

INTRAUTERINA TRANSFUZIJA

Tončka Završnik, Vasilij Cerar

Uvod

Bolezen novorojenčka s hidropsom, zlatenico in anemijo so najprej prepoznali kot eno bolezen leta 1932. Levin s sodelavci je leta 1941 odkril vzrok anemije, ko so odkrili rhesus (Rh) protitelesa le na rdečih krvničkah prizadetih novorojenčkov. Sedem let pozneje je Chown dokazal transplacentarno fetomaternalno krvavitev kot vzrok za izoimunizacijo matere. Leta 1961 je postala hemolitična anemija prva ozdravljiva bolezen ploda, ko je Liley ugotovil potek bolezni in nato uspešno zdravil obolele plodove z intraperitonealno transfuzijo krvi. Preventivno imunizacijo Rh negativnih oseb z Rh pozitivnimi protitelesi je uvedel Freda leta 1964. Leta 1984 je Rodeck s sodelavci dosegel visoko preživetje hidropičnih plodov z intravaskularno transfuzijo.

Kljub tem pomembnim odkritjem in zdravljenjem pa ostaja hemolitična bolezen ploda resna bolezen in sodi le v roke specialista za fetomaternalne bolezni.

Incidenca

Hemolitična bolezen novorojenčkov zaradi Rh D izoimunizacije je bila nekoč med poglavitnimi dejavniki za perinatalnoubolevnost in umrljivost. Danes je dajanje hiperimunega gamaglobulina proti Rh D pomembno znižalo prevalenco bolezni in zdaj znaša en do šest primerov na 1000 živorojenih otrok.

Stopnja resnosti hemolitičnega bolezni ploda niha in sicer: od nobenih znakov ob rojstvu do fetalnega hidropsa in intrauterine smrti ploda, lahko že v 17. tednu nosečnosti.

Brez kakršnega koli zdravljenja 45–50% otrok nosečnic z izoimunizacijo nima znakov anemije ob rojstvu ali je ta zelo blaga, 25–30% ima neko stopnjo hepatosplenomegalije, zmerno anemijo in zlatenico, ki se hitro razvije v prvih 24 urah življenja. Če ni pravičnega zdravljenja (izmenjalna transfuzija), nastopi možganska okvara-kernikterus, ki lahko povzroči smrt ali pa težko prizadetost (gluhost, spastičnost, horeoatetoza).

Preostalih 20–25% plodov razvije hidrops in običajno umre v maternici ali v neonatalnem obdobju, če ni primerne zdravljenja.

V polovici teh primerov se hidrops razvije od 18. – 30. tedna nosečnosti.

Najpogosteje gre za izoimunizacijo anti D, vendar je zaradi razširjene imunoprofilakse in manjšega števila porodov ta postala sorazmerno manj pogosta. Do izraza prihajajo drugi antigeni, ki lahko povzročijo razvoj hemolitične bolezni ploda. Ti so:

Glavni razlog za nastanek drugih protiteles je transfuzija krvi. Po transfuziji se pri 1–2% prejemnikov razvijejo atipična protitelesa. Nekatera teh so anti C, anti E in anti Kell, ki lahko povzročijo resno hemolitično bolezen in intrauterino smrt ploda. Zdravijo se tako kot anti D izoimunizacija.

Patofiziologija hemolitične bolezni ploda in novorojenčka

V nosečnosti z eritrocitno izoimunizacijo prestopajo materina hemolitična protitelesa skozi placento in se vežejo na plodove eritrocite, ki nato razpadajo v fetalnem retikulo-endotelijskem sistemu. Pri zmerni do srednje resni bolezni kompenzacijsko poraste intramedularna hematopoeza, v zelo resnem obolenju pa se ponovno vzpostavi ekstramedularna eritropoeza. Rh D izoimunizacijo lahko preprečimo z ante- in postnatalno imunoprofilakso.

Izoimunizacija matere nastane ob stiku s tujimi eritrocitnimi antigeni, ki jih je plod podedoval po očetu. Primarni imunski odgovor na antigen D nastane v času od 6

tednov do 12 mesecev. Običajno je slab, sestavljajo ga pretežno IgM protitelesa, ki ne prehajajo skozi placento. Tako v prvi nosečnosti običajno ni velikega tveganja za razvoj hemolitične bolezni.

Naslednja izpostavljenost antigenu sproži anamnestični odgovor, ki je hiter in pretežno s protitelesi IgG, ki prehajajo skozi placento. Bowman je opazoval dolžino časa med prvim in ponovnim stikom z antigenom in ugotovil, da se z večjim časovnim presledkom poveča tudi odziv s povečano količino antigena in povečano vezljivostjo z eritrociti.

Ti dejavniki povečujejo tveganje resnosti obolenja ploda.

Fetalna hematopoeza poteka v treh, prekrivajočih se fazah, ki ustrezajo glavnemu hematopoetičnemu organu: mezoblastna, hepatalna in mieloična.

Eritropoeza se prične v rumenjakovem mehurčku 21. dne embriogeneze, nadaljuje se v jetrih in v 16. tednu gestacije v kostnem mozgu. Zmanjšan prispevek jeter označuje upad števila cirkulirajočih eritroblastov.

Srednja vrednost fetalnega hemoglobina linearno raste med gestacijo – od 10 g/dl v 16 tednu na 15 g/dl v 40. tednu. Nosečnost z eritrocitno izoimunizacijo skrajša življenjsko dobo eritrocitov, ker so prekrti s protitelesi in v retikuloendotelialnem sistemu propadejo. V nasprotju z antigeni ABO je antigen Rh dobro razvit že 30. dan gestacije.

Razvoj hemolitične bolezni

Materina protitelesa se vežejo na eritrocitne antigene ploda in eritrociti razpadajo v sistemu RES hitreje kot normalno. Reakcija prizadetega ploda je povsem različna glede na količino in vrsto protiteles, vezljivosti protiteles, učinkovitosti prehoda skozi placento, materinih antigenov HLA, zrelosti in učinkovitosti sistema RES. Anemija ploda se lahko razvije v nekaj mesecih. Eritropoetin je povišan, eritropoeza lahko nastane kjer koli v fetoplacentarni enoti. Povečani sta vranica in jetra. V obtok vstopajo nezreli, nukleirani eritrociti, od tod tudi ime eritroblastosis fetalis.

Vse posledice za plod so povezane z anemijo. Blago anemijo plod dobro prenaša. Ko pa se anemija slabša, nastopijo presnovne spremembe. Ker so eritrociti glavni fetalni pufer, se razvije metabolična acidemija in poviša se laktat, ki pa se prečisti s prehodom krvi skozi placento. Plod kompenzira anemijo s hiperdinamično cirkulacijo kot posledico zmanjšane viskoznosti krvi ter s periferno vazodilatacijo zaradi nižje oksigenacije. V skrajni anemiji, ko pade fetalni hemoglobin pod 6 g/dl, se razvije hidrops ploda. Ta nastane kot posledica portalne hipertenzije zaradi infiltriranja jeter z eritropoetskim tkivom in hipoproteinemije zaradi motene sinteze proteinov. Nastopi dekompenzacija kardiovaskularnega sistema in hidropičen plod umre.

Zmerna anemija je deficit hemoglobina za 2-4 SD, ena SD je približno 1,2 g/dl. Resna anemija pa je nad 4 SD deficita hemoglobina.

Napovedovanje anemije ploda

Resnost hemolize plodovih eritrocitov lahko napovedujemo na več načinov:

- anamneza predhodno prizadetih nosečnosti,
- raven hemolitičnih protiteles v materini krvi,
- koncentracija bilirubina v plodovnici,
- ultrazvočne spremembe videza ploda in placente,
- spremenjen zapis CTG,
- spremembe v hitrosti pretoka krvi v plodovem obtoku, merjenega z doplerjem.

1. Anamneza

Bolezen je progresivno bolj izražena v vsaki naslednji nosečnosti z RhD pozitivnim plodom.

2. Raven hemolitičnih protiteles je bila glavna metoda za ugotavljanje stopnje anemije. Indirektni Coombsov test je v povezavi z anemijo. Če je $< 1/32$, gre lahko za zmerno anemijo. Obstaja pa širok razpon rezultatov, ker je stopnja anemije odvisna od individualnih variacij prehoda protiteles skozi placento, ekspresije antigenov na eritrocitih ter fetalne eritropoeze v odgovor na anemijo. Kordocentezo bi morali napraviti pri vrednosti protiteles nad $1/128$ ali višini protiteles nad 15 IU/ml.

3. Koncentracija bilirubina v plodovnici, dobljena z amniocentezo, je posredno povezana s stopnjo anemije. Vendar pa ta metoda ne daje bolj prepričljivih rezultatov kot ostale neinvazivne metode. V 2-3% je vrednost netočna.

Nevarnost amniocenteze je v povzročitvi dodatne senzibilizacije. Prav tako podatki o spektrofotometrijsko določeni koncentraciji bilirubina slabo korelirajo stežo hemolize v 2/3 nosečnosti, bolje pa v 3/3. Prav tako ta metoda ni primerna za ugotavljanje anemije v izoimunizaciji na antigene Kell.

4. Ultrazvočne spremembe ploda in placente so naslednje: povečana debelina placente, povečan obseg plodovega abdomna, hidramnij, hiperehogeno črevo, tekočina v osrčniku in trebušni votlini. Posamezne spremembe govorijo za anemijo ploda, ne moremo pa oceniti stopnje anemije. Jasno je ugotovljeno le, da je plod z ultrazvočno vidnimi znaki hidropsa vedno hudo anemičen, v odsotnosti hidropsa pa ni prepričljivih ultrazvočnih znakov, ki bi lahko ločili zmerno od hude anemije.

5. CTG zapis hudo anemičnega ploda je v visoki korelaciji s sinusoidno krivuljo. Zmerno anemičen plod pa ima lahko ali povsem normalno krivuljo CTG ali patološko krivuljo - decelerativno ali nereaktivno.

6. Doplerjeva analiza pretokov krvi

Neinvazivna metoda za študij fetalnega obtoka je pomembna za odkrivanje hemodinamskih sprememb v prilagoditvi ploda na anemijo. Impedanca toka krvi v uterini in umbilikalni arteriji je normalna, povečana pa je hitrost krvi v posameznih plodovih žilah. Od vseh preiskav za napovedovanje anemije ploda je z doplerjem dokazana hiperdinamična cirkulacija najbolj natančna.

Nadzor nosečnosti za odkrivanje in zdravljenje izoimunizacij

V Sloveniji se je zaradi dobre Rh D-imunoprofilakse zelo zmanjšalo število izoimuniziranih nosečnic (od 20% testiranih Rh D negativnih nosečnic leta 1960 na 0,01% v letu 1998). Vsaki nosečnici ob prvem pregledu določimo krvno skupino, Rh-faktor in ICT (indirektni Coombsov test) za prisotnost iregularnih protiteles. Imunoprofilakso izvajamo med nosečnostjo pri neimuniziranih nosečnicah ob krvavitvi, invazivnih diagnostičnih postopkih in v 28. tednu nosečnosti ter po porodu RhD-pozitivnega otroka.

Če se pojavi izoimunizacija, imunoprofilaksa ni več možna. Takšna nosečnica sodi k specialistu za fetomaternalno medicino.

V prvi nosečnosti z izoimunizacijo redno kontroliramo titer protiteles in ultrazvočno nadzorujemo plod. Ob porastu titra protiteles ali ob ultrazvočnih znakih za anemijo ploda se odločamo za invazivno diagnostiko (serijske amniocenteze za določanje fetalnega bilirubina ali za kordocentezo).

Kadar ima nosečnica že v anamnezi prizadet plod ali novorojenčka, titri protiteles niso več uporabni kot presejalni testi. Če je oče ploda heterozigot, je zdaj možno določiti plodovo krvno skupino z metodo molekularne biologije- s polimerazno verižno reakcijo (PCR) iz celic v plodovnici, pa tudi iz DNA plazme. V Sloveniji smo prvič napravili amniocentezo za določitev plodovega Rh-D genotipa s PCR leta 1996, preiskava je bila napravljena v Amsterdamu. Zdaj tudi v Sloveniji na Zavodu za transfuzijsko medicino v Ljubljani opravljajo to preiskavo.

Trenutno tam poteka raziskovalna naloga za razvoj metod za določanje RhD-genotipa ploda iz periferne krvi nosečnice.

Glavna cilja nadzora nosečnice z izoimunizacijo sta:

- predvideti, kateri plod bi lahko bil resno prizadet, in v kateri višini nosečnosti se bi razvil hidrops ali grozi smrt ploda
- drugi cilj je pravočasno korigirati anemijo ploda z intrauterinimi transfuzijami in sprožiti porod v optimalnem času.

Zdravljenje

Intraperitonealna transfuzija

V 60. letih so z intraperitonealno transfuzijo pod RTG kontrolo poročali o 24 - 54 odstotnem uspehu. Visoki so bili s posegom povezani zapleti (25%). Hidropični plodovi so slabo resorbirali kri iz trebušne votline in niso preživel. Ko so uvedli posege pod kontrolo ultrazvoka, se je tehnika transfuzije izboljšala.

Intraperitonealno se transfundirajo koncentrirani eritrociti in kri se resorbira v obtok preko limfatičnih poti, za kar so potrebni dihalni gibi, ki pa jih hidropičen plod skoraj nima. Zato je uspeh transfuzije slab. Volumen potrebne krvi za transfuzijo se izračuna po Bowmanovi formuli in je kompromis med količino potrebne krvi za korekcijo anemije in količino krvi, ki jo lahko varno vbrizgamo v intraperitonealno votlino.

$$\text{Bowmanova formula: Volumen} = (\text{tedni gestacije} - 20) \times 10 \text{ ml}$$

Dnevno se resorbira 10% vbrizgane krvi.

Pomanjkljivosti postopka so številne: počasna resorpcija, velika nevarnost poškodb, nevarnost prevelikega intraperitonealnega tlaka in obstrukcija venskega priliva. Edina prednost je tam, kadar je intravaskularni dostop zelo otežen, to je pri nizki gestaciji.

V Sloveniji smo delali intraperitonealne transfuzije od leta 1984 do 1994. V Porodnišnici Ljubljana smo izvedli zadnjo intraabdominalno transfuzijo leta 1994.

Intravaskularna transfuzija

Prve intravaskularne transfuzije so bile narejene v 60. letih z direktno intravaskularno transfuzijo po uterotomiji s slabimi rezultati. V 80. letih so bili posegi narejeni s pomočjo fetoskopa, z napredkom tehnologije pa z ultrazvočno kontrolo s kordocentezo v umbilikalno ali hepatično veno.

Ker so ti postopki zelo zahtevni in potrebujejo sodobno ultrazvočno napravo in izkušeno ekipo ter najmanj 10 posegov letno, je zaradi vse redkejših indikacij za intrauterino transfuzijo v Sloveniji premalo primerov za ustrezno sodobno zdravljenje. V zadnjih 10 letih je bil pri 3 mrtvorojenih plodovih vzrok smrti Rh izoimunizacija – v enem primeru kot reakcija na pozno amniocentezo in porasta titrov protiteles na 1:524.288, v dveh primerih pa po intrauterini transfuziji pri isti nosečnici v dveh zaporednih nosečnostih.

V centrih z dovolj posegi in izurjeno ekipo je poročano preživetje po intrauterini transfuziji več kot 85%, v prisotnosti hidropsa je preživetje slabše. Zato smo sprejeli odločitev, da pošiljamo težje pacientke na intrauterino transfuzijo v tujino. V zadnjih 5 letih je bila pri 5 nosečnicah postavljena indikacija za intrauterino transfuzijo, od tega pri eni nosečnici v dveh nosečnostih.

Indikacije za IUT

Intrauterina transfuzija je ob odsotnosti hidropsa ploda upravičena edino ob dokazani težji anemiji ploda (Ht pod 30% za gestacijo). Edina natančna metoda za določanje

resnosti anemije je jemanje vzorca plodove krvi s kordocentezo in določanje koncentracije fetalnega hemoglobina. Ker lahko kordocenteza povzroči fetomaternalno krvavitev in porast koncentracije hemolitičnih protiteles pri materi, se lahko obolenje ploda poslabša. Zato so agresivni postopki rezervirani za pacientke s slabo anamnezo, za tiste z zelo visokim titrom protiteles, s sinusoidno krivuljo CTG ali s hiperdinamično cirkulacijo (hitrost pretoka krvi v arteriji cerebri medii - peak velocity- nad 2SD za gestacijo).

Pri nosečnicah s slabo anamnezo naj bi bila prva kordocenteza napravljena 10 tednov pred časom najbolj zgodnjega resnega zapleta v prejšnjih nosečnostih (smrt ploda ali novorojenčka).

Postopek IUT

Pod kontrolo visoko ločljivega ultrazvoka se izbere mesto vboda, nato se z dolgo iglo debeline 20G do 26G s tehniko proste roke ali z vodilom napravi kordocenteza popkovne vene. Ponekod uporabijo lokalno anestezijo podkožja in miometrija. Za preprečitev fetalnih gibov in nevarnosti poškodb popkovnice uporabljajo nekateri centri nevromuskularne antagoniste (pankuronium).

Najprej se vzame vzorec plodove krvi za določitev fetalnega hemoglobina in se z iglo v žili določi koncentracija Hb. Če je ta pod normalnim območjem, se v žilo vbrizgajo prej obsevani, izprani sveži koncentrirani eritrociti RhD-negativne krvi, kompatibilne z materjo, s hitrostjo 10 ml/min. Količina potrebne krvi se izračuna iz normalnega povprečnega volumna krvi za določeno gestacijsko starost, koncentracije Hb ob začetku transfuzije, koncentracije Hb dajalčeve krvi in želene ciljne koncentracije. Ob koncu transfuzije naj bi bil Ht na 50 - 70% referenčne vrednosti, pri anemičnem plodu pa manj, do 25%.

Za IUT (intrauterino transfuzijo) uporabimo koncentrirane eritrocite s Ht 70-80. Kri z višjim Ht se zaradi visoke viskoznosti slabo meša s plodovo krvjo, kri z nižjim Ht pa predstavlja zaradi večjega volumna nepotrebno obremenitev plodovega obtoka.

Med transfuzijo je potrebno nadzirati utrip plodovega srca in tok krvi v žili. Ob koncu transfuzije se znova določi Ht plodove krvi.

Naslednje transfuzije so predvidene glede na osnovi fetalnega Hb ob koncu transfuzije in na osnovi opazovanj, da pada plodov hemoglobin za 0,3 g/dl na dan in Ht za 0,01/dan. Vendar se je potrebno odločati individualno, ker je razpon v vrednostih koncentracije hemoglobina širok. Transfuzija zavre eritropoezo, agresivnost protiteles je različna. Plod je potrebno tedensko nadzirati in ugotavljati pojav zgodnjega ascitesa ter ocenjevati hiperdinamični pretok krvi. Transfuzije se ponavljajo prvič hitreje, nato na 2 do 3 tedne do 33-36 tedna. Porod se glede na težo bolezni predvidi v 34. -38. tednu gestacije.

Nevarnosti kordocenteze in intrauterine transfuzije

Nevarnosti kordocenteze so naslednje:

- fetalna bradikardija (pretežno po naključni punkciji arterije umbilikalis);
- prezgodnji razpok jajčnih ovojev;
- prezgodnji porod;
- vnetje – horioamnionitis;
- krvavitev iz popkovnice, tromboza popkovne žile;
- krvavitev iz placente;
- fetomaternalna krvavitev.

Nevarnosti intrauterine transfuzije so povezane s kordocentezo. Če se vbrizga kri, čeprav samo 1 ml, v Wartonov gel, ki obdaja popkovnične žile, lahko nastane tamponada popkavnice in smrt ploda. Z obdelavo krvi z obsevanjem preprečimo nastanek sindroma presadek proti gostitelju.

Intravaskularna transfuzija ima poleg dviga hematokrita mnoge učinke na plod. Porast peptidov in prostagliklinov prispeva k boljši toleranci obremenitve krvnega obtoka, ki bi bil po porodu usoden.

Transfuzijsko zdravljenje je združeno s hitro supresijo eritropoeze. Pade raven fetalnega eritropoetina, po tretji transfuziji pade zato raven retikulocitov pod 1%. Če sta pred porodom narejeni vsaj dve transfuziji v tritedenskem presledku, je pomembno manj poporodnih zapletov pri novorojenčku, kot je npr. hiperbilirubinemija.

Po intrauterinih transfuzijah je zavrti eritropoeza in se lahko razvije anemija pri nekaj tednov starem otroku, ker je življenjska doba transfundiranih eritrocitov končana. Ta anemija ima značilno nizko število retikulocitov. Zato je potrebno pri otroku po intrauterinih transfuzijah tedensko spremljati Ht in število retikulocitov. Včasih je potrebno do 16 tednov, da se povišajo retikulociti. Primerni postopki so dajanje manjših odmerkov krvi ali dajanje eritropoetina.

Zaključek

Kljub zelo razširjenemu programu desenzibilizacije bo še vedno nekaj nosečnic, ki bodo razvile izoimunizacijo RhD, poleg tega se večja število atipičnih reakcij rhesus in non rhesus. Pri teh ravno tako lahko nastane hemolitična bolezen. Edina natančna metoda za določnje resnosti obolenja je kordocenteza. Ker se lahko po kordocentezi poveča koncentracija materinih hemolitičnih protiteles in s tem poslabša obolenje, so ti posegi rezervirani za pacientke z visokim titrom protiteles, slabo anamnezo predhodnih nosečnosti, patološkimi pretoki plodove krvi in z ultrazvočnimi znaki anemije.

Nosečnice z anamnezo, ki govori za zelo resno hemolitično bolezen, bi morala biti kordocenteza napravljena 10 tednov pred časom prejšnje fetalne ali neonatalne smrti. Nosečnicam brez prizadetih plodov v anamnezi je potrebno nadzirati raven protiteles na 2-3 tedne od 16. tedna dalje. Če v teh nosečnostih ostane raven protiteles nizka, pod 15 IU/ml, je dovoljen porod ob roku. Če pa raven protiteles poraste, je potrebna kordocenteza za opredelitev resnosti bolezni.

Za ponovno kordocentezo se odločimo, če se pojavi visok porast materinih hemolitičnih protiteles, ob ultrazvočnih znakih anemije (hidrops, ascites ali kardialni izliv) ali hiperdinamični cirkulaciji ter pri pojavu sinusoidne krivulje ali deceleracij v krivulji CTG. S kordocentezo ugotovimo težo anemije in jo korigiramo s transfuzijo. Zaželeno je intravaskularna transfuzija, ki se v istem postopku nadaljuje. Na tak način se izboljša preživetje ploda in tudi zmanjša hiperbilirubinemija po rojstvu.

REFERENCE

1. Bricl I, Glonar L, Vogler A. Anti-D immunisation prevention with antenatal Rhd immunoprophylaxis and determination of the amount of fetomaternal hemorrhage after childbirth in Slovenia. In: Novak-Antolič Ž, editor. Učinkovitost predporodnega varstva v Sloveniji. Zbornik prispevkov/. Novakovi dnevi, 2000 jun 1-3; Moravske Toplice, Ljubljana: Slovensko zdravniško društvo, Združenje za perinatalno medicino, 2000; 72-6.
2. Bowman JM. Neonatal management. In: Queenan JT, ed. Modern management of the Rhesus problem, 2nd edn., Hagerstown, MD: Harper and Row, 1977.
3. Moise KJ Jr. Management of rhesus alloimmunisation in pregnancy. *Obstet Gynecol* 2002 Sep; 100(3): 600-11.
4. Novak-Antolič Ž. Rh imunizacija. In: Pajntar M, Novak-Antolič Ž, et al. Nosečnost in vodenje poroda. Ljubljana: Cankarjeva založba, 1994; 69-73.
5. Costa JM, Giovannardi Y, Ernault P, Lohman L, Nataf V, El Halali N, Gautier E. Fetal RHD genotyping in maternal serum during the first trimester of pregnancy. *Br J Haematol* 2002 Oct; 119 (1): 255-60.
6. Geifman-Holtzman O, Wojtowycz M, Kosmas E, Artal R. Female alloimmunisation with antibodies known to cause hemolytic disease. *Obstet Gynecol* 1997 Feb; 89(2): 272-5.
7. Nicolaides KH, Soothill PW, Clewell W et al. Fetal haemoglobin measurement in assessment of red cell isoimmunisation. *Lancet* 1988; 1: 1073-5.
8. Rodeck Ch, Nicolaides KH, Warsof SL et al. The management of severe rhesus isoimmunisation by fetoscopic intravascular transfusions. *Am J Obstet Gynecol* 1984; 150: 769-74.
9. Vyas S, Nicolaides KH, Campbell S. Doppler evaluation of the middle cerebral artery in anemic fetuses. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 162: 1066-8.
10. Weiner CP. Fetal hemolytic disease. In: High risk pregnancy, ed James DK et al, WB Saunders, London 1999; 343-61.
11. Mari G, Adrignolo A, Abuhamad AZ, Pirhonen J, Jones DC, Ludomirsky A, Copel JA. Diagnosis of fetal anemia with Doppler ultrasound in the pregnancy complicated by maternal blood group immunisation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1995; 5: 400-5.