



Università degli Studi di Padova
Dipartimento di Scienze Ginecologiche e della Riproduzione Umana
Scuola di Specializzazione in Ginecologia e Ostetricia

NAIT

Trombocitopenia neonatale alloimmune

Accertamenti per infertilità

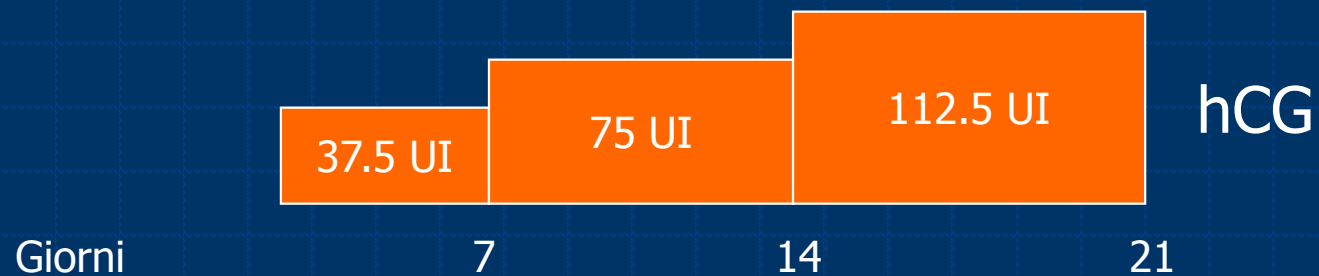
- ◆ Coppia affetta da sterilità primaria dal 1998
- ◆ Paziente di 37 anni, cicli di 30-35 giorni (ovulazione in 22[^] giornata), ovaie ad aspetto PCO, pervietà tubarica (HSG), cavità uterina regolare (HSC)
- ◆ LS nella norma ([36 milioni], A 39%, B 4%; dopo capacitazione rispettivamente 66% e 1%)
- ◆ Ricerca mutazioni gene FC: negativa per entrambi i partner



STERILITA' FEMMINILE DA CAUSA DISOVULATORIA

Trattamenti di I livello

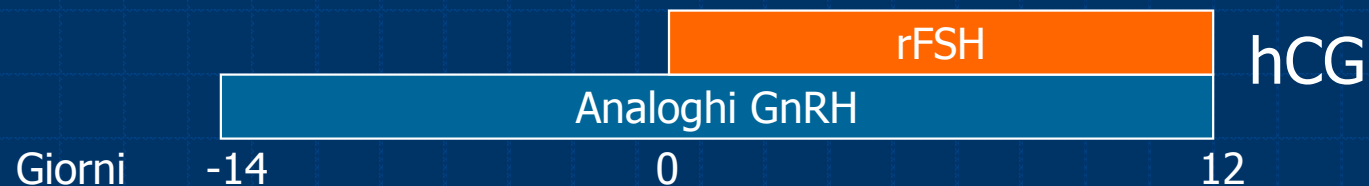
- ◆ Eseguiti 6 cicli di IUI
- ◆ Protocollo low dose (GF 37.5 UI/die)
- ◆ Sviluppo di 1 follicolo dominante per tentativo
- ◆ Induzione dell'ovulazione con hCG 5.000 UI im



- ◆ Mai ottenuta la gravidanza

Trattamento di II livello

- ◆ Protocollo con agonisti del GnRH e rFSH (GF 150-225 UI/die) per un totale di 12 giorni di stimolazione



- ◆ Ottenuti 8 cumuli oocitari (2 MII, 1 MI, 2 VG, 3 lisati)
- ◆ ICSI e fecondazione dei 2 ovociti maturi
- ◆ Trasferimento a pronuclei



- ◆ Gravidanza



Outcome ostetrico

Ricovero a 38+3 sg per TC programmato

- ◆ Gruppo: B Rh positivo
- ◆ Sierologia: negativa
- ◆ TV recente: negativo
- ◆ OGCT: nella norma
- ◆ Villocentesi: cariotipo 46 XY normale
- ◆ Ecografie: tutte corrispondenti, morfologia fetale regolare, placenta posteriore, LA regolare.
- ◆ Ultima ecografia (34+3 sg): DBP 88 (35+4), CC 318 (35+6), CA 304 (34+3), FMR 69 (35+3). PP cefalica. Emodinamica fetale regolare.



GRAVIDANZA NORMODECORSA

Outcome neonatologico

TC in data 23.06.05: rexi LA chiaro

Nascita di neonato vivo, sesso maschile, PC 3.660 gr



Comparsa di numerosissime petecchie cutanee generalizzate, ventilazione in maschera con O2 puro ed intubazione orotracheale



Apgar 6 a 1', **3** a 5', **2** a 10'

ricovero c/o Patologia neonatale per sospetta sepsi
(trasfusi 30 cc di plasma e 10 cc di PLT)

Ricovero in TIPED

23/06/05 → 18/07/05

ACCERTAMENTI:

- Emocromi serati (all'ingresso PLT 12.000/ml)
- Ecografia e RMN cerebrale: ampia formazione in sede temporo-basale sx di 4x2.5x3 cm
- EEG: grafoelementi epilettiformi in regione temporale sx
- Emocoltura e coltura da catetere arterioso ombelicale

TERAPIA:

- Intubazione e ventilazione in alta frequenza fino al 4/07/05
- Fototerapia
- Fenobarbital
- Antibioticoterapia con Teicoplanina e Cefotaxime ev
- Trasfusioni di PLT giornaliere
- Ig ev

Trasferimento in Pediatria

18/07/05 → 28/07/05

diagnosi di trasferimento: insufficienza respiratoria acuta, emorragia polmonare, emorragia cerebrale temporo-basale sinistra, piastrinopenia neonatale alloimmune

ACCERTAMENTI:

- Emocromi serati (all'ingresso PLT 59.000/ml)
- Ecografia cerebrale: lesione temporo-occipitale di 2x4 cm
- EEG: riduzione dei grafoelementi epilettiformi
- Esame audiometrico: nella norma
- Visita neurologica: ai limiti di norma

TERAPIA:

- Fenobarbital
- Prosecuzione di antibioticoterapia con Teicoplanina e Cefotaxime ev
- Trasfusioni di PLT giornaliere
- Ig e.v.

Ricovero in Pediatria

12/12/05 → 14/12/05

Motivo del ricovero: esecuzione di RMN cerebrale e controllo clinico

Accertamenti eseguiti:

- ◆ PLT 366.000/mm³
- ◆ EEG: buona organizzazione dell'attività elettrica, grafoelementi epilettiformi subcontinui
- ◆ RMN cerebrale: perdita di tessuto cerebrale in regione temporale sx
- ◆ Visita neurologica: sospetta alterazione dello sviluppo psicomotorio

Ricovero in DH Pediatrico

06/02/06

Motivo del ricovero: controllo

Dalla precedente dimissione buone condizioni generali.

- ◆ Visita neurologica: buono sviluppo motorio, psiche adeguata per età
- ◆ EEG: invariato

Accertamenti specifici

AutoAb materni: negativi (eccetto che anti-nucleo)
AutoAb fetali: assenti

Allo Ab materni: PRESENTI (HPA-1a)

Studio genetico per piastrinopenia neonatale (DNA estratto da leucociti di sangue periferico e PCR con taglio enzimatico e sequenziamento in automatico):

- HPA-1 b/b madre
- HPA-1 a/b padre
- HPA-1 a/b neonato

risultato compatibile con sensibilizzazione materno-fetale con piastrinopenia fetale e neonatale

Piastrinopenia neonatale

Piastrinopenia neonatale: $PLT < 150.000/ml$

Piastrinopenia neonatale severa: $PLT < 50.000/ml$

Incidenza di piastrinopenia alla nascita: 1%-5% dei neonati

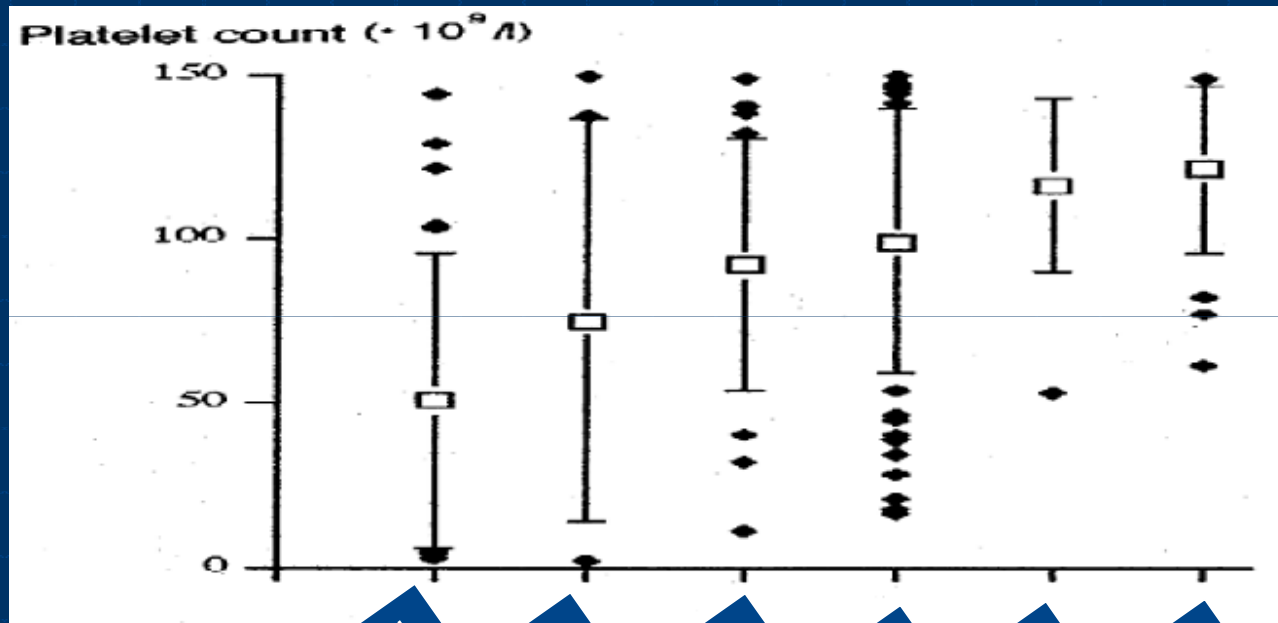
Incidenza di piastrinopenia severa: 0.1%-0.5% dei neonati

NAIT è responsabile:

- del 3% di tutti i casi di piastrinopenia neonatale
- del 27% di tutte le forme gravi

PRESENTAZIONE	CAUSA
Fetale	<p>Allo-immune</p> <p>Infezioni congenite (CMV, Toxo, Parvo B19, Rubeo)</p> <p>Cromosomopatie (tr. 13, 18, 21)</p> <p>Malattie materne autoimmuni (ITP, SLE)</p> <p>Severa immunizzazione Rh</p> <p>Sdr congenite (TAR, Wiskott-Aldrich, Kasabach-Meritt)</p>
Neonatale (< 72 h)	<p>Prematurità</p> <p>Insufficienza placentare (pre-eclampsia, IUGR)</p> <p>Asfissia</p> <p>Infezioni perinatali (E. Coli, Listeria)</p> <p>CID</p> <p>Allo-immune</p> <p>Malattie materne autoimmuni (ITP, SLE)</p> <p>Infezioni congenite (CMV, Toxo, Parvo B19, Rubeo)</p> <p>Sdr congenite (TAR, Wiskott-Aldrich, Kasabach-Meritt)</p> <p>Malattie metaboliche</p> <p>Aspirazione di meconio</p>
Neonatale (> 72 h)	<p>Sepsi</p> <p>Malattie materne autoimmuni (ITP, SLE)</p> <p>Infezioni congenite (CMV, Toxo, Parvo B19, Rubeo)</p> <p>Sdr congenite (TAR, Wiskott-Aldrich, Kasabach-Meritt)</p> <p>Malattie metaboliche</p> <p>Iatrogena (eparina)</p>

Causa e gravità della piastrinopenia



Alloimmunizzazione HPA-1

Citomegalovirus

Trombocitopenia idiopatica

Toxoplasmosi

Rosolia

Trisomia 18

Eziopatogenesi

Passaggio transplacentare di alloanticorpi materni rivolti contro antigeni piastrinici (HPA) espressi sulle piastrine fetali.

Le IgG materne possono attraversare la placenta molto precocemente, anche alla 14 sg e causare così piastrinopenia fetale.

Il passaggio transplacentare di Ab materni aumenta con il progredire della gravidanza ed è massimo nel III trimestre.

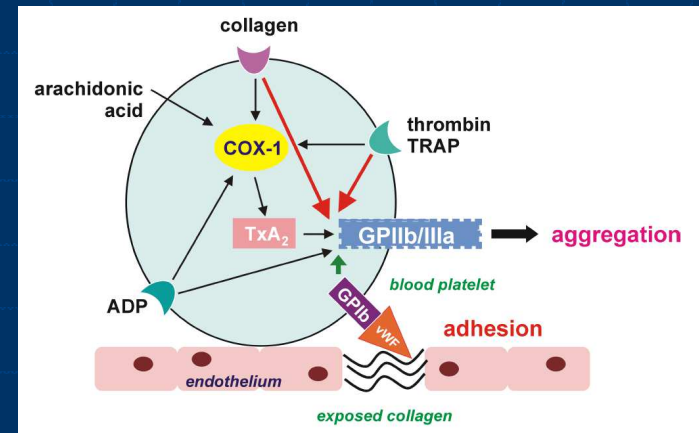
HPA

Famiglia di glicoproteine di membrana di cui esistono diversi polimorfismi.

Sono recettori per il fibrinogeno e come tali implicati nell'aggregazione piastrinica.

La formazione di alloAb contro tali Ag non si rende responsabile solo della NAIT ma anche di:

- porpora post-trasfusionale
- refrattarietà alla trasfusione PLT

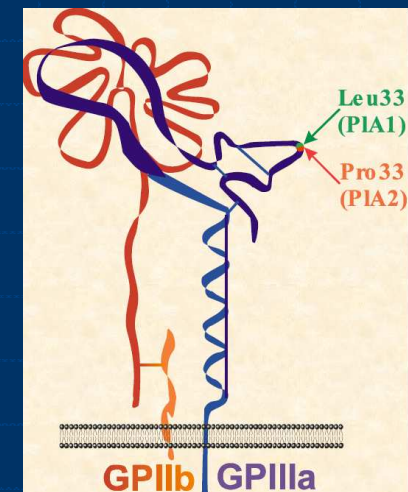


➡ Sono conosciuti **15** polimorfismi di antigeni piastrinici umani

TABLE 2
HPA nomenclature (28,37,72,140,141)

HPA Antigen	Alternative Name	Glycoprotein	Nucleotide Change	Amino Acid Change	Molecular Name
HPA-1					
HPA-1a	ZW-a, PL-a1	GP1IIa	T176	Leucine 33	GP111a-Leu33
HPA-1b	ZW-b, PL-a2		C176	Proline 33	GP111a-Pro33
HPA-2					
HPA-2a	Ko-b	GP1Ib α	C482	Threonine 145	GP1ba-Thr145
HPA-2b	Ko-a, Sib-a		T482	Methionine 145	GP1ba-Met145
HPA-3					
HPA-3a	Bak-a, Lek-a	GP1Ib	T2621	Isoleucine 843	GP11b-Ile843
HPA-3b	Bak-b		G2621	Serine 843	GP11b-Ser843
HPA-4					
HPA-4a	Pen-a, Yuk-b	GP1IIa	G506	Arginine 143	GP111a-Arg 143
HPA-4b	Pen-b, Yuk-a		A506	Glutamine 143	GP111a-Gln143
HPA-5					
HPA-5a	Br-b, Zav-b	GP1a	G1600	Glutamic acid 505	GP1a-Glu505
HPA-5b	Br-a, Zav-a, Hc-a		A1600	Lysine 505	GP1a-Lys505
HPA-6: HPA-6w	Ca-a, Tu-a	GP1IIa	G1544	Arginine 489	GP111a-Arg489
			A1544	Glutamine 489	GP111a-Gln489
HPA-7: HPA-7w	Mo-a	GP1IIa	C1297	Proline 407	GP111a-Pro407
			G1297	Alanine 407	GP111a-Ala407
HPA-8: HPA-8w	Sr-a	GP1IIa	C1984	Arginine 636	GP111a-Arg636
			T1984	Cysteine 636	GP111a-Cys636
HPA-9: HPA-9w	Max-a	GP1Ib	G2602	Valine 837	GP11b-Val837
			A2602	Methionine 837	GP11b-Met837
HPA-10: HPA-10w	La-a	GP1IIa	G263	Arginine 62	GP111a-Arg62
			A263	Glutamine 62	GP111a-Glu62
HPA-11: HPA-11w	Gro-a	GP1IIa	G1976	Arginine 633	GP111a-Arg633
			A1976	Histidine 633	GP111a-His633
HPA-12: HPA-12w	Iy-a	GP1Ib β	G119	Glycine 15	GP1bGly15
			A119	Glutamic acid 15	GP1b-Glu15
HPA-13: HPA-13w	Sit-a	GP1a	C2483	Threonine 799	GP1a-Thr799
			T2483	Methionine 799	GP1a-Met799
HPA-14: HPA-14w	Oe-a	GP1IIa	AAG 1909-1911 deletion	Lysine 611 deletion	GP111a-Lys611
HPA-15					
HPA-15a	Gov-b	CD109	C2108	Serine 682	
HPA-15b	Gov-a		A2108	Tyrosine 2108	
HPA-16w	Duv-a	GP1IIa	C497	Threonine 140	
			T497	Isoleucine 140	

Antigene HPA-1 è il più rilevante
(80% delle NAIT, 95% delle forme gravi)
Seguono HPA-5b e HPA-3a



HPA-1 nella popolazione caucasica

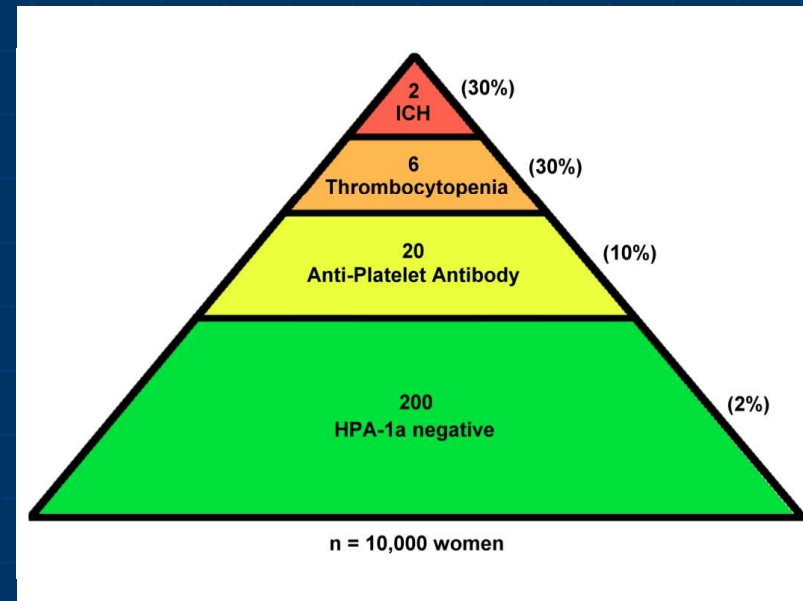
HPA-1a pos (HPA-1a/1a o 1a/1b):
98%
HPA-1a neg (HPA-1b/1b): 2%

alloimmunizzazione nel **6%-12%**
delle donne HPA-1A negative

piastrinopenia nel **30%** circa dei
feti/neonati (piastrinopenia grave nel
2%)

emorragie cerebrali nel **7%-26%** dei
casi


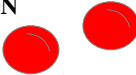
sequele neurologiche nel **10%-20%**
dei casi



FNAIT si verifica in 1:1700 neonati
emorragie endocraniche 1:37.000

Alloimmunizzazioni materno-fetali

NAT and HDN

	 NAT	 HDN
Affected cells	Platelets	Red blood cells
Most common antigen	HPA-1a	Rh-D
Affected pregnancy	First	Second +
Timing of sensitization	16 weeks onwards	At birth, or during a procedure
Affected Infant	TCP, bleeding	Hemolysis, jaundice, kernicterus
Affected fetus	ICH	Hydrops fetalis
Main risk factor	Previously affected infant	Rh-negative mothers
Treatment	Supportive	Supportive
Prevention	IVIg	Anti-D
Efficacy of prevention	?	99%

Nel 50% dei casi si verifica alla prima gravidanza

Non c'è trattamento preventivo (immunoprofilassi)

Incidenza di morbidità severa e/o mortalità per NAIT: 10-20/100.000 vs 6/100.000 per incompatibilità Rh

Diagnosi: clinica

Tipicamente: petecchie diffuse a pochi minuti-ore dalla nascita, madre sana senza anomalie del sanguinamento, con PLT normali e gravidanza generalmente normodecorsa.

Conferma di piastrinopenia neonatale con esclusione delle principali cause (infezioni, CID, trombocitopenia materna autoimmune).

PLT basse alla nascita e tendono a decrescere a 24-48 h.

Ogni feto affetto da emorragia endocranica (soprattutto se con piastrinopenia), idrocefalo o idrope dovrebbe essere testato per NAIT.

Diagnosi: laboratorio

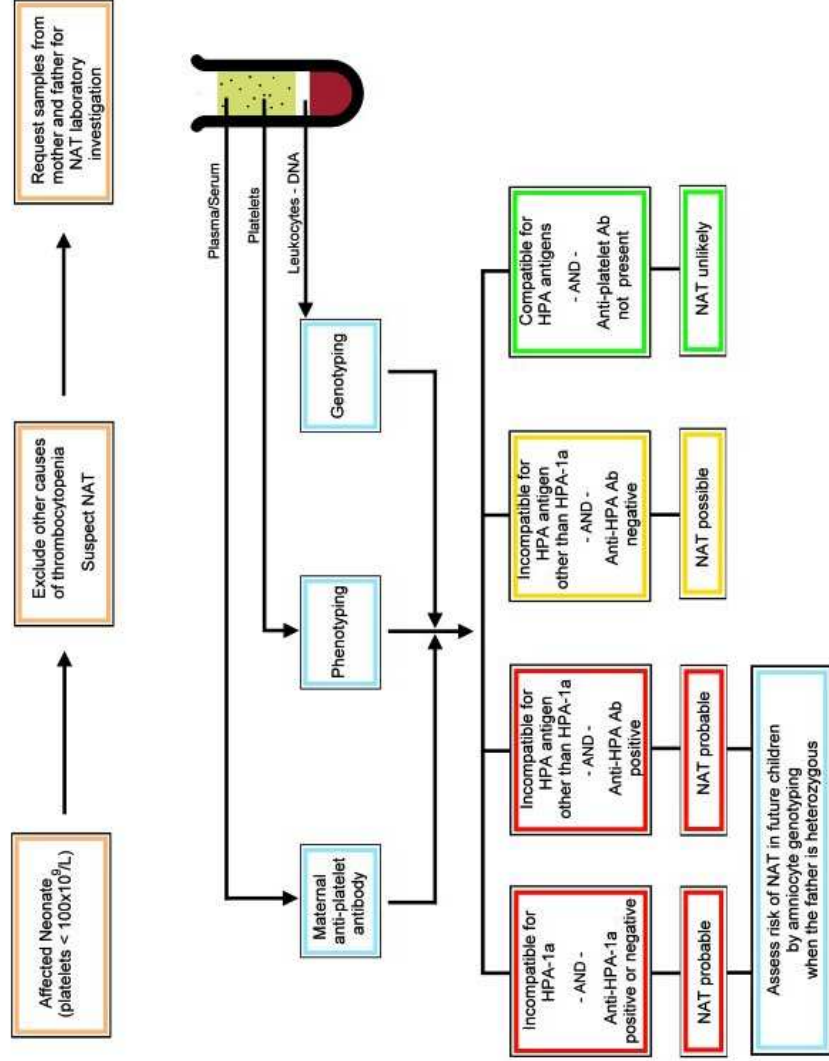
Ricerca nel sangue materno di alloanticorpi anti-HPA (nel 10% dei casi gli alloAb possono essere assenti nonostante un'incompatibilità materno-fetale)

Test genetico per polimorfismi HPA

La diagnosi è inequivocabile se è riscontrata un'incompatibilità tra partner

Diagnostica invasiva prenatale: funicolocentesi e conta piastrinica (mortalità 0.4%-1.5%; morbidità legata a parto pretermine, ematoma placentare, infezioni). Causando un'emorragia feto-materna può aumentare la produzione anticorpale materna

Diagnosis of Neonatal Alloimmune Thrombocytopenia (NAT) Testing for Human Platelet Antigens (HPA) and Antibodies



Terapia prenatale

Non essendo utilizzato uno screening di popolazione, le donne vengono identificate a rischio se presentano una pregressa FNAIT.

La terapia avviene sulla base di una stratificazione del rischio:

Rischio 'standard'	precedente NAIT senza emorragia intracranica	Ig ev (1g/kg/wk) o Prednisone (0.5mg/Kg/die) dalla 20 [^] sg
Rischio elevato	precedente emorragia intracranica peripartum	Ig ev (1g/kg/wk) e Prednisone (1mg/Kg/die) dalla 20 [^] sg; controllo mediante prelievo di sangue fetale
Rischio molto elevato	precedente emorragia intracranica antepartum	Ig ev (2g/Kg/wk) dalla 12 [^] sg, cordocentesi dalla 20 [^] sg e Prednisone (1mg/Kg/die) se scarsa risposta. Se persiste scarsa risposta → trasfusione di PLT in utero

Se non è possibile conoscere la [PLT] bisogna iniziare la terapia a 30 sg oppure 4-6 settimane prima dell'insorgenza di piastrinopenia o emorragia intracranica nella precedente gravidanza.

Terapia prenatale: efficacia

Prima del 1984 il solo trattamento era un TC elettivo precoce e trasfusione di PLT alla nascita.

Nel 1984: prelievo di sangue fetale per valutare [PLT] a 34 sg seguita da infusione di PLT intrauterina a 37 sg e TC. Recentemente tale procedura è stata ritenuta non sicura (morte fetale nel 6%).

Desired fetal platelet count - 100,000/uL (or $10^5/10^{-6}$ L)

Assume the fetal platelet count is 0/uL

Then the total number of platelets needed to increase the platelet count to the desired level is:

- $100,000/\text{uL} - 0/\text{uL} = 100,000/\text{uL} \times \text{the fetal-placental blood vol (mL)}$
- e.g., for a F-P blood vol of 100 mL, the number of platelets required would be
- $10^5/10^{-6} \text{ L} \times 10^2 (10^{-3} \text{ L}) = 10^{10}$ platelets

If the concentration of the platelet product is 10^9 platelets per mL, then the volume of the platelet transfusion should be:

$$10^{10} \text{ platelets} \div (10^9 \text{ platelets} / 10^{-3} \text{ L}) \text{ or } 10 \text{ mL}$$

Modalità d'azione delle Ig

→ infusione settimanale di Ig: efficace nel prevenire emorragie intracraniche nel **55%-85%** dei casi

Sola terapia corticosteroidica: inefficace

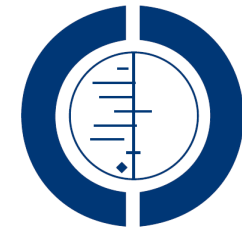
Reazioni avverse: malessere, febbre, nausea, mialgie (raramente: IRA, trombosi, meningite asettica e anafilassi)

3 meccanismi ipotizzati:

- 1) Diluizione degli Ab anti-HPA1a nel sangue materno e competizione con il Fc-receptor con riduzione del trasporto di Ab attraverso la placenta
- 2) Blocco dei recettori per Fc a livello del trofoblasto
- 3) Blocco dei recettori per Fc a livello del sistema reticolo-endoteliale fetale, riduzione del numero di macrofagi attivati e della lisi piastrinica

Antenatal interventions for fetomaternal alloimmune thrombocytopenia (Review)

Rayment R, Brunskill SJ, Stanworth S, Soothill PW, Roberts DJ, Murphy MF



THE COCHRANE
COLLABORATION®

Ig ev VS Ig ev + corticosteroidi: non diff. stat. significativa

No prelievo di sangue fetale prima di iniziare la terapia con Ig (da riservare solo ai casi refrattari ad essa).

Aree di interesse per ricerche future:

- dosaggio ideale
- timing di inizio della terapia
- necessità di prelievo di sangue fetale nel gruppo a rischio elevato
- timing e modalità del parto

Modalità del parto

Sebbene non sembri proteggere completamente dall'insorgenza di emorragie intracraniche, la modalità di parto suggerita per feti con FNAIT è il **TAGLIO CESAREO**.

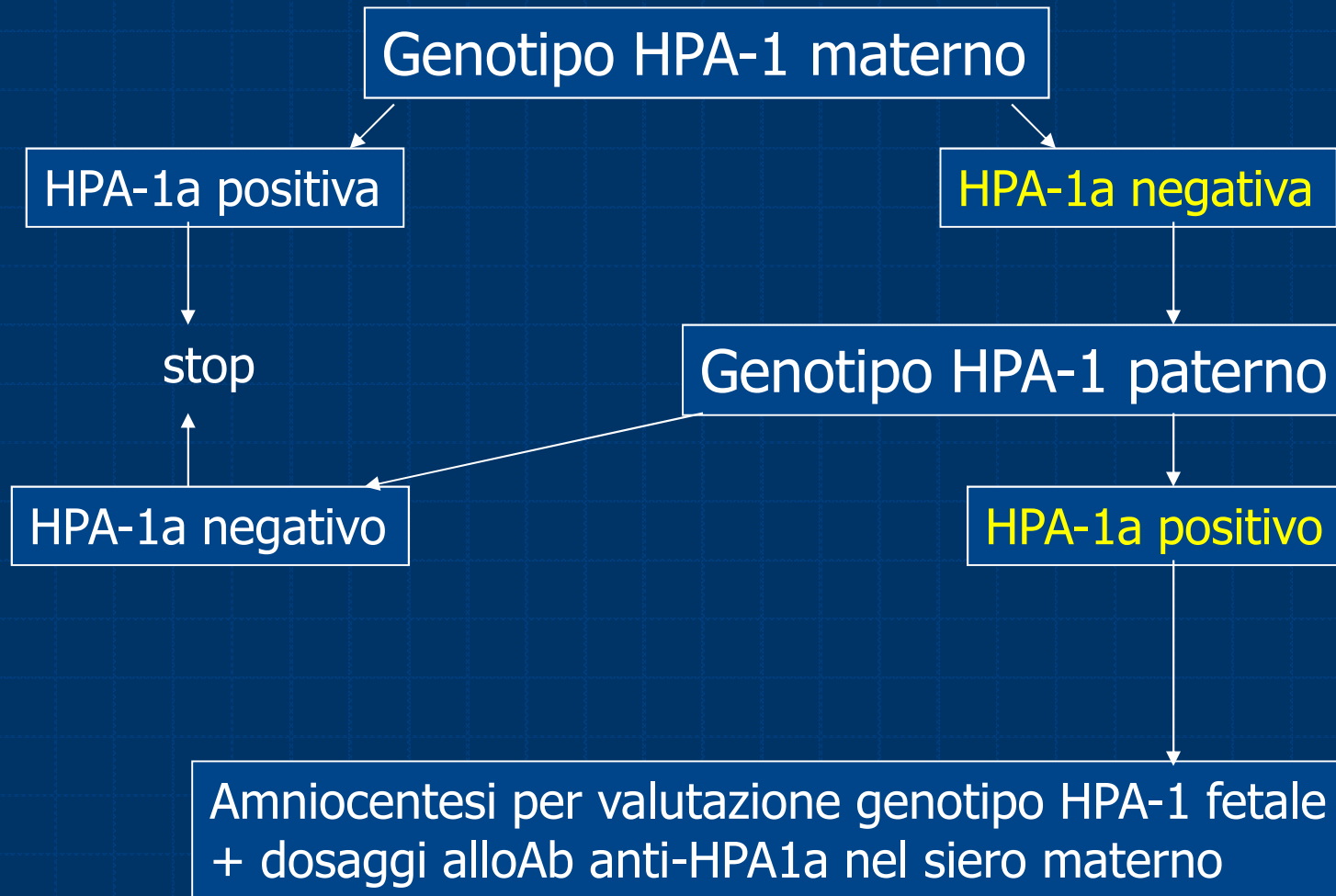
PARTO VAGINALE: se $[PLT] > 50.000/ml$ (conta eseguita mediante prelievo di sangue fetale).

Epoca gestazionale: non stabilita.

Terapia postnatale

- ◆ Terapia di prima linea: trasfusione PLT (10 ml/Kg) con aumento delle PLT già dopo 1 h
- ◆ Infusione di Ig (400mg-1g/Kg)
- ◆ Infusione di corticosteroidi

Screening prenatale



Counseling preconcezionale

→ Se si è verificata emorragia intracranica nella precedente gravidanza il rischio che si possa verificare in una seconda è del 70%-80%

- ◇ se il padre è HPA-1a/1a il rischio di ricorrenza è del 100%
- ◇ se il padre è HPA-1a/1b il rischio di ricorrenza è del 50% → è possibile conoscere il fenotipo HPA fetale mediante PCR da amniocentesi o villocentesi

Screening prenatale a tutti?

- ◆ Studio norvegese (2008): screening di 100.448 donne per HPA-1
- ◆ Mortalità e morbilità collegata a NAIT ridotta ad $\frac{1}{4}$
- Stima che il costo per 100.000 gravidanze è di **3.52 milioni** di euro senza screening VS **1.72-1.85 milioni** di euro a seconda del tipo di screening
- Tuttavia altri studi sono scettici nello stabilire un vantaggioso rapporto costo/beneficio:
 - altri polimorfismi oltre ad HPA-1
 - incidenza di FNAIT sintomatica molto bassa
 - tipo di metodo utilizzato per lo screening

... grazie per l'attenzione!