

Nichtinvasive Bestimmung des fetalen Rhesusfaktors



Seit Jahrzehnten ist es in Österreich Standard, dass jede Rhesus negative Schwangere die Rhesusprophylaxe erhält. Dadurch wird das Risiko für die Bildung von Antikörpern gegen den Rhesusfaktor bei einer Schwangerschaft mit einem Rhesus-positiven Kind effizient minimiert. In Folge ist auch das Krankheitsbild der durch Rhesus-Antikörper der Mutter ausgelösten Anämie des Neugeborenen oder Föten, also eines Morbus haemolyticus neonatorum (MHN), signifikant zurückgegangen.

Etwa 40 % der Föten von Rhesus-negativen Müttern sind selbst Rhesus-negativ. In diesen Schwangerschaften würde es auch ohne Rhesusprophylaxe nicht zu einer Immunisierung der Mutter kommen. Da lange Zeit der Rhesusfaktor des Kindes nur invasiv bestimmbar gewesen wäre, war die „blinde“ Gabe der Prophylaxe notwendig.

In den letzten 30 Jahren wurde eine Methode zur nichtinvasiven pränatalen Diagnostik des Rhesusfaktors (Rhesus-NIPD) entwickelt, wodurch eine gezielte Gabe der Prophylaxe bei einer Schwangerschaft mit einem Rhesus-positiven Kind möglich ist.

Georg Gratz stellt die wichtigsten Punkte zur Rhesusprophylaxe dar und beschreibt die Methode zur nicht-invasiven Bestimmung des kindlichen Rhesusfaktors, wie sie vom Labor der Blutspendenzentrale Wien, Niederösterreich und Burgenland des Roten Kreuzes angewendet wird.

Relevante immunhämatologische Begriffe Blutgruppen

Auf der Oberfläche der roten Blutkörperchen gibt es viele verschiedene Strukturen, gegen die das Immunsystem eines Individuums Antikörper bilden kann. Die Bildung von Antikörpern gegen solche Merkmale auf Erythrozyten erfolgt, wenn das Immunsystem eines Individuums mit solchen Antigenen in Kontakt kommt und diese nicht aus dem eigenen Organismus bekannt sind.

Diese Merkmale bezeichnet man als Blutgruppen-Antigene, welche in Blutgruppensystemen zusammengefasst sind. Zum derzeitigen Stand gibt es 47 verschiedene Blutgruppensysteme und über 370 bekannte Blutgruppenantigene.

Am wichtigsten ist hier das Blutgruppensystem ABO. Auf der Oberfläche von Bakterien gibt es ähnliche Merkmale wie die Antigene A und B. In unseren ersten Lebensmonaten wird unser Immunsystem in Kontakt mit der Umwelt mit diesen Antigenen konfrontiert. Wenn jemand selbst für eines dieser Antigene negativ ist, also Blutgruppe A oder B hat, oder beide Antigene fehlen (Blutgruppe O), werden Antikörper gegen das entsprechende Merkmal gebildet. Daher hat man üblicherweise mit Blutgruppe A Antikörper gegen Blutgruppe B und umgekehrt hat jemand mit Blutgruppe AB gegen keine der beiden Merkmale Antikörper. Aus diesem Grund muss bei jeder Transfusion auf die ABO-Blutgruppe geachtet werden, da es sonst zu lebensbedrohlichen Immunreaktionen kommen kann.

An zweiter Stelle folgt das Rhesusantigen, bei dem es notwendig ist, dass unser Immunsystem mit fremdem Blut Kontakt hat, um Antikörper zu bilden. Im Gegensatz zu ABO sind hier Antikörper also bei Rhesus-negativen Personen erst dann zu finden, wenn diese durch eine Bluttransfusion oder im Rahmen einer Schwangerschaft durch Rhesus-positives Blut immunisiert worden sind. Eine Rolle spielt hier auch die Immunisierungswahrscheinlichkeit, also ob es überhaupt dazu kommt, dass das Immunsystem bei Kontakt mit dem Antigen Antikörper bildet. Da das Rhesusantigen sehr immunogen ist, liegt bei ihm die Immunisierungswahrscheinlichkeit zwischen 50 und 80 %, wenn eine Rhesus-negative Person eine Rhesus-positive Bluttransfusion erhält. Daraus erwächst die hohe Relevanz des Rhesus-Antigens neben ABO.

Bei den meisten anderen Blutgruppen-Antigenen liegt die Immunisierungswahrscheinlichkeit im einstelligen Prozentbereich. Diese erlangen zumeist nur bei Personen eine Relevanz, die vielfach Bluttransfusionen erhalten.

Rhesus, RhD, D... ist das alles dasselbe? Rhesus, RhD, D sind synonym zu verstehen. Wissenschaftlich ist D ein Antigen des Blutgruppensystems Rh, der Begriff Rhesus bzw. Rhesusfaktor ist aber in der Alltagssprache (auch im medizinischen Kontext) gebräuchlicher. Zu dem Blutgruppensystem Rh gehören neben D auch viele weitere Antigene. Nach D sind die wichtigsten C, c, E und e. Auch diese Antigene werden als Rhesusantigene bezeichnet. Wird eine Person als „Rhesus po-

sitiv“ oder „Rhesus negativ“ beschrieben, ist üblicherweise das Antigen D gemeint. In Bezug auf die Rhesusprophylaxe (= RhD-Prophylaxe) für Schwangere geht es nur um das Antigen D. Prinzipiell können auch andere Blutgruppen-Antigene aus dem Rh-System sowie aus anderen Systemen einen Morbus haemolyticus neonatorum (MHN) auslösen, jedoch ist die Wahrscheinlichkeit einer Immunisierung, also der Bildung von Antikörpern gegen diese Merkmale, um ein Vielfaches geringer als bei dem Antigen D.

Zur besseren Lesbarkeit werden in diesem Text die Begriffe Rhesusantigen und Rhesusfaktor anstelle von RhD bzw. D sowie Rhesusantikörper für Anti-D verwendet.

Rhesusprophylaxe

Im Verlauf der Schwangerschaft einer Rhesus-negativen Frau mit einem Rhesus-positiven Kind kann es zur Immunisierung gegen den Rhesusfaktor kommen. Ausgelöst wird diese durch einen Blutübertritt vom Fötus auf die Mutter, was zum Beispiel im Rahmen der Geburt passieren kann. Aber auch andere Ereignisse wie invasive Eingriffe oder Unfälle können dazu führen. Das Risiko für eine Immunisierung gegen den Rhesusfaktor nimmt ab der 28. Schwangerschaftswoche zu. Kommt es nach der Geburt zu einer Bildung von Rhesusantikörpern, können diese bei einer folgenden Schwangerschaft zu einem MHN führen.

Durch die Gabe der Rhesusprophylaxe kann das Risiko für eine Bildung von Antikörpern gegen den Rhesus-Faktor (Anti-D) stark gesenkt werden. Die Prophylaxe beinhaltet selbst Rhesusantikörper, welche aus Plasmaspenden von Personen stammen, die gegen das Rhesusantigen immunisiert wurden. Die einmalige Gabe nach der Geburt senkt das Risiko von 8% auf 0,8%, durch die zusätzliche Gabe während der Schwangerschaft sinkt es weiter auf 0,08%. Die Gabe ist in Österreich in der 28. Schwangerschaftswoche, sowie innerhalb von 72 Stunden nach der Geburt üblich.

Morbus haemolyticus neonatorum

Kommt es durch mütterliche Antikörper gegen Merkmale auf roten Blutkörperchen zu einer Zersetzung des kindlichen Blutes, liegt ein Morbus haemolyticus neonatorum (MHN) vor. Davon betroffen



sind sowohl Föten als auch Neugeborene, daher auch die englische Bezeichnung *hemolytic disease of the fetus and newborn* (HDFN). Die Folgen dieses Krankheitsbildes reichen von Neugeborenenikterus bis zum Tod des Kindes. Daher muss eine Schwangerschaft beim Vorliegen von Antikörpern gegen Erythrozyten engmaschig überwacht werden. Ein Neugeborenenikterus wird mit Phototherapie behandelt, welcher beim Abbau des Bilirubins unterstützt.

Entwickelt sich eine schwere Blutarmut des Kindes, kann diese mit Transfusionen behandelt werden. Wird die Anämie bereits während der Schwangerschaft diagnostiziert, ist auch eine intrauterine Transfusion, also eine Gabe von Blut durch eine Ultraschall-gezielte Punktion der Nabelschnur im Mutterleib möglich.

Antikörper gegen den Rhesus-Faktor waren vor Etablierung der Rhesus-Prophylaxe die häufigste Ursache für einen MHN, das Krankheitsbild kann aber auch durch Antikörper gegen andere Blutgruppen-Antigene ausgelöst werden.

Bestimmung des kindlichen Rhesusfaktors aus mütterlichem Blut

Üblicherweise wird der Rhesusfaktor einer Person dadurch bestimmt, dass die Reaktion der roten Blutkörperchen mit dem entsprechenden Antiserum beurteilt wird. Während eine periphere Blutentnahme außerhalb des Mutterleibs unkompliziert ist, stellt sie bei einem Fötus einen invasiven, riskanten Eingriff dar.

Der Rhesusfaktor kann aber nicht nur über die serologische Antigenbestim-

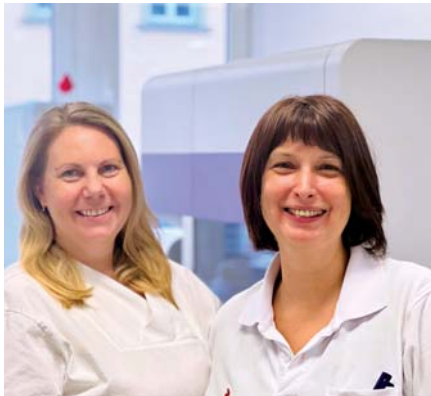
mung ermittelt werden, sondern auch mit Hilfe molekularbiologischer Methoden. Die hierfür benötigte DNA befindet sich überwiegend im Kern diverser Körperzellen. Zur genetischen Bestimmung eines Blutgruppen-Antigens aus dem Blut einer Person wird primär DNA aus weißen Blutkörperchen verwendet. Es gibt aber auch eine kleine Menge zellfreier DNA, welche sich im Blutplasma befindet. Im Blutplasma einer Schwangeren findet sich auch zellfreie DNA des Kindes (cell free fetal DNA, cff-DNA). Etwa ein Prozent der freien DNA im Blut der Mutter ist cff-DNA. Der häufigste Grund, warum das Rhesusantigen auf den roten Blutkörperchen einer Rhesus-negativen Person nicht exprimiert wird, ist das völlige Fehlen des entsprechenden Gens (Deletion). Werden also Teile des Rhesusgens (also des „Bauplans“ des Rhesusantigens) im Blut einer Rhesus-negativen Schwangeren nachgewiesen, ist davon auszugehen, dass dieses Erbgut vom Fötus, der somit Rhesus-positiv ist, stammt.

In seltenen Fällen kann es sein, dass eine Person Rhesus-negativ befundet wird, obwohl genetisch der Großteil des Gens vorhanden ist. Es liegen hier einzelne Veränderungen im Gen vor, welche dazu führen, dass der Rhesusfaktor nicht exprimiert wird. Trifft dies auf die Mutter zu, können keine eindeutigen Rückschlüsse auf den Rhesusfaktor des Kindes gemacht werden. Ebenso ist bei Rhesus-positiven Müttern eine Bestimmung des Faktors des Kindes mit der Rhesus-NIPD nicht möglich.

Mittels Realtime-PCR wird ermittelt, ob Teile des Rhesusantigens (Exon 5, Exon 7 und Exon 10) im Blutplasma der Mutter nachweisbar sind. Zusätzlich wird aus DNA, welche aus den weißen Blutkörperchen der Mutter extrahiert wurde, bestätigt, dass sie selbst diese Merkmale nicht besitzt, also aufgrund des Fehlens des Gens Rhesus-negativ befundet wurde. Ist dies der Fall und konnten in der freien DNA die entsprechenden Merkmale nachgewiesen werden, gilt der Fötus als Rhesus-positiv.

Gegencheck

Ist keine Rhesus positive DNA nachweisbar, muss zum Ausschluss eines falsch negativen Ergebnisses bewiesen werden, dass tatsächlich fetale DNA in der Probe



Die biomedizinischen Analytikerinnen
Nina Striz und Leila Wabnegger im NIPD Labor.

zu finden gewesen ist. Hier werden zwei Marker verwendet, die spezifisch für fetale DNA sind und nur nachgewiesen werden können, wenn DNA des Kindes in der Probe vorhanden ist. Um ein Ergebnis als Rhesus-negativ auszugeben, ist also einerseits notwendig, dass keine Rhesus-DNA nachgewiesen wurde, aber andererseits fetale DNA in der Probe nachweisbar war.

Die Untersuchung ist bei Einlingsschwangerschaften von Rhesus-negativen Frauen ab der zwölften Schwangerschaftswoche möglich. Im Falle einer Mehrlingsschwangerschaft muss weiterhin die ungezielte Gabe der Rhesusprophylaxe um die 28. Schwangerschaftswoche durchgeführt werden.

Bei Rhesusvarianten, auch wenn sie serologisch negativ reagieren, ist die Rhesus-NIPD ebenfalls nicht möglich. In diesen Fällen kann es jedoch sinnvoll sein, mittels genetischer Bestimmung zu ermitteln, ob die Mutter die Rhesusvariante Weak D Type 1, 2 oder 3 hat. Bei diesen drei Varianten kann generell wie bei Rhesus-positiven Personen vorgegangen werden. Das heißt eine Rhesusprophylaxe ist nicht erforderlich und im Fall von Transfusionen können Rhesus-positive Erythrozyten Konzentrate gegeben werden. Handelt es sich bei einem abgeschwächten Rhesusfaktor jedoch nicht um eine dieser drei Varianten, soll wie bei einer Rhesus-negativen Person vorgegangen werden.

In einigen europäischen Ländern wie zum Beispiel Deutschland ist die Rhesus-NIPD bereits standardmäßig im Einsatz. In Deutschland ist sie Bestandteil der Mut-

terschaftsrichtlinie des gemeinsamen Bundesausschusses. Die Aufnahme in diese Richtlinie stützt sich auf eine Fachgruppe, welche zahlreiche Studien zu diesem Thema ausgewertet hat, mit dem Ergebnis, dass die durch die Rhesus-NIPD unterstützte gezielte Gabe (oder nicht-Gabe) der Rhesusprophylaxe als genauso sicher wie die ungezielte bewertet werden kann. Diese Aussage konnte jedoch nur für Einlings-Schwangerschaften getroffen werden, da für Mehrlings-Schwangerschaften zu wenig Daten vorlagen.

Instrument zur Risikoeinschätzung

Neben der gezielten Gabe der Rhesusprophylaxe stellt die Risikobeurteilung bei Schwangerschaften, in denen bereits Antikörper gegen den Rhesusfaktor im Blut der Mutter nachgewiesen wurden, eine weitere Indikation für die Durchführung einer Rhesus-NIPD dar.

Ist eine Schwangere bereits gegen den Rhesusfaktor immunisiert, ist die Gabe der Rhesusprophylaxe nicht mehr sinnvoll. Hier dient die Rhesus-NIPD dazu, das tatsächliche Risiko für einen MHN korrekt einschätzen zu können. Ist der Fötus Rhesus-negativ, kann durch Antikörper gegen den Rhesusfaktor kein MHN verursacht werden, ist er jedoch Rhesus positiv, ist eine spezialisierte Betreuung notwendig.

Blutabnahme

Zum derzeitigen Stand ist die Rhesus-NIPD in Österreich keine Kassenleistung. In unserem Labor kostet die Durchführung 124 €. Es ist eine Blutabnahme erforderlich, diese kann nach Terminvereinbarung in unserem Labor in Wien durchgeführt werden. Es ist aber auch möglich, die entsprechenden Röhrchen bei niedergelassenen Ärzt*innen oder Hebammen abnehmen zu lassen und an uns zu schicken (Anforderungsschein und Röhrchenspezifikation unter:

<https://www.rotekreuz.at/blutspenden/blutspendezentrale-kundenbereich/fetale-rhesusdiagnostik>.

Bitte beachten Sie, dass je nach Röhrchentyp unterschiedliche Vorgaben einzuhalten sind. Ebenso muss der Anforderungsschein vollständig ausgefüllt sein. Die Blutröhrchen können bei Raumtemperatur mit der Post verschickt werden. Dazu wird das vollständig beschriftete

Röhrchen in einem Übergefäß gemeinsam mit dem Anforderungsschein in einem Luftpolsterumschlag mit UN33-73 Kennzeichnung als Gefahrgutsendung an unsere Adresse verschickt. Die Proben müssen innerhalb von 72 Stunden nach Abnahme in unserem Labor eintreffen. Für die Befunderstellung werden maximal zwei Wochen benötigt. Die Befunde werden dann an die anfordernde Person (beziehungsweise die zuweisende Krankenanstalt) übermittelt. Es ist daher sinnvoll, die Abnahme möglichst bis zur 26. Schwangerschaftswoche durchzuführen, damit in der 28. Schwangerschaftswoche für die Entscheidung, ob eine Rhesusprophylaxe erforderlich ist, das Ergebnis bereits vorliegt.

Literatur:

1. Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, Rai V, Sargent IL, Redman CW, Wainscoat JS. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet*. 1997 Aug 16;350(9076):485-7.
2. Lo YM, Hjelm NM, Fidler C, Sargent IL, Murphy MF, Chamberlain PF, Poon PM, Redman CW, Wainscoat JS. Prenatal diagnosis of fetal RhD status by molecular analysis of maternal plasma. *N Engl J Med*. 1998 Dec 10;339(24):1734-8.
3. Gemeinsamer Bundesausschuss - Richtlinie über die ärztliche Betreuung während der Schwangerschaft und nach der Geburt. https://www.g-ba.de/downloads/62-492-3335/Mu-RL_2023-09-28_iK-2023-12-19.pdf
4. Institut für Qualität und Wirtschaftlichkeit im Gesundheitswesen. Nichtinvasive Bestimmung des fetalen Rhesusfaktors zur Vermeidung einer mütterlichen Rhesus-sensibilisierung: Abschlussbericht; Auftrag D16-01. 20. März 2018. (IQWiG-Berichte; Band 607). https://www.iqwig.de/download/d16-01_bestimmung-fetaler-rhesusfaktor_abschlussbericht_v1-0.pdf
5. Chitty LS, van der Schoot CE, Hahn S, Avent ND. SAFE - the Special Non-invasive Advances in Fetal and Neonatal Evaluation Network: aims and achievements. *Prenat Diagn*. 2008 Feb;28(2):83-8.

Dr. med. GEORG GRATZ



Österreichisches
Rotes Kreuz
Blutspendezentrale für
Wien, NÖ & BGLD –
Labor
Kontakt:
Georg.Gratz@
rotekreuz.at