



Trombocitopenia feto-neonatal aloimmune

Disponibilidad de herramientas y
diagnósticas actuales.

Dr. Oscar W. Torres

INMUNOHEMATOLOGIA PLAQUETARIA

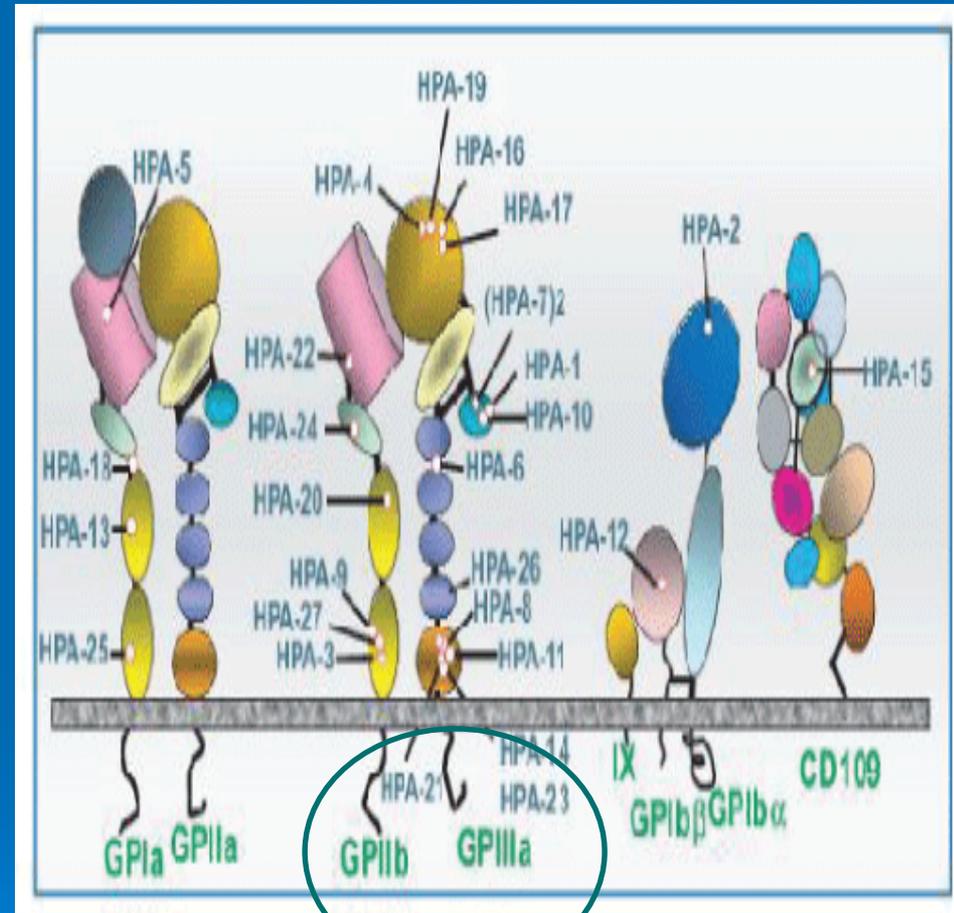
- Importante desarrollo en los últimos años
 1. Caracterización de numerosos nuevos antígenos
 2. Mejora ostensible en las técnicas:
 - Tipificación de antígenos
 - Investigación de Acs. anti-plaquetarios



MAYOR CAPACIDAD DE DIAGNÓSTICO DE LOS DIFERENTES
PROCESOS CLÍNICOS PLAQUETARIOS MEDIADOS POR ANTICUERPOS

ANTÍGENOS PLAQUETARIOS

- Comunes con otras células
 - Hematíes: ABH, Le, I, P
 - Leucocitos: HLA (clase I)
- Específicos
 - Sistema HPA (Human Platelet Antigens)



50.000 a 80.000 copias/plaq.

Sistema HPA

- 6 Sistemas
- 23 Ags
- 12 con polimorfismo bialélico
- 22 con base molecular conocida

Ordenados numéricamente
(a y b)

Sistema	Antígeno	Nombre Original	Glicoproteína	CD
HPA-1	HPA-1a	Zw ^a , P1 ^{A1}	GP1IIa	CD61
	HPA-1b	Zw ^b , P1 ^{A2}		
HPA-2	HPA-2a	Ko ^b	GP1bc ₁	CD42b
	HPA-2b	Ko ^b , Sib ^a		
HPA-3	HPA-3a	Bak ^a , Lek ^a	GP1Ib	CD41
	HPA-3b	Bak ^b		
HPA-4	HPA-4a	Yuk ^b , Pen ^a	GP1IIa	CD61
	HPA-4b	Yuk ^a , Pen ^b		
HPA-5	HPA-5a	Br ^b , Zav ^b	GP1a	CD49b
	HPA-5b	Br ^a , Zav ^a , Hc ^a		
	HPA-6bw	Ca ^a , Tu ^a	GP1IIa	CD61
	HPA-7bw	Mo ^a	GP1IIa	CD61
	HPA-8bw	Sr ^a	GP1IIa	CD61
	HPA-9bw	Max ^a	GP1Ib	CD41
	HPA-10bw	La ^a	GP1IIa	CD61
	HPA-11bw	Gro ^a	GP1IIa	CD61
	HPA-12bw	ly ^a	GP1bβ	CD42c
	HPA-13bw	Sit ^a	GP1a	CD49b
	HPA-14bw	Oe ^a	GP1IIa	CD61
HPA-15	HPA-15a	Goy ^b	CD109	CD109
	HPA-15b	Goy ^a		
	HPA-16bw	Duv ^a	GP1IIa	CD61
	HPA-17bw	Swj ^a	GP1a	CD49b

INMUNOHEMATOLOGIA PLAQUETARIA

➤ Aloinmunización anti-HPA-1a

- Control genético
- Restringida x HLA II (HLADR_{w52a} en 1/3 caucásicas)



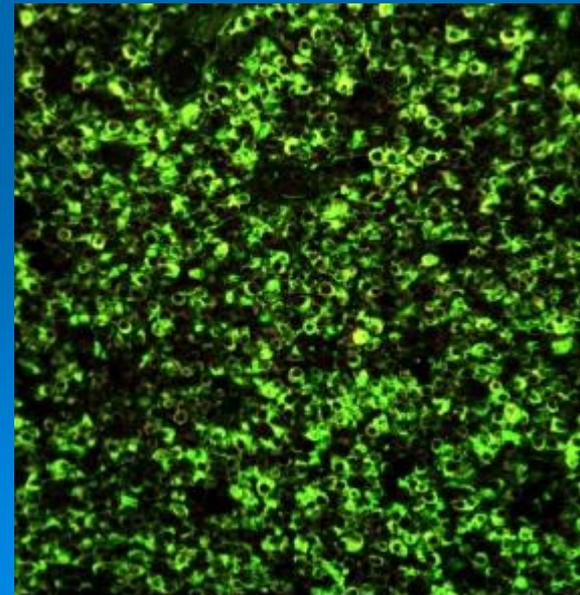
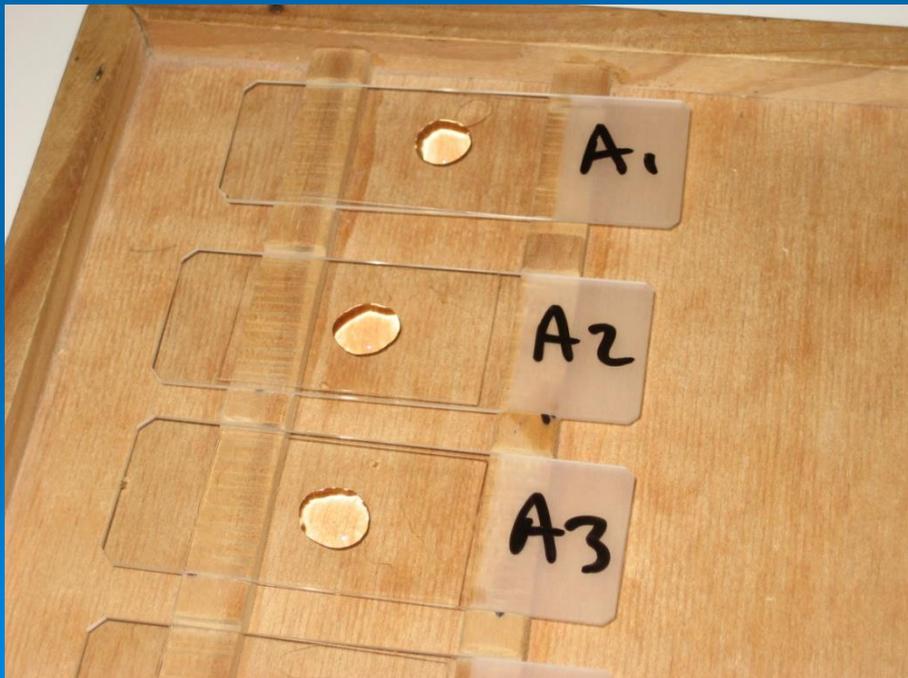
Sólo el 10% de la población se sensibiliza
(30% con niños afectados)

INMUNOHEMATOLOGIA PLAQUETARIA

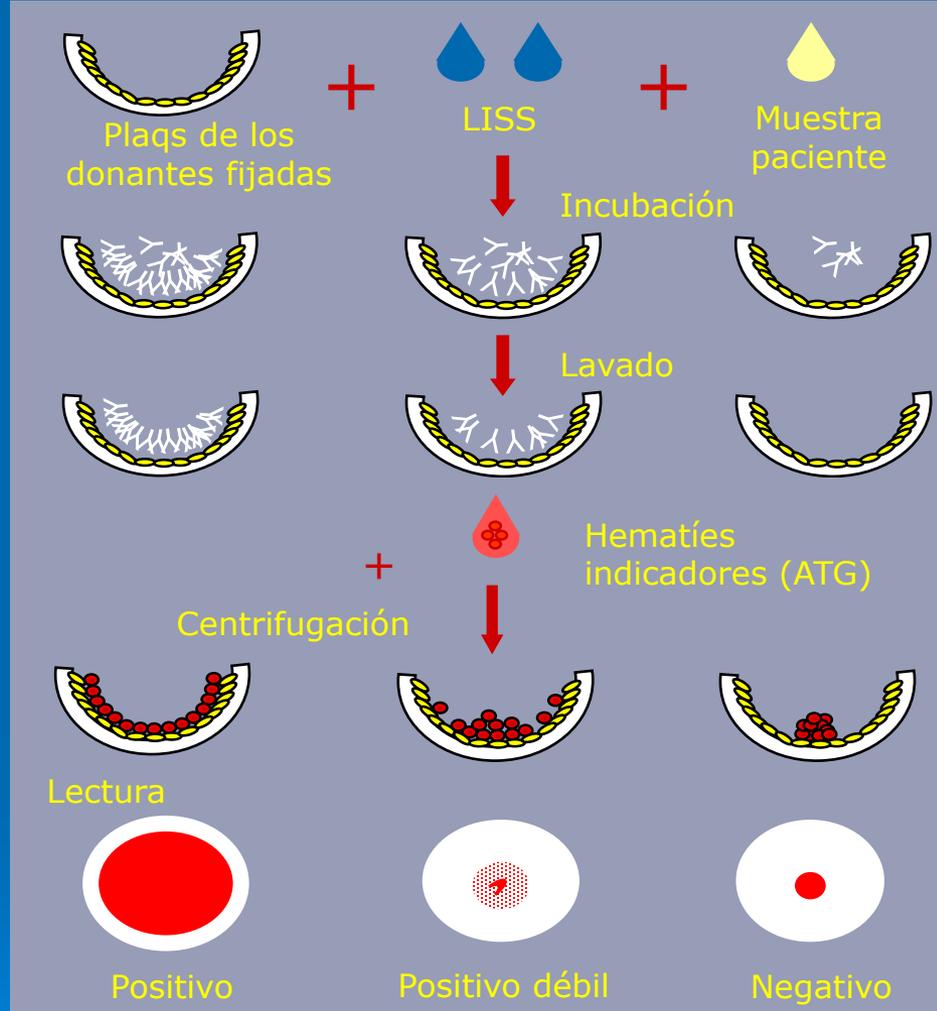
Técnicas

- **Detección e Identificación de Anticuerpos**
 - Inmunofluorescencia indirecta (Coombs indirecto): Antiglobulina marcada con fluoresceína.
 - MAIPA, MACE (ELISA / Fase sólida):
 - Para HPA-5 y HPA-15
 - Para las mezclas de HPA más HLA
 - Técnicas comerciales Fase sólida.
 - PAK12[®], PAKPLUS[®], GTI;
 - CAPTURE-P[®], Immucor.
 - MASPAT[®]- Sanquin
- **Tipificación de los antígenos plaquetarios**
 - Serológica (antisueros de tipificación)
 - PCR

IFI (Von dem Borne AEGKr, 1978)



Fase sólida: MASPAT



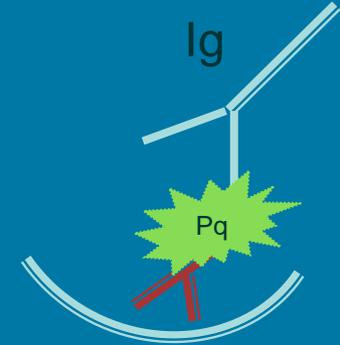
Presemebrado



Monocapa

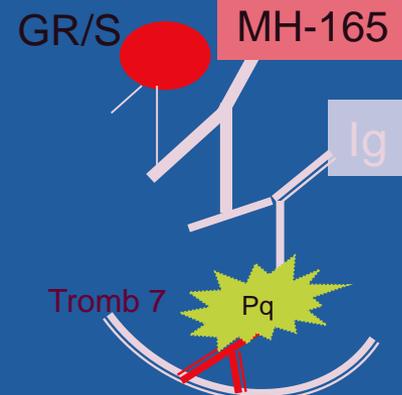


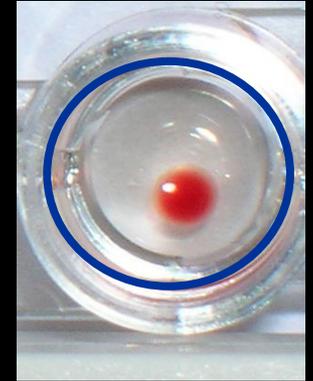
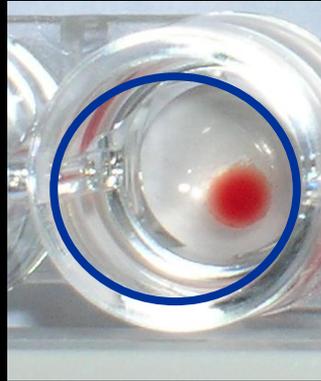
sensibilización



Fase sólida: MASPAT

Adherencia





Negativo (Punto) indica la ausencia de anticuerpos que posean como blanco los antígenos plaquetarios.

Positivo (Manto) indica la formación del complejo antígeno plaquetario-anticuerpo plaquetario



TIPIFICACIÓN ANTÍGENOS PLAQUETARIOS

➤ SEROLÓGICA

- Antisueros policlonales
- Los reactivos monoclonales han llegado muy tarde
- Contaminación con Acs HLA
- No es posible la tipificación en pacientes con trombocitopenia

➤ MOLECULAR

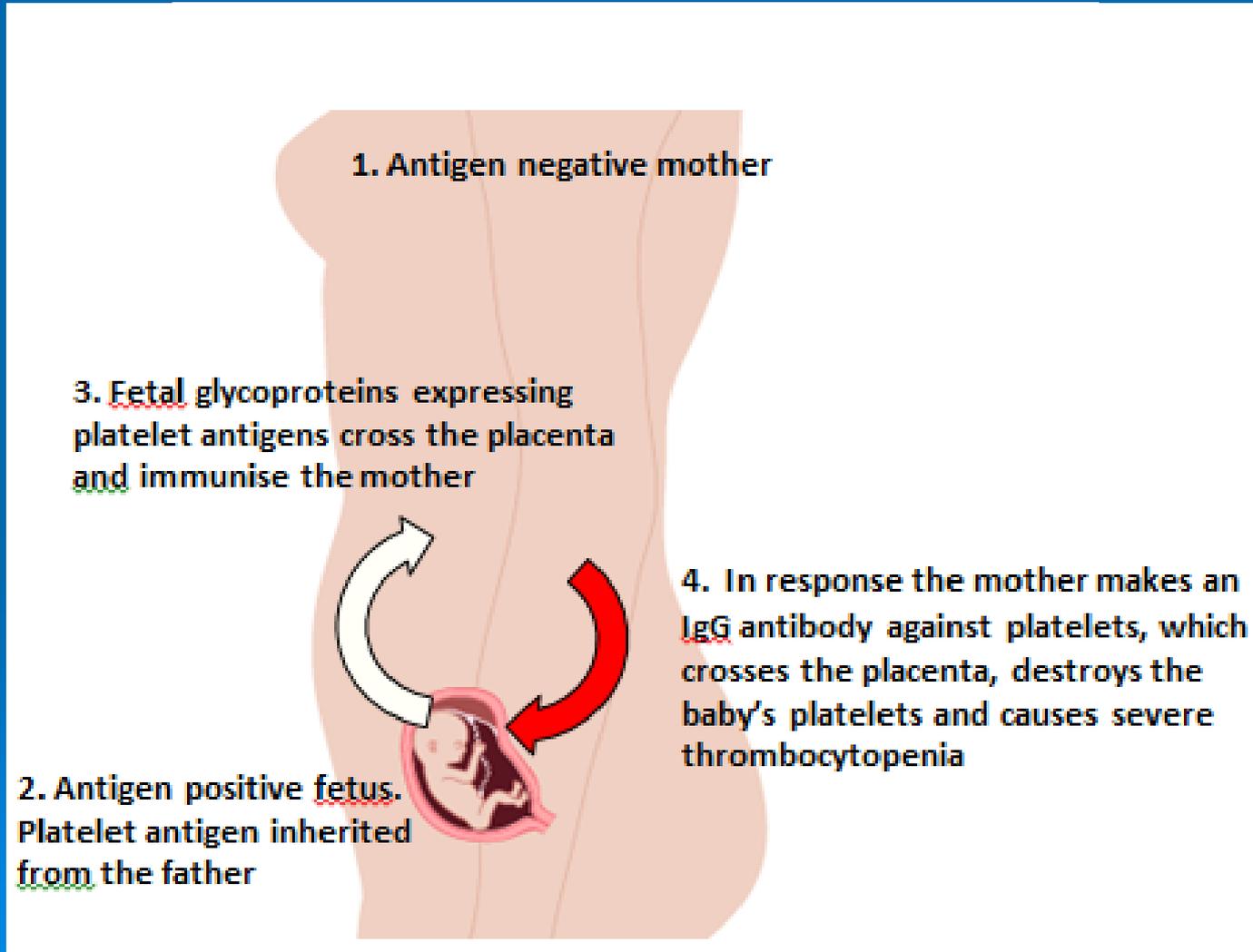
- No se necesitan plaquetas
- DNA de células nucleadas, cabello, líquido amniótico, suero materno, etc.
- Relativamente rápida y sencilla

INMUNOHEMATOLOGIA PLAQUETARIA

Procesos clínicos mediados por aloanticuerpos anti-plaquetarios

1. Púrpura post-transfusional (PPT)
2. Refractariedad inmune a la transfusión de plaquetas
3. Trombocitopenia aloinmune pasiva
4. Trombocitopenia aloinmune asociada al trasplante
5. Trombocitopenia fetal/neonatal aloinmune (TFNAI)

TROMBOCITOPENIA FETO-NEONATAL ALOINMUNE: fisiopatología



TROMBOCITOPENIA FETO-NEONATAL ALOI NMUNE

- **Caucásicos:** HPA-1a, HPA-5b, HPA-15, HPA-3a
- **Asiáticos:** HPA-4b, HPA-5b

1. En un 20%-30% de casos el anticuerpo es indetectable, aún existiendo incompatibilidad materno-fetal.

2. El número de casos producidos por Acs de baja frecuencia es cada vez superior: ¡Prueba cruzada con el padre!

TROMBOCITOPENIA FETO-NEONATAL ALOI NMUNE

- Es la causa más frecuente de trombocitopenia aislada grave de comienzo temprano (<20.000 plaquetas).
- En el contexto de una madre y un niño sanos
- Trombocitopenia inducida por un aloanticuerpo plaquetario específico materno.
- 30-50% de los casos en la primera gestación.
- Incidencia: **1/1000 RN vivos.**



TROMBOCITOPENIA NEONATAL ALLOIMUNE

- Recordar: causa más común de trombopenia neonatal grave
- Asintomático
- Trombocitopenia aislada o acompañada de diátesis hemorrágica de grado de variable.
- Púrpura cutánea (petequias, equimosis), hematuria, hemorragia digestiva, hemorragia cerebral.
- Cifras de plaquetas variables ($<20 \times 10^9/l$, en los casos más graves).
- Anemia, hidrocefalia, hidrops fetalis.
- Madre sana, no trombocitopénica, con gestación y parto normales.

TROMBOCITOPENIA FETO-NEONATAL ALOI NMUNE : diagnóstico

- Un reto: % importante de Acs n detectables
- El Ac. Materno puede detectarse recién meses después del parto
- Por exclusión: falta de programa de tamizaje
 - Prenatal
 - Postnatal

TROMBOCITOPENIA FETAL ALLOIMUNE

➤ Sospecha clínica

- Abortos recurrentes
- HIC x sonografía
 - 14% antes de la sem.20
 - 35% a partir de la sem. 38

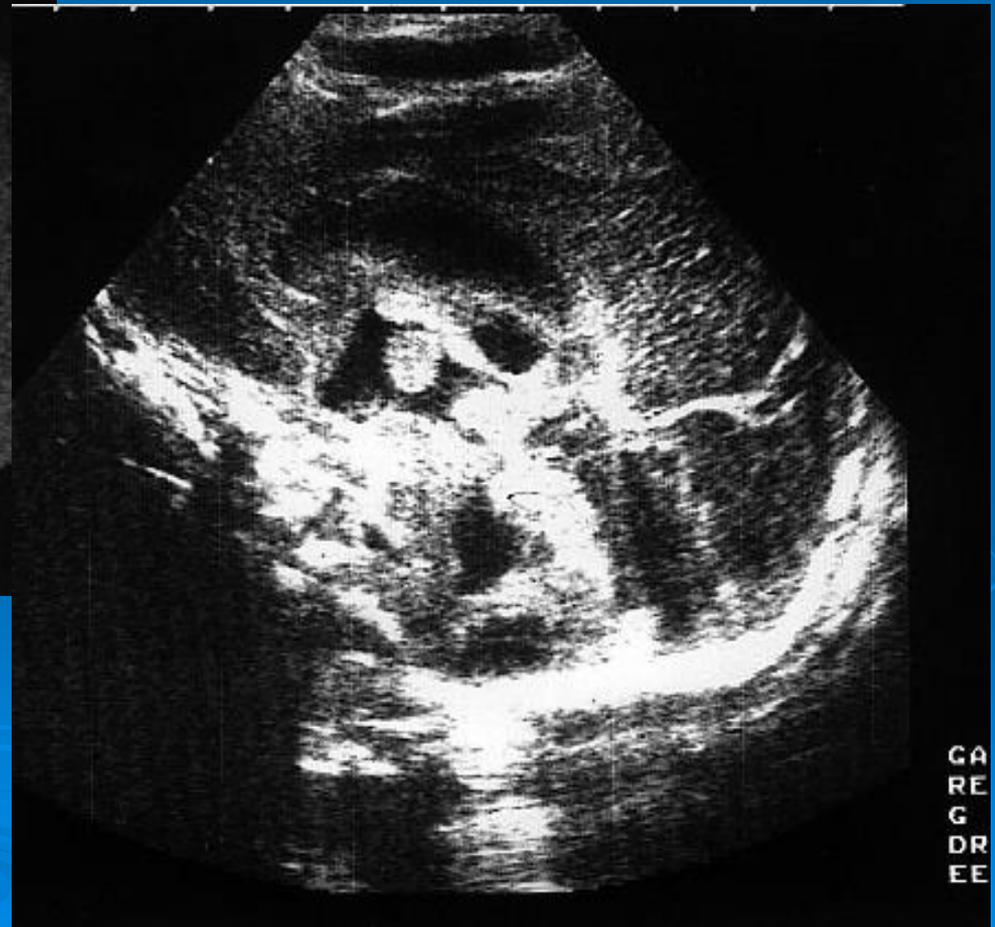
Hemorragia intracerebral

50% intraútero

Corte sagital medio



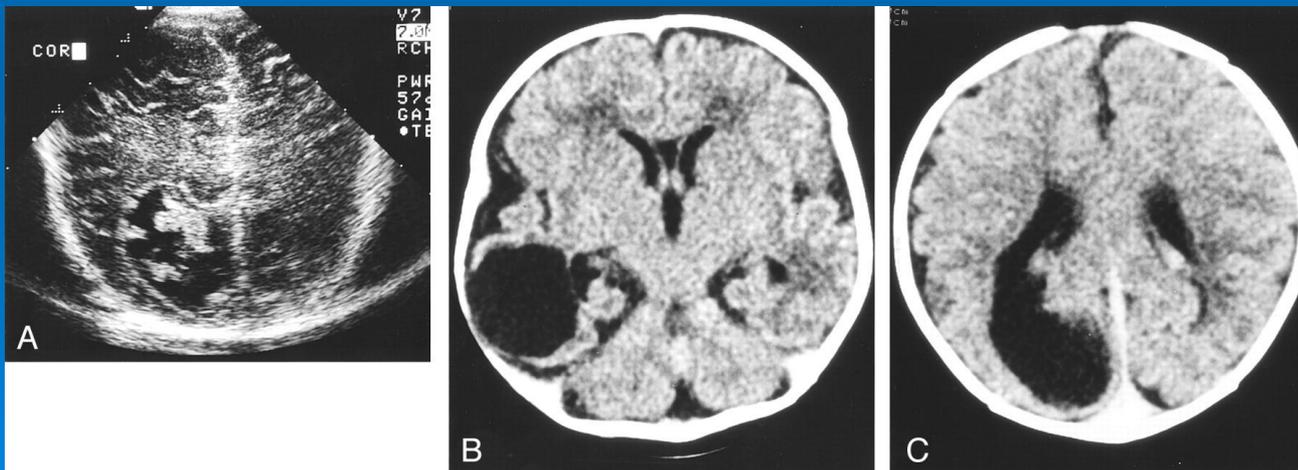
Corte coronal



TROMBOCITOPENIA NEONATAL ALOINMUNE

➤ Hemorragia intracerebral (30%)

- 10% autolimitante
- 10% muerte
- 20% secuelas (ceguera, déficit motor, alt. mentales)



TROMBOCITOPENIA NEONATAL AUTOINMUNE

- Diagnóstico diferencial:
 - Infecciones virales o bacterianas
 - CID
 - Trastornos de la megacariocitopoyesis
 - Anomalías óseas
 - Autoinmunidad materna (PTI, Lupus)
 - Consumo de drogas

TROMBOCITOPENIA FETO-NEONATAL ALOI NMUNE

Diagnóstico

- Clínico
 - Manifestaciones clínicas
- Diferencial
 - Otros procesos que pueden producir TFNA
- Laboratorio
 - < 50 a $20 \times 10^9/l$ plaquetas, Hb baja
- BMO
 - Magacariocitos normales, a veces bajos
- Ultrasonido y TAC cerebral
 - Dilatación ventricular, presencia de sangre
- Inmunohematológico
 - Detección e identificación Ac. anti-plaquetario en suero materno (CR)
 - Genotipificación plaquetaria del neonato y padres

TROMBOCITOPENIA FETO-NEONATAL ALOI NMUNE

Diagnóstico Inmunohematológico

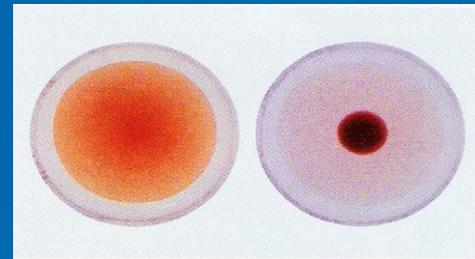
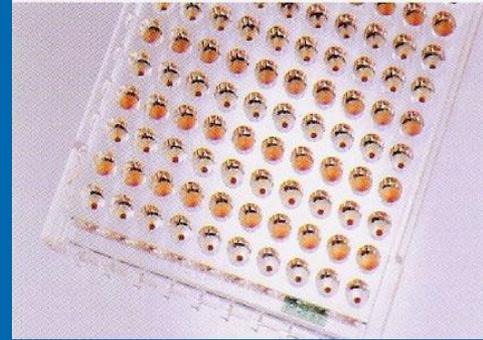
- Investigación de Acs anti-plaquetarios en el suero materno
 - Positivo: descartar anti-HLA
 - Anti-HPA

- Prueba cruzada suero materno-plaquetas del padre
 - Prueba cruzada positiva

TROMBOCITOPENIA FETO-NEONATAL ALOI NMUNE

Diagnóstico Inmunohematológico

- Consideraciones por falsos negativos
 - Anticuerpos contra un antígeno privado.
 - Pérdidas de epitopes
 - Actividad de proteasas
 - Lesión por almacenamiento de los CP

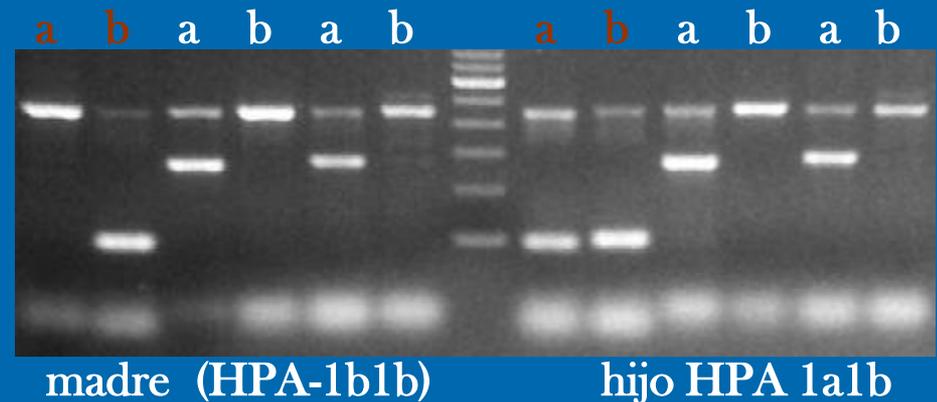


Técnicas de Biología Molecular

TROMBOCITOPENIA FETO/NEONATAL ALOINMUNE

➤ Utilidad de la BM

- Técnica serológica no concluyente
- Padres heterocizotos
- Paternidad desconocida



Genotipo plaquetario paterno

HPA-1a 1a → 100% de hijos HPA-1a +

HPA-1a 1b → 50% de hijos HPA-1a +

Amniocentesis (15 - 18 semanas) y determinación del genotipo plaquetario fetal si el padre es heterocizótico

TROMBOCITOPENIA NEONATAL ALOI NMUNE: tratamiento

- Según situación clínica
- Sin diagnóstico de certeza
 - Sangrado
 - Grado de trombocitopenia

TROMBOCITOPENIA FETAL/NEONATAL ALOI NMUNE: tratamiento antenatal

- Objetivo: evitar la aparición de un nuevo episodio de hemorragia intracraneal
- Considerar
 - TFNAI previo
 - El antígeno HPA-1a comienza a expresarse en las plaquetas fetales a las 18 semanas de gestación
 - Con HIC previo: 80% riesgo de ocurrencia y muerte
 - Sin HIC: 7% riesgo de recurrencia
- IgIV + corticoides (no invasivo, empírico)
- TIU de plaquetas (previa cordocentesis)

TROMBOCITOPENIA FETAL/NEONATAL ALOI NMUNE: tratamiento postnatal

- Asintomático $> 30 \times 10^9/l$
 - Control estricto x ultrasonido
 - Si hay brusco descenso de plaquetas
 - IgIV
 - Metilprednisolona e.v: 1 mgr/8 h (1mgr/Kg/día) (1-3 días)
 - Transfusión de CP compatibles

Persistencia de la trombocitopenia: 1-3 semanas

TROMBOCITOPENIA FETAL/NEONATAL ALOINMUNE: tratamiento postnatal

1. En los **casos graves** ($<20 \times 10^9/L$):
 - Tx de CP HPA compatibles
 - Donante HPA compatible / madre (efectivas en $>90\%$ de casos)
 - CP maternos lavados e irradiados
 - Plaquetas irradiadas en prematuros, neonatos de bajo peso, o si hubo Tx intraútero
 - CP HPA incompatibles: IgIV (1gr/Kg/día, 2 días)
2. En los **casos moderados**: IgIV (1gr/Kg/día, 2 días).

TROMBOCITOPENIA FETAL/NEONATAL ALOINMUNE: Programa de Tamizaje

➤ Resultados

- 10-25% casos asintomáticos
- 2-5% de HPA-1a negativo; sólo se sensibilizan el 10%
- Mejor método serológico: fase sólida
- Si la gestante no está inmunizada hasta semana 28: bajo riesgo de TFNAI
- Título de anti-HPA-1a: escaso valor predictivo
- Noruega: gestante aloinmunizada: cesárea a 2-4 semanas FPP y CP HPA negativo condicionales

TROMBOCITOPENIA FETAL/NEONATAL ALLOINMUNE: Prevención

- Administración antenatal de IgIV en gestantes severamente inmunizadas
- Gamaglobulina hipernimmune anti-HPA-1^a
 - PROFNAIT: Development of a prophylactic treatment for the prevention of fetal/neonatal alloimmune thrombocytopenia (FNAIT)

Se justifica buscar anti-HPA?

A favor

- Conocemos la frecuencia y la gravedad del problema

Willamson L et al. Blood 1998;92:22-80 24.417 gestantes consecutivas
618 HPA-1a - (2,5%) → 46 anti HPA-1a (12%) → 22 TFNA

- Sensibilización HPA: 1/350 gestaciones
- TFNA: 1/1.000 RN
- Hemorragia cerebral: 1/12.500-25000

Husebekk A et al (2002) N=34.128 Bessos H et al (2002) N=26.506

- Disponibilidad de técnicas de estudio adecuadas
 - Tipificación HPA-1a de los padres y del feto (plasma materno)
 - Detección e identificación de anticuerpos plaquetarios

Se justifica buscar anti-HPA?

En contra

1. Falta consensuar el tratamiento óptimo antenatal
2. Falta más información en torno a:
 - la evolución de los neonatos afectados y sus secuelas
 - conducta frente a mujeres sin antecedentes de TFNAI graves o que se detectan HPA-1a negativo
 - conocer los factores que permiten predecir la evolución de los casos graves
3. Habrá que demostrar que el tratamiento es eficaz y costo-efectivo
 - se requieren 1×10^6 gestantes para demostrar que la profilaxis antenatal consigue evitar de forma inequívoca la aparición de hemorragia intracraneal

Investigación de Acs. Anti-HPA

- N= 1020 muestras (1019 mujeres, 1 RN)
- RN: $< 30 \times 10^9$ /plaquetas
- 91 mujeres anti-HPA +
 - 75 ≥ 5 gestas
 - 15 primigestas
 - 1 aborto 34 sem (feto con HIC)

TROMBOCITOPENIA FETAL/NEONATAL ALOI NMUNE

- Cuál es la incidencia?
- Hay centros de referencias
 - Diagnóstico (logística)
 - Tratamiento
- Todavía no está resuelta la EHP por Rh
- Costos
- Hay política para la Medicina Transfusional?

TROMBOCITOPENIA FETAL/NEONATAL ALOI NMUNE

Gracias!

