je po 6. tednu nosečnosti. V maternici praviloma ostane del placente. Značilna je zmerna krvavitev iz maternice, ki je v primeru višje nosečnosti lahko tudi obilna in se ne zaustavi, dokler ne odstranimo zaostalih delov placente, ker se maternica ne more skrčiti.

O **popolnem splavu** govorimo, ko se vsi produkti nosečnosti v celoti izločijo iz maternice. Diagnozo postavimo s podrobno anamnezo, kliničnim pregledom in potrdimo z ultrazvočno preiskavo. Krvavitev pri popolnem splavu je praviloma blaga do zmerna, ker se prazna maternica lahko skrči in se tako vzpostavijo naravni mehanizmi zaustavljanja krvavitve po prekinitvi nosečnosti.

Snetljivo jajce ali anembrijska nosečnost je diagnoza, ki jo postavimo s pomočjo ultrazvočne preiskave, ki pokaže le gestacijsko vrečko premera 25 mm ali več brez odbojev ploda oziroma delov ploda. Verjetno gre v teh primerih večkrat za zelo zgodaj odmrli plod, ki se nato vsrka, kot pa za nepravilno razvijajočo se brezplodno nosečnost.

Pri **zadržanem splavu** plod odmre pred nastopom krvavitve in krčev, ki bi iztisnili plod iz maternične votline. Mrtev plod lahko ostane v maternici tudi do več tednov, kar lahko po približno 3 do 4 tednih povzroči diseminirano intravaskularno koagulacija (DIK). V današnjem času, ko lahko z ultrazvočno preiskavo ugotovimo vitalnost ploda že od 6. tedna dalje in nosečnost v primeru mrtvega ploda prekinemo, je to izjemno redko.

Zunajmaternična nosečnost

Vsaka ugnjezditev oplojene jajčne celice zunaj maternične votline je zunajmaternična nosečnost (ZN). Pogostnost ZN je od 1 do 2 % vseh nosečnosti (5). Pri ZN lahko nastane obsežna krvavitev v trebušno votlino s posledičnim hipovolemičnim šokom in praviloma FMK kot pri drugih vrstah splava. Zunaj

maternice se oplojena jajčna celica v več kot 95 % ugnezdi v jajcevod (6, 7). Redkeje se oplojena jajčna celica ugnezdi v jajčnik, maternični rog, maternični vrat ali trebušno votlino. Leta 2001 je bilo v Sloveniji zunaj maternice nosečih 1,4 % nosečnic.

Zaradi neugodnih razmer za razvoj ploda pride pri ZN v večini primerov do smrti ploda že v prvih tednih nosečnosti. Pri ZN v jajcevodu se nosečnost v večini primerov konča s tubarnim splavom, ko se nosečnost izloči skozi abdominalno ustje jajcevoda v trebušno votlino. Krvavitev v trebušno votlino je blaga do zmerna, zato obsežnejši hemoperitonej nastaja počasi. Bolnice s tubarnim splavom praviloma poiščejo zdravniško pomoč zaradi bolečin, ki nastopijo že ob manjši količini krvi v trebušni votlini. V večini primerov so torej zdravljene, preden bi jih krvavitev v trebušno votlino lahko ogrozila. Manj pogosto pride pri tubarni nosečnosti do ruptur jajcevoda in krvavitve v trebušno votlino, ki je praviloma obilna in lahko v dokaj kratkem času ogrozi življenje nosečnice. Ruptura jajcevoda je z 10 do 15 % vodilni vzrok maternalne umrljivosti v prvem trimesečju nosečnosti (8). Zaradi sodobnih diagnostičnih postopkov in obveščeni žensk o dejavnih tveganja za nastanek ZN v večini centrov v razvitih državah danes zdravimo več kot 80 % bolnic z ZN pred nastankom obsežnega hemoperitoneja (9). Zdravljenje ZN je skoraj izključno operativno.

Bolezni materničnega vratu in nožnice

Okužbe nožnice ali materničnega vratu v nosečnosti lahko povzročijo krvavitve iz nožnice, predvsem po spolnih odnosih. Te krvavitve so praviloma zelo blage in nosečnice ne ogrožajo. Pomembne so predvsem diferencialnodiagnostično. Če zanesljivo izključimo krvavitve zaradi nepravilnosti nosečnosti, niso potrebni posebni ukrepi, ker v teh primerih ne pride do FMK. Še redkeje so krvavitve v nosečnosti zaradi organskih sprememb materničnega vratu, kot so polipi in maligne bolezni.

Mola hydatidosa

Mola hydatidosa ali mehurčasta snet sodi med trofoblastne bolezni in je posledica nepravilne oploditve jajčne celice. Značilna je mehurčasta degeneracija placentalnih resic. Pogostnost je približno 1 na 1000 do 2000 nosečnosti. Pri popolni moli se plod ne razvije, pri nepopolni pa je plod prisoten, praviloma s kromosomskimi nepravilnostmi ali malformacijami. V 3 do 10 % se mehurčasta snet maligno spremeni v horiokarcinom. Večino molarnih nosečnosti odkrijemo z ultrazvočno preiskavo že v prvem trimesečju nosečnosti in jih prekinemo, preden nastopi obsežna krvavitev. V redkih primerih, ko se mola hydatidosa ne odkrije v prvem trimesečju, lahko nastane obsežna krvavitev iz maternice, ki lahko nosečnico tudi življenjsko ogrozi. Pri popolni moli zaradi odsotnosti zarodka ne more nastati FMK, za razliko od delne mole, kjer moramo ukrepati kot pri drugih vrstah splava.

Poškodbe

Poškodbe različnih tkiv in organov pri nosečnicah so enako verjetne kot pri drugih ljudeh in jih zdravimo po istih načelih. Pri nosečnicah moramo biti pozorni predvsem pri poškodbah trebuha, zlasti udarcih v predel trebuha, npr. ob prometnih nezgodah, kar lahko povzroči kontuzijo ali celo odstop posteljice s posledično FMK. V izjemnih primerih se lahko noseča maternica tudi raztrga. Verjetnost tovrstnih poškodb narašča z višino nosečnosti. V prvem trimesečju nosečnosti je maternica dobro zavarovana v mali medenici, kasneje pa sega v trebušni votlini vse više in je tako bolj izpostavljena poškodbam ob morebitnih udarcih v trebuh.

Posegi v zgodnji nosečnosti

Umetna prekinitev nosečnosti (UPN) je pogost poseg, ki ga v prvem trimesečju opravljamo večinoma operativno, kasneje pa s pomočjo farmakoloških učinkovin. V Republiki Sloveniji je pogostnost UPN 1 na 3 porode. Verjetnost večje krvavitve je ob tem posegu zelo majhna. Glede zaščite RhD-negativnih nosečnic veljajo enaka načela kot pri spontanem splavu.

Biospsija horionskih resic in amniocenteza sta dokaj pogosta posega v zgodnji nosečnosti. Verjetnost, da bi ob strokovno izvedenem posegu prišlo do večje krvavitve, je majhna, vendar lahko ti posegi povzročijo FMK.

Zdravljenje s krvjo in krvnimi pripravki pri krvavitvah v zgodnji nosečnosti

Verjetnost, da bo nosečnica, ki krvavi pred 20. tednom nosečnosti potrebovala transfuzijo krvi, je dokaj majhna. Zaradi sodobne ultrazvočne in laboratorijske diagnostike ter nenazadnje dobre osveščenosti žensk večino nepravilnosti v zgodnji nosečnosti odkrijemo pred nastankom obilne krvavitve, ki bi lahko ogrozila življenje nosečnice. Količina izgubljene krvi danes le redko preseže 500 ml. Večjo krvavitev lahko pričakujemo pri manj kot 10 % zunajmaterničnih nosečnostih in pri približno 1 do 2 % klinično dokazanih spontanih splavov. Obilnejše krvavitve pri drugih nepravilnostih v zgodnji nosečnosti so zaradi majhne pogostnosti zelo redke. O nadomeščanju izgubljene krvi veljajo za nosečnice enaka načela kot za vse druge bolnike. Vsem nosečnicam, ki krvavijo, moramo določiti krvno skupino ABO in RhD ter napraviti indirektni Coombsov test za morebitno navzočnost eritrocitnih aloprotiteles. V primerih obilnejših krvavitev napravimo še popolno krvno sliko.

V Republiki Sloveniji je 18 % nosečnic RhD-negativnih. Prve zarodkove krvne celice in s tem eritrocitni antigeni se tvorijo na površini rumenjakevega mehurčka že v 6. tednu embrionalnega življenja. Antigen RhD je močno imunogen. Imunizacijo RhD pri RhD-negativni nosečnici lahko sproži FMK, ko je plod RhD-pozitiven, in s tem posledično hemolitično bolezen ploda in novorojenčka (HBPN), ki nastane zaradi skrajšane življenjske dobe plodovih oz. novorojenčkovih eritrocitov (10). HBPN lahko nastane že v isti nosečnosti, če se kljub krvavitvi nadaljuje, ali v naslednjih nosečnostih. Hemolizo sprožijo protitelesa v krvi nosečnice, ki prehajajo skozi posteljico v plodov krvni obtok in se vežejo na eritrocitne antigene, ki jih je plod podedoval od očeta. Na nastanek protiteles anti-D vpliva več dejavnikov: količina RhD-pozitivnih eritrocitov vnesenih v RhD-negativno osebo, dajalčev genotip Rh ter odzivnost prejemnika. Dokazano je, da lahko že FMK, manjša od 0,5 ml, sproži primarno imunizacijo (11).

Do FMK lahko teoretično pride pri vsaki nosečnici, ki krvavi zaradi nosečnosti. Imunski odziv na antigen RhD lahko preprečimo z vbrizganjem imunoglobulina anti-D, zato ga moramo dati vsem RhD-negativnim nosečnicam, pri katerih sumimo, da je prišlo do FMK. Odmerek imunoglobulina je odvisen od količine FMK. Testi za določanje natančne količine FMK v zgodnji nosečnosti so dokaj nezanesljivi, zato se o odmerku imunoglobulina anti-D odločamo na podlagi predvidene količine FMK: do 12. tedna vbrizgamo 50 µg Ig anti-D, po 12. tednu nosečnosti pa 300 µg Ig anti-D (10).

Zaključki

Krvavitve v zgodnji nosečnosti so zelo pogoste. Le redke nosečnice bodo izgubile večjo količino krvi, ki bi jih življenjsko ogrožala, in zato potrebovale transfuzijo krvi. Zelo pomembno je preprečevanje imunizacije RhD-negativnih nosečnic. Zato moramo vsem RhD-negativnim nosečnicam, pri katerih sumimo, da je nastala FMK, vbrizgati ustrezen zaščitni odmerek imunoglobulina anti-D.

LITERATURA

1. Willis D. Bleeding in pregnancy. In: Obstetric and gynecologic emergencies. Benrubi GI ed. Philadelphia: J.B. Lippincott Company 1994: 127–38.
2. Stovall TG. Early pregnancy loss and ectopic pregnancy. In: Novak's Gynecology Thirteenth edition. Berek JS ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins 1996: 507–35.
3. Robson SC, Lee D, Urbaniak S. Anti-D immunoglobulin in RhD prophylaxis. Br J Obstet Gynaecol 1998; 105: 129–34.
4. Weinberg L. Use of anti-D immunoglobulin in the treatment of threatened miscarriage in the accident and emergency department. Emerg Med J 2001; 18: 444–7.
5. Zipurski A, Israels LG. The pathogenesis and prevention of Rh immunisation. Can Med Assoc J 1967; 97: 1254–7.
6. Bangsgaard N, Lund CO, Ottesen B, Nilas L. Improved fertility following conservative surgical treatment of ectopic pregnancy. Br J Obstet Gynaecol 2003; 110: 765–70.
7. Chow D, Dalong JR, Cates W, Greenberg RS. Epidemiology of ectopic pregnancy. Epidemiol Rev 1987; 70-94.
8. Vogler A, Ribič-Pucelj M, Tomažević T, Omahen A, Zupan P. Ectopic pregnancy. In: Ribič-Pucelj M, Tomažević T, Keckstein J, eds. International Basic and advanced Course on Gynecological Endoscopic Surgery: book of proceedings. Ljubljana: Slovene Society of Reproductive Medicine 2002: 32–5.
9. Abbott J, Emmans LS, Lowenstein SR. Ectopic pregnancy: ten common pitfalls in diagnosis. Am J Emerg Med 1990; 8: 515–22.
10. Maymon R, Shulman A, Maymon BB, Bar-Levy F, Lotan M, Bahary C. Ectopic pregnancy, the new gynecological epidemic disease: review of the modern work-up and the non-surgical treatment options. Int J Fertil 1992; 37: 146–64.
11. Bricl I, Vogler A. Preprečevanje imunizacij anti-D z imunoprofilakso RhD. Med razgl 2000; 39, suppl. 5: 195–8.
12. Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M. The Rh blood group system (and LW). In: Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M. Blood transfusion in clinical medicine. 10th ed. Oxford: Blackwell Science Ltd; 1997. 152–85.

KRVAVITVE V DRUGI POLOVICI NOSEČNOSTI

Tanja Blejec

Uvod

Krvavitev v drugi polovici nosečnosti pomeni krvavitev po 20.–22. tednu nosečnosti oz. krvavitev v nosečnosti, ko pričakujemo porodno težo novorojenčka, večjo kot 500 g.

V drugi polovici nosečnosti krvavi 2–5 % nosečnic, krvavitev pa je za zdravje nosečnice in njenega plodu lahko neškodljiva. Lahko pa je za oba zelo ogrožujoča.

Najpogostejši vzroki krvavitev v drugi polovici nosečnosti

1. Predležeča posteljica – placenta praevia (pp)
 - pp totalis,
 - pp partialis,
 - pp marginalis,
 - nizki sedež placente.
2. Predčasna ločitev pravilno ležeče posteljice – abruptio placentae.
3. Začetek prezgodnjega poroda.
4. Predležeče žile – vasa praevia.
5. Spremembe materničnega vratu - karcinom materničnega vratu, erozija materničnega vratu, polip materničnega vratu.
6. Krvavitev iz varic na spolovilu.
7. Krvavitev zaradi vnetja v nožnici.
8. Nepojasnene krvavitve.

Ukrepi ob krvavitvi v drugi polovici nosečnosti

Ob krvavitvi v drugi polovici nosečnosti najprej ocenimo resnost krvavitve, ogroženost nosečnice in ploda. Pomembna je gestacijska starost ploda. Nosečnici je potrebno zagotoviti prvo pomoč, če jo potrebuje. Čim prej ugotovimo vzrok krvavitve in temu primerno ukrepamo. Anamneza o krvavitvi nas usmeri v nujnost nadaljnjih diagnostičnih preiskav. Zlasti bodimo previdni pri ginekološkem pregledu in pregledu v zrcalih. Ultrazvočna preiskava potrdi ali izključi predležečo posteljico, pri diagnozi prezgodnja ločitev normalno ležeče posteljice, je lahko v pomoč, a ni zanesljiva. Nadaljnji postopki ob krvavitvi bodo individualni, odvisni od vzroka krvavitve, ogroženosti nosečnice in ploda.

Predležeča posteljica (placenta praevia)

Predležeča posteljica se pogosteje pojavlja pri mnogorodnicah kot prvorodnicah, pri nosečnicah oz. porodnicah po predhodnem carskem rezu, pri starejših nosečnicah oz. porodnicah.

Pojavnost je 0,2 %.

Znaki:

- svetlo rdeča krvavitev brez bolečin;
- lahko sledi kontrakcijam maternice;
- v zadnjih tednih nosečnosti, a vselej pred razpokom plodovih ovojev;
- preneha sama od sebe – opozorilna krvavitev;
- maternalna krvavitev.

Diagnoza: ultrazvočna preiskava.

Ne preiskujemo vaginalno!

Ukrepi:

- carski rez pri zrelem plodu pri gestacijski starosti več kot 34 tednov,
- hospitalizacija po opozorilni krvavitvi v gestaciji manj kot 34 tednov,
- kortikosteroidi pri nezrelem plodu,
- zdravljenje slabokrvnosti nosečnice.

Predčasna ločitev normalno ležeče posteljice (abruptio placentae)

Vzrok abrupcije posteljice večinoma ni znan, povezan pa je z naslednjimi dejavniki tveganja: povišan krvni tlak, polihidramnij, večplodna nosečnost, mnogorodnost, starejša nosečnica, pomanjkanje folne kisline, kajenje. Tveganje za ponovitev abrupcije posteljice v naslednji nosečnosti je povečano: 8–16 %.

Krvavitev nastopi nenadno in nepredvidljivo.

Pojavnost: 0,8 % vseh porodov.

Znaki:

- boleča, temno rdeča, minimalna vaginalna krvavitev;
- občutljivost uterusa, bolečine v trebuhu;
- hipertonus uterusa;
- maternica je lahko večja, kot bi ustrezalo višini nosečnosti;
- fetalni distres;
- možni prodromalni znaki 24 ur pred abrupcijo posteljice – epigastrična bolečina;
- znaki šoka;
- znaki motenj strjevanja krvi.

Smrt ploda nastopi, ko se loči polovica posteljice.

Diagnoza:

- vedno klinično (!),
- ultrazvočna preiskava ni nujna, ker ni zanesljiva, a je lahko v pomoč.

Ukrepi:

- dokončanje poroda,
- nadomeščanje tekočin in krvi.

Perinatalna umrljivost: med 4 % in 65 %, polovico je je pripisati mrtvo-rojenosti. Preživetje novorojenčka je tesno povezano z gestacijsko starostjo in variira od 25 % do 89 %. Pojavnost zastoja plodove rasti je povišana pri novorojenčkih, rojenih po abrupciji posteljice, povišana je tudi pojavnost prirojenih napak ploda.

Krvavitev v kasni nosečnosti je znak začetka poroda

Porod se lahko prične z manjšo krvavitvijo, ki ni povezana s predčasno ločitvijo normalno ležeče posteljice ali predležečo posteljico. Krvavitev je običajno majhna, povezana z odpiranjem materničnega ustja. Porod je v teku.

Zaključek

Krvavitev v drugi polovici nosečnosti lahko ogroža tako nosečnico oz. porodnico kot plod. Pri nosečnici, ki krvavi, poskušamo torej najprej ugotoviti vzrok krvavitve, nato pa ukrepamo v korist zdravja nosečnice oz. porodice in ploda.

LITERATURA

1. Green JR (1993) Placenta abnormalities: placenta praevia and abruptio placentae. In Creasy RK, Resnik R (eds). Maternal – Fetal Medicine: Principles and Practice. Philadelphia: W.B. Saunders
2. Hibbard (2003) Bleeding in late pregnancy. In Hibbard BM (ed.) Principles of Obstetrics. London: Butterworths

KRVAVITEV MED PORODOM IN PO PORODU (PPK)

Vasilij Cerar

Uvod

Krvavitve med porodom so obravnavane v poglavju o krvavitvi v nosečnosti (placenta praevia in abruptio placentae). Krvavitve po porodu so še vedno pomemben vzrok maternalne obolevnosti in umrljivosti, čeprav se je pogostnost izkrvavitve kot vzroka za maternalno smrt precej znižala (orientacijska vrednost okoli 1 na 100.000 porodov) (1). Poporodne krvavitve povzročajo 10,5 % maternalnih smrti (2). V državah v razvoju je pogostnost maternalne smrti zaradi krvavitve precej večja (40 na 100.000 porodov) (1). Incidenca PPK več kot 500 ml je v ljubljanski porodnišnici 3–4 % vseh porodov v letu 2002 1,3 % porodnic izgubilo več kot 1.000 ml krvi. Ker je torej poporodna krvavitev kar pogosta in je ponavadi ni težko pozdraviti, lahko porodničarja uspava, da podceni volumen krvavitve in pomen PPK, in se razvije katastrofalna situacija. PPK najbolje obvladamo, če se ves čas zavedamo vzrokov za krvavitev in **sistematično** pristopimo k zdravljenju, ko se problem pojavi.

Definicija

Izgubo več kot 500 ml krvi po rojstvu posteljice označimo kot poporodno krvavitev (PPK). Takšna definicija je problematična, ker raziskave količine izgubljene krvi po porodu ugotavljajo različne rezultate. Te razlike so posledica različnih načinov merjenja in različnih populacij porodnic. Skrbne raziskave poročajo o povprečni izgubi krvi okrog 500 ml v prvih 24 urah po porodu (3, 4). Pritchard in sodelavci poročajo, da je 7 % porodnic izgubilo 1000 ml krvi po normalnem vaginalnem porodu (3). Izguba krvi pri nosečnici z majhnim volumnom krvi je veliko bolj pomembna kot enaka količina izgube pri nosečnici z večjim volumnom krvi. Zato so predlagali tudi drugačno definicijo PPK: izguba krvi več kot 15 % celotnega ocenjenega volumna krvi (5). V vsakem primeru si mora biti porodničar svest približne količine izgubljene krvi in hitrosti trenutne krvavitve, da bi se izognil nepričakovanemu hipotenzivnemu šoku zaradi prevelike izgube krvi.

Vzroki

Atonija maternice

Atonija maternice je najpogostejši vzrok PPK, tj. 60–80 % vseh poporodnih krvavitvev. Povečano tveganje za atonijo je pri visoki mnogorodnosti, pri raztegnjeni maternici (mnogoplodna nosečnost, polihidramnion, velik plod), pri dolgotrajnem porodu, uporabi oksitocina za indukcijo in stimulacijo poroda in pri uporabi tokolitikov (magnezijev sulfat, blokatorji kalcijev kanalov). Maternični tonus ocenjujemo s palpacijo preko trebušne stene. Čeprav se zdi, da je tonus normalen, pri PPK najprej usmerimo ukrepanje proti maternični atoniji. Če prvi ukrepi niso učinkoviti, se je treba usmeriti v druge možne vzroke krvavitvev in ne **izgubljati časa** z zdravljenjem atonije.

Poškodbe mehke porodne poti

Raztrganine presredka, nožnice, materničnega vratu in maternice lahko povzročijo vidno ali skrito krvavitev. Pazljiva preiskava porodnega kanala z inspekcijo in palpacijo lahko potrdi ali izključi poškodbe kot možen izvor krvavitve.

Porodničar mora vedeti, da ruptura maternice lahko povroči masivno krvavitev, ki je deloma zunanja in deloma ali celo pretežno notranja, in sicer v trebušno votlino in v mehka tkiva retroperitonealno. Večino materničnih ruptur nastane zaradi brazgotin v maternični steni. Možne pa so tudi spontane rupture. Dejavniki tveganja so mnogorodnost, uporaba uterotonikov oziroma spodbujevalcev krčenja maternice (oksitocin, prostaglandini) in porodniške operacije (VE, forceps, medenični porod). Vedno več je tudi porodov po carskem rezu v prejšnji nosečnosti z brazgotino na maternici. Pri teh porodnicah je potrebno ob krvavitvi misliti na možnost ruptur.

Zaostala (retinirana) posteljica

Zaostala (retinirana) posteljica lahko povzroči maternično atonijo, ker preprečuje krčenje maternice. Krčenje maternice stisne spiralne arterije v miometriju in s tem poskrbi za hemostazo. Po porodu je potrebno skrbno pregledati materino površino posteljice, da ne manjkajo posamezni deli (kotiledoni). Na plodovi strani pregledamo potek žil, ki so lahko na robu posteljice prekinjene, ker vodijo k stranski posteljici (placenta succenturiata). Ta je kasneje lahko vzrok hudi krvavitvi. Čeprav je iztipanje maternice neprijeten in potencialno škodljiv poseg, jo je v dvomu o zaostalih delih posteljice treba izvesti.

Priraščena posteljica (placenta accreta)

Placenta accreta nastane tedaj, kadar posteljične resice prodrejo proti miometriju in globlje vanj. To preprečuje normalno ločitev posteljice. Placenta accreta je pogosto združena s predležčo posteljico (placenta praevia), s predhodnim carskim rezom, premočno abrazijo in splavom. Na placento akreto pomislimo, kadar imamo velike težave pri odstranitvi zaostale posteljice. Krvavitev težko zaustavimo s kiretažo, potrebna je ročna kompresija, ligatura hipogastrične arterije, embolizacija maternične arterije ali histerektomija.

Koagulopatija

Takojšnjo hemostazo po porodu omogoči krč materničnih mišic, ki zažme spiralne arterije v steni maternice. Vendar večina koagulopatij (npr. idiopatična trombocitopenična purpura, von Willebrandova bolezen) lahko povzroči PPK. Diseminirana intravaskularna krvavitev zaradi abrupcije ali hude preeklampsije tudi lahko povzroči PPK. Krvavitev pri koagulopatijah ni močna, a je podaljšana. Nastopi lahko tudi nekaj dni po porodu (6). Čeprav za večino koagulopatij vemo že pred porodom, se koagulopatija lahko prvič pokaže kot PPK.

Inverzija maternice

Inverzija maternice je redek pojav (1:20.000 porodov) in je povezana z visoko umrljivostjo (7). Novejša poročila govorijo o višji pogostnosti 1:2.000 porodov (8,9). Visoka umrljivost zaradi inverzije v preteklosti je bila verjetno posledica zadržanosti pri rutinskem pregledovanju vagine in maternice takoj po porodu. Glavni zapleti inverzije maternice je PPK. Šok je neposredno povezan z volumnom izgubljene krvi (8,9). Takojšnje prepoznanje inverzije in ročna repozicija sta ključna pri preprečevanju zapletov in smrti.

Pozna poporodna krvavitev

Pozna ali sekundarna krvavitev nastane 24 ali več ur po porodu. Vzroki so subinvolucija posteljničnega mesta, zaostali deli posteljice, poškodbe in koagulopatije (10,11). Pozne PPK zdravimo po istih postopnih ukrepih kot pri zgodnji.

Zdravljenje

Zdravljenje PPK se začne, preden pride do čezmerne izgube krvi s skrbnim opazovanjem hitrosti krvavitve neposredno po porodu. Posteljično dobo vodimo aktivno z dajanjem uterotonikov v času porajanja sprednjega ramena ploda in kontroliranim vlekem za popkovnico. Cochrane Library poroča o štirih kontroliranih študijah, ki so primerjale aktivni in ekspektativni postopek v posteljični dobi. Meta-analiza je našla krajšo tretjo porodno dobo, manjšo povprečno izgubo krvi (79 ml) in manjše tveganje za krvavitve, večje kot 500 ml in 1000 ml. Opazovali pa so več stranskih učinkov pri materi (bruhanje, povišan krvni tlak).

K diagnosticiranju in zdravljenju PPK je potrebno pristopiti **sistematično, brez nepotrebne izgubljanja časa**. Postopke in njihov vrstni prikazuje *tabela 1*.

Tabela 1: Postopki pri diagnostičnem in terapevtskem ukrepanju

Diagnostični postopki	Določitev etiologije	Zdravilni ukrepi
1. palpacija maternice	atonija maternice	masaža maternice in bimanualna kompresija vzpostavi intraveski dostop, če ta še ne obstaja okситocin metilergobrevin prostaglandin (carboprost) kateterizacija sečnega mehurja naročiti kri za transfuzijo, če že ni pri roki; preprečuj/zdravi šok
2. pregled perineja, nožnice, materničnega ustja	raztrganine	kirurška oskrba
3. iztipanje maternice	zaostali deli posteljice inverzija maternice ruptura maternice	ročna odstranitev ročna repozicija maternice kirurška repozicija laparotomija za reparacijo ali histerektomijo
4. testi hemostaze	koagulopatija	nadomeščanje manjkajočih komponent
Če zgornji ukrepi niso uspešni		
predpostavka		
atonija maternice		ponovno prostaglandin tamponada maternice embolizacija arterije uterine
ruptura maternice, ali intraabdominalne raztrganine		laparotomija: šivi maternice ligatura hipogastrične arterije histerektomija

LITERATURA

1. Hofmeyr GJ, Gülmezoglu AM. New developments in the management of postpartum haemorrhage. In: Bonnar J ed Recent Advances in Obstetrics and Gynaecology No 21. Edinburgh, London, New York, Philadelphia, St. Louis Sydney Toronto: Churchill Livingstone, 2001: 55–66.
2. Kaunitz AM, Hughes JM, Grimes DA et al. Causes of maternal mortality in United States. *Obstet Gynecol* 1985; 65: 605–11.
3. Pritchard JA, Baldwin RM, Dickey JC, Wiggins KM. Blood volume changes in pregnancy and puerperium II. Red blood cell loss and changes in apparent blood volume during and following vaginal delivery, cesarean section, and cesarean section and hysterectomy. *Am J Obstet Gynecol* 1962; 84: 1271–9.
4. Newton M. Postpartum hemorrhage. *Am J Obstet Gynecol* 1966; 94: 711–8.
5. Nelson GH. Consideration of blood loss at delivery as percentage of estimated blood volume. *Am J Obstet Gynecol* 1980; 94: 711–9.
6. Strickland DM, Galey WT, Haut JC. Hypofibrinogenemia as a cause of delayed postpartum haemorrhage. *Am J Obstet Gynecol* 1982; 143: 230–41.
7. Bunke JW, Hofmeister FJ. Uterine inversion: Obstetrical entity or oddity? *Am J Obstet Gynecol* 1965; 91: 934–9.
8. Watson P, Besh N, Bowes WA Jr. Management of acute and subacute puerperal inversion of the uterus. *Obstet Gynecol* 1980; 55: 12–8.
9. Plat LD, Druzin ML. Acute puerperal inversion of the uterus. *Am J Obstet Gynecol* 1981; 141: 187–94.
10. Thorsteinsson VT, Kempers RD. Delayed postpartum bleeding. *Am J Obstet Gynecol* 1970; 107: 565–74.
11. Rome RM. Secondary postpartum haemorrhage. *Br J Obstet Gynaecol* 1975; 82: 289–95.
12. Prendiville RM, Elbourne D, McDonald S. Active versus expectant management in the third stage of labour (Cochrane Review). In: *The Cochrane Library*, Issue 2, 2001. Oxford: Update Software.

ANESTEZIJSKE TEHNIKE IN OBVLADOVANJE KRVAVITEV V PORODNIŠTVU

Slavenka Beljanski - Rogan

Uvod

Obsežne krvavitve nosečnice, porodnice, otročnice so še vedno eden glavnih vzrokov obolevnosti in umrljivosti mater. Boljše prenatalno varstvo, sodobnejši diagnostični in terapevtski postopki in intenzivno zdravljenje ter usklajeno multidisciplinarno ukrepanje so dejavniki, ki zmanjšujejo smrtnost mater. Vzročni dejavniki in tveganja pa ostajajo, zato jih je pomembno pravočasno zaznati in hitro strokovno ukrepati.

Najpogostejši vzroki porodniških krvavitev so:

- predležeča posteljica,
- prezgodnja ločitev pravilno ležeče posteljice,
- poprodna krvavitev.

Obsežna krvavitev v porodništvu je sleherna krvavitev, vidna ali prikrita v obporodnem obdobju, ki ogroža življenje.

Ob roku poroda je maternično-posteljčni pretok krvi 500–800 ml na minuto. Porodnica lahko izkrvavi v 5 do 10 minutah.

Obsežne krvavitve se lahko kažejo z jasnimi znaki zmanjšane znotrajžilne prostornine – tahipnoeja, žeja, hipotenzija, tahikardija, podaljšan kapilarni polnitveni čas, zmanjšana diureza, motnje zavesti in fetalni distress. Zaradi fizioloških sprememb nosečnosti pa se dostikrat izrazijo pri krvaveči porodnici le nekateri znaki zmanjšane znotrajžilne prostornine, čeprav je izgubila znatno količino krvi.

V klinični praksi je včasih ocena krvavitve težavna zaradi prikrite krvavitve znotraj maternice ali v peritonealno votlino. Stopnja hipotenzije je orientacijsko vodilo glede obsežnosti krvavitve. Prednostno ukrepanje je oksigenacija in takojšnja obnova znotrajžilne prostornine s kristaloidi, umetnimi koloidi ter čimprejšnja transfuzija koncentriranih eritrocitov. Slednji nadomeste izgubo oksiformne zmogljivosti. Temu sledi zdravljenje z drugimi komponentami krvi, kakor nam narekuje ocena kliničnih znakov in vrednosti laboratorijskih preiskav (hemogram, testi strjevanja krvi).

Toleranca za akutno anemijo ni odvisna zgolj od celostnosti odgovora kompenzacijskih mehanizmov na sistemski in mikrocirkulacijski ravni, temveč tudi od potreb tkiv po kisiku. Vsako povečanje potreb tkiv po kisiku zmanjša toleranco porodnice za akutno anemijo. Povečano dihalno delo, delo srca, mišični napor, bolečina oz. nezadostna analgezija, strah, hiperventilacija, vročinsko stanje, sočasnost drugih bolezni porodnice (srčno-žilnih, pljučnih, ki so obstajale že prej ali jih je sprožila nosečnost so dejavniki, ki spremene fiziološko prilagoditev porodnice na akutno anemijo.

Zato se odločimo za transfuzijo koncentriranih eritrocitov porodnici po klinični presoji, ki temelji na oceni njene sposobnosti povečati utripni volumen srca, prenos, oddajanje in ekstrakcijo kisika, stopnje presnovnih potreb tkiv ter dejavnikov tveganja za krvavitve.

Neprekinjeno klinično opazovanje matere, monitoriranje njenih življenjskih funkcij, nadzor in ocena stanja ploda, diagnostični postopki za razjasnitev strokovnih nejasnosti in usklajeno, hitro terapevtsko ukrepanje pri sleherni porodnici ali otročnici, ki vidno krvavi ali pri kateri sumimo, da krvavi, so pogoji, ki zagotavljajo obvladljivost krvavitve in dober izid.

Ukrepanje pri krvavitvah v porodništvu

Dejavniki tveganja in prepoznavna nosečnice, porodnice, otročnice z večjo verjetnostjo obsežne krvavitve:

- nosečnice s predležčo posteljico, še zlasti tiste z brazgotino maternične stene;
- nosečnice z anamnezo o krvavitvah v prejšnjih nosečnostih;
- debele nosečnice;
- nosečnice z velikimi plodovi in dvema ali več plodovi;
- starejše nosečnice;
- nosečnice, pri katerih je bil napravljen urgentni carski rez.

1. Kadar zaradi dejavnikov tveganja ob ugotovljenem porodniškem statusu oz. diagnozi ali iz anamnestičnih podatkov sedanje in/ali prejšnjih nosečnosti, **sklepamo na veliko verjetnost večje krvavitve** pri nosečnici oz. porodnici:

- ocenimo njeno splošno in hemodinamsko stanje,
- s porodničarjem se dogovorimo o načrtu poroda,
- odvzamemo vzorce za laboratorijske preiskave (hemogram, elektroliti, kreatinin, testi strjevanja krvi, po potrebi hepatogram, analizo urina),
- preverimo skladnost izvida krvne skupine s preizkusom na ploščici,
- zagotovimo (rezerviramo ali naročimo) pričakovani izgubi primerno količino koncentriranih eritrocitov skladne krvne skupine in se po potrebi posvetujemo s transfuziologom,
- ocenjujemo in monitoriramo stanje ploda (kontinuiran kardiotokogram z direktno elektrodo), ki je hkrati kazalec prekrvitve materinih organov.

2. Zaradi možnosti nenadne krvavitve:

- takoj uvedemo dobri periferni intravenski poti za obnovo znotrajžilne prostornine,
- pripravimo grelce tekočin in sisteme za hitro transfuzijo,
- uvedemo urinski kateter za nadzor urne diureze,
- uvedemo centralni venski kateter za vrednotenje osrednjega venskega tlaka in morebitno rabo vazoaktivnih učinkovin,
- po potrebi uvedemo arterijsko kanilo za jemanje vzorcev laboratorijskih preiskav in invazivno merjenje krvnega tlaka.

3. Porodniško ukrepanje – ugotovitev in odprava vzroka krvavitve

Pri predporodnih krvavitvah:

- porod ploda in posteljice po doktrini, vaginalno ali s carskim rezom.

Pri poporodnih krvavitvah:

- pregled materničnega vratu, porodne poti, perineja in zašitje raztrganin,
- pregled posteljice in odstranitev zaostale posteljice z iztipanjem maternice, če je prirasla z ročnim luščenjem;
- če je maternica ohlapna (hipotonična, atonična) – katetrizacija, masaža maternice, raba uterotonikov, oksitocina, ergometrina, prostaglandina 15 metilPGF₂;
- tamponada razteznega dela maternice s pestjo (bimanualna kompresija);
- zašitje epiziotomije;
- retroponiranje izvrnjene maternice;
- pravočasna kirurška revizija in hemostaza ali arterijska embolizacija
- pravočasna histerektomija.

4. Sočasno anesteziološko ukrepanje obsega:

- nadomeščanje izgube krvi s kristaloidi, umetnimi koloidi in komponentami krvi ter hitro
- pripravo in izvedbo splošne anestezije s prilagoditvijo anestezijske tehnike oz. izborom učinkovin za porodniške operativne posege.

Kadar je verjetnost porodniške krvavitve velika ali če bolnica krvavi, je splošna anestezija samoumevna.

Uporabimo anestetične učinkovine in odmerke teh, ki zagotove čim večjo stabilnost srčno-žilnega sistema, ne povzročijo ohlapnosti maternice, hkrati pa zagotove amnezijo.

Zaradi hemodinamskih in respiracijskih fizioloških sprememb je že tako ali tako pri nosečnicah, porodnicah indukcija v anestezijo hitrejša, hitrejše so spremembe globine anestezije, potreba po hlapnih anestetikih je manjša – vrednost MAC inhalacijskih anestetikov je nižja. Za hipnotični učinek thiopentala je znano, da je pri nosečnicah potreben odmerek za 17 % manjši od odmerka pri nenosečih. Tudi aktivnost serumske holinesteraze je pred porodom in nekaj dni po porodu zmanjšana za približno 25–33 %. Kljub tej manjši aktivnosti pri zdravi nosečnici običajno ni težav pri pravilnem odmerjanju sukcinilholina. Podaljšana živčno-mišična blokada pa se zgodi ob dehidraciji, nezadostni nadomestitvi izgube krvi, acidozi, elektrolitskem neravnovesju, ob prizadetosti jeter.

Kadar bolnica zakrvavi med področno anestezijo, so njeni kompenzacijski mehanizmi zelo okrnjeni zaradi blokade simpatikusovega nitja. Kljub nadomeščanju znotrajžilne prostornine ima bolnica lahko hudo nizek krvni tlak. Tedaj je potrebna splošna anestezija, ki zagotavlja prosto dihalno pot, dobro predihavanje in oksigenacijo.

5. Vodenje anestezije in vrednotenje učinkovitosti ukrepanja

Pri obsežnih krvavitvah naj anesteziološki dvojici pomaga druga dvojica.

Med posegom zasledujemo hemodinamiko, ocenjujemo respiracijski status, vzdržujemo normotermijo, preprečujemo acidozo, vzdržujemo raven ioniziranega Ca nad 0,9 mMol/l.

V pomoč nam je razširjeno anesteziološko monitoriranje.

Po perifernih venskih poteh nadomeščamo izgubo krvi z ogretim nesladkornimi kristaloidnimi raztopinami, (Ringerjev laktat, Hartmanova raztopina ali 0,9-odstotna fiziološka raztopina), koloidnimi - škrobnimi raztopinami in komponentami krvi s tako hitrostjo, da je bolnica čim bolj hemodinamsko stabilna, torej z ohranjeno perfuzijo organskih sistemov. Pomembna je dovolj hitra in ustrezna nadomestitev izgube krvi, saj bodo ob ohranjeni tkivni perfuziji odstranjeni iz krvi tudi razgradni produkti fibrinogena, kar bo prispevalo k obnovitvi normalne hemostaze.

Med posegom odvezamo vzorce krvi za hemogram, elektrolite, teste strjevanja krvi ter plinsko analizo arterijske krvi. Vrednosti Hb, Ht, Tr in testov strjevanja krvi – protrombinski čas, aktivirani parcialni tromboplastinski čas, trombinski čas, fibrinogen - so nam v pomoč pri rabi komponent krvi, vendar je bistvena klinična presoja strjevanja krvi. Pri urgentnem primarnem ukrepanju ob obsežni porodniški krvavitvi ne čakamo rezultatov testov hemostaze v celoti oz. sofisticiranih testov aktivnosti fibrinolitičnega sistema, da bi opredelili obseg hemostske motnje.

Pri bolnicah, ki obsežno zakrvavijo, moramo nemudoma nadomestiti prostornino izgubljene krvi. Običajno nadomeščamo izgube 10–20 % izračunane prostornine krvi s kristaloidnimi in škrobnimi raztopinami. Pri večjih izgubah nadomeščamo izgubo oksiformne zmogljivosti s koncentriranimi eritrociti. Pri izgubah, ki so večje od 50 %, pri preeklampsičnih bolnicah pa že prej dodajamo albumine za vzdrževanje onkotskega tlaka plazme. Pri enkratni nadomestitvi krvnega volumna moramo nadomeščati trombocite in faktorje strjevanja. Pri bolnicah s sindromom HELLP, ko je zmanjšano število in okrnjena funkcija trombocitov, te nadomeščamo že prej.

Pri krvaveči preeklampsični bolnici moramo biti pri obnovi znotrajžilne prostornine previdni. V primerjavi z zdravo nosečnico imajo manjšo prostornino krvi ob večji periferni žilni upornosti ter povečani kapilarni prepustnosti in znižanem onkotskem tlaku. Potrebujemo kristaloidne raztopine, vendar te hitro prehajajo iz krvotoka, zato je nevarno, da pride do pljučnega edema. Ob spremljanju krvnega tlaka, oksigenacije, urne diureze, osrednjega venskega tlaka uporabimo kristaloidne raztopine pri začetni obnovi znotrajžilne prostornine, vendar pa se prej kot pri zdravi nosečnici odločimo za koloide in albumine.

Če se klinična slika slabša, krvavitev nadaljuje in ob verjetnem sprožilnem dejavniku sumimo na diseminirano intravaskularno koagulacijo, ukrepamo nemudoma, preden nam izvidi laboratorijskih preiskav to potrdi. Porodniški zapleti, ki lahko sprožijo diseminirano intravaskularno koagulacijo so: prezgodnja ločitev pravilno ležeče posteljice, okužba, porod, ki poškoduje tkiva, anafilaktoidni sindrom nosečnosti (embolija z amnijsko tekočino), obsežna krvavitev, obolenja z endotelno celično okvaro (preeklampsija, eklampsija, sindrom HELLP), odmrtje ploda v maternici, dlje trajajoče šokovno stanje zaradi katerega koli vzroka.

Poleg kristaloidnih in koloidnih raztopin ter koncentriranih eritrocitov uporabimo sveže zmrznjeno plazmo, ki vsebuje vse koagulacijske beljakovine. Začetno

odmerjanje sveže zmrznjene plazme je 15 ml/kg telesne teže. Ko je krvavitev neobvladljiva ali pri trombocitopeniji, dajemo transfuzijo koncentriranih trombocitov. Odmerek: 1 enota trombocitne plazme na 10 kg telesne teže. Ena enota zveča število trombocitov za 5 do 10×10^9 /L. Krčenje maternice spodbudimo z uterotoniki. Kadar je vzrok okužba, uporabimo antibiotike, ki učinkujejo na aerobne in anaerobne povzročitelje.

Če je maternica izpraznjena, dobro skrčena, kirurška hemostaza pa dobra, ali ko je bila pravočasno napravljena uspešna arterijska embolizacija ali histerektomija, je ob ustreznem nadomeščanju izgube krvi pričakovati v večini primerov spontano ureditev koagulacijske motnje.

Antifibrinolitične učinkovine (aprotini, epsilon aminokapronska kislina) se niso izkazale kot koristne pri obvladovanju diseminirane intravaskularne koagulacije v porodništvu.

Aktivirani rekombinantni faktor VII je primarno namenjen bolnikom s hemofilijo, ki imajo v plazmi prisotne inhibitorje faktorjev VIII in IX. V naši praksi je po dogovoru in priporočilu kliničnega hematologa ta pripravek rezerviran za rabo v primerih, ko je ginekološko-porodniška krvavitev neobvladljiva s kirurškimi, standardnimi anesteziološkimi in rentgenološkimi postopki. Začetni odmerek je 90 mikrogramov na kilogram telesne teže, ki ga počasi vbrizgavamo v veno. Naslednji odmerki slede v časovnih presledkih 2 – 3 ur, včasih tudi več, vse do kliničnega izboljšanja. Študija poljskih kolegov z Oddelka za perinatologijo in ginekologijo Medicinske fakultete Karol Marcinkowski v Poznau govori o učinkoviti rabi tudi manjših odmerkov pri obvladovanju obsežnih porodniških krvavitev.

Nestandardna strategija: vračanje koncentriranih eritrocitov, pridobljenih iz krvi iz operacijskega polja materi pri carskem rezu.

V zadnjih letih je bilo opravljenih več študij in poskusov s posebej prilagojenimi napravami (cell saver) za spiranje, filtracijo krvi in vračanje koncentriranih eritrocitov materam pri carskem rezu. Pri približno 200 operirankah je bil postopek uspešen, v enem primeru pa je kljub tehnološko izpopolnjenim napravam in pripomočkom porodnica umrla zaradi anafilaktoidnega sindroma nosečnosti. Opraviti bo treba še nekaj dela na tem področju, da bi bila ta metoda priporočena kot varna in standardna za rabo v porodništvu. Ob tem je smiselno upoštevati tudi nekatera dejstva: za večino nosečnic vračanje koncentriranih eritrocitov, pridobljenih iz krvi iz operacijskega polja ni potrebno; izguba krvi pri carskem rezu je običajno zmerna in jo nosečnica običajno dobro prenese; pri elektivnih carskih rezih je možnost avtotransfuzije. Večina porodniških krvavitev je nenadnih, tudi nepredvidljivih in takrat je dostikrat težje dovolj hitro zagotoviti ta, za porodništvo še vedno specialen postopek. Pri nekaterih nosečnicah z visokim tveganjem za obsežno krvavitev, ki odklanjajo transfuzijo, je ta postopek lahko koristen.

6. Najpogostejši vzroki krvavitev

Predležča posteljica – placenta previa

Je tista, ki se je vsadila nizko v maternici, tako, da prekriva notranje maternično ustje ali leži v njegovi bližini. Ko porodničarji z ultrazvočno preiskavo ugotove predležčo posteljico, se v večini primerov odločijo za carski rez.

Splošna anestezija je smiselnejša zaradi možnosti večje krvavitve.

Nekateri anesteziologi menijo, da je tudi področna tehnika (epiduralna, sub-arhnoida) ustrezna, če jo nosečnica želi in ni znakov zmanjšane znotrajžilne prostornine.

Placenta previa in placenta accreta

Pri porodnicah s predležčo posteljico je pogostejša tudi nepravilna priraslost (pl. accreta) oz. vraščenost te v maternično steno. Včasih posteljica vrašča skozi vso debelino maternične stene in lahko sega na steno črevesja, sečnega mehurja ali druge medenične organe ali žile (pl. percreta). Tedaj pričakujemo obsežno intraoperativno krvavitev, tudi histerektomijo v visokem odstotku. Kljub ustrezni pripravi in vodenju, je smrtnost velika. Možen je razvoj anafilaktoidnega sindroma nosečnosti.

Diagnozo placenta accreta porodničarji postavijo ob posegu in anesteziologi moramo ustrezno ukrepati ob nenadni obsežnejši krvavitvi.

Kljub resnemu tveganju pa nekateri anesteziološki krogi še vedno polemizirajo o izboru anestezijske tehnike pri porodnicah s predležčo posteljico in pri porodnicah z več carskimi rezi v anamnezi. Avtorji nekateri člankov govore, da ob področni anesteziji ni večje obolevnosti mater in je v mnogih primerih področna anestezija primerna pri nosečnicah s placento accreto.

Prezgodnje odlučenje pravilno ležeče posteljice (abruptio placentae)

Najpogosteje se zgodi pri nosečnicah s hipertenzivnimi motnjami, z nepravilnostmi maternice, pri tistih, ki se jim je to zgodilo že v prejšnjih nosečnostih, pri uživalcih kokaina.

V večini primerov je odlučenje blago ali zmerno. Če ni znakov zmanjšane znotrajžilne prostornine pri materi, ni maternično-posteljicne nezadostnosti, če so testi strjevanja krvi normalni, smemo izbrati področno anestezijsko tehniko. Kadar pa je odlučenje veliko, se nam kaže z nedano bolečino, hipertonusom maternice, hipotenzijo, fetalnim distresom ali smrtjo ploda, krvavitev je lahko vidna – skozi nožnico ali prikrita v maternici. Klinično se izrazi motnja v strjevanju krvi – diseminirana intravaskularna koagulacija. Bolnica krvavi iz vseh vbodnih mest in sluznic. Hitri testi strjevanja krvi pokažejo nizko število trombocitov, zelo podaljšan trombinski čas, zelo nizke vrednosti fibrinogena, visoke vrednosti razgradnih produktov fibrinogena zaradi fibrinolize.

Izvedemo urgenten carski rez v splošni anesteziji ob prej opisanem ukrepanju za nadomestitev izgube krvi in obvladovanju koagulopatije ter reanimaciji rojenca. Po rojstvu otroka uporabimo uterotonike

- oksitocin - 5E i.v. in v infuziji 20–40 E na liter nesladkornih raztopin,
- ergometrine – 0,1 mg i.m., 0,2 mg v 10 ml 0,9 % NaCl počasi i.v. po 1–2 ml,
- prostaglandin F 2 alfa 250 mg i.m. ali v miometrij.

Če krvitve ne moremo ustaviti, se odločimo za enega odrešilnih ukrepov-uporaba rekombinantnega faktorja VII, arterijsko embolizacijo, histerektomijo.

Drugi vzroki predporodnih krvavitev:

- raztrganje maternice (ruptura uteri);
- predležče žilje posteljice (vasa previa);
- krvavitve iz materničnega vratu (polip, cervicitis, karcinom) ali nožnice (kolpitis, vaginalna varikoznost, travma);
- hude motnje hemostaze – huda preeklampsija, sindrom HELLP;
- smrt ploda v maternici;
- okužba, sepsa.

Raztrganje maternice (ruptura uteri)

Zgodi se lahko pred porodom, med in po njem.

Vzroki so lahko: raztrganje brazgotine maternične stene po prejšnjih operativnih posegih, nagel spontan porod, podaljšan spontan porod ob izdatnejši stimulaciji z oksitocinom ali kefalo-pelvičnem nesorazmerju, obračanje ploda v maternici, poškodbe nosečnice.

Simptomi in znaki: krvavitev iz nožnice, huda bolečina v spodnjem delu trebuha, bolečina v ramah (zaradi draženja izlite krvi pod trebušno prepono), izginotje plodovih srčnih utripov, hudo šokovno stanje.

Ukrepanje: čim hitrejši kirurški poseg ob standardnih postopkih za rešitev matere in ploda.

Poskus poroda po carskem rezu pri prejšnjem porodu

- če je bil prečen kirurški rez v spodnjem segmentu maternice in
- če ni drugih dejavnikov tveganja za krvavitev ali sočasnih nekaterih drugih boleznih porodnic.

Po nekdanjih priporočilih je bila področna analgezija za poskus vaginalnega poroda po carskem rezu v anamnezi kontraindicirana, saj odpravi bolečino, ki je eden od znakov raztrganja maternice.

Najzanesljivejša znaka dehiscence brazgotine maternične stene sta spremembi tonusa maternice in popadkov.

Nekaj sodobnih anestezioloških poročil povzema:

Epiduralno analgezijo lahko varno izvedemo pri porodnicah, ki poskušajo roditi po carskem rezu v anamnezi.

Uporabiti je treba najnižje učinkovite koncentracije in prostornine lokalnega anestetika ob neprekinjenem elektronskem sledenju popadkov in plodovih srčnih utripov ter spremljanju materine hemodinamske stabilnosti.

Analgezija z višjimi koncentracijami lokalnega anestetika lahko prikrije bolečino ob raztrganju maternice.

Če poskus poroda po carskem rezu v anamnezi ne uspe, je področna anestezija za carski rez dopustna le v primerih, ko je materino hemodinamsko stanje stabilno in plod ni ogrožen.

Kadar sumimo na dehiscenco brazgotine oz. rupturo maternice, ob fetalnem distresu ali hemodinamski nestabilnosti matere, je dopustna le splošna anestezija za urgenten carski rez ob vseh standardnih porodniško-kirurških, anestezioloških, neonatoloških postopkih za rešitev matere in rojenca.

Vzroki obporodnih in zgodnjih poporodnih krvavitev

Najpogostejši:

- zaostala posteljica in deli posteljice,
- zraščena posteljica,
- atonija maternice,
- poškodbe porodne poti in perineja,
- poškodbe materničnega vratu,
- krvavitev iz epiziotomijske rane,

Redkejši:

- hematomi genitalnega trakta,
- raztrganje maternice,
- izvrnjena maternica,
- motnje v strjevanju krvi,
- anafilaktoidni sindrom nosečnosti (embolija z amnijsko tekočino).

Zaostala posteljica ali deli posteljice, zraščena posteljica

Porodniški postopek – iztipanje maternice, ročno luščenje posteljice

Anesteziološki postopek

- če je že od poroda vstavljen epiduralni kateter, nadaljujemo z analgezijo po njem – raven analgezije Th 10 – S 4;
- intravenska analgezija s sedacijo, inhalacijska analgezija;
- splošna anestezija z intubacijo.

Potreba po sprostitvi maternice ob iztipanju ali luščenju posteljice:

- 50–100 mikrogramov nitroglicerina i.v. s standardnim anesteziološkim monitoriranjem,
- splošna anestezija z intubacijo, raba hlapnih anestetikov Isoflurana, Sevoflurana.

Ohlapnost – atonija maternice

Najpogostejša je pri:

- nosečnicah, ki so že večkrat rodile;
- nosečnicah z več plodovi;
- nosečnicah s polihidramnijem;
- nosečnicah z velikimi plodovi;
- tistih z zaostalo ali vraščeno posteljico;
- porodnicah, pri katerih je bil izveden notranji obrat plod;
- porodnicah s horioamnionitisom.

Krvavitev je lahko obsežna in hitra. Nujno je vsklajeno delovanje poroniškega in anesteziološkega osebja in pravočasna izvedba vseh standardnih postopkov za zaustavitev krvavitve, nadomestitev izgubljene krvi ter nadzor take porodnice, da se izognemo možnim zapletom.

Raba uterotonikov

1. O k s i t o c i n (Syntocinon)

5 E i.v.

10 – 40 E na 1000 ml fiziološke raztopne ali ringerjevega laktata v infuziji
Intravenski bolusni odmerek ali prehitra infuzija lahko povzročita znižanje sistemske žilne upornosti, posledičen padec arterijskega tlaka, tahikardijo. Oksitocin ima blag antidiuretičen učinek, zato je pri večjem odmerjanju možnost intoksikacije z vodo.

2. Ergotaminski alkaloidi

Pri nas je v rabi ergometrine (Ergotyl). Varnejše od intravenske je dajanje v mišico.

Običajen odmerek je 0,1 mg v mišico, ob večjem tveganju in krvavitvi 0,2 mg v mišico ali

0,2 mg Ergotyla v 10 ml fiziološke raztopine, vbrizgamo v bolusih po 1 – 2 ml intravensko.

Učinek je hiter, trajanje učinka 30 minut do 2 ur.

Stranski učinki – slabost, bruhanje, zožitev pljučnega in srčnega žilja s posledično možno ishemijo srca, hipertenzija.

Zato je vselej ob rabi ergotamina potrebno meriti krvni tlak in vrednotiti EKG. Izjemna previdnost je potrebna pri porodnicah s hipertenzijo pred tem, preeklampsijo, astmo, koronarno srčno boleznijo, sepsa, jetrno in ledvično okvaro.

3. Prostaglandini

Pri nas uporabljamo 15 methyl prostaglandin F2 alfa 250 mikrogramov i.m. ali v miometriji.

Učinek je hiter. Prostaglandin poveča iztisni volumen srca in tlake v pljučnem žilju. Zato ga pri srčnih bolnicah ne uporabljamo. Možni stranski učinki so: hudo zvišanje krvnega tlaka, kolaps. Ob rabi izbranega vselej zasledujemo porodnični krvni tlak, EKG in nasičenost krvi s kisikom. Kontraindikacije so tudi preobčutljivost, akutno vnetje v medenici, pljučne, jetrne bolezni.

Največji dnevni odmerek je 2 mg; to je 8 odmerkov v dvo do tri urnih intervalih.

Drugi zapleti porodniških bolezni z obsežno krvavitvijo

- raztrganje sukapsularnega hematoma jeter pri bolnicah s sindromom HELLP

Hitra diagnostika in nadomestitev izgube krvi, poprava motenj v strjevanju in kirurška oskrba.

- akutna nosečnostna maščobna degeneracija jeter

Klinično in v laboratorijskih izvidih so znaki jetrne disfunkcije. Zaradi motenj v strjevanju krvi so pri hudih oblikah krvavitve masivne. Pred porodom ali carskim rezom popravimo hemostatsko motnjo in s tem nadaljujemo v poporodnem obdobju intenzivnega zdravljenja. Pogosto je pridružena še ledvična odpoved. Pri zdravljenju sodelujejo poleg porodničarja, anesteziologa še hepatolog, hematolog, nefrolog.

7. Pooperativni nadzor in zdravljenje

Vsako porodnico, ki je utrpela večjo krvavitvev, moramo skrbno nadzorovati in zdraviti zaplete v enoti za intenzivno zdravljenje. Pri najbolj ogroženih mora biti terapevtski pristop multidisciplinaren.

LITERATURA

1. Williams Obstetrics, 20th Edition, Prentice-Hall International, inc., Obstetrical Hemorrhage. 2000; 32: 745–78
2. Williams Obstetrics, 20th Edition, Prentice-Hall International, inc., Hypovolemic Shock and Disseminated Intravascular Coagulation. 2000; 33: 783–95
3. Konje JC, Taylor DJ. Bleeding in late pregnancy. High Risk Pregnancy. Management Options, W.B. Saunders, 2nd Edition 1999; 8: 111–26
4. Park EH, Sach PB. Postpartum hemorrhage and other problems of the third stage. High Risk Pregnancy, Management Options W.B. Saunders, 2nd Edition 1999; 69: 1231–44
5. Bonnar J. Massive obstetric hemorrhage. Bailliere's Clinical Obstetrics and Gynaecology 2000; 14: 1–18
6. Developing a National Policy and Guidelines on the Clinical Use of Blood. World Health Organization Blood Safety Unit Geneva Obstetrics; WHO/BLS/98.2; 10: 209–27.
7. Van der Linden, Transfusion strategy, European Journal of Anaesthesiology, Volume 18 Number August 2001; 18, 495–8
8. Gary A. Dildy III, MD, Clinical Obstetrics and Gynecology, Postpartum Hemorrhage: New Management Options, volume 45, 2002; 330–44
9. S. Arulkumaran Clinical Obstetrics & Gynaecology; Disseminated intravascular coagulation, Elizabeth A. Letsky, volume 15, 2001 623–44
10. S. Arulkumaran Clinical Obstetrics & Gynaecology; Hypovolaemic shock, G. Justus Hofmeyr, Boshi K.F. Mohlala, volume 15, 2001 645–62
11. Shinder and Levinson's Anesthesia for Obstetrics, Antepartum and Postpartum Hemorrhage, William R. Camann, M.D., Diane R. Biehl, M.D., 2001 361–70
12. Shinder and Levinson's Anesthesia for Obstetrics, Practice Guidelines for Obstetrical Anesthesia, Report by the American Society of Anesthesiologists, 2001 673–8
13. Archives of Perinatal Medicine, Efficacy of recombinant activated factor VII in prenatal medicine, Grzegorz H. Breborowich, Slawomir Sobieszczyk, Marta Szymankiewicz, 2002 21–7
14. Alison de Souza, Michael Permezel, Mark Anderson, Antenatal erythropoietin and intraoperative cell salvage in a Jehovah's Witness with placenta praevia., International Journal of Obstetrics and Gynaecology, Vol 110, 2003 524–6
15. S.J. Catling, O. Freitas, S. Krishnan, R. Gibbs, Clinical experience with cell salvage in obstetrics 4 cases from one UK centre. International Journal of Obstetric Anesthesia, 2002 128–34
16. Catling SJ, Williams S, Fielding AM. Cell salvage in obstetrics. International Journal of Obstetric Anesthesia, 1999; 8: 79–84.

CORD BLOOD BANKING AND TRANSPLANTATION

Lucilla Lecchi, Paolo Rebutta

Introduction

Hematopoietic progenitor cells (HPC) used for transplantation purposes have been traditionally procured by bone marrow collection and, more recently, from peripheral blood after HPC mobilization with recombinant cytokines. Towards the end of the 1980s, cord blood, i.e. the blood remaining in the placenta at the end of term deliveries was identified as an alternative source of HPC for transplantation (1–2). This discovery paved the way to the development of cord blood voluntary donation and banking programs for altruistic allogeneic transplantation. Several national and international organizations including the Italian GRACE (Gruppo per la Raccolta e l'Amplificazione delle Cellule Emopoietiche) cord blood network, the international NETCORD Foundation, the US National Marrow Donor Program (NMDP) and AsiaCORD are currently establishing professional standards and operative rules to ensure the offer of high quality cord blood to clinicians. Most efforts related to standardization and accreditation are being developed in conjunction with other organizations such as the Foundation for the Accreditation of Cell Therapy and the American Association of Blood Banks.

Current estimates that approximately 176,000 HLA typed cord blood donations are available at the Bone Marrow Donors Worldwide (BMDW) website, together with bone marrow donor registry data, for clinical purposes at 34 cord blood banks able to exchange units internationally (Fig. 1), and that more than 3,500 unrelated cord blood transplants have been performed worldwide (3–4). Further interest was triggered by recent observations suggesting that hemopoietic progenitors can change their developmental program under strict environmental control, a cell capability termed 'plasticity' or 'transdifferentiation', which is currently the object of active investigation and hot debate (5–13).

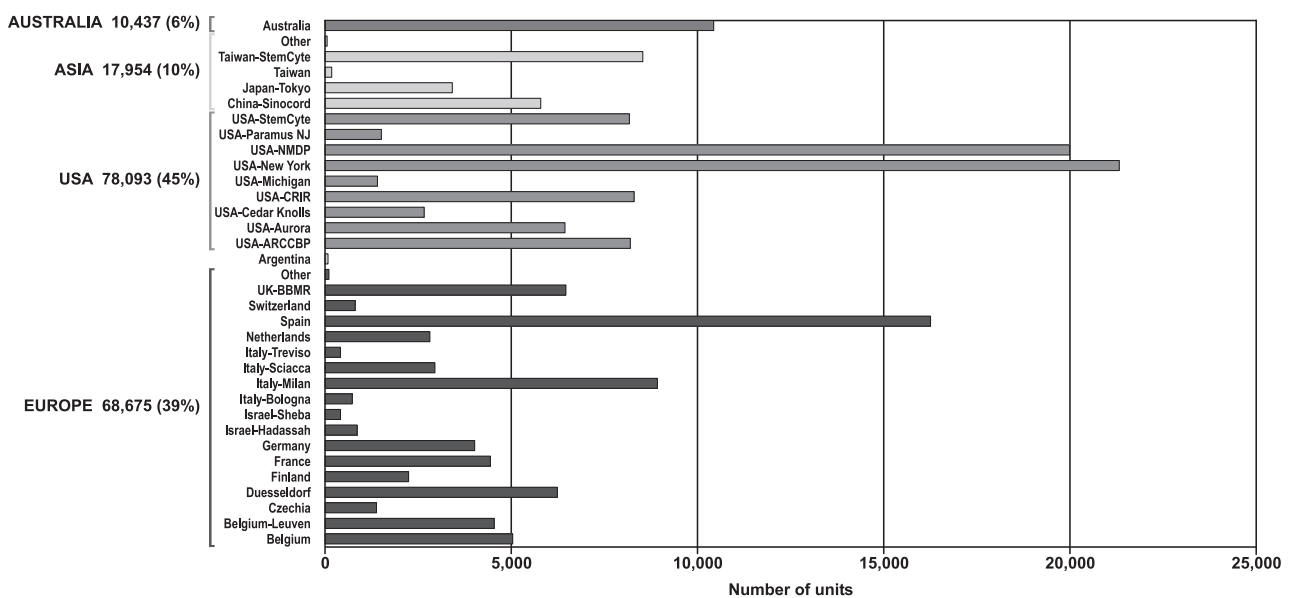


Figure 1: 175,159 Cord blood units in the BMDW, July 2004.

Cord blood banking programs

The CB banking process includes donor selection, CB collection, characterization, cryopreservation, CB unit storage, search and release for transplantation.

Clinicians who search compatible units for their patients need to easily access large inventories without repeating multiple searches at several hubs and to receive units of pre-defined, high quality levels regardless of the location of the procuring bank.

In turn, the banking and transplantation programs should be operationally connected so as to ensure optimal quality, effectiveness and efficiency. Furthermore, the banking programs should be operated within sound financial plans, as CB procurement and transplantation are associated with very high cost.

In this section we describe the main features of and the banking process at the Milano Cord Blood Bank. Furthermore, we present the Italian GRACE and the international NETCORD networks of CB banks, which were developed to satisfy the clinicians' needs discussed above.

The Milano Cord Blood Bank

The Milano Cord Blood Bank (MCBB) is located at the Centro Trasfusionale e di Immunologia dei Trapianti of Ospedale Maggiore, Milano, Italy (14). The current target of MCBB is to develop an inventory including 10,000 CB units for allogeneic unrelated transplantation and CB donations banked by family-related donors for patients suffering from conditions that may be treated with HPC transplantation. MCBB collections started in 1993 in three delivery suites. Activities were more recently expanded to include 19 collection sites located in Milano and in other cities at a maximum distance of 120 km.

During 1993-April 1999, a total of 14,955 unrelated and 149 related CB units were collected. Of these, 5,042 unrelated and 149 related units were banked. During the same period, 199 and 13 units were used in Europe, US, Australia and China for unrelated and related transplantation respectively.

MCBB operates with a Quality System developed in agreement with the ISO 9002 standard, which was described in detail elsewhere (15). The Quality System of MCBB was awarded a certificate of approval on July 18th, 1997, after having been assessed by a third party organization and found in accordance with the requirements of the quality standards EN ISO 9002: 1994. The certificate was confirmed at regular assessments performed every 6 months.

The CB banking process at MCBB is performed as follows. Before proceeding with CB collection, the midwife or the physician or an operator from MCBB checks the absence of the following donor exclusion criteria: duration of pregnancy less than 34 weeks; fever in the mother; malformations in the newborn; evidence or suspect of the presence of hereditary conditions in the newborn; risk behavior or positive serology in parents. Before CB harvest, the operator asks oral consent to the mother, while informed written consent is collected within 24 hours of delivery. By undersigning the consent, the mother agrees to CB harvest, banking and allogeneic transplantation for unrelated recipients, to serologic testing at delivery and at a later check performed six months after delivery, to biologic material storage, retrieval and testing if necessary, to personal data storage on paper and in electronic format and circulation in anonymous format.

CB is collected by midwives in a plastic bag containing CPD as an anticoagulant, by means of puncture of the umbilical vein after accurate disinfection of the cord. Midwives are trained to perform collections and regularly audited for this activity by MCBB staff. Collections are performed with the placenta in situ in vaginal deliveries and after placental delivery in cesarean sections. Time of

umbilical cord clamping varies in the delivery suites, due to the lack of a prevailing opinion in regard to the most correct time of clamping (early versus late).

CB units are stored at +4°C up to transportation to MCBB, and the cord blood units are transported by car. Transportation is performed in insulated containers similar to those used for transportation of red cell concentrates. Units are accepted at the bank if there is perfect match of data on sample tubes, bag and paper forms.

Units with volume below 60 mL and total white cell counts below 900×10^6 are not processed for banking. Processing consists of volume reduction with a bottom-and-top procedure and cryopreservation with DMSO at 10% final concentration. The latter is performed only with volume-reduced units showing white cell counts greater than 800×10^6 prior to cryopreservation. Units are stored in the liquid phase of liquid nitrogen tanks.

At time of banking, a sample of CB is used to perform a complete blood count, sterility tests for aerobic and anaerobic bacteria, CFU-GM and CD34⁺ cell counts, ABO/Rh, HLA-A,B serologic typing, HLA-DRB1 molecular typing at low resolution. A maternal blood sample is used to perform the serologic screening, which includes detection of HBsAg, HCV/HIV-RNA, anti-HIV 1-2, anti-HCV, anti-HTLV I-II, anti-Hbc, anti-CMV (IgG and IgM), anti-toxoplasma (IgG and IgM) antibodies and TPHA. Serology is performed on the basal serum collected at delivery and on a new maternal sample collected 6 months after delivery. At this time, a physician from MCBB interviews the mother to collect the baby's medical history. Before unit release, cell viability, clonogenic potential and sterility are determined in a unit specimen obtained from a segment stored under the same conditions of the bag. Moreover, at unit release maternal HLA-A,B,DRB1 typing at low resolution is performed on a maternal sample stored in the frozen repository. Units are transported to the transplant center in an approved dry shipper. Patient's follow-up is performed at regular intervals by the EUROCORD Registry.

An analysis of economic issues performed at MCBB in 1996 showed that no less than 3% of the bank's inventory should be released per year at an individual fee of US\$ 15,000 per unit released to fully recover the costs of bank implementation, unit processing and storage (16).

GRACE

In 1995 MCBB proposed the formation of GRACE, the acronym of the Gruppo per la Raccolta e Amplificazione delle Cellule Ematopoietiche – Group for the Collection and Expansion of Hematopoietic Cells, as a common forum for clinicians and investigators interested in CB banking and transplantation. Besides the cultural implications, GRACE was developed to harmonize banking procedures at high quality standards and to facilitate CB unit searches performed by clinicians through the development of a unique hub able to search the whole inventory of the member banks. Institutional GRACE members are the CB banks located in Florence, Milan, Pavia, Padua, Lazio, Turin. Other banks may apply for membership if compliant with the following rules: a) availability of a local inventory of at least 500 cryopreserved CB units; b) existence of a local quality system developed with ISO 9002 as a model of reference; c) use of procedures approved by the GRACE Board of Directors; d) FACT accreditation; e) formal recognition by the Health Authority; f) payment of annual membership fees.

The Milano Cord Blood Bank operates as the central hub of the GRACE network. The organizational flow-chart, the inventory, and the number of released cord blood units by the GRACE network are shown in *Figures 2, 3, 4, 5*.



The GRACE network

- Started in 1995
- National model of banks linked to 1 hub (Milan)
- 7 member banks
- Technology sub-committee
- 6 banks* linked in an ISO 9002 certified network

* Milano, Torino, Firenze, Lazio, Padova, Pavia

Figure 2: The GRACE network (The Italian Group for the Collection of Hematopoietic Progenitors)

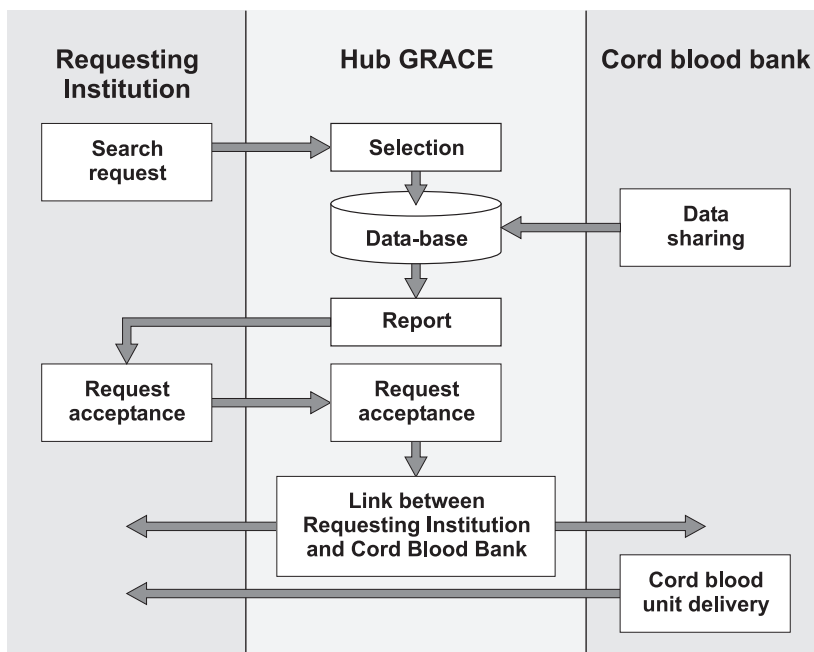


Figure 3: The GRACE organization flow chart

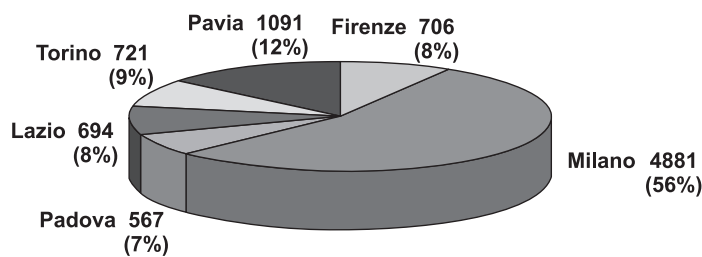


Figure 4: The GRACE inventory (August 2004)

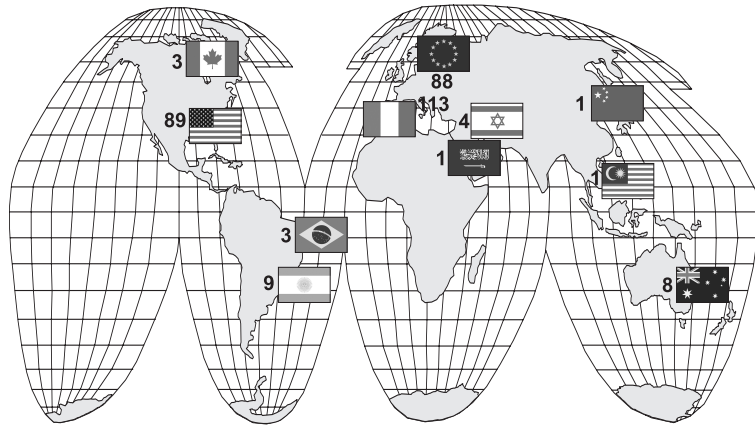


Figure 5: Number and transplant location of 320 unrelated cord blood units released by GRACE banks (July 31, 2004)

NETCORD

Following the positive experience collected with GRACE at the national level, in 1996 MCBB proposed a similar program at the international level, which involved, in addition to Milan, the CB banks in Düsseldorf and Barcelona. The program, which was named NETCORD, was formally constituted in 1998, at the end of a pilot phase spent to determine its feasibility (17). Approximately 70,000 cord blood donations are stored in banks linked in NETCORD (Fig. 6), which developed jointly with the Foundation for the Accreditation of Cell Therapy (FACT) the NETCORD-FACT standards for cord blood banking. Furthermore, NETCORD is currently implementing a real-time compatible unit search system capable of exploring the combined inventory of the member banks, which is termed the ‘Virtual Office’.

NETCORD Inventory and Use July 2004

CB Bank	Inventory	Transplanted	Children	Adults
AusCord	10220	103	23	5
Barcelona	5893	167	94	73
Dusseldorf	8165	219	155	62
France Cord	4458	157	106	51
Helsinki	2236	1	1	0
Jerusalem	723	12	12	0
Leiden	2595	8	6	2
Leuven	4902	30	23	7
Liege	4157	56	35	19
London	5800	71	53	18
Milan (Grace)	8943	316	187	129
New York	21248	1449	1007	442
Prague	1303	5	5	0
Tel Hashomer	1320	4	4	0
Tokyo	3738	279	105	174
TOTAL	85701	2877	1816	982

Figure 6: The NETCORD inventory

Conclusion

Although a unique data source is not available at present, data from the International Bone Marrow Donor Registry, the EUROCORD registry (18, 19), reports from the New York Placental Blood Program (20), which has released the largest number of units as a single bank, and recent reports from AsiaCORD allow to estimate that more than 3,500 allogeneic unrelated transplantation procedures have been performed in the last 10 years.

Most frequent conditions treated with cord blood transplantation include leukemia, lymphoma and immune deficiencies. Approximately two thirds of cord blood recipients belong to the pediatric category, as the number of cells present in cord blood is insufficient in a proportion of adults. As compared with the traditional procurement of hemopoietic stem cells through the bone marrow donor registries, this disadvantage must be balanced with more prompt availability of cord blood, increased viral safety (virtual absence of CMV), less stringent requirements of the HLA match between cord blood donor and recipient and less frequent and severe GVHD in cord blood recipients.

Despite the disadvantage due to the limited number of cells present in cord blood, it is encouraging to note that recent analyses from the EUROCORD registry indicate that cord blood recipient survival after 1998 is significantly better than before. This observation suggests that, similarly to other therapeutic procedures, results improve in parallel to the learning curve of clinicians and biologists involved in the procedure. Moreover, it has been recently reported that cord blood can be a suitable hemopoietic cell source for transplantation not only of myeloablated recipients but also of patients conditioned with reduced intensity regimens.

The data from cord blood transplants so far performed worldwide indicate that the clinical outcome of allogeneic unrelated cord blood (CB) transplantation is significantly related to cell dose, being more effective in children than in adults, and – similarly to what is observed with other HPC sources - is highly dependent on disease stage at transplantation. Furthermore, clinical reports from the US and Europe show lower graft versus host disease (GVHD) frequency and severity and prolonged time intervals for platelet engraftment in patients transplanted with CB as compared to bone marrow and mobilized peripheral blood recipients.

The clinical data so far collected indicate that cord blood is a useful source of hemopoietic progenitors for myeloablated recipients (21). Moreover recent evidence suggest that also adult patients treated with reduced – intensity conditioning regimens can benefit from cord blood transplantation.

In spite of its demonstrated clinical effectiveness, cord blood is an expensive resource. This requires careful planning of collection and banking programs. While the former need to be expanded so as to allow the collection of large-volume units, preferentially ethnic groups with HLA phenotypes poorly represented in the current inventories, consolidation of the latter is of outmost importance, to ensure that the banking programs reach the critical mass necessary to release a number of units sufficient to recover the costs.

International efforts aimed at harmonising the national programs have been promoted to reach the above objectives.

Acknowledgments

The authors thank the obstetrics staff and the GRACE banks who provided information used in this article.

Note. This report includes elements from other manuscripts published from the Milano Cord Blood Bank.

LITERATURE

1. Nakahata T, Ogawa M. Hemopoietic colony-forming cells in umbilical cord blood with extensive capability to generate mono and multipotential hemopoietic progenitors. *J Clin Invest* 1982; 70: 1324–8
2. Broxmeyer HE, Douglas GW, Hangoc G, et al. Human umbilical cord blood as a potential source of transplantable hematopoietic stem/progenitor cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 3828–32
3. Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD, et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. *N Engl J Med* 1989; 321: 1174–8.
4. Laughlin MJ, Barker J, Bambach B, et al. Hematopoietic engraftment and survival in adult recipients of umbilical cord blood from unrelated donors. *New Engl J Med* 2001; 344: 1815–22.
5. Bjornson CR, Rietze RL, Reynolds BA, Magli MC, Vescovi AL. Turning brain into blood: a hematopoietic fate adopted by adult neural stem cells in vivo. *Science* 1999; 283: 534–7.
6. Zubair AC, Silberstein L, Ritz J. Adult hematopoietic stem cell plasticity. *Transfusion* 2002; 42: 1096–101.
7. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001; 410: 701–5.
8. Krause DS, Theise ND, Collector MI, et al. Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell* 2001; 105: 369–77.
9. Morshead CM, Benveniste P, Iscove NN, van der Kooy D. Hematopoietic competence is a rare property of neural stem cells that may depend on genetic and epigenetic alterations. *Nat Med* 2002; 8: 268–73.
10. McKinney-Freeman SL, Jackson KA, Camargo FD, Ferrari G, Mavilio F, Goodell MA. Muscle-derived hematopoietic stem cells are hematopoietic in origin. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 1341–6.
11. Terada N, Hamazaki T, Oka M, et al. Bone marrow cells adopt the phenotype of other cells by spontaneous cell fusion. *Nature* 2002; 416: 542–5.
12. Ying QL, Nichols J, Evans EP, Smith AG. Changing potency by spontaneous fusion. *Nature* 2002; 416: 545–8.
13. Orkin SH, Zon LI. Hematopoiesis and stem cells: plasticity versus developmental heterogeneity. *Nat Immunol* 2002; 3: 323–8.
14. Lazzari L, Corsini C, Curioni C, et al. The Milan Cord Blood Bank and the Italian Cord Blood Network. *J Hematother* 1996; 5: 117–22.
15. Sirchia G, Rebulli P, Lecchi L, Mozzi F, Crepaldi R, Parravicini A. Implementation of a quality system (ISO 9000 Series) for placental blood banking. *J Hematotherapy* 1998; 1: 19–35.
16. Sirchia G, Rebulli P, Tibaldi S, Lecchi L. Cost of umbilical cord blood units released for transplantation. *Transfusion* 1999; 39: 645–50.
17. Hakenberg P, Kogler G, Wernet P. NETCORD: a cord blood allocation network. *Bone Marrow Transplant* 1998; 22: S17–8.
18. Gluckman E. Current status of umbilical cord blood hematopoietic stem cell transplantation. *Review. Exp Hematol* 2000; 28: 1197–205.
19. Gluckman E, Rocha V, Boyer-Chamard A, et al. Outcome of cord blood transplantation from related and unrelated donors. *New Engl J Med* 1997; 337: 373–81.
20. Rubinstein P, Carrier C, Scaradavou A, et al. Outcomes among 562 recipients of placental-blood transplants from unrelated donors. *New Engl J Med* 1998; 339: 1565–77.
21. Barker JN, Davies SM, DeFor T, et al. Survival after transplantation of unrelated donor umbilical cord blood is comparable to that of human leukocyte antigen-matched unrelated donor bone marrow: results of a matched-pair analysis. *Blood* 2001; 97: 2957–61.

ZBIRANJE IN PREDELAVA KRVOTVORNIH MATIČNIH CELIC IZ PLACENTNE KRVI

Dragoslav Domanović

Uvod

Placentna kri iz popkovnice (PKP) je bogat vir krvotvornih matičnih celic (KMC), sposobnih, da se po presaditvi naselijo v kostnem mozgu in pričnejo tvoriti krvne celice (1). PKP vsebuje tudi mezenhimske prednamske celice, ki se lahko v telesu ali na gojiščih razvijejo v celice različnih tkiv, kot so stroma kostnega mozga, hrustanec ter kostno, mišično in vezivno tkivo (2). Novejše raziskave PKP so potrdile prisotnost tudi celic, iz katerih lahko z gojenjem in vitro nastanejo celice endodermalnega izvora - hepatociti (3). Zaradi takšnega potenciala lahko z matičnimi/prednamskimi celicami iz PKP zdravimo številne bolezni. Redkeje se PKP uporablja za avtologne in alogenične transfuzije pri novorojenčkih (4,5).

Po prvi presaditvi KMC iz PKP, ki je bila opravljena leta 1988 pri otroku s Fanconijevo anemijo (6), se njena uporaba nenehno povečuje. Zaradi posebnih bioloških in drugih značilnosti ima PKP v primerjavi s kostnim mozgom večjo in lažjo dostopnost, manjše tveganje za prenos okužbe s citomegalovirusom (CMV) in Epstein-Barrovim virusom ter manjše tveganje za nastanek bolezni presadka proti gostitelju po presaditvi. Glavna pomanjkljivost PK je majhno število KMC, ki večinoma zadostuje za presajanje le pri otrocih in osebah s telesno težo < 40 kg (7). Zato so številne raziskave in naporji usmerjeni v privobivanje čim večjega števila kakovostnih KMC iz PKP. Nekateri zdravijo odrasle bolnike s presajanjem dveh različnih delno skladnih pripravkov alogenične PKP (8), oziroma poskušajo povečati število KMC pridobljenih iz PKP z gojenjem in vitro (9). Po drugi strani se spremljajo in raziskujejo dejavniki, ki vplivajo na število KMC v PKP kot so zbiranje, predelava in shranjevanje PKP.

Presajanje PKP

PKP lahko uporabljamo za zdravljenje bolezni z alogenično (sorodno ali nesorodno) in avtologno presaditvijo. V primeru sorodne alogenične presaditve odvzamemo PKP porodnici, katere prejšnji otrok je bolan in je namenjena njegovemu zdravljenju. PKP, ki jo porodnice darujejo in se shranjuje v »javnih bankah«, je namenjena za nesorodne alogenične presaditve. Shranjevanje avtologne PKP se izvaja v »zasebnih bankah« PKP za zagotavljanje rezervnih KMC za zdravljenje s presajanjem v primeru nastanka bolezni v prihodnosti.

Zagotavljanje PKP za presajanje je sestavljeno iz več postopkov. Pred zbiranjem je potrebno potencialni darovalki PKP posredovati vse potrebne informacije, povezane s celotnim postopkom od odvzema do shranjevanja in presaditve PKP. Z anamnezo in pregledom darovalke si potem pridobimo informacije o preteklih boleznih in sedanjem zdravstvenem stanju. Nato nosečnica podpiše pisni pristanek za darovanje PKP in izjavo o poučenosti. Kri darovalke PKP se obvezno laboratorijsko testira na prisotnost označevalcev bolezni, ki se prenašajo s krvjo (HbsAg, anti- HCV, anti - HIV I/II, anti- HTLV I/II, anti-lues). Testiranje na prisotnost nukleinskih kislin virusov hepatitisa C (HCV) in aidsa (HIV I/II) z verižno polimerazno reakcijo (PCR) je obvezno le v nekaterih

državah. Dodatno se darovalke PKP testirajo na prisotnost okužbe s citomagalovirusom (anti - CMV) in toksoplazmozo (anti -Toxo)

Namen izjavanja teh postopkov je zagotavljanje varnosti potencialnega prejemnika PKP, varnosti ploda in matere/darovalke.

Zbiranje PKP

PKP zbiramo po porodu iz popkovnične vene. Porodničar, ki vodi porod, se med oziroma po porodu dokočno odloči, ali je odvzem PKP primeren ali ne. Spremenljivke, ki veljajo kot relevantni kazalci kakovosti PKP z oziroma na uspešnost preživetja presadka in bolnika, so: volumen, število celic z jedrom in število CD34+ celic (10,11). Številni dejavniki lahko vplivajo na količino PKP in število celic v njej in s tem tudi na izid zbiranja PKP. Na osnovi njihove prisotnosti lahko napovemo uspešnosti zbiranja PKP. Med maternalne dejavnike sodijo kajenje in preeklampsija, ki sta povezana z manjšim volumnom PKP in manjšim številom celic v njej, ter večkratna nosečnost, ko se število celic z jedrom v PKP s slehernim porodom zmanjšuje (12–14). Neonatalna dejavnika, ki vplivata na večji volumen PKP in število celic, sta večja gestacijska starost in večja porodna teža novorojenčka (12,13). Večji volumen PKP zberemo tudi, če je popkavnica daljša in posteljica težja (12–14).

Porodni dejavniki tudi vplivajo na volumen PKP in število celic. Pri porodih s carskim rezom so zbrali večji volumen PKP z manjšim številom levkocitov kot pri vaginalnem porodu. Razlik v številu CD34+ celic pa ni bilo (15). Podaljševanje časa, ki preteče od prekinitve popkovničnega obtoka do začetka zbiranja, ima za posledico zmanjšanje števila celic v PKP (16). Dalj časa trajajoče porode spremlja večje število celic v PKP (17), vendar pa obporodni stres vpliva na zmanjšanje števila celic v PKP (18). Poročali so tudi, da je bil volumen PKP večji, če so postavili otroka na trebuh matere po porodu (19).

Odvzem PKP se izvaja po porodu otroka, ko se popkavnica preveže in preneha utripati (> 40 sekund po porodu). Nekateri zbirajo PKP, ko je placenta ex utero - po njenem porodu (20) drugi, ko je placenta in utero (21), tretji pa uporabljajo kombinacijo obeh načinov (22). Večina raziskav je pokazala, da je volumen zbrane krvi večji in vsebuje večje število monojedrnih celic pri zbiranju PKP iz placente in utero (23) (Tabela 1). Možnost okužbe PKP pa je pri tem načinu večja. Zbiranje PKP, ko je placenta in utero izvaja osebe v porodni sobi, medtem ko zbiranje ex utero lahko izvaja tudi osebe iz banke placentalne krvi v drugem prostoru porodnišnice ali v sami banki PKP. Enotnega standarda ali stališča o načinu odvzema PKP glede na pozicijo placente še ni.

Tabela 1: Primerjava izsledkov zbiranja PKP med postopkom, ko je placenta ex utero in ko je in utero.

	Volumen (ml)		TNC (x10 ⁹)		CD34+ (x10 ⁵)	
	ex utero	in utero	ex utero	in utero	ex utero	in utero
Surbek et al. 1998 (11)	48.42 ± 4.07	83.26 ± 7.9	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.
Pafumi et al.2002 (19)	60.9 ± 13.7	90.7 ± 6.0	7.1 ± 0.8	10.1 ± 1.2	1.64 ± 2.4	2.0 ± 0.6
Sparrow et al. 2002 (15)	62	67	10	12.1	2.9	3.8
Solves et al. 2003 (38)	98 ± 28.47	108.82 ± 28.6	8.55 ± 3.52	10.54 ± 4.15	2.96 ± 2.25	3.65 ± 3.38

n.p. – ni podatka

Pred odvzemom je potrebno temeljito dezinficirati popkovnico. Za ta namen večinoma uporabljajo alkoholno raztopino povodon-jodida. Poznamo t.i. »odprti« in »zaprti« odzema PKP. Pri »odprtem« načinu odvzema, ki sodi v zgodovino, se PKP zbira neposredno iz prerezanih popkovničnih žil v sterilno plastično posodico (24). Pri tem je možnost okužbe PKP izredno velika. Zato so kmalu pričeli z »zaprtim« načinom odvzema, ki predvideva punkcijo popkovničnih žil in zbiranje PKP v posebej prirejene plastične vrečke, pri čemer ostane popkovnica prevezana (25).

V dvofaznem načinu se najprej odvzeme PKP v plastično vrečko, ko je placenta in utero. Po porodu placente se popkovnica izmolze v smeri proti placenti in kri aspirira z iglo in brizgo iz placentnega ožilja (26). S tem načinom zberemo večjo količino PKP. Največ PKP zberemo, če infundiramo v umbilikalno arterijo 10 % raztopino ACD v fiziološki raztopini in potem iz popkovnične vene aspiriramo kri preko katetra v brizgo, ki vsebuje 6 ml raztopine ACD (27).

Prenos PKP

Zbrano PKP je potrebno prenesti iz porodnišnice v banko placentne krvi za predelavo in shranjevanje. Ob prenosu se PKP začasno shranjuje do 24 ur na temperaturi +4°C. Ni še raziskano, ali na preživetje celic pri transportu vpliva vrsta plastike vrečk za shranjevanje in ali je potrebno PKP nenehno mešati. Ugotovili so, da je boljše preživetje celic v posebnih raztopinah, kot so Normosol, Plasmalyte A in STM-sav.

Predelava PKP

PKP lahko zmrzujemo in shranjujemo v tekočem dušiku ali pa jo pred zamrzovanjem predelamo. Poznamo več načinov predelave PKP, katere cilji so zmanjšanje volumna z izločanjem eritrocitov in plazme ob minimalni izgubi KMC. S tem se povečajo zmogljivosti skladiščenja PKP, zmanjša se količina uporabljenega in infundiranega toksičnega krioprotektorja dimetilsulfoksida (DMSO) in zmanjša se količina infundiranega prostega hemoglobina iz liziranih eritrocitov. Odstranjevanje eritrocitov je potrebno tudi v primerih AB0 neskladja med prejemnikom in alogenično PKP. Raziskave so potrdile, da je predelava PKP pred shranjevanjem učinkovit postopek, ter da je presaditev predelane PKP klinično uspešna (28,29).

Predelava je lahko ročna, polavtomatska in avtomatska v odprtem ali zaprtim sistemu. Eritrocite in plazmo lahko izločimo iz PKP tako, da ločimo trombocitno levkocitno plast (buffy coat) z diferencialnim centrifugiranjem, kar je povezano z izgubo več kot 30% levkocitov in matičnih/prednamskih celic (30). Izgubo celic so zmanjšali z dvojnimi centrifugiranjem, ko so najprej iz PKP odstanili eritrocite in po drugem centrifugiranju plazmo (31) ali pa so ločevanje izvedli s polavtomatskimi napravami (32). Boljšo predelavo so dosegli z dodajanjem snovi v PKP, ki izboljša ločevanje med eritrociti in celicami z jedrom. Dodajanje 3-odstotne gelatine v PKP je izboljšalo sedimentacijo eritrocitov, vendar se ni uveljavilo v praksi zaradi odprtega načina v epruveti z veliko možnostjo bakterijske in gljivične okužbe in reagenta živalskega izvora (33). Ustvarjanje gradienta gostote s Ficollom (22), Percollom in poligelinom (34) so tudi odprti načini v epruveti, ki se niso uveljavili v praksi. Po dodajanju hidroksietilnega škroba (HES) v PKP eritrociti agregirajo v t. i. »rouleaux« tvorbe in se po centrifugiranju lažje ločujejo s polavtomatskimi napravami (20,35). PKP se lahko filtrira skozi poliuretanski filter, v katerem se zadržijo levkociti, ki se izpirerjo iz filtra z raztopino albumina v fiziološki raztopini (36). Za avtomatski način

predelave PKP se uporabljajo posebne naprave, ki delujejo kot majhni celični ločevalci in v zaprtem mikroprocesorsko vodenem sistemu izločijo eritrocite in plazmo iz PKP(37). V praksi se je uveljavil polavtomatski način z dodajanjem raztopine HES. Primerjava izsledkov nekaterih postopkov predelave PKP je prikazana v *tabeli 2*.

Tabela 2: Izsledki zmanjšanja volumna in preživetja celic pri različnih načinih predelave PKP.

	Avtomatsko (HES) Zingsem et al. (37)	Filtracija Rebulla et al.(36)	Polavtomatsko (HES) Bertolini et al. (35)	Ročno (brez HES)	
				Armitage at al. (32)	Sousa et al (31)
Volumen (ml)	32.6 ± 7.6	21.5	n.p.	24.5 ± 1.5	45 (19–63)
Zmanjšanje volumna (%)	65.1 ± 15.8	n.p.	n.p.	67	56
Preživetje levkocitov (%)	78.6 ± 24.9	49 ± 17	85.8 ± 7.9	83.3 ± 16.8	72 (52–90)
Preživetje CD34+ celic (%)	83.6 ± 32.5	85.3 ± 8.5	83.4 ± 5.6	98.9 ± 15.6	87 (63–99)

n.p. – ni podatka

V nadaljevanju predelave PKP se lahko osamijo CD34+ celic večinoma z imunomagnetnim postopkom oziroma se KMC iz PKP gojijo in vitro na gojiščih.

Po odvzemu in predelavi PKP je potrebno opraviti laboratorijske teste, ki zagotavljajo varnost in kakovost odvzete PKP. Med teste varnosti sodijo serološki testi (HbsAg; anti HCV, anti-HIV I/II, anti HTLV I/II) in testi NAT za določanje označevalcev virusov kot tudi aerobne in anaerobne bakteriološke kulture. Določamo še krvno skupino AB0 in RhD, hemogram, celice CD34⁺, antigene HLA ter CFU-GM. Nekateri priporočajo določanje kontaminacije PKP s celicami iz krvi matere.

Zaključek

Način zbiranja in predelave sta dejavnika, ki lahko vplivata na volumen zbrane PKP in število KMC v njej ter posredno na uspešnost presaditve. V literaturi nismo zasledili standardov ali priporočil, ki bi narekovali, kateri načini zbiranja in predelave PKP so ustrezni za uporabo v praksi. Zato se glede na ostale dejavnike, ki lahko vplivajo na kakovost in varnost zbiranja ter predelave PKP, odločimo za način, ki bo zagotovil zbiranje maksimalnega števila KMC ob čim manjših izgubah celic pri predelavi.

LITERATURA

1. Broxmeyer H, Douglas G, Hangoc G et al. Human umbilical cord blood as a potential source of transplantable hematopoietic stem/progenitor cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 3828–32.
2. Erices A, Conget P, Minguell JJ. Mesenchymal progenitor cells in human umbilical cord blood. *Br J Haematol* 2000; 109: 235–42.
3. Kakinuma S, Tanaka Y, Chinzei R et al. Human umbilical cord blood as a source of transplantable hepatic progenitor cells. *Stem cells* 2003; 21: 217–27.
4. Domanović D, Završnik T, Vesel S. Autologous placental blood transfusion after a planned neonatal pacemaker implantation. *Transfus Med* 2001; 11(6): 459–61.
5. Tanayo JG. The use of residual placental blood for transfusion. *Journal of the Philipp Medical Association* 1966; 42: 399–406.
6. Gluckman E, Broxmeyer HE, Auerbach AD et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical cord blood from HLA identical sibling. *New Engl J Med* 1989; 321: 1174–8.
7. Wadlow RC, Porter DL. Umbilical cord blood transplantation: Where do we stand? *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 2002; 8: 637–47.
8. Barker JN, Weisdorf DJ, Wagner JE. Creation of a double chimera after the transplantation of umbilical-cord blood from two partially matched unrelated donors (letter). *N Engl J Med* 2001; 344: 1870–1.
9. Gan OI, Murdoch B, Larochelle A et al. Differential maintenance of primitive human SCID-repopulating cells, clonogenic progenitors, and long-term culture-initiating cells after incubation on human bone marrow stroma cells. *Blood* 1997; 90: 641–50.
10. Rubinstein P, Carrier C, Scaradavou A et al. Outcomes among 562 recipients of placental blood transplants from unrelated donors. *N Engl J Med* 2001; 344: 1565–77.
11. Locatelli F, Rocha V, Chastang C et al. Factor associated with outcome after cord blood transplantation in children with acute leukemia. Eurocord Cord Blood Transplant Group. *Blood* 1999; 93: 3662–71.
12. Nakagawa R, Watanabe T, Kawano Y et al. Analysis of maternal and neonatal factors that influence the nucleated and CD34+ cell yield for cord blood banking. *Transfusion* 2004; 44: 262–7.
13. Ballen KK, Wilson M, Wu J et al. Bigger is better: Maternal and neonatal predictors of hematopoietic potential of umbilical cord blood units. *Bone Marrow Transplant* 2001; 27: 7–14.
14. Surbek DV, Danzer E, Steinmann C et al. Effect of preeclampsia on umbilical cord blood hematopoietic progenitor-stem cells. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 185(3): 725–9.
15. Sparrow RL, Cauchi JA, Ramadi LT et al. Influence of mode of birth and collection on WBC yields of umbilical cord blood units. *Transfusion* 2002; 42: 210–5.
16. Jones J, Stevens CE, Rubinstein P et al. Obstetric predictors of placental/umbilical cord blood volume for transplantation. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 188(2): 503–9.
17. Aufderhaar U, Holzgreve W, Danzer E et al. The impact of intrapartum factors on umbilical cord blood stem cell banking. *J Perinat Med* 2003; 31(4): 317–22.
18. Donaldson C, Armitage WJ, Laundry V et al. Impact of obstetric factors on cord blood donation for transplantation. *Br J Haematol* 1999; 106: 128–32.
19. Pafumi C, Zizza G, Farina M et al. Placing the newborn on the maternal abdomen increases the volume of umbilical cord blood collected. *Clin Lab Haematol* 2001; 23(6): 397–9.
20. Rubinstein P, Dobrila L, Rosenfield RE et al. Processing and cryopreservation of placental/umbilical cord blood for unrelated bone marrow reconstitution. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 10119–22.
21. Bertolini F, Lazzari L, Lauri L et al. A comparative study of different procedures for collection and banking of umbilical cord blood. *J Hematother* 1995; 4: 29–36.
22. Harris DT, Schumacher MJ, Rychlik S et al. Collection, separation and cryopreservation of umbilical cord blood for use in transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1994; 13: 135–43.
23. Surbek DV, Schönfeld B, Tichelli A et al. Optimizing cord blood mononuclear cell yield: a randomized comparison of collection before vs after placental delivery. *Bone Marrow Transplant* 1998; 22: 311–2.
24. Wong A, Yuen PMP, Li K et al. Cord blood collection before and after placental delivery: levels of nucleated cells, haematopoietic cells, leukocyte subpopulations and macroscopic clots. *Bone Marrow Transplant* 2001; 27: 133–8.
25. Wagner JE, Broxmeyer HE, Cooper S. Umbilical cord and placental blood hematopoietic stem cells: Collection, cryopreservation and storage. *J Hematother* 1992; 1: 167–73.
26. Broxmeyer HE, Kurtzberg J, Gluckman E et al. Umbilical cord blood hematopoietic stem and repopulating cells in human clinical transplantation. *Blood Cells* 1990; 17: 313–29.
27. Turner CW, Luzins J, Hutcheson C. A modified harvest technique for cord blood haematopoietic stem cells. *Bone Marrow Transplant* 1992; 10: 89–91.
28. Falkenburg JHF, van Luxemburg-Heijs SAP, Zijmans JM et al. Separation, enrichment and characterization of human hematopoietic progenitor cells from umbilical cord blood. *Ann Hematol* 1993; 67: 231–6.

29. Pahwa RN, Fleischer A, Than S, Good RA. Successful hematopoietic reconstitution with transplantation of erythrocyte-depleted allogeneic human umbilical cord blood cells in child with leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 4485–8.
30. Ullman J, Perry E, Fautsch S, McCoullough J. Red blood cell depletion of umbilical cord blood for transplantation. *Blood* 1993; 82 (Suppl. 1) : 393a (Abstr. 1557).
31. Sousa T, de Sousa ME, Godinho MI et al. Umbilical cord blood processing: volume reduction and recovery of CD34+ cells. *Bone Marrow transplant* 1997; 19: 311–3.
32. Armitage S, Fehily D, Dickinson A et al. Cord blood banking: volume reduction of cord blood units using a semi-automated closed system. *Bone Marrow Transplant* 1999; 23: 505–9.
33. Nagler A, Peacock M, Tantoco M et al. Separation of haematopoietic progenitor cells from human umbilical cord. *J Hematother* 1993; 2: 243–5.
34. Almici C, Carlo-Stella C, Mangoni L et al. Density separation of umbilical cord blood and recovery of hematopoietic progenitor cells: implication for cord blood banking. *Stem cells* 1995; 13: 533–40.
35. Bertolini F, Battaglia M, Zibera C et al. A new method for placental/cord blood processing in the collection bag. I. Analysis of factors involved in red blood cell removal. *Bone Marrow Transplant* 1996; 18: 783–6.
36. Rebullà P, De Bernardi N, Villa A et al. Evaluation of a new device for volume reduction of placental blood units by filtration through polyurethane. *Vox Sang* 1998; 74 (Suppl. 1; abstr): 36.
37. Zingsem J, Strasser E, Weisbach V et al. Cord blood processing with an automated and functionally closed system. *Transfusion* 2003; 43: 806–13.
38. Solves P, Moraga R, Saucedo E et al. Comparison between two strategies for umbilical cord blood collection. *Bone Marrow Transplant* 2003; 31: 269–73.

VPLIV TKIVNE (NE)SKLADNOSTI PRI TRANSPLANTACIJI KRVOTVORNIH MATIČNIH CELIC IZ POPKOVNIČNE KRVI

Matjaž Jeras

Ključne besede: krvotvorne matične celice; tkivna skladnost; presaditev popkovnične krvi; aloreaktivnost; bolezen presadka proti gostitelju

Key words: hematopoietic stem cells; histocompatibility; cord blood transplantation; alloreactivity; graft versus host disease

Izvelek: V zadnjih nekaj letih je popkovnična kri postala možen in dostopen alternativni vir krvotvornih matičnih celic za alogensko presaditev predvsem tistim bolnikom, ki nimajo niti sorodnih niti nesorodnih tkivno skladnih darovalcev. Med več kot 3500 doslej transplantiranimi bolniki, ki so sledili prvemu objavljenemu primeru iz leta 1989, prevladujejo otroci, poleg njih pa je tovrstne presadke prejelo že tudi več kot 500 odraslih. Naivnost limfocitov T iz popkovnične krvi omogoča, da lahko presajamo neonatalne krvotvorne matične celice z 1 (5/6) ali 2 (4/6) neujemanjema v antigenih ali alelih HLA z enako stopnjo tveganja za nastanek bolezni presadka zoper gostitelja kot v primeru uporabe tkivno skladnih presadkov odraslih nesorodnih darovalcev. Poglavitna pomanjkljivost popkovnične krvi pa je v tem, da vsebuje malo matičnih celic, zaradi česar je več primerov neuspešne presaditve oziroma težav zaradi zapoznelega prijettja presadka v primerjavi s presaditvijo alogenskega kostnega mozga. Možen pristop za izboljšanje te omejitve predstavljajo danes različni načini gojenja oziroma ekspanzije predhodnikov krvotvornih matičnih celic v pogojih *in vitro*. S tem in pa s sočasno uporabo dveh različnih enot popkovnične krvi postaja presajanje neonatalnih krvotvornih matičnih celic vse bolj zanimivo tudi za odrasle bolnike.

Abstract: In recent years, umbilical cord blood (UCB) has emerged as a possible and feasible alternative source of hematopoietic stem cells (HSC) for allogeneic transplantation, mainly in patients who lack HLA-matched related and unrelated donors. Among more than 3500 transplanted patients since the first reported case in 1989, the vast majority of recipients are children. However, up to now, more than 500 UCB transplantations were performed in adults as well. The naive state of UCB lymphocytes T permits the use of grafts with 1 (5/6) or 2 (4/6) HLA antigen or allele mismatches with the same risk of generating graft versus host disease as in the case of HLA compatible allogeneic bone marrow transplantation. The main disadvantage of UCB is, that it contains low numbers of stem cells, resulting in higher rates of graft failure as well as problems related to delayed time to engraftment as compared to allogeneic bone marrow transplantation. A possible approach to overcome this important limitation involves different ways of *in vitro* cultivation and expansion of UCB derived hematopoietic stem cell precursors. Nowadays this kind of HSC enrichment and a concomitant use of two different UCB units have made the UCB transplantation more and more accessible to adult patients as well.

Uvod

Prvo uspešno presaditev krvotvornih matičnih celic (KMC) popkovnične krvi (PK) so opravili leta 1988 v Parizu. Prejemnik PK svoje tkivno skladne sestrice je bil šestletni deček s Fanconijevo anemijo (1). Leta 1996 je dr. Pablo Rubinstein s sodelavci (New York Blood Center) objavil obetavne rezultate prvih 25 primerov presaditev nesorodnih v tkivnih antigenih HLA (Human Leukocyte Antigens) delno neskladnih enot PK, ki so jih hranili v kriobanki (2). Presaditve so opravili v letih 1993 – 1995, prejemniki pa so bili otroci, od katerih jih je zdravljenje preživelo 12 (48 %). Enajst od teh jih živi še danes, so zdravi in vsak ima popoln darovalčev himerizem (3).

Že v prvih študijah so ugotovili, da nesorodna alogenska PK v prejemnikih povzroča manj akutnih in kroničnih oblik bolezni presadka zoper gostitelja – GvHD (Graft versus Host Disease) v primerjavi s transplantacijami KMC odraslih nesorodnih darovalcev, ki so bili v tkivnih antigenih HLA celo bistveno skladnejši s transplantiranimi bolniki. Prav tako so prišli tudi do spoznanja, da količina celic z jedrom v PK odločilno vpliva tako na prijetje presadka kakor tudi na celokupno preživetje transplantiranih bolnikov.

Ker je v presajeni PK število KMC omejeno, so dolgo časa menili, da bo tovrstna transplantacija primerna izključno za otroke. Razmeroma dolgo je bilo zato navdušenje za uporabo PK pri odraslih bolnikih precej majhno, še posebej zaradi dejstva, ker so bile prve takšne presaditve, ki so jih izvedli v ZDA, precej neuspešne (4). Delno je bila za slab rezultat kriva izbira bolnikov, ki so bili vsi v terminalnem obdobju bolezni, delno pa uporabljena količina celic z jedrom, ki je bila v povprečju manjša od 2×10^7 / kg telesne teže. Veliko bolje so potekale tiste presaditve PK odraslim bolnikom, pri katerih so uporabili večje koncentracije celic z jedrom, npr. v študiji Ooiya in sodelavcev, več kot $2,43 \times 10^7$ / kg telesne teže (5). Od prvega poročila o tovrstni transplantaciji, leta 1996, so v svetu opravili že več kot 500 presaditev PK odraslim bolnikom (6, 7). Danes so za potrebe transplantacije nesorodnih KMC iz PK odraslim bolnikom na voljo različni, večinoma še vedno eksperimentalni pristopi, s katerimi lahko povečajo število infundiranih matičnih celic oziroma izboljšajo prijetje presadka, na primer: sočasna uporaba enot PK dveh različnih, glede tkivne skladnosti sprejemljivih in primerljivih (antigeni oziroma aleli HLA) nesorodnih darovalcev, uporaba prej *ex vivo* namnoženih KMC iz PK ter sočasna uporaba mezenhimskih matičnih celic (MMC) in PK (7, 8).

Pri uporabi dveh enot PK različnih nesorodnih darovalcev so ugotovili, da po določenem času v prejemniku vedno popolnoma prevlada le ena od njiju. Na to, katera bo ta, pa ne vplivajo niti število celic z jedrom, niti število CD34⁺ KMC, niti stopnja ujemanja v antigenih HLA, pač pa izključno velikost populacije CD3⁺ limfocitov T v posamezni enoti PK (8, 9).

Na področju *ex vivo* gojenja in ekspanzije KMC, izoliranih iz PK, obstaja vrsta eksperimentalnih pristopov, pri katerih uporabljajo definirane medije, ki vsebujejo različne kombinacije in koncentracije določenih topnih rastnih dejavnikov, npr.: eritropoietina, dejavnika matičnih celic, G-CSF (granulocitne kolonije stimulirajočega dejavnika), MGDF (magakariocitnega rastnega in razvojnega dejavnika) in liganda Flt-3 (trimer CD40-L) (7, 8, 10, 11, 12). Nadaljnji razvoj pa je usmerjen v uporabo mezenhimskih matičnih celic kot podporne strome za *ex vivo* ekspanzijo zarodnih mononuklearnih celic iz PK (8). Takšen način gojenja KMC iz PK namreč pospešuje njihovo proliferacijo, ob sočasni ustavitvi njihovega dozorevanja (7). Zanimiv eksperimentalni model je tudi gojenje KMC, izoliranih iz PK v mediju, ki vsebuje Kit-ligand, Flt-3, IL-6, trombopoietin, IL-3 ter kelator bakrovih ionov tetraetilenpentin (TEPA). Slednji znižuje znotrajcelično koncentracijo bakra, kar vodi v ustaveitev dozorevanja KMC, ne

da bi bila pri tem okrnjena njihova sposobnost za tvorbo kolonij (7). Znano je namreč, da igrajo bakrovi ioni pomembno vlogo v uravnavanju hematopoieze.

Čimboljše ujemanje v antigenih oziroma alelih HLA med darovalcem in prejemnikom KMC odločilno vpliva na uspešnost transplantacije. To vsekakor velja tudi za presajanje PK. Ker pa je zaradi silne raznolikosti antigenov HLA razredov I in II med nesorodniki izredno težko najti tkivno povsem skladnega darovalca za posameznega bolnika, je dejstvo, da lahko uspešno presadimo tudi takšno PK, ki se v tkivnih antigenih ne ujema povsem s prejemnikom, izjemno pomembno. Kakšni so torej možni razlogi in najverjetnejši mehanizmi za očitno manjšo imunogenost in šibkejšo aloreaktivnost PK v primerjavi s kostnim mozgom oziroma periferno zbranimi KMC odraslih nesorodnih oseb?

Bolezen presadka zoper gostitelja (GvHD)

Akutna in kronična bolezen presadka zoper gostitelja sta poglavitni toksični spremljevalki presaditve alogenskih KMC. Bolnik, prejemnik presadka, je zaradi svoje bolezni, dotedanjih okužb ter postopka kondicioniranja precej poškodovan, kar se kaže v obsežnih provnetnih spremembah njegovih endotelijskih in epiteljskih celic (13, 14). Te spremembe, med katere štejemo: povečano izražanje adhezijskih in drugih molekul, npr. HLA razredov I in II, na celičnih površinah ter seveda različnih citokinov, poleg samega alogenskega okolja, v katerem se znajdejo infundirane celice darovalca, povzročijo, da se posledično zlahka aktivirajo in namnožijo darovalčeve vnetne aloimunske celice. To pa je proces, ki je zelo podobno mehanizmu celičnega imunskega odziva na okužbo z virusi ali s po gramu negativnimi bakterijami. Tudi osnovne tarče njihovega napada v prejemniku: koža, črevesje in jetra, kažejo na sorodnost med okužbo in GvHD, saj so vsi omenjeni organi stalno izpostavljeni endotoksinom in drugim bakterijskim proizvodom, ki lahko sprožijo in okrepijo lokalne vnetne procese (14). Ker gre za področja, ki predstavljajo prvo obrambno linijo telesa pred okužbami, je v njih veliko profesionalnih antigenov predstavljalajočih celic (APC), zlasti dendritičnih celic (DC) in makrofagov, ki vzbudijo in vzpodbujajo potek GvHD (14, 15). Poleg efektorskih imunskih celic (celice T pomagalk in citotoksični limfociti T) k začetku in poteku akutnega GvHD pomembno prispeva tudi pretirana količina sproščenih citokinov (citokinska nevihta), osrednjih regulacijskih molekul v imunskem sistemu (14). Sicer pa zaenkrat ne znamo pojasniti, zakaj GvHD ne poškoduje npr. ledvičnih vodov, živčnega tkiva, mišic, žil, kosti in hrustanca. Na omejeno prisotnost GvHD v telesu lahko vsekakor vpliva specifično potovanje in zadrževanje (homing) limfocitov v omenjenih tkivih oziroma organih (15).

V zadnjem času se veliko raziskav usmerja v preučevanje funkcije naravnih celic ubijalk (NK). Le-te same ne morejo izzvati nastanka GvHD. Darovalčeve naravne celice ubijalke pa lahko prispevajo k uničenju tarčnih celic prejemnika, in sicer zaradi povečanega izražanja celičnih površinskih molekul pod vplivom GvHD, ki nato aktivirajo celice NK z vezavo na njihove aktivacijske receptorje NKG2D. Dokazali so, da pride po transfuziji aloreaktivnih celic NK v nekaj urah do uničenja prejemnikovih limfocitov, mieloidnih celic in APC (15). Ker so za nastanek bolezni presadka zoper gostitelja nujno potrebne APC, bi uporaba aloreaktivnih celic NK lahko bistveno zmanjšala njen obseg in intenzivnost. Objavljeni klinični podatki potrjujejo to hipotezo, saj so pri sorodni haploidni ter nesorodni transplantaciji KMC opazili mnogo manj GvHD v primeru NK aloreaktivnih dvojic darovalec-prejemnik kot pa v primerih, ko so bile le-te kompatibilne v receptorjih KIR (Killer Cell Immunoglobulin Receptors ali Killer Inhibitory Receptors) naravnih celic ubijalk (15). Ligandi receptorjev KIR, ki so lahko inhibicijski ali aktivacijski, so molekule HLA razreda I, zlasti Cw in B, pa tudi A (16).

Sočasno z GvHD poteka tudi želeni del celične aloreaktivnosti, in sicer delovanje presadka zoper levkemijo ali GvL (Graft versus Leukemia). Izvajalci GvL so efektorski limfociti T ter aloreaktivne celice NK. Prejemnikovi levkemični antigeni, ki jih predstavljajo rakave celice, lahko aktivirajo specifične klone darovalčevih limfocitov T. Takšne klone nato lahko namnožimo *in vitro* ter jih uporabimo za zdravljenje levkemije *in vivo* (prenos adoptivne imunosti). Vprašanje pa je, ali je neposredno predstavljanje levkemičnih antigenov na rakavih celicah edini možni mehanizem za nastanek darovalčevega protitumorskega celičnega imunskega odziva, saj lahko na ta način največkrat pride le do anergije (neodzivnosti) ali celo do apoptoze odzivnih klonov limfocitov T, kar je posledica pomanjkanja ali popolne odsotnosti kostimulativnih molekul na levkemičnih celicah, ki seveda niso profesionalne APC. Zaenkrat ni nobenega neposrednega dokaza, da pri ljudeh darovalčeve ali prejemnikove DC posredno predstavljajo darovalčevim limfocitom T, v peptide razgrajene levkemične antigene, vezane na molekule HLA (15). Zaradi tega dejstva ter številnih drugih odprtih vprašanj danes še vedno ne znamo v celoti pojasniti fenomena GvL. Poleg tega obstajajo velike razlike v dojemljivosti za pozitivne vplive GvL med posameznimi hematološkimi malignimi boleznimi, kar je posledica različnosti tako v sposobnostih stimuliranja antilevkemičnih limfocitov T ($CD4^+$ in $CD8^+$) kakor tudi v odpornosti rakavih celic na njihov napad (15).

Ker so hematopoietske celice zelo dobre tarče napada celic NK, ni prav nič nenavadno, da pride po srečanju le-teh s KIR-nekompatibilnimi (antigeni HLA razreda I) levkemičnimi celicami do močne citotoksične reakcije, ki je ne moremo nikoli doseči v primeru HLA skladnih ali avtolognih rakavih celic. Klinični pomen neujemanj v receptorjih in ligandih celic NK se najboljše kaže v izredno nizki incidenci ponovnega izbruha bolezni pri bolnikih z AML (akutna mieloična levkemija), ki so prejeli haploidetične ali nesorodne presadke, iz katerih so odstranili limfocite T (15).

Eno od trenutno najpomembnejših vprašanj je, ali je možno ločiti GvL od GvHD in sicer kako? Morda bo to uspelo s selektivnim odstranjevanjem tistih klonov limfocitov T, ki so odgovorni za GvHD, ali pa tako, da bomo lahko pripravljali in dodajali takšne regulacijske celice, ki aktivno preprečujejo nastanek GvHD (npr. $Th2/Tc2$, $CD4^+CD25^+$) (15). Prav tako veliko obeta uporaba aloreaktivnih celic NK izbranih tretjih oseb, ki lahko izvajajo GvL brez nastanka GvHD. Razmeroma kmalu pa bo morda možna tudi blokada inhibicijskih receptorjev celic NK *in vivo*, ki ne bo dobrodošla le pri izboljšanju imunske terapije levkemij, ampak tudi imunske odzivnosti na virusne okužbe (16).

Vplivi tkivne (ne)skladnosti na uspešnost presaditve PK

Tkivni antigeni HLA razredov I in II so ključnega pomena za prepoznavanje lastnega in tujega v imunskem sistemu in so izredno polimorfni. Med prve sodijo molekule HLA-A, -B in -C, med druge pa molekule HLA-DR, -DQ in -DP. Molekule HLA razreda I so zgrajene iz transmembranske verige α in z njo nekovalentno povezanega $\beta 2$ -mikroglobulina, molekule razreda II pa iz dveh, med seboj nekovalentno povezanih transmembranskih verig α (A) in β (B). Prve najdemo na vseh telesnih celicah z jedrom in trombocitih, druge pa na APC (limfociti B, monociti / makrofagi, dendritične celice), na aktiviranih limfocitih T ter na nekaterih endotelijskih celicah. Od svojih staršev vsakdo podeduje po en set ali haplotip antigenov HLA. Če torej preštejemo antigene HLA-A, -B, -C, -DR, -DQ in -DP, jih ima vsak posameznik 12. Razsežnosti njihove raznolikosti smo lahko spoznali šele potem, ko so nam postale dostopne različne tehnike tipizacije DNK na osnovi verižne reakcije s polimerazo (PCR). Te omogočajo dose-

ganje ravni visoke ločljivosti. Danes je, v skladu z nomenklaturu SZO (določa WHO Committee for Factors of the HLA System) uradno priznanih 338 alelov HLA-A, 617 HLA-B, 179 HLA-C, 3 HLA-DRA, 463 HLA-DRB, 28 HLA-DQA1 in 59 HLA-DQB1, 22 HLA-DPA1 in 111 HLA-DPB1. Njihove nukleotidne in aminokislinske sekvence so zbrane v splošno dostopni podatkovni bazi IMGT/HLA (17). V tabeli 1 je prikazan osnovni princip označevanja v skladu z uradno nomenklaturu HLA (17):

Poimenovanje	Označuje
HLA	Področje HLA in predpono za posamezen gen HLA.
HLA-DRB1	Določen lokus HLA, v tem primeru DRB1.
HLA-DRB1*13	Skupino alelov, ki kodirajo antigen HLA-DR13.
HLA-DRB1*1301	Specifični alel.
HLA-DRB1*1301N	Nični oziroma neizraženi alel.
HLA-DRB1*130102	Alel, ki se razlikuje v sinonimni mutaciji (kodira isto ak).
HLA-DRB1*13010102	Alel, ki vsebuje mutacijo zunaj kodirajočega področja.
HLA-DRB1*13010102N	Nični alel, ki vsebuje mutacijo zunaj kodirajočega področja.

Ker lahko v okviru najožje družine najdemo genotipsko skladne osebe (brate, sestre) le za nekaj več kot 25 % bolnikov, moramo zanje pogosto iskati ustrezne, tkivno skladne nesorodne darovalce med odraslimi člani nacionalnih registrov ali pa med enotami popkovnične krvi, shranjenih v posebnih bankah. Podatki o njihovih fenotipih HLA so na razpolago v svetovnem registru BMDW (Bone Marrow Donors Worldwide).

Glede na to, da so izvajali presaditve KMC nesorodnih oseb tudi v obdobjih, ko določitev alelov, genskih zapisov za polimorfne dele molekul HLA še niso bile možne, je bilo veliko presaditev narejenih z, do različne stopnje, tkivno neskladnimi darovalci. Zato je bila tudi njihova uspešnost razmeroma skromna. Še ne dolgo tega so tkivno skladnost v antigenih HLA razreda I med darovalcem in bolnikom usklajevali na ravni serološke tipizacije (uporaba specifičnih monoklonskih in poliklonskih protiteles anti-HLA). Danes pa akreditacijski standardi Evropske federacije za imunogenetiko EFI in Ameriške zveze za histokompatibilnost in imunogenetiko ASHI za izvajanje programa nesorodne transplantacije KMC obvezno zahtevajo tipizacijo DNK visoke ločljivosti, kar pomeni določanje alelskih specifičnosti antigenov HLA razreda II ter poleg serološke tudi tipizacijo DNK nizke in visoke ločljivosti za antigene HLA razreda I. Pri določanju tkivne skladnosti za transplantacijo KMC je seveda vedno ključno vprašanje, kakšna so najustreznejša merila za izbiro darovalcev. Pri tem mislimo tako na stopnjo ločljivosti tipizacije (nizka in visoka) kakor tudi na stopnjo ujemanja (antigen-ska ali alelska) ter tudi na to, v katerih lokusih HLA je lahko prisotno morebitno neujemanje. Vsi omenjeni dejavniki namreč pomembno vplivajo na uspešnost presaditve. To je še zlasti aktualno pri transplantaciji PK, pri kateri si, glede na podatke iz literature, lahko privoščimo več neujemanja kot pri presaditvi KMC odraslih nesorodnih darovalcev. Poleg same tipizacije visoke ločljivosti pa so nam lahko pri funkcijskem vrednotenju imunogenosti posameznih neujemanj v antigenih oziroma alelih HLA razreda I v pomoč tudi določene tehnike *in vitro*, npr. določanje predhodnikov citotoksičnih limfocitov T.

V tabeli 2 je prikazan primer stopenjske tipizacije, od serološke določitve nadskupine, preko serološke določitve podskupine antigena HLA, nato potrditvenih izsledkov tipizacije na ravni DNK z nizko in končno še z visoko stopnjo ločljivosti (določitev alelske specifičnosti):

Raven tipizacije	Primer
Nadskupina antigena HLA (serologija)	A9
Podskupina antigena HLA (serologija)	A23
Alelska skupina (DNK, nizka ločljivost)	A*23
Specifični alel	A*2301

Kaj pomeni antigensko in kaj alelsko ujemanje oziroma neujemanje, pa nam prikazuje tabela 3:

Izraz	Stopnja ujemanja	Primeri	
		Darovalec	Prejemnik
Ujemanje	na ravni antigena (serološka tipizacija)	HLA-A2	HLA-A2
	ujemanje na ravni tipizacije DNK z nizko resolucijo	HLA-A*02	HLA-A*02
	na ravni alela	HLA-A*0201	HLA-A*0201
Alelsko neujemanje	antigensko ujemanje (serološka tipizacija)	HLA-A2	HLA-A2
	ujemanje na ravni tipizacije DNK z nizko resolucijo	HLA-A*02	HLA-A*02
	alelsko neujemanje	HLA-A*0201	HLA-A*0205
Antigensko neujemanje	antigensko neujemanje	HLA-A2	HLA-A1
	neujemanje na ravni tipizacije DNK z nizko resolucijo	HLA-A2*02	HLA-A*01
	alelsko neujemanje	HLA-A*0201	HLA-A*0101

Izredno pomembne in dragocene so študije večjih skupin transplantiranih bolnikov, v katerih s pomočjo multivariantnih statističnih pristopov vrednotijo vplive posameznih neujemanj na pojav in stopnjo GvHD ter na preživetje. Takšne raziskave lahko izvajajo samo veliki nacionalni registri in transplantacijski centri ali pa več nacionalnih registrov in centrov skupaj. Njihovi izsledki predstavljajo splošno priznano strategijo za izbiro najustrežnejšega darovalca za posameznega bolnika (18, 19, 20). Dolgo časa že velja, da je minimalno ujemanje 5/6, kar pomeni največ eno neujemanje v antigenih HLA-A, -B (antigenska raven) in -DRB1 (alelska raven). Danes pa prevladuje mnenje, da pomeni odlično ujemanje skladnost med darovalcem in bolnikom v alelih HLA-A, -B, -C in DRB1 (8/8) (19, 20). V študijah so namreč ugotovili, da je v povprečju antigensko neujemanje bolj nevarno od alelskega, seveda znotraj posamezne skupine alelov, in da neujemanja v HLA-DQ in -DP ne vplivajo statistično značilno na potek presaditve, razen če niso poleg njih prisotna še kaka druga neujemanja (19, 20). V Centru za tipizacijo tkiv dokončno izberemo dvojice bolnik – nesorodni darovalec na osnovi tipizacije DNK na visoki ravni ločljivosti, in sicer HLA-A, -B, -C, -DRB1 in -DQB1. V primeru več enakovrednih darovalcev pa se včasih odločimo za najustrežnejšega tudi ob upoštevanju ujemanja v alelih HLA-DPB1. Poleg tkivnih antigenov nam lahko služijo za izbiro najustrežnejšega med več možnimi nesorodnimi darovalci tudi naslednji dejavniki: starost, negativen izvid določitve statusa CMV, ujemanje v krvni skupini, spol (moški), odsotnost alosenzibilizacije, večja telesna masa ter darovalčeva dostopnost.

V številnih študijah, ki so primerjale potek in uspeh transplantacij PK in kostnega mozga odraslih nesorodnih oseb, so ugotovili, da je frekvenca nastanka akutne in kronične GvHD po presaditvi HLA-A, -B (antigensko ujemanje) in DRB1 (alelsko ujemanje) skladnega (6/6) transplantata odraslih nesorodnih KMC povsem primerljiva s tisto po uporabi PK z enim (5/6) ali dvema (4/6) neujemanjima v omenjenih tkivnih antigenih (21, 22). Ugotovili so tudi, da pride sicer po presaditvi PK do bistveno večje umrljivosti, ki je povezana s transplantacijo - TRM (Transplant Related Mortality), da pa je celokupno preživetje pediatričnih bolnikov nato povsem primerljivo s tistim po presaditvi tkivno

skladnega kostnega mozga odraslih nesorodnih darovalcev (21, 22).

Poleg vsega naštetega je seveda uporaba PK ugodna tudi zato, ker lahko hitro identificiramo ustrezno enoto ter tako izvedemo transplantacijo bistveno prej kot v primeru odraslih nesorodnih darovalcev KMC.

Aloreaktivnost PK v primerjavi s presadki KMC odraslih nesorodnih darovalcev

Ker po alogenski transplantaciji PK nastane statistično značilno manj resnih oblik GvHD v primerjavi s presaditvijo KMC odraslih nesorodnih darovalcev, to pripisujejo predvsem nezrelosti imunskega sistema novorojencev oziroma naivnosti limfocitov T v PK.

Med drugim so namreč ugotovili, da je v PK prisotnih bistveno več CD45RA⁺ (naivne) in bistveno manj CD45RO⁺ (spominske) celic T pomagalk kot v periferni krvi odraslih oseb, medtem ko so v obeh vrstah vzorcev našli enako število regulatornih CD4⁺CD25⁺ limfocitov T (23). Ker GvHD nastane zaradi direktnega prepoznavanja aloantigenov (molekul HLA) na prejemnikovih APC, so, z namenom, da bi raziskali in pojasnili mehanizme manjše aloreaktivnosti in imunogenosti popokovnične krvi, primerjali aloimunsko odzivnost celic T pomagalk (CD4⁺) izoliranih iz sveže odvzetih PK ter tistih, ki so jih osamili iz vzorcev periferne krvi odraslih oseb. V pogojih *in vitro* so jih inkubirali skupaj z nezrelimi in na različne načine dozorelimi (BCG in LPS) dendritičnimi celicami (DC), pripravljenimi iz monocitov odraslih oseb. Celice T pomagalk iz PK so po stiku z nezrelimi in s pomočjo mikobakterij BCG (*Bacillus Calmette-Guerin*) dozorelimi DC proizvajale statistično značilno manj interferona γ (IFN- γ) ter več interleukina 10 (IL-10) v primerjavi z limfociti CD4⁺ odraslih oseb (23). Podoben citokinski profil je značilen za regulacijske limfocite T (Tr1), ki proizvajajo velike količine IL-10, zmerne TGF- β (Transforming Growth Factor - β), IFN- γ in IL-5 ter majhne količine IL-2, ne izločajo pa IL-4. Takšne celice zavirajo imunske odzive tako *in vitro* kot *in vivo*. Sicer pa je IL-10 citokin, ki ima najmočnejše protivnetno delovanje, saj zavira tvorbo proinflammatoryh IL-1, IL-6 in TNF- α , ki vsi prispevajo k razvoju GvHD. Ko so nato za alogensko stimulacijo uporabili z LPS (bakterijski lipopolisaharid) dozorele DC, so dosegli učinkovite proinflammatorye aloimunske odzive vrste Th1, in sicer tako celic T pomagalk iz PK kakor tudi tistih iz periferne krvi odraslih oseb (23). Sicer pa so dokazali, da je LPS vpleten v patogenezo GvHD in je skupaj s svojim poglavitnim receptorjem TLR4 (Toll-Like Receptor 4) povezan s tveganjem za nastanek bolezni presadka zoper gostitelja (23). Zanimivo je tudi delovanje G-CSF (granulocitne kolonije vspodbujajoči dejavnik), saj vzpostavi prevladujoči citokinski profil vrste Th2 v darovalčevih DC. Zato ni nobeno presenečenje, da po presaditvi KMC, ki jih zberejo po stimulaciji darovalca z G-CSF, ne pride do prevladujočega pojavljanja akutne bolezni presadka zoper gostitelja (23). Manjše količine nastalega IFN- γ in višje IL-10 v CD4⁺ limfocitih T iz PK, ki so jih izmerili po njihovem draženju z alogenskimi nezrelimi in z BCG dozorelimi DC odraslih oseb, bi lahko bile vzročno povezane z redkejšim nastajanjem GvHD po presaditvi PK. S klinično uporabo nezrelih DC, ki izzovejo nastanek regulacijskih celic Tr1 ter z dodatnim preprečevanjem dozorevanja prejemnikovih DC *in vivo* (odsotnost LPS oziroma okužb s po gramu negativnimi bakterijami), bi torej lahko pomembno zmanjšali možnosti za nastanek GvHD.

Interakcija med receptorjem CD40, ki je prisoten na APC, in njegovim ligandom CD40L je kostimulacijski aktivacijski signal. Pomembna je za uravnavanje celičnega imunskega odziva. V pogojih *in vitro* so ugotavljali vlogo vezave CD40L (uporabili so njegov trimer Lt3) na receptorje CD40, izražene na limfo-

citih B in monocitih, izoliranih iz PK in periferne krvi odraslih oseb. Nezrelost neonatalnega kostimulacijskega vezavnega para CD40-CD40L so ugotovili le v primeru celičnega imunskega odziva, v katerem so kot APC uporabili monocite iz PK (24). Tudi IFN- γ ni aktiviral njihovega odziva na CD40L, tako kot pri monocitih iz periferne krvi odraslih oseb (povečano izražanje receptorja CD40 na njihovi površini). To pa pomeni, da v vnetnem mikrookolju v prejemniku po presaditvi PK, neonatalni monociti ne igrajo bistvene vloge v efektorskem delu aloimunskega odziva, kar lahko predstavlja enega od številnih vzrokov za razmeroma majhno pojavnost GvHD po tovrstnem zdravljenju.

Med drugim so v številnih študijah *in vitro* dokazali tudi pomembno disregulacijo ekspresije citokinskih genov, nastajanja proteinov ter funkcijskih aktivnosti aktiviranih mononuklearnih celic (MNC), zlasti monocitov iz PK, v primerjavi s tistimi iz periferne krvi odraslih oseb, kar zopet kaže na določeno stopnjo nezrelosti neonatalnega imunskega sistema (25).

Proteinska ekspresija NFATc2 (jedrni dejavnik aktiviranih limfocitov T, c2) kritičnega, nujno potrebnega transkripcijskega dejavnika za povečano izražanje številnih citokinov, ki izrazito ojačijo alogenske odzive limfocitov T, je zmanjšana v omenjenih celicah iz PK v primerjavi z limfociti T odraslih oseb. Zmanjšana celokupna izraženost z NFAT tesno povezanih genov kakor tudi samih citokinov in kemokinov v limfocitih T iz PK bi lahko prispevala k manjši incidenci GvHD po presaditvi PK (26).

Specializirana mikropodročja celične membrane, t.i. lipidni splavi (lipid rafts), igrajo ključno vlogo v aktivacijski signalizaciji limfocitov T. Molekula CD26 ima aktivnost dipeptidil peptidaze IV, veže adenoziinsko deaminazo in aktivira limfocite T, zato je primerna za študij aktiviranja limfocitov T ter vloge omenjenih lipidnih splavov pri prenosu aktivacijskih signalov. Ugotovili so različne ravni izražanja molekul CD26 na limfocitih T iz PK v primerjavi z limfociti T iz periferne krvi odraslih oseb. Prav tako so opazili razlike med CD26⁺CD45RA⁺ limfociti T iz obeh omenjenih virov (27). Molekule CD26 se na limfocitih T iz PK povezujejo s CD45RA zunaj lipidnih splavov. To pa bi lahko bil vzrok za oslABLJENO aktivacijsko signaliziranje preko CD26, s tem pa tudi za nezreli imunski odziv in nizko pojavnost hudih oblik GvHD po presaditvi PK (27).

Na PK lahko vplivamo imunomodulacijsko z načinom njene krioprezervacije. Različne hitrosti zamrzovanja: 1, 5, 7,5 in 10 °C na minuto namreč različno prizadenejo alostimulacijsko in aloproliferacijsko funkcijo ter klonogeni potencial PK (28). Čeprav se je klonogeni potencial PK s povečevanjem hitrosti zamrzovanja zmanjševal, pa s pomočjo pretočne citometrije niso zaznali sprememb v odstotkih CD34⁺ KMC in limfocitov. Ugotovili so, da hitrosti zamrzovanja med 1 in 5 °C na minuto statistično značilno zmanjšajo proliferacijsko sposobnost MNC iz PK ter tako lahko delujejo imunomodulacijsko, pri čemer pa ostane funkcija KMC povsem neokrnjena (28).

Zaključek

Hitrost identifikacije in presaditve ustrezne enote PK, manj stroge zahteve glede tkivne skladnosti med darovalcem in prejemnikom presadka ter zelo redko prisotna virusna kontaminacija PK (CMV, EBV), so odlike, ki postavljajo popkovnično kri kot vir KMC pred kostni mozeg ali periferno zbrane KMC odraslih nesorodnih oseb. Ta ugotovitev velja seveda predvsem za pediatrične bolnike. Novi pristopi za uporabo PK s sočasno uporabo dveh enot ter z možnostjo ekspanzije KMC *ex vivo* pa odpirajo nove perspektive za tovrstni način zdravljenja tudi pri odraslih bolnikih z levkemijo. Popkovnična kri postaja torej poleg odraslih nesorodnih darovalcev vse pomembnejši vir KMC.

LITERATURA

1. Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD, et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. *N Engl J Med* 1989; 321: 1174–8.
2. Kurtzberg J, Laughlin M, Graham ML, et al. Placental blood as a source of hematopoietic stem cells for transplantation into unrelated recipients. *N Engl J Med* 1996; 335(18): 157–66.
3. Kurtzberg J. Progress with unrelated cord blood transplants in adults. *Blood* 2003; 101: 4648.
4. Laughlin MJ, Barker, Bambach B, et al. Hematopoietic engraftment and survival in adult recipients of umbilical-cord blood from unrelated donors. *N Engl J Med* 2001; 344(24): 1815–22.
5. Ooi J, Iseki T, Takahashi S, et al. A clinical comparison of unrelated cord blood transplantation and unrelated bone marrow transplantation for adult patients with acute leukaemia in complete remission. *J Haematol* 2002; 118: 140–3.
6. Laporte JP, Gorin NC, Rubinstein P, et al. Cord-blood transplantation from an unrelated donor in an adult with chronic myelogenous leukemia. *N Engl J Med* 1996; 335 (18): 167–70.
7. Cohen Y, Nagler A. Umbilical cord blood transplantation – how, when and for whom? *Blood Reviews* 2004; 18: 167–79.
8. Symposium Summary. Second Annual International Umbilical Cord Blood Symposium. Los Angeles, California, May 14-15, 2004. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 2004; 10: 728–39.
9. Barker JN, Weisdorf DJ, DeFor TE, et al. Transplantation of two partially HLA-matched umbilical cord blood units to enhance engraftment in adults with hematologic malignancy. *Blood*. Prepublished October 5, 2004; DOI 10.1182/blood-2004-07-2717.
10. McNiece IK. Ex vivo expansion of hematopoietic cells. *Experimental Hematology* 2004; 32(5): 409–10.
11. McNiece IK. Ex vivo expansion of hematopoietic cells. Part II: control of proliferation and differentiation of hematopoietic stem cells *Experimental Hematology* 2004; 32(8): 692.
12. Shpall EJ, Quinones R, Giller R, et al. Transplantation of ex vivo expanded cord blood. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 2002; 8: 368–76.
13. Ferrara JLM, Cooke RK, Pan L, Krenger W. The immunopathophysiology of acute graft-versus-host-disease. *Stem Cells* 1996; 14(5): 473–89.
14. Ferrara JLM, Levy R, Chao NJ. Pathophysiologic mechanisms of acute graft-versus-host-disease. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 1999; 5: 347–56.
15. Barret AJ, Rezvani K, Solomon S, et al. New developments in allotransplant immunology. *Hematology* 2003; 350–71.
16. Farag SS, Fehniger TA, Ruggeri L, et al. Natural killer cell receptors: new biology and insights into the graft-versus-leukemia effect. *Blood* 2002; 100: 1935–47.
17. Robinson J, Waller MJ, Parham P, et al. IMGT/HLA and IMGT/MHC: sequence databases for the study of the major histocompatibility complex. *Nucleic Acid Research* 2003; 31: 311–14.
18. Petersdorf EW, Hansen JA, Martin PJ, et al. Major-histocompatibility –complex class I alleles and antigens in hematopoietic-cell transplantation. *N Engl J Med* 2001; 345(25): 1794–800.
19. Flomenberg N, Baxter-Lowe LA, Confer D, et al. Impact of HLA class I and class II high-resolution matching on outcomes of unrelated donor bone marrow transplantation: HLA-C mismatching is associated with a strong adverse effect on transplantation outcome. *Blood* 2004; 104(7): 1923–30.
20. Petersdorf EW, Anasetti C, Martin PJ, et al. Limits of HLA mismatching in unrelated hematopoietic cell transplantation. *Blood* 2004; 104(9): 2976–80.
21. Grewal SS, Barker JN, Davies SM, et al. Unrelated donor hematopoietic cell transplantation: marrow or umbilical cord blood. *Blood* 2003; 101(11): 4233–44.
22. Dalle JH, Duval M, Moghrabi A, et al. Results of an unrelated transplant search strategy using partially HLA-mismatched cord blood as an immediate alternative to HLA-matched bone marrow. *Bone Marrow Transplantation* 2004; 33: 605–11.
23. Liu E, Law HKW and Lau Y-L. Tolerance associated with cord blood transplantation may depend on the state of host dendritic cells. *British Journal of Hematology* 2004; 126: 517–26.
24. Han P, McDonald T, Hodge G. Potential immaturity of the T-cell and antigen-presenting cell interaction in cord blood with particular emphasis on the CD40-CD40 ligand costimulatory pathway. *Immunology* 2004; 113: 26–34.
25. Jiang H, Van de Ven C, Satwani P, et al. Differential gene expression patterns by oligonucleotide microarray of basal versus lipopolysaccharide-activated monocytes from cord blood versus adult peripheral blood. *J Immunol* 2004; 172: 5870–79.
26. Kaminski BA, Kadereit S, Miller RE, et al. Reduced expression of NFAT-associated genes in UCB versus adult CD4⁺ T lymphocytes during primary stimulation. *Blood* 2003; 102(13): 4608–17.
27. Kobayashi S, Ohnuma KI, Uchiyama M, et al. Association of CD26 with CD45RA outside lipid rafts attenuates cord blood T-cell activation. *Blood* 2004; 103(3): 1002–10.
28. Ketheesan N, Whiteman C, Malczewski AB, et al. Effect of cryopreservation on the immunogenicity of umbilical cord blood cells. *Transfusion and Apheresis Science* 2004; 30: 47–54.

REGISTRI KOSTNEGA MOZGA IN REGISTRI POPKOVNE KRVI DOMA IN PO SVETU

Miha Tonejc

Ključne besede: popkovna kri; banka popkovne krvi; transplantacija; register kostnega mozga; register popkovne krvi

Key words: cord blood; cord blood bank; transplantation; bone marrow donor registry; cord blood registry

Izvleček: Uporaba popkovne krvi za zdravljenje rakavih bolezni krvi in krvotvornih organov s presaditvijo v svetu hitro narašča. Večje potrebe po popkovni krvi so omogočile razvoj bank popkovne krvi, ki jo zbirajo in shranjujejo. Podatki o HLA tipizaciji enot popkovne krvi pa se zbirajo in hranijo v posebnih nacionalnih registrih. Mednarodno so dostopni v svetovnem registru dajalcev kostnega mozga Bone Marrow Donors Worldwide (BMDW) in v fundaciji NETCORD. Slednja poskuša globalno, na svetovni ravni, poenotiti povpraševanje in ponudbo popkovne krvi ter zagotoviti za to potrebne minimalne standarde. V Sloveniji banke popkovne krvi še nimamo, vendar je potreba po njej vse večja. Dostop do popkovne krvi, ki je na razpolago v svetu, omogoča register nesorodnih darovalcev krvotvornih matičnih celic (NDKMC) Slovenija Donor (SD). V Sloveniji, natančneje v Ljubljani, smo prvo enoto popkovne krvi presadili leta 2004.

Abstract: The use of cord blood to treat haematological malignancies, bone marrow failures and congenital immunodeficiencies is rapidly increasing. This increase lead to the establishment of Cord Blood Banks who collect and store cord blood units. HLA typing results of those units are collected in national bone marrow registries, they can internationally be searched for in Bone Marrow Donors Worldwide (BMDW) and NETCORD. NETCORD is a foundation with the objective to unite globally the supply and demand of cord blood units and to reassure the adherence to the required minimal standards. In Slovenia there is no Cord Blood Bank yet, but the need is emerging rapidly. BMDW and NETCORD for Slovene patients can be searched for via Slovenija Donor, the national Bone Marrow Donor Registry. The 1st cord blood in Slovenia was transplanted 2004 in Ljubljana.

Uvod

Prva presaditev popkovne krvi je bila narejena leta 1988 pri bolniku s Fanconijevo anemijo v Parizu v Franciji. Od takrat so po vsem svetu presaditev opravili že več kot 3000 bolnikom (1).

Pri nas smo prvo transplantacijo popkovne krvi opravili pri bolniku z mielodisplastičnim sindromom v Ljubljani, avgusta 2004.

Indikacije zdravljenja vključujejo rakaste bolezni krvi, krvotvornih organov, solidnih tumorjev, avtoimunih bolezni itd.

Uporaba popkovne krvi hitro narašča, saj ima svoje prednosti pred krvotvornimi matičnimi celicami (KMC) nesorodnih darovalcev (hitra dostopnost, nizko tveganje za bolezen presadka proti gostitelju – GVHD, Graft Versus Host

Disease, itd.). Nekatere slabosti pa so npr. velika pojavnost nevraščanja presadka, počasna obnova kostnega mozga, število vseh celic z jedrom itd. (2, 3). Preživetje po presaditvi popkovne krvi je primerljivo preživetju po presaditvi KMC HLA skladnih nesorodnih darovalcev (4).

Prva banka popkovne krvi je bila ustanovljena leta 1992 v New Yorku. Sledili sta ji banki v Milanu in Düsseldorfu (5). Večjo uporabo in dostopnost je nato omogočil razvoj bank popkovne krvi po vsem svetu. Te zbirajo in shranjujejo zmrznejne in HLA tipizirane enote popkovne krvi (1).

Zbiranje enot popkovne krvi/banke popkovne krvi

Popkovno kri v glavnem (69 %) zbirajo v javnih bankah popkovne krvi. Te banke tesno sodelujejo z nacionalnimi registri NDKMC, ki koordinirajo delovanje med vsemi domačimi in mednarodnimi ustanovami (6).

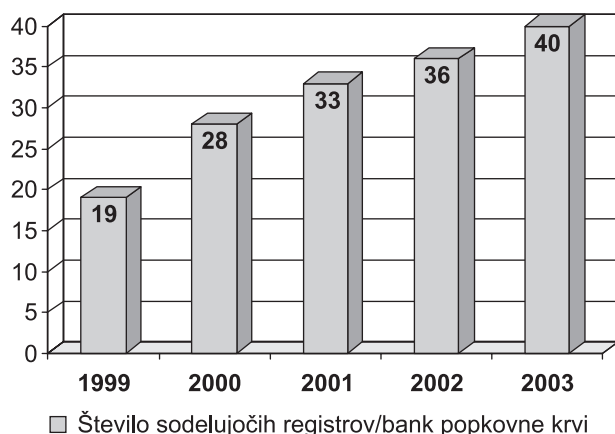
V svetu pa so se pojavile tudi zasebne (komercialne) banke popkovne krvi, posebej hitro v Aziji. Delovanje takih ustanov je potrebno še standardizirati in zagotoviti minimalne zahteve kakovosti (1).

Registri kostnega mozga in registri popkovne krvi

Glavna naloga registrov nesorodnih darovalcev krvotvornih matičnih celic (NDKMC) je omogočiti zdravnikom izbor ustreznega, tkivno skladnega darovalca krvotvornih matičnih celic za zdravljenje njihovih bolnikov s presaditvijo.

Veliko večjih in manjših registrov NDKMC, ki delujejo že vrsto let (> 15 let), uspešno koordinira delovanje različnih domačih in mednarodnih ustanov. Postopki iskanja darovalcev so v veliki večini registrov standardizirani in avtomatizirani (6). Registri se združujejo v svetovni register darovalcev kostnega mozga Bone Marrow Donors Worldwide (BMDW) (Slika 1) (7).

Skupaj 17 registrov NDKMC (32 %) od vseh 52 registrov, ki so združeni v svetovnem združenju darovalcev kostnega mozga World Marrow Donor Association (WMDA) delujejo kot registri NDKMC in kot registri popkovne krvi (6). Konec marca 2004 so bili podatki 77703 enot (49 %) vseh 158387 zbranih enot popkovne krvi na svetu zbrani v bazah podatkov teh 17 registrov (6).

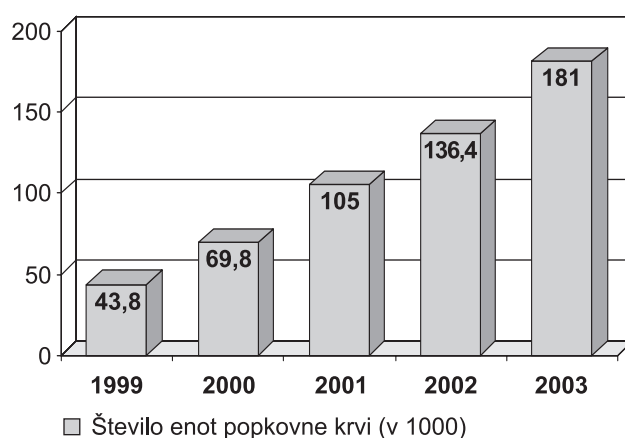


Slika 1: Število sodelujočih registrov/bank popkovne krvi (7)

Podatki NDKMC in enot zbrane popkovne krvi so tako vpisani v veliko centralno bazo podatkov BMDW, ki omogoča zdravnikom hkratno iskanje darovalcev NDKMC in enot popkovne krvi, ko sprožijo postopek iskanja krvotvornih matičnih celic (KMC) za svoje bolnike (*Slika 2*) (7).

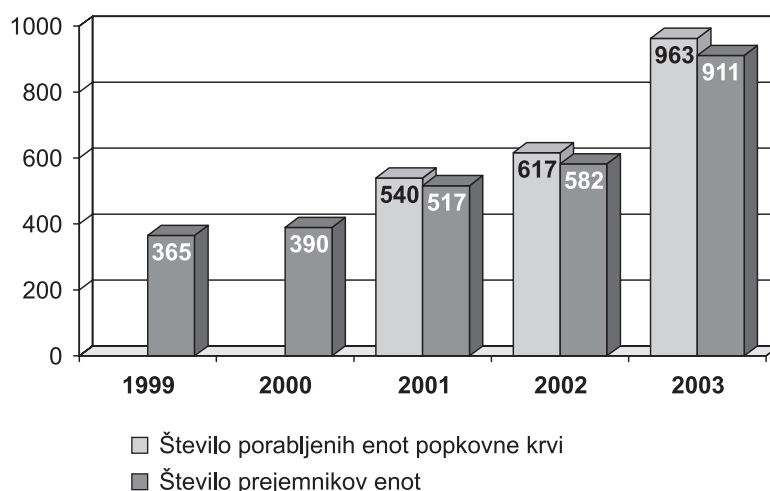
Ustrezne enote popkovne krvi pa lahko iščemo tudi v bazi podatkov NETCORD. V tem primeru iščemo le med enotami popkovne krvi.

Za hitro iskanje primernih enot popkovne krvi, izmenjavo informacij, sproščanje enot popkovne krvi in koordiniranje postopka iskanja je nujno potrebno poznavanje delovanja registrov NDKMC (6).



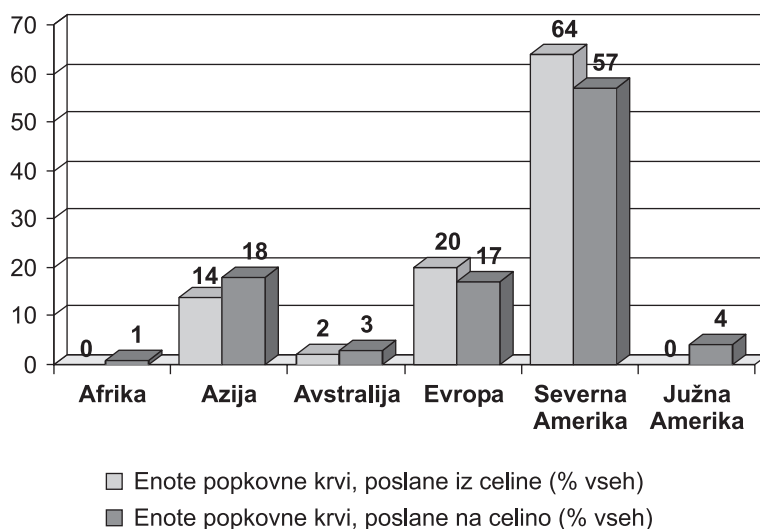
Slika 2: Celotno število vseh enot popkovne krvi, ki so na razpolago za presaditev (7)

V letu 2003 so presadili 963 enot popkovne krvi 911 bolnikom po vsem svetu, kar je skoraj dvakrat več kot leta 2001 (*Slika 3*) (7).



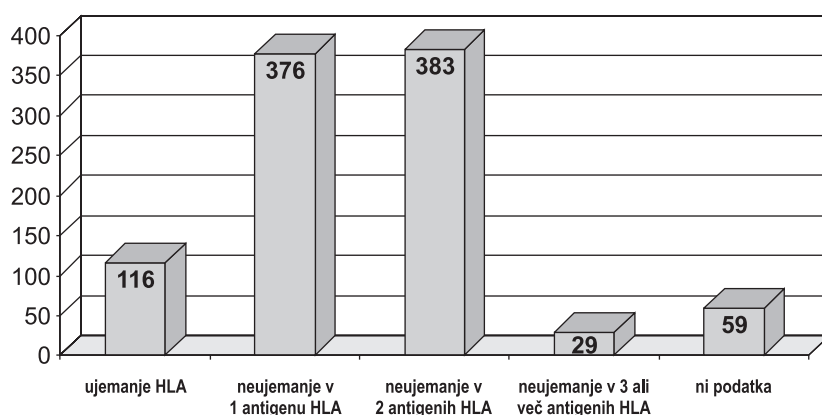
Slika 3: Število transplantiranih enot popkovne krvi (podatkov o številu prejemnikov v letih 1999 in 2000 ni) (7)

Podatki letnega poročila WMDA kažejo, da največ enot popkovne krvi presadijo v ZDA, sledi jim Evropa in nato Daljni Vzhod (*Slika 4*) (7).



Slika 4. Enote popkovne krvi, poslano na/iz celin (7)

Ena izmed prednosti zdravljenja s presaditvijo popkovne krvi kot virom krvotvornih matičnih celic je tudi večje dovoljeno število neujemanj v antigenih HLA z enako klinično učinkovitostjo, kot je pri presaditvah NDKMC pri odraslih. To kaže tudi dejanska poraba enot po ujemanju v antigenih HLA (*Slika 5*) (7).



Slika 5. Stopnja ujemanja HLA porabljenih enot popkovne krvi (7)

Zaključek

Popkovna kri je vse pomembnejši alternativni vir KMC. Ob pojavu komercialnih bank popkovne krvi bi bilo zelo pomembno to področje na ravni države urediti tudi v R Sloveniji, opredeliti pristojnosti in ustanoviti tako banko doma (8).

LITERATURA

1. TA Takahashi, Division of Cell processing, the University of Tokyo, 5th International Donor Registry Conference, May 2004, Tokyo, Japan.
2. Grewal SS, Barker JN, Davies SM, Wagner JE. Unrelated donor hematopoietic cell transplantation: marrow or umbilical cord blood? *Blood* 2003; 101: 4233–44.
3. Davey S, Armitage S, Rocha V, Garnier F, Brown J, et al. The London Cord Blood Bank: analysis of banking and transplantation outcome. *Br J Haematol.* 2004; 125: 358–65.
4. Barker JN, Davies SM, DeFor T, Ramsay NK, Weisdorf DJ, Wagner JE. Survival after transplantation of unrelated donor umbilical cord blood is comparable to that of human leukocyte antigen-matched unrelated donor bone marrow: results of a matched-pair analysis. *Blood* 2001; 97: 2957–61.
5. Rebutta P. Cord blood banking 2002: 112,010 of 7,914,773 chances. *Transfusion* 2002; 42: 1246–8.
6. E Marry on behalf of the WMDA Donor Registry Working Group, 5th International Donor Registry Conference, May 2004, Tokyo, Japan.
7. Letno poročilo World Marrow Donor Association (WMDA) 2003.
8. Stanworth S, Warwick R, Fehily D, Persaud C, Armitage S, Navarrete C et al. An international survey of unrelated umbilical cord blood banking. *Vox Sang* 2001; 80: 236–43.

SPECIAL PROBLEMS OF HAEMOVIGILANCE IN THE OBSTETRICAL WARD AND IN THE DELIVERY ROOM

Umberto Rossi, Loredana Gatti, Marco Luigi Sala

The problems of haemovigilance in obstetrics largely coincide with the **general** problems of haemovigilance common to the whole of clinical medicine, offering however a **few peculiar aspects** at delivery and in neonatal care, deserving a particular attention (64, 73), which hasn't so far been given with sufficient care to allow any definite conclusions. **Specific data on obstetrical and neonatal haemovigilance** are in fact quite rare in the abundant literature on haemovigilance (28, 36, 44, 59, 64, 70, 73, 76, 78) .

General aspects of haemovigilance

Haemovigilance is receiving an **increasing professional and political attention** in the last years. The Council of Europe, in its "*Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components*" (23) (which can be considered by now a "gold standard" for Blood Transfusion Services), has dedicated a chapter to haemovigilance.

In the **European Union Directive** "*setting standards of quality and safety for the collection, testing, processing, storage and distribution of human blood and blood components*" (26), prescriptions are given to member States (*in Chapter V*) to ensure adequate traceability (*Art. 14*) and notification of serious adverse events and reactions (*Art. 15*), having foreseen (*Art. 29*) the preparation of technical requirements and their adaptation to technical and scientific progress (84) .

Since its first definition (France, 1991), **national** systems of haemovigilance have been implemented in France (since 1993) and in Great Britain, Greece, Switzerland, Ireland, Luxembourg, The Netherlands, Denmark and Sweden (27, 34, 58, 83, 85, 87). **Local** systems of haemovigilance (regional- or hospital-based) are existing in many other European countries (10, 18, 19, 27, 33, 37, 46, 47, 67, 86).

After specific sessions during its European Congress of Venezia (1995) (86) and Frankfurt (1997) (67), the ISBT is keeping a keen scientific interest in haemovigilance, that has been again debated at the last **ISBT European Regional Congress** in Turkey (Istanbul) in July 2003.

Originally hosted by France (Bordeaux, 1997; Lyon, 1998; Lille, 1999; Montpellier, 2000), the annual **European Haemovigilance Seminar** has taken place in December 2001 in Greece (Athens), in February 2003 in Amsterdam (The Netherlands), in February 2004 in Zürich (Switzerland), the next being foreseen in 2005 in London (Great Britain).

In 1998, thanks to the initiative of 5 countries of the European Union (Belgium, France, Luxembourg, Portugal, The Netherlands), the "**European Haemovigilance Network**" (**EHN**) was born, having among its aims to allow rapid and efficient exchange of reliable information and experience (website: <http://www.ehn-org.net>) (33, 85, 87).

Basic requirements for haemovigilance

A satisfactory development of haemovigilance certainly requires the **previous** fulfilment of a series of very simple **requirements**, concerning **basic** clinical care and hospital organisation (7, 10, 33, 68, 71), of which the **European Haemovigilance Network (EHN)** is currently taking care.

These basic requirements have been increasingly debated recently during **ESTM courses**, first in Sofia (Bulgaria, 27/11-1/12/2002) (87), then in Portorož (Slovenia, 12-14/12/2002) (44), Piacenza (Italy, 20-21/6/2003) (85) and Barcelona (Spain, 19-21/3/2004) (46).

In the course of **Sofia** (the **second “Balkan-European” course**, after the good success of the **first** course in 2001 in **Sarajevo** (3) and of the subsequent **work-meeting of June 2002 in Lecce** (72), representatives from all South-Eastern European countries convened, reported their national situation (2, 5, 6, 31, 37, 52, 53, 58, 60, 62, 79, 91) and discussed about basic problems of **clinical transfusion practice** in the view to reach a better **blood safety** (19, 30, 47, 80). The issues dealt with during the course, as necessary **prerequisites** for an effective haemovigilance, did mainly concern the proper **clinical use of blood** and the **hospital transfusion organisation**, following the Directives and Recommendations of the WHO (97, 98) and of the Council of Europe (21, 22, 23). The course was organised in **6** consecutive **sessions**:

- Haemovigilance in Europe;
- Haemovigilance and the Blood Transfusion Service;
- Haemovigilance in the clinical administration of blood;
- Haemovigilance in the countries of South-Eastern Europe;
- “Preventive” haemovigilance: Good Clinical Transfusion Practice;
- Special problems of haemovigilance.

A similar structure characterised the course of **Piacenza** (85), while the programme of **Portorož** (44) also included some data on haemovigilance in Neonatology and Paediatrics (64, 73), and in **Barcelona** (46) the different types of adverse reactions were discussed in detail (18).

Basic professional and political requirements for an effective haemovigilance

An absolutely essential requirement is that a **preliminary consensus** should be obtained from people working in the field, through scientific information, national and European consensus conferences, discussions in ISBT Congresses (as in Venezia (86) in 1995, in Frankfurt (67) in 1997 and in Istanbul in 2003) and in the recent ESTM courses (16, 27, 34, 44, 85, 87).

The **overall evidence** so far arising from the experience acquired in Europe can be summarised as follows (27, 67, 68, 69, 84, 93):

- 1) Many dispositions, initiatives and organizations **already** exist at national levels, born from very different legal or professional situations, that need to be carefully known and analysed, to limit the tasks of the establishment of an **European haemovigilance network** to the intrinsic proper ones implied by the very word, connecting different settings by a really adaptable modular communication system, avoiding at any rate the risk of creating or imposing a different solution wherever it is already well functioning.

- 2) For any project of European network to be “feasible”, besides its cost and architecture, an essential prerequisite is to be **acceptable** and easy to implement. For any **implementation**, most of all considering the wide variations in the development of blood transfusion systems existing in Europe, a **preliminary consensus** from the people working in the field (i.e. from the experience of most European National Societies) seems to be essential.
- 3) Considering the increasing political need of reassuring the public about “adverse events” of blood transfusion being under full control (unfortunately corresponding to a lack of attention on its beneficial effects!), one should absolutely avoid the **risk** that the incoming European legislation on haemovigilance be characterised by an excessive prevalence of “bureaucratic” and over-regulatory aspects, dictated by mostly **legal** precautions, rather than by a strict adherence to the **scientific** and **medical** contents of our profession.

Basic clinical and organisational requirements for an effective haemovigilance

(4, 10, 32, 33, 68, 74, 85, 87)

Specific **tasks** necessary for the implementation of the surveillance of transfusion therapy in hospitals and clinical departments are:

- Definition of basic laboratory and clinical **indications** for the transfusion of blood products.
- System of **ordering** blood products and standardized forms for their request and forms that accompany them. This system must define labels, that have to be put on blood products that have been prepared for the transfusion of a defined patient, and labels that have to be put on withdrawn or recalled blood products.
- Unique **identification** system for the patient, blood product and laboratory results.
- **Collection** of patient blood **samples** and their labelling.
- **Transport** of requests and blood **samples** to the Blood Transfusion Centre.
- **Transport** of blood **products** from the Blood Transfusion Centre to the clinical departments.
- Temporary **storage** of blood products in the required conditions in the clinical departments until they are transfused, or if they are not used, until they are returned to the Transfusion Centre, and responsibility for them.
- **Identification** of the patient and blood product immediately before the transfusion, and comparison of the data obtained from the patient with the data on the blood product and with the results of laboratory testing that are written in the form accompanying the blood product.
- **Monitoring** the transfusion process. Although it is not realistic to expect it to be routinely done, the long-term monitoring of the transfused patient would give us much more information about the outcome of transfusion therapy.
- Documentation of transfusion and its outcome in the **patient medical file**.
- **Report** of the **outcome** of each transfused unit and of the monitoring of each transfusion event.
- The **alert system** involves recording the occurring of adverse events, measuring their prevalence and characteristics, notifying the Blood Transfusion Centre (and with their assistance withdrawal or recall of all blood

products produced from the same donor), and notifying other institutions that are mandatory or necessary for prevention of adverse reactions in other patients.

- Return of every **empty blood product bag** after the completion of every transfusion or of every **nontransfused blood product** to the Blood Transfusion Centre.
- Monitoring documentation of **patients state** before and after the end of transfusion, or regularly at defined times during transfusion therapy (general state, blood pressure, frequency of heart beat).
- Documentation of the **blood product**.
- Documentation of the **medical person**, who performed the procedure and was responsible for it, in the patient's file.
- Documentation of each **adverse event** that occurred during or after the transfusion therapy in the patient's file.
- Collection of data on adverse reactions, and analysis, by hospital **Transfusion Committee**.

Special problems of haemovigilance in obstetrics and neonatology

While **haemovigilance basic rules** are very much the **same** for pregnant women needing transfusion as for any other adult patients (what documentation, traceability and adverse event reporting concerns) (11, 12), **special attention** should be paid to what happens in obstetrical **emergencies**, in **autologous** transfusion, in **“mother-child” situations** (as transfusion of pregnant women, intrauterine transfusion and immunoprophylaxis of HDN with anti-D Ig), and in **newborns** (who are often kept under obstetrical medical care and assistance in the first hours or days of life).

Haemovigilance in obstetrical emergencies

As in any other kind of emergency in clinical medicine, detailed and complete **protocols** should be in place, concerning **all steps** to be done, well known and normally followed by **all staff** involved in emergency situations. The need for such protocols is mostly evident:

- 1) for **blood component** request, preparation and administration (39, 47, 80), and
- 2) for diagnosis of **haemostatic** emergencies possibly requiring urgent selective transfusion therapy (38, 39).

Documentation of any transfused blood component unit should never be omitted in any emergency, not only during **pregnancy**, but as well at **delivery**.

Haemovigilance in autologous transfusion

The incidence of adverse events associated with **autologous** donation in the general patients' population has been estimated as approximately 2,6% (35) and seems therefore to be **under-reported** to SHOT (77), where only 3 cases are quoted. In the Irish NHO Annual Report 2003 (51), pre-deposit autologous donation accounts for 3,3% of the total incidents reported (6 out of 180).

In spite of the obvious fact that its inherent immunological and virological **advantages** would concern also the **fetus** (9), autotransfusion is very **seldom practiced** during pregnancy and should be planned, (under the responsibilities

of the attending physician) in the last 3 months of pregnancy only as a **precautionary measure** in women with a predictable **risk of haemorrhage** (placenta previa, previous caesarean delivery, multiple pregnancy) or with a **rare blood group** (9, 40, 41, 45, 54, 61, 63).

In such cases, **all steps** involved need to be completely **documented** with particular care, also considering the relative lack of regulations and protocols about autologous transfusion (15, 49, 77, 80), which holds the same risks as allogenic transfusion in terms of bacterial contamination and identification errors at the time of administration (49, 50).

It may be of interest to know that in the next 11th edition (2005) of the Council of Europe's Guide, at page 55 under "*Conditions leading to temporary deferral*", a statement shall be reintroduced concerning conditions for **normal** homologous blood donation in relation to **pregnancy**, such as "*6 months after delivery or termination, except in exceptional circumstances and at the discretion of a physician*" (88).

Haemovigilance in "mother-child" situations

In a recent discussion by Weiller and Coll. (95), referring to the rather complete series of prescriptions and guidelines existing in France on haemovigilance in paediatric transfusion, a **mother-child link on the transfusion file** has been recommended (also for intrauterine transfusions) and a definition of the **immunohaematological and virological follow-up in children having been transfused in the neonatal period** has been advocated.

Traceability between mother and child is much too often made difficult or impossible by the lack of necessary **documentation**, that should never be omitted on **both** (mother **and** child) separate clinical **and** transfusional **files**, in the following "**mother-child**" events (95):

- 1) **children** transfused **in utero**;
- 2) **children** whose mother has been transfused **during pregnancy**;
- 3) **mothers** whose child has been transfused **in utero**.

In all these cases the immunological and infectious **risks** concern potentially both mothers **and** child, irrespective of which is being "**directly**" transfused.

It is astonishing how often it is acritically accepted that the **fetus** and the **newborn** have no **own identity**, but only with reference to the mother.

Documents with previous (mother-mediated or direct) **transfusion history** of **neonates** are seldom drawn up and given to the families. As a result, most adults completely **ignore** their neonatal (and/or fetal) transfusion history, making traceability, looking-back and follow-up procedures impossible.

It is our impression that an increased sensitivity to the need of **reliable "mother-child" clinical and transfusion files** would greatly increase the possibility for haemovigilance to help improve obstetrical and paediatric care.

Transfusion of pregnant women

Children whose mothers have been **transfused during pregnancy** are certainly the great majority of cases with **undocumented** exposure to previous immunological and/or infectious risk.

A “**neonatal**” **transfusion file** (with data of all transfusions received by the mother during pregnancy) would be particularly useful in cases of **chronic hereditary haemolytic anaemias** (thalassaemia major, sickle-cell syndromes), where also “prophylactic” transfusions may be indicated (89).

Intrauterine transfusion

Three IBCT errors reported in the SHOT Annual Report 2001/2002 (76) concerned babies who were given non irradiated blood, being the laboratory and medical staff unaware that infants who have had an intrauterine transfusion (IUT) should thereafter receive **irradiated** cellular blood components (14).

Although quite less frequent, one should not forget that **intrauterine transfusion (IUT)** is an event concerning **both** (fetus **and** mother) from an **immunological** and **infectious** point of view.

Immunoprophylaxis of HDN with anti-D Ig

The data reported by the National Haemovigilance Office (NHO) of the **Irish** Blood Transfusion Service (42, 49, 50, 51, 75) on the errors related to **prophylactic anti-D Ig administration** (39 in the period 2001-2003 (42, 75)) open a new perspective on the interest of haemovigilance in regard to Obstetrics.

Out of **11 incidents involving anti-D Ig during 2003**, 6 concerned errors in administration, 1 omission and 4 delays (5-9 days) of administration (50, 51).

Of the **6 errors in administration**, 3 arose from making incorrect assumption rather than checking the patient record (1 to a D-positive mother, 1 to a mother of D-negative child, 1 to an already D-sensitised mother), 1 from an error in cord blood grouping, 1 from a prescription written up for the wrong patient, and 1 from a label with incorrect patient details. Although none of the 6 patients suffered complications from these incidents, 5 of them were unnecessarily exposed to a blood product (51).

Of the **5 errors of omission or delay of administration**, 2 arose in the clinical area (failure to take cord blood samples, lack of awareness of anti-D requirements in a general surgical ward where the patient was nursed), 1 in the laboratory (transcription error of a cord blood group result), and 2 involved the clinical/laboratory interface (telephoned report of result from laboratory to ward, early discharge of mothers after delivery before blood group results were available). All the 5 patients are being presently followed up to exclude sensitisation (51).

The **main general recommendations** arising from the analysis of these 11 incidents are summarised (50, 51) as:

- need of **coordinated approach** to ensure that **decisions** to issue and administer anti-D Ig are based not on assumptions, but on **documented** laboratory results;
- need of **education** of **all staff involved** in prescription/administration of anti-D prophylaxis;
- need of a **linked (laboratory-ward, and mother-child) information system**, to avoid errors or delays due to telephone communication or manual transcription of results;
- formal identification **procedure at bedside** (both at prescribing and administering anti-D Ig) to check **identity** and **D status** of **mother** and **child**.

Haemovigilance in neonatal transfusion

Incidents reported in **established haemovigilance schemes** are not often related to different ages: data relating to **paediatric** age have only recently started to be separately considered (49, 50, 51, 76, 78) , making a thorough evaluation of **specific** neonatal problems still uneasy.

Data have been reported by Reville (64), extracted from **5 years' activity of SHOT** (from 1996 to 2001) and referring to 88 cases ranging from 0-1 day to 10-18 years of age. Besides 10 cases of acute transfusion reactions (ATR), 7 of TRALI and 2 of TA-GvHD, the great majority (64) were due to **incorrect (or inappropriate) blood components transfused (IBCT)**, among which 44 cases involved children under the age of 6.

The **IBCT causative error** in the above series of paediatric/neonatal patients seemed to differ from the overall SHOT frequency (laboratory 41% versus 28%; collection and administration 25% versus 55%), but the large discrepancy of the number of cases in the 2 series (69 versus 699) may make the difference not statistically significant, and rather stimulate the acquisition of new, larger data (64).

In the **last SHOT report** on transfusion events in patients **less than 18 year** of age (78), the **49%** of cases occurred in infants **less than 1 year** of age, of whom **69%** were in their **1st month** of life. All reported events in this last group (less than 1 month) were IBCT (incorrect blood component transfused).

The above data reflect the relative **high incidence of transfusion in the neonate** because of the complication of prematurity and congenital malformation, and the requirement for special consideration of **blood component selection** in the neonate (78). Given the lack of clear evidence-based criteria for the administration of red cells to neonates (14) it is recommended that local transfusion **protocols** be established for neonates in all hospitals (66).

Two of these IBCT concerned newborns in the **first day** of life. The **first** of them was caused by a **laboratory error**: group A red cells transfused to group A infant (with undiagnosed mild ABO HDN) of group O mother, ensuing severe haemolysis requiring group O exchange-transfusion. The **second** concerned a newborn (who previously had an IUT) exchange-transfused with blood (cross-matched for an IUT) taken (by **error in the ward**) from a satellite refrigerator.

The above cases illustrate the particular attention to be exerted in the **difficult diagnosis of mild ABO HDN**, and the need for clinical staff to be aware of the **specific requirements** for blood for **exchange-transfusion** and **IUT**, both uncommon procedures.

Another case of **error in the ward** is reported (78), where a group A baby requiring transfusion was transfused with (group O-negative compatible) blood crossmatched with another group B baby's mother's sample mistakenly sent from the ward. Although no harm came to this baby, **misidentification** at the time of sampling and administration (verbal identification being impossible) can lead to fatal ABO-incompatible transfusions (14, 78). Wearing and checking of **wrist or ankle name bands** are essential in neonates, being the last opportunity to identify an error arising earlier in the transfusion chain (14, 29).

In the **Irish** Haemovigilance Reports, 5 neonatal out of 12 paediatric cases were reported in 2002 (49), and 4 neonatal out of 26 paediatric cases in 2003 (50, 51).

Small volume neonatal transfusion

Dedicating aliquots from a single donation of red cell to allow sequential transfusions from the **same** donor for an individual neonate who is likely to be **repeatedly** transfused, significantly **reduces exposure** (20, 65, 82, 96) to immunological and infectious risk, and has been **recommended** for small volume transfusions in neonates by the British guidelines (12, 13, 14, 92).

The malpractice of shared neonatal micro-transfusions

Among the medical procedures used in Italy and elsewhere in the 1960ies, a quite **common practice** was to give a few mL of blood or plasma from the same donor to **many** underweight or **pre-term** neonates (81), regarded as “immature” (17) if the birth weight was less than 2.500 g, considering blood transfusion as necessary to correct the inherent anaemia (94).

One could therefore postulate (51, 55, 90) that this practice might have been the **cause of HCV infections** seen today in the fraction (30-50%) of anti-HCV-positive adult individuals with a negative history for any known risk factors (1, 97).

Data from a survey in 2000 by De Paschale and Coll. (24) on the transfusion files of 613 children microtransfused (in the years from 1968 to 1974) with blood or plasma within the first year (of which 494 within the first month) of life have shown evidence that some HCV infections in adults with a negative history of risk factors might be **traced back** to microtransfusions received as neonates or within the first year of life (24).

The results of a previous study (in 1994), on 46 Spanish and Italian children with post-transfusion hepatitis C (8), indicated **that transfusions in the perinatal period** are the **single most important cause of hepatitis C** in otherwise healthy children.

Moreover, given the apparent failure of humoral immune response in cases of neonatally acquired chronic HCV infections (48), an adequate look-back investigation should always include **HCV-RNA testing** also in presently anti-HCV-negative neonatally transfused individuals.

Being all the above findings referred to blood or plasma microtransfusions in a period where no HCV screening was available in Blood Transfusion Services, it is to be expected that the number of post-transfusion cases will have decreased in the subsequent years (8). However, the **malpractice of indiscriminate neonatal microtransfusions**, particularly of **plasma**, hasn't unfortunately completely died out in all European countries and is **not always**, moreover, adequately **recorded on clinical files** (70, 73).

Conclusions

Although the children transfused in the neonatal period of life are long-living survivors of blood transfusion (51, 55), they are the most vulnerable of transfusion recipients, and the **perinatally acquired HCV infection** persists a long time in adult life (57): the practice of sharing donations should therefore be definitely discouraged (54, 55, 70, 73, 90).

While attention has been adequately focused on **red cell** transfusions in neonatal care (25), most neonatal microtransfusions of **plasma** may still pres-

ently (as certainly in the past) remain **unknown** to the recipients, **not** being adequately **documented** in clinical files.

Although most of the transfusion procedures in obstetrics and neonatology are included in the common frame of **general haemovigilance**, we may draw a few **specific** conclusions:

- 1) “The importance of **good and accurate communication** at every level in transfusion practice, by **all** involved in the transfusion process, must be emphasised to prevent unnecessary error” (29, 78).
- 2) In Obstetrics and Neonatology, as well as in all other clinical specialities, the **same general rules** of good transfusion practice (65, 97, 98) and of haemovigilance apply.
- 3) For a haemovigilance system to be effective also in obstetrical and neonatal practice, some **basic clinical** (including correct and evidence-based indications for plasma transfusion! (13, 43, 65)) **and organisational requirements** must be previously fulfilled.
- 4) A new approach must be started on the need of a separate (mother **and** child) specific **documentation** of **mother-child-linked transfusion events**.
- 5) The **practice of shared neonatal microtransfusions** represents a ground for some specific measures of good transfusion practice and **neonatal haemovigilance**.

REFERENCES

1. Alter M.J., Hadler S.C., Judson F.N. et al.: Risk factors for acute non-A, non-B hepatitis in the United States and association with hepatitis C virus infection. *JAMA*, 264, 2231–35, 1990.
2. Bakalova S.: Report on clinical transfusion practice and haemovigilance in Bulgaria. In: Strengers P.F.W., Love E.M., Politis C., Lissitchkov T. (editors): Basic clinical and organisational requirements for an effective haemovigilance. Proceedings ESTM residential course, Sofia (Bulgaria), 28–30/11/2002; pp. 141–6. ESTM, Milano, 2002.
3. Barbara J.A.J., Blagoevska M., Haračić M., Rossi U. (editors): The future of blood safety, a challenge for the whole Europe. How can international regulations be implemented all over. Proceedings ESTM residential course, Sarajevo (Bosnia-Herzegovina), 25–28/10/2001. ESTM, Milano, 2001.
4. Begović M.: Organisational aspects and clinical indications of transfusion in emergency situations. In: Barbara J.A.J., Blagoevska M., Haračić M., Rossi U. (editors): The future of blood safety, a challenge for the whole Europe: how can international regulations be implemented all over. Proceedings of the ESTM course, Sarajevo, Bosnia-Herzegovina, 25–28/10/2001; pp. 107–15. ESTM, Milano, 2001.
5. Belegu M.: Report on clinical transfusion practice and haemovigilance in Kosovo. In: Strengers P.F.W., Love E.M., Politis C., Lissitchkov T. (editors): Basic clinical and organisational requirements for an effective haemovigilance. Proceedings ESTM residential course, Sofia (Bulgaria), 28–30/11/2002; pp. 157–8. ESTM, Milano, 2002.
6. Blagoevska M.: Report on clinical transfusion practice and haemovigilance in Macedonia. In: Strengers P.F.W., Love E.M., Politis C., Lissitchkov T. (editors): Basic clinical and organisational requirements for an effective haemovigilance. Proceedings ESTM residential course, Sofia (Bulgaria), 28–30/11/2002; pp. 159–60. ESTM, Milano, 2002.
7. Bogdanović G., Kretschmer V., Walterová L.: Reality and prospects for the rational clinical use of blood in South-Eastern Europe. In: Rossi U., April G. (editors): Present and future problems of Transfusion Medicine in South-Eastern Europe. Proceedings of the SIMTI-ESTM Meeting, Lecce (Italy), 5–6/6/2002; pp. 147–63. Edizioni SIMTI, Milano, 2002.
8. Bortolotti F., Jara P., Diaz C., Vajro P., Hierro L., Giacchino R., de la Vega A., Crivellaro C., Camarena C., Barbera C., Nebbia G., Zancan L., de Moliner L.: Posttransfusion and community-acquired hepatitis C in childhood. *Journal of Paediatric Gastroenterology and Nutrition*, 18, 279–83, 1994.
9. Bouret J.M., Yannoulopoulos B., Sandoval C., Deleplanque P., Magnin G., De Tourris H.N.: Indications and results of autotransfusion. Normovolemic hemodilution in gynecology-obstetrics (in French). *Rev. Fr. Gynecol. Obstet.*, 85, (7–9), 455–9, 1990.
10. Brand B.C.: Local, regional and national requirements for an effective haemovigilance organization in Europe. In: Luzzatto L., Brand A., Rossi U. (editors): Laboratory Haematology and Transfusion Medicine in the year 2000: reality and prospects; pp. 383–90. Proceedings ESTM residential course, Castellanza (Italy), 22–25/6/2000. ESTM, Milano, 2000.
11. British Committee for Standards in Haematology (BCSH): Guidelines on hospital blood bank documentation and procedures. *J. Clin. Lab. Haemat.*, 12, 209–20, 1990.
12. British Committee for Standards in Haematology (BCSH), Blood Transfusion Task Force: The administration of blood and blood components and the management of the transfused patient. *Transf. Med.*, 9, 227–38, 1999.
13. British Committee for Standards in Haematology (BCSH), Blood Transfusion Task Force: Guidelines for the use of fresh-frozen plasma, cryoprecipitate and cryosupernatant. *Brit. J. Haemat.*, 126, (1), 11–28, 2004.
14. British Committee for Standards in Haematology (BCSH), Blood Transfusion Task Force: Transfusion guidelines for neonates and older children. *Brit. J. Haemat.*, 124, (4), 433–53, 2004.
15. Brubnjak-Jevtič V., Rossi U. (editors): "Blood therapy in surgery. Autotransfusion". Proceedings ESTM residential course (2nd postgraduate course on "Blood safety in surgery"), Portorož (Slovenia), 9–11/12/1999. ESTM, Ljubljana, 1999.
16. Brubnjak-Jevtič V., Rossi U. (editors): Safety assurance in blood therapy. Proceedings ESTM residential course (3rd Postgraduate course on "Blood safety and surgery"), Portorož (Slovenia), 14–16/12/2000. Blood Transfusion Centre of Slovenia, Ljubljana, 2000.
17. Careddu P.: Immaturità. In: Schwarz-Tiene E. (editor): *Manuale di Pediatria*; pp. 127–39. Casa Editrice Ambrosiana, Milano, 1968.
18. Carpio Martínez N.: Hemovigilancia en un Servicio de Transfusión hospitalario. In: Martín-Vega C., De Sousa G., Muniz-Díaz (editors): Hemovigilancia/Hemovigilância. Proceedings ESTM residential course, Barcelona (Spain), 19–21/3/2004; pp. 41–50. ESTM, Milano, 2004.
19. Castelli D.: Traceability. The need for proper documentation on the destination and use of blood components. In: Strengers P.F.W., Faber J.-C., Rossi U. (editors): Haemovigilance. Proceedings SIMTI/ESTM course, Piacenza (Italy), 20–21/6/2003; pp. 173–7. SIMTI/ESTM, Milano, 2003.
20. Cook S., Gunter J., Wissel M.: Effective use of a strategy using assigned red cells units to limit donor exposure for neonatal patients. *Transfusion*, 33, 379–83, 1993.

21. Council of Europe: Recommendation No R(95) 14 on the protection of the health of donors and recipients in the area of blood transfusion, adopted by Committee of Minister on 12 October 1995. Council of Europe, Strasbourg, 1995.
22. Council of Europe: Recommendation No R(96) 11 on documentation and record-keeping to guarantee the traceability of blood and blood products especially in hospital. Available from: [Http://www.coe.int/T/E/Social_Cohesion/Health/Recommendations/Rec\(1996\)11.asp](http://www.coe.int/T/E/Social_Cohesion/Health/Recommendations/Rec(1996)11.asp)
23. Council of Europe: Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components; 10th edition. Chapter 3 I: Haemovigilance, pp. 223–30. ISBN 92-871-5393-0. Council of Europe Publishing, Strasbourg, 2004.
24. De Paschale M., Casiraghi M.A., Biagiotti S., Rossi U., Zanetti A.R.: Association between neonatal blood microtransfusions in the 1960s and hepatitis C virus infection. *Research Letters. Lancet*, 356, 1572–3, November 4, 2000.
25. Engelfriet C.P., Reesink H.W.: Red cell transfusions in neonatal care. *Vox Sanguinis*, 80, (2), 122–3, 2001.
26. European Union: Directive 2002/98/EC of the European Parliament and of the Council of 27 January 2003 setting standards of quality and safety for the collection, testing, processing, storage and distribution of human blood and blood components and amending Directive 2001/83/EC. *Official Journal of European Union*, Brussels, 8/2/2003, L 33/3–L 33/40.
27. Faber J.-C.: Haemovigilance in Europe. In: Strengers P.F.W., Faber J.-C., Rossi U. (editors): Haemovigilance. Proceedings SIMTI/ESTM course, Piacenza (Italy), 20–21/6/2003; pp. 29–37. SIMTI/ESTM, Milano, 2003.
28. Faber J.-C.: Personal communication. (29/10/2004).
29. Gibson B., Stainsby D., Todd A.A.M., Jones H., Wells A.W.W., Cohen H., on behalf of the Serious Hazards of Transfusion (SHOT) Steering Group: Serious hazards of transfusion in children-analysis of 7 years' data from SHOT. NHS, NBS, 2004.
30. Grgičević D.: The role of informatisation in favouring the documentation of the outcome of all delivered units. In: Strengers P.F.W., Love E.M., Politis C., Lissitchkov T. (editors): Basic clinical and organisational requirements for an effective haemovigilance. Proceedings ESTM residential course, Sofia (Bulgaria), 28–30/11/2002; pp. 129–31. ESTM, Milano, 2002.
31. Grgičević D.: Report on clinical transfusion practice and haemovigilance in Croatia. In: Strengers P.F.W., Love E.M., Politis C., Lissitchkov T. (editors): Basic clinical and organisational requirements for an effective haemovigilance. Proceedings ESTM residential course, Sofia (Bulgaria), 28–30/11/2002; pp. 147–9. ESTM, Milano, 2002.
32. Grgičević D., Golubić-Cepulić B.: Building up haemovigilance in South-Eastern Europe. In: Lukič L., Brubnjak-Jevtič V., Primožič J., Benedik-Dolničar M., Rossi U. (editors): Blood therapy in Neonatology and Paediatrics. Haemovigilance. Proceedings Slovenian/ESTM residential course (5th Postgraduate course on "Blood safety and surgery"), Portorož (Slovenia), 12–14/12/2002; pp. 151–5. Blood Transfusion Centre of Slovenia, Ljubljana, 2002.
33. Grgičević D., Rašović G., Brubnjak-Jevtič V., Begović M., Rossi U.: Ideas and proposals to meet basic clinical and organisational requirements for implementing an effective haemovigilance in South-Eastern Europe. In: Rossi U., Aprili G. (editors): Present and future problems of Transfusion Medicine in South-Eastern Europe. Proceedings of the SIMTI-ESTM Meeting, Lecce (Italy), 5–6/6/2002; pp. 249–63. Edizioni SIMTI, Milano, 2002.
34. Hafner V.: Haemovigilance in the frame of WHO policy on blood safety in Europe. In: Strengers P.F.W., Faber J.-C., Rossi U. (editors): Haemovigilance. Proceedings SIMTI/ESTM course, Piacenza (Italy), 20–21/6/2003; pp. 3–6. SIMTI/ESTM, Milano, 2003.
35. Howard M.R., Chapman C.E., Dunstan J.A., Mitchell C., Lloyd H.L.: Regional Transfusion Centre pre-operative autologous donation programme, the first 2 years. *Brit. Med. J.*, 305, 1470–3, 1992.
36. Jones H.: Personal communication (25/10/2004).
37. Kirova M.: "Transversal" analysis of the basic organisational and clinical regulations for haemovigilance in South-Eastern Europe. In: Strengers P.F.W., Love E.M., Politis C., Lissitchkov T. (editors): Basic clinical and organisational requirements for an effective haemovigilance. Proceedings ESTM residential course, Sofia (Bulgaria), 28–30/11/2002; pp. 181–90. ESTM, Milano, 2002.
38. Kretschmer V., Fehérvizyová E., Walterová L. (editors): Use and abuse of blood and blood products. Proceedings ESTM residential course, Bratislava (Slovakia), 6–9/7/2000. ESTM, Milano, 2000.
39. Kretschmer V., Karger R., Weippert-Kretschmer M.: Emergency and massive transfusion. In: Kretschmer V., Fehérvizyová E., Walterová L. (editors): Use and abuse of blood and blood products. Proceedings ESTM residential course, Bratislava (Slovakia), 6–9/7/2000; pp. 129–39. ESTM, Milano, 2000.
40. Kruskall M.S., Leonard S., Klapholz H.: Autologous blood donation during pregnancy: analysis of safety and blood use. *Obstet. Gynecol.*, 70, (6), 938–41, 1987.
41. Kuromaki K., Takeda S., Seki H., Kinoshita K., Hitomi Y., Maeda H.: Clinical study of autologous blood transfusion in pregnant women (in Japanese). *Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi*. 46, (11), 1213–20, 1994.
42. Lawlor E.: Personal communication (1/11/2004).

43. Lukič L., Brubnjak-Jevtič V., Kremžar B., Rossi U.: Transfusion Medicine and intensive care in surgery. Proceedings ESTM residential course (4th Postgraduate course on "Blood safety and surgery"), Portorož (Slovenia), 13–15/12/2001. Blood Transfusion Centre of Slovenia, Ljubljana, 2001.
44. Lukič L., Brubnjak-Jevtič V., Primožič J., Benedik-Dolničar M., Rossi U.: Blood therapy in Neonatology and Paediatrics. Haemovigilance. Proceedings Slovenian/ESTM residential course (5th Postgraduate course on "Blood safety and surgery"), Portorož (Slovenia), 12–14/12/2002. Blood Transfusion Centre of Slovenia, Ljubljana, 2002.
45. Majluf-Cruz A.S., Marin-Lopez A., Luis A.: Autotransfusion and pregnancy (in Spanish). *Sangre*, 38, (3), 207–10, 1993.
46. Martín-Vega C., De Sousa G., Muniz-Diaz (editors): Hemovigilancia/Hemovigilância. Proceedings ESTM residential course, Barcelona (Spain), 19–21/3/2004, ESTM, Milano, 2004.
47. Masharova N.: Haemovigilance in emergency transfusion. In: Strengers P.F.W., Love E.M., Politis C., Lissitchkov T. (editors): Basic clinical and organisational requirements for an effective haemovigilance. Proceedings ESTM residential course, Sofia (Bulgaria), 28–30/11/2002; pp. 245–9. ESTM, Milano, 2002.
48. Mondelli M.U.: Neonatal blood microtransfusions and hepatitis C virus infection. Correspondence. *Lancet*, 357, 1363, April 28, 2001.
49. National Haemovigilance Office (NHO): Annual Report 2002; pp. 18–9; pp. 68–9; pp. 161–5. Irish Blood Transfusion Service, Dublin, 2003.
50. National Haemovigilance Office (NHO): Executive Summary of Annual Report 2003; pp. 3, 6; p. 9. National Blood Centre, Dublin, 2004.
51. National Haemovigilance Office (NHO): Annual Report 2003; pp. 72–9; pp. 126–38. Irish Blood Transfusion Service, Dublin, 2004.
52. Nedeljković N.: Report on clinical transfusion practice and haemovigilance in Serbia. In: Strengers P.F.W., Love E.M., Politis C., Lissitchkov T. (editors): Basic clinical and organisational requirements for an effective haemovigilance. Proceedings ESTM residential course, Sofia (Bulgaria), 28–30/11/2002; pp. 171–4. ESTM, Milano, 2002.
53. Nurka T.: Report on clinical transfusion practice and haemovigilance in Albania. In: Strengers P.F.W., Love E.M., Politis C., Lissitchkov T. (editors): Basic clinical and organisational requirements for an effective haemovigilance. Proceedings ESTM residential course, Sofia (Bulgaria), 28–30/11/2002; pp. 139–40. ESTM, Milano, 2002.
54. O'Duffy J.F., Isles A.F.: Transfusion-induced AIDS in four premature babies. *Lancet*, 2, 1346, 1984.
55. O'Riordan J.M., Conroy A., Nourse C., Yap P.L., McDonald G.S.A., Kaminski G., Leong K., Lawlor E., Davoren A., Strong K., Davidson F., Lloyd A., Power J: Risk of hepatitis C infections in neonates transfused with blood from donors infected with hepatitis C. *Transfusion Medicine*, 8, 303–8, 1998.
56. Palin S., Diani F., Del Frate G.: Experience with autologous transfusion in obstetrics (in Italian). *Minerva Ginecol.*, 47, (5), 231–7, 1995.
57. Palomba E., Manzini P., Fiammengo P., Maderni P., Saracco G., Tovo P.A.: Natural history of perinatal hepatitis C virus infection. *Clinical Infectious Diseases*, 23, 47–50, 1996.
58. Politis C.: Report on clinical transfusion practice and haemovigilance in Greece. In: Strengers P.F.W., Love E.M., Politis C., Lissitchkov T. (editors): Basic clinical and organisational requirements for an effective haemovigilance. Proceedings ESTM residential course, Sofia (Bulgaria), 28–30/11/2002; pp. 151–6. ESTM, Milano, 2002.
59. Politis D.: Personal communication (25/10/2004).
60. Potočnik M.: Report on clinical transfusion practice and haemovigilance in Slovenia. In: Strengers P.F.W., Love E.M., Politis C., Lissitchkov T. (editors): Basic clinical and organisational requirements for an effective haemovigilance. Proceedings ESTM residential course, Sofia (Bulgaria), 28–30/11/2002; pp. 175–6. ESTM, Milano, 2002.
61. Pregazzi R., Levi D'Ancona R., Ricci G., Lui A., Maso G., Parco S., Piunti R.: The donation of autologous blood in pregnancy. Observations on its safety and the cost-benefit relationship (in Italian). *Minerva Ginecol.*, 46, (3), 95–8, 1994.
62. Rašović G.: Report on clinical transfusion practice and haemovigilance in Montenegro. In: Strengers P.F.W., Love E.M., Politis C., Lissitchkov T. (editors): Basic clinical and organisational requirements for an effective haemovigilance. Proceedings ESTM residential course, Sofia (Bulgaria), 28–30/11/2002; pp. 161–4. ESTM, Milano, 2002.
63. Rech F., Patella A., Cecchi A., Ippolito M., Indraccolo S.R.: Autologous transfusion in obstetrics and fetal safety (in Italian). *Minerva Ginecol.*, 46, (6), 347–50, 1994.
64. Revill J.: Lessons learnt from haemovigilance in Great Britain and Europe. In: Lukič L., Brubnjak-Jevtič V., Primožič J., Benedik-Dolničar M., Rossi U. (editors): Blood therapy in Neonatology and Paediatrics. Haemovigilance. Proceedings Slovenian/ESTM residential course (5th Postgraduate course on "Blood safety and surgery"), Portorož (Slovenia), 12–14/12/2002; pp. 110–9. Blood Transfusion Centre of Slovenia, Ljubljana, 2002.
65. Roseff S.D., Luban N.L.C., Manno C.S.: Guidelines for assessing appropriateness of pediatric transfusion. *Transfusion*, 42, 1398–413, 2002.

66. Ross M.P., Christensen R.D., Rothstein G., Koenig J.M., Simmons M.A., Noble N.A., Kimura R.E.: A randomized trial to develop criteria for administering erythrocyte transfusions to anemic preterm infants 1 to 3 months of age. *J. Perinatol.*, 9, 246–53, 1989.
67. Rossi U.: Problems and perspectives of haemovigilance in Europe. ISBT 5th European Regional Congress, Frankfurt, 1–4/10/1997. Book of Abstracts.
68. Rossi U.: Basic clinical and organizational requirements for an effective haemovigilance. In: Lukič L., Brubnjak-Jevtič V., Primožič J., Benedik-Dolničar M., Rossi U.: Blood therapy in Neonatology and Paediatrics. Haemovigilance. Proceedings Slovenian/ESTM residential course (5th Postgraduate course on "Blood safety and surgery"), Portorož (Slovenia), 12–14/12/2002; pp. 120–37. Blood Transfusion Centre of Slovenia, Ljubljana, 2002.
69. Rossi U.: Haemovigilance as a tool for progress in Transfusion Medicine. In: Walterová L., Kretschmer V., Bogdanović G., Rossi U. (editors): The contribution of clinical medicine to blood safety. Proceedings ESTM residential course, Belgrade (Serbia/Serbia and Montenegro), 9–11/10/2003; pp. 239–50. ESTM, Milano, 2003.
70. Rossi U.: Problems of haemovigilance in neonatology and paediatrics. In: Brand A., van Leeuwen E.F., Rossi U. (editors): Paediatric Transfusion Medicine. Proceedings SIMTI/ESTM course, Napoli (Italy), 28–29/11/2003; pp. 79–93. ESTM, Milano, 2003.
71. Rossi U.: Transfusing medical science into medical practice: the present challenge of Transfusion Medicine. *Bilt. Transfuz.*, 2004, in process of publishing.
72. Rossi U., Aprilì G. (editors): Present and future problems of Transfusion Medicine in South-Eastern Europe. Proceedings of the SIMTI-ESTM Meeting, Lecce (Italy), 5–6/6/2002; pp. 329–34. Edizioni SIMTI, Milano, 2002.
73. Rossi U., de Paschale M.: The risk of HIV infection through neonatal blood and plasma microtransfusions: a demonstrated need for strict haemovigilance. In: Lukič L., Brubnjak-Jevtič V., Primožič J., Benedik-Dolničar M., Rossi U. (editors): Blood therapy in Neonatology and Paediatrics. Haemovigilance. Proceedings Slovenian/ESTM residential course (5th Postgraduate course on "Blood safety and surgery"), Portorož (Slovenia), 12–14/12/2002; pp. 156–7. Blood Transfusion Centre of Slovenia, Ljubljana, 2002.
74. Rossi U., Haračić M., Blagoevska M., Barbara J.A.J.: Transfusion Medicine in the Balkans: an essential part of European Transfusion Medicine. In: Barbara J.A.J., Blagoevska M., Haračić M., Rossi U. (editors): The future of blood safety, a challenge for the whole Europe: how can international regulations be implemented all over. Proceedings of the ESTM course, Sarajevo, Bosnia-Herzegovina, 25–28/10/2001; pp. 1–13. ESTM, Milano, 2001.
75. Scuffil C.: Personal communication (4/11/2004).
76. SHOT: Serious hazards of transfusion events reported in patients less than 18 years of age. In: SHOT Annual Report 2001/2002, chapter 18, pp. 139–45. Website www.shotuk.org
77. SHOT: Adverse events relating to autologous transfusion. In: SHOT Annual Report 2003, chapter 13, p. 85. Website www.shotuk.org
78. SHOT: Serious hazards of transfusion events reported in patients less than 18 years of age. In: SHOT Annual Report 2003, chapter 12, pp. 78–84. Website www.shotuk.org
79. Sönmezoglu M.: Report on clinical transfusion practice and haemovigilance in Turkey. In: Stengers P.F.W., Love E.M., Politis C., Lissitchkov T. (editors): Basic clinical and organisational requirements for an effective haemovigilance. Proceedings ESTM residential course, Sofia (Bulgaria), 28–30/11/2002; pp. 177–80. ESTM, Milano, 2002.
80. Starbova M.: Haemovigilance in autologous blood donation and transfusion. In: Stengers P.F.W., Love E.M., Politis C., Lissitchkov T. (editors): Basic clinical and organisational requirements for an effective haemovigilance. Proceedings ESTM residential course, Sofia (Bulgaria), 28–30/11/2002; pp. 263–9. ESTM, Milano, 2002.
81. Strauss R.G.: Current issues in neonatal transfusions. *Vox Sang*, 51, 1–9, 1986.
82. Strauss R.G., Burnmeister L.F., Johnson K., James T., Miller J., Corlde D.G., Bell E.F., Ludwig G.A.: AS-1 red cells for neonatal transfusions: a randomised trial assessing donor exposure and safety. *Transfusion*, 36, 873–8, 1996.
83. Stengers P.F.W.: Haemovigilance - why? In: Lukič L., Brubnjak-Jevtič V., Primožič J., Benedik-Dolničar M., Rossi U. (editors): Blood therapy in Neonatology and Paediatrics. Haemovigilance. Proceedings Slovenian/ESTM residential course (5th Postgraduate course on "Blood safety and surgery"), Portorož (Slovenia), 12–14/12/2002; pp. 102–9. Blood Transfusion Centre of Slovenia, Ljubljana, 2002.
84. Stengers P.F.W.: Haemovigilance in the light of the new European Union's Directive. In: Stengers P.F.W., Faber J.-C., Rossi U. (editors): Haemovigilance. Proceedings SIMTI/ESTM course, Piacenza (Italy), 20–21/6/2003; pp. 7–9. SIMTI/ESTM, Milano, 2003.
85. Stengers P.F.W., Faber J.-C., Rossi U.: Haemovigilance. Proceedings SIMTI/ESTM course, Piacenza (Italy), 20–21/6/2003. SIMTI/ESTM, Milano, 2003.
86. Stengers P.F.W., Heier H.E.: Haemovigilance procedures in Transfusion Medicine. In: U. Rossi, A.L. Mas-saro, G. Sciorelli (editors): Proceedings of the ISBT 5th Regional (4th European) Congress, Venezia (Italy), 2–5/7/1995; p. 953. Edizioni SIMTI, Milano 1997.

87. Strengers P.F.W., Love E.M., Politis C., Lissitchkov T. (editors): Basic clinical and organisational requirements for an effective haemovigilance. Proceedings ESTM residential course, Sofia (Bulgaria), 28–30/11/2002. ESTM, Milano, 2002.
88. Tatarenko A.: Personal communication (5/11/2004).
89. Tuck S.M., James C.E., Brewster E.M., Pearson T.C., Studd J.W.: Prophylactic blood transfusion in maternal sickle cell syndromes. *Br. J. Obstet. Gynaecol.*, 94, 121–5, 1987.
90. Van der Berg H., Gerritsen E.J., van Tol M.J. et al.: Ten years after acquiring an HIV-1 infection: a study in a cohort of eleven neonates infected by aliquots from a single plasma donation. *Acta Paediatrica*, 83, 173–8, 1994.
91. Vladareanu F., Dobrota A.M.: Report on clinical transfusion practice and haemovigilance in Romania. In: Strengers P.F.W., Love E.M., Politis C., Lissitchkov T. (editors): Basic clinical and organisational requirements for an effective haemovigilance. Proceedings ESTM residential course, Sofia (Bulgaria), 28–30/11/2002; pp. 165–9. ESTM, Milano, 2002.
92. Voak D., Cann R., Finney D., Fraser D., Mitchell R., Murphy M.F., Napier J.A.F., Phillips P., Rejman A.J., Waters A.H., Wood J.K. (BCSH): Guidelines for administration of blood products: transfusion of infants and neonates. *Transfusion Medicine*, 4, 63–9, 1994.
93. Voljč B., Rossi U.: Reality and prospects for the general organisation of Transfusion Medicine Services in South-Eastern Europe. In: Rossi U., Aprilì G. (editors): Present and future problems of Transfusion Medicine in South-Eastern Europe. Proceedings of the SIMTI-ESTM Meeting, Lecce (Italy), 5–6/6/2002; pp. 95–116. Edizioni SIMTI, Milano, 2002.
94. Vullo C.: Malattie del sangue e degli organi ematopoietici. In: Schwarz-Tiene E. (editor): *Manuale di Pediatria*; pp. 448–543. Casa Editrice Ambrosiana, Milano, 1968.
95. Weiller J., Delbosc A., Greffier A.: Hémo-vigilance dans l'établissement de soins: son rôle en transfusion pédiatrique. *Transfusion Clinique et Biologique*, 10, (5), 353–62, 2003.
96. Wood A., Wilson N., Skacel P., Thomas R., Tidmarsh E., Yale C., de Silva M.: Reducing donor exposure in preterm infants requiring multiple blood transfusions. *Archives of Diseases in Children*, 72, F29–F33, 1995.
97. World Health Organization: *The Clinical Use of Blood in Medicine, Obstetrics, Paediatrics, Surgery and Anaesthesia, Trauma and Burns*. WHO/BTS/99.2. WHO, Geneva, 2001.
98. World Health Organization, *Blood Transfusion Safety: The Clinical Use of Blood: Handbook*. WHO/BTS/99.3. ISBN 92-4-154538-0. WHO, Geneva, 2001.
99. Zanetti A.R., Tanzi E., Romanò L., Mele A.: Epidemiology and prevention of hepatitis type C in Italy. *Res. Virol.*, 146, 253–9, 1995.

DELOVANJE SISTEMA HEMOVIGILANCE V SLOVENIJI

Marjeta Potočnik

Ključne besede: varnost transfuzije; sistem hemovigilance; neželeni učinki transfuzije

Key words: transfusion safety; haemovigilance system; adverse transfusion events

Izvelek - Izhodišča. V Sloveniji smo v preteklih letih vzpostavili nekaj osnovnih pogojev za delovanje sistema hemovigilance: zakonske osnove, poti poročanja, enotne obrazce, bolnišnične transfuzijske odbore in izobraževanje zdravstvenega osebja. Tako danes že lahko poročamo o prvih rezultatih delovanja sistema hemovigilance.

Metode: Zbrali smo prijave neželenih učinkov transfuzije iz vseh slovenskih bolnišnic od leta 2002 do septembra 2004.

Rezultati: Med 279 prijavljenimi neželenimi učinki, ki so jih zdravstveni delavci zaznali v navedenem obdobju. Prevladujejo alergične in febrilne nehemolitične reakcije, zabeleženi pa so tudi primeri težkih reakcij po transfuziji (hemoliza, anafilaktične reakcije, pljučni edem, TRALI).

Zaključki: Povratne informacije o zbranih podatkih bodo predvidoma prispevale k še večji pozornosti za zaznavanje neželenih učinkov transfuzije vseh, ki pri transfuziji sodelujejo. Zbrani podatki pa bodo osnova za uvajanje novih ukrepov za večjo varnost transfuzije.

Abstract – Background. In Slovenia, some basic requirements for the implementation of the haemovigilance system were put in place during the last few years: legal framework, the way of reporting and standard reporting forms, hospital transfusion committees and education of the health personnel. We can report about the first results of the haemovigilance system.

Methods. Reports on transfusion adverse events from all hospitals in Slovenia from the year 2002 to September 2004 were collected.

Results. Of the 279 cases of transfusion adverse events reported non haemolytic fever and allergic reactions prevailed, but severe transfusion reactions were also reported (haemolysis, anaphylaxis, pulmonary oedema, TRALI).

Conclusions: Feed back reports about the collected data by the health personnel will hopefully contribute to better registration of transfusion adverse events. The collected data will be the basis of the implementation of new measures for the improvement of blood transfusion safety.

Uvod

Hemovigilanca je razmeroma nov pojem v transfuzijski medicini in obsega zaznavo, pridobivanje in analizo informacij o neželenih in nepričakovanih učinkih transfuzije krvi, lahko pa zajame celotno transfuzijsko dejavnost, od izbire krvodajalca do spremljanja bolnika ob transfuziji (1).

Varnost transfuzije krvi je odvisna tako od kakovosti krvnega pripravka kot od ustrezne postavitve indikacije za transfuzijo, izbire vrste, količine in postopka priprave komponente krvi in od izvedbe transfuzije. V verigi, ki poteka od vene

krvodajalca do vene prejemnika krvi, je pomemben vsak člen, od zbiranja, testiranja, predelave, shranjevanja in izdaje krvi v transfuzijskih ustanovah do naročanja, dajanja transfuzije in spremljanje bolnika med in po transfuziji v bolnišnici.

Javnost pričakuje od transfuzijske službe, da zmanjša že sedaj nizko tveganje za prenos bolezni s krvjo s še občutljivejšim testiranjem (2) in drugimi ukrepi. Ob odločanju zdravstvene službe, za katera področja nameniti omejena finančna sredstva, je uvajanje ukrepov za večjo varnost transfuzije potrebno dobro utemeljiti. Podatki, ki jih zberemo s pomočjo sistema hemovigilance, so pri tem zelo pomembni (3).

V preteklosti je transfuzijska služba v Sloveniji prejela razmeroma majhno število informacij o tem, ali so pri prejemniku zaznali neželene škodljive učinke transfuzije (4). Nekatere države, zlasti v zahodni Evropi, take podatke že več let zbirajo in na njihovi osnovi uvajajo ukrepe za povečanje varnosti transfuzije (5). Vzpostavili so tudi Evropsko mrežo hemovigilance.

Ob spremljanje neželenih škodljivih učinkov transfuzije so ugotovili, da je nevarnost, da bolnik prejme ABO neskladno kri ali z bakterijami okuženo enoto krvi, ali da ob transfuziji pride do akutnega nekardiogenega pljučnega edema (angl. TRALI) večja od nevarnosti prenosa virusne bolezni s krvjo (2).

Sistem hemovigilance v Sloveniji

V preteklosti so kliniki v Sloveniji poročali transfuzijski službi le o tistih neželenih škodljivih učinkih transfuzije, pri katerih so sodili, da so potrebne laboratorijske preiskave, nasveti s strani transfuziologa ali kakšni drugi ukrepi. Sistematičnega zbiranja in analize podatkov o transfuzijskih reakcijah ter ukrepanja na tej osnovi ni bilo.

Sistem hemovigilance povezuje bolnišnice, transfuzijsko službo in pristojne državne organe. Pogoji za dobro delovanje tega sistema so ustrezna zakonska ureditev, jasne definicije, standardizirano poročanje, zagotovljeno financiranje, vzpostavitev zbiranja in vrednotenja podatkov na nacionalnem nivoju, sistem hitrega obveščanja, dobro delovanje bolnišničnih transfuzijskih odborov in vpeljan mehanizem korektivnih ukrepov .

V preteklih letih smo v Sloveniji vzpostavili nekatere pogoje za delovanje sistema hemovigilance: zakonske osnove, bolnišnične transfuzijske odbore, obrazce za standardizirano poročanje in poti obveščanja. Zdravstvene delavce smo o vsem tem seznanili na različne načine.

Zakonske osnove

Slovenski Zakon o preskrbi s krvjo iz leta 2000 obravnava tudi neželene škodljive učinke transfuzije. Če pri uporabi krvi, krvnih pripravkov in zdravil iz krvi za humano uporabo ali pridobljenih z uporabo biotehnologije pride do neželenih škodljivih učinkov, mora zdravnik nemudoma obvestiti odgovorno osebo, ki jo je v organizaciji potrebno obvestiti v skladu z izvajanjem dobre klinične prakse. Odgovorna oseba o tem nemudoma obvesti pooblaščenega transfuzijsko organizacijo. V primeru suma na neželene škodljive učinke pri uporabi zdravil iz krvi odgovorna oseba obvesti še pravno osebo, ki je pooblaščen za spremljanje neželenih škodljivih učinkov zdravil in Urad Republike Slovenije za zdravila (6).

Obvestilo mora vsebovati oznako pripravka ali zdravila iz krvi, popolno ime proizvajalca in druge podatke o poteku zdravljenja in o neželenih škodljivih učinkih. Za osebo, pri kateri so se neželeni škodljivi učinki pojavili, je potrebno navesti datum rojstva in spol (7).

Evropska direktiva 2002/83/EC v poglavju o hemovigilanci določa, da morajo države članice zagotoviti, da se pristojnim organom pošiljajo poročila o morebitnih resnih neželenih sopojavih (nezgodah in napakah) v zvezi z zbiranjem oz. odvzemom, testiranjem, predelavo, shranjevanjem in distribucijo krvi in sestavin krvi, ki bi lahko vplivali na njihovo kakovost in varnost, pa tudi poročila o vseh resnih neželenih reakcijah, opaženih med transfuzijami krvi in sestavin krvi ali po njih, ki bi jo lahko pripisali nezadostni kakovosti ali varnosti krvi in sestavin krvi, in da imajo organizacije za transfuzijo krvi uveljavljen postopek za natančen, učinkovit in preverljiv umik krvi in sestavin krvi iz procesa distribucije na podlagi poročil iz zgornjega odstavka (8).

Evropska skupnost pripravlja tehnične zahteve za delovanje sistema hemovigilance. Sprejete naj bi bile v nekaj mesecih. Na podlagi njihovih določil bo mogoče pripraviti pravilnik o hemovigilanci.

Vrste stranskih učinkov, ki jih zbiramo v sistemu hemovigilance.

Spremljamo lahko vse stranske učinke, katerih nastanek je kakor koli povezan s transfuzijsko dejavnostjo. To so podatki, ki se nanašajo na prejemnika krvi in krvni pripravek: takojšnja reakcija med transfuzijo (hemoliza, nehemolitična vročična reakcija, izpuščaji, urtikarija, anafilaktični šok, bakterijska okužba, akutna okvara pljuč), zapoznjeni stranski učinki po transfuziji (hemoliza, akutna reakcija presadka proti gostitelju, potransfuzijska purpura, zvišanje ALT, hemokromatoza itn.), prenos virusov ali napačno dana komponenta.

Podatki, ki se nanašajo na dajalca in odvzem krvi, so stranski učinki med dajanjem krvi, podatki, vezani na izbor dajalcev (pogostost dajanja, vzroki odklona) in epidemiološki podatki pri dajalcih s pozitivnimi označevalci okužb pri presejalnem testiranju.

V sistemu hemovigilance moramo imeti tudi pravila za hitro sporočanje, če gre za dogodke, ki so vezani na več posameznikov in hujša tveganja, npr. prenos virusov ali bakterij ali nevarnost transfuzije ABO neskladnega krvnega pripravka (1).

Prijava neželenih škodljivih učinkov transfuzije

Obrazec prijave smo pripravili v sklopu novih naročilnic za kri in laboratorijske preiskave. Kadar tega obrazca na bolnišničnem oddelku nimajo, napišejo prijavo na dosedanjo naročilnico za kri in preiskave. V obrazcu je potrebno navesti oz. označiti podatke o bolniku, o krvni komponenti, znakih in simptomih neželenega učinka transfuzije, stopnji stranskih učinkov in povezanosti med transfuzijo in stranskimi učinki in o vrsti dogodka. Prijava velja tudi kot naročilnica za event. potrebne imunohematološke preiskave.

Zdravnik, ki bolnika zdravi in je reakcijo zaznal, izpolni obrazec in ga pošlje na Zavod za transfuzijsko medicino v primerih, ko je le-ta pristojen za obravnavo primera ali na transfuzijski oddelek bolnišnice. Na osnovi prijave po presoji specialista transfuzijske medicine naredijo imunohematološke preiskave ali / druge ukrepe in preiskave, ki poleg posveta in morda dodatnih informacij lečečega zdravnika omogočijo izpolnjevanje drugega obrazca - poročila o neželenem škodljivem učinku transfuzije.

Poročilo o neželenem škodljivem učinku transfuzije

Drugi obrazec, Poročilo o neželenem škodljivem učinku transfuzije, je pripravljen po vzorcu obrazca Evropske mreže hemovigilance (9). Objavljen je bil v okviru Pravilnika o vsebini vodene dokumentacije o uporabi krvi, krvnih pripravkov in zdravil iz krvi (7). Namenjen je enotnemu, standardiziranemu zbiranju podatkov. Izpolnjujejo ga zdravniki na transfuzijski ustanovi ali trans-

fuzijskem oddelku v bolnišnici na podlagi podatkov, navedenih v obrazcu Prijava neželenih škodljivih učinkov transfuzije. Na podlagi rezultatov preiskav in drugih podatkov opredelijo vrsto neželenega učinka.

Vsa poročila iz države pošiljajo Službi za svetovanje uporabnikom krvnih komponent na Zavodu RS za transfuzijsko medicino v Ljubljani.

Na podlagi zbranih poročil bo Center za hemovigilanco (v ustanavljanju) organiziral obravnavo in pripravo predlogov za ukrepe, ki naj izboljšajo varnost transfuzije.

Zgoraj navedene obrazce in poti poročanja smo predstavili zdravstvenemu osebju s predavanji na strokovnih sestankih zaposlenih v transfuzijski dejavnosti, na sestankih bolnišničnih transfuzijskih odborov in na nekaterih oddelkih v bolnišnicah. Z informacijsko brošuro (8) in članki v zdravstvenih publikacijah, objavljenih v Sloveniji, smo zdravstvenim delavcem omogočili pridobivanje znanja, potrebnega za delovanje sistema hemovigilance (9–38). Služba za zdravstveno nego KC v Ljubljani je hemovigilanco vključila v Teoretične vsebine in standarde postopkov zdravstvene nege v zvezi s transfuzijo.

Poglavja o hemovigilanci smo obravnavali v okviru različnih oblik in nivojev strokovnega izobraževanja (specializacije zdravnikov, podiplomski tečaj iz transfuzijske medicine za medicinske sestre in laboratorijske tehnike, dodiplomsko izobraževanje zdravstvenih delavcev) ter na strokovnih srečanjih zdravstvenih delavcev (sestanki in kongresi Združenja za transfuzijsko medicino SZD in Združenja hematologov Slovenije, podiplomski seminarji Zdravljenje s krvjo v kirurgiji, Sekcije medicinskih sester za anesteziologijo, intenzivno nego in transfuziologijo, Hematološkega društva laboratorijskih tehnikov).

Zbiranje podatkov o neželenih učinkih transfuzije

Naročila za transfuziološke preiskave ali vprašanja o potrebnih ukrepih pošiljajo zdravniki na Zavod RS za transfuzijsko medicino (ZTM) v Ljubljani in transfuzijske oddeleke bolnišnic. V zadnjih nekaj letih, ko se hemovigilanca vedno pogosteje obravnava, so na ZTM in transfuzijskih oddelkih poročila oz. prijave neželenih škodljivih učinkov transfuzije beležili. Za leto 2002 prvič zbrali podatke o prijavljenih neželenih škodljivih učinkih transfuzije v Sloveniji in sicer na ZTM in v osmih splošnih bolnišnicah v Sloveniji, kjer transfuzijske oddelke vodi zdravnik specialist transfuzijske medicine (SB Maribor, SB Celje, SB Murska Sobota, SB Ptuj, SB Slovenj Gradec, SB Jesenice, SB Šempeter pri Novi Gorici, SB Izola, SB Novo mesto). Iz bolnišnic, kjer transfuzijskega oddelka oz. specialista transfuzijske medicine ni, pošiljajo prijave na dogovorjeno transfuzijsko ustanovo ali oddelek, v okviru katerega so tudi prikazane.

ZTM opravlja za Klinični center v Ljubljani, Onkološki inštitut, Kirurški sanatorij Rožna dolina, dializne centre Črnuče, Naklo, Krško in za Inštitut za pljučne bolezni Golnik opravlja ZTM vse predtransfuzijske in druge transfuziološke preiskave, za SB Trbovlje in SB Brežice, za porodnišnici v Kranju in Postojni pa zahtevnejše transfuziološke preiskave in svetovanje v zvezi s transfuzijo krvi. Za Ortopedsko bolnišnico Valdoltra in bolnišnico v Sežani opravlja transfuziološke preiskave Transfuzijski oddelek SB Izola, za Bolnišnico Topolšica in Dializni center Zreče pa Transfuzijski oddelek SB Celje (30).

Število in vrste prijavljenih neželenih škodljivih učinkov transfuzije v Sloveniji v letih 2002 – 2004

V razpredelnici (Razpr. 1) prikazujemo neželene škodljive učinke transfuzije, ki so jih zdravniki in drugi zdravstveni delavci opazili in prijavili na ZTM in transfuzijske oddelke, tamkajšnji zdravniki pa so jih opredelili in pripravili poročilo. V navedenem obdobju je bilo prijavljenih 279 primerov.

V letu 2002 smo v vseh slovenskih bolnišnicah zbrali 86 neželenih škodljivih učinkov transfuzije. V letu 2003 smo zbrali 106 prijav (23 % več kot v predhodnem letu), v devetih mesecih leta 2004 pa 87.

Pregled vrste neželenih škodljivih učinkov transfuzije krvi v Sloveniji v navedenem obdobju nam pokaže, katere vrste in koliko primerov so zabeležili.

Največ primerov, 133, je bilo nehemolitičnih febrilnih transfuzijskih reakcij. Prijavljenih alergičnih reakcij je bilo 100, anafilaktične reakcije so bile zabeležene štiri. Hemolizo so zabeležili v 9 primerih, pljučni edem pa v 3 primerih. V 29 primerih prijavljeni neželeni učinek transfuzije ni bil opredeljen.

Razpr. 1. Število in vrste prijavljenih neželenih učinkov transfuzije od leta 2002 do septembra 2004.

Table 1: The number and categories of reported adverse events to transfusion from 2002 to September 2004.

	Hemoliza Haemolysis	PTP	Alergija Allergy	Anafil. Anaph.	TRALI	Infekc. Infect	NH febril. NH fever	GVHD	Plj.ed. Pul.oed	Drugo Others	Skupaj Total
2002	5		27				42		1	11	86
2003	2		41	1	1		53			8	106
2004 9 mes. 9 months	2		32	3			38		2	10	87
Skupaj Total	9		100	4	1		133		3	29	279

PTP – potransfuzijska trombocitopenična purpura
 Anafil. – anafilaksija
 TRALI – akutni nekardiogeni pljučni edem
 Infekc. – virusna ali bakterijska okužba komponente
 NH febril. – nehemolitična febrilna transfuzijska reakcija
 GVHD – bolezen presadka proti gostitelju (graft versus host disease)
 Plj.ed. – pljučni edem

PTP – posttransfusion thrombocytopenic purpura
 Anaph. – anaphylaxis
 TRALI – transfusion related acute lung injury
 Infect. – viral or bacterial contamination of component
 NH fever – non haemolytic fever
 GVHD – graft versus host disease
 Pul. oed. – pulmonary oedema

Razpravljanje

Po sprejemu Zakona o preskrbi s krvjo, ki določa obvezno prijavljanje vseh neželenih škodljivih učinkov transfuzije, se število prijavljenih primerov povečuje. Po pričakovanju so najpogostejše nehemolitične febrilne in alergične reakcije, ki v večini primerov ne ogrožajo bolnikovega življenja in minejo brez trajnih posledic za njegovo zdravje, vendar pa dodatno obremenjujejo že sicer hudo bolnega prejemnika transfuzije. V nekaj primerih je prišlo do težke, nevarne anafilaktične reakcije. Tudi primeri pljučnega edema in reakcije TRALI spadajo med težke oblike neželenega učinka transfuzije.

Prijavljeni primeri hemolize so bili v dveh primerih posledica mehanske okvare eritrocitov, v nekaj primerih posledica eritrocitnih protiteles proti antigenom zunaj sistema ABO, v enem primeru pa neskladnosti v sistemu ABO med prejemnikom in dajalcem zaradi napake ob dajanju transfuzije.

Ob tem ne moremo mimo vprašanja, koliko je bilo primerov, ko so zdravstveni delavci na neki točki priprave krvi za transfuzijo ugotovili napako, npr. napačno označen vzorec krvi (angl. near-miss event) in ustrezno ukrepali, da ni prišlo do transfuzije ABO neskladnega krvnega pripravka. Le-ta je po svetu najpogostejši vzrok smrti zaradi transfuzije krvi (2). Tovrstnih podatkov za Slovenijo še nimamo, vemo pa, da do napak prihaja. Tudi podatkov o senzibilizacijah na eritrocitne, trombocitne in levkocitne antigene še nimamo zbranih.

Razmeroma veliko število neopredeljenih primerov (29) utemeljuje potrebo po enotnem obrazcu za prijavljanje in poročanje in po jasnih definicijah posameznih vrst neželenih škodljivih učinkih transfuzije.

Menimo, da prijave ne zajemajo vseh primerov, ker pozornost zdravstvenega osebja ni bila v zadostni meri usmerjena k zaznavanju in poročanju o neželenih škodljivih učinkih transfuzije. Morda to ne velja toliko za alergične in febrilne nehemolitične reakcije kot za tiste, ki jih med prijavljenimi primeri ni: posttransfuzijska trombocitopenična purpura, bakterijska okužba po transfuziji in bolezen presadka proti gostitelju.

Preko sestankov bolnišničnih transfuzijskih odborov bo potrebno zdravstvene delavce, ki sodelujejo pri transfuziji krvi, neprenehoma opozarjati na problematiko. Pričakujemo, da bo eden najučinkovitejših načinov posredovanje informacij o doseganih rezultatih zbiranja podatkov o neželenih učinkih transfuzije

Zaključki

Sistem hemovigilance v Sloveniji smo začeli uvajati na strani bolnika, prejemnika krvi, kar zajema tudi najožja definicija hemovigilance. Menimo, da se je na številnih bolniških oddelkih že povečala pozornost zdravstvenega osebja za zaznavanje neželenih učinkov transfuzije, zlasti za tiste, do katerih najpogosteje prihaja. Morda pa je premalo prisotna zavest, da je potrebno prijaviti tudi sum na neželeni učinek transfuzije in primere, ko smo ugotovili napako pred transfuzijo.

Del sistema hemovigilance v Sloveniji deluje, ni pa še v celoti vzpostavljen. Tudi dela sistema na nacionalni ravni še nimamo.

Preko bolnišničnih transfuzijskih odborov in na druge načine bomo morali še naprej širiti znanje in večati pozornost na neželene učinke transfuzije, obenem pa s povratnimi informacijami o tem našem skupnem delu povečati zanimanje in zavzetost kolegov, ki dajejo transfuzijo. Le tako bomo lahko zbrali čim bolj popolne podatke in utemeljili potrebe po novih ukrepih za povečanje varnosti transfuzije.

LITERATURA

1. Priporočilo o pripravi, uporabi in zagotavljanju kakovosti komponent krvi. 9. izd. Svet Evrope v Strassbourgu, Zavod za transfuzijo krvi, Informacijsko dokumentacijski center Sveta Evrope pri NUK v Ljubljani 2003: 227–34
2. Love E.M., Jones H., Cohen H., Todd A., Soldan K., Revill J. et al. Lessons learnt from 5 years of implementation of national haemovigilance system in Europe. Basic clinical and organisational requirements for an effective haemovigilance. Proceedings of the ESTM residential course. Sofia: Ed.by P.F.W. Strengers, E.M. Love, C. Politis, T. Lissitchkov; 2002; 17–25
3. Noel L., Debeir J., Cosson A. The French Haemovigilance System. Vox Sang 1998; 74: Suppl.2: 441–5
4. Potočnik M. Hemovigilanca in varna transfuzija krvi. Zdrav vestn 2004; 73: 81–4
5. Asher D., Atterbury C.L.J., Chapman C., Cohen H., Jones H., Love E.M., Norfolk D.R. et al. Summary of annual report 2000-2001. Basic clinical and organisational requirements for an effective haemovigilance. Proceedings of the ESTM residential course.. Sofia: Ed.by P.F.W. Strengers, E.M. Love, C. Politis, T. Lissitchkov; 2002: 26–33
6. Zakon o preskrbi s krvjo. UL RS, 13. 6. 2000, št. 52; 6943–8
7. Pravilnik o vsebini vodene dokumentacije o uporabi krvi, krvnih pripravkov in zdravil iz krvi, vključno z biotehnološkimi nadomestki za kri. UL RS, 18. 7. 2003, št. 70; 10817–8
8. Evropska direktiva 2002/83/EC Evropskega parlamenta in Sveta za določitev standardov kakovosti in varnosti za zbiranje oz. odzvem, testiranje, predelavo, shranjevanje in distribucijo človeške krvi in sestavin krvi ter dopolnitev Direktive 2001/83/EC
9. Strengers PFW. Haemovigilance-why? Zbornik 5. podiplomski seminar. Zdravljenje s krvjo. Zdravljenje novorojenčkov in otrok.. Zavod RS za transfuzijsko medicino, Klinični center Ljubljana, ESTM – Evropska šola za transfuzijsko medicino. Portorož 2002: 102–9
10. Domanovič D. Hemovigilanca. Zdravljenje s krvjo v kirurgiji. Zbornik 3. podiplomskega seminarja. Portorož 2000; 80–6
11. Revill J. Lessons learnt from haemovigilance in Great Britain and Europe. Zbornik 5. podiplomski seminar. Zdravljenje s krvjo. Zdravljenje novorojenčkov in otrok. Zavod RS za transfuzijsko medicino, Klinični center Ljubljana, ESTM – Evropska šola za transfuzijsko medicino. Portorož 2002: 110–9
12. Rossi U. Basic clinical and organisational requirements for an effective haemovigilance. Zbornik 5. podiplomski seminar. Zdravljenje s krvjo. Zdravljenje novorojenčkov in otrok. Zavod RS za transfuzijsko medicino, Klinični center Ljubljana, ESTM – Evropska šola za transfuzijsko medicino. Portorož 2002: 120–37
13. Brand BC. The Swiss experience of haemovigilance. Zbornik 5. podiplomski seminar. Zdravljenje s krvjo. Zdravljenje novorojenčkov in otrok. Zavod RS za transfuzijsko medicino, Klinični center Ljubljana, ESTM – Evropska šola za transfuzijsko medicino. Portorož 2002: 138–47
14. Potočnik M. Hemovigilanca v Sloveniji. Zbornik 5. podiplomski seminar. Zdravljenje s krvjo. Zavod RS za transfuzijsko medicino, Klinični center Ljubljana, ESTM – Evropska šola za transfuzijsko medicino. Portorož 2002: 148–50
15. Grgičević D., Golubić-Čepulić B. Building up Haemovigilance in South-Eastern Europe. Zbornik 5. podiplomski seminar. Zdravljenje s krvjo. Zavod RS za transfuzijsko medicino, Klinični center Ljubljana, ESTM – Evropska šola za transfuzijsko medicino. Portorož 2002: 151–5
16. Rossi U., De Paschale M. The risk of HCV infection through neonatal blood and plasma microtransfusions: a demonstrated need for stric haemovigilance. Zbornik 5. podiplomski seminar. Zdravljenje s krvjo. Zavod RS za transfuzijsko medicino, Klinični center Ljubljana, ESTM – Evropska šola za transfuzijsko medicino. Portorož 2002: 156–7
17. Potočnik M. Report on clinical transfusion practice and haemovigilance in Slovenia. Preceedings ESTM residential course: Basic clinical and organisational requirements for an effective haemovigilance, Sofia, 28.-30.11.2002; 175–6
18. Potočnik M. Hemovigilanca. Ljubljana: Zavod za transfuzijsko medicino RS, Klinični center Ljubljana, 2002: 1–15
19. Potočnik M. Sistem hemovigilance. Zbornik predavanj. Racionalizacija in sistem kakovosti v transfuziologiji. 39. strokovni seminar Zbornica zdravstvene nege Slovenije. Sekcija medicinskih sester za anesteziologijo, intenzivno nega in terapijo ter transfuziologijo. Rogla 2003; 34–4
20. Bizjak B. Hemovigilanca – izkušnje v svetu in pri nas. Zbornik predavanj. Racionalizacija in sistem kakovosti v transfuziologiji. 39. strokovni seminar Zbornica zdravstvene nege Slovenije. Sekcija medicinskih sester za anesteziologijo, intenzivno nega in terapijo ter transfuziologijo. Rogla 2003; 45–52
21. Maček M. Obravnava prijavljenih škodljivih neželenih učinkov transfuzije krvi na Zavodu RS za transfuzijsko medicino. Zbornik predavanj. Racionalizacija in sistem kakovosti v transfuziologiji. 39. strokovni seminar Zbornica zdravstvene nege Slovenije. Sekcija medicinskih sester za anesteziologijo, intenzivno nega in terapijo ter transfuziologijo. Rogla 2003: 90–3
22. Šmitek J. Standardi postopkov zdravstvene nege v zvezi s transfuzijo–interne smernice Kliničnega centra. Zbornik predavanj. Racionalizacija in sistem kakovosti v transfuziologiji. 39. strokovni seminar Zbornica zdravstvene nege Slovenije. Sekcija medicinskih sester za anesteziologijo, intenzivno nega in terapijo ter transfuziologijo. Rogla 2003: 53–80

23. Strauss M. Dokumentiranje transfuzije v Splošni bolnišnici Maribor. Zbornik predavanj. Racionalizacija in sistem kakovosti v transfuziologiji. 39. strokovni seminar Zbornica zdravstvene nege Slovenije. Sekcija medicinskih sester za anesteziologijo, intenzivno nega in terapijo ter transfuziologijo. Rogla 2003: 81–89
24. Potočnik M. Prijave neželenih škodljivih učinkov transfuzije krvi v Sloveniji v letu 2002. Zdrav vestn 2004; 73: Suppl. I: 97–100
25. Maček M., Potočnik M., Bricl I., Urbajs M., Rožman P. Imunohematološka obravnava škodljivih neželenih učinkov transfuzije krvi. Zdrav vestn 2004; 73: Suppl. I: 101–4
26. Meža M., Tasič J., Breskvar M., Bricl I., Rožman P. Mobilni multimedijski terminal v transfuzijski praksi. Zdrav vestn 2004; 73: Suppl. I: 109–13
27. Faber JC. Haemovigilance in Europe: an overview. 2. kongres hematologov in transfuziologov Slovenije z mednarodno udeležbo. Zbornik predavanj. Portorož 2004: 7–15
28. Faber JC. Haemovigilance procedure in transfusion medicine. 2. kongres hematologov in transfuziologov Slovenije z mednarodno udeležbo. Zbornik predavanj. Portorož 2004: 44–51
29. Glonar L., Potočnik M. Prvi začetki hemovigilance v Sloveniji. 2. kongres hematologov in transfuziologov Slovenije z mednarodno udeležbo. Zbornik predavanj. Portorož 2004: 52
30. Potočnik M. Prijave neželenih škodljivih učinkov transfuzije krvi v Sloveniji v letu 2002: 2. kongres hematologov in transfuziologov Slovenije z mednarodno udeležbo. Zbornik predavanj. Portorož 2004: 53
31. Maček M., Potočnik M., Bricl I., Urbajs M., Rožman P. Imunohematološka obravnava škodljivih neželenih učinkov transfuzije krvi. 2. kongres hematologov in transfuziologov Slovenije z mednarodno udeležbo. Zbornik predavanj. Portorož 2004: 54
32. Levičnik-Stezinar S., Rahne-Potokar U., Nograšek P. Prevalenca označevalcev okužb in virusom hepatitisa med krvodajalci. 2. kongres hematologov in transfuziologov Slovenije z mednarodno udeležbo. Zbornik predavanj. Portorož 2004: 55
33. Meža M., Tasič J., Breskvar M., Bricl I., Rožman P. Mobilni multimedijski terminal v transfuzijski praksi. 2. kongres hematologov in transfuziologov Slovenije z mednarodno udeležbo. Zbornik predavanj. Portorož 2004: 57
34. Potočnik M. Hemovigilanca. 2. kongres hematološkega društva laboratorijskih tehnikov z mednarodno udeležbo. Zbornik predavanj. Portorož 2004: 222–3
35. Vuksan M. Odkloni krvodajalcev zaradi izsledkov laboratorijskih preiskav. 2. kongres hematološkega društva laboratorijskih tehnikov z mednarodno udeležbo. Zbornik predavanj. Portorož 2004: 224–5
36. Maček M. imunohematološka obravnava škodljivih neželenih učinkov transfuzije krvi. 2. kongres hematološkega društva laboratorijskih tehnikov z mednarodno udeležbo. Zbornik predavanj. Portorož 2004: 226–8
37. Dakskobler M., Rački A., Urbajs M., Bricl I. Senzibilizacije na eritrocitne antigene, obravnavane na Zavodu RS za transfuzijsko medicino v letu 2003. 2. kongres hematološkega društva laboratorijskih tehnikov z mednarodno udeležbo. Zbornik predavanj. Portorož 2004: 229–30
38. Pleško S., Levičnik-Stezinar L. Posttransfuzijske okužbe v Sloveniji in hemovigilanca. 2. kongres hematološkega društva laboratorijskih tehnikov z mednarodno udeležbo. Zbornik predavanj. Portorož 2004: 231

KLINIČNI CENTER LJUBLJANA
UNIVERSITY MEDICAL CENTRE LJUBLJANA

ZAVOD REPUBLIKE SLOVENIJE ZA TRANSFUZIJSKO MEDICINO
BLOOD TRANSFUSION CENTRE OF SLOVENIA

EVROPSKA ŠOLA ZA TRANSFUZIJSKO MEDICINO
EUROPEAN SCHOOL OF TRANSFUSION MEDICINE