

# Neonatalna trombocitopenija

---

Zagorec, Iva

Master's thesis / Diplomski rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:955214>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-24**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**

**MEDICINSKI FAKULTET**

**Iva Zagorec**

# **Neonatalna trombocitopenija**

**DIPLOMSKI RAD**



Zagreb, 2023.

Ovaj diplomski rad izrađen je u Kliničkom bolničkom centru Zagreb u Zavodu za neonatologiju i neonatalnu intenzivnu medicinu Klinike za pedijatriju pod vodstvom dr.sc. Dorotee Ninković, dr. med i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2022./2023.

## POPIS KRATICA

APC – antigen prezentirajuće stanice (engl. *antigen presenting cells*)

DIK – diseminirana intravaskularna koagulopatija

ECMO – izvantjelesna membranska oksigenacija (engl. *extracorporeal membrane oxygenation*)

FcRn – engl. *fragment crystallizable* receptor

FNAIT – fetalna i neonatalna aloimuna trombocitopenija

HIV – virus humane imunodeficijencije (engl. *human immunodeficiency virus*)

HLA – antigeni tkivne snošljivosti (engl. *Human Leukocyte Antigens*)

HPA – engl. *human platelet antigens*

ICH – intrakranijsko krvarenje (engl. *intracranial hemorrhage*)

ICTMG – *International Collaboration for Transfusion Medicine Guidelines*

IPF – frakcija nezrelih trombocita (engl. *immature platelet fraction*)

IT – idiopatska trombocitopenija

IUGR – intrauterin zastoj rast (engl. *intrauterine growth restriction*)

IVIG – intravenski imunoglobulin

MAIPA – (engl. *monoclonal antibody-specific immobilization of platelet antigens*)

MR – magnetska rezonanca

NAIT – neonatalna aloimuna trombocitopenija

NEC – nekrotizirajući enterokolitis (engl. *necrotizing enterocolitis*)

PCR – lančana reakcija polimeraze (engl. *Polymerase Chain Reaction*)

SLE – sistemski lupus eritematosus

SNP – promjene jednog nukleotida (engl. *single nucleotide polymorphism*)

SPR – (engl. *Surface Plasmon Resonance*)

TACO – prepunjenost cirkulacije povezana s transfuzijom (engl. *transfusion associated circulatory overload*)

TRALI – akutna plućna ozljeda povezana s transfuzijom (engl. *transfusion related acute lung injury*)

# SADRŽAJ

Sažetak.....	
Summary.....	
1. Uvod.....	1
2. Etiologija.....	1
3. Diferencijalna dijagnoza.....	1
4. Klinička slika.....	2
5. Laboratorijska dijagnostika.....	4
6. Imune trombocitopenije.....	4
6.1. Autoimuna trombocitopenija.....	4
6.2. Aloimuna trombocitopenija.....	5
6.2.1. Etiologija.....	5
6.2.2. Patogeneza.....	5
6.2.3. Kliničke manifestacije.....	7
6.2.3.1. Intrakranijalno krvarenje.....	8
6.2.4. Dijagnostika.....	9
6.2.5. Prenatalno liječenje.....	9
6.2.6. Postnatalno liječenje.....	11
6.2.6.1. Nuspojave transfuzije trombocita.....	12
6.2.7. Imunoprofilaksa.....	12
6.2.8. Novi lijekovi.....	13
6.2.9. Razvoj metoda probira.....	14
7. Zaključak.....	16
8. Zahvale.....	17
9. Literatura.....	18
10. Životopis.....	28

## **SAŽETAK**

**Naslov rada:** Neonatalna trombocitopenija

**Autor:** Iva Zagorec

Trombocitopenija je broj trombocita manji od  $150 \times 10^9$  L. Diferencijalna dijagnoza neonatalne trombocitopenije je široka. Prema vremenu nastanka dijeli se na intrauterinu, ranu (nastala u prvih 72 sata života) i na kasnu (nastala nakon prvih 72 sata života), a prema mehanizmu nastanka na onu uzrokovanu pojačanom razgradnjom ili smanjenom proizvodnjom trombocita. Uz kliničku sliku osnovna dijagnostička pretraga je krvna slika, a frakcija nezrelih trombocita pomaže u razlikovanju trombocitopenija nastalih mehanizmom pojačane razgradnje ili smanjene proizvodnje. Imune trombocitopenije nastaju zbog transplacentarnog prelaska aloantitijela (neonatalna aloimuna trombocitopenija) ili autoantitijela (autoimuna trombocitopenija) iz majčine cirkulacije u fetalnu. Autoimune trombocitopenije se liječe primjenom intravenskih imunoglobulina i kortikosteroida. Neonatalna aloimuna trombocitopenija najčešći je uzrok rane neonatalne trombocitopenije kod terminske novorođenčadi. Do nastanka bolesti dolazi zbog inkompatibilnosti u trombocitnim antigenima kod majke i novorođenčeta (fetusa), posljedičnog stvaranja aloantitijela, transplacentarnog prelaska antitijela i destrukcije fetalnih trombocita. Novorođenčad najčešće ima simptome blagog krvarenja kao što su petehije i hematomi, ali u literaturi je opisana pojava i ozbiljnijih ekstrakranijalnih krvarenja. Intrakranijalno krvarenje najopasnija je prezentacija bolesti. Zlatnim standardom dijagnostike smatra se metoda MAIPA koja omogućuje detekciju antigena. Za točnu potvrdu dijagnoze uz detekciju antigena potrebna je i HPA genotipizacija majke, oca i novorođenčeta. Antenatalno liječenje se provodi intravenskim imunoglobulinima, a postnatalno liječenje se provodi transfuzijama trombocita. Trenutno ne postoji probir populacije, ali cilj bi osim detekcije HPA antitijela trebala biti i genotipizacija, a posebno za HLA-DRB3\*0101 antigen zbog utvrđene snažne povezanosti između njega i proizvodnje visokog titra protutijela. Klinička važnost NAIT-a očituje se u pravovremenom prepoznavanju i liječenju kako bi se spriječile komplikacije bolesti.

**Ključne riječi:** HPA antitijela, novorođenče, transfuzija, trombocitopenija

## **SUMMARY**

**Title:** Neonatal thrombocytopenia

**Author:** Iva Zagorec

Thrombocytopenia is a platelet count less than  $150 \times 10^9$  L. The differential diagnosis of neonatal thrombocytopenia is broad. By the time of occurrence, it is divided into intrauterine, early (occurring in the first 72 hours of life) and late (occurring after the first 72 hours of life), and by the mechanism into caused by increased destruction or reduced production. In addition to the clinical status, the basic diagnostic test is a blood count. The immature platelet fraction helps distinguishing thrombocytopenia caused by increased destruction or reduced production. Immune thrombocytopenia is caused by the transplacental transfer of alloantibodies (neonatal alloimmune thrombocytopenia) or autoantibodies (autoimmune thrombocytopenia) from maternal to fetal circulation. Autoimmune thrombocytopenia is treated with intravenous immunoglobulins alone or in combination with corticosteroids. Neonatal alloimmune thrombocytopenia is the most common cause of early neonatal thrombocytopenia in term newborns. The disease occurs due to incompatibility in platelet antigens in the mother and newborn (fetus), resulting in the formation of alloantibodies, transplacental transfer of antibodies and destruction of fetal platelets. Most often newborns have mild bleeding symptoms such as petechiae and hematomas, but cases of more serious extracranial bleeding are also described. Intracranial bleeding is the most dangerous presentation of the disease.

The gold standard for diagnostics is the MAIPA method, which enables the detection of antigens. In addition to antigen detection, HPA genotyping of the mother, father and newborn is also required to confirm the diagnosis.

Antenatal treatment are intravenous immunoglobulins and postnatal platelet transfusions.

There is currently no population screening, but the aim, in addition to the detection of HPA antibodies, should be genotyping, especially for the HLA-DRB3\*0101 antigen due to it's established strong association with production of high concentration of antibodies.

The clinical importance of NAIT is manifested in timely recognition and treatment to prevent complications of the disease.

**Keywords:** HPA antibodies, neonatus, thrombocytopenia, transfusion



## **1. Uvod**

Trombocitopenija se definira kao broj trombocita manji od  $150 \times 10^9/L$ . Može biti čest nalaz kod novorođenčadi, posebno one koja je smještena u jedinicama intenzivne njege ili kod nedonoščadi. U većini slučajeva ona je blaga i ne zahtjeva dodatne terapijske intervencije (1). Broj trombocita  $100-150 \times 10^9/l$  predstavlja blagu trombocitopeniju,  $50-99 \times 10^9/l$  umjerenu, a manji od  $50 \times 10^9/l$  tešku trombocitopeniju (2).

## **2. Etiologija**

Prema vremenu nastanka neonatalna trombocitopenija dijeli se na intrauterinu, ranu (nastala u prva 72 sata života) i na kasnu (nastala nakon prvih 72 sata života) (3). Prema mehanizmu nastanka dijeli se na uzrokovanu pojačanom razgradnjom trombocita, smanjenom proizvodnjom trombocita ili nepoznatim mehanizmom. Postoji i razlika u tome je li nastala kod zdravog ili bolesnog novorođenčeta (3).

## **3. Diferencijalna dijagnoza**

Intrauterina trombocitopenija gotovo uvijek je uzrokovana kongenitalnom infekcijom te se na nju može posumnjati na temelju patološkog nalaza fetalnog ultrazvuka (4). Kod slučajeva rane trombocitopenije najčešće je riječ o nedonoščadi koja su rođena iz trudnoća kompliciranih placentalom insuficijencijom i fetalnom hipoksijom. Ostala stanja koja mogu uzrokovati ranu neonatalnu trombocitopeniju su perinatalne infekcije, diseminirana intravaskularna koagulopatija (DIK), neonatalna aloimuna trombocitopenija (NAIT) te idiopatska trombocitopenija ili sistemski lupus eritematosus (SLE) u majke, Kawasakijska bolest i SLE kod novorođenčeta. Rana trombocitopenija može nastati i kao posljedica kongenitalnih infekcija (TORCH), aneuploidije (trisomija 13, 18 i 21), nasljednih oblika trombocitopenija ili kao posljedica metaboličkih bolesti (5). Kasna trombocitopenija najčešće je posljedica kasne novorođenačke sepse ili nekrotizirajućeg enterokolitisa. Tada je trombocitopenija najčešće teška. Kod kasnog nastupa u podlozi također može biti autoimuna etiologija, nasljedna etiologija ili metaboličke bolesti (5). Kada se kod diferencijalne dijagnoze uzima u obzir klinički status novorođenčeta, postoji razlika u etiologiji među zdravima i bolesnima. Kod zdravih najčešći uzroci su imuna trombocitopenija, nasljedna, amegakariocitna, veliki hemangiomi ili faktori od strane majke. Perinatalna ili intrauterina

infekcija, nekrotizirajući enterokolitis, diseminirana intravaskularna koagulacija i respiratorni poremećaji uzrokuju trombocitopeniju u bolesne novorođenčadi (3). Gestacijska dob također je čimbenik koji nam može ukazati na etiologiju trombocitopenije. Kod nedonoščadi je češći uzrok placentalna insuficijencija, perinatalna asfiksija, kongenitalne infekcije i diseminirana intravaskularna koagulopatija (DIK) povezana sa sistemskim stanjima. Trombocitopenija u terminske novorođenčadi uglavnom je posljedica imune trombocitopenije i perinatalne asfiksije (6). Novorođenčad s intrauterinim zastojem rasta ima veći rizik za razvoj trombocitopenije (7). Po mehanizmu nastanka najčešće su trombocitopenije zbog pojačane razgradnje trombocita. To su neonatalna autoimuna trombocitopenija, neonatalna aloimuna trombocitopenija i trombocitopenija uzrokovana lijekovima. Trombocitopenija kao posljedica smanjene proizvodnje trombocita nastaje zbog placentalne insuficijencije, kongenitalnih trombocitopenija, kromosomskih anomalija ili infiltrativnih procesa u koštanoj srži (2). Prilikom kliničkog pregleda i određivanja statusa novorođenčeta može pomoći i procjena rizika krvarenja (Tablica 1) i sukladno rezultatima procjene i potreba za transfuzijom trombocita.

#### **4. Klinička slika**

Uzročno-posljedična veza između stupnja trombocitopenije i krvarenja nije nikada potvrđena (1). U slučaju da je izolirana trombocitopenija dijagnosticirana kao slučajan nalaz, bez simptoma, krvna se slika treba ponoviti. U kliničkom pregledu posebnu pažnju treba posvetiti pojavi petehijalnog krvarenja ili purpura na koži te pojavi krvarenja na sluznici usne šupljine. Mikrocefalija, organomegalija i osip mogu sugerirati TORCH infekciju. Najopasnija je manifestacija intrakranijalno krvarenje (ICH od engl. *intracranial hemorrhage*) koje se povezuje sa smrtnim ishodom i neurološkim deficitima (8).

Tablica 1. Klinička procjena rizika krvarenja u novorođenčeta s trombocitopenijom.  
(Modificirano prema Cremer M, Sallmon H, Kling PJ, Bühler C, Dame C. *Thrombocytopenia and platelet transfusion in the neonate. Semin Fetal Neonatal Med.* 01. 02. 2016.;21(1):10–8)

Čimbenik koji utječe	Broj bodova
<b>Simptomi krvarenja</b>	
Nema krvarenja	0
Blago krvarenje	2
Jako krvarenje	5
<b>Gestacijska dob</b>	
>28 tjedana	0
26-28 tjedana	3
≤26 tjedana	5
<b>Postnatalna dob</b>	
>7 dana	1
3-7 dana	2
<3 dana	3
<b>NEC/sepsa</b>	
Da	0
Ne	5
<b>Veći zahvat</b>	
Da	0
Ne	5
<b>Neurokirurški zahvat</b>	10
<b>ECMO</b>	10
<b>IPF</b>	
≥2/nL	0
<2/ nL	1
<b>Aloimuna trombocitopenija</b>	
Da	0
Ne	2

Donji prag broja trombocita prije transfuzije kod rezultata procjene rizika:

rezultat 10; broj trombocita 100 x 10<sup>9</sup>/L

rezultat 6 – 9; broj trombocita 50 x 10<sup>9</sup>/L

rezultat 3 – 5; broj trombocita 30 x 10<sup>9</sup>/L

rezultat 0 – 2; broj trombocita 20 x 10<sup>9</sup>/L

NEC od engl. *necrotizing enterocolitis*

ECMO, od engl. *extracorporeal membrane oxygenation*

IPF, od engl. *immature platelet fraction*

## 5. Laboratorijska dijagnostika

Osnovna dijagnostička pretraga je krvna slika putem koje procjenjujemo broj trombocita i broj ostalih krvnih stanica. Ako su uz trombocitopeniju prisutne anemija i leukopenija, treba posumnjati na depresiju koštane srži. Frakcija nezrelih trombocita pomaže u razlikovanju trombocitopenija nastalih mehanizmom pojačane razgradnje ili smanjene proizvodnje. Izražava se kao postotak nezrelih trombocita ili apsolutni broj nezrelih trombocita po  $\mu\text{l}$  krvi. Analogna je značenju vrijednosti retikulocita. Frakcija nezrelih trombocita (IPF, od engl. *immature platelet fraction*) povećana je u stanjima pojačane razgradnje trombocita, a snižena kod smanjene proizvodnje trombocita. Pomoću krvnog razmaza određuje se veličina i morfologija trombocita. Kod pojačane razgradnje trombociti su veliki, a kod smanjene proizvodnje normalne veličine ili smanjeni (6).

## 6. Imune trombocitopenije

Transplacentalni prelazak protutijela iz majčine cirkulacije u fetalnu može uzrokovati prolaznu trombocitopeniju. Navedena protutijela mogu biti autoantitijela ili aloantitijela. U prvom slučaju ona su usmjerena prema majčinih trombocitima, a trombocitopenija kod novorođenčeta posljedica je majčine bolesti. Aloantitijela pak reagiraju s fetalnim antigenima kojih nema na majčinih trombocitima i izazivaju posljedice samo kod novorođenčeta dok je majka zdrava (3).

### 6.1. Autoimuna trombocitopenija

Najčešća majčina bolest koja uzrokuje trombocitopeniju kod novorođenčeta je idiopatska trombocitopenija (IT), ali uzrok može biti i SLE ili bilo koja autoimunosna bolest majke (3). U nekim slučajevim idiopatske trombocitopenije majke moguća je teška trombocitopenija novorođenčeta, ali rizik od intrakranijskog krvarenja je mali (9). Iako je IT najčešći uzrok, novorođenče čija majka ima u anamnezi aktivnu ili preboljelu IT ne mora oboljeti od neonatalne trombocitopenije (3). Jedini sigurni prediktor neonatalne trombocitopenije je teška neonatalna trombocitopenija kod starije braće i sestara (10–12). Klinička se slika očituje krvarenjima koja su blaga do umjerena. Uglavnom se javljaju petehije, hematomi, epistaksa, melena, hematurija, kefalhematom, krvarenje iz pupkovine ili mjesta intravenskih kanila dok je učestalost ozbiljnog krvarenja kao što je intrakranijsko niska (3). Trombocitopenija može biti jedina manifestacija neonatalnog SLE ili povezana s majčinom IT uzrokovanom virusom

HIV-a. Autoimuna trombocitopenija liječi se primjenom intravenskog imunoglobulina (IVIG) samostalno ili u kombinaciji s transfuzijom trombocita (3).

## **6.2. Aloimuna trombocitopenija**

### **6.2.1. Etiologija**

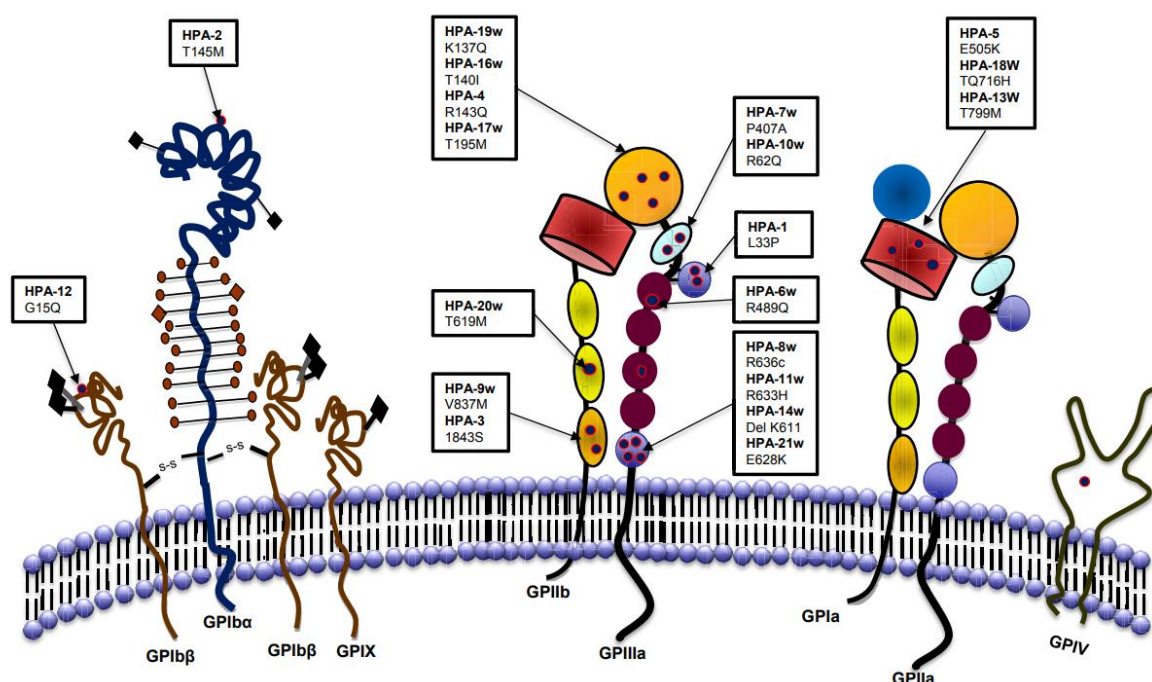
Neonatalna aloimuna trombocitopenija najčešći je i najvažniji uzrok rane neonatalne trombocitopenije kod terminske novorođenčadi (13). Posljedica je djelovanja aloantitijela koja stvara majčin organizam intrauterino na HPA antigene fetalnih trombocita koji nisu prisutni na majčinim trombocitima. Majčina IgG protutijela prolaze transplacentarno i posreduju razgradnju fetalnih trombocita fagocitozom, što dovodi do trombocitopenije (14). Bolest može biti prisutna u prvoj trudnoći, no budući da nema mogućnosti rutinskog probira, dijagnosticira se nakon poroda u novorođenčeta s trombocitopenijom (15). Ovo stanje može se po mehanizmu usporediti s hemolitičkom bolesti novorođenčadi, ali za razliku od nje, neonatalna aloimuna trombocitopenija može nastati tijekom prve trudnoće (14,16). Budući da se bolest dijagnosticira tek pri rođenju, naziv neonatalna aloimuna trombocitopenija (NAIT) koristi se u većini slučajeva, iako je poznato da zahvaća i fetus pa je moguć i naziv fetalna i neonatalna aloimuna trombocitopenija (FNAIT) (5).

### **6.2.2. Patogeneza**

Glavni je uzrok FNAIT-a aloimunizacija majke na jedan ili više HPA (HPA engl. *human platelet antigens*) antigena prisutnih na trombocitima fetusa/novorođenčeta (14). Do nastanka bolesti dolazi zbog inkompatibilnosti HPA antigena majke i novorođenčeta (fetusa), što rezultira formiranjem aloantitijela i njihovim aktivnim transportom preko placente u fetalnu cirkulaciju i na kraju destrukcijom fetalnih trombocita (13). Do danas je identificirano 35 različitih HPA antigena na koje se mogu razviti aloantitijela koja uzrokuju NAIT (5). HPA-1a smatra se najčešćim uzrok NAIT-a (17,18).

HPA antigeni koji uzrokuju NAIT smješteni su na 6 glikoproteina membrane trombocita koji su prisutni u kompleksima, a to su GPIIb, GPIIIa, GPIb $\alpha$ , GPIb $\beta$ , GPIa, CD109 ( slika 1) (16). Glikoproteini su prisutni u polimorfnim oblicima koji su uzrokovani promjenama jednog nukleotida (SNP engl. *single nucleotide polymorphism*) u genima koji ih kodiraju. Promjene u aminokiselinama nastale zbog SNP mijenjaju strukturu glikoproteina i to stvara HPA epitope koji mogu djelovati imunogenetski (19). Istraživanja su pokazala da nastanak aloantitijela ne ovisi samo o HPA-1a inkompatibilnosti već i HLA-sustavu (od engl. *Human Leukocyte*

*Antigens*) glavnih antigena tkivne snošljivosti u ljudi (5). Riječ je o antigenima HLA-DRB3\*01:01 ili DQB1\*02:01 (20–23). Prema rezultatima jednog istraživanja utvrđeno je da žene koje su HLA-DRB3\*01:01 pozitivne imaju otprilike 25 puta veći rizik od HPA-1a imunizacije nego žene koje su HLA-DRB3\*01:01 negativne (22). Isto je posljedica sposobnosti učinkovite prezentacije peptida s HPA-1a epitopom antigen-specifičnim T limfocitima (20). Nekoliko studija pokazalo je da antigenski peptid koji ima usidren HPA-1a epitop može biti učinkovito prezentiran T limfocitima putem APC (engl. *antigen presenting cells*) koje imaju HLA molekulu kodiranu s HLA-DRB3\*01:01 alelom (24). Kod žene koje nemaju tu HLA molekulu, antigenski peptid vezat će se na manje prikladnu HLA molekulu i neće dovoljno učinkovito pokrenuti imunski odgovor putem T limfocita (20). Mehanizam koji dovodi do fetalne i neonatalne trombocitopenije ne uključuje samo pojačanu razgradnju putem retikuloendotelnog sustava već i oslabljenu proizvodnju trombocita (5). Megakariociti imaju slične antigene na glikoproteinima membrane kao i trombociti i može doći do vezanja majčinih aloantitijela (25). Kapur i suradnici pokazali su da HPA-1a antitijela na svojim oligosaharidima imaju manjak *core fucose residues* (26). To svojstvo utječe na učinkovitiju fagocitozu. Također je utvrđena povezanost između smanjene fukozilacije i smanjenog broja trombociti i teže kliničke slike bolesti (26). Osim na trombocitima, glikoproteini koji sadrže HPA epitope prisutni su i na endotelnim stanicama i na stanicama trofoblasta (27,28). Glikoprotein IIIa ili integrin  $\beta 3$ , koji sadrži najviše HPA epitopa, prisutan je na membrani endotelnih stanica samostalno i u kompleksu s integrinom  $\alpha V$  ( $\alpha V\beta 3$ ), koji je također izražen na stanicama sinciciotrofoblasta (13). Iz toga se može zaključiti da majčina HPA-1a aloantitijela mogu utjecati na fetalnu angiogenezu, apoptozu trofoblasta, remodeliranje spiralne arterije i pridonijeti intrauterinom zastoju rasta (IUGR engl. *intrauterine growth restriction*) i spontanim pobačajima (27–29). Kompletna patogeneza nije do kraja razjašnjena jer se ne zna potiče li HPA-1a antigen proizvodnju antitijela učinkovitije nego drugi antigeni i može li HPA-1a antitijelo lakše prijeći placentu (20); je li razgradnja trombocita uzrokovana anti-GPIIb $\alpha$  posredovana Fc-neovisnim putem u neonatalnom retikuloendotelnom sustavu (30–32); je li antiGPIIb $\alpha$ -posredovana NAIT manje često prijavljivana jer uzrokuje slabiji imunološki odgovor i blaže simptome ili je toliko teška klinička slika da uzrokuje spontani pobačaj pa je liječnici ne mogu detektirati (20); je li ozbiljnije krvarenje koje se pronade kod NAIT posljedica  $\beta 3$  antitijela usmjerenih na mnoštvo novostvorenih krvnih žila u neonatalnom mozgu (20). Potrebna su daljnja istraživanja kako bi se riješile nepoznanice u patogenezi neonatalne aloimune trombocitopenije.



Slika 1. Antigeni na glikoproteinima trombocita (Prema Zdravic D, Yougbare I, Vadasz B, Li C, Marshall AH, Chen P, i ostali. *Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. Semin Fetal Neonatal Med.* 01. 02. 2016.;21(1):19–27.)

### 6.2.3. Kliničke manifestacije

Klinička slika neonatalne trombocitopenije varira od asimptomatske trombocitopenije do teškog intrakranijalnog krvarenja (33,34). Asimptomatska trombocitopenija može biti uočena kao slučajni nalaz tijekom analiziranja rezultata krvne slike koja se radi zbog drugog razloga. Novorođenčad najčešće ima simptome blagog krvarenja kao što su petehije, hematomi, mala visceralna krvarenja, melena, hemoptiza i ponekad hematurija (13,23). Iako je intrakranijsko krvarenje najopasnija komplikacija, u literaturi su opisane i druga teža krvarenja u sklopu neonatalne aloimune trombocitopenije. Potrebno je obratiti pažnju na pojavu ekstrakranijalnih krvarenja kao manifestacije NAIT-a jer će to ne samo dovesti do brže dijagnoze i ciljanog liječenja već i do mogućnosti prevencije slučajeva opasnih krvarenja u potencijalnim sljedećim trudnoćama (35). Opisani su slučajevi nekontroliranog krvarenja nakon cirkumcizije, u drugom danu života, s brojem trombocita  $5 \times 10^9/l$  i potvrđenom dijagnozom NAIT-a (36). Cook i suradnici opisali su slučaj skrotalnog krvarenja, s trombocitopenijom od  $7 \times 10^9/l$  i potvrđenom HPA-1a aloimunizacijom (37). Zabilježena su dva slučaja subgalealnog hematoma uzrokovanih NAIT-om (38,39). Davoren i suradnici prikazali su pojavu okularnog krvarenja u prvom danu života koje je zaliječeno nakon transfuzija

trombocita i IVIG-a (39). Opisano je i nedonošče gestacijske dobi 29. tjedana koje je uz retinalno krvarenje imalo proptozu i hifemu uz broj trombocita  $27 \times 10^9/l$ . Nakon transfuzije nespecifičnih trombocita njihov je broj počeo rasti da bi nakon 5 dana opet počeo padati i tada se posumnjalo na NAIT. Poslije toga novorođenče je primilo transfuzije HPA-1a negativnih trombocita i njihov se broj normalizirao, uz rezoluciju retinalnog krvarenja (40).

Gastrointestinalno krvarenje opisano je u nekoliko slučajeva (41–44), a opisana su i dva novorođenčeta s plućnim krvarenjem (44,45). Abel i suradnici opisali su pojavu krvarenja u kralježničnu moždinu u terminskog novorođenčeta koje je rođeno carskim rezom zbog slabljenja otkucaja fetalnog srca. Broj trombocita od  $2 \times 10^9/l$  i petehije, usmjerili su dijagnozu prema NAIT. Uz to je pri pregledu uočena hipotonija gornjih udova zbog čega je učinjena MR na kojoj je bilo vidljivo krvarenje u kralježničnu moždinu. Nakon transfuzije trombocita i IVIG-a, broj trombocita se povećao, ali je i dalje bila prisutna slabost i hipotonija gornjih udova (46).

#### **6.2.3.1. Intrakranijalno krvarenje**

Intrakranijalno krvarenje (ICH od engl. intracranial hemorrhage) najopasnija je prezentacija neonatalne aloimune trombocitopenije i povećava incidenciju doživotnog invaliditeta i smrti (35,47). Prema istraživanjima, smrtnost unutar prva 4 dana života u novorođenčadi koja su se prezentirala sa značajnim intrakranijalnim krvarenjem prije 28. tjedna gestacije kreće se između 35% i 48% (49,50), a 60% preživjele djece ima dugoročne neurološke posljedice (cerebralnu paralizu, obostranu gluhoću ili sljepoću, zakašnjeli motorički i kognitivni razvoj i epileptičke napadaje) (48,49). Većina krvarenja nastaje već intrauterino (47,50). Nije do kraja potvrđeno zašto je intrakranijalno krvarenje koje nastaje u sklopu neonatalne aloimune trombocitopenije češće i opasnije nego kod drugih uzroka trombocitopenije (49). Ozbiljnost NAIT-a i pojavnost intrakranijalnog krvarenja teško je predvidjeti, ali smatra se da uobičajeno nastaje kada je broj trombocita  $30 \times 10^9/l$  ili manji (51). Iako se smatralo da je trombocitopenija glavni uzrok intrakranijalnog krvarenja, novija istraživanja o anti-angiogenetskim učincima majčinih anti-B antitijela govore da je u podlozi još čimbenika koji utječu na intrakranijalno krvarenje (52–54). Fetalna i neonatalna hemostaza drugačije su i vjerojatnije je da poremećaj angiogeneze, a ne trombocitopenija, uzrokuje intrakranijalno krvarenje povezano s NAIT-om (55). Tijekom trudnoće, ginekolog treba posumnjati na FNAIT u slučaju učestalih spontanih pobačaja, pogotovo u kasnom stupnju trudnoće. FNAIT često bude otkrivena tek kad nastane intrakranijalno krvarenje, a otkrije se ultrazvukom, često kad majka primijeti smanjenu fetalnu aktivnosti ili kad ginekolog primijeti fetalnu bradikardiju (5).



#### 6.2.4. Dijagnostika

Dijagnoza neonatalne aloimune trombocitopenije oslanja se na identifikaciju majčinih aloantitijela (14). Kod novorođenčadi koja ima teži stupanj bolesti zbog rizika od intrakranijalnog krvarenja, nije potrebno čekati rezultate laboratorijskih pretraga već se kod sumnje na NAIT odmah kreće s liječenjem, no prethodno se uzmu uzorci krvi novorođenčeta radi obrade (5). Točan uzrok trombocitopenije potrebno je utvrditi i zbog budućih potencijalnih trudnoća, čak i u novorođenčadi s blagom kliničkom slikom (5, 16). Također je potrebno analizirati uzorke krvi i majke i oca (16). Cilj je laboratorijske dijagnostike potvrditi aloimunu etiologiju trombocitopenije detekcijom majčinih cirkulirajućih aloimunih antitijela usmjerenih prema očevim antigenima koji su prisutni na trombocitima novorođenčeta. Detekcija aloantitijela može se postići inkubacijom očevih trombocita s majčinim serumom i analiziranjem antigen-antitijelo kompleksa različitim dostupnim metodama (56). Zlatnim standardom dijagnostike smatra se metoda MAIPA (engl. *monoclonal antibody-specific immobilization of platelet antigens*) (5). Ova metoda osim detekcije široko rasprostranjenih antigena HPA-1, HPA-3, HPA-5 i HPA-15 omogućuje i detekciju manje frekventnih NAIT antigena (57). Osim MAIPA-e, razvijene su i druge tehnike za detekciju HPA-1a antitijela niske avidnosti kao što SPR tehnika (engl. *Surface Plasmon Resonance technology*) (58,59). Za točnu potvrdu dijagnoze uz detekciju antigena potrebna je i HPA genotipizacija majke, oca i novorođenčeta (48). Češće varijacije HPA gena mogu se detektirati PCR metodom (23). U slučaju HPA-1a inkompatibilnosti između majke i novorođenčeta, ali bez prisutnih antitijela, detekcija antitijela treba se ponoviti nakon 2-4 tjedna (48).

#### 6.2.5. Prenatalno liječenje

U trudnoćama u kojima se kao komplikacija javlja FNAIT primarni je cilj prevenirati krvarenja nego trombocitopeniju (60). Prva strategija prenatalnog liječenja preuzeta je i prilagođena na temelju liječenje fetalne anemije koje se i danas primjenjuje (13). Daffos je bio prvi koji je 1984. godine Daffos je pod kontrolom ultrazvuka primijenio intrauterinu transfuziju trombocita (61). Budući da je životni vijek trombocita kratak, transfuzije bi trebale svakih tjedan dana što bi povećalo rizik od intrauterine smrti fetusa. Amniocenteza u prisutnosti trombocitopenije može dovesti do fetalne bradikardije, tamponade pupkovine i drugih krvarenja (62). Zato se od ove metode brzo odustalo. Sa željom da zamijeni riskantnu metodu liječenja trombocitopenije sigurnijom, neinvazivnom metodom, 1988. pokušalo se s primjenom IVIG-a u trudnoći kompliciranom FNAIT-om (63). Liječenje, kao i doza od 1g/kg majčine tjelesne mase, oblikovano je prema načinu liječenja idiopatske trombocitopenije

(13,60). IVIG je danas zlatni standard antenatalnog liječenja FNAIT (13,60,64). Još nije poznato imaju li doza IVIG-a ili vrijeme započinjanja liječenja učinak na klinički ishod (65). Budući da je jedini dokazani rizični čimbenik za razvoj intrakranijalnog krvarenja pojava istog kod starije braće ili sestara, trudnoće su podijeljene u četiri skupine s različitim strategijama liječenja temeljenim na dozi i gestacijskoj dobi početka liječenja (tablica 2) (13). Gestacijska dob započinjanja liječenja varira među kliničkim centrima. U Europi ono započinje u 28. tjednu gestacije, a u SAD-u između 20. i 24. tjedna gestacije (13). Najčešće korištena doza je 1 g/kg tjedno (13). Prema novim smjernicama *International Collaboration for Transfusion Medicine Guidelines* (ICTMG) preporučeno je i ranije započinjanje liječenja; između 12. i 16. tjedna gestacije kod trudnoća visokog rizika (intrakranijalno krvarenje kod starijeg brata ili sestre), a kod onih niskog rizika između 20. i 22. tjedna gestacije (65). Povoljni učinak dodavanja kortikosteroida terapiji imunoglobulinom nije potvrđen (66). IVIG krvni je pripravak dobiven iz plazme nekoliko tisuća zdravih donora. Pretežito se sastoji od IgG izotipa, ali mogu biti prisutni i male količine IgA i IgM (67). Točan mehanizam djelovanja IVIG u FNAIT-u nije poznat i pretpostavlja se da je u pitanju više mehanizama djelovanja (64). Liječenje imunoglobulinima smatra se sigurnim i dobro podnošljivim, s blagim nuspojavama kao što su glavobolja, zimica, povišena tjelesna temperatura, mučnina i umor u majke. Rijetko se mogu javiti i ozbiljnije nuspojave kao što su blaga hemolitička anemija, zatajenje bubrega, aseptički meningitis i trombotske komplikacije (68).

Tablica 2. Stupnjevanje neonatalne aloimune trombocitopenije prema riziku intrakranijalnog krvarenja (Modificirano prema *Peterson JA, McFarland JG, Curtis BR, Aster RH. Neonatal alloimmune thrombocytopenia: pathogenesis, diagnosis and management. Br J Haematol. 2013.;161(1):3–14.*)

<b>Stupanj NAIT-a</b>	<b>Opis</b>	<b>Rizik</b>
1.	Novorođenče s trombocitopenijom ili intrakranijalnim krvarenjem nepoznate etiologije u prethodnoj trudnoći; bez detektiranih HPA antitijela	Nepoznat
2.	Serološki potvrđen FNAIT ili NAIT u prethodnoj trudnoći; prisutna samo trombocitopenija bez dokaza intrakranijalnog krvarenja	Standardni
3.	Serološki potvrđen FNAIT ili NAIT u prethodnoj trudnoći s intrakranijalnim krvarenjem od 28. tjedna gestacije pa nadalje	Visok
4.	Serološki potvrđen FNAIT ili NAIT u prethodnoj trudnoći s intrakranijalnim krvarenjem prije 28. tjedna gestacije	Vrlo visok

### 6.2.6. Postnatalno liječenje

Povezanost između stupnja trombocitopenije i jačine krvarenja nije dokazana, ali trombocitopenija u kombinaciji s krvarenjem jasna je indikacija za transfuziju trombocita (69). Dilema se javlja kad je prisutna samo izolirana trombocitopenija. Korist od profilaktičkih transfuzija (kad je prisutna trombocitopenija, bez znakova krvarenja) nije potvrđena. Novorođenčad ima različitu hemostatsku ravnotežu od odraslih, a uzrokovana je promijenjenom ekspresijom receptora na površini trombocita, hiporeaktivnosti na agoniste trombocita i prokoagulantnim okruženjem s povišenim von Willebrandovim faktorom i povišenim hematokritom (70). Usprkos tome, liječnici i dalje preporučuju profilaktičke transfuzije s ciljem prevencije krvarenja kod novorođenčadi koja je pod rizikom (71). Transfuzije trombocita preporučene su kod slučajeve teške trombocitopenije u skoro svim smjernicama, ali donji prag broja trombocita kod kojeg bi se trebala primijeniti transfuzija nije jasno definiran (72), no primijećeno je da je kod primjene transfuzije pri višem pragu broja trombocita ( $50 \times 10^9/L$ ) ima više smrtnih ishoda. U tablici 3 prikazane su smjernice za donji prag broja trombocita pri kojem bi se trebala primijeniti transfuzija. Transfuzija bi se

trebala provesti s HPA kompatibilnim trombocitima. Konačna potvrda dijagnoze je laboratorijska, što zahtijeva određeno vrijeme, pa se kod sumnje na NAIT transfundiraju HPA-1bb/5aa trombociti. Kao alternativa može se dati transfuzija trombocita slučajnog donora (13). Prema smjernicama volumen transfuzije trombocita trebao bi biti od 10 do 15 ml/kg, a vrijeme trajanja infuzije od 30 do 60 minuta (71,73).

Tablica 3. Internacionalne smjernice za transfuzije trombocita (Modificirano prema *Ree IMC, Lopriore E. Updates in Neonatal Hematology: Causes, Risk Factors, and Management of Anemia and Thrombocytopenia. Hematol Oncol Clin North Am. lipanj 2019.;33(3):521–32.*)

	Britanske smjernice	Australske smjernice	Kanadske smjernice	Nizozemske smjernice
Profilaktički kod zdravog novorođenčeta	25 x 10 <sup>9</sup> /L	10-20 x 10 <sup>9</sup> /L	<20 x 10 <sup>9</sup> /L	<25 x 10 <sup>9</sup> /L
Kod krvarenja ili prije invazivnih postupaka	50-100 x 10 <sup>9</sup> /L	50 x 10 <sup>9</sup> /L	<50 x 10 <sup>9</sup> /L	<50 x 10 <sup>9</sup> /L

#### 6.2.6.1. Nuspojave transfuzije trombocita

Trombociti, kao i ostali krvni pripravci, mogu uzrokovati nuspojave povezane s transfuzijom kao što su akutna plućna ozljeda povezana s transfuzijom (TRALI od engl. *transfusion related acute lung injury*) i prepunjenost cirkulacije povezana s transfuzijom (TACO od engl. *transfusion associated circulatory overload*) (74). Trombociti imaju veću šansu uzrokovati TRALI nego eritrociti zbog većeg volumena plazme u transfuziji (74). Podatci o TACO i TRALI ograničeni su u novorođenačkoj populaciji zbog teškoće definiranja tih stanja. Ostale nuspojave uključuju febrilne, alergijske i hipotenzivne reakcije (74).

#### 6.2.7. Imunoprofilaksa

U današnje se vrijeme istražuju dva pristupa koja bi mogla olakšati kliničku sliku bolesti i dovesti do pozitivnog kliničkog ishoda. Na isti način na koji se koristi anti-D profilaksa kad je u pitanju sprječavanje hemolitičke bolesti novorođenčadi, istražuje se i mogućnost da se kod žena primjenom anti-HPA-1a antitijela spriječi proizvodnja HPA-1a antitijela (75).

Mehanizam djelovanja je taj da bi primjena anti-HPA-1a antitijela kod HPA-1a negativnih žena senzibilizirala fetalne trombocite i uklonila fetalne HPA-1a pozitivne trombocite i time

prevenirala majčinu HPA-1a imunizaciju i FNAIT (76). Prvi korak prema istraživanju ovog načina liječenje je NAITgam; proizvod koji je napravljen iz donacija plazme žena koje su imale visoke koncentracije HPA-1a antitijela. Potrebna su daljnja istraživanja kako bi se dokazala njegova djelotvornost na ljudima (77). Ako se i pokaže njegova djelotvornost u istraživanjima kod žena koje nisu trudne, bit će potrebno potvrditi sigurnost i djelotvornost i tijekom trudnoće i otkloniti sve potencijalne rizike primjene za majku i dijete (78).

Alternativa ovom načinu liječenja razvoj je monoklalnog HPA-1a antitijela. Prednosti monoklalnih antitijela su njihova homogenost i konzistentnost (76). Specifičnost je i nedostatak jer vezanje na samo jedan HPA-1a epitop ne može osigurati dovoljno dobru profilaksu. S druge strane, poliklalna antitijela heterogena su i prepoznaju više epitopa što ih čini sklonijima varijabilnosti, ali to se može prevladati uzimanjem uzoraka od velikog broja donora (76). Potpuno humano monoklonsko antitijelo izdvojeno je i napravljeno iz seruma imunizirane žene koje je rodila dijele s FNAIT-om. Antitijelo se veže na  $\alpha\beta3$  integrin i na  $\alpha\text{IIb}\beta3$  integrin i dobar je kandidat za buduću profilaksu HPA-1a imunizacije (79).

## **6.2.8. Novi lijekovi**

### **6.2.8.1. Rekombinantni humani trombopoetin**

Za sada nema lijekova koji bi se mogli koristiti u novorođenačkoj dobi. Egzogen primjena rekombinantnog humanog trombopoetina u zdravih odraslih dobrovoljaca nije bila učinkovita, tj. dovela je do stvaranja antitrombopoetinskih protutijela i teške trombocitopenije (80). Fokus istraživanja prebačen je na agoniste trombopoetinskog receptora kao što su eltrombopag i romiplostim. Oni se vežu na trombopoetinski receptor i stimuliraju efekt trombopoetina. Dozvoljena je njihova upotreba kod djece, ali nisu testirani kod novorođenčadi (69).

### **6.2.8.2. Inhibicija Fc receptora (FcRn)**

Početni razvoj inhibitora FcRn za kliničku upotrebu bio je koncipiran kao lijek koji bi snizio razine IgG tako što bi značajno utjecao na recikliranje antitijela i na taj način smanjio mogućnost ponovne upotrebe (81). Snižavanje razina svih IgG smanjilo bi i razinu IgG autoantitijela i imalo učinka na bilo koju imunoposredovanu bolest (78). Ako bi FcRn blokada bila kompletna, učinak bi bio potpuno onemogućavanje prelaska majčinih IgG preko posteljice. Također više ne bi bila potreba za dodavanjem imunoglobulina i kortikosteroida u terapiju, što je povoljno zbog njihovih nuspojava. Potencijalni nedostatak bio bi značajno smanjenje razine i majčinog i fetalnog IgG što bi teoretski uzrokovalo veću sklonost infekcijama kod majke (78). Trenutno dostupnim rezultatima istraživanja ta povezanost nije

dokazana (25). Nakon rođenja, novorođenče s hipogamaglobulinemijom sigurno bi bilo pod povećanim rizikom od sepse (82). Jedno rješenje bilo bi prekinuti FcRn inhibitor otprilike 2 tjedna prije poroda i zamijeniti ga visokom dozom intravenskog imunoglobulina nekoliko dana prije poroda kako bi se obnovila zaliha majčinog IgG, a prijenosom preko posteljice i fetalna zaliha. Alternativni pristup mogao bi biti intravenska primjena IVIG-a novorođenčetu prvog dana života putem pupkovine (78).

### **6.2.9. Razvoj metoda probira**

Postavlja se pitanje postoji li potreba za probirom. Postnatalna detekcija HPA-1a antitijela zbog sumnje na NAIT zahtjeva drugačiji pristup od probira na HPA-1a antitijela tijekom trudnoće. Razlog tome je što se kod neonatalne trombocitopenije kod koje je dokazana fetalno-maternalna HPA-1a inkompatibilnost, ali bez detektiranih protutijela, moraju učiniti dodatne serološke pretrage, a to zbog opsežnosti za metode probira nije prikladno. Za HPA-1a negativne majke potreban je test detekcije antigena koji će biti optimalne osjetljivosti i specifičnosti i koji treba biti proveden u pravom trenutku trudnoće kako bi se na vrijeme moglo početi s liječenjem ako je ono potrebno (83).

Cilj probira na FNAIT kod trudnih žena bio bi otkriti bolest u ranom stadiju majčine prve trudnoće kako bi se smanjio rizik za intrakranijalno krvarenje ili intrauterinu smrt djeteta kod ove i sljedećih trudnoća (75). Probir bi imalo smisla raditi za FNAIT uzrokovanu HPA-1a budući da je taj antigen uzrok bolesti kod većine ozbiljnih oblika bolesti (15). Potencijalne mogućnosti testova probira uključuju genotipizaciju i detekciju HPA-1a antitijela.

#### **6.2.9.1. Genotipizacija**

Danas je dostupna visokoučinkovita i jeftina metoda HPA-1a genotipizacije, međutim ona još uvijek nije dio rutinskih laboratorijskih pretraga. Ako je majka HPA-1a negativna, status fetusa može se otkriti pomoću izolacije fetalne DNA iz majčine plazme i ako je fetus također HPA-1a negativan, daljnje praćenje nije potrebno (75). Postoji povezanost između žena koje su HPA-1a negativne i HLA-DRB3\*0101 antigena. Povezanost između visokog titra HPA-1a antitijela i HLA-DRB3\*0101 antigena jako je velika i ekstremno je rijetko da HPA-1a negativna žena razvije jak imunološki odgovor na HPA-1a antigene na fetalnim trombocitima ako nema HLA-DRB3\*0101 antigen. Zbog toga je važno da program probira obuhvaća taj HLA antigen kao glavni antigen za probir (76,78,84).

### **6.2.9.2. Detekcija HPA antitijela**

Aktivno se istražuje može li se na temelju razine majčinih HPA-1a antitijela predvidjeti klinički ishod kod novorođenčeta (85). U literaturi je dokazana značajna povezanost između razine majčinih protutijela i broja trombocita u novorođenčeta kada se za kvantifikaciju HPA-1a koristi monoklonsko antitijelo na trombocitni antigen (86). Usprkos tome, još je uvijek pitanja do koje mjere koncentracija HPA-1a antitijela može poslužiti kao procjena kliničkog ishoda na individualnoj razini (85). Iznimka je Norveška gdje se metoda kvantifikacije HPA-1a antitijela koristi za procjenu rizika više od 10 godina, a postupanje se u odnosu na ostale države razlikuje u tri aspekta: IVIG se daje samo onim ženama koje su već rodile dijete koje je imalo ICH povezano s FNAIT-om; razina HPA-1a antitijela od 3 IU/mL koristi se kao granica za određivanja trudnoća visokog i niskog rizika; za žene s visokim rizikom za FNAIT preporuča se carski rez otprilike 2 tjedna prije termina (87). Kritike norveškom pristupu su da čak i žene s nemjerljivom razinom HPA-1a antitijela rađaju novorođenčad s teškom trombocitopenijom. Istraživanja trebaju potvrditi kolika je uspješnost ovog pristupa i je li sukladno tome u Norveškoj zabilježen manji broj slučajeva novorođenčadi s ozbiljnijim oblikom NAIT-a (85).

## 7. Zaključak

Trombocitopenija može biti čest nalaz kod novorođenčadi, pogotovo one prerano rođene. Spektar diferencijalnih dijagnoza je širok i zato je kod postavljanja dijagnoze u obzir važno uzeti uz broj trombocita i klinički status novorođenčeta. Najveću kliničku važnost ima neonatalna aloimuna trombocitopenija. Nastaje najvećim dijelom zbog proizvodnje aloantitijela na HPA antigene fetalnih trombocita koji nisu prisutni na majčinih trombocitima. Dolazi do destrukcije fetalnih/neonatalnih trombocita i posljedične trombocitopenije. Smatra se da u mehanizmu nastanka osim aloimunizacije ulogu imaju i drugi čimbenici kao što su smanjena proizvodnja trombocita i prisutnost trombocitnih glikoproteinskih antigena na endotelnim stanicama i stanicama sinciciotrofoblasta. Potrebna su dodatna istraživanja kako bi se potpuno razumjela patogeneza NAIT-a.

Liječenje ovisi o tome je li NAIT otkrivena prenatalno ili postnatalno, Prvi izbor kod prenatalnog liječenja su intravenski imunoglobulini, a kod postnatalnog transfuzije trombocita, iako po smjericama nije jasno naznačeno koja bi trebala biti donja granica broja trombocita pri kojoj bi se trebala primijeniti transfuzija. U istraživanjima su i novi lijekovi, čiji prvi rezultati su obećavajući, ali bit će potrebno još vremena da se dokaže njihova sigurnost i djelotvornost.

Metode prevencije i probira nisu dostupne, ali temeljem podataka koji su dostupni ima uspjeha na tom području i uskoro bi mogle biti razvijene strategije djelovanja.

Iako je većina slučajeva blage kliničke slike, zbog teških i dugoročnih posljedica koje intrakranijalno krvarenje ostavlja na život djeteta i cijele obitelji imalo bi smisla raditi populacijski probir i uvesti metode imunoprofilakse.



## **8. Zahvale**

Zahvaljujem se mentorici dr.sc. Dorotei Ninković, dr.med. na svim savjetima i riječima podrške i na brzom odgovaranju.

Posebna zahvala mojim roditeljima Renati i Ivici koji su bili neizmjerena podrška u svim aspektima života tijekom šest godina studiranja.

Hvala sestri Ani koja me naučila odricanju i žrtvi.

Hvala baki i djedu koje je uvijek zanimalo kako studij napreduje i koji su bili tu kad je trebalo pomoći.

Zahvaljujem se prijateljima s fakulteta s kojima sam dijelila brige, ali i radosti studiranja, a i ostalim prijateljima koji su uvijek bili tu za razgovor i druženje.

*„Dosta ti je moja milost jer snaga se u slabosti usavršuje.“*

(Iz Biblije; Druga poslanica Korinćanima)

## 9. Literatura

1. Gunnink SF, Vlug R, Fijnvandraat K, van der Bom JG, Stanworth SJ, Lopriore E. Neonatal thrombocytopenia: etiology, management and outcome. *Expert Rev Hematol*. 2014 Jun;7(3):387–95.
2. Fernandes CJ. Neonatal thrombocytopenia [ažurirano 24. 01. 2023.; pristupljeno 18. 05. 2023.]. U Garcia-Prats JA, O'Brien S, Armsby C, ur. UpToDate [internet]. UpToDate; c2023. Dostupno na: <https://www.uptodate.com/contents/neonatal-thrombocytopenia>
3. Donato H. Neonatal thrombocytopenia: A review. I. Definitions, differential diagnosis, causes, immune thrombocytopenias. *Arch Argent Pediatr*. 2021;119(3):e202-e214.
4. Melamed N, Whittle W, Kelly EN, Windrim R, Seaward PGR, Keunen J, i sur. Fetal thrombocytopenia in pregnancies with fetal human parvovirus-B19 infection. *Am J Obstet Gynecol*. 2015 Jun;212(6):793.e1-793.e8.
5. Michelson A, Cattaneo M, Frelinger A, Newman P, ur. Platelets [internet]. Academic Press; 2019 [pristupljeno 23. 05. 2023.]. Dostupno na: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128134566000448>
6. Fernandes CJ. Neonatal thrombocytopenia [ažurirano 22. 05. 2023.; pristupljeno 30. 05. 2023.]. U Garcia-Prats JA, O'Brien S, Armsby C, ur. UpToDate [internet]. UpToDate; c2023. Dostupno na: <https://www.uptodate.com/contents/neonatal-thrombocytopenia>
7. Fustolo-Gunnink SF, Vlug RD, Smits-Wintjens VEJ, Heckman EJ, Te Pas AB, Fijnvandraat K, i ostali. Early-onset thrombocytopenia in small-for-gestational-age neonates: a retrospective cohort study. *PloS One*. 2016.;11(5):e0154853.
8. Sillers L, Van Slambrouck C, Lapping-Carr G. Neonatal thrombocytopenia: etiology and diagnosis. *Pediatr Ann*. 2015 Jul;44(7):e175–80.
9. Van Der Lugt NM, Van Kampen A, Walther FJ, Brand A, Lopriore E. Outcome and management in neonatal thrombocytopenia due to maternal idiopathic thrombocytopenic purpura. *Vox Sang*. 2013 Oct;105(3):236–43.

10. Hachisuga K, Hidaka N, Fujita Y, Fukushima K, Kato K. Can we predict neonatal thrombocytopenia in offspring of women with idiopathic thrombocytopenic purpura? *Blood Res.* 2014 Dec;49(4):259–64.
11. Kawaguchi K, Matsubara K, Takafuta T, Shinzato I, Tanaka Y, Iwata A, i ostali. Factors predictive of neonatal thrombocytopenia in pregnant women with immune thrombocytopenia. *Int J Hematol.* 2014;99(5):570–6.
12. Karakurt N, Uslu İ, Albayrak C, Tomak L, Ozyazici E, Albayrak D, i ostali. Neonates born to mothers with immune thrombocytopenia: 11 years experience of a single academic center. *Blood Coagul Fibrinolysis Int J Haemost Thromb.* 2018 Sep;29(6):546–50.
13. Winkelhorst D, Oepkes D. Foetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2019 Jul;58:15–27.
14. Bonstein L, Haddad N. Taking a wider view on fetal/neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Thromb Res.* 2017 Mar;151 Suppl 1:S100–2.
15. Brojer E, Husebekk A, Dębska M, Uhrynowska M, Guz K, Orzińska A, i ostali. Fetal/neonatal alloimmune thrombocytopenia: pathogenesis, diagnostics and prevention. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2016 Aug;64(4):279–90.
16. Peterson JA, McFarland JG, Curtis BR, Aster RH. Neonatal alloimmune thrombocytopenia: pathogenesis, diagnosis and management. *Br J Haematol.* 2013;161(1):3–14.
17. Davoren A, Curtis BR, Aster RH, McFarland JG. Human platelet antigen-specific alloantibodies implicated in 1162 cases of neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Transfusion (Paris).* 2004 Aug;44(8):1220–5.
18. Knight M, Pierce M, Allen D, Kurinczuk JJ, Spark P, Roberts DJ, i sur. 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.
19. Curtis BR. Recent progress in understanding the pathogenesis of fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Br J Haematol.* 2015;171(5):671–82.

20. Zdravic D, Yougbare I, Vadasz B, Li C, Marshall AH, Chen P, i sur. Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2016 Feb;21(1):19–27.
21. Wienzek-Lischka S, König IR, Papenkort EM, Hackstein H, Santoso S, Sachs UJ, i sur. HLA-DRB3\*01:01 is a predictor of immunization against human platelet antigen-1a but not of the severity of fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Transfusion (Paris).* 2017;57(3):533–40.
22. Kjeldsen-Kragh J, Killie MK, Tomter G, Golebiowska E, Randen I, Hauge R, i sur. 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.
23. Sachs UJ. Fetal/neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Thromb Res.* 2013 Jan;131:S42–6.
24. Ahlen MT, Husebekk A, Killie MK, Skogen B, Stuge TB. T-cell responses associated with neonatal alloimmune thrombocytopenia: isolation of HPA-1a-specific, HLA-DRB3\*0101-restricted CD4+ T cells. *Blood.* 2009 Apr;113(16):3838–44.
25. Liu ZJ, Bussel JB, Lakkaraja M, Ferrer-Marin F, Ghevaert C, Feldman HA, i sur. Suppression of in vitro megakaryopoiesis by maternal sera containing anti-HPA-1a antibodies. *Blood.* 2015 Sept;126(10):1234–6.
26. Kapur R, Kustiawan I, Vestrheim A, Koeleman CAM, Visser R, Einarsdottir HK, i sur. A prominent lack of IgG1-Fc fucosylation of platelet alloantibodies in pregnancy. *Blood.* 2014 Jan;123(4):471–80.
27. Kumpel BM, Sibley K, Jackson DJ, White G, Soothill PW. Ultrastructural localization of glycoprotein IIIa (GPIIIa, beta 3 integrin) on placental syncytiotrophoblast microvilli: implications for platelet alloimmunization during pregnancy. *Transfusion (Paris).* 2008 Oct;48(10):2077–86.
28. Yougbaré I, Tai WS, Zdravic D, Oswald BE, Lang S, Zhu G, i sur. Activated NK cells cause placental dysfunction and miscarriages in fetal alloimmune thrombocytopenia. *Nat Commun.* 2017;8(1).

29. Tiller H, Killie MK, Husebekk A, Skogen B, Ni H, Kjeldsen-Kragh J, i sur. Platelet antibodies and fetal growth: maternal antibodies against fetal platelet antigen 1a are strongly associated with reduced birthweight in boys. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2012;91(1):79–86.
30. Nieswandt B, Bergmeier W, Rackebrandt K, Gessner JE, Zirngibl H. Identification of critical antigen-specific mechanisms in the development of immune thrombocytopenic purpura in mice. *Blood*. 2000 Oct;96(7):2520–7.
31. Webster ML, Sayeh E, Crow M, Chen P, Nieswandt B, Freedman J, i sur. Relative efficacy of intravenous immunoglobulin G in ameliorating thrombocytopenia induced by antiplatelet GPIIb/IIIa versus GPIIb/IIIa antibodies. *Blood*. 2006 Aug;108(3):943–6.
32. Li J, Wal DE van der, Zhu L, Vadasz B, Simpson EK, Li C, i sur. Fc-independent phagocytosis: implications for IVIG and other therapies in immune-mediated thrombocytopenia. *Cardiovasc Hematol Disord-Drug Targets*. 13(1):50–8.
33. Salomon O, Rosenberg N. Predicting risk severity and response of fetal neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Br J Haematol*. 2013 Aug;162(3):304–12.
34. Tiller H, Husebekk A, Skogen B, Kjeldsen-Kragh J, Kjaer M. True risk of fetal/neonatal alloimmune thrombocytopenia in subsequent pregnancies: a prospective observational follow-up study. *BJOG Int J Obstet Gynaecol*. 2016 Apr;123(5):738–44.
35. Winkelhorst D, Kamphuis MM, de Kloet LC, Zwaginga JJ, Oepkes D, Lopriore E. Severe bleeding complications other than intracranial hemorrhage in neonatal alloimmune thrombocytopenia: a case series and review of the literature. *Transfusion (Paris)*. 2016;56(5):1230–5.
36. Baber J, Kheyfets S, Sumfest J. A rare case of neonatal alloimmune thrombocytopenia causing prolonged postcircumcision bleeding. *Urology*. 2015 Jun;85(6):1474–6.
37. Cook TJ, Qiu CC, Dickinson JE. A review of the contemporary management of fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia in an Australian tertiary obstetric hospital. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 2012 Aug;52(4):321–6.

38. Borensztajn DM, Jansen S, Lopriore E, Boersma B. [Thrombocytopenia in two newborn babies. Unexpected serious complications in full-term babies]. *Ned Tijdschr Geneesk.* 2010;154:A1922. Norveški
39. Davoren A, Smith G, Lucas G, Rodgers S, O'Donoghue P, Crowley J, i sur. Neonatal alloimmune thrombocytopenia due to HPA-3a antibodies: a case report. *Immunohematology.* 2002;18(2):33–6.
40. Jerónimo M, Azenha C, Mesquita J, Pereira DF. A rare manifestation of neonatal alloimmune thrombocytopenia. *BMJ Case Rep.* 02. 06. 2014.;2014:bcr2014204393.
41. Kankirawatana S, Kupatawintu P, Juji T, Veerakul G, Ngercham S, Chongkolwatana V, i sur. Neonatal alloimmune thrombocytopenia due to anti-Nak(a). *Transfusion (Paris).* ožujak 2001.;41(3):375–7.
42. Tomićić M, Deković M, Jaksić J, Stoini E, Dražić V, Grahovac B, i sur. [Neonatal alloimmune thrombocytopenic purpura caused by anti-HPA-1a alloantibodies. Case report]. *Lijec Vjesn.* 2001;123(3–4):70–3. Hrvatski.
43. Rousseau J, Goldman M, David M. HPA-5b (Bra) neonatal alloimmune thrombocytopenia in Quebec: incidence and clinical outcome in 31 cases. *Transfusion (Paris).* 2004 Jun;44(6):844–8.
44. Kaplan C, Morel-Kopp MC, Kroll H, Kiefel V, Schlegel N, Chesnel N, i sur. HPA-5b (Br(a)) neonatal alloimmune thrombocytopenia: clinical and immunological analysis of 39 cases. *Br J Haematol.* 1991 Jul;78(3):425–9.
45. Ghevaert C, Campbell K, Walton J, Smith GA, Allen D, Williamson LM, Ouwehand WH, Ranasinghe E. Management and outcome of 200 cases of fetomaternal alloimmune thrombocytopenia. *Transfusion.* 2007 May;47(5):901-10.
46. Abel M, Bona M, Zawodniak L, Sultan R, Masterson M. Cervical spinal cord hemorrhage secondary to neonatal alloimmune thrombocytopenia. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2003 Apr;25(4):340–2.
47. Tiller H, Kamphuis MM, Flodmark O, Papadogiannakis N, David AL, Sainio S, i sur. 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 Jan;3(3):e002490.
48. Winkelhorst D, Kamphuis MM, Steggerda SJ, Rijken M, Oepkes D, Lopriore E, i sur. Perinatal outcome and long-term neurodevelopment after intracranial haemorrhage due to fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Fetal Diagn Ther*. 2019;45(3):184–91.
  49. Tomac G, Gojčeta K, Grizelj R, Coen Herak D, Ostojić SB, Golubić Čepulić B. Severe intracranial haemorrhage in neonatal alloimmune thrombocytopenia due to antibodies against human platelet antigen 1b: Case report and literature review. *Transfus Med*. 2022;32(4):269–75.
  50. Spencer JA, Burrows RF. Feto-maternal alloimmune thrombocytopenia: a literature review and statistical analysis. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 2001;41(1):45–55.
  51. Delbos F, Bertrand G, Croisille L, Ansart-Pirenne H, Bierling P, Kaplan C. Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: predictive factors of intracranial hemorrhage. *Transfusion (Paris)*. 2016 Jan;56(1):59–66.
  52. Dardik R, Salomon O. Maternal anti-HPA-1a antibodies increase endothelial cell apoptosis and permeability. *J Vasc Res*. 2021;58(5):321–9.
  53. Santoso S, Wihadmadyatami H, Bakchoul T, Werth S, Al-Fakhri N, Bein G, i sur. Antiendothelial  $\alpha v \beta 3$  antibodies are a major cause of intracranial bleeding in fetal/neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2016 Aug;36(8):1517–24.
  54. Chen ZY, Oswald BE, Sullivan JA, Dahmani FZ, Pasman Y, Liu Z, i sur. Platelet physiology and immunology: pathogenesis and treatment of classical and non-classical fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Ann Blood*;4(0).
  55. Yougbaré I, Lang S, Yang H, Chen P, Zhao X, Tai WS, i sur. Maternal anti-platelet  $\beta 3$  integrins impair angiogenesis and cause intracranial hemorrhage. *J Clin Invest*. 2015 Apr;125(4):1545–56.

56. Hayashi T, Hirayama F. Advances in alloimmune thrombocytopenia: Perspectives on current concepts of human platelet antigens, antibody detection strategies, and genotyping. *Blood Transfus.* 2015;13(3):380–90.
57. 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.
58. Socher I, Andrei-Selmer C, Bein G, Kroll H, Santoso S. Low-avidity HPA-1a alloantibodies in severe neonatal alloimmune thrombocytopenia are detectable with surface plasmon resonance technology. *Transfusion (Paris).* 2009;49(5):943–52.
59. Peterson JA, Kanack A, Nayak D, Bougie DW, McFarland JG, Curtis BR, i sur. Prevalence and clinical significance of low-avidity HPA-1a antibodies in women exposed to HPA-1a during pregnancy. *Transfusion (Paris).* 2013;53(6):1309–18.
60. Winkelhorst D, Oepkes D, Lopriore E. Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: evidence based antenatal and postnatal management strategies. *Expert Rev Hematol.* 2017 Aug;10(8):729–37.
61. Daffos F, Capella-Pavlovsky M, Forestier F. Fetal blood sampling via the umbilical cord using a needle guided by ultrasound. Report of 66 cases. *Prenat Diagn.* 1983 Oct;3(4):271–7.
62. Overton TG, Duncan KR, Jolly M, Letsky E, Fisk NM. Serial aggressive platelet transfusion for fetal alloimmune thrombocytopenia: platelet dynamics and perinatal outcome. *Am J Obstet Gynecol.* 2002 Apr;186(4):826–31.
63. Bussel JB, Berkowitz RL, Mcfarland JG, Lynch L, Chitkara U. Antenatal treatment of neonatal alloimmune thrombocytopenia. *N Engl J Med.* 1988;319(21):1374–8.
64. Wabnitz H, Khan R, Lazarus AH. The use of IVIg in fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia- principles and mechanisms. *Transfus Apher Sci Off J World Apher Assoc Off J Eur Soc Haemapheresis.* 2020 Feb;59(1):102710.



65. Lieberman L, Greinacher A, Murphy MF, Bussel J, Bakchoul T, Corke S, i sur. Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: recommendations for evidence-based practice, an international approach. *Br J Haematol*. 2019;185(3):549–62.
66. Winkelhorst D, Murphy MF, Greinacher A, Shehata N, Bakchoul T, Massey E, i sur. Antenatal management in fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: a systematic review. *Blood*. 2017 March;129(11):1538–47.
67. Galeotti C, Kaveri SV, Bayry J. IVIG-mediated effector functions in autoimmune and inflammatory diseases. *Int Immunol*. 2017 Dec;29(11):491–8.
68. Rossi KQ, Lehman KJ, O’Shaughnessy RW. Effects of antepartum therapy for fetal alloimmune thrombocytopenia on maternal lifestyle. *J Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet*. 2016;29(11):1783–8.
69. Ree IMC, Lopriore E. Updates in neonatal hematology: causes, risk factors, and management of anemia and thrombocytopenia. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2019 Jun;33(3):521–32.
70. Hasan R, Saifee NH. Benefits of lower neonatal platelet transfusion thresholds. *Transfusion (Paris)*. 2021;61(6):1672–5.
71. Moore CM, Curley AE. Neonatal platelet transfusions: starting again. *Transfus Med Rev*. 2021Jul;35(3):29–35.
72. de Vos TW, Winkelhorst D, de Haas M, Lopriore E, Oepkes D. Epidemiology and management of fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Transfus Apher Sci*. 2020 Feb;59(1):102704.
73. New HV, Berryman J, Bolton-Maggs PHB, Cantwell C, Chalmers EA, Davies T, i sur. Guidelines on transfusion for fetuses, neonates and older children. *Br J Haematol*. 2016 Dec;175(5):784–828.
74. Moore CM, Curley A. Platelet transfusion thresholds in neonatal medicine. *Early Hum Dev*. 2019 Nov;138:104845.

75. Regan F, Lees CC, Jones B, Nicolaidis KH, Wimalasundera RC, Mijovic A, i sur. Prenatal management of pregnancies at risk of fetal neonatal alloimmune thrombocytopenia (FNAIT): Scientific Impact Paper No. 61. *BJOG Int J Obstet Gynaecol.* 2019 Sep;126(10):e173–85.
76. Kjær M, Geisen C, Akkök ÇA, Wikman A, Sachs U, Bussel JB, i sur. Strategies to develop a prophylaxis for the prevention of HPA-1a immunization and fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Transfus Apher Sci.* 2020. Feb;59(1):102712.
77. Weng YJ, Husebekk A, Skogen B, Kjaer M, Lin LT, Burnouf T. Anti-human platelet antigen-1a immunoglobulin G preparation intended to prevent fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Cox D, urednik. PLOS ONE.* 14. 09. 2016.;11(9):e0162973.
78. Bussel JB, Vander Haar EL, Berkowitz RL. New developments in fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Am J Obstet Gynecol.* 2021 Aug;225(2):120–7.
79. Eksteen M, Tiller H, Averina M, Heide G, Kjaer M, Ghevaert C, i sur. Characterization of a human platelet antigen-1a-specific monoclonal antibody derived from a B cell from a woman alloimmunized in pregnancy. *J Immunol Baltim Md 1950.* 2015 Jun;194(12):5751–60.
80. Sallmon H, Gutti RK, Ferrer-Marin F, Liu ZJ, Sola-Visner MC. Increasing platelets without transfusion: is it time to introduce novel thrombopoietic agents in neonatal care? *J Perinatol Off J Calif Perinat Assoc.* 2010 Dec;30(12):765–9.
81. Pyzik M, Sand KMK, Hubbard JJ, Andersen JT, Sandlie I, Blumberg RS. The neonatal Fc Receptor (FcRn): A misnomer? *Front Immunol.* 2019 Jul;10.
82. El-Bohy M, Poowuttikul P, Secord E. Humoral immune deficiencies of childhood. *Pediatr Clin North Am.* 2019 Oct;66(5):897–903.
83. Porcelijn L, Huiskes E, de Haas M. Progress and development of platelet antibody detection. *Transfus Apher Sci.* 202 Feb.;59(1):102705.

84. Kjeldsen-Kragh J, Fergusson DA, Kjaer M, Lieberman L, Greinacher A, Murphy MF, i sur. Fetal/neonatal alloimmune thrombocytopenia: a systematic review of impact of HLA-DRB3\*01:01 on fetal/neonatal outcome. *Blood Adv.* 2020 Jul;4(14):3368–77.
85. Kjeldsen-Kragh J, Bengtsson J. Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia-new prospects for fetal risk assessment of HPA-1a-negative pregnant women. *Transfus Med Rev.* 2020 Oct;34(4):270–6.
86. Kjær M, Bertrand G, Bakchoul T, Massey E, Baker JM, Lieberman L, i sur. Maternal HPA-1a antibody level and its role in predicting the severity of fetal/neonatal alloimmune thrombocytopenia: a systematic review. *Vox Sang.* 2019;114(1):79–94.
87. Tiller H, Ahlen MT, Akkök ÇA, Husebekk A. Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia – the Norwegian management model. *Transfus Apher Sci.* 2020 Feb;59(1):102711.

## **10. Životopis**

Rođena sam 30.03.1998. u Sisku. Gimnaziju Sisak upisala sam 2013. godine i maturirala u istoj školi 2017. godine. Usporedno s Gimnazijom završila sam srednjoškolsko obrazovanje u Glazbenoj školi Frana Lhotke u Sisku – smjer harmonika. 2017. godine upisala sam Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Tijekom akademskih godina 2021./2022. i 2022./2023. bila sam demonstrator na predmetu Klinička propedeutika, a tijekom akademske godine 2022./2023. demonstrator na predmetu Pedijatrija. Aktivni sam član sekcije za pedijatriju. Tijekom ljeta 2022. sudjelovala sam na Ljetnoj školi bioetike i ljudskih prava. Sudjelovala sam na studentskim kongresima SaMED 2022 u Sarajevu i OSCON 2023 u Osijeku. Sudjelovala sam više puta volonterski i organizacijski u projektu 72 sata bez kompromisa. Tijekom COVID-19 pandemije volontirala sam u Klinici za dječje bolesti Zagreb.