

Akdeniz Bölgesindeki Gebelerde HPA-1a Antijen Sıklığının Araştırılması

Feride Özel¹, Mehmet Şimşek², Aynur Uğur Bilgin¹, Ayтуğ Kızılörs¹, İhsan Karadoğın¹, Levent Dündar¹

¹Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Hematoloji Bilim Dalı, Antalya

²Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Antalya

Özet

Amaç: Çalışmanın amacı polikliniğe başvuran gebeler arasında Human Platelet Antigen (HPA-1a) antijen negatif trombosit görölme sıklığının belirlenmesi ve HPA-1a negatif olarak tespit edilen gebelerde HPA-1a antikor varlığının araştırılmasıdır.

Yöntem: Çalışmada 240 gebeye tarama yapıldı. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) yöntemi kullanarak HPA-1a tiplendirildi. HPA-1a negatif bir olguda alloantikorlar araştırıldı, DNA izole edilmesini takiben de polimerase chain reaction (PCR)-SSP yöntemi ile HLA-DR tiplendirmesi yapıldı.

Bulgular: Bulgular:240 gebede sadece 1 olguda HPA-1a negatif bulundu (0,4%). HPA-1a antijeni yönünden negatif bulunan gebede, anti-HPA-1a antikor seviyesi ve HLA-DR52a sonucu negatif olarak bulundu.

Sonuç: Bu çalışmada HPA-1a antijen negatiflik görölme sıklığı %0,4 olarak bulunmuştur. Bu oran beklenilenden daha düşüktür. Bu nedenle yenidoğanlarda HPA-1a antijeni ve DR52a tiplendirmesinin yerine trombosit sayısına bakılması daha efektif olabilir. Toplumumuzdaki gebelerde HPA-1a nın gerçek sıklığını belirlemek için daha geniş popölasyonu içeren çalışma gerekmektedir.

Anahtar Sözcükler: HPA-1a, neonatal alloimmün trombositopeni, HLA-DR52a.

Evaluation of HPA-1a antigen incidence in pregnant from the mediterranean region

Objective: The aim of the study is to determine incidence rate of Human Platelet Antigen (HPA-1a antigen) negative platelets in pregnant who applied to polyclinic and to research HPA-1a antibody existence in pregnant who were found as HPA-1a negative.

Methods: Two hundred forty pregnant are scanned in the study. HPA-1a was identified by using Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) method. Alloanticorps were researched in a HPA-1a negative case and HLA-DR identification was performed by polymerase chain reaction (PCR)-SSP method after DNA isolation.

Results: HPA-1a was found as negative only 1 case among 240 pregnant (0.4%). Anti-HPA-1a antibody level and HLA-DR52a result was found as negative in the pregnant found as negative in terms of HPA-1a antigen.

Conclusion: In this study, HPA-1a antigen negativity incidence rate was found as 0.4%. This rate is lower than expected level. Thus, checking newborns for platelet number instead of HPA-1a antigen and DR52a identification may be more effective. In order to determine real incidence rate of HPA-1a in pregnant in our society, a study covering a wider population is required.

Keywords: HPA-1a, neonatal alloimmune thrombocytopenia, HLA-DR52a.

Giriş

Neonatal trombositopeni yeni doğanların %1'de görülmektedir.¹ Human platelet antigen (HPA)-1a negatifliği 1/50 oranında gözlenmesine rağmen miadada doğan 5000 olguda bir alloimmün trombositopeni oluşmaktadır.² Babadan kalıtılan trombositlere özgü antijenlere karşı gelişen maternal alloantikörler plasentayı geçerek trombositlere bağlanarak trombositopeniye neden olur. Tedavi edilmeyen trombositopeni olguların %10-20'sinde intraserebral kanama gelişir. İntraserebral kanamaların %75'inin intrauterin dönemde oluştuğu bildirilmiştir.³ İntraserebral kanama gelişen olguların %10'unda fetal ölüm, %20'sinde ise nörolojik hasar gelişir. Olguların %50-60'inde birinci gebelikte alloimmünizasyon gelişmesi nedeni ile vakaların çoğu ancak yeni doğan döneminde teşhis edilebilmektedir.⁴⁻⁶ Maternal immünizasyon genel popülasyonlarda %80 civarında HPA-1a ya karşı oluştuğu kabul edilmektedir.⁷ HPA-1a alloimmünizasyon olasılığı annedeki human leukocyte antigen (HLA) sınıf II DR-B3*0101 (DR52a) varlığı ile kuvvetli bir birliktelik göstermektedir. HPA-1a negatif olan annenin anti-HPA-1a oluşturmada HLA-DRB3*0101 alleli ile kontrol edilir. Ülkemizde HPA-1a antijen sıklığının normal popülasyonda veya gebelerde araştırıldığı bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmanın amacı gebe kadınlarda HPA-1a negatiflik oranının saptanması ve negatif kişilerde anti-HPA-1a antikör varlığının araştırılması ve DR52 genotipi ile ilişkisinin belirlenmesidir.

Yöntem

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum polikliniğine başvuran arka arkaya gelen 240 gebe üzerinde yapıldı. Rutin hemoglobin için kan örneği alınan olgulara alloimmünizasyon için bilgi verildi onay alınarak kan örnekleri EDTA içeren 2 ml'lik vakumlu tüplere ve 10 ml'lik biyokimya tüp-

lerine alındı. Tam kan tüplerine alınan örnekler 6 saat içinde Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) 'da çalışıldı, biyokimya tüplerine alınan kan örnekleri önce santrifüj edildi ve daha sonra tüplere konarak -80 derecede saklandı. Çalışmada gebelerde HPA-1a tayini DiaMed Trombosit HPA-1a tiplendirme test kiti (cat.no.030011, DiaMed AG, Switzerland) kullanılarak ELISA yöntemi ile çalışılmıştır. Bu test için yeterli trombosit varsa yalancı negatiflik bildirilmemiştir. Antiplatelet antikör tayini 50 µL sağlıklı trombositlerden her iki kattaki kuyucuğa pipetlendi, 30-40 dakika inkubasyondan sonra 10 dakika santrifüj edildi. Bunu takiben DiaCell I-II-III hücre karışımı her iki kuyucuğa da 50 µL pipetlendi. 10 dakika inkübasyonu takiben 10 dakika santrifüj yapıp değerlendirildi. Her iki kuyucuğun üst kısmında toplanıyorsa pozitif, hücreler kuyucukların alt kısmında toplanıyorsa negatif olarak değerlendirildi. HLA-DR 52 tiplendirilmesi yapmak için önce tam kandan Puregene (D-5000), Gentra Systems, Switzerland) izolasyon kiti kullanarak DNA izole edildi. HLA-DR tiplendirmesi GenoVision Olerup SSP (Olerup SSP, Stockholm, Sweden) kiti kullanarak yapıldı.

Bulgular

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum polikliniğine başvuran 240 gebede yapılan HPA-1a antijenin tayini sonucunda 240 olgudan birinde HPA-1a antijeni negatif olarak bulunmuştur. Çalışılan popülasyonda HPA-1a sıklığı %0.4 olarak saptanmıştır. HPA-1a antijeni negatif olarak saptanan gebenin anti-platelet antikör varlığı araştırılmış ve negatif olarak bulunmuştur. Neonatal alloimmünizasyonda HPA-1a antijeni ile HLA-DR52 arasındaki bağlantı nedeni ile HPA-1a negatif olan gebede DNA izolasyonunu takiben HLA-DR tiplendirmesi yapılmış ve HLA-DR51 ve HLA-DR 53 pozitif olarak bulunurken HLA-DR 52 negatif olarak bulunmuştur.

Tartışma

HPA antijen frekansı ırklara göre farklılık gösterir. Literatüre göre klinik olarak en önemli izoimmün trombositopeni nedeni olan antijenler: HPA-1a (%77.3), HPA-3a (%3.5), ve HPA-5b (%3.5)dir.⁵ Bunların dışında yaklaşık 16 farklı antijen tanımlanmıştır. Ülkemizde HPA-1a antijen sıklığını bildiren veri bulunmamaktadır. Biz çalışma grubumuzda negatiflik frekansını %0.4 olarak bulduk. Bu oran literatürde %1.6 ile 2.5 arasında olup⁸ ırktan ırka ve etnik gruba göre değişmektedir. Olgu sayımızın az olması frekansın literatür de bildirilen orandan az olmasını açıklayabileceği sonucuna vardık. HPA-1a negatif olan kadınlar tüm gebelerin %2'sini oluşturur ve bu olguların %11'inde antikor geliştiği gözlenmiştir.⁸ Anti-HPA-1a antikorların gelişmesini etkileyen en önemli faktör HLA class II DR52a (DRB3*0101)'dür. HLA-DR52a bulunmayan HPA-1a negatif kadınların %99'unda antikor gelişmeyeceği söylenebilir. HLA-DR52a bulunan HPA-1a negatif kadınların ise üçte birinde (%35) antikor geliştiği bildirilmiş fakat HLA-DR52a rutin tarama testi olarak önerilmemiştir.⁸ HPA-1a tiplendirme ve alloantikor taramasının gerçek frekansın belirlenmesi yıllık etkilenen vaka sayının belirlenmesine, önleyici tedavi için sağlık politikası geliştirilmesine ve trombositopeniye bağlı sorunların ilk gebeliklerde önlenbilmesine olanak sağlar.⁹ Sonuç olarak rutin antenatal kliniklerde HPA-1a tiplendirme ve alloantikor seviyesinin taranması hem gereksiz invaziv girişim sayısını arttırılabilir hem de ülkemiz için ekonomik değildir. Bunun yerine yeni doğan trombosit sayısının taranmasının uygun olabileceği bildirilmiştir.¹⁰ Alloimmün trombositopeni nadir olmasına rağmen morbidite ve mortalitesi şiddetlidir.^{6,11} Antenatal takipte anti HPA-1a titresinin 1/32 den daha yüksek bulunmasının şiddetli trombositopeniyi gösterdiğini bildiren yayın bulunsa da bu test rutin takip de kullanılması önerilmemiştir.¹ HPA antijeni pozitif olan vakalara 2 haftada bir obstetrik ultrason yapılması

tavsiye edilmektedir. Alloimmün trombositopeninin antenatal tedavisinde önceki fetüs öyküsü çok önemlidir. Önceki fetüste intraserebral kanama gözleldiyse maternal immünglobulin (IVIG) ve prednizolon ile tedaviye 12. gebelik haftasında başlanabilir.^{12,13} Medikal tedavi alan olgularda gebeliğin 24. haftasında yapılan kordosentezde trombositopeni bulunursa haftalık intrauterin trombosit transfüzyonu ile tedaviye devam edilir. Transfüzyona bağlı fetal kayıp oranının yaklaşık %5.5-8.3 olduğu bildirilmiştir. Ayrıca bu vakalar genelde 32. haftada doğum yaptıklarından sadece medikal tedavi alanlara göre prematüre sorunları ile daha fazla karşılaşmaktadırlar.¹⁴

Sonuç

Sonuç olarak çalışmamızda HPA-1a antijen negatiflik frekansı %0.4 olarak bulunmasına rağmen bizim toplumumuzdaki HPA-1a antijen frekansının, HLA-DR52a ile ilişkisinin ve alloantikor oluşumu hakkında ülkemizde kesin bir yargıya varmamız için daha geniş popülasyonu içeren çalışmaya gerek vardır.

Kaynaklar

- Williamson LM, Hackett G, Rennie J, Palmer CR, Maciver C, Hadfield R, et al. The natural history of fetomaternal alloimmunization to the platelet-specific antigen HPA-1a (PIA1, Zwa) as determined by antenatal screening. *Blood* 1998; 92: 2280-7.
- Burrows RF, Kelton JG. Fetal thrombocytopenia and its relation to maternal thrombocytopenia. *N Engl J Med* 1993; 329: 1463-6.
- Bussel JB, Berkowitz RL, Lynch L, Lesser ML, Paidas MJ, Huang CL, et al. Antenatal management of alloimmune thrombocytopenia with intravenous gamma globulin: a randomized trial of the addition of low dose steroids to IVIG in fifty-five maternal-fetal pairs. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174: 1414-23.
- Mueller-Eckhardt C, Kiefel V, Grubert A, Kroll H, Weisheit M, Schmidt S, Mueller-Eckhardt G, Santoso S. 348 cases of suspected neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Lancet*. 1989; 8634: 363-6.
- Spencer JA, Burrows RF. Feto-maternal alloimmune thrombocytopenia: a literature review and statistical analysis. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2001; 41: 45-55.

6. IA Bonacossa , LJ Jocelyn. Alloimmune thrombocytopenia of the newborn: neurodevelopmental sequelae. *Am J Perinatol* 1996; 13: 211-5.
7. Davoren A, Curtis BR, Aster RH, McFarland JG. Human platelet antigen-specific alloantibodies implicated in 1162 cases of neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Transfusion* 2004; 44: 1220-5.
8. Williamson LM, Hackett G, Rennie J, Palmer CR, Maciver C, Hadfield R, et al. The natural history of fetomaternal alloimmunization to the platelet-specific antigen HPA-1a (PLA1, Zwa) as determined by antenatal screening. *Blood* 1998; 92: 2280-7.
9. Turner ML, Bessos H, Fagge T, Harkness M, Rentom IF, Seymour J, et al. Prospective epidemiologic study of the outcome and cost-effectiveness of antenatal screening to detect neonatal alloimmune thrombocytopenia due to anti-HPA-1a. *Transfusion* 2005; 45: 1945-56.
10. Durand-Zaleski I, Schlegel N, Blum-Boisgard C, Uzan S, Dreyfus M, Kaplan C. Screening primiparous women and newborns for fetal/neonatal alloimmune thrombocytopenia: a prospective comparison of effectiveness and costs. Immune Thrombocytopenia Working Group. *Am J Perinatol* 1996; 13: 423-31.
11. AN Khouzami, TS Kickler, NA Callan, JB Shumway, EJ Perlman and KJ Blakemore. Devastating sequelae of alloimmune thrombocytopenia: an entity that deserves more attention. *J Matern Fetal Med* 1996; 5: 137-41.
12. Berkowitz RL, Bussel JB, McFarland JG. Alloimmune thrombocytopenia: State of the art 2006. *Am J Obstet Gynecol* 2006; 195: 907-13.
13. Yinon Y, Spira M, Solomon O, Weisz B, Chayen B, Schiff E, Lipitz S. Antenatal noninvasive treatment of patients at risk for alloimmune thrombocytopenia without a history of intracranial hemorrhage. *Am J Obstet Gynecol* 2006; 195: 1153-7.
14. 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; 186: 826-31.