



# Az alloimmun trombocitopénia aktuális kérdései

---

Szintentartó továbbképző tanfolyam  
Szeged, 2018.04.21.

Gazdag Éva  
OVSz KMRVK Vércsoport-szerológiai Laboratórium



# Trombociták élettani szerepe

- Mag nélküli, diszkoid alakú sejtek
- Méret: 3-5  $\mu\text{m}$  átmérő, 0,5  $\mu\text{m}$  vastagság
- Normál szint a vérben 150-400 G/l
- Maximális élettartam 10,5 nap
- Napi igény 7,1 G/l a normális érintegritás fenntartásához
- Érfal sérülés helyén alakváltozás, kitapadás, vázképzés a trombushoz, citokinek kibocsátása



# Történeti áttekintés

- 1953: NAITP első leírása (újszülötteknél súlyos trombocitopénia, anyai vérlemezke szám normális)
- 1959: van Loghem: első lejegyzett PTP-s eset, antitest: anti-Zw<sup>a</sup>
- 1961: Shulman 2 nőbetegnél súlyos PTP-t írt le, antitestet anti-Pl<sup>A1</sup>-nek nevezte el
- 1962: Shulman első alkalommal írta le az anyai antitest szerepét NAITP-ben
- Később bebizonyosodott, hogy a fenti két antitest azonos



# Antigének a trombocitákon

- Vércsoport antigének:
  - ABO  
mennyisége  $\sim 10.000$  /sejt
  - Lewis, P, I
- Leukocyta antigének
  - HLA -A, B, (C)
  - HLA-DR megjelenése citokinekkal indukálható (gamma interferon)



# Antigének a trombocitákon

- Trombocita specifikus antigének
  - glikoprotein komplexek polimorfizmusa
  - nem csak trombocitákon expresszálódnak, megtalálhatók endotélsejteken, fibroblasztokon, simaizomsejteken (kivéve HPA-2 és HPA-3)
  - az egyes HPA antigének esetén az allélek egy aminosavban térnek el egymástól
  - autoszomális kodomináns öröklődés



# Trombocitaspecifikus antigének

1990: új nomenklatura: HPA rendszer

- az elnevezésben a szám a kimutatás időbeli sorrendjére utal, a betű az allél frekvenciára: "a" allél magas frekvenciájú, "b" allél alacsony frekvenciájú

- 24 HPA alloantigén

- 6 biallélikus rendszer

+ 12 antigén, ahol az antitetikus antigén ellen irányuló alloantitesteket még nem mutatták ki





# HPA antigének

| Rendszer | Antigén            | Eredeti név                                                                                | Glikoprotein  | CD    |
|----------|--------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|-------|
| HPA-1    | HPA-1a<br>HPA-1b   | Zw <sup>a</sup> , Pl <sup>A1</sup><br>Zw <sup>b</sup> , Pl <sup>A2</sup>                   | GPIIIa        | CD61  |
| HPA-2    | HPA-2a<br>HPA-2b   | Ko <sup>b</sup><br>Ko <sup>a</sup> , Sib <sup>a</sup>                                      | GPIb $\alpha$ | CD42b |
| HPA-3    | HPA-3a<br>HPA-3b   | Bak <sup>a</sup> , Lek <sup>a</sup><br>Bak <sup>b</sup>                                    | GPIIb         | CD41  |
| HPA-4    | HPA-4a<br>HPA-4b   | Yuk <sup>b</sup> , Pen <sup>a</sup><br>Yuk <sup>a</sup> , Pen <sup>b</sup>                 | GPIIIa        | CD61  |
| HPA-5    | HPA-5a<br>HPA-5b   | Br <sup>b</sup> , Zav <sup>b</sup><br>Br <sup>a</sup> , Zav <sup>b</sup> , Hc <sup>a</sup> | GPIa          | CD49b |
| HPA-15   | HPA-15a<br>HPA-15b | Gov <sup>b</sup><br>Gov <sup>a</sup>                                                       | CD109         | CD109 |



# Trombocita alloimmunizáció

- Trombocita-ellenes antitest
  - bármely, trombocitán kifejeződő antigén ellen irányulhat
- Trombocita-specifikus antitest
  - autoantitest: saját trombocita membrán glikoprotein komplexei ellen
  - alloantitest: idegen trombocita alloantigének ellen
  - isoantitest: hiányzó glikoprotein struktúrák ellen





# Laboratóriumi diagnosztika

- 1. csoport:
  - funkcionális tesztek:  
trombocita antigén-antitest kötődés  
megváltoztatja a vérlemezke működést
  - pl. thromboagglutinációs teszt, trombocita faktor 3 teszt
  - alacsony szenzitivitás és specificitás
  - ritkán használatosak



# Laboratóriumi diagnosztika

- 2. csoport:
  - antiglobulin teszten alapuló módszerek
  - IgG-t és komplementet méri a trombocita membránon
  - direkt és indirekt módon

Példák: immunofluoreszcens teszt (PIFT)

radioimmunoprecipitációs teszt

kevert hemagglutinációs teszt

szolid fázis vörösvérsejt adherencia

teszt

ELISA alapú technikák



# Laboratóriumi diagnosztika

- 3. csoport:
  - a trombocita glikoprotein komplexek ellen irányuló monoklonális antitestek használatán alapuló tesztek
  - pl: MAIPA (monoclonal antibody immobilisation of platelet antigens)
  - magas szenzitivitás
  - alkalmas antitest keverékek vizsgálatára



# Trombocita-ellenes alloantitestek klinikai szerepe

- Magzati-újszülöttkori alloimmun trombocitopénia (NAITP)
- Trombocita refrakteritás
- Poszttranszfúziós purpura
- Lázas nem hemolitikus transzfúziós reakció (ritkán)



# Poszttranszfúziós purpura (PTP)

- Ritka, potenciálisan súlyos szövődmény
- Becsült előfordulás 1/ 50.000-100.000 transzfúzió
- 1-2 héttel trombocitát vagy trombocita membránt tartalmazó készítmény adása után
- Elsődleges immunizáció terhesség, transzfúzió által
- Magas titerű, komplementkötő HPA alloantitestek (gyakran HLA-antitesttel együtt)



# PTP

- Trombocitaszám gyakran 20 G/l alatt
- Beteg saját trombocitái is elpusztulnak
  - idegen trombocita antigének adszorbeálódnak a beteg saját trombocitáinak felszínére a transzfundált trombocitákból
  - átmenetileg autoantitestek képződnek
  - antigén-antitest komplexek alakulnak ki
- Önkorlátozó folyamat





# PTP

- Szerológiai diagnózis
  - HPA-antitest azonosítása
  - leggyakoribb specificitások: anti-HPA-1a, -5b
  - HPA antigén vizsgálat
- Beteg kezelése
  - akut szakban trombocita csak vérzés ellátására, nagy dózisú IvIg, kortikoszteroid, plazmaferézis
  - később antigén-negatív trombocita, mosott vvs



# Trombocita refrakteritás (TR)

- Definíciók:
  - az elvárt válasz elmaradása 2 egymást követő trombocita transzfúzió után
  - gyenge válasz 3 trombocita transzfúzió után egy 2 hetes perióduson belül
- Trombocita transzfúzió hatékonyságának értékelése: korrigált trombocitaszám növekedés  
 $\text{thr.szám növekedés} \times \text{testfelszín} \times 10^{11}$
- CCI= transzfundált trombociták száma



# TR nem immunológiai okai

- Láz
- Szepszis, fertőzések
- Aktív vérzés
- Lépnagyobbodás
- DIC, TTP
- Masszív transzfúzió
- Gyógyszerek (Vancomycin, Amphotericin B)
- Nem megfelelően szállított, tárolt készítmény



# TR immunológiai okai

- HLA antitestek (85-90%)
  - HPA antitestek – allo- és autoantitestek
  - Gyógyszer indukálta autoantitestek
    - dependens és independens
  - (ABO antitestek)
  - Nem immunológiai okok: 70-75%
  - Immunológiai okok: 25-30 %
- Együttesen is fennállhatnak!



# HLA alloimmunizáció

- Elsődleges immunválasz:
  - szenzitizáció terhesség vagy transzfúzió során
  - antitestek megjelenése 10-28 nap múlva
- Donor antigén-prezentáló sejtek (APC) bemutatják az idegen HLA-antigént a recipiens CD4+ T sejtjeinek
- a  $T_H2$  szubpopuláció interleukinokat szekretál (IL-4, 5, 6, 10),
- B limfociták aktivációja, antitesttermelődés
- memória T sejtek kialakulása



# HLA alloimmunizáció

- Másodlagos immunválasz:
  - a memória T sejtek révén már nincs szükség APC sejtek aktív működésére, a trombociták elégségesek az immunválasz beindítására
  - antitestek megjelenése ~4 nap múlva
- HLA alloimmunizáció = refrakteritás  
alloimmunizált betegek 50%-a nem mutat refrakteritást



# HLA alloimmunizáció

- Rizikó faktorok:
  - a készítmény magas fehérvérsejt tartalma (> 1 millió / egység)
  - ABO inkompatibilis trombocita transzfúzió
  - ép immunrendszer ( citotoxikus vagy immunszuppresszáns kezelés hiánya)
  - női nem (75%)
  - politranszfúzió





# HLA immunizáció megelőzése

- Donorok számának csökkentése?
- Készítmény fehérvérsejt tartalmának csökkentése?
- Hogyan? Filtráció vagy UVB besugárzás?
- TRAP tanulmány (Trial to Reduce Alloimmunization to Platelets) eredményei:
  - fehérvérsejtmentes készítmények, akár filtrált, akár UVB irradiált, csökkentették a HLA alloimmunizációt 46%-ról 17-18 %-ra,



# HLA alloimmunizáció megelőzése

Valamint csökkentették a trombocita refrakteritás előfordulását 18%-ról 8%-ra

- A donor expozíció számának mérséklése önmagában nem hozott szignifikáns csökkenést HLA alloimmunizáció vagy TR kialakulásában
- A donor expozíció számának mérséklése nem hozott további hasznot, tehát fehérvérsejtmentes poolozott készítmények az aferezis készítményekkel egyformán hatékonyak bizonyultak



# HLA alloimmunizáció

- Betegek kb 20%-a fehérvérsejtmentes készítmények transzfúziója esetén is immunizálódik, bár ezekben donor APC-k nincsenek jelen kellő számban
- Recipiens APC-k ismerik fel az alloantigént és aktiválják a recipiens CD4+ T sejteket
- az alloantigén kezdeti felismerésében recipiens NK sejtek is részt vesznek, melyek interferon gammát szekretálnak, aktiválják a CD4+ T sejteket



# HPA alloimmunizáció

- Incidencia: 2-11 %, leukoredukció nem befolyásolja
- Leggyakoribb specificitás (politranszfundált betegekben): anti-HPA-5b, -1b
- HPA-antitestek 70%-a infekciók alatt termelődik, gyakran csak átmenetileg
- Gyakori a HPA-autoantitestek egyidejű megjelenése is



# Immun refrakter betegek ellátási lehetőségei

## 1. HLA-"identikus" aferezis trombocita készítmény

- HLA-A és B antigénekre egyeztetett trombocita
- Jó korreláció az egyezés foka és a poszttranszfúziós inkrement között
- TaGvHD veszélye miatt irradiáció kötelező
- Magas fokú HLA-egyezés mellett még ABO inkompatibilis trombocita transzfúziója is jó inkrementet adhat



# Immun refrakter betegek ellátási lehetőségei

- HLA-egyeztetett aferezis trombocita
- Előnyök:
  - HLA antigénekre beteget és donort is csak 1x kell tipizálni - hematológiai betegek gyakran már tipizáltak
  - bizonyos HLA fenotípusok gyakoriak
- Hátrányok:
  - időigényes
  - tökéletes egyezés (mind a 4 allélre) ritka
  - legalább 3000 fős tipizált donor pool szükséges



# Immun refrakter betegek ellátási lehetőségei

## 2. Trombocita keresztpróba

- Jó pozitív és negatív predikciós érték
  - pozitív keresztpróba esetén gyenge inkrement 70-100%-ban
  - negatív keresztpróba esetén jó inkrement 80-92%-ban
- Radioaktív izotóppal jelzett trombocitákat használva
  - keresztpróba negatív thromb túlélése 3,5-8 nap
  - keresztpróba pozitív thromb túlélése 0,1-2,4 nap





# Immun refrakter betegek ellátási lehetőségei

- Trombocita keresztpróba
- Előnyei:
  - gyorsabb, olcsóbb, egyszerűbb (a teszt)
  - ritka HLA-fenotípusú recipiensek ellátása is megoldható
  - poolozott trombocitával is végezhető
- Hátrányai:
  - keresztpróba pozitivitás 100%-ot is elérheti
  - gyakran ajánlott elvégezni (alloantitest reaktivitás változékonysága miatt)



# Immun refrakter betegek ellátási lehetőségei

## 3. Antitest specificitás predikció

- HLA és HPA antitest azonosítása után a megfelelő HLA és HPA antigénre negatív aferezis trombocita biztosítása
- Előnye: több donor megfelelő
  - egy HPA-antitest esetén ez ajánlott
- Hátrányai:
  - időigényes, az antitest azonosítást időnként ismételni javasolt



# Egyéb terápiás lehetőségek TR esetén

- Antifibrinolitikumok (epszilo-aminokapronsav, tranexámsav) mint adjuváns terápia
- Egyedi közlések:
  - rekombináns aktivált VII faktor
  - nagy dózisú IvIg, cyclosporin A
  - trombociták citromsavas kezelése (pH=3)
  - masszív trombocita transzfúzió
  - alacsony dózisú „folyamatos” thrombocita adás



Köszönöm a figyelmet!

