

Fetalna in neonatalna aloimunska trombocitopenija: pregledni članek in retrospektivni pregled laboratorijskih in kliničnih značilnosti bolnikov v Sloveniji v obdobju od 1996–2016

Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: review article and retrospective analysis of clinical and laboratory characteristics of patients in Slovenia between 1996 and 2016

Jana Lozar Krivec,¹ Tatjana Tanasič,¹ Jelena Đorđević,¹ Petra Fidler,² Irena Štucin Gantar,³ Andreja Trojner Bregar,² Primož Rožman,⁴ Polona Klemenc,⁴ Darja Paro Panjan¹

Izvleček

Fetalna in neonatalna aloimunska trombocitopenija (FNAIT) je posledica transplacentnega prenosa in vezave aloimunskih protiteles na trombocitne antigene otroka, ki jih je podedoval od očeta. Do aloimunizacije matere proti trombocitnim antigenom lahko pride med nosečnostjo ali ob transfuziji trombocitov. FNAIT je redka bolezen, ki lahko poteka popolnoma brez bolezenskih znakov ali pa ima otrok znake hemoraške diateze. Najhujši zaplet je znotrajlobanjska krvavitev, zato sta zgodnje diagnosticiranje in ustrezno zdravljenje zelo pomembni. Po podatkih iz literature je ocenjena pojavnost FNAIT 1 novorojenček na 1.000–2.000 živorojenih. Pojavnost FNAIT v Sloveniji ni znana. Namen opravljene retrospektivne raziskave je bil ugotoviti pojavnost in etiologijo FNAIT v Sloveniji ter klinično sliko bolnikov s FNAIT. Rezultati raziskave, v kateri smo analizirali izvide transfuzijskih preiskav za dokaz trombocitnih protiteles pri novorojenčkih ali materah, so pokazali nižjo pojavnost FNAIT od prej navedene ocenjene pojavnosti. V obdobju od leta 1996 do leta 2016 je bilo v Sloveniji potrjenih 39 primerov FNAIT, povprečno 2 na leto, medtem ko je bilo prošelj za dokaz trombocitnih protiteles pri novorojenčku ali materi povprečno 9 na leto. Pojavnost FNAIT je torej v Sloveniji 1 na 10.000 živorojenih. Čeprav je ocena pojavnosti zaradi retrospektivne analize najverjetneje podcenjena, menimo, da omenjeni rezultati potrjujejo naša klinična opažanja, da je FNAIT preredko diagnosticirana. Prispevek zato, poleg rezultatov retrospektivne raziskave o pojavnosti, etiologiji in klinični sliki FNAIT v Sloveniji, predstavlja pregled trenutnega znanja o FNAIT, saj želimo, da se na omenjeno bolezen, ki lahko ogroža življenje, pogosteje pomisli in ustrezno ukrepa.

Abstract

Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia (FNAIT) results from the transplacental transmission and binding of alloimmune antibodies on the child's platelet antigens which were inherited from the father. Alloimmunisation of the mother against platelet antigen can occur during present or previous pregnancies or platelet transfusions. FNAIT is a rare disease whose course may be insignificant or may present with signs of haemorrhagic diathesis. It's most serious complication is intracranial bleeding, therefore early diagnosis and, in the case of indications, appropriate treatment are very important. The estimated incidence of FNAIT is 1 in 1000–2000 live births. According to the Slovenia's national vital statistics data, we estimate that there shou-

¹ Klinični oddelek za neonatologijo, Pediatrična klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Ljubljana, Slovenija

² Oddelek za perinatologijo, Klinika za ginekologijo in perinatologijo, Univerzitetni klinični center Maribor, Maribor, Slovenija

³ Klinični oddelek za perinatologijo, Ginekološka klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Ljubljana, Slovenija

⁴ Zavod RS za transfuzijsko medicino, Ljubljana, Slovenija

Korespondenca/ Correspondence:

Jana Lozar Krivec, e: jana.lozar@gmail.com

Ključne besede:

aloimunizacija; trombocitopenija; novorojenček; nosečnost; trombocitni antigeni (HPA

Key words:

alloimmunisation;
thrombocytopenia;
neonate; pregnancy;
human platelet antigen
(HPA)

Prispelo: 26. 9. 2017

Sprejeto: 20. 11. 2018

ld be between 10 and 20 serologically confirmed cases of FNAIT annually. The incidence of FNAIT in Slovenia is not known. The aim of the present retrospective study was to assess the incidence and aetiology of FNAIT in Slovenia and clinical characteristics of the disease. The results of a retrospective study in which we analysed the results of blood tests for the detection of platelet antibodies in infants or mothers have shown a much lower incidence. In the period from 1996 to 2016 there were on average 9 requests for FNAIT diagnostic tests per year and 39 cases of FNAIT were confirmed, resulting in an incidence rate of 1 in 10000 live births in Slovenia. We are aware that the obtained incidence may be underestimated due to retrospective analysis of the data; nevertheless, our results confirm our clinical observations that FNAIT is underdiagnosed in our area. In the present article, in addition to the results of a retrospective study on the incidence, aetiology and clinical picture of FNAIT in Slovenia, we review current knowledge of FNAIT. This contribution is aimed at increasing awareness about FNAIT, which can be life-threatening, and its prompt diagnosis may be very important for the child as well as for mother's following pregnancies.

Čitirajte kot/Cite as: Lozar Krivec J, Tanasič T, Đorđević J, Fidler P, Štucin Gantar I, Trojner Bregar A, Rožman P, Klemenc P, Paro Panjan D. [Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: review article and retrospective analysis of clinical and laboratory characteristics of patients in Slovenia between 1996 and 2016]. *Zdrav Vestn.* 2019;88(3-4):125-42.

DOI: 10.6016/ZdravVestn.2657

1 Uvod

Fetalna in neonatalna aloimun-ska trombocitopenija (FNAIT) je redka bolezen, ki nastane zaradi tkivnega neskladja (fetomaternalne inkompatibilnosti) med nosečnico in plodom ter imunskega uničenja plodovih ali novorojenčkovih trombocitov. FNAIT je eden najpogostejših vzrokov hude trombocitopenije ploda in novorojenčka (1). Na podlagi rezultatov prospektivnih raziskav HPA-1a negativnih nosečnic ocenjujejo, da je pojavnost FNAIT 1 na 1.000 do 2.000 živorojenih otrok (2,3,4). Incidenca FNAIT na podlagi klinične diagnoze pa se po podatkih norveških in angleških raziskovalcev ocenjuje na 1 na 7.700 do 8.000 živorojenih otrok (5,6).

2 Etiopatogeneza

FNAIT nastane zaradi senzibilizacije matere proti plodovim trombocitnim antigenom, ki jih je plod podedoval od očeta. Patogeneza bolezni je podobna hemolitični bolezni ploda in novoro-

jenčka zaradi senzibilizacije matere proti eritrocitnim antigenom RhD ploda. Za razliko od hemolitične bolezni ploda in novorojenčka pride do senzibilizacije na trombocitne aloantigene pogosto že v prvi nosečnosti, tako da se pri senzibiliziranih privesnicah trombocitopenija pojavi pri 20–60 % prvorojencev (7,8). Obdobje in mehanizem senzibilizacije nista popolnoma pojasnjena.

Senzibilizacijo pri FNAIT povzročajo specifični trombocitni antigeni HPA (*angl.* human platelet antigens), ki so prisotni na trombocitih od 16. tedna nosečnosti in prehajajo skozi posteljico v materin krvni obtok, kjer lahko povzročijo tvorbo aloprotiteles (9). Na začetku senzibilizacije je količina plodovih trombocitov, ki prehajajo posteljico, najverjetneje prenizka, da bi povzročila imunski odgovor (10). Raziskovalci menijo, da so v patogenezo FNAIT zato najverjetneje vključene še druge celice, ki izražajo HPA, kot so trofoblasti posteljice (11).

Po senzibilizaciji začne materin imunski sistem tvoriti aloprotitelesa. Protitelesa razreda IgG prehajajo skozi posteljico v plodov krvni obtok, kjer se vežejo na plodove trombocite, ki jih nato retikuloendotelni sistem razgradi, kar vodi v trombocitopenijo. Aloprotitelesa razreda IgM ne prehajajo posteljice in ne sodelujejo v patogenezi FNAIT (9,12,13).

Antigeni HPA se nahajajo na glikoproteinskih receptorjih membrane trombocitov. Danes poznamo 35 različnih trombocitnih antigenov, 12 od njih spada v 6 bialelnih sistemov (HPA-1, -2, -3, -4, -5, in -15; Tabela 1) (14). FNAIT pri belcih v 80–90 % primerov povzročijo protitelesa proti HPA-1a (7,12,15). Antigen HPA-1a se nahaja na integrinu β_3 in ga povzroča polimorfizem Leu33Pro. Nosilci Leu33 alela so HPA-1a pozitivni, homozigoti Pro33 alela pa so HPA-1a negativni in jih označujemo kot HPA-1b/b (1,4). Delež HPA-1a negativnih oseb je v kavkaški (naši) populaciji 2,5 %, vendar bo anti-HPA-1a razvilo le 10 % HPA-1a negativnih nosečnic, ki nosi HPA-1a pozitivni plod (10). Prisotnost antigena HLA-DR B3*0101 pomembno zveča verjetnost senzibilizacije med nosečnostjo s HPA-1a pozitivnim plodom. Ob tej kombinaciji antigenov se namreč senzibilizira kar 35 % nosečnic, kar pomeni, da molekula haplotipa HLA-DR B3*0101 zelo uspešno predstavlja antigen HPA-1a imunskim celicam HPA-1a negativne matere (8). Druga najpogostejša protitelesa, odgovorna za razvoj FNAIT, so anti-HPA-5b (10–15 %). Ostala, sorazmerno pogosta protitelesa so še anti-HPA-1b, anti-HPA-15, anti-HPA-3 in anti-HPA-9b (skupaj 5 % vseh primerov) (7,8,9,15).

Redko je trombocitopenija novorojenčka posledica prenosa avtoprotiteles pri materi s primarno imunsko trombocitopenijo (ITP) preko posteljice. Materina avtoprotitelesa običajno ne povzročajo trombocitopenije pri otroku

ali pa je prisotna le blaga trombocitopenija brez kliničnih znakov. Opisano je le nekaj primerov težke neonatalne trombocitopenije, ki so jo povzročila materina avtoprotitelesa (16).

Vloga protiteles anti-A in anti-B iz krvnoskupinskega sistema ABO ter protiteles anti-HLA-A in -HLA-B v serumu nosečnice pri pojavu trombocitopenije ni povsem jasna. Raziskave kažejo, da protitelesa anti-A in -B ter protitelesa anti-HLA-A in -HLA-B najverjetneje niso pomembna v patogenezi FNAIT in ne povzročajo trombocitopenije pri novorojenčku. V literaturi je opisano le nekaj primerov FNAIT, ki jih povzročajo protitelesa anti-A in -B ter anti-HLA-A in -HLA-B (8,17).

3 Klinična slika in izvidi laboratorijskih preiskav

Novorojenček s FNAIT je lahko brez bolezenskih znakov, v 85–90 % FNAIT, povzročene s protitelesi anti-HPA-1a, pa so prisotni znaki hemoraške diateze; najpogosteje petehije, hematomi in mukozne krvavitve. Krvavitev iz prebavil opažamo pri eni tretjini bolnikov, medtem ko je krvavitev iz sečil redka. Znotrajlobanjska krvavitev, ki je sicer redek zaplet (prisotna pri 10–15 % novorojenčkov s simptomi) (8,10,13), je najpogostejši vzrok smrti in trajnih nevroloških posledic (18). V 80 % nastane znotrajlobanjska krvavitev prenatalno (19), po porodu pa je največje tveganje za njen nastanek v prvih 96 urah življenja (8). Pri FNAIT, povzročeni z anti-HPA-5b, je 2/3 bolnikov brez bolezenskih znakov, vendar lahko znotrajlobanjsko krvavitev kljub temu utrpijo (9,10).

Do znotrajlobanjske krvavitve zaradi FNAIT lahko pride že pri plodu, kar ima lahko za posledico destrukcijo možganovine, ventrikulomegalijo, nastanek porencefalne ciste, hidrops ploda in

Tabela 1: HPA aloantigeni/proteini. Povzeto po <http://www.ebi.ac.uk/ipd/hpa/table1.html>, julij 2017.

| Sistem | Antigen | Originalno ime | Glikoprotein | CD |
|--------|--------------------|--|---------------|-------|
| HPA-1 | HPA-1a HPA-1b | Zw ^a , Pl ^{A1} Zw ^b , Pl ^{A2} | GPIIIa | CD61 |
| HPA-2 | HPA-2a HPA-2b | Ko ^b Ko ^a , Sib ^a | GP1b α | CD42b |
| HPA-3 | HPA-3a HPA-3b | Bak ^a , Lek ^a Bak ^b | GP1Ib | CD41 |
| HPA-4 | HPA-4a HPA-4b | Yuk ^b , Pen ^a Yuk ^a , Pen ^b | GPIIIa | CD61 |
| HPA-5 | HPA-5a HPA-5b | Br ^b , Zav ^b Br ^a , Zav ^a , Hc ^a | GP1a | CD49b |
| | HPA-6bw | Ca ^a , Tu ^a | GPIIIa | CD61 |
| | HPA-7bw | Mo ^a | GPIIIa | CD61 |
| | HPA-8bw | Sr ^a | GPIIIa | CD61 |
| | HPA-9bw | Max ^a | GP1Ib | CD41 |
| | HPA10bw | La ^a | GPIIIa | CD61 |
| | HPA11bw | Gro ^a | GPIIIa | CD61 |
| | HPA12bw | ly ^a | GP1bbeta | CD42c |
| | HPA13bw | Sit ^a | GP1a | CD49b |
| | HPA14bw | Oe ^a | GPIIIa | CD61 |
| HPA-15 | HPA-15a HPA-15b | Gov ^b Gov ^a | CD109 | CD109 |
| | HPA-16bw | Duv ^a | GPIIIa | CD61 |
| | HPA-17bw | Va ^a | GP1Ib/IIIa | CD61 |
| | HPA-18bw | Cab ^a | GP1a | CD49b |
| | HPA-19bw | Sta | GPIIIa | CD61 |
| | HPA-20bw | Kno | GP1Ib | CD41 |
| | HPA-21bw | Nos | GPIIIa | CD61 |
| | HPA-22bw | Sey | GP1Ib | CD41 |
| | HPA-23bw | Hug | GPIIIa | CD61 |
| | HPA-24bw | Cab2 ^{a+} | GP1Ib | CD41 |
| | HPA-25bw | Swi ^a | GP1a | CD49b |
| | HPA-26bw | Sec ^a | GPIIIa | CD61 |
| | HPA-27bw | Cab3 ^{a+} | GP1Ib | CD41 |
| | HPA-28bw | War | GP1Ib | CD41 |
| | HPA-29bw | Kha ^b | GPIIIa | CD61 |

Legenda: HPA - *angl. human platelet antigens*, trombocitni antigeni; GP – glikoproteini; CD – označevalci pripadnosti.

smrt (21). Tveganje za nastanek znotrajlobanjske krvavitve pri plodu nosečnice, ki je že imela plod z znotrajlobanjsko krvavitvijo v prejšnji nosečnosti, je 72 % (interval 46–98 %) (20).

Pri novorojenčku s FNAIT je po rojstvu, običajno v prvih 24–48 urah življenja, prisotna zgolj nepojasnjena trombocitopenija. Število trombocitov (Tr) je najpogostejše med 10 in $50 \times 10^9/L$. V večini primerov se trombocitopenija v prvih 48 urah pogloblja in pri polovici pade pod $10 \times 10^9/L$ (12). Trombocitopenija, povzročena s protitelesi anti-HPA-1a, je običajno težje stopnje v primerjavi s trombocitopenijo, povzročeno z anti-HPA-5b, ki je nekoliko blažja (13). V raziskavi Bussela s sod. je bilo ugotovljeno, da je povprečno število trombocitov pri plodu s fetalno aloimunsko trombocitopenijo zaradi protiteles anti-HPA-1a $18 \times 10^9/L$, pri drugih anti-HPA protitelesih pa $60 \times 10^9/L$ (21). Trombocitopenija običajno traja 2–6 tednov in nato spontano izzveni, zato večina novorojenčkov ne potrebuje zdravljenja (8). V redkih primerih zaradi krvavitve pri FNAIT beležimo tudi anemijo in hiperbilirubinemijo (22). Pri vsakem naslednjem otroku z neskladjem v trombocitnih antigenih je trombocitopenija izražena z enako ali večjo intenzivnostjo (8,13).

4 Diagnosticiranje

Na FNAIT posumimo pri novorojenčku, ki ima izolirano trombocitopenijo s hemoraško diatezo ali brez nje v odsotnosti drugih, pogostejših vzrokov trombocitopenije. Število trombocitov pri materi je normalno, potek nosečnosti in porod sta brez zapletov, v anamnezi ni podatka o avtoimunskih boleznih matere ali jemanju zdravil, ki lahko povzročajo trombocitopenijo pri novorojenčku (10,12,13). S kliničnim pregledom in preiskavami so drugi vzroki neonatalne

trombocitopenije (znotrajmaternična okužba, policitemija, tromboza, prirojene nepravilnosti, za katere je značilna trombocitopenija, diseminirana intravaskularna koagulacija kot posledica okužbe ali hude krvavitve) izključeni (10,23).

Ob sumu na FNAIT moramo z laboratorijskimi testi ugotoviti, ali so v materinem serumu dejansko prisotna trombocitna protitelesa in nato določiti njihovo specifičnost. Smiselno je, da določimo tudi genotip HPA matere in očeta. Neskladje v antigenih HPA med materjo in očetom je pomembno za napoved tveganja v naslednjih nosečnostih, vodenje nosečnosti in ustrezno zdravljenje, če je le-to potrebno (24).

Serološka diagnostika FNAIT temelji na dokazovanju trombocitnih protiteles v materinem in otrokovem serumu z indirektnim imunofluorescenčnim testom ter dokazovanju trombocitnih protiteles, ki so vezana na trombocitih novorojenca, z direktnim imunofluorescenčnim testom (25). Ker nam serum in trombociti novorojenca mnogokrat niso dostopni, za dokaz trombocitnih protiteles uporabimo serum matere. Če v serumu matere dokažemo trombocitna protitelesa, je treba le-ta še specificirati.

Za specifikacijo protiteles HPA uporabljamo encimsko-immunski test (*angl.* enzyme linked immunosorbent assay - ELISA). Test ELISA omogoča ločevanje protiteles anti-HPA-1a, -1b, -3a, -3b, -4a, -5a, -5b ter protiteles anti-gpIa/IIa in anti-HLA (26).

Serološka potrditev FNAIT in specifikacija trombocitnih protiteles pri materi sta zelo pomembni za vodenje nadaljnjih nosečnosti, saj je znano, da vsa trombocitna protitelesa niso enako agresivna ter da je trombocitopenija pri vsakem naslednjem otroku z neskladjem v trombocitnih antigenih izražena z enako ali večjo intenzivnostjo (8,13).

Za določanje trombocitnih antigenov HPA uporabljamo serološke in molekularno-biološke teste. Najpogosteje se uporablja verižna reakcija s polimerazo s specifičnim zaporedjem začetnih oligonukleotidov (*angl.* polymerase chain reaction-sequence specific primers – PCR-SSP). V kolikor je nosečnica HPA-1a negativna (HPA-1b/b), oče pa homozigot HPA-1a/a, bo plod vedno HPA-1a pozitiven ter zato ogrožen za razvoj FNAIT. Če je nosečnica HPA-1b/b, oče pa heterozigot HPA-1a/b, je možnost, da je plod HPA-1a pozitiven 50-odstotna. V tem primeru je določanje plodovih trombocitnih antigenov iz celic iz amnijske tekočine ali biopsije horionskih resic z metodo PCR-SSR še zlasti pomembno, saj omogoča zgodnejše zdravljenje ogroženega ploda. Testi za neinvazivno prenatalno testiranje in določitev plodovega genotipa HPA-1a iz prostih celičnih fragmentov plodove DNK, ki so prisotni v periferni krvi nosečnice, so še v razvoju in trenutno dostopni le v raziskovalnih laboratorijih (14).

Kordocenteza z namenom določiti trombocitopenijo pri plodu in odločiti potrebo po transfuziji trombocitov ploda se zaradi tveganosti posega ne priporoča več (14).

Predimplantacijska genetska diagnostika v sklopu *in vitro* fertilizacije, s katero lahko izberemo HPA-1a negativen zarodek, ki ga nato s postopkom prenosa zarodka vnesemo HPA-1a negativni ženski, je trenutno možnost prihodnosti, saj je bil doslej v literature opisan le en tak primer (27).

Ugotavljanja neskladnosti v antigenih HPA med materjo in očetom z metodo PCR-SSP se je smiselno poslužiti tudi v primerih, ko s serološkimi testi ne uspeмо dokazati trombocitnih protiteles v serumu matere, bodisi zaradi nizkega titra ali nizke avidnosti protiteles (9).

5 Zdravljenje

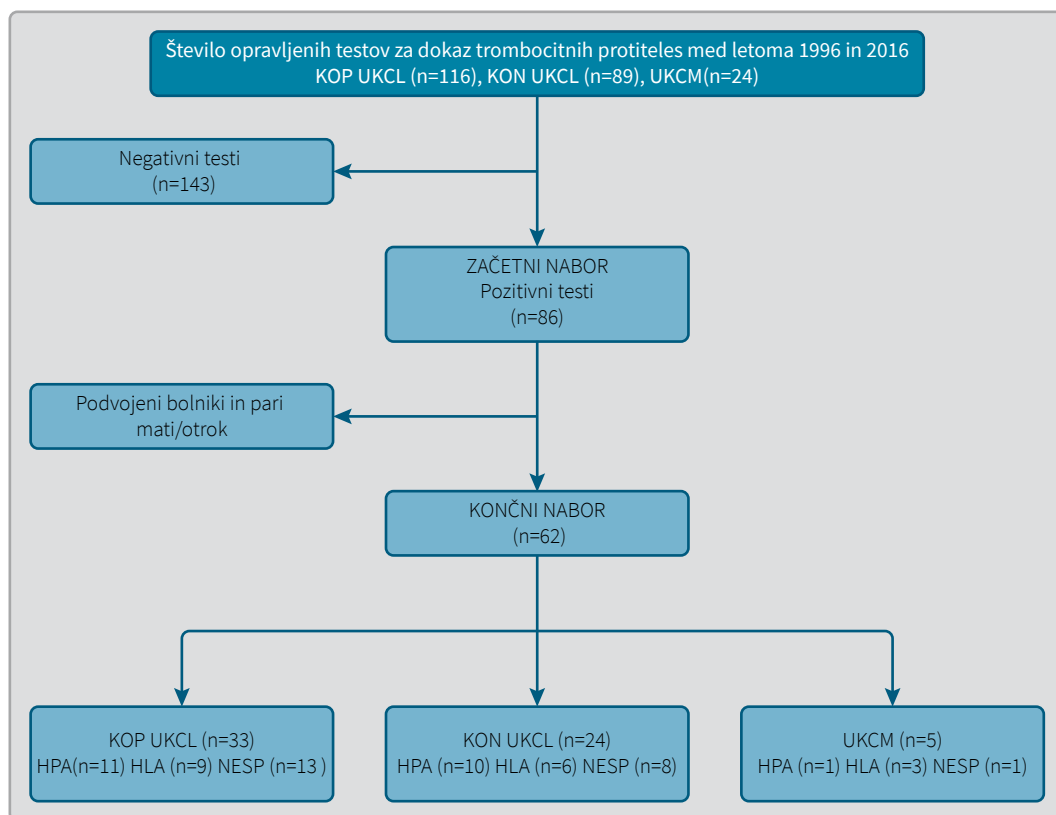
5.1 Novorojenček

Zdravljenje FNAIT-a je odvisno od stopnje trombocitopenije in klinične slike. Zdravljenje s transfuzijo trombocitov se priporoča, če je število trombocitov pod $30 \times 10^9/L$ pri klinično stabilnem novorojenčku (še posebej v prvih dneh življenja) (28,29), oziroma pod $50 \times 10^9/L$ pri novorojenčku z znaki krvavitve ali s pridruženimi boleznimi (8,10,16,28).

Če je mogoče, novorojenček prejme transfuzijo materinih trombocitov, saj aloprotitelesa, ki so prisotna v krvi otroka, z njimi ne reagirajo. Materina trombocitna enota mora biti pred uporabo ustrezno pripravljena, tako da odstranimo aloprotitelesa. Vsako enoto trombocitov, namenjeno novorojenčkom, filtriramo in obsevamo in tako preprečimo s transfuzijo povzročeno bolezen presadka proti gostitelju (*angl.* graft versus host disease - GVHD) (15).

Če materinih trombocitov ni mogoče uporabiti, pridobimo trombocitne pripravke z aferezo, najbolje HPA-1a negativnih dajalcev, ali z zlitjem več enot („buffycoat“) različnih dajalcev. Dajalci trombocitov morajo biti CMV negativni, trombociti pa tudi v tem primeru filtrirani in obsevani (3).

Novorojenčka lahko zdravimo tudi z intravenskimi gamaglobulini (IVIG) v odmerku 0,4–1 g/kg telesne teže/dan 2–5 dni zapored (1,8,29). Po aplikaciji IVIG ugotavljamo zadovoljiv učinek pri 2/3 bolnikov, število trombocitov pa poraste nad $50 \times 10^9/L$ po 48 urah. Pomanjkljivost zdravljenja z IVIG je odložen učinek, zato ga, še posebej v primeru krvavitve ali hude trombocitopenije, kombiniramo s transfuzijami trombocitov (1,8).



Slika 1: Shema nabora bolnikov.

Legenda: KOP UKCL – Klinični oddelek za perinatologijo Ginekološke klinike Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana; KON UKCL – Klinični oddelek za neonatologijo Pediatrične klinike Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana; UKCM – Oddelek za perinatologijo, Univerzitetnega kliničnega centra Maribor, HPA – Protitelesa anti-HPA, HLA – Protitelesa anti-HLA; NESP – Specifikacija protiteles ni bila izvedena

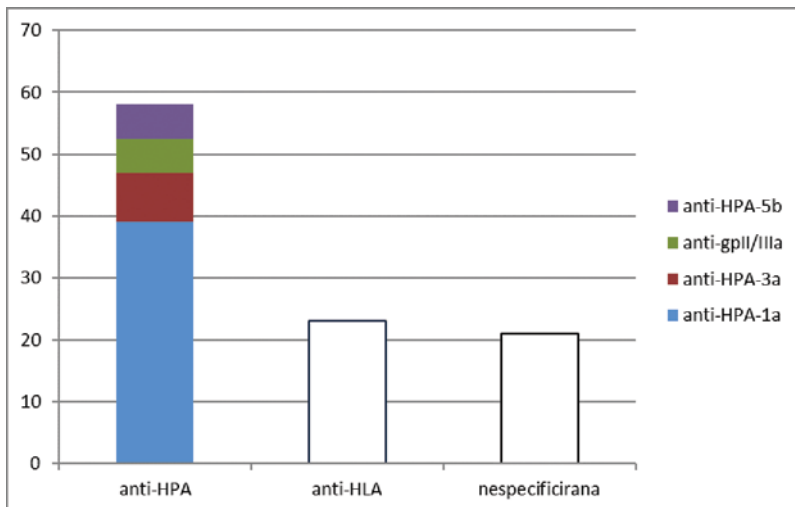
5.2 Plod

Ukrepi pri HPA alosenzibilizirani nosečnici so odvisni od izida predhodne nosečnosti in genotipa plodovih oziroma očetovih trombocitov. Če je oče homozigot za trombocitni antigen, bo plod v vsakem primeru neskladen z materjo. Če je oče heterozigot, je verjetnost, da bo plod neskladen z materjo 50 %. Genotip ploda lahko določimo z analizo celic, pridobljenih z amniocentezo ali biopsijo horionskih resic (14).

Če je prisotna neskladnost v trombocitnih antigenih med materjo in plodom, proti katerim ima mati dokazana

protitelesa, mora biti porod načrtovan in opravljen s carskim rezom po dopoljnem 37. tednu. S tem se zmanjša možnost znotrajlobanjske krvavitve med vaginalnim porodom (31).

Indikacije za prenatalno zdravljenje niso jasno določene. Leta 2011 je skupina strokovnjakov izdala priporočila za zdravljenje in vodenje nosečnic s trombocitnimi protitelesi ali anamnezo trombocitopenije novorojenčka po prejšnjem porodu matere. Priporočila so oblikovali na osnovi rezultatov kliničnih raziskav in mnenja strokovnjakov s tega področja (expert opinion) (31). Zaradi tveganosti kordocenteze za določitev števila trom-



Slika 2: Delež otrok s FNAIT glede na vrsto protiteles.

Legenda: FNAIT – fetalna in neonatalna aloimunska trombocitopenija; HPA – angl. *human platelet antigens*, trombocitni antigeni; HLA – humani levkocitni antigeni.

bocitov pri plodu so trenutno terapevtske indikacije osnovane na rezultatih seroloških testiranj ter stopnji trombocitopenije in pojavnosti znotrajlobanjske krvavitve v predhodni nosečnosti (31). Čeprav je transfuzija trombocitov plodu možen terapevtski ukrep, se danes svetuje predvsem zdravljenje matere z imunoglobulini, kortikosteroidi ali obojim, pri čemer je slednje najbolj učinkovito (32).

6 Preventiva in presejanje nosečnic

Čeprav velja, da do alosenzibilizacije HPA-1a negativne nosečnice lahko pride že zelo zgodaj v nosečnosti, novejša prospektivna raziskava dokazujejo, da se > 75 % HPA-1a negativnih nosečnic aloimunizira ob porodu (33). Te ugotovitve potrjujejo podobnost FNAIT s hemolitično boleznijo ploda in novorojenčka, zato trenutno potekajo raziskave, ki bi podprle domnevo, da lahko s postnatalno aplikacijo anti-HPA-1a protiteles po porodu pri HPA-1a negativni

nosečnici, ki rodi HPA-1a pozitivnega otroka, preprečimo alosenzibilizacijo (14).

Trenutno v svetu še ni nacionalnega programa, ki bi testiral vse nosečnice in s tem identificiral HPA-1a negativne nosečnice, ki so ogrožene za alosenzibilizacijo (14). Čeprav so norveški raziskovalci dokazali, da presejalni program izboljša klinični izid (4) in je ekonomsko upravičen (34), nacionalni presejalni programi zaenkrat niso bili odobreni predvsem zaradi pomanjkanja preventivnih ukrepov in učinkovitega ter enotnega zdravljenja. Zaradi odsotnosti presejanja predlagani protokoli prenatalne obravnave temeljijo na anamnestičnem podatku o znotrajlobanjski krvavitvi ali trombocitopeniji pri predhodnem otroku, s čimer pa običajno zgrešimo prvo nosečnost, v kateri pride do FNAIT.

7 Retrospektivni pregled bolnikov s FNAIT v Sloveniji v obdobju med letoma 1996 in 2016

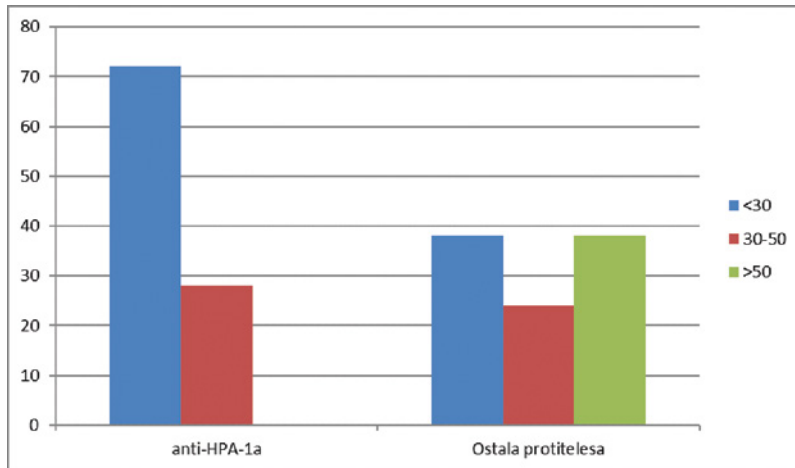
7.1 Namen raziskave

Pojavnost in klinična razsežnost FNAIT v Sloveniji nista znani. Namen opravljene retrospektivne raziskave je bil ugotoviti pojavnost in etiologijo FNAIT v Sloveniji ter klinično sliko bolnikov s FNAIT.

7.2 Metode

7.2.1 Zasnova raziskave in preučevana populacija

Raziskavo smo zasnovali kot retrospektivno kohortno raziskavo. V raziskavo smo vključili vse otroke, rojene med januarjem 1996 in decembrom 2016, ki so izpolnjevali merila za FNAIT in bili hospitalizirani na dveh oddelkih Univerzitetnega kliničnega



Slika 3: Delež otrok glede na stopnjo trombocitopenije, ločeno za FNAIT, povzročeno s protitelesi anti-HPA-1a in z ostalimi trombocitnimi protitelesi.

Legenda: Št.Tr – število trombocitov $\times 10^9/L$; HPA – angl. *human platelet antigens*, trombocitni antigeni.

centra Ljubljana (Kliničnem oddelku za perinatologijo Ginekološke klinike (KOP UKCL) in Kliničnem oddelku za neonatologijo Pediatrične klinike (KON UKCL)) in na Oddelku za perinatologijo Univerzitetnega kliničnega centra Maribor (UKCM). Glede na delitev dela in organizacijo neonatalne službe v Sloveniji smo z vključitvijo omenjenih oddelkov v raziskavo verjetno zajeli veliko večino slovenskih bolnikov, pri katerih je bila diagnosticirana FNAIT.

Diagnostična merila za FNAIT so bila trombocitopenija pri novorojenčku ($Tr < 120 \times 10^9/L$) in pozitivni serološki testi za dokaz trombocitnih protiteles pri materi in/ali novorojenčku ter odsotnost drugih možnih vzrokov za trombocitopenijo.

Zbiranje nabora novorojencev je potekalo v dveh fazah. V prvi fazi smo za obdobje med januarjem 1996 in decembrom 2016 iz informacijskega sistema Zavoda republike Slovenije za transfuzijsko medicino (ZTM) pridobili seznam vseh nosečnic, otročnic in novorojenčkov iz omenjenih bolnišničnih oddelkov,

pri katerih so bile opravljene preiskave za dokazovanje prisotnosti trombocitnih protiteles. V drugi fazi smo identificirali vse matere, pri katerih smo dokazali trombocitna protitelesa, novorojenček pa je imel trombocitopenijo ter odsotnost drugih vzrokov za trombocitopenijo, in tudi vse novorojenčke, pri katerih so bila dokazana trombocitna protitelesa. Novorojenčke s trombocitopenijo, katerih matere niso imele dokazanih trombocitnih protiteles, smo izključili iz raziskave. Za končni nabor bolnikov smo nato pridobili popise bolezni.

Raziskavo je odobrila Komisija za medicinsko etiko Republike Slovenije (št. odločbe 0120–635/2016–5).

7.2.2 Zbiranje podatkov

Iz popisov bolezni otrok smo zbrali osnovne demografske podatke ter podatke o kliničnem poteku, zdravljenju in izidu bolezni. Blago trombocitopenijo smo opredelili kot število Tr med $100–120 \times 10^9/L$, zmerno kot število Tr med 50 in $100 \times 10^9/L$, hudo kot število $Tr < 50 \times 10^9/L$. Podatke o rezultatih serološkega testiranja in specifikacije trombocitnih protiteles smo pridobili iz informacijskega sistema ZTM.

7.2.3 Statistična analiza

Pri izračunu pojavnosti FNAIT smo upoštevali, da se vse prošnje za identifikacijo trombocitnih protiteles iz vseh slovenskih zdravstvenih zavodov pošlje na ZTM. Poleg tega smo predvidevali, da so slovenski novorojenčki z nepojasnjeno trombocitopenijo premeščeni v dve terciarni zdravstveni ustanovi (KON UKCL in UKCM) ali pa rojeni v porodnišnici Ljubljana (KOP UKCL) in Maribor (UKCM), kamor so usmerjene nosečnice z obremenilno anamnezo za FNAIT oziroma pozitivnimi testi na trombocitne antigene. Število tako pridoblje-

Tabela 2: Osnovni demografski in perinatalni podatki vključenih novorojenčkov.

| Spol | anti-HPA-1a in anti-HPA-1a + anti-HLA n = 15 | | Ostala trombocitna protitelesa n = 24 | | Skupaj n = 39 | |
|--|---|------|--|------|------------------|--------|
| | n | (%) | n | (%) | n | (%) |
| Moški | 12 | (80) | 15 | (62) | 27 | (69,5) |
| Ženski | 3 | (20) | 9 | (38) | 12 | (30,5) |
| Porodna teža v g | | | | | | |
| Povprečje (SD) | 3128 (410) | | 2960 (700) | | 3024 (604) | |
| Mediana (IQR) | 3250 (690) | | 3040 (1390) | | 3180 (760) | |
| Gestacijska starost v tednih | | | | | | |
| Povprečje (SD) | 38,4 (2) | | 38 (2,5) | | 38,1 (2,3) | |
| Mediana (IQR) | 39 (3) | | 39 (4) | | 39 (3) | |
| Zaporedna nosečnost | | | | | | |
| 1 | 6 | (40) | 9 | (38) | 15 | (39) |
| 2 | 6 | (40) | 7 | (29) | 13 | (33) |
| 3 | 2 | (13) | 6 | (25) | 8 | (20,5) |
| 4 ali več | 1 | (7) | 2 | (8) | 3 | (7,5) |
| Število otrok v družini | | | | | | |
| 1 | 8 | (53) | 12 | (50) | 20 | (51) |
| 2 | 6 | (40) | 7 | (29) | 13 | (33,5) |
| 3 | 1 | (7) | 4 | (17) | 5 | (13) |
| 4 ali več | 0 | (0) | 1 | (4) | 1 | (2,5) |
| Način poroda | | | | | | |
| Vaginalni | 13 | (87) | 18 | (75) | 31 | (79,5) |
| Carski rez | 2 | (13) | 6 | (25) | 8 | (20,5) |
| Trombocitopenija v predhodni nosečnosti | | | | | | |
| Ne | 13 | (87) | 19 | (82) | 32 | (84) |
| Da | 2 | (13) | 4 | (18) | 6 | (16) |

Legenda: SD – standardni odklon; IQR – interkvartilni razmik; HPA – *angl. human platelet antigens*, trombocitni antigeni; HLA – humani levkocitni antigeni.

nih bolnikov s FNAIT je števec, število živorojenih otrok v 21-letnem obdobju pa imenovalc v izračunu pojavnosti FNAIT v Sloveniji. Pridobljeni količnik smo izrazili na 1000 živorojenih otrok. Podatke o številu živorojenih otrok v Sloveniji smo pridobili v Statističnem letopisu Republike Slovenije za leta od 1996 do 2016 (<http://www.stat.si>).

Statistično obdelavo podatkov smo opravili s pomočjo statističnega paketa IBM SPSS Statistics, različica 21 (IBM Corporation, Armonk, ZDA). Za pridobljene podatke smo predstavili deleže, povprečja, standardne odklone, mediane, interkvartilni razmik (IQR) in intervale zaupanja (IZ). IZ smo izračunali za deleže z normalno aproksimacijo (za $n < 30$ pa Agresti-Coull) (35). V primeru negativne spodnje vrednosti IZ smo za spodnjo mejo IZ zabeležili številko nič. Za primerjavo asimetrično porazdeljenih številskih spremenljivk med skupinama smo uporabili Mann-Whitneyev test. Za primerjavo deležev v podskupinah smo uporabili Fisherjev eksaktni test. Za statistično značilno razliko smo upoštevali vrednost $p < 0,05$.

7.3 Rezultati

7.3.1 Vključeni bolniki

V obdobju od januarja 1996 do decembra 2016 je bilo na ZTM opravljenih 229 testov za dokazovanje trombocitnih protiteles pri novorojenčkih, otročnicah in nosečnicah iz treh v raziskavo vključenih oddelkov (KOP UKCL, KON UKCL in UKCM). 143 testov je bilo negativnih in 86 pozitivnih na trombocitna protitelesa. Po izključitvi podvojenih bolnikov in identifikaciji parov otrok/mati je bilo na voljo 62 pozitivnih seroloških testov, ki smo jih lahko povezali z novorojenčki: 24 (39 %) iz KON UKCL, 33 (53 %) iz KOP UKCL in 5 (8 %) iz UKCM; od tega je bilo 54 vzorcev od mater, 1 vzorec od

otroka in 7 parnih vzorcev – za otroka in mati (Slika 1). Novorojenčki desetih otročnic, ki so imele dokazana trombocitna protitelesa (protitelesa so bila anti-HLA, nobena otročnica ni imela protiteles HPA), niso razvili trombocitopenije. Za 16 otrok nismo uspeli pridobiti popisov. Podatke o demografskih značilnostih in klinični sliki otrok s FNAIT ter izvidih trombocitnih testiranj in zdravljenju nosečnic ali otrok smo tako pridobili za 39 primerov.

7.3.2 Pojavnost FNAIT

V obdobju od leta 1996 do 2016 se je v Sloveniji rodilo 410.310 otrok (<http://www.stat.si>). V tem obdobju je bilo po podatkih ZTM, ki edini izvajajo diagnostiko trombocitnih protiteles, 62 vzorcev mater ali otrok pozitivnih na trombocitna protitelesa. Novorojenčki desetih otročnic kljub prisotnosti trombocitnih protiteles pri materi niso razvili trombocitopenije. Za 16 otrok nismo uspeli pridobiti popisa, zato podatka, ali so imeli trombocitopenijo, nimamo. Tri nosečnice so imele po dva otroka s trombocitopenijo. V obdobju 1996–2016 je FNAIT torej zagotovo imelo 39 otrok (mogoče celo 55 (39 + 16) otrok), kar predstavlja števec, število živorojenih v omenjenem obdobju pa imenovalc v izračunu pojavnosti. Pojavnost FNAIT v Sloveniji je bila torej v omenjenem obdobju $1/10000$ živorojenih (95 % IZ, [0,6/10000; 1,3/10000]), torej povprečno dva otroka s FNAIT letno.

7.3.3 Klinične značilnosti in trombocitna protitelesa

V končno analizo je bilo vključenih 12 (30,5 %) deklic in 27 (69,5 %) dečkov. Mediana gestacijske starosti otrok s FNAIT je bila 39 (IQR 3) tednov, 8 otrok je bilo nedonošenih, mediana porodne teže pa je bila 3180 (IQR 760) g. (Tabela 2) Večina, 31 (79 %), otrok je bilo rojenih

Tabela 3: Primerjava klinične slike, števila trombocitov in zdravljenja novorojenčkov s FNAIT, ločeno za skupini z anti-HPA-1a in ostalimi protitelesi.

| Klinična slika | anti-HPA-1a in anti-HPA-1a + anti-HLA n = 15 | | Ostala trombocitna protitelesa n = 24 | | Skupaj n = 39 | | Statistični test Vrednost p |
|---|---|------|--|------|------------------|--------|----------------------------------|
| | n | (%) | n | (%) | n | (%) | |
| Brez simptomov | 2 | (13) | 7 | (29) | 9 | (23) | Fisherjev test p = 0,437 |
| S simptomi | 13 | (87) | 17 | (71) | 30 | (77) | |
| Št. najnižje zabeleženih Tr ($\times 10^9/L$) | | | | | | | |
| Povprečje (SD) | 20 (13) | | 44 (36) | | 35 (32) | | Mann-Whitneyev test p = 0,015 |
| Mediana (IQR) | 16 (19) | | 36 (39) | | 29 (32) | | |
| | 2,2 (2) | | 3,8 (6,3) | | 3,2 (5,2) | | Mann-Whitneyev test p = 0,415 |
| | 1 (3) | | 2 (6) | | 1 (3) | | |
| Čas do normalizacije št. Tr, Povprečje (SD), Mediana (IQR) | | | | | | | |
| Povprečje (SD) | 11,5 (12,6) | | 25,7 (37) | | 19,1 (28,9) | | Mann-Whitneyev test p = 0,185 |
| Mediana (IQR) | 6 (4) | | 18 (20) | | 7,5 (21) | | |
| Zdravljenje novorojenčka^a | | | | | | | |
| Ni bilo potrebno | 8 | (53) | 17 | (72) | 25 | (64,5) | Fisherjev test p = 0,318 |
| Transfuzija Tr | 5 | (13) | 3 | (12) | 8 | (20,5) | |
| IVIG | 1 | (7) | 0 | (0) | 1 | (2,5) | |
| Transfuzija Tr + IVIG | 1 | (7) | 3 | (12) | 4 | (10) | |
| Transfuzija Tr + IVIG + KS | 0 | (0) | 1 | (4) | 1 | (2,5) | |
| Prenatalno zdravljenje matere z IVIG^b | | | | | | | |
| Ne | 13 | (93) | 18 | (82) | 31 | (86) | Fisherjev test p = 0,628 |
| Da | 1 | (7) | 4 | (18) | 5 | (14) | |

Legenda: SD – standardni odklon; IQR – interkvartilni razmik; HPA – *angl. human platelet antigens*, trombocitni antigeni; HLA – humani levkocitni antigeni; Tr – trombociti; IVK – intraventrikularna krvavitev; IVIG – intravenozni imunoglobulini; KS – kortikosteroidi.

a - S Fisherjevim eksaktnim testom smo primerjali deleže zdravljenih (otroci, ki so prejeli transfuzijo Tr, IVIG, KS ali kombinacijo navedenih terapij) in nezdravljenih otrok.

b – Podatek o prenatalnem zdravljenju matere je bil pridobljen za 36 otrok.

vaginalno. Pozitivna anamneza na trombocitopenijo v neonatalnem obdobju pri sorojencu je bila prisotna v 6 (15 %) (95 % IZ [4 %; 26 %]) primerih, porod s carskim rezom je bil le v dveh od omenjenih šestih primerov.

V 22 (56 %) (95 % IZ [40 %; 72 %]) primerih so FNAIT povzročila protitelesa HPA, v 9 (23 %) (95 % IZ [10 %; 36 %]) primerih so bila dokazana samo protitelesa HLA, v 8 (21 %) (95 % IZ [8 %; 34 %]) primerih identifikacija protiteles ni bila izvedena. Med protitelesi HPA so bila v 15 (68 %) (95 % IZ [47 %; 84 %]) primerih dokazana protitelesa anti-HPA-1a (pri 4 smo hkrati dokazali protitelesa anti-HPA-1a in anti-HLA), v 3 (14 %) (95 % IZ [4 %; 34 %]) protitelesa anti-HPA-3a, v 2 (10 %) (95 % IZ [1 %; 29 %]) protitelesa anti-gpIIb/IIIa in v 2 (10 %) (95 % IZ [1 %; 29 %]) primerih hkrati anti-HPA-5b in anti-HLA (Slika 2).

27 (69,5 %) (95 % IZ [55 %; 84 %]) otrok je imelo petehije in/ali sufuzije (87 % otrok z anti-HPA-1a in 55 % z ostalimi protitelesi), 1 (2,5 %) (95 % IZ [0 %; 7 %]) znotrajlobanjsko krvavitev, 2 (5 %) (95 % IZ [0 %; 12 %]) druge vrste krvavitvev, brez kliničnih znakov je bilo 9 (23 %) (95 % IZ [10 %; 36 %]) otrok. 2 otroka brez kliničnih znakov sta imela dokazana protitelesa anti-HPA-1a, 1 otrok anti-HPA-3a, 2 otroka anti-HLA in 1 otrok anti-gpIIb/IIIa. Pri treh otrocih brez kliničnih znakov smo dokazali trombocitna protitelesa, vendar njihova specifičnosti ni bila opredeljena. Le 2 otroka s protitelesi anti-HLA sta bila brez kliničnih znakov, 7 jih je imelo petehije.

Otroci s protitelesi anti-HPA-1a so imeli nižje vrednosti trombocitov v primerjavi z otroki s FNAIT, povzročeno z drugimi trombocitnimi protitelesi (razlika je bila statistično značilna ($p = 0,015$)); mediana najnižje zabeleženega števila trombocitov je bila $16 \times 10^9/L$ (IQR $19 \times 10^9/L$) vs. $36 \times 10^9/L$ (IQR $39 \times 10^9/L$).

Deleži otrok z različno stopnjo trombocitopenije (število $Tr < 30 \times 10^9/L$, med $30-50 \times 10^9/L$ in $> 50 \times 10^9/L$) so razvidni na Sliki 3. Pri polovici otrok (mediana) z anti-HPA-1a FNAIT je bila najnižja vrednost trombocitov zabeležena manj kot 1 (IQR 3) dan po rojstvu, medtem ko je bila pri drugih trombocitnih protitelesih pri polovici otrok (mediana) najnižja vrednost zabeležena manj kot 2 (IQR 6) dni po rojstvu, vendar razlika ni bila statistično značilna. Število trombocitov se je pri otrocih s FNAIT, povzročeno s protitelesi anti-HPA-1a, hitreje normaliziralo kot pri otrocih s FNAIT, povzročeno z drugimi trombocitnimi protitelesi, vendar razlika porazdelitve med skupinama ni bila statistično značilna (Tabela 3).

25 (64,5 %) (95 % IZ [49 %; 80 %]) otrok zdravljenja ni potrebovala, 8 (20,5 %) (95 % IZ [8 %; 33 %]) je prejelo transfuzijo trombocitov, 4 (10 %) (95 % IZ [1 %; 19 %]) transfuzijo trombocitov in IVIG, 1 (2,5 %) (95 % IZ [0 %; 7 %]) samo IVIG in 1 (2,5 %) (95 % IZ [0 %; 7 %]) transfuzijo trombocitov, IVIG in kortikosteroide. Terapijo z IVIG v času nosečnosti je prejelo 5 nosečnic, dve s protitelesi anti-gpIIb/IIIa, ter po ena s protitelesi anti-HPA-1a, anti-HPA-3a oz. anti-HLA. Vseh pet nosečnic je pred tem rodilo otroka s trombocitopenijo, nosečnica s protitelesi anti-HLA je v predhodni nosečnosti rodila novorojenčka s trombocitopenijo, petehijami in subependimarno krvavitvijo.

Število predhodnih nosečnosti in porodov, način poroda, klinična slika, najnižje število trombocitov, starost otroka ob najnižji vrednosti trombocitov, čas do normalizacije vrednosti trombocitov in terapija trombocitopenije so predstavljeni v Tabeli 2 in Tabeli 3, ločeno za otroke, ki so imeli FNAIT zaradi prisotnosti protiteles anti-HPA-1a ali drugih trombocitnih protiteles.

7.4 Razpravljanje

Iz rezultatov raziskav, v katerih so spremljali HPA-1a negativne nosečnice, se pojavnost FNAIT ocenjuje na 1/1.000 do 2.000 živorojenih otrok (2,3,4). Glede na rodnost v Sloveniji bi pričakovali 10 do 20 primerov FNAIT letno. Rezultati opravljene retrospektivne raziskave so pokazali, da v Sloveniji v povprečju letno dokažemo FNAIT pri 2 otrocih in da je pojavnost FNAIT v Sloveniji 1/10.000 (95 % IZ [0,6/10.000; 1,3/10.000]) živorojenih, torej nižja od ocenjene pojavnosti v prospektivnih raziskavah (2,3,4) in podobna pojavnosti FNAIT v raziskavah norveških in angleških raziskovalcev, ki so bile zasnovane podobno kot naše (1 na 7.700 do 8.000 živorojenih otrok) (5,6).

Kljub temu, da je pojavnost izračunana iz podatkov, pridobljenih z retrospektivnim pregledom in zato najverjetneje podcenjena, menimo, da je bil nabor bolnikov v danih razmerah optimalen in je zato število dokazanih primerov FNAIT realno. ZTM je namreč edina ustanova v Sloveniji, kjer se izvajajo testi za dokazovanje trombocitnih protiteles, glede na delitev dela v neonatologiji in organiziranost porodništva v Sloveniji pa je zelo velika verjetnost, da so otroci s FNAIT oskrbovani v treh v raziskavo vključenih oddelkih.

Čeprav je izračunana nizka pojavnost lahko posledica pomanjkljivosti retrospektivne analize, ne moremo mimo dejstva, da je bilo prošelj za identifikacijo protiteles za dokaz FNAIT v 21-letnem obdobju 229, torej 10,9 letno. Glede na pričakovanih 10 do 20 FNAIT letno bi morale biti prošelj za identifikacijo vsaj toliko ali dvakrat več (12). Nizka pojavnost je torej lahko posledica tudi neoptimalnega aktivnega iskanja bolezni.

Najpogosteje dokazana protitelesa so bila protitelesa anti-HPA-1a, in sicer

pri 15 otrocih oz. v 68 % (95 % IZ [49 %; 87 %]) FNAIT zaradi HPA protiteles. Delež s protitelesi anti-HPA-1a povzročene FNAIT je v našem vzorcu, ki sicer zajema večji del populacije v analiziranem obdobju, torej nižji, kot je naveden v literaturi (75–90 %) (5,15,36,37,38). O manjšem deležu FNAIT povzročene s protitelesi anti-HPA-1a poročajo tudi Hrvatje, in sicer 50 % (12). Manjši delež FNAIT, povzročene s protitelesi anti-HPA-1a, lahko pomeni, da je delež senzibiliziranih HPA-1a negativnih nosečnic v našem okolju nižji. Delež HPA-1a negativnih oseb je namreč v našem okolju podoben kot v populacijah, kjer poročajo o 75–90 % FNAIT, povzročene z anti-HPA-1a (39). Nižji delež FNAIT, povzročene z anti-HPA-1a, pa je lahko posledica tudi laboratorijske nezaznave nizko avidnih protiteles. Rezultati raziskav kažejo, da nizko avidna protitelesa anti-HPA-1a, ki jih z običajnimi laboratorijskimi testi ne moremo dokazati, lahko povzročijo FNAIT (40,41).

V 9 (23 %) (95 % IZ [10 %; 36 %]) primerih FNAIT smo dokazali izključno protitelesa anti-HLA. Etiologija protiteles anti-HLA v razvoju FNAIT ni povsem pojasnjena, vendar naj ne bi bila vzrok za razvoj hude trombocitopenije novorojenčka (15,37,42), saj je prisotnost anti-HLA pri zdravih nosečnicah zelo pogosta (do 40 %) (24,36). Med omenjenimi 9 nosečnicami so bile 4 prvič noseče. V prvi nosečnosti, med katero pride do senzibilizacije, je lahko titer protiteles HPA nizek in nezaznaven z laboratorijskimi testi. V primeru suma na FNAIT in odsotnosti protiteles anti-HPA je smiselno določiti antigene HPA matere in otroka ali vsaj očeta z genotipizacijo. Če sta mati in novorojenček antigensko neskladna v sistemu HPA, je FNAIT mogoča, saj so lahko prisotna nizko avidna ali malo številčna protitelesa, ki jih s standardnimi testi nismo uspeli dokazati. V

naši raziskavi je bila med 9 HLA pozitivnimi primeri genotipizacija opravljena v treh primerih.

Pozitivno anamnezo trombocitopenije pri sorojencu je imelo 15 % (95 % IZ [4 %; 26 %]) otrok, podobno kot v raziskavi Bussel in sod. (43), v kateri so poročali o trombocitopeniji med 18 % sorojencev. Čeprav je pri nosečnici, ki ima dokazana trombocitna protitelesa, še posebej, če je pred tem rodila otroka s trombocitopenijo, indiciran carski rez, sta bila v naši raziskavi le 2 od 6 novorojenčkov s pozitivno družinsko anamnezo rojena s carskim rezom.

Novorojenčki s protitelesi anti-HPA-1a so imeli nižje vrednosti trombocitov kot novorojenčki s FNAIT, povzročeno z drugimi trombocitnimi protitelesi. Delež otrok s hudo trombocitopenijo je bil v skupini FNAIT s protitelesi anti-HPA-1a 100 % vs 63 % otrok s FNAIT, povzročeno z drugimi trombocitnimi protitelesi. Skoraj 70 % otrok s FNAIT, ki so imeli dokazana protitelesa anti-HPA-1a, je imela Tr pod 30. Podobno poročajo drugi raziskovalci (13,15,44). 10 otrok mater, pri katerih smo dokazali trombocitna protitelesa, trombocitopenije ni razvilo (10 od 54 vzorcev mater, 18 % (95 % IZ [8 %; 28 %])). Kjeldsen-Kragh in sod. poročajo o še večjem deležu otrok, rojenih materam s protitelesi anti-HPA-1a z normalnim številom trombocitov, in sicer 50 % (4).

Protitelesa anti-HPA-1a povzročajo najbolj izrazito trombocitopenijo, zato bi pričakovali, da je čas do normalizacije števila trombocitov pri otrocih s protitelesi anti-HPA-1a daljši kot pri otrocih s FNAIT, povzročeno z drugimi trombocitnimi protitelesi. V naši raziskavi je bil čas do normalizacije števila trombocitov otrok s protitelesi anti-HPA-1a krajši, vendar razlika ni bila statistično značilna. Krajši čas do normalizacije števila Tr bi lahko bil posledica zdravljenja, saj

je delež otrok, zdravljenih s transfuzijo trombocitov, v skupini otrok s protitelesi anti-HPA-1a večji kot v skupini otrok, ki je imela druga trombocitna protitelesa, natančneje znaša 47 % (95 % IZ [25 %; 70 %]) vs 29 % (95 % IZ [15 %; 49 %]). Večina avtorjev za zdravljenje novorojenčka s FNAIT svetuje transfuzijo trombocitov, v kolikor je število Tr < 30 ali imajo znake krvavitve (8,28,29). V naši raziskavi je transfuzijo trombocitov prejelo 13 od 20 otrok s številom Tr < 30.

Med nosečnostjo je IVIG prejelo 5 žensk. Njihovi otroci so imeli različno stopnjo trombocitopenije: 2 sta imela blago, 1 zmerno, 2 hudo trombocitopenijo, nihče pa ni imel znotrajlobanjske krvavitve. Kljub zdravljenju matere z IVIG je torej imelo hudo trombocitopenijo 40 % (95 % IZ [12 %; 77 %]) novorojenčkov. Izid zdravljenja nosečnic z IVIG so spremljali Van der Lugt in sod., med skupno 22 novorojenčki jih je 12 (55 %) razvilo hudo trombocitopenijo in le 1 (4 %) znotrajlobanjsko krvavitev (44). Zdravljenje z IVIG torej zniža verjetnost nastanka znotrajlobanjske krvavitve kljub temu, da ne normalizira števila Tr, kar poročajo tudi drugi raziskovalci (45).

Opravljena raziskava ima nekatere pomanjkljivosti. Retrospektivni nabor podatkov je zaradi pomanjkljivosti dokumentacije, različnega pristopa k beleženju ugotovitev v dokumentacijo ter različnih terapevtskih pristopov težaven in pomanjkljiv. Kljub temu, da za 16 otrok nismo uspeli pridobiti dokumentacije, smo z naborom kliničnih podatkov za preostale otroke zadovoljni. 21-letno obdobje je namreč za retrospektivni nabor podatkov dolgo, poleg tega pa smo v razpoložljivi dokumentaciji pridobili odgovore na skoraj vsa naslovljena vprašanja za posameznega otroka. Zato menimo, da so demografski podatki ter podatki o klinični sliki in terapiji otrok s FNAIT v Sloveniji zadovoljivi. Zaradi

retrospektivno zasnovane raziskave tudi nismo uspeli pojasniti etiologije FNAIT v primerih, ko so bila dokazana trombocitna protitelesa, vendar specifikacijo niso izvedli.

8 Zaključek

Prispevek predstavlja prvi pregledni članek o FNAIT, v katerem so predstavljeni rezultati retrospektivnega pregleda etiologije, klinične slike in zdravljenja bolnikov s FNAIT v Sloveniji. Glede na dobljeno pojavnost, ki je nižja ob pričakovane in najverjetneje posledica pomanjkanja aktivnega iskanja FNAIT pri novorojenčkih, avtorji upamo, da bo članek prispeval k zvečanju pozornosti ginekologov in neonatologov na to sicer redko, vendar potencialno zelo resno bolezen.

V Sloveniji, tako kot drugje po svetu, nimamo nacionalnega preventivnega programa za identifikacijo HPA-1a negativnih nosečnic, ki so ogrožene za alosenzibilizacijo. Zato trenutno prenatalna diagnostika in vodenje nosečnosti temeljita na anamnestičnih podatkih o trombocitopeniji in znotrajlobanjski krvavitvi pri starejšem sorojencu. Pričujoči prispevek dokazuje, da vodenje ogroženih nosečnic in novorojenčkov s FNAIT v Sloveniji ni enotno. Klinikovo poznavanje bolezni in dobro sodelovanje z laboratorijem sta zato ključnega pomena za vodenje ogroženih nosečnic in prizadetih otrok. Register HPA-1a negativnih darovalcev trombocitov pa bi bistveno prispeval k izboljšanju zdravljenja novorojenčkov, kadar ti potrebujejo transfuzijo trombocitov.

Literatura

1. Brouk H, Ouelaa H. Fetal and Neonatal Alloimmune Thrombocytopenia: Advances in Laboratory Diagnosis and Management. *Int J Blood Res Disord.* 2015;2:013.
2. Blanchette VS, Chen L, de Friedberg ZS, Hogan VA, Trudel E, Décarý F. Alloimmunization to the PLA1 platelet antigen: results of a prospective study. *Br J Haematol.* 1990 Feb;74(2):209–15.
3. Williamson LM, Hackett G, Rennie J, Palmer CR, Maciver C, Hadfield R, et al. The natural history of fetomaternal alloimmunization to the platelet-specific antigen HPA-1a (PLA1, Zwa) as determined by antenatal screening. *Blood.* 1998 Oct;92(7):2280–7.
4. Kjeldsen-Kragh J, Killie MK, Tomter G, Golebiowska E, Randen I, Hauge R, et al. A screening and intervention program aimed to reduce mortality and serious morbidity associated with severe neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Blood.* 2007 Aug;110(3):833–9.
5. Tiller H, Killie MK, Skogen B, Øian P, Husebekk A. Neonatal alloimmune thrombocytopenia in Norway: poor detection rate with nonscreening versus a general screening programme. *BJOG.* 2009 Mar;116(4):594–8.
6. Knight M, Pierce M, Allen D, Kurinczuk JJ, Spark P, Roberts DJ, et al. The incidence and outcomes of fetomaternal alloimmune thrombocytopenia: a UK national study using three data sources. *Br J Haematol.* 2011 Feb;152(4):460–8.
7. Risson DC, Davies MW, Williams BA. Review of neonatal alloimmune thrombocytopenia. *J Paediatr Child Health.* 2012 Sep;48(9):816–22.
8. Peterson JA, McFarland JG, Curtis BR, Aster RH. Neonatal alloimmune thrombocytopenia: pathogenesis, diagnosis and management. *Br J Haematol.* 2013 Apr;161(1):3–14.
9. Brojer E, Husebekk A, Dębska M, Uhrynowska M, Guz K, Orzińska A, et al. Fetal/Neonatal Alloimmune Thrombocytopenia: Pathogenesis, Diagnostics and Prevention. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2016 Aug;64(4):279–90.
10. EspinozaEspinoza JP, CaradeuxCaradeux J, NorwitzNorwitz ER, Illanes SE. Fetal and Neonatal Alloimmune Thrombocytopenia. *Obstet Gynecol.* 2013;6(1):e15–21.
11. Kumpel BM, Sibley K, Jackson DJ, White G, Soothill PW. Ultrastructural localization of glycoprotein IIIa (GPIIa, beta 3 integrin) on placental syncytiotrophoblast microvilli: implications for platelet alloimmunization during pregnancy. *Transfusion.* 2008 Oct;48(10):2077–86.
12. Tomićić M, Golubić-Cepulić B, Gojceta K, Ivanković Z, Dogić V, Hundrić-Haspl Z. Neonatalna aloimuna trombocitopenija u Hrvatskoj od 1997. do 2007. godine. *Lijec Vjesn.* 2008 Jul-Aug;130(7–8):183–6.
13. Kaplan C. Neonatal alloimmune thrombocytopenia: a 50-year story. *Immunohematology.* 2007;23(1):9–13.

14. Tiller H, Husebekk A, Ahlen MT, Stuge TB, Skogen B. Current perspectives on fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia - increasing clinical concerns and new treatment opportunities. *Int J Womens Health*. 2017 Apr;9(9):223–34.
15. Ghevaert C, Campbell K, Walton J, Smith GA, Allen D, Williamson LM, et al. Management and outcome of 200 cases of fetomaternal alloimmune thrombocytopenia. *Transfusion*. 2007 May;47(5):901–10.
16. Kaplan C. Alloimmune thrombocytopenia of the fetus and the newborn. *Blood Rev*. 2002 Mar;16(1):69–72.
17. Hutchinson AL, Dennington PM, Holdsworth R, Downe L. Recurrent HLA-B56 mediated neonatal alloimmune thrombocytopenia with fatal outcomes. *Transfus Apherisis Sci*. 2015 Jun;52(3):311–3.
18. Tiller H, Kamphuis MM, Flodmark O, Papadogiannakis N, David AL, Sainio S et al. Fetal intracranial haemorrhages caused by fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: an observational cohort study of 43 cases from an international multicentre registry. *BMJ Open*. 2013;22:3(3).
19. Spencer JA, Burrows RF. Feto-maternal alloimmune thrombocytopenia: a literature review and statistical analysis. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 2001 Feb;41(1):45–55.
20. Murphy MF, Bussel JB. Advances in the management of alloimmune thrombocytopenia. *Br J Haematol*. 2007 Feb;136(3):366–78.
21. Bussel JB, Zabusky MR, Berkowitz RL, McFarland JG. Fetal alloimmune thrombocytopenia. *N Engl J Med*. 1997 Jul;337(1):22–6.
22. Bussel JB. Alloimmune thrombocytopenia in the fetus and newborn. *Semin Thromb Hemost*. 2001 Jun;27(3):245–52.
23. Bussel J. Diagnosis and management of the fetus and neonate with alloimmune thrombocytopenia. *J Thromb Haemost*. 2009 Jul;7 Suppl 1:253–7.
24. Rožman P. Diagnostika trombocitopenije – trombocitne preiskave v nosečnosti. In: Bricl I, Lamprecht N, ur. *Transfuzijska medicina v porodništvu: 6. podiplomski seminar Zdravljenje s krvjo*. 3–4 Dec 2004; Portorož, Slovenija. Ljubljana: Zavod Republike Slovenije za transfuzijsko medicino; 2004, p. 46–58.
25. Heikal NM, Smock KJ. Laboratory testing for platelet antibodies. *Am J Hematol*. 2013 Sep;88(9):818–21.
26. Rožman P, Klemenc P. Novosti v laboratorijski diagnostiki imunskih trombocitopenij In: Černe D, Skitek M, ur. *Raziskovalni dnevi laboratorijske biomedicine: zbornik predavan*. 30 Sep 2014; Ljubljana, Slovenija. Ljubljana: Fakulteta za farmacijo, 2014, str. 34–45.
27. Altarescu G, Eldar-Geva T, Grisaru-Granovsky S, Bonstein L, Miskin H, Varshver I, et al. Preimplantation genetic diagnosis for fetal neonatal alloimmune thrombocytopenia due to antihuman platelet antigen maternal antibodies. *Obstet Gynecol*. 2012 Feb;119(2 Pt 1):338–43.
28. Norfolk D. *Handbook of Transfusion Medicine*. 5th ed. United Kingdom Blood Services; 2014. pp. 119–23.
29. Kaplan C. Neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Haematologica*. 2008 Jun;93(6):805–7.
30. Constantinescu S, Zamfirescu V, Vladareanu PR. Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Mae-dica (Buchar)*. 2012 Dec;7(4):372–6.
31. Pacheco LD, Berkowitz RL, Moise KJ Jr, Bussel JB, McFarland JG, Saade GR. Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: a management algorithm based on risk stratification. *Obstet Gynecol*. 2011 Nov;118(5):1157–63.
32. Bertrand G, Drame M, Martageix C, Kaplan C. Prediction of the fetal status in noninvasive management of alloimmune thrombocytopenia. *Blood*. 2011 Mar;117(11):3209–13.
33. Killie MK, Husebekk A, Kjeldsen-Kragh J, Skogen B. A prospective study of maternal anti-HPA 1a antibody level as a potential predictor of alloimmune thrombocytopenia in the newborn. *Haematologica*. 2008 Jun;93(6):870–7.
34. Killie MK, Kjeldsen-Kragh J, Husebekk A, Skogen B, Olsen JA, Kristiansen IS. Cost-effectiveness of antenatal screening for neonatal alloimmune thrombocytopenia. *BJOG*. 2007 May;114(5):588–95.
35. Agresti A, Brent AC. Approximate is better than 'exact' for interval estimation of binomial proportions. *Am Stat*. 1998;52:119–26.
36. Rožman P. Platelet antigens. The role of human platelet alloantigens (HPA) in blood transfusion and transplantation. *Transpl Immunol*. 2002 Aug;10(2–3):165–81.
37. Davoren A, Curtis BR, Aster RH, McFarland JG. Human platelet antigen-specific alloantibodies implicated in 1162 cases of neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Transfusion*. 2004 Aug;44(8):1220–5.
38. Mueller-Eckhardt C, Kiefel V, Grubert A, Kroll H, Weisheit M, Schmidt S et al. 348 cases of suspected neonatal alloimmune neonatal thrombocytopenia. *Lancet*. 1989;1(8634):363–6.
39. Rožman P, Drabbels J, Schipper RF, Doxiadis I, Stein S, Claas FH. Genotyping for human platelet-specific antigens HPA-1, -2, -3, -4 and -5 in the Slovenian population reveals a slightly increased frequency of HPA-1b and HPA-2b as compared to other European populations. *Eur J Immunogenet*. 1999 Aug;26(4):265–9.
40. Peterson JA, Kanack A, Nayak D, Bougie DW, McFarland JG, Curtis BR, et al. Prevalence and clinical significance of low-avidity HPA-1a antibodies in women exposed to HPA-1a during pregnancy. *Transfusion*. 2013 Jun;53(6):1309–18.
41. Bakchoul T, Kubiak S, Krautwurst A, Roderfeld M, Siebert HC, Bein G, et al. Low-avidity anti-HPA-1a alloantibodies are capable of antigen-positive platelet destruction in the NOD/SCID mouse model of alloimmune thrombocytopenia. *Transfusion*. 2011 Nov;51(11):2455–61.
42. Refsum E, Mörtberg A, Dahl J, Meinke S, Auvinen MK, Westgren M, et al. Characterisation of maternal human leukocyte antigen class I antibodies in suspected foetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Transfus Med*. 2017 Feb;27(1):43–51.

43. Bussel JB, Zacharoulis S, Kramer K, McFarland JG, Pauliny J, Kaplan C. Clinical and diagnostic comparison of neonatal alloimmune thrombocytopenia to non-immune cases of thrombocytopenia. *Pediatr Blood Cancer*. 2005 Aug;45(2):176–83.
44. Van Der Lugt NM, Kamphuis MM, Paridaans NP, Figue A, Oepkes D, Walther FJ, et al. Neonatal outcome in alloimmune thrombocytopenia after maternal treatment with intravenous immunoglobulin. *Blood Transfus*. 2015 Jan;13(1):66–71.
45. Bussel JB, Berkowitz RL, Lynch L, Lesser ML, Paidas MJ, Huang CL, et al. Antenatal management of alloimmune thrombocytopenia with intravenous gamma-globulin: a randomized trial of the addition of low-dose steroid to intravenous gamma-globulin. *Am J Obstet Gynecol*. 1996 May;174(5):1414–23.