

Documentos

Enfermedad hemolítica perinatal: manejo de la embarazada RhD negativo

Alvaro Insunza F., Ernesto Behnke G., Jorge Carrillo T.

Hospital Padre Hurtado, Escuela de Medicina, Clínica Alemana-Universidad del Desarrollo, Chile.

RESUMEN

En solo 50 años la enfermedad hemolítica perinatal por isoimmunización anti D pasó de ser una enfermedad sin etiología conocida, incurable y no prevenible, a la situación actual en que por las técnicas de prevención, diagnóstico oportuno y tratamiento especializado tiene baja incidencia y altas expectativas de sobrevida, incluso en los casos más severos. Se describe la historia, las técnicas de prevención, diagnóstico, manejo y tratamiento de la enfermedad.

PALABRAS CLAVE: *Enfermedad hemolítica perinatal, isoimmunización Rh, transfusión intrauterina*

SUMMARY

In just 50 years the perinatal hemolytic disease due to RhD isoimmunization went from being a disease without known etiology, untreatable and not preventable to the current situation in which the prevention techniques, opportune diagnosis and specialized treatment has low its incidence and has an expected high survival even in the more severe cases. This article describes the history, prevention techniques, diagnosis, management and treatment of the disease.

KEY WORDS: *Perinatal haemolytic disease, RhD isoimmunization, intrauterine transfusion*

INTRODUCCIÓN

La enfermedad hemolítica perinatal (EHP) es causada por incompatibilidad sanguínea materno fetal y puede afectar en diferentes grados al feto y al recién nacido. Se denomina incompatibilidad sanguínea materno fetal a la presencia de uno o más antígenos en el glóbulo rojo fetal que la madre no posee, pudiendo desencadenarse una respuesta materna contra estos antígenos mediada por inmunoglobulinas. Diferentes antígenos del glóbulo rojo fetal pueden desencadenar la respuesta inmunológica de la madre y causar EHP, siendo el más importante el antígeno "D" del sistema Rh.

Para que se establezca la EHP deben cumplirse las siguientes condiciones:

- que la madre desarrolle una respuesta inmune contra el antígeno del glóbulo rojo fetal
- que el anticuerpo materno sea capaz de atravesar la barrera placentaria y éste pase a la circulación fetal
- que el anticuerpo materno sea específico para el antígeno fetal
- que el glóbulo rojo fetal posea el antígeno
- que el anticuerpo sea una gammaglobulina la que una vez unida al antígeno del glóbulo rojo fetal pueda provocar su aglutinación y posterior hemólisis

ANTECEDENTES HISTÓRICOS

Todo parece indicar que fue descrita por primera vez en el año 1609 en Francia por el reporte de una matrona del nacimiento de un par de gemelos, el primero mortinato por lo que hoy interpretaríamos como hidrops, y el segundo severamente icterico, que muere algún tiempo después por lo que hoy día conocemos como kernicterus. El año 1892, Ballantyne publica su obra "*The diseases and deformities of the foetus*" y describe las características del recién nacido hidrópico, pero no es hasta el año en 1932 en que Diamond (1) unifica en una sola entidad hidrops, icterus gravis neonatorum y anemia neonatal como diferentes fases de una misma enfermedad, todas ellas con la presencia de eritroblastos como punto en común (eritroblastosis fetal). Avanzando hacia la explicación etiológica de la enfermedad, Darrow en 1938 (2) supone correctamente la presencia de un anticuerpo materno contra la sangre fetal, pero equivocadamente estima que el antígeno es la hemoglobina fetal. En 1940, Landsteiner y Wiener (3) describen la aglutinación de glóbulos rojos de humanos de origen caucásico puestos en contacto con suero de conejos inoculados con glóbulos rojos de monos Rhesus: al 85% que aglutinan les denominan "*Rh*" positivos. Un año después Levine (4) describe una reacción hemolítica en una madre que acaba de dar a luz a un hijo mortinato hidrópico y que ha recibido una transfusión con sangre de su marido aparentemente compatible. El propone correctamente que el feto posee un antígeno presente en el padre pero ausente en la madre. Los grupos sanguíneos clásicos ya habían sido descritos en la década de 1930. Hasta la primera mitad del siglo XX, la única esperanza para las madres afectados de EHP por isoimmunización Rh era que ésta se manifestara lo más tardíamente posible, esperando que al momento del nacimiento el recién nacido no estuviera severamente enfermo. En 1946, Wallerstein (5) comunica su experiencia con el único tratamiento hasta entonces posible: la exanguíneo transfusión neonatal de glóbulos rojos, siendo demostrada por Allen en 1950 (6) como capaz de modificar la evolución del recién nacido en riesgo de desarrollar kernicterus. Una segunda conducta capaz de modificar el curso natural de la enfermedad es publicado por Allen en 1954 (7) y Chown en 1958 (8) es el nacimiento prematuro que disminuía el impacto de las graves complicaciones de la anemia e hiperbilirrubinemia, instaurándose entonces la interrupción prematura del embarazo como un arma terapéutica. En 1958, Cremer (9) publica su experiencia con la fototerapia, luego de tomar muy seriamente en cuenta las

observaciones empíricas de la enfermera Ward del hospital general de Rochford, Essex, en Inglaterra quien observó que los prematuros ictericos que reciben luz solar directa "*destiñen*" más rápidamente que sus congéneres que no la reciben.

En ese tiempo se podía diagnosticar las madres RhD negativo, identificar aquellas sensibilizadas, sospechar el grado de enfermedad perinatal de acuerdo a los títulos de anticuerpos y los antecedentes previos, para luego ofrecer alguna de las modalidades terapéuticas que hemos mencionado. Nuevamente, la capacidad de observación determina un avance, al publicar Liley (10) en 1961, su experiencia en EHP correlacionando el grado de enfermedad con los niveles de bilirrubina a la espectrofotometría en líquido amniótico obtenido por amniocentesis, sugerido casi una década antes por Bevis en 1952 (11) al intentar contestar éste la relación existente entre la coloración marcadamente amarilla del líquido amniótico y la gravedad de la enfermedad. Dos años más tarde el mismo Liley (12) comunica su experiencia con transfusión intrauterina intraperitoneal en el manejo de los fetos severamente enfermos y que no podían ser tributarios de nacimiento prematuro como medida terapéutica. Casi simultáneamente, Freda (13) comunica sus resultados en la prevención de la enfermedad a través de la administración de gamabulbina anti D luego de la inoculación a sujetos RhD negativos convictos de la cárcel de Sing-Sing con glóbulos rojos RhD positivos, colocando así el último eslabón de esta cadena que hemos reseñado brevemente. A partir de entonces y tras solo medio siglo de esfuerzo, nos enfrentamos hoy a una enfermedad en que fueron dilucidadas su etiopatogenia, los elementos para su diagnóstico, su manejo, tratamiento y prevención.

Los avances en el conocimiento de la enfermedad y las diferentes medidas terapéuticas que hemos esbozado, han producido un cambio enorme en la mortalidad perinatal por EHP (Tabla I).

SISTEMA SANGUÍNEO Rh E IDENTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS IRREGULARES

Además de los antígenos del sistema ABO, el glóbulo rojo posee numerosos otros antígenos, muchos de los cuales pueden causar incompatibilidad materno fetal y EHP, siendo los del sistema Rh los más importantes. Los anticuerpos contra estos antígenos se denominan genéricamente "*anticuerpos irregulares*". Cuando el clínico solicita el estudio e identificación de anticuerpos irregulares, está incluyendo en esta investigación la presencia de anticuerpos anti "D", el que si está presente

Tabla I
EVOLUCIÓN DE LA MORTALIDAD PERINATAL E INTRODUCCIÓN DE LAS MEDIDAS TERAPÉUTICAS Y PREVENTIVAS

Año	1950	1960	1970	1990
MPN x 1000 NV	500	250	80	2
Medida terapéutica	-Transfusión neonatal de glóbulos rojos	-Interrupción del embarazo antes del término -Fototerapia	-TIU intraperitoneal -IgG anti D	-TIU intravascular

Adaptado de: Queenan JT. Rh-D Disease: a perinatal success story. *Obstet Gynecol* 2002;100:405-6. MPN: Mortalidad perinatal. NV: nacidos vivos. TIU: transfusión intrauterina

es inmediatamente identificado e informado por el banco de sangre. Los anticuerpos irregulares, incluyendo el anti D, se estudian mediante la técnica descrita por Coombs y para la cual hoy día existen sets comerciales con el detalle de los antígenos presentes en cada tipo de glóbulos rojos grupo 0/IV del test. La prueba de Coombs indirecta (CI) se utiliza para investigar los anticuerpos presentes en el suero materno y la prueba de Coombs directa (CD) para identificar la presencia de anticuerpos unidos al glóbulo rojo del recién nacido. El único anticuerpo que se titula para su uso clínico es el "anti D" y se expresa como "1: x" o solo "x", siendo "x" el número de diluciones a las que debe someterse el suero para obtener una reacción positiva de aglutinación. Por ser una prueba cualitativa, no está exenta de errores inter e intraoperadores.

El sistema Rh, según la teoría y nomenclatura de Fisher y Race (14) está compuesto por tres pares de antígenos: Cc, D(d) y Ee ubicados en el brazo corto del cromosoma 1 y que son heredados de cada uno de los padres en pares de tres. La presencia del antígeno D determina el grupo "RhD positivo", mientras que su ausencia determina la característica "RhD negativo"; el alelo hipotético "d" nunca ha sido comprobado. Un individuo "RhD negativo" es homocigoto para la ausencia de "D". La ausencia del antígeno "D", es una característica de los grupos étnicos de origen caucásico y la distribución de individuos "RhD negativos" no es uniforme en todas las poblaciones como puede apreciarse en la Tabla II y pareciera haber sido una característica ancestral existente solo en la actual etnia vasca, siendo la distribución actual en el mundo de los individuos "RhD negativos" una buena correlación con la mezcla genética de los vascos con otros grupos étnicos.

Algunos de los antígenos del sistema Rh son

más frecuentes que otros, de manera que la distribución de combinaciones del genotipo tampoco es uniforme, siendo CDe, cde y cDE las más frecuentes en poblaciones de origen caucásico. En estos grupos étnicos, se estima que el 45% de los individuos RhD positivos son homocigotos para D y el restante 55% heterocigoto, habiendo éstos heredado de uno de los padres la ausencia de D. Como nunca se ha detectado el antígeno "d", tampoco existe un suero anti "d" que pueda tipificar el genotipo de una persona RhD positiva en la búsqueda de si es homo o heterocigoto para "D", información que pudiera ser relevante dado que un padre RhD positivo heterocigoto para "D" tiene una posibilidad de un 50% de procrear con una madre "RhD negativo" un hijo que a su vez también sea RhD negativo y por ende incapaz de provocar una incompatibilidad sanguínea del sistema Rh en el embarazo actual, independientemente si la madre esté previamente sensibilizada o no contra el antígeno "D".

Tabla II
INCIDENCIA PERSONAS RhD NEGATIVO

Población	Incidencia RhD Negativo (%)
Vascos	30 - 35
Blancos caucásicos	15 - 16
Finlandia	10 - 12
Banco Sangre Clínica Alemana (Santiago, Chile)	10 - 12
Banco de Sangre Hospital Padre Hurtado (Santiago, Chile)	3 - 4
Indios de Norteamérica	1 - 2
Chinos y Japoneses	> 1

IDENTIFICACIÓN DE LA CONDICIÓN RhD DEL FETO

Contrariamente a la distribución general de los antígenos del sistema ABO, los antígenos del sistema Rh solamente se expresan en el glóbulo rojo, y solo es posible identificarlos en estas células fetales o DNA fetal. En 1995, Simsek (15) describe el estudio del genotipo del sistema Rh fetal por técnica de amplificación de DNA por PCR en otros tipos celulares obtenidos a través de amniocentesis o biopsia de vellosidades coriales. Utilizar estas técnicas para el diagnóstico del status RHD del feto conlleva dos riesgos: el de todo procedimiento invasivo y provocar o agravar una sensibilización por hemorragia feto-materna. Buscar el status RHD en células fetales en sangre materna tiene el inconveniente de la baja probabilidad de encontrar estas por su bajo número. En 1998, Lo (16) comunica la identificación del status RhD del feto en DNA fetal libre en sangre materna por técnica de amplificación de PCR. Comunicaciones recientes indican un 100% de capacidad diagnóstica con esta técnica y su detección tan temprana como a los 38 días de gestación (17). Esta técnica permitirá en un futuro no lejano manejar las embarazadas RHD negativo conociendo tempranamente si el feto es portador o no del antígeno D (18).

PATOGÉNESIS DE LA ISOINMUNIZACIÓN MATERNA

Antes de la introducción de la terapia transfusional y de la ya en desuso hemoterapia para el tratamiento de la anemia, las mujeres se sensibilizaban solo durante el embarazo y parto. Una vez introducida la terapia transfusional pero antes del descubrimiento del sistema Rh, la mayor parte de las personas se sensibilizaron por esta vía, lo que hoy se evita con el sistemático estudio de compatibilidad antes de una transfusión sanguínea, siendo nuevamente en la actualidad los eventos del embarazo y parto las causas de la isoinmunización. En el año 1958, Kleihauer (19) demostró la existencia de la hemorragia feto materna (HFM) a través de la presencia de glóbulos rojos fetales en sangre materna por la técnica que hoy lleva su nombre y que se basa en la resistencia de la hemoglobina fetal a ser removida del glóbulo rojo sometido a una alta concentración ácida, diferenciándose así de los glóbulos rojos maternos luego de ser teñidos con eosina. Con esta técnica Bowman (20) demostró que en el 75% de las embarazadas hay evidencia de HFM en algún momento del embarazo y parto, la que habitualmente es de baja cuantía, pero en

un 1% de los casos puede ser de hasta 5 ml y en el 0,25% alcanzar volúmenes tan altos como 30 ml. También hay diferencias en la incidencia y cuantía de la HFM en los diferentes trimestres del embarazo: 3% en el primer trimestre (0,03 ml); 12% en el segundo trimestre (generalmente menos de 0,1 ml) y hasta 46% en el tercer trimestre (ocasionalmente hasta 25 ml). Algunos eventos obstétricos aumentan el riesgo de HFM como son la hemorragia anteparto, operación cesárea, extracción manual de la placenta y versión externa. Dado que los antígenos del sistema Rh están presentes tan tempranamente como a los 30 días de gestación, la demostrada HFM que ocurre en el aborto espontáneo (generalmente menos de 0,1 ml) y la del aborto provocado en un 20 a 25% de los casos con volúmenes que exceden los 0,2 ml en el 4% de los casos, justifican las medidas de prevención de isoinmunización que se discutirán más adelante.

La respuesta inmune materna se efectúa en dos fases. La respuesta primaria inicial requiere de volúmenes relativamente altos, se instala en forma lenta usualmente en 6 a 12 semanas y hasta de 6 meses en aparecer. Es mediada por IgM por cuyo peso molecular de 900.000 no atraviesa la barrera placentaria y la que es pronto seguida por IgG que si atraviesa la placenta (peso molecular de 160.000). Estos anticuerpos se fijan en el glóbulo rojo fetal y se inicia el proceso hemolítico. Una segunda HFM, aun cuando sea de bajo volumen es capaz de desencadenar en pocos días una respuesta inmune secundaria mediada especialmente por IgG que tras nuevos episodios de HFM, provoca importantes alzas en los títulos de aglutininas.

Como se ha dicho anteriormente, la isoinmunización es dependiente del volumen de sangre transfundida y se requieren de tan solo 0,3 ml de sangre RhD positivo en voluntarios RhD negativos para provocar la isoinmunización. Tras un volumen de 1 ml, se sensibiliza un 15%; un 33% tras volúmenes de 10 ml y 65% después de volúmenes de 50 a 250 ml (21). La respuesta secundaria se puede desencadenar con dosis tan bajas como 0,05 ml de glóbulos rojos RhD (+). Si una embarazada seguida con técnica de Kleihauer nunca tiene HFM mayor de 0,1 ml, su riesgo de isoinmunización detectado a los 6 meses es de 3%, mientras que será de 14% si el volumen es mayor de 0,1 ml y de 14% si el volumen excede 0,4 ml (22).

La incompatibilidad ABO entre la madre y el feto otorga protección a la isoinmunización anti D (23); cuando esta existe hay una reducción del riesgo de isoinmunización anti D al 1,5-2%. Se estima que esta protección es debida a que la rápida hemólisis de los glóbulos rojos fetales en la sangre materna

causada por la incompatibilidad ABO no permite la instalación de la respuesta primaria anti D. Esta protección no existe para una respuesta inmune secundaria si la madre ya ha desarrollado una respuesta inmune anti D primaria.

El riesgo de isoimmunización detectable a los seis meses del parto de un recién nacido RhD positivo y ABO compatible es de 8 a 9%. Sin embargo, un número igual de mujeres se sensibiliza en forma indetectable en el primer embarazo, fenómeno que solo se evidencia en un próximo embarazo con feto RhD (+), cuando como consecuencia de una HFM aparece una respuesta inmune secundaria. Por lo antes expuesto, el riesgo total de isoimmunización debe considerarse aproximadamente de un 16% en madres que dan a luz un recién nacido RhD (+) y ABO compatible (23). El riesgo de isoimmunización es aproximadamente el mismo en un segundo embarazo con recién nacido RhD positivo y ABO compatible y puede alcanzar hasta un 50% al quinto embarazo de las mismas características. Es destacable que hasta un 30% de personas RhD negativas no desarrollan una respuesta inmune primaria, independientemente del volumen ni la frecuencia de las exposiciones de sangre RhD positiva a la que son sometidas.

Se estima que la sensibilización posaborto espontáneo entre las 6 y 8 semanas es mínima y entre las 10 y 12 semanas de un 1,1-4,3%. Luego de un aborto provocado se ha reportado un riesgo de isoimmunización del 4-25 %-. La madre que se sensibiliza luego de un aborto es una "buena respondedora" y en su próximo embarazo su feto está

en riesgo de una enfermedad hemolítica severa. La Tabla III resume los riesgos de sensibilización en diferentes situaciones.

GRAVEDAD DE LA ENFERMEDAD

La IgG atraviesa fácilmente la barrera placentaria hacia la circulación fetal y se fija en los sitios antigénicos del glóbulo rojo los que están presentes tan temprano como a las 6 semanas de gestación. Esta reacción que es posible detectar a través del Coombs directo, no fija complemento produciéndose hemólisis en forma extravascular principalmente en el bazo. La eritropoyesis fetal ocurre inicialmente a nivel del hígado y bazo, desplazándose a la médula después del sexto mes de gestación. Si ocurre anemia por pérdida o hemólisis, la eritropoyesis extramedular estimulada por un aumento de la secreción de eritropoyetina se mantiene e incluso puede hacerse muy intensa con la consiguiente hepatomegalia que se observa en esta enfermedad. Como el esfuerzo de compensación suele ser incompleto, aparecen glóbulos rojos inmaduros (eritroblastos), de allí que Diamond la denominara eritroblastosis fetal.

La gravedad de la enfermedad depende de la cuantía de IgG materna (expresada en el título), la afinidad de ésta por el antígeno presente en el glóbulo rojo fetal y la habilidad del feto para compensar la anemia sin desarrollar hidrops.

Como se expone en la Tabla IV, la enfermedad se manifiesta en diferentes grados y con diferentes incidencias.

Tabla III
RIESGO DE SENSIBILIZACIÓN SEGÚN DIFERENTES SITUACIONES CLÍNICAS

Situación clínica		Sensibilización (%)
Intraembarazo		1 - 2
Posparto ABO compatible	Hasta 6 meses post parto	8
	Detectable en próximo embarazo	8
		(total 16%)
Posparto ABO incompatible		1,5 - 2
Posaborto espontáneo	6 a 8 semanas edad gestacional	Mínima
	10 a 12 semanas edad gestacional	1,1 - 4,3
Posaborto provocado		4 - 25
Biopsia vellosidades coriales		50 (?)
Amniocentesis		2
Respuesta primaria	1 ml de sangre	15
	10 ml de sangre	35
	50 - 250 ml sangre	66

Tabla IV
CLASIFICACIÓN DE LA SEVERIDAD DE LA ENFERMEDAD HEMOLÍTICA PERINATAL

Grado de severidad	Descripción	Incidencia (%)
Leve	Bilirrubina indirecta no excede 16 – 20 mg/dl Ausencia de anemia (Hb > 12 g/dl) No requiere tratamiento	45 - 50
Moderada	No se desarrolla hidrops Anemia moderada Ictericia severa con riesgo Kernicterus si no se trata	25 - 30
Severa	Hidrops fetal con anemia severa <ul style="list-style-type: none"> • Antes de 34 semanas • Después de 34 semanas 	20 - 25 10 - 12 10 - 12

Enfermedad leve. Estos recién nacidos son sanos y no requieren de tratamiento especial antenatal ni posnatal, sobreviven en un 100% tal como lo hacían hace 50 años. Dan cuenta de hasta el 50% de todos los recién nacidos afectados y nacen con niveles de hemoglobina mayores a 12 g/dl, la que no desciende a menos de 11 g/dl. La bilirrubina de cordón es menor de 4 mg/dl y ésta no aumenta en el período neonatal a más de 20 g/dl (15-17,5 g/dl en prematuros). Desde la perspectiva del diagnóstico antenatal, corresponde a aquellos casos en que los títulos son bajos, que en el estudio de espectrofotometría están en la zona A de Liley y/o que tienen Vmax de ACM bajo 1,5 MoM.

Enfermedad moderada. Entre un 25% y 30% de los recién nacidos afectados nacen en esta condición, a término o cerca de éste, generalmente en buenas condiciones y con hemoglobina de cordón mayor de 9 g/dl. El recién nacido no está hidrópico pero como consecuencia de la intensa hemólisis y de su incapacidad hepática relativa de conjugar la bilirrubina, desarrolla rápidamente hiperbilirrubinemia indirecta la que por su insolubilidad en agua y alta afinidad por los lípidos atraviesa la membrana celular neuronal rica en lípidos interfiriendo con su metabolismo produciendo finalmente la muerte de ésta adoptando el cerebro un intenso color amarillo (kernicterus: kern = núcleo, icterus = amarillo). Esta severa encefalopatía tiene una mortalidad del 90%; el 10% restante sobrevive con severas secuelas espásticas coreoatetósicas y sordera profunda.

Corresponde al obstetra diagnosticar adecuadamente estos casos, ya que aunque evolucionarán in útero sin hidrops, son anémicos y requerirán de medidas y técnicas diagnósticas antenatales, de tratamiento como interrupción con vigilancia fetal en un centro terciario y especialmente cuidados y acciones posnatales en unidades de neonatología.

Enfermedad severa. En alrededor del 25% de

los casos afectados, la enfermedad se manifiesta en su máxima expresión, el hidrops fetal. La mitad de las veces antes de las 34 semanas y el resto después de esta edad gestacional. Sin tratamiento la condición tiene una mortalidad perinatal cercana al 100% y la sobrevivencia de recién nacidos hidrópicos debe considerarse excepcional. La patogénesis del hidrops corresponde a un cuadro de severa anemia (hematocrito menor de 15%), función hepática prácticamente solo dedicada a eritropoyesis e hipoproteinemia, alteración en el metabolismo lipídico, hipertensión portal e insuficiencia cardíaca (24). El feto desarrolla progresivamente edema, ascitis, hidrotórax, derrame pericárdico, polihidramnios y finalmente muere por disfunción hipóxica miocárdica. Pese a los niveles elevados de bilirrubina indirecta, dado la depuración de ésta hacia el líquido amniótico a través de membranas y piel, y parcialmente hacia la madre a través de la placenta, no desarrollará hiperbilirrubinemia importante in útero. Este grupo de fetos deben ser diagnosticados, seguidos y manejados en centros terciarios que incluirán eventualmente transfusión intrauterina (TIU) si la enfermedad se presenta antes de las 34 semanas o a interrupción del embarazo si hay indicios de que está severamente afectado después de las 34 semanas. Habitualmente corresponde a fetos que están en la curva C de Liley y/o con Vmax de ACM mayor ó igual a 1,5 MoM. Son madres altamente sensibilizadas y la mayor parte de ellas con antecedentes de EHP. La sobrevivencia actual en centros especializados para EHP severa sin hidrops es de 90% y 70-80% con hidrops.

DIAGNÓSTICO DE LA SEVERIDAD DE LA ENFERMEDAD

Test de Coombs indirecto. En toda embarazada debe efectuarse un test de Coombs indirecto

al inicio del control prenatal, independientemente de su Rh y paridad. Esta medida permite no solo detectar a las pacientes con sensibilización anti D, sino también aquellas portadoras de otros anticuerpos irregulares. En las embarazadas con sensibilización anti D intraembarazo existe una buena correlación entre títulos bajos (menores o iguales a 1/32) y enfermedad leve. Sin embargo, dado que no existe una relación lineal entre niveles elevados y enfermedad moderada o severa, el manejo con títulos solo debe reservarse a aquellas madres que se sensibilizan intraembarazo o que previamente sensibilizadas, evolucionen en sus controles con títulos menores a 1/32. La prueba de Coombs indirecta se efectúa hoy por medio de sets disponibles en el comercio y detectan la presencia de IgG. Antes de la disponibilidad de éstos, la prueba "salina" solo detectaba IgM la que por su mayor tamaño era capaz de aglutinar glóbulos rojos que en dicha solución están separados por su carga eléctrica a una mayor distancia a la que la IgG es capaz de unirse a ellos y provocar su aglutinación. Esto explica que se diera el caso de recién nacidos afectados pero con Coombs indirecto salino negativo en la madre. Para lograr eliminar el efecto de separación por carga eléctrica, la prueba se realizaba entonces en un medio proteico, dando origen al Coombs en albúmina, el que si logra detectar la hemaglutinación provocada por la IgG de menor tamaño molecular.

Espectrofotometría de bilirrubina en líquido amniótico. La observación de la relación entre gravedad de la enfermedad y coloración amarilla del líquido amniótico llevó primeramente a Bevis (11) y luego a Liley (10) a establecer que el pigmento presente en el líquido amniótico es bilirrubina indirecta, que es posible cuantificarla y que se correlaciona inversamente con el hematocrito fetal. Debemos a Liley la introducción de la técnica de medición por espectrofotometría y la confección de la curva que hoy lleva su nombre la que permite el manejo de la enfermedad sobre las 28 semanas de embarazo. En su momento, es comprensible que su interés se centrara sobre esta edad gestacional, ya que antes de ésta el rescate neonatal era prácticamente imposible. La técnica requiere la obtención de líquido amniótico por amniocentesis guiada por ultrasonido evitando el paso transplacentario. La contaminación con sangre materna o fetal altera el resultado ya que por las características de fotoabsorción de ésta, se obtiene una curva de espectrofotometría con picos elevados en los 580, 540 y 415 nm lo que produce valores de bilirrubina (Δ DO 450) falsamente bajos. Pequeñas cantidades de sangre no alteran mayormente el resultado. El meconio produce valores de

Δ DO 450 falsamente elevados. La exposición a la luz de la muestra degrada la bilirrubina indirecta y produce lecturas falsamente bajas. Una vez obtenida la muestra ésta es sometida a lecturas cada 20 nanómetros, los que trasladados a un papel semi-logarítmico permiten dibujar una curva en la que se traza una línea que une los puntos de lectura 365 nm y 550 nm. El valor entre la línea base y la lectura a 450 nm es el Δ DO 450, valor que a su vez se traslada a la curva de Liley (Figura 1). Una vez obtenido el Δ OD 450 de bilirrubina y llevarlo a la Curva de Liley es posible establecer una correlación entre la Zona y la condición fetal, tal como se señala en la Tabla V.

Hasta el año 1993 en que Queenan publica una curva de Δ DO 450 desde las 14 hasta las 40 semanas de gestación (25) existía dificultad en manejar con espectrofotometría de líquido amniótico los casos de isoimmunización RhD a edades gestacionales bajo las 28 semanas. Esta curva (Figura 2) parece diferente a la curva de Liley, sin embargo, esto se debe a que la abscisa no está expresada en escala logarítmica. La curva de Queenan delimita cuatro zonas: Primera zona: fetos RhD (-) no afectados de enfermedad hemolítica; Segunda zona: fetos con estado de enfermedad indeterminada; Tercera zona: fetos RhD (+) afectados de enfermedad hemolítica; Cuarta zona: fetos en riesgo de muerte intrauterina.

Los problemas para el manejo con espectrofotometría de bilirrubina son: requiere de procedimientos invasivos seriados; es una prueba indirecta para evaluar anemia fetal; solo es aplicable a EHP por isoimmunización anti-D, y su resultado está expuesto a errores.

Espectrofotometría de bilirrubina en EHP por otros anticuerpos irregulares. La experiencia ha demostrado que la EHP secundaria a anticuerpos anti Kell no debe manejarse con Δ DO 450, ya que ésta produce una combinación de anemia hemolítica y frenación medular. Su utilización en otros tipos de EHP no es recomendada, siendo hoy más aconsejable evaluar en estos casos la anemia fetal por Vmax de ACM.

Confiabilidad del estudio por espectrofotometría de bilirrubina en líquido amniótico. La confiabilidad de la espectrofotometría de bilirrubina en líquido amniótico para el manejo de la EHP por isoimmunización RhD (Tabla VI), fue estudiada por Bowman (26), demostrando que es una buena metodología para el manejo de esta enfermedad, dado que tan solo ocurre un 0,6% de errores potencialmente letales en fetos en la zona C de Liley. La relativamente alta tasa de errores de predicción en la zona B obliga a analizar siempre críticamente estos resultados al tomar decisiones clínicas.

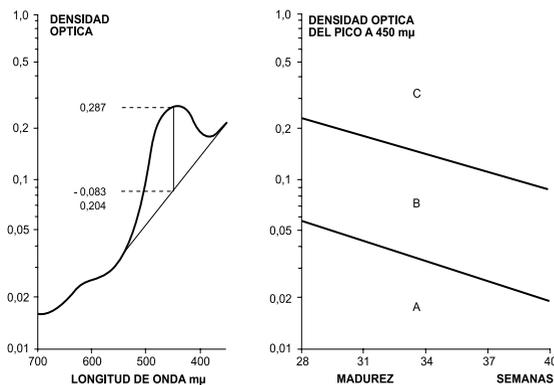


Figura 1. Espectrofotometría de bilirrubina en líquido amniótico y curva de Liley.

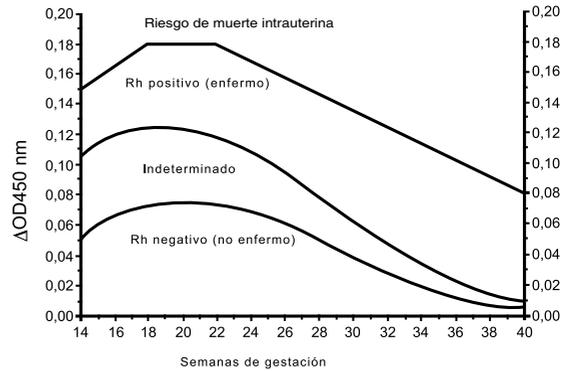


Figura 2. Curva de Queenan.

Tabla V
CORRELACIÓN ENTRE ZONA DE LILEY Y GRADO DE ENFERMEDAD HEMOLÍTICA PERINATAL

Zona	Condición fetal	Hemoglobina
A	Feto RhD (-). Feto RhD (+) con enfermedad hemolítica leve	Normal
B baja	Feto RhD (+) con enfermedad hemolítica leve o moderada.	≥ 13 g/dl
B alta	Feto RhD (+) con enfermedad hemolítica moderada a severa	10 – 12 g/dl
C	Feto RhD (+) con enfermedad hemolítica severa	< 8 g/dl

Tabla VI
ERRORES EN LA PREDICCIÓN DE LA GRAVEDAD DE EHP POR ΔDO450

Zona Liley	n	Errores en la predicción (%)	Errores potencialmente letales (%)
A	253	2,4	1,2
B	530	8,9	3,6
C	314	1,6	0,6
Total	1097	5,3	2,2

Manejo basado en la espectrofotometría de bilirrubina en líquido amniótico. Requiere de la disponibilidad de estudio ecográfico, de la capacidad de efectuar amniocentesis guiada por ultrasonido y de un laboratorio que procese adecuadamente la muestra. El flujograma lo delineó Liley en el año 1961 (Tabla VII) y ha sido ratificado por la experiencia clínica de muchos centros a lo largo de los años. Si el estudio se inicia antes de las 28 semanas, debe utilizarse la curva de Queenan.

Proyección de la tendencia de la curva. Especial atención debe prestarse a la tendencia que

adoptan los valores de $\Delta DO 450$ en la curva de Liley. Un curso paralelo a los ejes de la curva o en descenso indica un proceso hemolítico menos intenso que una tendencia en ascenso. Esta última debe alertar al clínico y anticipar la probable interrupción del embarazo o tratamiento intrauterino a la edad gestacional en que la proyección de los valores de $\Delta DO 450$ corte la línea que separa las zonas B de C. Para un centro que ha decidido el manejo con $\Delta DO 450$ y que carece de la capacidad de atención de prematuros o terapia intrauterina, recomendamos utilizar este criterio para anticipar el traslado.

Ecografía. La introducción de la ecografía en obstetricia en la década de los 70 por Campbell y McDonald en Gran Bretaña, representó una inflexión trascendental en el manejo de la EHP, contribuyendo una vez más en la disminución de la mortalidad (27). Hoy es impensable no utilizar esta tecnología en el manejo de la EHP, desde diagnosticar tempranamente la edad gestacional hasta la realización de transfusiones intrauterinas intravasculares, por lo que su uso adecuado debe formar parte de todo centro que realice el manejo de estas pacientes. Destaca en la importancia de la ecogra-

fía el establecer adecuadamente la edad gestacional ya que es un parámetro fundamental para toda toma de decisiones. En la evaluación del compromiso anémico fetal, el ecografista debe buscar signos tempranos de hidrops que son: engrosamiento placentario, polihidroamnios y ascitis laminar. El edema, derrame pericárdico e hidrotórax son de aparición tardía.

Tabla VII
MANEJO SEGÚN ZONAS DE LILEY

Zona	Conducta
A	Repetir amniocentesis cada 28 días. Interrupción a las 40 semanas
B baja	Repetir amniocentesis cada 14-21 días si persiste en la misma zona. Interrupción a las 38 semanas
B alta	Repetir amniocentesis cada 7-14 días, si persiste en la misma zona. Interrupción con madurez fetal comprobada no después de las 37 semanas. Si el valor se encuentra en el 25% superior de la zona, considerar cordocentesis
C	Repetir inmediatamente para confirmar o cordocentesis. Interrupción del embarazo sobre 34 semanas o con madurez fetal comprobada. Cordocentesis y transfusión intrauterina bajo 34 semanas

La contribución de la ecografía en el manejo de la EHP, puede resumirse en: diagnóstico temprano de la edad gestacional; amniocentesis guiada por ultrasonido; evaluación del bienestar fetal en la búsqueda de signos tempranos de hidrops; evaluación de la anemia fetal por Doppler de arteria cerebral media; cordocentesis; transfusión intrauterina intraperitoneal o intravascular.

Velocimetría Doppler de arteria cerebral media. La razón de correlacionar la velocidad en la arteria cerebral media (Vmax ACM) y con la anemia fetal está dada por el hecho de que la velocidad en el vaso sanguíneo aumenta a medida que cae el hematocrito como consecuencia de una menor viscosidad, el estado de hiperdinamia de la circulación fetal y que por las características anatómicas de la arteria cerebral media la medición de la velocidad máxima por Doppler pulsado es matemáticamente confiable y reproducible. Es muy importante realizar la medición en ángulos lo más cercanos a 0 posible y efectuar la corrección de éste en el ecógrafo, dado los importantes errores en la Vmax atribuibles a este error (28). El estudio multicéntrico de Mari (29), con la contribución de centros en Chile,

estableció la mediana y los valores críticos de la velocidad máxima de arteria cerebral media (Tabla VIII) que actualmente se utilizan (Figura 3). Este estudio y otros han demostrado la alta correlación entre la Vmax ACM y los valores de hemoglobina fetal obtenida por cordocentesis. Los valores se expresan como múltiplos de la mediana (MoM), el que se calcula dividiendo el valor encontrado por la mediana para la edad gestacional. Las mediciones se pueden iniciar a partir de las 18 semanas y se repiten cada 1-2 semanas. Los valores entre 1,29 y 1,5 MoM se correlacionan con anemia leve y aquellos iguales o mayores a 1,5 MoM con anemia fetal moderada y severa (30). Esta metodología está especialmente destinada a evaluar fetos sin prehidrops ni hidrops; requiere de alta especialización y amplio dominio de la técnica por parte del examinador. Una vez encontrado un valor de Vmax ACM igual o mayor a 1,5 MoM, debe procederse a cordocentesis y terapia intrauterina o interrupción del embarazo. A nuestro juicio solo debe ser utilizado en centros donde sea posible proceder a acciones inmediatas una vez obtenido un resultado que sugiere anemia severa, siendo por ello no recomendable en aquellos casos en que para efectuar terapia fetal deba procederse al traslado del paciente a otro centro. Pese a que pueden encontrarse tablas con valores normales de Vmax hasta las 40 semanas, se ha comunicado que sobre las 35 semanas existe un aumento de los falsos positivos (31). En embarazos sobre 35 semanas debe considerarse la evaluación por espectrofotometría de bilirrubina en líquido amniótico (18).

Tabla VIII
MEDIANA, 1,29 Y 1,5 MOM DE VMAX DE ARTERIA CEREBRAL MEDIA

Edad gestacional (semanas)	Mediana MoM (cm/seg)	1,29 MoM (cm/seg)	1,5 MoM (cm/seg)
18	23,2	29,9	34,8
20	25,5	32,8	38,2
22	29,9	36,0	41,9
24	30,7	39,5	46,0
26	33,6	43,3	50,4
28	36,9	43,3	50,4
30	40,5	52,2	60,7
32	44,4	57,3	66,6
34	48,7	62,9	73,1
36	53,5	69,0	80,2

Adaptado de: Mari G y cols. Noninvasive diagnosis by Doppler ultrasonography of fetal anemia due to maternal red-cell alloimmunization. N Engl J Med 2000;342(1):9-14.

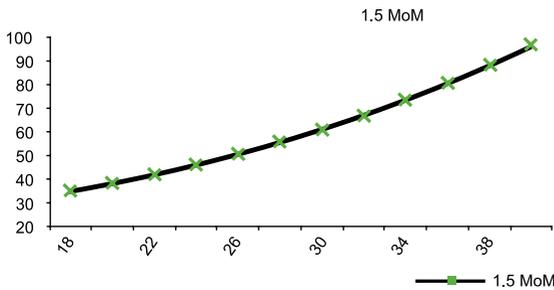


Figura 3. Mediana y 1,5 MoM de Vmax ACM.

Cordocentesis. El ideal en la evaluación de la anemia fetal es conocer los valores del hematocrito o la hemoglobina de éste, sin embargo ello solo es factible a través de la obtención directa de sangre fetal. El procedimiento no fue posible hasta la década de los 80, en que se pudo identificar el cordón umbilical fetal mediante ultrasonografía. Un tiempo antes, Rodeck (32) comunicó su experiencia en la obtención de sangre fetal y transfusión intrauterina mediante fetoscopia, la que finalmente se abandonó por su alta tasa de complicaciones. La técnica tal cual la conocemos hoy fue descrita por Bang (33) y luego desarrollada por Daffos (34) y consiste en la punción del cordón umbilical fetal con una aguja de punción espinal calibre 20-22 manteniendo una visión ultrasonográfica continua. La técnica más usada es la de "manos libres", en la que el mismo operador efectúa la punción y manipula el transductor sin recurrir a ningún tipo de guías o aparatos adicionales. Una vez en el cordón umbilical, se procede a la suave aspiración de la sangre fetal por medio de una jeringa, teniendo como sitios ideales la vena umbilical y una sección del cordón umbilical cercano a la placenta dado que la punción es más difícil en un asa libre de éste. La experiencia señala que una vez en el vaso la sangre fluye casi espontáneamente y que es más fácil la aspiración utilizando jeringas de 1-3 ml. El procedimiento no está exento de complicaciones y en el manejo de la EHP, está reservado como procedimiento pretransfusional y bajo manos expertas. El porcentaje de pérdidas fetales medidas hasta las dos semanas posprocedimiento oscilan desde un 1% cuando la indicación es genética o de diagnóstico prenatal hasta un 25% cuando el feto está hidrópico (35). Una vez obtenida la muestra de sangre se procede a medir el hematocrito o hemoglobina para determinar el grado de anemia fetal. La Tabla IX proporcionan los valores normales de hemoglobina y hematocrito fetal para diferentes edades gestacionales (36).

PREVENCIÓN DE LA ISOINMUNIZACIÓN RH: PROFILAXIS ANTI-D

La disponibilidad y uso de profilaxis anti D ha significado el mayor avance en la disminución de la morbimortalidad por EHP, convirtiéndola en una enfermedad prevenible, responsable en buena parte de la caída en 100 veces de la mortalidad perinatal. Con el uso de profilaxis anti D, el riesgo de sensibilización como consecuencia de un embarazo se ha reducido en Canadá al 1-2% de las madres RhD negativo, estimándose que la mayor parte de estas sensibilizaciones se ha debido a una insuficiente o inadecuada profilaxis más que a una falla de ésta. Von Dungern sienta las bases de la terapia con inmunoglobulinas al describir la ausencia de respuesta inmune al inyectar conejos con glóbulos rojos de vacuno junto a anticuerpos contra glóbulos rojos de vacuno. Este principio fue utilizado por Freda y Gorman (13) en 1964 en su clásico experimento de inhibición de la respuesta en hombres RhD negativo convictos en la cárcel de Sing-Sing, inyectados con glóbulos rojos RhD positivos e inmunoglobulina anti D. Luego siguieron los estudios en mujeres RhD negativos y dando todos ellos resultados alentadores tal como el estudio canadiense dirigido por Chown (38) en que se enrolaron madres RhD negativo con hijos RhD positivo y ABO compatibles. Como resultado de estos estudios, el uso de IgG anti D fue aprobado en Norteamérica en 1968. La IgG anti D es de origen humano y los frascos ampolla contienen entre 250 y 300 ug de IgG anti D la que se administra por vía intramuscular. Si la paciente no ha recibido la profilaxis en las primeras 72 horas pos evento, esta puede administrarse hasta cuatro semanas.

Las recomendaciones del uso de profilaxis con IgG anti D son:

- Embarazada RhD negativo, con progenitor del feto RhD (+) y CI negativo: dosis completa a las 26-28 semanas.
- Toda madre RhD negativo con RN RhD (+), con CD negativo de sangre de cordón: dosis completa independientemente del status ABO del RN.
- Toda madre RhD negativo no sensibilizada con mortinato que imposibilite conocer el Grupo, Rh y CD del producto: dosis completa.
- Embarazadas antiguamente clasificadas como Du positivo ó positivo débil: no requieren profilaxis anti D.
- Síntoma de aborto, aborto espontáneo o inducido: dosis completa.
- Embarazo ectópico o mola: dosis completa.
- Amniocentesis: dosis completa.
- Cordocentesis: dosis completa.

Tabla IX
VALORES NORMALES DE HEMOGLOBINA Y HEMATOCRITO FETAL POR EDAD GESTACIONAL

EG (semanas)	Hemoglobina (g/dl)			Hematocrito (%)		
	p 5	p 50	p 95	p 5	p 50	p 95
16	9,1	10,6	12,2	28,3	31,8	36,6
17	9,3	10,8	12,3	28,9	32,4	36,9
18	9,4	11,0	12,5	29,2	33,0	37,5
19	9,6	11,1	12,7	28,8	33,3	38,1
20	9,7	11,3	12,8	29,1	33,9	38,4
21	9,9	11,4	13,0	29,7	34,2	39,0
22	10,0	11,6	13,1	30,0	34,8	39,3
23	10,2	11,7	13,3	30,6	35,2	39,9
24	10,3	11,9	13,4	30,9	35,7	40,2
25	10,5	12,1	13,6	31,5	36,5	40,8
26	10,7	12,2	13,8	32,1	36,6	41,4
27	10,8	12,4	13,9	32,4	37,1	41,7
28	11,0	12,5	14,1	33,0	37,5	42,3
29	11,1	12,7	14,2	33,3	38,2	42,6
30	11,3	12,8	14,4	33,9	38,4	43,2
31	11,4	13,0	14,5	34,2	39,0	43,5
32	11,6	13,1	14,7	34,8	39,3	44,1
33	11,8	13,3	14,8	35,4	39,9	44,2
34	11,9	13,5	15,0	35,7	40,5	45,0
35	12,1	13,6	15,2	36,3	40,8	45,6
36	12,2	13,8	15,3	36,6	41,4	45,9
37	12,4	13,9	15,5	37,2	41,7	46,5
38	12,5	14,1	15,6	37,5	42,3	46,8
39	12,7	14,2	15,8	38,1	42,6	47,4
40	12,8	14,4	15,9	38,4	43,2	47,7

• Si se sospecha hemorragia feto-materna importante: 300 ug de IgG por cada 30 ml de sangre fetal, lo que se calcula por medio de la prueba de Kleihauer-Betke.

MANEJO DE LA EMBARAZADA RhD NEGATIVO

Para un adecuado manejo de la embarazada y su feto no solo es necesario conocer las diferentes etapas de la EHP sino que además se requiere que el especialista determine hasta que nivel de complejidad avanzará de acuerdo disponibilidad de las siguientes condiciones: laboratorio clínico capaz de efectuar test de coombs indirecto y su titulación; laboratorio clínico capacitado en realizar espectrofotometría en líquido amniótico; capacidad de efectuar amniocentesis guiada por ultrasonido; capacidad de estudio de velocimetría doppler de arteria cerebral media; capacidad de efectuar cordocentesis y TIU; capacidad del banco de sangre para preparar sangre para la TIU; unidad de neonatología capacitada para fototerapia, exsanguíneo-transfusión y atención de prematuros.

Toda embarazada, independiente de si es RhD negativo o positivo, debe ser evaluada en el primer control prenatal con un CI. Si este es positivo y la paciente es RhD (+), debe solicitarse de inmediato la determinación de anticuerpos irregulares. El manejo de esta condición depende del anticuerpo presente. Las embarazadas RhD (-) podrán de acuerdo al Coombs ser inmediatamente diferenciadas en aquellas que inician su embarazo no sensibilizadas de aquellas que lo hacen sensibilizadas.

De una manera práctica, las embarazos RhD (-) pueden clasificarse en:

- no sensibilizadas
- sensibilizadas intraembarazo
- sensibilizadas preembarazo con o sin historia de EHP previa

Embarazada RhD negativo no sensibilizada: Es imperativa la determinación de la condición RhD del progenitor, ya que si éste es RhD (-), no hay riesgo de incompatibilidad sanguínea al antígeno D y el embarazo podrá controlarse en forma habitual. Si el progenitor es RhD (+) o se desconoce su status

RhD, el objetivo del control prenatal puede dividirse en:

- Identificación de las embarazadas que se sensibilizan intraembarazo (2%).
- Medidas en el embarazo y parto que disminuyan el riesgo de sensibilización.
- Profilaxis intraembarazo con gama globulina anti D a las no sensibilizadas.
- Profilaxis posparto a las embarazadas en riesgo de sensibilización (1,5-16%).

Identificación de las embarazadas que se sensibilizan intraembarazo: Como se ha señalado anteriormente, aproximadamente un 2% de las embarazadas con feto RhD (+), desarrollarán una respuesta inmune durante el embarazo, la que ocurre habitualmente después de las 28 semanas de gestación. La manera de identificar a este grupo de pacientes, es efectuar CI en forma periódica. La secuencia recomendada es efectuar el segundo examen alrededor de las 22-24 semanas y repetirlo cada 4 semanas hasta el término del embarazo. En el momento en que el Coombs se hace positivo, el status de la paciente ha cambiado pasando a la categoría de "sensibilizada intraembarazo" y deberá seguir el manejo especializado. Si el Coombs permanece negativo, no hay indicación de interrupción del embarazo por el solo hecho de que la madre sea RhD (-).

Medidas en el embarazo y parto que disminuyan el riesgo de sensibilización: Especial cuidado deberá tomarse ante la necesidad de efectuar amniocentesis, versión externa u otros procedimientos que pueden provocar hemorragia feto-materna (ej: biopsia de vellosidades coriales). En la atención del parto de las embarazadas RhD (-) no sensibilizadas debe omitirse el estrujamiento del cordón umbilical luego de la sección de éste y toda maniobra innecesaria para acelerar el desprendimiento placentario ya que igualmente incrementan el riesgo de ocurrencia y la cuantía de la hemorragia feto-materna.

Profilaxis intraembarazo y posparto con gama globulina anti-D. Existe actualmente clara indicación de administrar profilaxis anti D frente a situaciones que provocan o aumentan el riesgo de hemorragia transplacentaria. La dosis actualmente recomendada es de 250-300 ug de inmunoglobulina anti D, (IgG anti D), dosis que neutraliza 30 ml de sangre fetal. Deberá ajustarse la dosis si se comprueba hemorragia transplacentaria de mayor cuantía.

Está demostrado que la única medida para controlar el riesgo de sensibilización intraembarazo es la profilaxis universal con 250-300 ug de IgG anti D a las 26-28 semanas (37). Debe considerarse que por cada 100 veces que se administra se evitan un máximo de dos casos de sensibilización. No hay

evidencia científica suficiente para repetir la dosis de IgG anti D si han transcurrido más de 12 semanas desde la profilaxis y no ha ocurrido el parto.

La administración de IgG anti D generalmente no produce positividad del Coombs indirecto y si lo hace, los títulos son habitualmente menores o iguales a 1:4. La recomendación actual es no repetir títulos una vez administrada la IgG anti D. Una vez ocurrido el parto, si el recién nacido es RhD (+) y el CD es negativo debe procederse a la profilaxis posparto.

Una vez ocurrido el parto se debe efectuar Grupo, Rh y CD en sangre de cordón. Si el recién nacido es RhD (-), la madre no requiere profilaxis. Si el recién nacido es RhD (+), y el CD es negativo, la madre debe recibir 250-300 ug de IgG anti D como profilaxis. Aunque hay diferencia en el riesgo de sensibilización, si hay compatibilidad o incompatibilidad ABO feto-materna, siempre deberá administrarse la profilaxis independientemente de esta condición (Figura 4). Si el CD es positivo, ha ocurrido sensibilización intraembarazo y la profilaxis materna no tendrá ningún efecto protector frente a un próximo embarazo por lo que ésta no debe administrarse.

Embarazada RhD negativo sensibilizada intraembarazo: Definimos así a una embarazada RhD (-) que ha iniciado su embarazo con un CI negativo y que presenta una positivización de éste en cualquier momento del embarazo. El riesgo de este acontecimiento es de un 2% si hay compatibilidad del sistema ABO entre la madre y el feto.

El desafío del manejo de las embarazadas que se sensibilizan intraembarazo, es diagnosticar tempranamente aquellos fetos que se beneficiarán de terapia intrauterina ó de interrupción electiva del embarazo de aquellos que solo presentarán una EHP leve y que pueden nacer a término. La gran mayoría de los casos estarán en esta última categoría.

El riesgo de hidrops en pacientes sensibilizadas intraembarazo es menor al 10% (23), de manera que es factible organizar el manejo de embarazadas RhD negativo sensibilizadas intraembarazo en centros que no cuenten con la capacidad de efectuar transfusiones intrauterinas, siendo requisito para ello un adecuado y expedito sistema de derivación de pacientes en riesgo de EHP severa.

Si durante el control seriado de CI éste se hace positivo, ha ocurrido una sensibilización intraembarazo. Estas embarazadas tienen riesgo de recién nacidos con enfermedad leve o moderada, pero excepcionalmente severa y su manejo puede efectuarse basándose en los diferentes valores de las titulaciones del Coombs. Una vez que el CI se ha hecho positivo y titulado, se repite cada

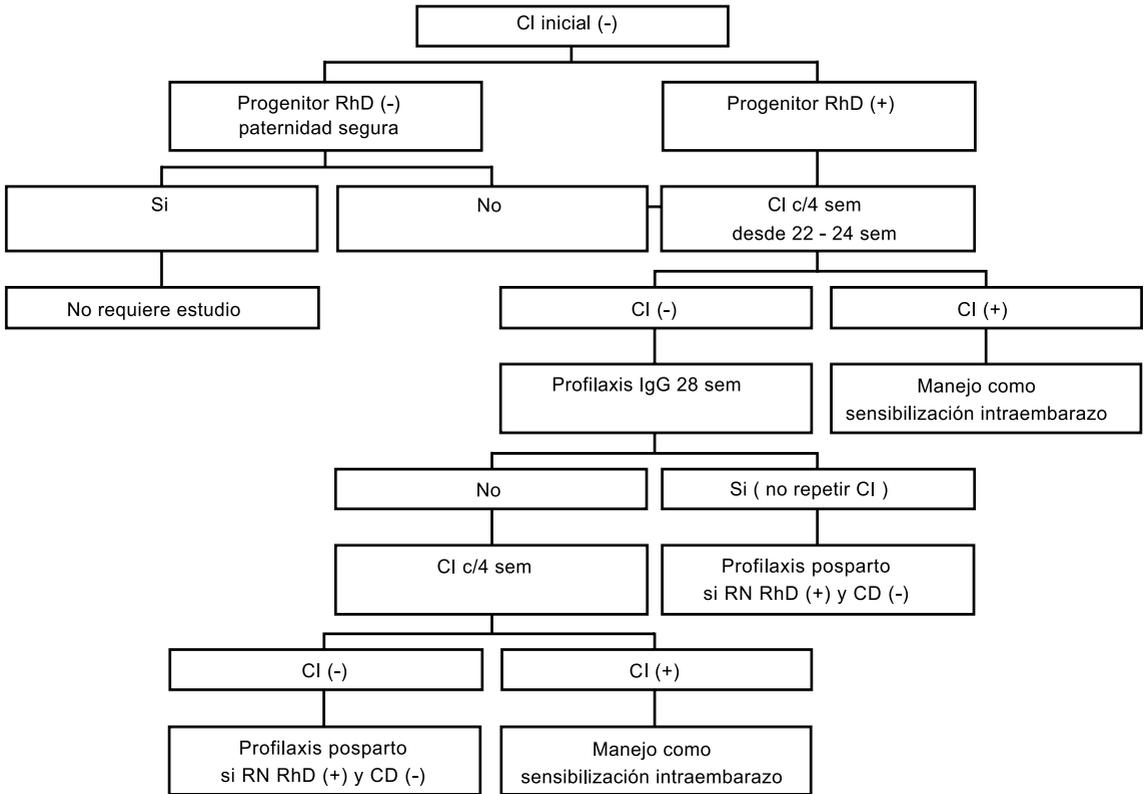


Figura 4. Flujograma Manejo RhD (-) no sensibilizada.

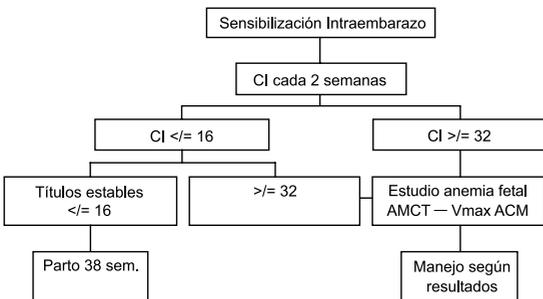


Figura 5. Flujograma manejo RhD (-) sensibilizada intraembarazo. Manejo basado en los títulos de Coombs

dos semanas. Habitualmente se usa 1/16 - 1/32 como el valor de corte para el manejo sin avanzar en otras modalidades de estudio de anemia fetal como amniocentesis o Vmax de ACM. El valor de corte debiera ser local y nacer de una evaluación retrospectiva del valor predictivo negativo 100% para enfermedad hemolítica neonatal moderada/severa, dado que bajo el título crítico, la conducta

obstétrica será la interrupción del embarazo cercana al término y no antes. Las variaciones de los títulos en una dilución en cualquier dirección son frecuentes y se deben especialmente a consideraciones técnicas.

La mayoría de los centros utilizan 1/32 como el valor crítico para iniciar el estudio de anemia fetal con las otras técnicas más arriba descritas. Si el embarazo se mantiene con títulos iguales o menores a 1/16, el parto se programa electivamente a término. Una vez alcanzado el título crítico, no deben efectuarse nuevas titulaciones y el manejo dependerá de la técnica de evaluación de anemia que se haya decidido utilizar.

Embarazada RhD negativo sensibilizada preembarazo: Este grupo de pacientes ha sido denominado de diferentes maneras: “con historia de EHP previa”, “con feto o recién nacido previo afectado” etc. La distinción que nosotros usamos se basa en el hecho uniforme de que estas pacientes se presentan con una prueba de CI positiva con detección de anticuerpos anti D, desde el inicio del embarazo independientemente de su historia obstétrica previa. Si el feto es RhD (+), las embarazadas desarrollarán una

potente respuesta secundaria anti D, con alto riesgo subsiguiente de EHP severa.

Aunque no siempre será posible obtener una historia perinatal de enfermedad hemolítica por isoimmunización Rh, siempre debe efectuarse una detallada anamnesis en búsqueda de elementos que orienten sobre la severidad de ésta. Si una paciente ha presentado hidrops fetal en su gestación anterior, el riesgo de repetición es del 90% (23). Siempre deberá investigarse sobre: abortos espontáneos/inducidos y la edad gestacional de éstos; uso de profilaxis anti D; número de embarazos previos; edad gestacional del o los partos; edad gestacional del diagnóstico de EHP en el último embarazo; severidad de la EHP previa; transfusiones intrauterinas previas; mortinatos y mortineonatos.

Se debe anticipar siempre un nuevo episodio de EHP cada vez que exista historia previa. En la práctica clínica de los autores, usamos el axioma "*la enfermedad hemolítica se repite a igual intensidad del episodio previo, con una antelación de cuatro semanas*". Este axioma permite anticipar eventos basado en la historia perinatal y con ello formular un flujograma de estudio y manejo individualizado que también debe contemplar el traslado a un centro terciario en caso necesario.

Una vez constatada la presencia de anticuerpos anti D al inicio del embarazo, independientemente del título de éstos, no deben repetirse. Al contrario de la situación en la sensibilización intraembarazo no existe una relación lineal entre títulos y gravedad de EHP cuando estamos frente a una paciente sensibilizada preembarazo.

Especial relevancia adquiere la ecografía en el seguimiento de este grupo de pacientes. El entrenamiento y experiencia del ecografista es esencial en el adecuado control, evaluación, manejo y terapia de estas pacientes. Para lograr el éxito terapéutico esperado hoy día, cercano al 90% de sobrevida en fetos sometidos a terapia intrauterina, es imprescindible no solo un equipamiento ultrasonográfico adecuado, sino también un ecografista experimentado y entrenado.

Manejo basado en la espectrofotometría de bilirrubina en líquido amniótico. Este era el manejo antes de la incorporación de la evaluación fetal a través de la velocimetría de la arteria cerebral media. Si se ha de adoptar, todas las pacientes deberán ser sometidas en algún momento a amniocentesis, dependiendo fundamentalmente de la historia previa, los hallazgos de la ecografía y condiciones locales como por ejemplo necesidad o no de traslado a un centro terciario alejado de la residencia habitual de la paciente. Siempre debe primar el criterio de efectuar las mínimas amniocentesis necesarias,

dado que el procedimiento no está exento de complicaciones y se realizará bajo visión ecográfica. Recomendamos el uso de la curva de Queenan cuando hay historia de EHP moderada o severa antes de las 28 semanas de gestación.

Manejo basado en Vmax de arteria cerebral media. Si el centro es experimentado, bien equipado y con personal entrenado en Doppler, es perfectamente factible seguir estas pacientes con esta metodología. Es adecuado reiterar que no recomendamos su uso si no está disponible la terapia intrauterina o la capacidad de interrupción del embarazo para terapia posnatal, dado que una vez alcanzado un valor de Vmax de ACM mayor o igual a 1,5 MoM, la hipótesis es que el feto presenta anemia moderada a severa, aun cuando no presente alteraciones al ultrasonido. Asimismo debe recordarse que esta metodología está reservada para fetos sin hidrops ni prehidrops y que los valores sobre 35 semanas no están adecuadamente validados (31).

Cordocentesis. Todo centro que decida manejar integralmente embarazadas RhD negativo sensibilizadas pre-embarazo, debe estar capacitado para efectuar cordocentesis y transfusión intrauterina. En nuestro centro la cordocentesis es un procedimiento pretransfusional. Antes de la incorporación de la evaluación fetal por Vmax de ACM, las indicaciones no pretransfusionales principales eran discordancia del estudio de espectrofotometría con evaluación ultrasonográfica de feto prehidrópico, contaminación de líquido amniótico con sangre o meconio y ocasionalmente placenta anterior no factible de evitar por la amniocentesis.

Transfusión intrauterina intraperitoneal (TIU IP). La idea de tratar al feto a través de la transfusión intrauterina de glóbulos rojos RhD negativos de manera que evitar la hemólisis, solo pudo ser resuelta técnicamente en la década de los 60 por Liley. La técnica consistía en instilar un fármaco radiopaco por amniocentesis y efectuar luego una radiografía simple de abdomen. El contorno del feto se mostraba por la adherencia del fármaco a la piel y a su vez por efecto de la deglución del fármaco se evidenciaban las asas intestinales. Luego guiado por esta información, a través de la piel materna puncionaba el abdomen fetal con un trocar, colocando un catéter a través del cual se transfundían glóbulos rojos RhD negativos. Esta técnica significó un avance espectacular para la sobrevida de fetos en riesgo de hidrops; hoy día está reservada a aquellos casos excepcionales de necesidad de transfusión antes de las 19-20 semanas de edad gestacional y se efectúa bajo visión ecográfica continua y con agujas de cordocentesis largas.

Los glóbulos rojos se absorben rápidamente,

10-12% por cada 24 horas, y clásicamente el intervalo entre la primera y segunda transfusión es de 7-12 días y las siguientes cada 3-4 semanas. Los procedimientos se efectuaban sin conocer el hematocrito fetal y dada la inevitable contaminación del líquido amniótico con sangre, era inoperante efectuar espectrofotometría de bilirrubina en líquido amniótico como control de la evolución de la enfermedad.

La técnica estaba reservada a fetos en zona C de Liley antes de las 34 semanas. Los peores resultados se obtenían con aquellos fetos hidróticos en los que la absorción de glóbulos rojos instilados en el peritoneo era nula o escasa. Como resultado de la técnica se reportaron complicaciones traumáticas fetales ocasionalmente fatales. Usualmente la última transfusión es a las 32 semanas y la interrupción del embarazo a las 35 semanas de edad gestacional. La transfusión intraperitoneal presenta los siguientes problemas: riesgo de traumatismo fetal; se desconoce el hematocrito/ hemoglobina fetal pre o postransfusional; malos resultados en fetos hidróticos o con ascitis; procedimientos se repiten en forma estandarizada.

Transfusión intrauterina intravascular (TIU IV).

El paso terapéutico siguiente fue la transfusión intravascular. Hubo intentos de transfundir al feto exteriorizando el cordón umbilical a través de una histerotomía pero el procedimiento debió abandonarse por la alta tasa de complicaciones. En 1981, Rodeck (32) comunica la técnica de transfusión intravascular al cordón guiada por fetoscopia. Sin embargo, el éxito del procedimiento era muy dependiente del operador y de otros factores como las características de visibilidad dependientes de la turbiedad o contaminación del líquido amniótico con meconio o sangre. Con el avance del ultrasonido fue posible acceder al cordón umbilical por cordocentesis y de allí fue un solo paso la transfusión directa de glóbulos rojos al torrente circulatorio fetal. Hoy día casi todos los centros utilizan la técnica de transfusión al cordón umbilical, aunque algunos centros europeos prefieren la punción transhepática de la vena umbilical. Este último procedimiento tiene la ventaja de lograr una firme fijación de la aguja de punción y la hemos utilizado cuando el cordón no es accesible. Si el feto presenta mucha movilidad, se puede administrar un relajante muscular en cuanto se ha puncionado el cordón o intramuscular al feto. Generalmente se utiliza Pancuronio 0,1mg por kilo de peso fetal estimado.

La técnica de transfusión es la misma que de cordocentesis con sedación materna y anestesia local. Se utiliza un trocar 20-22 espinal, el largo dependerá de la profundidad del objetivo, la técnica

es más fácil con trocar corto. Una vez alcanzado el vaso del cordón se aspira suavemente con una jeringa de tuberculina o de 3 ml para efectuar hematocrito o hemoglobina. Cuando se está correctamente en el vaso, la sangre fetal fluye fácilmente, casi sin necesidad de aspirar. Se puede inyectar solución fisiológica a través del trocar para observar por ultrasonido un típico destello en el cordón que confirma la correcta posición del trocar. Se aspiran de la bolsa 10 ml de glóbulos rojos y luego se transfunden. La velocidad de transfusión es de 10 ml en uno a dos minutos y siempre debe verse el destello antes señalado. Si no se observa o cambia la presión para transfundir se debe detener inmediatamente la transfusión, dado que la aguja se puede haber salido a la cavidad amniótica o por el contrario estar inserta en la gelatina de Warton con riesgo de provocar un hematoma del cordón que puede tener fatales consecuencias. Cuando el feto es viable se administran corticoides para inducción de madurez fetal pulmonar y se debe coordinar con la unidad de neonatología una eventual interrupción de emergencia. La transfusión es monitoreada permanentemente por ultrasonido observando la correcta posición del trocar y la frecuencia cardíaca fetal. Si aparece bradicardia se suspende momentáneamente la transfusión, la que se reinicia una vez que ésta cede. Una vez alcanzado el volumen de transfusión deseado, se toma una nueva muestra para hematocrito/hemoglobina de control. El médico a cargo del ultrasonido es vital para el buen éxito del procedimiento.

El objetivo de la transfusión no es lograr la corrección total de la anemia en una sola transfusión sino aportar glóbulos rojos RhD negativos sin dañar al feto, teniendo siempre en cuenta la factibilidad de realizar TIUs en días consecutivos hasta alcanzar el hematocrito deseado. El feto no tolera grandes volúmenes en cada transfusión especialmente si está hidrótico, nosotros usamos un volumen máximo de 50 ml de glóbulos rojos por cada kilo de peso fetal estimado en fetos sin hidrops y de 30 ml por kilo ideal de peso fetal ideal en fetos hidróticos. El volumen máximo a transfundir no debe confundirse con el volumen requerido para la corrección de la anemia; este dependerá del hematocrito/hemoglobina fetal al inicio de la transfusión y el hematocrito de la sangre a transfundir, el que idealmente debe ser alrededor de 75%. Una manera práctica es la recomendada por Moise (18), para un hematocrito de la bolsa de 75% y que utiliza el peso fetal estimado multiplicado por un coeficiente transfusional por tramos de hematocrito a corregir (Tabla X) (fetos sin hidrops: 50 ml por kg de peso fetal estimado; fetos con hidrops: 30 ml por kilo de peso fetal en p50

para la edad gestacional). Esto es posible de calcular conociendo el hematocrito inicial y calculando el peso fetal por ecografía. En fetos hidróticos se utiliza el peso fetal ideal para la edad gestacional dado que el peso fetal está en estos casos aumentado por el ascitis con el consiguiente aumento del perímetro abdominal.

Tabla X
VOLUMEN TRANSFUSIONAL REQUERIDO PARA LA CORRECCIÓN DE ANEMIA (HEMATOCRITO DE LA BOLSA DE 75%)

Incremento de hematocrito a corregir (%)	Coefficiente transfusional (ml x kg de peso fetal)
10	0,02
15	0,03
20	0,04
25	0,05
30	0,06

La indicación de transfusión es un hematocrito fetal menor a 30% o menor al percentil 5 para la edad gestacional. Completada la transfusión, en fetos sobre la viabilidad neonatal, se efectúa una monitorización fetal electrónica que se mantiene por aproximadamente una hora, vigilando especialmente la aparición de bradicardia y desaceleraciones tardías. Al día siguiente se realiza una nueva evaluación ecográfica con evaluación de Vmax de ACM, la que se normalizará a medida que se corrija la anemia (39). Una vez alcanzado el hematocrito ideal, en una o varias transfusiones seriadas, se estima una caída del hematocrito en 1% diario. Se planifica la próxima TIU IV cuando se estima que el hematocrito ha llegado a 30% desde el hematocrito transfusional final. La decisión de planificar la siguiente TIU con Vmax de ACM está basada en que luego de la corrección del hematocrito, los valores de Vmax ACM descienden para luego aumentar a medida que se reestablece la anemia fetal. Cuando se utiliza Vmax ACM, se recomienda un corte de 1,39 MoM para decidir la siguiente TIU (39). Normalmente se realiza TIU hasta las 34 semanas y se planifica la interrupción para dos semanas después (Figura 6).

Como consecuencia de la profilaxis anti D, el número de embarazadas RhD negativo sensibilizadas ha disminuido y con las técnicas descritas la sobrevida en fetos no hidróticos debe alcanzar sobre el 90% y cerca de 80% en los hidróticos. Las terapias intrauterinas deben estar concentradas en centros que reúnan no solo las mejores características técnicas, sino también la necesaria

experiencia, lo que es ratificado por centros extranjeros y nacionales (40-43).

Las complicaciones generales más frecuentemente reportadas para transfusiones intraperitoneales e intravasculares son: infección materna o fetal; traumatismo materno o fetal; exsanguinación; desencadenamiento del parto; hemorragia feto-materna transplacentaria; reacción huésped-injerto. Las complicaciones específicas para TIU IP son la sobre transfusión con aumento de presión intraperitoneal y la oclusión del flujo venoso umbilical; para la TIU IV la sobre transfusión con falla cardíaca fetal y el hematoma del cordón umbilical y la obstrucción al flujo umbilical.

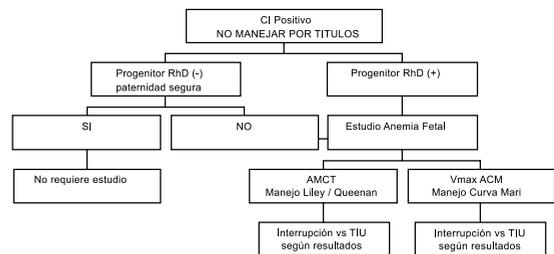


Figura 6. Flujograma de manejo RhD (-) sensibilizada preembarazo.

La sangre a transfundir debe ser glóbulos rojos RhD negativo, lavados, filtrados e irradiados, esto último para disminuir el riesgo de reacción huésped-injerto. Deben efectuarse las pruebas cruzadas con la madre y todas las pruebas serológicas que exige todo procedimiento transfusional. Los glóbulos rojos se concentran con un hematocrito alrededor de 75-80%.

Electivamente se interrumpe el embarazo alrededor de las 36-38 semanas. No hay contraindicación formal a un parto vaginal, el que debe ser monitorizado en forma permanente con especial atención a registros sinusoidales. El parto debe ocurrir en un centro que cuente con unidad de recién nacido adecuadamente equipada y con personal entrenado.

Otras terapias. Clásicamente se mencionan como alternativas la plasmaféresis y administración de inmunoglobulina hiperinmune. Estos tratamientos alternativos deben estar reservados para pacientes con historia perinatal de inicio de hidrops antes de las 20 semanas. Ninguna de las dos está suficientemente validada siendo la plasmaféresis la que hoy día menos se emplea. Moise (18) comunica un protocolo en su institución que combina plasmaféresis e inmunoglobulina hiperinmune a partir de las 10 semanas de gestación para pacientes con

historia de pérdida perinatal previa por enfermedad hemolítica antes de las 20 semanas.

El uso de gamablobulina hiperinmune fue propiciado por Margulies (44) y se basa en el hecho que altas dosis de este fármaco producirían un bloqueo de los receptores Fc placentarios y del sistema retículo endotelial fetal, disminuyendo el efecto hemolítico. La dosis recomendada por éste es 1 g/kg en forma semanal. El extremadamente alto costo de esta terapia ha limitado su uso, estando reservada a pacientes con historia de enfermedad hemolítica severa antes de las 20 semanas. Las pacientes así tratadas consiguen avanzar en edad gestacional para recibir luego terapia transfusional.

Resultados perinatales. La sobrevida depende de la capacidad de manejo de cada centro perinatal. El manejo neonatal es especializado, combinando la necesidad de fototerapia, exanguíneo transfusión, reposición seriada de glóbulos rojos y eritropoyetina. La serie más larga reportada de sobrevida pertenece a la Universidad de Leyden, Holanda (45), con sobrevida de 89% en un total en 740 transfusiones a 254 fetos, que en presencia de hidrops descendió a 78% (hidrops leve 98%; hidrops severo 55%). En términos de resultado a largo plazo, se ha reportado desarrollo neurológi-

co normal de los recién nacidos tratados con TIU (46), con una incidencia algo mayor de hipoacusia, probablemente secundaria a los altos niveles de bilirrubina a los que estuvieron expuestos. Una reciente comunicación sugiere que estos niños tienen un tamaño cardíaco más pequeño que lo esperado para su edad, sin repercusión en la función miocárdica (47).

SENSIBILIZACIÓN A OTROS ANTICUERPOS IRREGULARES

Como consecuencia de la disminución en la incidencia de la enfermedad hemolítica por isoimmunización anti D, ha cobrado relevancia aquella secundaria a anticuerpos contra otros antígenos del glóbulo rojo fetal, los que pueden ser del sistema Rh, diferentes de D, u otros. El clínico debe estar preparado a identificar estos anticuerpos toda vez que aparezca en una embarazada una prueba de CI positiva y que el anticuerpo no sea anti D, para lo cual es imprescindible contar con un adecuado laboratorio o banco de sangre para su estudio. En la Tabla XI se listan diferentes anticuerpos posibles de encontrar y el grado de enfermedad hemolítica que pueden ocasionar.

Tabla XI
OTROS ANTICUERPOS IRREGULARES Y RIESGO DE PRODUCIR ENFERMEDAD HEMOLÍTICA PERINATAL

Frecuentes	Enfermedad hemolítica perinatal
c (cE)	Alta incidencia, enfermedad frecuente, puede ser severa
Kell	Alta incidencia, enfermedad infrecuente pero si se presenta puede ser severa
E	Alta incidencia, enfermedad infrecuente, generalmente leve, raramente severa
C (Ce, Cw)	Incidencia moderada, enfermedad frecuente, generalmente leve, raramente severa
Infrecuentes	
K	Infrecuente, si está presente puede ser severa
Kp ^a (Kpb)	Infrecuente, enfermedad raramente severa
JK ^a	Infrecuente, enfermedad raramente severa
Fy ^a	Infrecuente, generalmente enfermedad leve que puede requerir tratamiento, raramente severa
S	Infrecuente, generalmente enfermedad leve que puede requerir tratamiento, raramente severa
Raramente presentes	
s, U, M, Fy ^b , Do ^a , Di ^a , Di ^b , Lu ^a , Yt ^a , Jk ^b	Raramente presentes, en general no causan EHP
Nunca causan EHP	
Le ^a , Le ^b , P	Nunca causan EHP

Adaptado de: Bowman JM (26).

El manejo de estas pacientes tiene algunas particularidades. Dado que no existe una correlación directa entre títulos y grado de enfermedad hemolítica, el manejo no se efectúa con titulaciones de CI. En presencia de un anticuerpo capaz de producir enfermedad hemolítica moderada o severa, la paciente debe ser manejada con técnicas para diagnosticar anemia fetal (ΔDO 450 ó V_{max} ACM). La sensibilización anti Kell merece un acápice especial, dado que al producir anemia por un doble mecanismo de hemólisis e inhibición de la eritropoyesis fetal, los niveles de bilirrubina en líquido amniótico no se correlacionan adecuadamente con el grado de anemia fetal; hoy día debe manejarse con V_{max} de ACM.

CONCLUSIONES

Hace 50 años la mortalidad por EHP era del 50% de las embarazadas sensibilizadas. Hemos recorrido en corto tiempo un largo y esforzado camino en el que han contribuido diferentes actores, llegando hoy a poder y deber ofrecer sobrevida de hasta un 80% en el peor de los escenarios, como es el hidrops fetal antes de las 32 semanas. La disminución en la incidencia de la enfermedad en todas sus formas, ha derivado en que la experiencia en el manejo de las formas severas se ha concentrado en centros especializados para obtener los resultados que la sociedad y las pacientes demandan. La EHP por isoimmunización RhD ha disminuido considerablemente, sin embargo, siempre se mantendrá como un paradigma de la perinatología.

BIBLIOGRAFÍA

- Diamond LK, Blackfan KD, Batty JM. Erythroblastosis fetalis and its association with universal edema of the fetus, icterus gravis neonatorum and anemia of the newborn. *J Pediatr* 1932;1:512.
- Darrow RR. Icterus gravis neonatorum. Examination of etiologic considerations. *Arch Pathol* 1938;25:378.
- Landsteiner K, Wiener AS. An agglutinable factor in human blood recognized by immune sera for Rhesus blood. *Proc Soc Exp Biol Med* 1940;43:223.
- Levine P. The role of isoimmunization in transfusion accidents in pregnancy and erythroblastosis fetalis. *Am J Obstet Gynecol* 1941;42:165.
- Wallerstein H. The treatment of erythroblastosis fetalis by substitution transfusion. *Blood* 1948;3(2):170-9.
- Allen FH, Diamond LK, Vaughan JC. Erythroblastosis fetalis: VI. Prevention of kernicterus. *Am J Dis Child* 1950;80:779-91.
- Allen FH Jr. Induction of labor in the management of erythroblastosis fetalis. *Quatr Rev Pediat* 1950;12:1-5.
- Chown B, Bowmann WD. The place of early delivery in the prevention of fetal death from erythroblastosis. *Pediatr Clin North Am* 1958;279-85.
- Cremer RJ, Perryman PW, Richards DH. Influence of light on the hiperbilirubinaemia of infants. *Lancet* 1958;1:1094-7.
- Liley AW. Liquor amni analysis in the management of the pregnancy complicated by RhDesus sensitization. *Am J Obstet Gynecol* 1961;82:1359-70.
- Bevis DCA. The antenatal prediction of haemolytic disease of the newborn. *Lancet* 1952;1:395-8.
- Liley AW. Intrauterine transfusion of the foetus in haemolytic disease. *Br Med J* 1963;2:1107-9.
- Freda VJ, Gorman JG, Pollak W. Successful prevention of experimental RhD immunization in man with gamma 2 globulin antibody preparation. *Transfusion* 1964;4:26-32.
- Race RR. The RhD genotype and Fisher's theory. *Blood* 1948;3:27-42.
- Simsek S, Fass BH, Bleeker PM, *et al.* Rapid Rh D genotyping by polymerase chain reaction-based amplification of DNA. *Blood* 1995;85:2975-80.
- Lo YMD, Tein MS, Lau TK, Haines CJ, Leung TN, Poon PM, *et al.* Quantitative analysis of fetal DNA in maternal plasma and serum: implications for non invasive prenatal diagnosis. *Am J Hum Genet* 1998;62:768-75.
- Finning KM, Martin PG, Soothill PW, Avent ND. Prediction of fetal D status from maternal plasma: introduction of a new noninvasive fetal RHD genotyping service. *Transfusión* 2002;42:1079-8.
- Moise KJ. Management of Rhesus Alloimmunization in Pregnancy. *Obstet Gynecol* 2008;112:164-76.
- Kleihauer E, Braun H, Betke K. Demonstration von fetalem hemoglobin in den erythrozyten eines blutausstriches. *Klin Wochenschrift* 1957;35:637-8.
- Bowman JM, Pollok JM, Penston LE. Fetomaternal transplacental hemorrhage during pregnancy and after delivery. *Vox Sang* 1986;51:117-21.
- Pollak W, Ascari WQ *et al.* Studies on RhD profilaxis. Relationship between doses of anti-Rh and size of antigenic stimulus. *Transfusion* 1971;11:333-9.
- Zipursky A, Israels LG. The pathogenesis and prevention of RhD immunization. *Can Med Assoc J* 1967;97:1245-57.
- Weiner K, Monagura A. Maternal alloimmunization and fetal hemolytic disease. *Clinical Obstetrics, The Fetus and Mother*. Reece A and Hobbins JC, 3d edition, Lippincot-Raven Publishers, 2007.
- Nicolini U, Poblete A. Blood biochemistry of RhD (-) alloimmunized fetuses undergoing serial intravascular transfusions (comunicación personal).
- Queenan JT, Tomai TP, Ural SH, King JC. Deviation in amniotic fluid optical density at a wavelength of 450 nm in RhD (-) immunized pregnancies from 14 to 40 weeks' gestation: A proposal for clinical management. *Am J Obstet Gynecol* 1993;168:1370-6.
- Bowman JM. Maternal alloimmunization and fetal hemolytic disease. En *Medicine of the fetus and mother*. Reece A & Hobbins JC. 2nd ed., Lippincot-Raven Pub. 1999
- Queenan JT. Rh-Disease: A perinatal success story. *Obstet Gynecol* 2002;100:405-6.
- Yamamoto M, Carrillo J, Insunza A, Mari G, Ville

- Y. Error introduced into velocity measurements by inappropriate Doppler angle assignment. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2006;28(6):853-4.
29. Mari G, for the Collaborative Group for Doppler Assessment of the Blood Velocity of Anemic Fetuses. Noninvasive diagnosis by Doppler ultrasonography of fetal anemia due to maternal red-cell alloimmunization. *N Engl J Med* 2000;342:9-14.
 30. Delle Chiaie L, Buck G, Grab D, Terinde R. Prediction of fetal anemia with Doppler measurement of the middle cerebral artery peak systolic velocity in pregnancies complicated by maternal blood group alloimmunization or parvovirus B19 infection. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology* 2001;18(3):232-6.
 31. Zimmermann R, Carpenter RJ, During P, Mari G. Longitudinal measurement of peak systolic velocity in the fetal middle cerebral artery for monitoring pregnancies complicated by red cell alloimmunization: a prospective multicentre trial with intention-to-treat. *BJOG* 2002;109:746-52.
 32. Rodeck CH, Holman CA, Karnicki J, Kemp JR, Whitmore DN, Austin MA. Direct intravascular fetal blood transfusion by fetoscopy in severe Rhesus isoimmunization. *Lancet* 1981;1:625-7.
 33. Bang J, Bock JE, Trolle D. Ultrasound-guided fetal intravenous transfusion for severe rhesus haemolytic disease. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1982;284(6313):373-4.
 34. Daffos F, Capella-Pavlosky M, Forestier F. Fetal blood sampling during pregnancy with use of a needle guided by ultrasound: a study of 606 consecutive cases. *Am J Obstet Gynecol* 1985;153:655-60.
 35. Maxwell DJ, Johnson P, Hurley P, Neales K, Allan L, Knott P. Fetal blood sampling and pregnancy loss in relation to indication. *Br J Obstet Gynaecol* 1991;98(9):892-7.
 36. Nicolaides KH, Soothill PW, Clewell WH, Rodeck CH, Mibashan RS, Campbell S. Fetal haemoglobin measurement in the assessment of red cell isoimmunization. *Lancet* 1988;1(8594):1073-5.
 37. Bowman JM. Controversies in Rh prophylaxis: who needs Rh immune globulin and when should it be given? *Am J Obstet Gynecol* 1985;151:289-94.
 38. Chown B, Duff AM, James J, *et al.* Prevention of primary Rh immunization: first report of the Western Canadian trial. *Can Med Assoc J* 1969;100:1021-4.
 39. Detti L, Oz U, Guney I, Ferguson JE, Bahado-Sing RO, Mari G. Doppler ultrasound velocimetry for timing the second intrauterine transfusion in fetuses with anemia from red cell alloimmunization. *Am J Obstet Gynecol* 2001;185:1048-51
 40. Oyarzún E, Gormaz G, González P, Rioseco A, Hernández A, Poblete A, *et al.* Transfusión intravascular en el manejo de la enfermedad hemolítica perinatal. Reevaluación de nuestra experiencia. *Rev Chil Obstet Ginecol* 1996;61(5):341-8.
 41. Insunza A, Behnke E, González F, *et al.* Estudio y tratamiento por transfusión intravascular de la enfermedad hemolítica severa por isoimmunización Rh. *Rev Chil Obstet Ginecol* 1995;60(6):391-402.
 42. Figueroa J, Parra M, Ruiz M, Contreras, Moretta S, Sáez J, Valderrama J, Uriz A. Isoimmunización Rh: evaluación de la utilidad del doppler de arteria cerebral media en la predicción y manejo de la anemia fetal. *Rev Chil Obstet Ginecol* 2003;68(3):197-206.
 43. Parra M, Schepeler M, Quiroz L, Pedraza D, Valdés E, Muñoz H, Cisternas D. Actualización en el diagnóstico y manejo de alteraciones hematológicas del feto. *Rev Chil Obstet Ginecol* 2005;70(1):33-40.
 44. Margulies M, Voto LS, Mathet E, Margulies M. High-dose intravenous IgG for the treatment of severe rhesus alloimmunization. *Vox Sanguinis* 1991;61(3):181-9.
 45. Van Kamp IL, Klumper FJ, Oepkes D, Merman RH, Scherjon SA, Vanderbussche FP, *et al.* Complications of intrauterine intravascular transfusion for fetal anemia due to maternal red-cell alloimmunization. *Am J Obstet Gynecol* 2005;192:171-7.
 46. Hudon L, Moise KJ Jr, Hegemier SE, Hill RM, Moise AA, Smith EO *et al.* Long term neurodevelopmental outcome after intrauterine transfusion for the treatment of fetal hemolytic disease. *Am J Obstet Gynecol* 1998;179:858-63.
 47. Dickinson JE, Sharpe J, Warner T, Nathan E, D'Orsogna L. Childhood cardiac function after severe maternal red cell isoimmunization. *Obstet Gynecol* 2010;116:851-7.
-