

## Trombocitopenia Neonatal Aloimune (A Propósito de Um Caso Clínico)

GRACINDA DE SOUSA \*, ANABELA RODRIGUES \*\*, JOÃO COSTA \*\*\*, OFÉLIA GUERREIRO \*\*\*

\* Centro Regional de Sangue de Lisboa – IPS

\*\* Serviço de Imuno-Hemoterapia do Hospital de Santa Maria

\*\*\* Unidade de Neonatologia – Serviço de Pediatria – Hospital de Santa Maria

### Resumo

A Trombocitopenia neonatal aloimune (TNA) é, habitualmente, um diagnóstico clínico de exclusão. A sua incidência, mortalidade, morbidade e sequelas não podem ser subvalorizadas. Muitas das dificuldades no diagnóstico laboratorial, têm vindo a ser superadas, o que torna cada vez mais possível uma abordagem adequada da situação.

Apresenta-se, a propósito, o caso clínico de um Recém-Nascido (RN), a quem foi diagnosticado TNA, pela identificação do anti-corpo materno específico-anti HPA 1a (PI A1) e no qual se obteve uma subida muito satisfatória das plaquetas, na sequência da administração de Imunoglobulina endovenosa. Discute-se o significado clínico e implicações para as outras crianças, em idênticas circunstâncias, assim como as estratégias de prevenção e rastreio.

**Palavras-Chave:** Trombocitopenia aloimune; morbidade perinatal; sequelas neurológicas; prevenção.

### Summary

Neonatal Alloimmune Thrombocytopenia (NAT) is clinically an exclusion diagnosis. It's incidence, mortality and morbidity should not be despicable.

An illustrative case is described. A newborn baby was diagnosed as having a NAT caused by a maternal antibody with HPA 1a (PI A1) specificity, successfully treated with intravenous Immunoglobulin. The discussion will focus on the clinical significance, consequences to other newborn babies with similar situations and prevention and screening strategies.

**Key-Words:** Alloimmune thrombocytopenia; perinatal morbidity; neurologic sequelae; prevention.

### Introdução

A Trombocitopenia Neonatal Aloimune (TNA), é uma situação clínica em que se verifica um aumento da destruição periférica das plaquetas do Recém-Nascido (RN), provocada por aloanticorpos da classe IgG maternos<sup>(1)</sup>, dirigidos contra antígenos plaquetários do filho. No entanto nem sempre a existência de anticorpos, mesmo de título elevado, está associada a doença, o que sugere a importância da existência de co-factores da criança. A especificidade mais frequentemente encontrada é o antígeno (Ag) HPA 1a (PI A1, Zwa)<sup>(2, 3, 4)</sup>.

Nos últimos anos têm vindo a ser descritos outros Ags plaquetários envolvidos na TNA. Recentemente<sup>(5)</sup>, como resultado do trabalho efectuado pelo «Working Party on Platelet Serology» da ISBT, os 5 sistemas bialélicos

reconhecidos passaram a designar-se por Human Platelet Antigens (HPA) (Quadro). Têm uma transmissão autossómica co-dominante.

Alguns autores têm colocado a questão de os anticorpos Ac HLA e os Ac IgG anti A e anti B do sistema eritrocitário ABH, poderem ou não causar TNA<sup>(6)</sup>. Nenhuma destas hipóteses está cabalmente demonstrada. A presença de Ac HLA, representou durante muito tempo uma dificuldade tanto para a pesquisa como para a identificação dos Acs plaquetários, uma vez que nos métodos laboratoriais empregues (inclusive na Imunofluorescência, o teste de referência PSIFT de von dem Borne<sup>(7)</sup>) aqueles Acs também reagem, o que levou a modificações da técnica, de que é exemplo, a remoção dos epitopos<sup>(8)</sup>. Um salto qualitativo mais relevante foi dado com o aparecimento de testes como o MAIPA (Monoclonal Antibody Immobilization of Platelet Antigens)<sup>(9)</sup>, utilizado neste caso que descrevemos, e os resultantes da aplicação da Biologia Molecular ao estudo desta área da Imunohematologia<sup>(10)</sup>.

**QUADRO**  
**Nomenclatura dos Antígenos Específicos Plaquetários**

Sistema Antigénico	Localização na GP	Outros Nomes	Antígenos	Outros Nomes	Freq. Fenotipos (%)	
					CAUCASIANOS	JAPONESES
HPA-1	GPIIIa	ZW.PI <sup>A</sup>	HPA-1a	ZW <sup>a</sup> .PI <sup>A1</sup>	97.9	99.9
			HPA-1b	ZW <sup>b</sup> .PI <sup>A2</sup>	26.5	3.7
HPA-2	GPIb	Ko.Sib	HPA-2a	Ko <sup>b</sup>	99.3	n.t.
			HPA-2b	Ko <sup>a</sup> .Sib <sup>a</sup>	14.6	25.4
HPA-3	GPIIb	Bak.Lek	HPA-3a	Bak <sup>1</sup> .Lek <sup>a</sup>	87.7	78.9
			HPA-3b	Bak <sup>b</sup>	64.1	n.t.
HPA-4	GPIIIa	Pen.Yuk	HPA-1a	Pen <sup>a</sup> .Yuk <sup>b</sup>	99.9	99.9
			HPA-1b	Pen <sup>b</sup> .Yuk <sup>a</sup>	0.2	1.7
HPA-5	GPIa	Br.Hc.Zav	HPA-5a	Br <sup>b</sup> .Zav <sup>b</sup>	99.2	n.t.
			HPA-5b	Br <sup>a</sup> .Zav <sup>a</sup> .Hc <sup>a</sup>	20.6	n.t.
HPA-6W*	GPIIIa	Ca. Tu	HPA-6bW			
HPA-7W	GPIIIa	Mo				
HPA-8W	GPIIIa	Sr				
HPA-9W	GPIIb	Max				

**Notas:** 1. Adaptado de *ISCH/ICSH Working Party on Platelet Serology* (5). Nomenclature of human platelet alloantigens (6) Platelet and neutrophil alloantigens in clinical medicine (7).

2. n.t. - não testado

3. \* «W» = Workshop (ambos os alelos ainda não definidos)

Quanto à incidência da TNA, os valores apresentados por diferentes autores, referem de 1 em 3000 RN <sup>(11)</sup> a 1 em 1000 RN <sup>(12)</sup>. Ocorre durante a primeira gravidez em 25-50% dos casos e, em cerca de 10 a 20% destes <sup>(3, 6)</sup>, a hemorragia intracraniana é a complicação mais grave e temível. As sequelas neurológicas que condiciona e a mortalidade estão calculadas em cerca de 20% <sup>(13)</sup>.

Nos casos de TNA por Ac anti HPA 1a (P1 A1, Zwa), que constituem cerca de 80% de todas as demonstradas laboratorialmente, a hemorragia intracraniana (14 a 30%), dá-se durante o período de vida intrauterina, em 50% dos casos.

Os valores laboratoriais de contagem de plaquetas (<50x10<sup>9</sup>/L) são inferiores aos encontrados nos casos em que a causa da trombocitopenia não é aloimune <sup>(14)</sup>. As mães destas crianças, caracteristicamente, têm contagens plaquetárias normais e não têm história clínica de hemorragia, mesmo que já tenham tido filhos trombocitopénicos <sup>(15)</sup>.

A trombocitopenia na TNA persiste enquanto houver níveis da IgG materna em circulação. Esse período depende da vida média da IgG, que é de cerca de 21 dias, e da vida média das plaquetas sensibilizadas.

### Caso Clínico

Criança do sexo masculino, nascida em Abril de 1994, no Hospital de Santa Maria, às 40 semanas de gestação, por cesariana, devido a incompatibilidade feto-pélvica. A mãe, saudável, é A Rh+ e a gravidez foi vigiada e

decorreu sem complicações aparentes. De destacar, nos antecedentes maternos, a história de um aborto espontâneo e de um nado-morto às 26 semanas de gestação (não foi feita autópsia).

Ao nascer a criança, que pesava 4000g e não necessitou de qualquer reanimação, embora com boa vitalidade, apresentava petéquias e equimoses nos pavilhões auriculares, pescoço, abdómen e membros. Não se observavam outras anomalias, nomeadamente organomegalias.

A avaliação analítica do primeiro dia revelou:

- Hemoglobina – 12.2 g/dL
- Hematócrito – 36%
- Plaquetas – 10.000/mL
- Leucograma – sem alterações
- Teste de Coombs directo – Negativo
- Grupo sanguíneo – A Rh+
- APTT – 27.4/28 seg.
- Tempo de Protrombina – 11.0/11.0 seg.
- Fibrinogénio – 201 mg/dL
- Proteína C reactiva – negativa
- Antígenos capsulares – negativos

A criança continuou com boa vitalidade e com o apetite conservado, mas manteve uma acentuada redução do número de plaquetas (13.400/mL no 2.º dia de vida).

Em relação à mãe, verificou-se que apresentava contagens plaquetárias normais. A história clínica excluía a existência de trombocitopenia, coagulopatia, doenças autoimunes e ingestão medicamentosa.

A ecografia transfontanelar da criança, realizada no dia a seguir ao do nascimento, revelou: «assimetria ventricular, com dilatação do VLE, e hemorragia intraventricular em fase de reabsorção (pré-natal)». A TAC cranio-encefálica, efectuada posteriormente, confirmou a «dilatação do VLE e pôs em evidência uma lesão frontal direita (isquémica) e possíveis calcificações frontais».

Perante um RN de termo, com boa vitalidade, portador de um quadro importante de púrpura trombocitopénica, acompanhado de hemorragia intracraniana pré-natal, revelada pela ecografia transfontanelar, foi posta a hipótese de trombocitopenia iso ou aloimune.

No 2.º dia, após colheita de sangue para o estudo laboratorial da presumível incompatibilidade mãe/filho, foi instituída terapêutica com Imunoglobulina endovenosa (400mg/Kg/dia, durante cinco dias consecutivos). Após 48 horas de tratamento, verificou-se um aumento da contagem plaquetária para 90.000/mL, com progressiva normalização.

A avaliação aos dois anos revelou uma criança activa, com bom contacto social e linguagem adequada à idade. A motricidade global é normal, excepto ao nível dos membros inferiores, onde se regista uma espasticidade marcada, em tratamento fisiátrico. Tem também uma deficiência visual, com nistagmo, secundária e atrofia óptica bilateral.

Está a ser acompanhada na Consulta de Oftalmologia do HSM e no Centro de Reabilitação Calouste Gulbenkian.

### Material e Métodos

Foi obtido sangue da mãe e do RN no 2.º dia do pós-parto. O soro da mãe foi testado para Ac linfocitotóxicos HLA pelo método standard <sup>(16)</sup>, utilizando linfócitos de dadores fenotipados para os principais Ag HLA A e B, e para Ac plaquetários pelo MAIPA de Kiefel <sup>(8)</sup> modificado.

Resumidamente – suspensões plaquetárias de dadores tipados para os Ag HPA1a (P1 A1), HPA1b (P1 A2), HPA3a (Bak a), HPA3b (Bak b), Ag HLA A e B e para os Ag eritrocitários dos sistemas ABO e Rh, foram incubadas primeiro com o soro em estudo, lavadas e depois incubadas com um Ac monoclonal específico para GP IIb/IIIa, Ia/IIa e Ib/Ix, solubilizadas e lisadas. Após incubações e lavagens, os Ac fixados às GP imobilizadas pelo Ac monoclonal, foram determinadas por IgG Fc anti humana marcada com peroxidase e pelo substrato p-nitrofenilfosfato. Todos os testes foram feitos em duplicado e os resultados avaliados pelas diferenças das densidades ópticas do soro em estudo e do controlo negativo.

A tipagem HPA das plaquetas dos dadores, da mãe e do doente foi efectuada por MAIPA, tendo os soros sido

amavelmente oferecidos pelo Doutor P. Bierling (CDTS Créteil, França), que fez a confirmação do resultado laboratorial por nós encontrado no soro da mãe.

### Resultados

A pesquisa de anticorpos irregulares eritrocitários e o teste de antiglobulina (Coombs) directo foram negativos.

A pesquisa de Ac linfocitotóxicos (HLA) foi negativa. A pesquisa de Ac antiplaquetários (HPA) foi positiva, tendo-se identificado um Ac de especificidade anti HPA 1a (P1 A1).

### Discussão

Perante um caso clínico de TNA, surgido num RN filho de uma mãe saudável sem antecedentes de coagulopatia ou de ingestão medicamentosa, mas com história de um nado-morto e de um aborto espontâneo de etiologia desconhecida, é lícito presumir, com elevado grau de probabilidade, ter sido a TNA a causa de morte naquelas duas situações. Este anticorpo apresenta-se com elevada potência, o que reforça essa hipótese numa base de resposta anamnésica ao Ag HPA 1a.

Este caso parece ser, entre nós, o primeiro relato de uma situação de TNA com diagnóstico laboratorial preciso, provavelmente pelas dificuldades acima apontadas e que se prendem com as características de reacção dos Ac HLA e da sua interferência com os Ac HPA, para os métodos laboratoriais correntes empregues.

Embora a doença seja de curta duração (20 dias), os efeitos da trombocitopenia podem ser dramáticos, como foi dito. No caso aqui descrito, posta a hipótese diagnóstica de TNA, como não foi possível utilizar plaquetas maternas nem de dador HPA compatível, optou-se por iniciar Imunoglobulina endovenosa, com um efeito terapêutico satisfatório às 48 horas.

A abordagem terapêutica mais consensual é a transfusão de Concentrado de Plaquetas (CP) da mãe, lavadas <sup>(17)</sup> ou CP de dador HPA compatível, numa dose única de 10mL/Kg de peso, em ambos os casos irradiado, para prevenção da Doença de Enxerto Contra Hospedeiro; na sua impossibilidade, a alternativa será a administração de Imunoglobulina endovenosa, em doses de 400 mg/Kg/dia, em cinco dias.

No caso de novas gravidezes da mãe, estar-se-á em melhores condições de prestar cuidados ao novo feto e fazer a **profilaxia da hemorragia intracraniana** «in utero», no parto (programando a cesariana) e no pós-parto, uma vez que em 85% a 97% <sup>(18)</sup> das gravidezes subsequentes a TNA voltará a ocorrer.

Deverá ser fornecida a estas mulheres uma informação pormenorizada acerca do seu fenotipo HPA, uma vez que o Ag HPA 1a (que ela não tem) é o mais imunogénico de todos os antígenos plaquetários e o anticorpo correspondente é também causa de **Púrpura Pós Transfusional**, uma situação clínica rara, mas de elevada gravidade.

A TNA que costuma ser apresentada como a contrapartida plaquetária da Doença Hemolítica do RN, tem, ao contrário desta, uma **incidência na primeira gravidez**, o que dificulta uma abordagem profilática satisfatória, e nem a avaliação do título e do isotipo da IgG presente, permite tirar ilacções acerca da gravidade da doença no feto <sup>(17)</sup>.

Face à mortalidade e morbidade desta situação, alguns países têm vindo a desenvolver estratégias de rastreio desta doença. Parece haver acordo entre os vários autores de que o *screening* pré-natal deve ser baseado em antígenos e não em anticorpos e assim determinar o fenotipo HPA 1a a todas as primigrávidas – as negativas para este Ag e que tenham o anticorpo HPA 1a deverão ser submetidas a cordocentese percutânea (Percutaneous Umbilical cord Blood Sampling). Este método veio possibilitar a confirmação do diagnóstico de TNA, avaliar a sua gravidade e permitir a *transusão «in utero»* de concentrado de plaquetas (CP), quando necessário. Pode ser efectuada precocemente (18.º - 21.ª semana). Apresenta um risco de morte fetal, por exsanguinamento e corioamnionite, em cerca de 1% dos casos <sup>(19)</sup>.

Acerca da **terapêutica pré-natal**, todas as equipas dos centros especializados com experiência de cordocentese percutânea, relatam que ao efectuar esta técnica, a agulha não deverá ser retirada sem que primeiro seja feita uma contagem de plaquetas do feto. No caso de existir trombocitopenia, deve ser feita transfusão de Concentrado de Plaquetas maternas ou de dador, a qual deverá nos casos mais graves (<20000 ml), ser repetida semanalmente, associada a Imunoglobulina endovenosa na dose 1 g/Kg/semana e/ou corticoides <sup>(19)</sup>.

**Recentemente <sup>(20)</sup>, pela aplicação de uma técnica de análise de perfil de DNA, os tandem repeats, foi possível confirmar que células do líquido amniótico eram de origem fetal, genotipar essas células para os aloantígenos plaquetários e permitir a tomada de decisão terapêutica mais adequada, sem necessidade de recorrer, em primeiro lugar, à cordocentese.**

Os exames não invasivos, de que dispomos, não permitem prever a gravidade da doença. É o que se passa com os Ag HLA B8 e DR3 <sup>(22)</sup> e do HLA DRw52a <sup>(17)</sup>, que tendo sido encontrados em 90% das mães de RN com TNA por aloimunização anti-HPA 1a (P1 A1), não puderam ser considerados como «marcadores», uma vez que era também esse o fenotipo de mães «non-responders».

O outro tipo de estratégia que consiste em fazer o rastreio da TNA nos RN com trombocitopenia, embora tenha a seu favor o facto de não ser invasivo e ser mais barato, tem contra si a possibilidade de deixar sem terapêutica «*in utero*» uma trombocitopenia num feto que pode estar, nessa altura, a desenvolver uma hemorragia intracraniana ou então, eventualmente, favorecer a sua ocorrência ou recorrência na altura do parto.

Como consequência do balanço entre os riscos e os benefícios das diversas abordagens de prevenção, tem existido uma certa controvérsia não só acerca da utilização da técnica mais invasiva, a cordocentese, como também sobre a escolha do melhor método de prevenção <sup>(20, 23)</sup>.

## BIBLIOGRAFIA

1. Von dem Borne A E Kr. Leeuwen E F van. Riesz L E von, et al. Neonatal alloimmune thrombocytopenia: detection and characterization of the responsible antibodies by the Platelet Immunofluorescence Test. *Blood* 1981; 57 (4): 649-656.
2. Loghem J J van. Dorfmeijer H. Hart M van der, et al. Serological and genetical studies on a platelet antigen (Zwa). *Vox Sang*, 1959; 4: 161-169.
3. Mueller – Eckhardt C, Kiefel V Grubert A, et al. 348 cases of suspected neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Lancet* 1989: 363-366.
4. Mueller – Eckardt C, Kiefel V, Santoso S. Review and update of Platelet Alloantigen Systems *Transf. Med. Rev.* 1990; IV (2): 98-109.
5. Von dem Borne A E Kr. Décaré F. ICSH/ISBT Working Party on platelet serology. Nomenclature of platelet specific antigens. *Von Sang*. 1990; 58: 176.
6. Bussel J B. Mc Farland J G, Berkowitz R L. Antenatal management of fetal alloimmune and autoimmune thrombocytopenia. *Trans. Med. Rev.* 1990; IV (2): 149-162.
7. Von dem Borne A E Kr. Verheugt F W A. Oosterhof F. et al. A simple immunofluorescence test for the detection of platelet antibodies. *Br. J. Haematol.* 1978; 39: 195-205.
8. Nordhagen R, Flaathan S T Chloroquine removal of HLA antigens from platelets for the platelet immunofluorescence test. *Vox Sang*. 1985; 48: 156-159.
9. Kiefel V, Santoso S, Weisheit M. et al Monoclonal antibody – specific immobilization of platelet antigens (MAIPA): a new tool for the identification of platelet reactive antibodies. *Blood* 1987; 70: 1922-1726.
10. Williamson L M. Bruce D, Lubenko A, et al. Molecular biology for platelet alloantigen typing. *Transfusion Medicine* 1992; 2: 255-254.
11. Kaufman G E, Paidas M J. Rhesus sensitization and alloimmune thrombocytopenia. *Seminars in Perinatology* 1994; 18 (49): 333-349.
12. Kaplan C, Daffos F, Forrestier F, et al. Management of fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Vox Sang*. 1994; 67 (Sup3): 85-88.
13. Muller J Y. Reznikoff-Etievant M F. Patereau C. et al. Thrombopénies neonatales allo-immunes. Étude clinique de biologie de 84 cas. *Press Med.* 1985; 14: 83-86.
14. Hohlfeld P. Forrestier F. Kaplan C, et al. Fetal thrombocytopenia. A retrospective survey of 5194 fetal blood smplings. *Blood* 1994; 84 (6): 1851-1856.
15. Andrew M. Platelets in newborns: physiology and pathology. *Transfus. Sci.* 1991; 12: 207-230.

16. Mittal K. K. Workshop report: Standardization of the HLA typing method and reagents. *Vox Sang* 1978; 34: 58-63.
17. Goldman M, Fillion M, Proulx C et al. Neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Transf. Med. Rev.* 1994; VIII (2): 123-131.
18. Murphy M F, Pullon H W H, Metcalfe P. et al. Management of fetal alloimmune thrombocytopenia by weekly in utero platelet transfusions. *Vox Sang.* 1990; 58: 45-49.
19. Goldman M, Décary F, David M. Should all pregnant women be tested for their platelet Zwa. HPA 1 phenotype? *Br. J. Haematol.* 1994; 87 (3): 670.
20. Denomme GA, Weye JS, Burrows RF et al. The prenatal identification of fetal compatibility in neonatal alloimmune thrombocytopenia using amniotic fluid and variable number of tandem repeats (VNTR) analysis. *Br. J. Haematol.* 1995; 91: 742-746.
21. Von dem Borne AEG Kr. Haas MD, Simcek S et al. Platelet and neutrophil alloantigens in clinical medicine. *Vox Sang.* 1996, 70 (Sup 3): 34-40.
22. Mueller – Eckardt C, Mueller – Eckardt G. Willen – Ohff H. et al. Immunogenicity of and immune response to the human platelet antigen Zwa is strongly associated with HLA B8 and DR3. *Tissue Antigens* 1985; 26: 71-76.
23. Panzer S. Auerbach L. Cechova E et al. Maternal immunization against fetal platelet antigens: a prospective study. *B. J. Haematol.* 1995; 90: 655-660.

*Correspondência:* Gracinda de Sousa  
Centro Regional de Sangue de Lisboa  
Parque da Saúde de Lisboa  
Pavilhão 17  
Av. do Brasil, 53  
1700 Lisboa