

Maternelle alloantistoffers betydning ved trombocytopeni hos nyfødte

Trombocytopeni kan påvises hos ca. 1 % av nyfødte barn. Hos en tredel og i de alvorligste tilfellene er trombocytopeniene antistoffbetaget.

Vi mottok i årene 1996–99 prøver fra 195 mødre som nettopp hadde født barn med trombocytopeni. Det ble gjort trombocytantigentyping og påvisning/spesifisitetsbestemmelse av trombocytantistoffene.

75 mødre hadde trombocytffentypen HPA-1bb (human plate antigen, HPA). Hos 65 av disse ble antistoff mot det andre allelet, HPA-1a, påvist. Tre mødre hadde antistoff mot HPA-5b og 73 antistoff mot anti-HLA-klasse 1.

Hos 68 barn var maternelt alloantistoff sannsynlig årsak til trombocytopenien. Studier bør gjøres for å vurdere kostnad og nytte av et nasjonalt program for påvisning av anti-HPA-1a-antistoff hos gravide og oppfølging av gravide som får påvist antistoffet.

Trombocytene har en rekke antigener på overflaten. Det er beskrevet 13 biallele systemer av trombocyttspesifikke antigener. Antigenene er lokalisert til glykoproteiner i trombocyttoverflaten. Ett allel er hyppig forekommende, det andre forekommer sjelden (1).

Pasienter kan immuniseres med antigener på trombocyttoverflaten i forbindelse med transfusjoner eller ved graviditet. Alloantistoff vil ikke ha betydning for egne trombocytter, men vil kunne ha betydning ved trombocyttransfusjoner eller ved uforlikelige svangerskap.

I svangerskapet er det risiko for føtal trombocytopeni fordi alloantistoff av IgG-klasse kan passere placenta og feste seg til fosterets trombocytter, som elimineres fra sirkulasjonen.

HPA-1a-antigenet er til stede hos 98 % av alle individer (kaukasiere). 2 % er homozygote HPA-1bb. To store prospektive undersøkelser viser at rundt 12 % av kvinner med trombocytffentotype HPA-1bb danner antistoff mot HPA-1a i graviditeten (2, 3). Immuniseringen skjer tidlig i første svangerskap. Mekanismen er ikke kjent.

I en prospektiv studie av 5 632 nyfødte ble trombocytopeni ($< 150 \cdot 10^9/l$) påvist hos 48 (0,9 %) (4). Maternelt allo- eller autoantistoff mot trombocytantigener kunne forkla-

Anne Husebekk

anne.husebekk@rito.no

Bjørn Skogen

Avdeling for immunologi og transfusjonsmedisin
Regionsykehuset i Tromsø
9038 Tromsø

Husebekk A, Skogen B.

The clinical significance of maternal alloantibodies in thrombocytopenia of the new-born.

Tidsskr Nor Lægeforen 2001; 121: 3160–2.

Background. Thrombocytopenia has been shown to be present in about 1 % of unselected newborns. Alloantibodies to platelets induce the most severe thrombocytopenia.

Material and methods. Samples from 195 mothers who had just given birth to thrombocytopenic children, were analysed by platelet antigen genotyping and detection of platelet specific antibodies.

Results. 75 mothers were typed human platelet antigen (HPA) 1bb, and in 65 mother, anti-HPA 1a antibodies could be detected. Anti-HPA 5b antibodies were detected in three samples and anti-HLA antibodies in 73 samples.

Interpretation. Alloantibodies were shown to be an important cause of thrombocytopenia in the new-born children and anti-HPA 1a antibodies were, as expected, the most common platelet-specific antibody involved. Anti-HLA class 1 antibodies were detected as the only antibody in 51 cases of thrombocytopenia. Though it is not yet formally shown, this may indicate that anti-HLA class 1 antibodies may cause thrombocytopenia in the fetus and new-born. Based on the assumption that neonatal alloimmune thrombocytopenia is present in 1 : 1,000 new-born, 25 % of the neonatal alloimmune thrombocytopenia cases in Norway are verified by laboratory analysis. Alloantibodies to trombocytes are of clinical importance in future pregnancies and transfusions. The cost and benefit of a national screening program for anti-HPA 1a antibodies in all pregnant women should be carefully considered.

re trombocytopenien hos ti av de nyfødte barna (0,2 %). Det er rapportert at neonatal alloimmun trombocytopeni kan påvises hos 1 : 1 000–2 000 nyfødte barn (2), det vil si fra 30–60 barn i Norge årlig. Hjerneblødning er en fryktet komplikasjon, og studier viser at 10–30 % av barna med neonatal alloimmun trombocytopeni får nevrologiske sekveler på grunn av hjerneblødning. Dødeligheten er funnet å være 10 % (5, 6).

Hittil er det ikke i noe land innført screening av gravide for påvisning av anti-

HPA-1a-antistoff, og antistoffene blir oftest påvist under utredning av årsaken til trombocytopeni hos et nyfødt barn.

Hos pasienter som har utviklet anti-HLA-klasse 1-antistoff etter multiple transfusjoner, kan antistoffene gi destruksjon av transfunderte ikke-kompatible trombocytter (7).

I perioden 1996–99 mottok vårt laboratorium 195 blodprøver fra kvinner som hadde født barn med trombocytopeni. Hensikten med denne studien var å se på sammenhengen mellom maternelt trombocytalloantistoff, alloantistoffenes spesifisitet og trombocytopeni hos de nyfødte barna. Våre funn vil gi grunnlag for å diskutere frekvensen av verifisert kontra forventet neonatal alloimmun trombocytopeni i Norge og vil være med i diskusjonen om grunnlaget for et nasjonalt screeningprogram for påvisning av trombocytantistoff hos gravide.

Materiale og metode

Pasienter

Det ble analysert blodprøver fra 195 mødre. Indikasjonene var trombocytopeni i svangerskapet eller at kvinnen hadde født barn med trombocytopeni (symptomgivende eller tilfeldig funn). Trombocytopeni ble definert som trombocytall $< 150 \cdot 10^9/l$. Hos 93 nyfødte ble trombocytall oppgitt, og det var bare sju barn som hadde trombocytall $> 100 \cdot 10^9/l$. Prøvene kom til vårt laboratorium fra hele landet. Vi mottok også prøver fra 174 fedre og 138 nyfødte barn.

Genomisk typing av trombocytantigener

Genomisk typing av trombocytantigener ble utført med typespesifikke primere i polymerasekjedereaksjonsteknikk (PCR) (8).

Påvisning av antistoff mot trombocytter

IgG-antistoff mot trombocytter ble påvist i væskestrømscytometri ved at mors plasma ble blandet med trombocytter fra blodgivere, fra far eller fra barnet (9).

Spesifisitetsundersøkelser av antistoffene

Antistoffenes spesifisitet ble undersøkt i ELISA-teknikk (MAIPA) (10). HLA-antistoff ble påvist ved å immobilisere HLA-antigener fra minst seks givere i MAIPA-testen eller ved hjelp av HLA-antigendekkede kuler i væskestrømscytometri (OneLambda, CA, USA).

Resultater

Antistoffenes spesifisiteter

Blodprøvene ble sendt til vårt laboratorium som ledd i utredningen av trombocytopeni hos de nyfødte. I 33 % (n = 65) av de tilsendte prøvene ble anti-HPA-1a-antistoff påvist. 26 % (n = 51) av kvinnene fikk utelukkende påvist anti-HLA-klasse 1-antistoff. Hos ytterligere 22 kvinner ble anti-HLA-klasse 1-antistoff påvist sammen med anti-HPA-1a-antistoff. I tre sera kunne anti-HPA-5b identifiseres og hos 76 kvinner kunne ikke trombocytantistoff påvises. Hvis kvinner med alle antistoffspesifisiteter sees samlet, kunne trombocytreaktive alloantistoffer påvises hos 61 % (n = 119) av kvinnene (tab 1).

Middelverdi for trombocytall hos nyfødte der mor hadde påvisbart anti-HPA 1a-antistoff var $17 \cdot 10^9/l$, spredning $6-144 \cdot 10^9/l$ (n = 38). Der mødrene kun fikk påvist anti-HLA-klasse 1-antistoff, var middelverdien $30 \cdot 10^9/l$ (n = 21), spredning $5-170 \cdot 10^9/l$. Anti-HPA-1a-antistoff ble påvist i 65 av de tilsendte prøvene. Hos ti kvinner som ble antigentypet HPA-1bb, kunne ikke antistoff påvises. Ni av barna til disse ti kvinnene ble genotypet HPA-1ab, det tiende barnet ble ikke genotypet.

Prøver fra de ulike helseregioner

Laboratoriet mottar prøver fra hele landet. Hvis vi antar at det fødes 60 barn med neonatal alloimmun trombocytopeni i Norge hvert år (1 : 1000), ville vi forventet 240 positive utredninger i løpet av studieperioden på fire år. 68 utredninger gir sikre holdepunkter for neonatal alloimmun trombocytopeni forårsaket av anti-HPA-1a- eller anti-HPA-5b-antistoffer. Hvis antall tilfeller av neonatal alloimmun trombocytopeni fordeler seg jevnt i befolkningen, ville vi forventet 85, 47, 34 og 25 tilfeller fra de fem helseregionene, mens de aktuelle utredninger som gav sterk mistanke om neonatal alloimmun trombocytopeni, er henholdsvis 19, en, ni, fire og 35 fra de samme regioner (fig 1).

Diskusjon

I en prospektiv studie av 5 632 uselekterte nyfødte ble trombocytellinger gjort av alle, og trombocytopeni ble funnet hos 48 (0,9 %) (4). Blant 5 194 føtale blodprøver som ble tatt på indikasjonene utredning av infeksjon, hematologiske sykdommer og cytogenetiske analyser, ble trombocytopeni funnet hos 247 fostre (4,8 %). Hos 70 fostre kunne trombocytopenien forklares av infeksjon, i 45 tilfeller var antistoff sannsynligvis årsaken. Antistoff gav opphav til de alvorligste trombocytopeniene. Anti-HPA-1a var den hyppigste antistoffspesifisiteten, etterfulgt av autoantistoff og anti-HPA-5b, og i to tilfeller ble anti-HLA-klasse 1-antistoff funnet å være sannsynlig årsak til trombocytopeni (11).

Ettersom trombocytellinger ikke gjøres rutinemessig hos nyfødte i Norge, oppdages trombocytopenien hvis den er symptom-

Tabell 1 Oversikt over antall prøver med ulike antistoffspesifisiteter for hvert år i studien

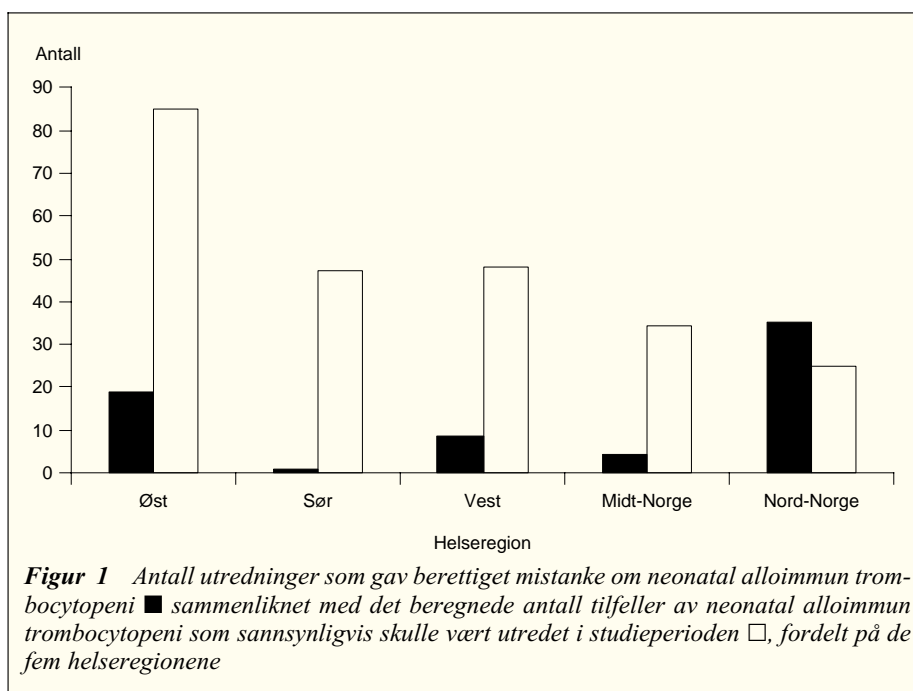
Antistoffspesifisitet	1996	1997	1998	1999	Totalt
Anti-HPA-1a	14	13	17	21	65
Anti-HPA-5b	1	0	1	1	3
Anti-HLA-klasse 1 (eneste antistoff)	5	13	11	22	51
Antistoff ikke påvist	12	24	24	16	76

givende eller hvis man måler lave trombocytall i forbindelse med utredning av annen sykdom hos barnet. En viktig undersøkelse i utredning av årsak til trombocytopeni hos nyfødte er analyse av antistoffer mot trombocytter i mors plasma. I Norge kan antistoffundersøkelser gjøres ved fire regionsykehus, antistoffspesifisitetsundersøkelser og typing av trombocytantigener gjøres rutinemessig kun ved Regionsykehuset i Tromsø.

Resultatene fra den aktuelle studien viser at antistoff mot trombocytter (anti-HPA-1a, -5b og -HLA-klasse 1) kunne påvises i 61 % av de innsendte prøvene. Hos ti kvinner som ble genotypet HPA-1bb og fødte barn med trombocytopeni, kunne ikke antistoff mot trombocytter påvises. Dette kan forklares ut ifra testens sensitivitet. IgG1 fraktes aktivt over placenta, og konsentrasjonen av IgG1-antistoff kan være høyere hos fosteret enn hos moren. Hos fosteret vil antistoffene kunne påvises på overflaten av trombocytene selv om frie antistoffer ikke kan påvises hos mor. Vi har imidlertid valgt ikke å konkludere med neonatal alloimmun trombocytopeni der frie antistoffer ikke kan påvises hos mor. Anti-HPA-5b ble påvist hos tre

kvinner. Dette antistoffet er kjent årsak til neonatal alloimmun trombocytopeni, men forekommer sjeldnere enn anti-HPA-1a-antistoff og gir oftest mindre alvorlig trombocytopeni.

HLA-antistoff er ikke sikkert vist å gi trombocytopeni hos foster/nyfødt, selv om det finnes mange kasuistikker som beskriver en slik mulig årsakssammenheng (12-14). I vårt materiale kunne anti-HLA-antistoff påvises alene hos 51 kvinner og sammen med anti-HPA-1a hos ytterligere 22 kvinner. Frekvensen av HLA-antistoff hos kvinner varierer med paritet og er rapportert til 7,8 %, 14,6 % og 26,3 % hos kvinner som har vært gravide en, to og tre eller flere ganger (15). I vårt materiale ble anti-HLA-klasse 1-antistoff påvist hos 37 % av kvinnene, og i de fleste tilfellene som eneste trombocytantistoffspesifisitet. Det foreligger ikke opplysninger om paritet i vårt arbeid. Det vil bli viktig å fortsette arbeidet med å se på sammenheng mellom anti-HLA-klasse 1-antistoff og føtal/neonatal trombocytopeni. Det foreligger ikke systematiserte kliniske opplysninger om mulige andre årsaker til neonatal trombocytopeni i denne studien.



Figur 1 Antall utredninger som gav berettiget mistanke om neonatal alloimmun trombocytopeni ■ sammenliknet med det beregnede antall tilfeller av neonatal alloimmun trombocytopeni som sannsynligvis skulle vært utredet i studieperioden □, fordelt på de fem helseregionene

Resultatene viser at det ble gjort utredning og påvist neonatal alloimmun trombocytopeni hos flere enn forventet i den nordligste helseregionen. Dette kan delvis forklares ved at det er satt søkelys på tilstanden i denne helseregionen gjennom et forskningsprosjekt som omfatter 20 000 gravide med tanke på antistoff mot HPA-1a. Situasjonen er annerledes i de andre helseregionene, der det sannsynligvis gjøres altfor få utredninger. I helseregion Øst (Blodbanken i Oslo) er det nå bygd opp laboratoriefasiliteter for typing av trombocytantigener og screening av antistoff.

Påvisning av antistoff mot trombocytter har betydning for behandling av det aktuelle barnet med tanke på trombocytforlikelige transfusjoner. Det kan få betydning ved fremtidige graviditeter hos moren, fordi antistoffene hos de fleste kvinner vil ha større tendens til å gi trombocytopeni ved neste uforlikelige svangerskap. Det er også av betydning hvis mor selv har behov for transfusjoner, fordi anti-HPA-1a-antistoff oftest er årsak til posttransfusjonspurpura. Antistoff mot HLA-klasse I vil kunne gi manglende transfusjonsrespons hvis mor senere skulle trenge trombocyttransfusjoner.

Påvisning av alloantistoff mot trombocytter er av klinisk betydning, og erkjennelsen av at slike antistoffer er til stede, kan gi hel-

segevinster for kvinner og nyfødte barn. Det er viktig at gode kostnad-nytte-analyser blir utført, for å skape et solid grunnlag for beslutning om nasjonal screening av alle gravide for anti-HPA-1a-antistoffer.

Litteratur

1. Valentin N, Newman PJ. Human platelet alloantigens. *Curr Opin Hematol* 1994; 1: 381–7.
2. 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; 92: 2280–7.
3. Jægtvig S, Husebekk A, Aune B, Øian P, Dahl LB, Skogen BR. Neonatal alloimmune thrombocytopenia due to anti-HPA 1a antibodies; the level of maternal antibodies predicts the severity of thrombocytopenia in the newborn. *Br J Obst Gynaecol* 2000; 107: 691–4.
4. Dreyfus M, Kaplan C, Verdy E, Schlegel N, Durand-Zelanski I, Tchernia G and the Immune Thrombocytopenia Working Group. Frequency of immune thrombocytopenia in newborns: a prospective study. *Blood* 1997; 89: 4402–6.
5. Bonacossa IA, Jocelyn LJ. Alloimmune thrombocytopenia of the newborn: neurodevelopmental sequelae. *Am J Perinat* 1996; 13: 211–5.
6. Giovangrandi Y, Daffos F, Kaplan C, Forestier F, Macaleese J, Moirrot M. Very early intracranial haemorrhage in alloimmune fetal thrombocytopenia. *Lancet* 1990; 336: 310.
7. Delaflor-Weiss E, Mintz PD. The evaluation and management of platelet refractoriness and

alloimmunization. *Trans Med Rev* 2000; 14: 180–96.

8. Skogen B, Bellissimo DB, Hessner MJ, Santoso S, Aster RH, Newman PJ et al. Rapid determination of platelet alloantigen genotypes by polymerase chain reaction using allele-specific primers. *Transfusion* 1994; 34: 955–60.

9. Skogen B, Christensen D, Husebekk A. Flow cytometric analysis in platelet crossmatching using a platelet suspension immunofluorescence test. *Transfusion* 1995; 35: 832–6.

10. Kiefel V, Santoso S, Weiheit M, Mueller-Eckhardt C. Monoclonal antibody-specific immobilization of platelet antigens (MAIPA): a new tool for the identification of platelet-reactive antibodies. *Blood* 1987; 70: 1722–6.

11. Hohlfeld P, Forestier F, Kaplan C, Tissot J-D, Daffos F. Fetal thrombocytopenia: a retrospective survey of 5,194 fetal blood samplings. *Blood* 1994; 84: 1851–6.

12. Del Rosario ML, Fox ER, Kickler TS, Kao KJ. Neonatal alloimmune thrombocytopenia associated with maternal anti-HLA antibody: a case report. *J Pediatr Hematol Oncol* 1998; 20: 252–6.

13. Tanaka T, Umesaki N, Nishio J, Maeda K, Kawamura T, Araki N et al. Neonatal thrombocytopenia induced by maternal anti-HLA antibodies: a potential side effect of allogeneic leukocyte immunization for unexplained recurrent abortions. *J Repro Immunol* 2000; 46: 51–7.

14. Taaning E. HLA antibodies and foetomaternal alloimmune thrombocytopenia: myth or meaningful? *Trans Med Rev* 2000; 14: 275–80.

15. Densmore TL, Goodnough LT, Ali S, Dynis M, Chaplin H. Prevalence of HLA sensitization in female apheresis donors. *Transfusion* 1999; 39: 106–9.

○

Annonsen