



Likheter og forskjeller i immuniseringen ved Hemolytisk sykdom hos foster og nyfødte og Føtal/Neonatal Alloimmun Trombocytopeni

Femteårsoppgaven, Stadium IV
Stud.med. Kersti Elisabet Styren, MK'07

kst014@post.uit.no

Profesjonsstudiet i medisin
Det helsevitenskapelige fakultet, Universitetet i Tromsø
Tromsø, 2012

Veileder: Tor Brynjar Stuge, Immunologisk forskningsgruppe, IMB
tor.brynjar.stuge@uit.no

Nøkkelord: FNAIT, HDFN, alloimmunisering, antistoffmediert
immunsuppresjon

Innholdsfortegnelse

| | |
|---|----|
| Innholdsfortegnelse | 2 |
| Sammendrag..... | 3 |
| Introduksjon | 4 |
| Materiale og metode..... | 6 |
| Resultat..... | 7 |
| Alloimmunisering | 7 |
| Immunresponsen ved alloimmunisering | 8 |
| Placentas immunologi | 9 |
| FC-reseptoren og overføring av antistoffer mellom mor og barn | 11 |
| Føtal og neonatal alloimmun trombocytopeni..... | 12 |
| <i>Antigen assosiert med FNAIT</i> | 14 |
| <i>Immuniseringsmekanismer ved FNAIT</i> | 17 |
| <i>Immunrespons ved FNAIT</i> | 19 |
| <i>Behandlingsprinsipper- og strategier ved FNAIT</i> | 21 |
| Hemolytisk sykdom hos foster og nyfødte..... | 24 |
| <i>Antigen assosiert med HDFN</i> | 25 |
| <i>Immuniseringsmekanismer ved HDFN</i> | 27 |
| <i>Immunrespons ved HDFN</i> | 29 |
| <i>Behandlingsprinsipper- og strategier ved HDFN</i> | 31 |
| Likheter og forskjeller mellom HDFN og FNAIT | 33 |
| <i>Antigen</i> | 33 |
| <i>Immuniseringsmekanismene</i> | 34 |
| <i>Immunresponsen</i> | 37 |
| <i>Humane leukocyt antigen og assosiasjoner til HDFN og FNAIT</i> | 38 |
| <i>Behandlingsprinsippene</i> | 40 |
| <i>Den utløsende faktor for alloimmunisering</i> | 40 |
| Diskusjon..... | 42 |
| Tabeller | 45 |
| Figurer | 46 |
| Ordlister over forkortelser | 47 |
| English summary..... | 48 |
| Referanseliste | 50 |

Sammendrag

Bakgrunn

I studien foretas en grundig undersøkelse av likheter og forskjeller mellom hemolytisk sykdom hos foster og nyfødte (HDFN) og føtal/neonatal alloimmun trombocytopeni (FNAIT), spesielt med hensyn til immuniseringsmekanismer og antigen. Målet er å svare på om de immunresponser som resulterer i henholdsvis HDFN og FNAIT er mer like enn tidligere antatt, og om FNAIT kan forebygges med spesifikke antistoffer på samme måte som HDFN forebygges med anti-D antistoffer.

Materiale og metode

For å svare på problemstillingene gjennomføres en litteraturstudie som behandler artikler om de aktuelle sidene ved HDFN og FNAIT. Materialet til studien er funnet gjennom systematiske søk i medisinske databaser, herunder PubMed, Tidsskriftet for Den norske Legeforening, Medline og UpToDate.

Resultat og fortolkning

Ved HDFN og FNAIT utvikles en alloimmunrespons som følge av uforlikelighet mellom mors og fosters antigen på henholdsvis røde blodceller og blodplater. Uforlikelige antigen resulterer i en humoral immunrespons med produksjon av IgG-antistoffer. Antistoffene kan transporteres over placenta og gi destruksjon av fostercellene. Immunisering ved HDFN forekommer i forbindelse med føtomaternelle blødninger under fødselen. Immuniseringen ved FNAIT var tidligere antatt å skje i løpet av første uforlikelige svangerskap, men observasjoner tilsier at flertallet immuniseringer skjer i forbindelse med fødselen. Dette tyder på at immuniseringsmekanismene ved FNAIT og HDFN er mer lik enn tidligere antatt. En viktig forskjell mellom de to immuniseringsmekanismene er at RhD-antigen kun foreligger på de røde blodcellene, mens plateantigen finnes på en rekke vev utover blodplatene. Dermed kan en høyere andel immuniseringer i løpet av svangerskap ved FNAIT forklares av at det foreligger flere antigenkilder for FNAIT sammenliknet med HDFN. Det at immuniseringsmekanismene som ligger til grunn for HDFN og FNAIT er mer like enn tidligere antatt, spesielt med hensyn til immuniseringstidspunkt, gjør det sannsynlig at samme profylaksestrategi, med infusjon av spesifikke antistoffer, kan benyttes så vel ved FNAIT som HDFN.

Introduksjon

Hemolytisk sykdom hos foster og nyfødte (HDFN) og Føtal/Neonatal alloimmun trombocytopeni (FNAIT) er begge alloimmune tilstander som utvikles ved uforlikelighet mellom mor og foster under svangerskapet. Hemolytisk sykdom hos foster og nyfødte skyldes uforlikelighet mellom morens og fosterets røde blodcelleantigen. En immunisering fører til at det dannes antistoffer mot fosterets røde blodceller, disse ødelegges og fosteret utvikler anemistilstander av ulik alvorlighetsgrad. Ved føtal og neonatal alloimmun trombocytopeni vil en immunisering skje på grunn av uforlikelighet mellom morens og fosterets blodplateantigen. Det dannes antistoff mot fosterets blodplater med resulterende destruksjon av disse og utvikling av trombocytopeni. De fleste tilfeller av hemolytisk sykdom hos foster og nyfødte lar seg i dag effektivt forebygge og behandle gjennom injisering av anti-RhD antisera ved RhD uforlikelige svangerskap. Men det finnes per i dag ingen effektiv måte å forebygge eller behandle føtal og neonatal alloimmun trombocytopeni.

Tidligere trodde man at immuniseringsmekanismene ved de to alloimmune tilstandene var ulike, men i senere tid har det kommet frem opplysninger som tyder på at immuniseringen av kvinner ved HDFN og FNAIT er mer lik enn antatt. De nye opplysningene peker blant annet i retning av at de fleste mødrene immuniseres i forbindelse med fødselen ved begge tilstander, mens man tidligere trodde at immuniseringen som førte til FNAIT skjedde i løpet av det første uforlikelige svangerskapet.

Problemstillinger:

1. Er immunresponsene som resulterer i henholdsvis HDFN og FNAIT mer like enn tidligere antatt?
2. Kan FNAIT forebygges med spesifikke antistoff etter samme prinsipp som HDFN?

Målet med denne studien er å foreslå en hypotese for hvorfor immuniseringen finner sted når den gjør ved HDFN og FNAIT. Og ved hjelp av dette kunne svare på om de immunresponsene, som resulterer i henholdsvis HDFN og FNAIT, er mer like enn tidligere antatt og om dette er tilfellet, kan FNAIT således forebygges med spesifikke

antistoffer på prinsipielt samme måte som HDFN. Problemstillingene besvares gjennom en litteraturstudie hvor likheter og forskjeller mellom HDFN og FNAIT undersøkes grundig, spesielt med hensyn til immuniseringsmekanismer og antigen som virker ved de to tilstandene. En bedre forståelse av de mekanismene som ligger til grunn for FNAIT vil gi et bedre utgangspunkt for å optimalisere forebygging og behandling av tilstanden. For selv om forekomsten av FNAIT ikke er veldig høy, kan konsekvensene for de som rammes av denne tilstanden være katastrofale.

Materiale og metode

Målet for denne studien var å svare på om de immunresponsene som resulterer i henholdsvis HDFN og FNAIT er mer like enn tidligere antatt, og om FNAIT kan forebygges med spesifikke antistoffer på samme måte som HDFN i dag effektivt forebygges med anti-D antistoffer. En grundig undersøkelse av likheter og forskjeller mellom HDFN og FNAIT, med fokus på immuniseringsmekanismer og antigen, var nødvendig for å svare på problemstillingene.

Metodevalget falt på å gjennomføre en litteraturstudie som behandlet artikler om de aktuelle sidene ved HDFN og FNAIT. Materiale til studien ble funnet gjennom systematiske søk i ulike medisinske databaser som PubMed, Tidsskriftet for Den norske Legeforening, Medline og UpToDate. Søkene er begrenset ved bruk av stikkordene: "Neonatal alloimmune thrombocytopenia", "Hemolytic Disease of the newborn", "Alloimmunization", "Human Platelet Antigen" og "Placental immunology". Referanser i gjennomgåtte artikler, der det er funnet relevant informasjon i forhold til problemstillingene, har vært et viktig tillegg til stikkordsøkene. Etter å ha identifisert artiklene i referanselisten er de slått opp i Medline eller PubMed. I tillegg er det brukt så vel faglitteratur som reviewartikler og artikler med bakgrunn i kliniske eksperimenter som artikler fra randomiserte studier. Faglitteraturen er i stor grad brukt for å få en grunnleggende forståelse av de immuniseringsmekanismer og forhold som ligger til grunn for å utvikle en immunrespons. Artiklene har gitt et mer detaljert innblikk i de to alloimmune tilstandene og forholdene de virker under. Selv om enkelte artikler går helt tilbake til 1960-tallet, er flertallet av dem hentet fra det siste tiåret. Årsaken til dette er at det meste av forskningen omkring immunbiologi, immuniseringsmekanismer, antigen og andre relevante tema i forhold til problemstillingene er gjort i de senere år.

Både HDFN og FNAIT kan forårsakes av en rekke forskjellige antigen på henholdsvis røde blodceller og blodplater. Denne litteraturstudien fokuserer på immunisering mot de vanligste uforlikelige antigen. Dette gjelder immunisering mot RhD ved HDFN og HPA-1a ved FNAIT. Denne begrensingen er gjort både som følge av at det meste av forskningen rundt immuniseringsmekanismer er gjort ut fra de vanligste antigen og for å undersøke om prinsippene for den eksisterende profylaksen mot HDFN, som tar utgangspunkt i immunisering mot RhD-antigen, er aktuell også ved FNAIT.

Resultat

Under svangerskapet vil noe av mors antistoffer transporteres over placenta og gå inn i den føtale sirkulasjonen. Dette er en nødvendig mekanisme fordi de nyfødte barna kun har et primitivt immunforsvar ved fødsel og en tilføring av maternelle antistoffer i svangerskapet sikrer barnas overlevelse i perioden hvor deres immunsystem modnes. Men i noen få svangerskap vil noen av antistoffene som dannes i moren kunne angripe fosterets celler dersom det foreligger uforlikelighet mellom mor og barn. Dette er tilfellet når mødre immuniseres mot fosterets røde blodcelleantigen ved hemolytisk sykdom hos foster og nyfødte eller mot fosterets blodplateantigen ved føtal og neonatal alloimmun trombocytopeni.

Alloimmunisering

Allogenisitet forekommer når celler eller vev som tilhører samme art er genetisk forskjellige og således immunologisk uforlikelige. Et foster arver halve sitt genetiske materiale fra faren og halve sitt genetiske materiale fra moren. Allogenisitet er således en intrinsisk egenskap ved denne formen for reproduksjon. Uforlikelige svangerskap kan resultere i alloimmune tilstander hvor moren utvikler en immunrespons mot føtale celler som er nedarvet fra faren. Manifesteringen av slike tilstander avhenger av hvilke celler som er målet for morens antistoffer. Ett velkjent eksempel på slik alloimmunisering er immunrespons mot RhD-antigen på de røde blodcellene, som forårsaker hemolytisk sykdom hos foster og nyfødte. Et annet eksempel er uforlikelighet mot blodplateantigen, hvor antistoffer dannes mot de føtale blodplatene og forårsaker føtal og neonatal trombocytopeni.

Maternell alloimmunisering forekommer når en kvinnes immunsystem blir sensitivisert mot fremmede overflateantigen med resulterende produksjon av immunglobulin G antistoffer (IgG). Kjente årsaker til maternell sensitivering er blodtransfusjoner eller føtomaternelle blødninger assosiert med fødsel, traume, spontane eller induserte aborter, ektopiske svangerskap eller invasive prosedyrer. Noe av IgG-antistoffene som produseres vil krysse placenta under svangerskapet hos de sensitiverte kvinnene og dersom fosteret er positivt for de aktuelle overflateantigen kan dette gi IgG-mediert destruksjon av fosterets celler.(1)

Immunresponen ved alloimmunisering

Alloimmunisering forbundet med svangerskap aktiverer i hovedsak en immunrespons som ender i produksjon av antistoffer reaktive med føtale celler. Interaksjoner mellom de antigenspesifikke B- og T-cellene er sentrale i denne responsen. Immunresponen aktiveres gjennom en rekke hendelser som inkluderer antigenprosessering- og presentasjon, gjenkjenning av lymfocytter, og til slutt produksjon av reaktive antistoffer som leder til destruksjon og eliminering av føtale celler. De fleste fremmede antigen kan ikke kjennes igjen av T-celler i sin naturlige form. De må fanges og prosesseres av profesjonelle antigenpresenterende celler (APC). Disse cellene uttrykker MHC klasse II molekyler og aksessoriske kostimulerende molekyler. Når disse cellene møter fremmede antigen vil de internalisere disse ved fagocytose eller pinocytose, modifisere antigenstrukturen og presentere dem på celleoverflaten i assosiasjon med MHC klasse II. Gjenkjenningen av prosessert antigen fra spesialiserte T-celler (CD4) og deretter aktivering av disse cellene er en sentral hendelse i immunresponen. Ikke minst fordi T-cellene samordner en rekke celler og biologiske signaler som er nødvendig for immunresponen. T-cellene kan bare gjenkjenne antigen på APC når de er i assosiasjon med MHC- molekyler. Aktiveringen av T-cellene er utover dette avhengig av kostimulerende aksessoriske molekyler B7 og cytokinmiljøet. På samme måte som for T-cellene, er B-cellenes aktivering utløst av en antigengjenkjenning. BCR (overflate IgM) binder antigen og medierer endocytose av BCR-antigenkomplekset etterfulgt av antigenprosessering- og presentasjon av peptider på MHC klasse II for gjenkjenning fra antigenspesifikke T-celler. For at B-cellene skal kunne motta hjelp fra T-cellene må de uttrykke samme peptid MHC II-kompleks som de antigenpresenterende cellene som initialt aktiverte T-cellene. T-hjelpecellenes frigjøring av cytokiner og uttrykk av kostimulerende faktorer promoterer B-cellenes aktivering med proliferasjon og den terminale differensieringen til antistoffproduserende plasmaceller. Disse cellene vil produsere antistoffer med samme spesifisitet som BCR på den opprinnelige B-cellen. T-cellene modulerer den humorale immunresponen gjennom uttrykket av CD40-ligand. Ved binding til CD40-reseptoren på B-celleoverflaten induseres apoptose eller aktivering av immunglobulinsyntesen. Under påvirkning av T-celler forekommer også isotypebytte for B-cellene i kimsenteret, slik at det dannes antistoffer av ulik isotype. Kun de B-cellene som har høyest affinitet for antigen overlever og differensierer til hukommelses- og plasmaceller.(2)

Antistoffrespons er en sentral og viktig mekanisme i det humane immunsystem, men enkelte former for antistoffresponser kan være direkte skadelig. Utvikling av alloantistoffer mot alloantigen på de humane blodcellene eller blodplatene i svangerskapet er et eksempel på sistnevnte. Under svangerskapet er antistoffrespons et resultat av transplacental passasje av uforlikelige føtale celler. Dersom dette resulterer i immunisering vil IgG kunne krysse placenta i det pågående eller neste svangerskapet og mediere destruksjon av føtale celler. Forekomsten av maternelle antistoffer mot fosterets celler bestemmes av immunogenisiteten og frekvensen av det uforlikelige antigen som overføres.(3)

Placentas immunologi

Som referert av Kumpel og Manoussaka (2012) er kvinnene tolerante overfor sine semi-allogene foster under svangerskapet, til tross for at de har et intakt immunsystem med mulighet for produksjon av alloantistoffer. Oppbygningen, sammensetningen og utviklingen av placenta er mye av årsaken til at foster i stor grad unngår alloimmunisering på bakgrunn av uforlikelighet.(4)

Etter unnfangelsen vil den cellulære delingen av det fertiliserte egget danne en blastocyst. Denne består av en ytre overflate av trofoblastceller og en indre kjerne som utvikler seg til fosteret. Cytotrofoblastene (CT) vil ved kontakt med decidua i endometriet fusjonere og danne syncytiotrofoblaster (ST). Disse vil utvikle projeksjoner som eroderer gjennom at decidua fylles med blod og interstitiell væske. Tre uker etter unnfangelsen vil cytotrofoblastene proliferere og protrudere fra tuppen av chorionvilli og danne ekstravilløse trofoblaster (EVT). Under svangerskapet er det trofoblastene som danner interfase mellom fosteret og morens vev.(4) Disse cellene mangler de klassiske humane leukocytantigen (HLA/MHC) klasse I og II.(5) Lokal immunregulering, eller toleranse, medieres av HLA- G⁺ på de ekstravilløse trofoblastene. Dette er et ikke-klassisk HLA- klasse I molekyl som har en immunosupprimerende og svangerskaps-bevarende funksjon. HLA- G⁺ ekstravilløse trofoblaster invaderer vevet og hindrer destruksjon fra maternelle NK-celler, cytotoxiske T-celler og makrofager.(4)

De placentale hormonene står for sammensetningen og den regulerende funksjonen av de maternelle immuncellene. Syncytiotrofoblastene på overflaten av chorionvilli

vedlikeholder et miljø av mild maternell systemisk immunitet via aktivering av det medfødte immunsystem og forskyvning mot en humoral immunrespons.(4) Det er progesteron og hCG, hormoner syntetisert fra syncytiotrofoblastene, som forårsaker et skifte fra Th-1 immunitet (IL-2, IL-12, IL-15, interferon- γ ; cellemediert immunitet) til Th-2 immunitet (IL4, IL5, IL-6, IL-10, IL-13; humoral immunitet). Dette resulterer i et adekvat immunsystem med beskyttende antistoffrespons mot patogen hos mor samtidig som det besørger fosteret overlevelse.(4);(6)

Flere mekanismer som involverer forskjellige celler og molekyler i de deciduale vevene er sentrale for vedlikehold av den placentale funksjonen og overlevelse av den føtoplacentale enheten. For det første er maternelle NK-celler, CD8⁺ T-celler, makrofager og dendritiske celler påvirket av liggeringen med HLA klasse-I uttrykt på de ekstravilløse trofoblastene, spesielt HLA-G⁺. For det andre er lokalisasjonen og funksjonen av NK- celler, regulatoriske T-celler (T-regs) og dendritiske celler endret av de placentale hormonene.(4) Resultatet av disse to påvirkningene er følgende; uterine NK-celler nedreguleres, CD8⁺ - effektorcellene blir non-funksjonelle fordi produksjonen av cytotoksiske molekyler nedreguleres, de deciduale makrofagene uttrykker inhibitoriske reseptorer ILT2 og ILT4 som binder HLA-G⁺, dendrittene i decidua vil gjennom påvirkning av progesteron forbli umodne eller tolerante og utskiller immunregulerende cytokiner som promoterer regulatoriske T-celler og som driver T-celleresponsen mot en Th2-respons.(7);(8);(9);(10);(11) De fleste interaksjoner nedregulerer immunresponsen og promoterer toleranse ved å hindre degradering av allogene celler. Under det første trimesteret er dette helt nødvendig for placentas overlevelse og vevets remodellering.(4)

Kumpel og Manoussaka (2012) konkluderer i sin artikkel med at humant svangerskap er unikt i at det tillater vekst av et foster over svært polymorfe ulikheter i HLA, samtidig som verken det maternelle eller føtale immunsystemet er kompromittert. Placentas struktur og dets påvirkning på det maternelle immunsystemets celler driver disse forandringene. Men i noen få svangerskap vil gravide kvinner danne alloantistoffer mot uforlikelige alloantigen på røde blodceller, plater og leukocytter. Denne immunresponsen er initialt svak som følge av antistoffenes lave affinitet, men ved gjentatt reimmunisering fra føtomaternelle blødninger vil antistoffenes funksjonelle effektivitet øke og immunresponsen styrkes.(4)

FC-reseptoren og overføring av antistoffer mellom mor og barn

Under svangerskapet vil maternelt IgG transporteres over placenta til fosteret. Maternelt IgG er viktig i den passive immuniseringen av de nyfødte. Det sørger for at de nyfødte barna har et humoralt immunforsvar de første levemånedene slik at de beskyttes mot infeksjoner imens barnas eget immunsystem utvikles. Selv om overføring av maternelt IgG er nødvendig for passiv immunitet hos fosteret, kan maternelt IgG også forekomme som et resultat av isoimmunisering fra føtale røde blodceller, leukocytter eller plater og skade fosteret.(12)

Som referert av Simister (1997) inneholder placenta en rekke Fc- reseptorer og andre proteiner som binder immunglobuliner. En overveining av bindingsegenskaper og distribusjon av disse proteinene indikerer at det er den neonatale Fc-reseptoren som står for transport av IgG over syncytiotrofoblastene, samtidig som den spiller en viktig rolle i regulering av immunglobulinhemostasen.(12) Den neonatale Fc-reseptoren (FcRn) er en heterodimer bestående av $\beta 2$ -mikroglobulin og en transmembran α -kjede som er homolog med α -kjeden i major histocompatibility complex (MHC) klasse I.(13)

Det meste av IgG overføres under tredje trimester, hvor kun to placentale lag skiller moren og fostret fra hverandre; dvs. syncytiotrofoblastene og endotelet på fosterets blodceller. Under det første trimesteret overføres svært lite IgG mellom mor og foster, dette skyldes antagelig at cytotrofoblastene danner en barriremekanisme og hindrer en slik overføring.(14);(15) Allerede i 12 svangerskapsuke overføres små mengder IgG fra morens blodbane til fosteret.(16) IgG- konsentrasjonen i fosterserum øker raskt mellom uke 22 og uke 26 av svangerskapet.(14) Ved fødsel er nivåene av IgG3 og IgG4 tilsvarende maternelt nivå, mens nivåene av IgG1 er noe høyere, og nivåene av IgG2 noe lavere enn de maternelle.(17) Serumnivåene av IgG faller etter hvert som maternelt IgG kataboliseres og når sitt minimum ved 3-6 måneder etter fødselen.(18)

Overføringen av IgG til fosteret er helt avhengig av FcRn- reseptorens tilstedeværelse. Den sørger for overføring av alle typer IgG til fosteret, med omtrent samme affinitet for de ulike subklassene. FcRn- reseptorens sentrale rolle i overføringen av IgG tilsier at denne reseptoren er nødvendig for induksjon av HDFN og FNAIT.(12)

Binding av FcRn- reseptoren til IgG er pH-avhengig og forekommer i lett sure miljøer med et optimum på pH 6,0. FcRn har en beskyttende funksjon på IgG, hvor de immunglobulinene som ikke er bundet til reseptoren degraderes.(19) IgG overføres gjennom flere trinn. I første omgang vil maternell plasma med IgG gå inn i syncytiotrofoblastene på den apikale siden gjennom endocytose. Disse vakuolene vil bli surere til de når en pH på 6,0, hvor FcRn kan binde IgG gjennom hisidine residuer på CH2 og CH3- domenet av IgG. Deretter forekommer sortering av vakuolene hvor de som inneholder IgG-FcRn-komplekset transporteres over cellen, mens de vakuolene som mangler disse kompleksene merkes for degradering. IgM og IgA overføres ikke, fordi de mangler spesifikke reseptorer. Når vakuolene når basalmembranen av syncytiotrofoblastene vil endosomene fusjonere med plasmamembranen. Deretter skjer det en økning i pH som gjør at IgG dissosierer og frigjøres intakt til de føtale kapillærene.(4);(20)

Føtal og neonatal alloimmun trombocytopeni

Føtal og neonatal alloimmun trombocytopeni (FNAIT) er en sjelden, men potensielt alvorlig tilstand hvor fosteret utvikler trombocytopeni og risiko for blødning. FNAIT forekommer med en insidens på 1,0-1,5 tilfeller per 1000 fødte barn og er den vanligste årsaken til alvorlig trombocytopeni blant nyfødte.(21) Tilstanden skyldes uforlikelighet mellom moren og fosteret med hensyn til plateantigen. Humant plateantigen-1a (HPA-1a) er årsaken til alloimmunisering i 79 % av tilfellene. Immunisering foreligger også mot plateantigen HPA-5b, HPA-1b og HPA-3a, men disse formene for alloimmunisering er mer sjeldne og mindre alvorlige.(22) Humane plateantigen nedarves etter et kodominant autosomt mønster.(23)

FNAIT forekommer ofte tidlig i svangerskapet og er som regel alvorlig. Føtal og neonatal trombocytopeni er mest alvorlig i tilfeller med HPA-1a uforlikelighet, sammenliknet med uforlikelighet overfor andre plateantigen, og dersom eldre søsken har vært rammet av samme tilstand. Spesielt dersom FNAIT har resultert i intrakraniell blødning (ICH) hos disse barna.(24)

Den vanligste uforlikeligheten ved FNAIT skyldes en Leucin/Prolin-aminosyre polymorfisme i residue 33 av glykoprotein IIIa. Dette er et resultat av en forandring fra

cytosin til thymin i posisjon 196 av genet for plateglykoprotein IIIa.(25) Bærere av leucinaminosyren er definert som HPA-1a-positive, mens homozygote prolinbærere er definert som HPA-1a negative eller HPA-1bb. Den HPA-1a negative kvinnen kan bli immun mot HPA-1a under svangerskap eller ved en uforlikelig transfusjon. Anti- HPA-1a-IgG antistoffer kan forflytte seg over placentabarrieren og angripe fosterets uforlikelige blodplater slik at det utvikles trombocytopeni og blødningsrisiko på grunn av blodplatedestruksjonen. De kliniske symptomene ved tilstanden strekker seg fra asymptomatiske forhold til hudblødninger og symptomer på intrakranielle blødninger.(24)

Oppsummert utgjøres patogenesen ved FNAIT av tre komponenter: 1) Uforlikelighet mellom maternelle og føtale platespesifikke antigen, hvor antigenmismatchen er arvet fra far. 2) Alloimmunisering, hvor det utvikles en maternell humoral antistoffrespons spesifikk for de fremmede føtale plateantigen. 3) Platedestruksjon og trombocytopeni som følge av at maternelle anti-plate- IgG- alloantistoffer krysser placenta og binder seg til de føtale plateantigen.

Basert på genfrekvensen i populasjonen skulle FNAIT utvikle seg i 1/48 svangerskap (Norge), men forekomsten er mye lavere enn dette. Omkring 10 % av HPA-1a negative kvinner som har vært gravide med et HPA-1a positivt foster utvikler antistoffer mot dette antigenet.(26);(27) Den virkelige forekomsten kan delvis forklares av at alloimmuniseringen mot HPA-1a er assosiert med HLA-DRB3*0101- allelet, hvor 90 % av kvinnene med antistoffer er positive for dette allelet. Denne genetiske restriksjonen for immunrespons mot fremmede føtale plateantigen forklarer til en viss grad hvorfor svært få av de HPA-1a negative kvinnene utvikler alloantistoffer mot HPA-1a positive foster.(26);(27);(28);(29) Interessant er det også at fenotype HLA-DRB1*15 har vist seg å være beskyttende mot utvikling av FNAIT.(30) Senere forskning har vist at det er flere mekanismer enn de ovennevnte som spiller inn i immunresponsen.(31) Dette bekreftes av kunnskapen om at kun 35 % av HPA-1b homozygote kvinner med HLA-DRB3*0101 utvikler antistoffer.(27);(30)

Oppsummert kan man si at alvorlighetsgraden av trombocytopeni ved FNAIT avhenger av den destruktive kapasiteten til platereaktive antistoffer sammen med den funksjonelle kapasiteten til det føtale retikuloendoteliale systemet, som ødelegger de føtale

blodplatene, og muligheten for de føtale megakaryocyttene til å kompensere for det økte platetapet.(26)

Antigen assosiert med FNAIT

Blodplatene har en rekke antigen på overflaten, deriblant ABO, klasse I HLA og plate-spesifikke antigen.(32) Platespesifikke antigen er lokalisert til platemembranens glyko-proteiner og kalles derfor platespesifikke, selv om enkelte antigen også kan uttrykkes på andre vev.(26) Det er beskrevet 6 biallele systemer av trombocytantigen og 24 platespesifikke alloantigen som kan være mål for antistoff.(33) Ulikheter i disse glykoproteinene danner grunnlag for polymorfisme. De fleste HPA er lokalisert til hovedplatereseptor: Integrin α IIb β 3 (GPIIb/IIIa, fibrinogenreseptor), GP1b-IXV-komplekset (CD42, vWF-reseptor) og GP Ia/II-komplekset (CD29, kollagenreseptor).(34) β -kjeden kan også assosieres med α v-integrin og danne vitronectinreseptor (CD51/61), som uttrykkes på en rekke forskjellig vev.(35)

De platereaktive antistoffene danner FNAIT på bakgrunn av en immunrespons som involverer aktivering av både T-celler og B-celler, der begge aktiveringene er nødvendig for en fullverdig immunrespons.(36) I de fleste tilfeller av FNAIT vil platereaktive antistoffer binde seg til en allogen epitop lokalisert på integrin β 3, kjent som HPA-1a. Årsaken til uforlikelighet mellom mor og foster er en enkelt aminosyres forskjell lokalisert til residue 33. Leucin er den vanligste aminosyren i denne lokalisasjonen, og den er definert som HPA-1a, mens en variant med prolin i bindingsstedet er mindre vanlig og defineres som HPA-1b.(25);(27);(29) Kvinner som immuniseres med HPA-1a i forbindelse med svangerskap er homozygote for HPA-1b.

FNAIT forekommer som et resultat av transplacental overføring av antistoffer, hvor T-cellerresponsen virker å være sentral. Aktivering av T-celler er antagelig den bestemmende faktoren for om det dannes en immunrespons og FNAIT utvikles. T-cellegjenkjenningen er avhengig av spesielle MHC-molekyler, hvor de fleste HPA-1a immuniserte HPA-1bb kvinner bærer allelet HLA- DRB3*0101. Dette allelet utgjør sammen med HLA-DRA heterodimerisk MHC klasse II molekyll HLA- DR52a. Den sterke assosiasjonen mellom et spesifikt MHC-allel og produksjon av anti-HPA-1a

antistoffer tilsier at det er nødvendig med en HLA-DR52a begrenset T-cellerespons for å utvikle FNAIT.(27);(31)

En begrenset T-cellerespons er avhengig av at det foreligger et spesifikt peptid som passer i bindingssete for HLA-DR52a, danner et stabilt MHC-kompleks og gjenkjennes av HPA-1a spesifikke T-celler slik at produksjonen av plateraktive antistoffer forekommer. Dette spesifikke peptidet er et derivat av GPIIIa og inneholder et HPA-1a Leucin³³-residue. Med andre ord, det peptidderivatet som er ansvarlig for antigenforskjellen mellom mor og barn i et uforlikelig svangerskap. Leucin 33-residuen fungerer som et forankringspunkt til HLA-DR52a sammen med to andre forankringer, nemlig Tryptofan (Trp) i posisjon 25 og Aspartat (Asp) i posisjon 28.(37, 38) Leu³³ utgjør C-terminalens forankringspunkt i kjernen av bindingsregionen som omfatter aminosyrerekken β3 24-45 og det er helt nødvendig for T-celleresponsen at Leu/Pro-substitusjonen sitter i nettopp C-terminalen.(30);(38) Tilstedeværelse av Leu³³ i eller nær C-terminalen sørger nemlig for peptidbindinger til det begrensede HLA-molekylet.(30) Årsaken til at Prolin 33-residuen som foreligger ved HPA-1b, ikke kan fungere som et forandringspunkt i DR52a-molekylet skyldes at Prolin har polare egenskaper som ikke passer inn i et hydrofilt forankringspunkt.(38) Samtidig vil Leu³³ binde Asparagin (Asn)⁶⁹ gjennom hydrogenbindinger til sin α-NH-gruppe og dette er en egenskap som Prolin ikke har på grunn av at denne aminosyren mangler α-NH-gruppen. Utover dette foreligger det en sterisk konflikt mellom Pro³³ og Asn⁶⁹ i DRα som bidrar ytterligere til HPA-1b sin manglende evne til å binde i DR52a. Selve forankringen er ytterligere begrenset av tilstedeværelse av Arginin i posisjon 29, som binder til Leu³³, og fravær av saltbroer i DR52a, som ville hindret hydrogenbindinger mellom Glycin (Gly)³⁴ og Serine (23)³⁰.(38);(39);(40) (figur 1).

Predisponeringen for FNAIT ved HLA- DR52a forklares av følgende erstatninger fra HLA-DR52b og DR3; Asp¹¹ – Val, Val⁸⁶ – Gly, Ser¹¹ (Leu¹¹) – Arg. Tilstedeværelse av Valin (Val)⁸⁶ hindrer forankring med Tryptofan, mens den betydelig mindre aminosyren Gly sørger for nok plass for Trp i forankringspunktet. Arg¹¹ danner hydrogenbindinger til Asp²⁸ i gulvet av DR52a-gropen, en egenskap helt unik for DR52a, som sammen med tilstedeværelsen av Asp⁵³ er sentral for forankring til Asp og Leu.(39);(40)

Utover de spesifikke forankringspunktene er det flere faktorer som bidrar til restriksjon i T-celleresponsen. Det har vist seg at Arg⁷⁴, som finnes i DR3 og DR52a, er sentral for gjenkjenningen av HPA-1a epitopen fordi den koordinerer Asp i posisjon 28. Disse to aminosyrene er forbundet med hverandre gjennom hydrogenbindinger mellom Arg sin NH-gruppe og karboxylgruppen i Asp. Arg koordinerer også sidegruppen i Glutamin(Gln)⁷⁰, som gjennom hydrogenbinding fester til Glu i posisjon 29. Sammen utgjør disse tre sidegruppene et sentralt fokus for TCR-gjenkjenningen.(39);(40)

De ovenstående funnene tyder sammenlagt på at Leu³³ er basis for både T-celle og B-celle-responsen ved FNAIT gjennom T-cellerestriksjon. Siden HPA-1b peptidene binder seg dårlig til DR52a, så vil dette peptidet være usynlig for vertens T-celler i HPA-1bb. Dette på grunn av at T-cellene kun gjenkjenner peptider bundet til MHC. Det samme gjelder for selvreaktive celler. Disse kan bare fjernes fra T-cellerepertoaret dersom peptidet presenteres av MHC. Av disse funnene kan man forutsi at ikke bare Leu³³, men også selve C-terminalen med sine residuer vil gjenkjennes som fremmede i DR52a-positive HPA-1bb individer. En mulig effekt av denne Leu³³-medierte peptidforankringen er at et bredt spekter av HPA-1a-spesifikke T-celler kan fremkalles under affekterte svangerskap, og ikke bare som en direkte T-cellerespons mot Leu³³/Pro³³-substitusjonen. Derfor kan man spekulere i om styrken av immunresponsen ligger i bindingen mellom HPA-1a-peptidet og forankringspunktet Leu³³, og mindre i selve gjenkjenningen av Leu³³ som et allogent residue. Dette støttes av det faktum at Leu³³ ligger gjemt i bindingssetet på DR52a og er lite tilgjengelig for gjenkjenning.(36)

Selv om DR52a-begrensede HPA-1a spesifikke T-celler har den viktigste rollen i FNAIT, kan andre MHC-molekyl og T-celle-epitoper være involvert i den responsen som stimulerer anti-HPA-1a-antistoffproduksjon. I tillegg til HLA-DRB3*0101 har man funnet antydninger til at MHC-II klasse allel HLA-DQB1*0201 kan være assosiert til FNAIT. Men utstrekningen for dette allelets påvirkning ved FNAIT er ukjent. Flere funn tyder på at kombinasjonen av HLA- DRB3*0101 og HLA-DQB1*0201 er overrepresentert i HPA-1a immuniserte individer, sammenliknet med kontrollgrupper. Det finnes flere tolkninger på denne situasjonen; at tilstedeværelse av begge allel gir en synergisk effekt og øker sjansene for HPA-1a-immunisering, eller at assosiasjonen HLA-DQB1*0201 har til FNAIT er forårsaket av at dette allelet foreligger i en bindingslikevekt med HLA-DRB3*0101 i en vanlig HLA-DR-DQ-haplotype. En tredje

forklaring er at HLA- DQB1*0201 kan være forbundet med andre genelementer som fremmer immunrespons. Dette åpner muligheten for at de to allelene er knyttet til ulik T-cellerespons og således ulik MHC-restriksjon, som kan fungere enten parallelt eller synergisk.(30);(36);(41)

Immuniseringsmekanismer ved FNAIT

Det aktuelle glykoprotein IIIa som er involvert i uforlikelighet mellom mor og barn ved FNAIT er tilstede allerede fra gestasjonsuke 16.(42) Føtale antigen er fullt uttrykt så tidlig som i uke 16 av svangerskapet.(43) Allerede fra svangerskapsuke 14 kan maternelle IgG-alloantistoffer krysse placenta.(38) Dermed kan immuniseringen, og overføring av maternelle IgG-alloantistoffer, teoretisk sett skje i 16-20 svangerskapsuke. Forekomsten av antistoff er økende med gestasjonsalder, særlig fra andre trimester.(30); (43) Den regjerende teorien per dags dato er at immuniseringen mot HPA-1a forekommer under det første uforlikelige svangerskapet. Dog har flere observasjoner de siste årene antydnet at de fleste immuniseringene finner sted etter fødsel av et uforlikelig barn, og ikke under det første svangerskapet. En norsk screeningstudie vist nettopp slike oppsiktsvekkende resultat, hvor man fant at 60/1780 HPA-1a negative kvinner uten antistoffer direkte etter fødsel testet positivt for HPA-1a- antistoffer etter seks uker. Altså skjedde serokonverteringen i forbindelse med fødselen. I samme studie fant man at kun 13 av 171 kvinner med antistoffer var primiparae.(27) Dette kan tyde på at en stor del av immuniseringen faktisk forekommer i forbindelse med fødsel, og at antallet immuniseringer i løpet av første svangerskapet er lavere enn først antatt.(27);(31);(44) En mulig forklaring på den tidligere teorien om at immuniseringen ved FNAIT skjer under første svangerskap kan være, at selv om sjansen for å immuniseres under det første svangerskapet er liten, så er resultatet av en slik immunisering mer alvorlig enn når immuniseringen finner sted under fødselen. Derfor er dette blitt en naturlig forklaring i retrospektive studier som tar utgangspunkt i nyfødte barn med trombocytopeni og undersøker disse for antistoffer.(45)

Til tross for funn som tyder på at de fleste immuniseringene finner sted ved fødselen, er det fortsatt flere tilfeller med immunisering mot plateantigen under svangerskap enn mot røde blodcelleantigen. At det foreligger en respons hos opptil 30 % av alloimmuniserte mødre ved det første svangerskapet ved FNAIT, tyder på at

alloantigenet som stimulerer til immunrespons må utøve et svært potent primingstimuli.(39) Dette åpner for at det kan foreligge flere mekanismer for antigenpresentasjon enn plateoverføring ved føtomaternelle blødninger, og at flere vev kan være aktuelle for antigenpresentasjon. Til forskjell fra røde blodcelleantigen så vet man at HPA-1a-antigen uttrykkes på flere vev enn platen, og de er påvist distribuert og uttrykt på reseptormolekyler i celle-matrix-molekyler og celle-celleinteraksjoner på en rekke ulike celler.(46) Et foreslått eksempel på antigenkilde er villustrofoblastene, som er påvist å uttrykke integrin $\beta 3$, sete for HPA-1a.(47) Andre mekanismer for potente primingstimuli kan være platenes egenskap til selv å uttrykke CD40, og dermed kostimulere T-cellene direkte, og/eller at de rådende forhold under priming av T-cellene i svangerskapet kan forandre cytokinbalansen og dermed forklare Th1-responsen.(39)

Glykoproteinet som bærer HPA-1a polymorfismen er funnet å uttrykkes på syncytiotrofoblastenes ”brush border” (STMP). På syncytiotrofoblastene er GPIIIa assosiert med CD51. Den apikale siden av syncytiotrofoblastene bader i maternelt blod og gjennom naturlige degenerative prosesser i placenta vil disse komme over i maternelt blod.(47);(48) Syncytiotrofoblastene (ST) er nemlig et dynamisk cellulært vev som kontinuerlig remodelles. Kjernen i syncytiotrofoblastene overlever omtrent tre uker før de blir apoptotiske, degraderes og presses ut i den maternelle sirkulasjonen.(49) DNA som frigjøres fra de apoptotiske ST-kjernene er en kilde til fritt føtalt DNA som blant annet kan brukes til genotyping av RhD, HPA-1a og andre føtale gener.(50);(51) Debris fra syncytiotrofoblastene kan oppdages i den maternelle sirkulasjonen allerede fra uke syv i svangerskapet. Tilstedeværelsen av GPIIIa på sirkulerende syncytiotrofoblast i maternelt blod kan være en kilde for HPA-1a alloantigen og forårsake en primær immunrespons tidlig under det første uforlikelige svangerskapet hos primigravidae. Dersom STMP kommer over i maternelt blod vil de kunne komme i kontakt med lymfeknuter og milt, hvor de kan endocytoses av makrofager eller dendrittceller. Selve endocytosen er ikke-spesifikk.(4) Etter antigenprosessering blir peptidene presentert av MHC klasse II på dendrittoverflaten og kan komme i kontakt med CD4 T-celler. På grunn av den sterke HLA-DRB3*0101- restriksjonen tilknyttet HPA-1a antistoffresponsen vil peptidet GPIIIa være bundet til DRB3*0101-molekylene. På overflaten av dendrittcellene vil dette selektere spesifikke HPA-1a T-celler. Disse cellene må ha en T-cellereseptor som kjenner igjen komplekset av HPA-1a- peptider bundet til DRB3*0101. Dersom de HPA-1a spesifikke T-cellene mottar stimulering fra

dendrittcellene vil de bli aktivert, proliferere og migrere til B-celleområdene hvor de kan aktivere B-celler til antistoffrespons.(4);(28);(38);(39)

Immunrespons ved FNAIT

FNAIT kan føre til alvorlig trombocytopeni hos det nyfødte barnet, siden plateantigen dannes tidlig i svangerskapet, og kan krysse placenta allerede fra midten av svangerskapet.(24);(30);(43) Transporten av antistoffer mot plateantigen skjer via en spesifikk reseptor, FcRn, på syncytiotrofoblastene.(12) I fostersirkulasjonen binder antistoffene seg til antigen på fosterets blodplater hvor destruksjon av fosterets blodplater er resultatet. I alvorlige tilfeller av FNAIT kan destruksjonen være så utbredt at platetallet ikke er tilstrekkelig for normal koagulasjon, og fosteret er utsatt for blødning, der intrakraniell blødning er den mest fryktede komplikasjonen.(24) Trombocytopenien er forårsaket av at de antistoffdekkede blodplatene fra den føtale sirkulasjonen fjernes av det retikuloendoteliale systemet. Alvorlighetsgraden av trombocytopenien er avhengig av flere faktorer, som konsentrasjonen og subclassen av de maternelle IgG- alloantistoffene, tettheten av målantigen på fosterets plater, aktivitet av fagocytene, og beinmargens evne til å kompensere for den akselererte destruksjonen av blodplater.(23);(52)

Den initiale antistoffresponen dannet fra aktiverte B-celler er som regel en IgM-respons med høye additive egenskaper og agglutinerings, men med lav spesifisitet og affinitet. Dersom det foreligger reimmunisering med samme antigen vil denne immunresponsen modnes, og klasseskifte av immunglobuliner forekommer. Antistoffklasseskifte fra IgM til IgG forekommer ved seleksjon av C γ genene for IgG, som erstatter C μ spesifikt for IgM. Siden C γ 3 ligger før C γ 1 kan IgG3 konvertere til IgG1, men ikke omvendt. Gjennom somatiske hypermutasjoner vil affiniteten for antigenet øke. De fleste alloantistoffene mot røde blodceller og plater er av IgG1-type, enkelte ganger av IgG3 eller en kombinasjon av de to. IgG er det immunglobulinet som har flest effektorfunksjoner og det medierer adherens, fagocytose og lysis av IgG-dekkede celler via IgG Fc- reseptor på makrofagene. IgG er også det eneste antistoffet som kan krysse placenta.(4);(53);(54)

Maternell ABO feno-/genotype spiller en avgjørende rolle for alvorlighetsgraden av

trombocytopeni hos den nyfødte.(31) Risikoen for alvorlig FNAIT ved anti- HPA antistoffer korrelerer med maternell ABO- genotype. Fosteret har større sjans for å utvikle en alvorlig trombocytopeni dersom mor har blodgruppe A enn om hun har blodgruppe O. Forskjeller i alvorlighetsgrad av trombocytopeni mellom genetiske subgrupper av blodgruppe A, taler for at det kan være genetiske egenskaper relatert til maternell ABO som er involvert i denne forskjellen, heller enn ABO- fenotypen i seg selv. Den kromosomale regionen hvor ABO- genet er lokalisert inneholder en rekke loci som koder for regulerende gener forbundet med immunresponsen. Således kan assosiasjonen mellom ABO- type og alvorlighetsgrad av FNAIT være forårsaket av potensielle bindinger til en eller flere gener som koder for regulerende faktorer.(28)

Forskning har vist en korrelasjon mellom nivåene av anti-HPA-1a antistoff som produseres mot fosterets alloantigen under svangerskapet og alvorlighetsgraden av FNAIT. Nivåene anti-HPA-1a antistoff i morens plasma i siste trimester og ved fødsel korrelerer inverst med fosterets trombocytall. Nivåene av antistoff ved fødselen er signifikant høyere hos kvinner som får barn med alvorlig trombocytopeni enn hos de som får barn med moderat trombocytopeni eller normalt blodplatenivå.(31);(44)

I dag er det slik at de fleste tilfellene av FNAIT oppdages ved antistoffpåvisning som ledd i trombocytopeniutredning hos et nyfødt barn, hvor det er verdt å merke seg at nettopp trombocytopeni relatert til antistoff er de mest alvorlige. Påvisning av antistoffer mot trombocytter har betydning for behandling av det aktuelle barnet, spesielt med hensyn til forlikelige transfusjoner, samt for fremtidige svangerskap eller transfusjoner for mor.(55) Det har vist seg at risikoen for gjentagelse er større enn 75-90 % for familier som har fått et barn affektert med FNAIT. Dersom faren er heterozygot er gjentagelsesrisiko 50 %, men dersom far er homozygot, er gjentagelsesrisikoen 100 % i påfølgende svangerskap.(24) Samtidig er det slik at trombocytopeni som utvikles hos det neste barnet blir mer alvorlig enn hos den førstefødte, på samme måte som for HDFN.(56);(57) Det at alvorlighetsgraden av FNAIT er betydelig økt i det andre svangerskapet kan tyde på at FNAIT i det første svangerskapet er et resultat av en primær immunrespons, heller enn en hukommelsesrespons.

De fleste HPA-1a- spesifikke T-cellekloner isolert fra affiserte kvinner utskiller interferon- γ . Dette antyder at anti-HPA-1a-antistoffer dannes i forbindelse med en

inflammatorisk respons, nærmere bestemt en type 1 immunrespons. Dette skiller seg fra normale svangerskapsforhold hvor immunresponsen er av type 2 immunitet, mens svangerskapskomplikasjoner er assosiert med type 1 immunrespons.(39);(58)

Den adaptive immunresponsen bygger alltid på aktivering fra aksessoriske celler. Hva som utløser denne immunresponsen ved FNAIT er fortsatt ukjent. Aktiveringen av T-celler og produksjonen av antistoffer krever aktiverte APC. Ved FNAIT mangler man "fare"-signalet som utløser modningen av slike celler og presentasjon av de nødvendige kostimulerende faktorene for aktivering av T-celler og påfølgende immunrespons. Enkelte foreslår at svangerskapet i seg selv utgjør et slikt signal i det maternelle immunsystemet, men dette er omdiskutert. Relevant for immuniseringen er også den lave insidensen i den predisponerte populasjonen, som tilsier det en ennå ukjent genetisk faktor må disponere for immuniseringen mot HPA-1a.(36)

Behandlingsprinsipper- og strategier ved FNAIT

Diagnosen FNAIT stilles som regel klinisk, hvor det å utelukke andre årsaker til trombocytopeni er en viktig ekskluderende faktor. Diagnosen bekreftes ved påvisning av maternelle antistoffer mot paternale antigen. Kliniske kjennetegn assosiert til FNAIT er plateantall under $50 \times 10^9/L$, ICH hos et barn med høy Apgarscore og normal fødselsvekt, ICH in utero, petekkier eller ekkymoser hos et nyfødt barn og fravær av annen sykdom.(59);(60)

I dag består behandlingen av føtal og neonatal alloimmun trombocytopeni av maternell IVIg- og kortikosteroidbehandling, plateoverføring intrauterint eller postpartum og tidlig forløsning. Dessverre foreligger det ingen medisinskfaglig konsensus om behandlingsregime, men alvorlighetsgraden av trombocytopenien og eventuelle utfall av tidligere svangerskap er retningsgivende for når behandling startes, dosering og kombinasjon av behandlingsprinsipper.(26)

Ukentlig overføring av intravenøse immunglobuliner fra andre trimester, både i standarddoser (1g/kg) og i høydoser har vist seg å øke antallet blodplater hos fosteret og redusere forekomsten av ICH. Denne effekten tror man kommer av at gammaglobulinet virker undertrykkende på plateantistoffsytelsen, blokkerer overføringen av

plateantistoff over placenta, konkurrerer om binding til maternell plateantistoff og/eller forstyrrer fagocytosemediert immunclearance av retikuloendotelialsystemet.(23); (61);(62);(63);(64) Hos høyrisikomødre har IVIg i kombinasjon med prednison vist seg å gi et bedre behandlingsresultat sammenliknet med IVIg alene. Kortikosteroidene virker ved å undertrykke Fc-reseptorfunksjonen på makrofager gjennom å hindre feste og fagocytose av plate-antistoff-kompleks.(23) Ansamling av plater har tidligere vært viktig for diagnosen trombocytopeni, overvåkning av plateantallet og behandlingsrespons, dette er en metode man i senere tid har gått bort fra som følge av at risikoene har vist seg større enn fordelene.(65) Samtidig som studier viser at IVIg alene gir tilstrekkelig behandlingsresultat i de aller fleste tilfeller.(66) Dersom fosteret har plateverdier over $50 \times 10^9/L$ er vaginal fødsel akseptert som forløsningsmetode.(67) Planlagt keisersnitt foretrekkes dersom fosterets plateantall er under dette, ikke minst fordi personell og ressurser kan være tilgjengelige dersom fosteret er alvorlig påvirket. Foster med trombocytopeni behandles med IVIg (2mg/kg) og platetransfusjon dersom det foreligger alvorlig trombocytopeni eller blødning. Antigen-negative-plater eller gammastrålede og vaskede maternelle plater gir best respons i forhold til både økning av plateantall og varighet av behandlingseffekt. For nyfødte er terskel for transfusjon $35 \times 10^9/L$ (Norge). På grunn av risiko for ICH bør det også utføres kranial UL av disse barna.(27);(68);(69, 70)

Screening- og intervensjonsprogram for FNAIT har ved flere tilfeller blitt vurdert for å kunne identifisere alvorlig trombocytopeni i første svangerskap, men som følge av mangler i forhold til intervensjon og pålitelige parametere for å vurdere alvorlige tilfeller, har dette sine begrensninger.(27) På bakgrunn av dette har behandlingstilnærmingen ved FNAIT vært individbasert, heller en populasjonsbasert som ved HDFN.(59) I perioden 1995-2002 ble det utført et norsk screening- og intervensjonsprogram med henblikk på å redusere mortalitet og morbiditet av alvorlig alloimmun trombocytopeni.(27) I dette programmet ble HPA-1a negative kvinner screenet for anti- HPA-1a. Hos de immuniserte kvinnene ble keisersnitt utført 2- 4 uker før termin og plater fra HPA-1a negative donorer var tilgjengelig for umiddelbar transfusjon dersom fosteret hadde synlige petekkier eller plateverdier under $35 \times 10^9/L$. I denne studien valgte man å utføre keisersnitt før termin fordi man vurderte en vaginal fødsel som mer skadelig for fosteret, både med hensyn til økt risiko for alvorlige føtal blødninger og ICH. Samtidig vil en reduksjon av svangerskapslengden begrense

perioden hvor fosteret er utsatt for skadelige antistoffer fra moren og således redusere alvorlighetsgraden av trombocytopeni. En planlagt fødsel vil også gi blodbanken mulighet til å stille kompatible plater til rådighet. Dette studiet viste en signifikant reduksjon i mortalitet og morbiditet sammenliknet med historiske kontroller.(27) Utover dette har FNAIT i senere studier blitt vurdert opp mot WHO sine nye screeningkriterier, hvor man har konkludert med at tilstanden oppfyller disse screeningkriteriene.(31)

Kunnskapen om cellulær immunrespons ved FNAIT ligger til grunn for utviklingen av profylaktiske strategier. Hensikten med en slik tilnærming er å hindre immunisering mot platealloantigen ved å bruke den cellulære immunresponsen som mål for disse strategiene, siden denne responsen er årsaken til produksjonen av platereaktive alloantistoffer. Strategien bygger på utvikling av toleranse mot platereaktive lymfocytter. Egenskapene som bestemmer om et antigen initierer aktivering eller toleranse i T-celleresponsen er avhengig av antigenets egenskaper, tilstanden til de antigen-presenterende cellene og administrasjonsveien for antigenet.(36) Repeterende inntak av løselig antigen, enten subkutan eller oralt, kan indusere toleranse mot antigen. Toleransen kan være direkte ved klonal uttømming av T-cellene eller ved effektiv fjerning av disse fra immunsystemet, eller indirekte ved å aktivere regulatoriske T-celler som undertrykker T-celleresponsen mot antigen.(71) En slik behandlingsstrategi krever identifisering av T-celleepitopene ved FNAIT og tilgang på klonale HPA-1a spesifikke CD4-celler. Ved slike strategier manipuleres altså den humorale immunresponsen, som er avhengig av CD4-T-celleresponsen, for å hindre at det utvikles platereaktive alloantistoffer.(31);(36)

Det faktum at observasjoner tyder på at flertallet immuniseringer mot FNAIT forekommer i forbindelse med fødsel, og ikke under svangerskapet, sannsynliggjør at man kan redusere antallet immuniseringer med samme profylaktiske regime som ved HDFN. Dette innebærer at immunisering hindres ved antistoffmediert-immunsuppresjon (AMIS). For FNAIT betyr det passiv overføring av anti-HPA-1a antistoffer etter hendelser som er assosiert med økt risiko for føtomaternelle blødninger som abort, amniosentese og fødsel. En musemodell med henblikk på bruk av AMIS som metode for profylakse mot alvorlige komplikasjoner ved FNAIT, fant at en slik tilnærming kunne redusere mengden maternelle antistoffer opp mot 90 %. Metoden viste en doseavhengig økning i plateantall og signifikant forbedret utfall av svangerskap

ved profylaktisk administrasjon av plateantistoff. Resultat fra denne modellen indikerer også at den passive administrasjonen av anti- HPA-1a IgG har potensialet til å forhindre antistoffrespons mot flere platespesifikke antistoffer enn bare HPA-1a, og at den dermed ikke er begrenset til en epitop på $\beta 3$ integrin. Dette er viktig med tanke på at den vanligste årsaken til FNAIT hos asiater er HPA-4b antigenet, som også befinner seg på $\beta 3$ -integrintet, men i residue 143.(31);(36);(72)

Den neonatale Fc-reseptoren (FcRn) er foreslått som et potensielt behandlingsmål ved FNAIT. Denne reseptoren medierer transplacental IgG-transport fra moren til fosteret under svangerskapet. Nylig ble det demonstrert i musemodeller av FNAIT, at blokkering av denne reseptoren ved administrering av anti-FcRn antistoffer til moren øker fosterets plateantall. En ulempe med denne tilnærmingen er at denne reseptoren formidler IgG-avhengig immunitet mot infeksjoner hos fosteret. Blokkering av FcRn-reseptoren kan dermed øke risiko for neonatale infeksjoner.(45);(73)

[Hemolytisk sykdom hos foster og nyfødte](#)

Hemolytisk sykdom hos foster og nyfødte (HDFN) er en kompleks form for IgG-mediert celledestruksjon, som følge av at denne tilstanden involverer produksjon av antistoffer i et individ (moren) og celledestruksjon i et annet individ (fosteret). Alloimmun hemolytisk sykdom hos foster og nyfødte er en tilstand hvor de røde blodcellene hos fosteret eller det nyfødte barnet ødelegges av maternelt drevne alloantistoffer, og hvor fosteret står i fare for å utvikle anemistilstander, i verste fall hydrops fotalis og kjernikterus.(74) Innføring av screeningprogram og profylaktisk administrasjonen av anti-D i svangerskapsuke 28, 34 og innen 72 timer etter fødsel har redusert insidensen av HDFN på bakgrunn av RhD-uforlikelighet med 90 %, fra 17 % til 0,8-1,5 %.(75)

Ved hemolytisk sykdom hos foster og nyfødte vil antistoffene dannes av morens immunsystem som et direkte resultat av blodgruppeuforlikelighet mellom mor og barn. Den vanligste årsaken til immunrespons er en Rh(D) negativ mor som bærer et Rh(D) positivt barn. Til forskjell fra svært mange andre antigen er RhD- antigenet kun tilstede på de røde blodcellene. Dersom uforlikeligheten fører til hemolyse hos det nyfødte

barnet kalles tilstanden for hemolytisk sykdom hos nyfødte (HDFN). Forekommer den derimot hos et foster kan den også gå under navnet erythroblastosis fetalis.(76)

Immunmediert hemolyse kan være auto- eller alloimmun, fellesnevner for disse tilstandene er at de involverer enten IgG eller IgM antistoff mot antigen på de røde blodcellenes membran.(77) Den primære responsen er som regel fra IgM-antistoffer, som ikke krysser placenta, deretter vil man få en IgG-respons hvor antistoffene kan krysse over placenta og nå fosterets sirkulasjon.

Antigen assosiert med HDFN

Rhesus- blodgruppen er den vanligste årsaken til maternell alloimmunisering mot røde blodceller.(1);(78) Rh-blodgruppensystemet er det mest polymorfe av de humane blodgruppene og består av minst 45 uavhengige antigen, hvor D-antigenet er den vanligste årsaken til uforlikelighet.(19) Rh-blodgruppens antigen er assosiert med non-glykosylerte humane erythrocyttmembranproteiner og et glykoprotein. Rh- polypeptidene er en del av lipidfasen i membranen av de røde blodcellene, og kan interagere med ATPase, slik at de fungerer som en del av kation- eller protonpumpen som kontrollerer væske- og elektrolyttstrømmen over cellemembranen. Det humane Rh-lokuset er sammensatt av to relaterte gener RHD og RHCE. Disse koder hver for seg for D, Cc og Ee blodgruppens antigen. Genene som bestemmer antigen er arvet som to haplotyper bestående av tre alleler, der en haplotype arves fra hver forelder. For hvert Rh- antigen forligger det også en rekke ulike varianter.(74)

Rh- komplekset består av en assosiasjon mellom Rh- proteinfamilien og Rh- assosierende protein. Det er Rh- proteinene som bærer Rh- antigen, men disse uttrykkes bare på erythrocyttoverflaten dersom Rh- assosierende glykoprotein (RhAG) er tilstede. Rh- komplekset består således av en tetramer med to RhAG- molekyler og to RhCcEe eller RhD-proteinmolekyler som stabiliseres av både N-terminal- og C-terminalassosiasjoner. RhD- proteinet uttrykker D-antigen som en ansamling av epitoper på D-polypeptidet (79);(80, 81), mens RhCcEe- proteinet bærer enten C eller c antigen sammen med antigen for E eller e.(81) De første 41 aminosyrene i N-terminalen er like for RhCcEe og RhD, hvor sistnevnte varierer fra RhCcEe med kun 30-35 aminosyrer langs hele proteinrekken.(19);(82)

Rh-genets variasjoner er dannet på bakgrunn av gendelasjoner, genetiske rearrangeringer og punktmutasjoner i de to genene på Rh-loci. De generer på denne måten et stort repertoar av Rh-fenotyper. Man antar at det humane premordiale genet Dce gjennomgikk delasjoner, punktmutasjoner, genkonversjon og genetisk rekombinering og etter hvert utviklet seg til alle humane Rh-haplotyper.(83)

Forsøk rettet mot å identifisere alloreaktive epitoper viser at et eller flere av peptider på RhD-proteinet kan utløse en immunrespons. En respons som involverer multiple peptider virker stimulerende. Dette tyder på at det varierer mellom de alloimmune individene hvilke RhD-peptider som stimulerer T-celler til proliferasjon. Forskjellen i peptidprofil hos de ulike alloimmune individene kan være relatert til variasjoner i HLA-type og reflekterer både egenskapene bestemte klasse II-molekyler har til å binde og presentere hvert peptid, samt rollen MHC har i forhold til å forme T-cellerepertoaret. Peptidene 6 (RhD₅₂₋₆₆), 13 (RhD₉₇₋₁₁₁), 17 (RhD₁₁₇₋₁₃₁) og 28 (RhD₁₇₋₁₉₁) utmerker seg i det at disse fremkalte proliferasjonsrespons hos 50 % av alloimmune donorer.(84);(85) Disse fire peptidene har vist seg å innholde polymorfismer som er karakteristisk for RhD-proteinet. Utover dette fremkalte flere av RhD-peptidene en alloimmun respons, men hos tydelig færre av de alloimmune donorene. Disse peptidene viste seg å bære RhD-spesifikke residuer. Sekvensene som alloreaktive T-celler gjenkjenner er derivert både fra ekstracellulære og intracellulære looper samt domener som strekker seg gjennom membranen på Rh- proteinene. I samme forsøk ble det vist en sterk positiv korrelasjon mellom antallet slike stimulerende peptider og konsentrasjonen av anti-D antistoffer i serum hos donorene, men det er usikkert om dette resultatet er overførbart til alloimmune reaksjoner i svangerskap. Dette funnet ble tolket som at hastigheten av alloantistoffproduksjon bestemmes av nivået av hjelpeceller, som igjen er avhengig av hvor mange epitoper på RhD-proteinet som kan stimulere T-cellerepertoaret. Antagelig er relativ affinitet for RhD-peptidene for ulike HLA-molekyler en viktig faktor for denne variasjonen.(84)

Tilstedeværelsen av kun RhD- proteinet i membranen til de røde blodcellene karakteriserer RhD-positive fenotyper, mens de D-negative erytrocyttene mangler dette proteinet fullstendig. Derfor kan det dannes en immunreaksjon mot hele RhD-proteinet dersom immunisering med RhD- positive blodceller finner sted. Denne situasjonen er helt unik i blodgrupped polymorfismen. De fleste andre polymorfismer (f.eks C/c, E/e,

K/k) eksisterer motsatt av hverandre, og er i hovedsak forårsaket av punktmutasjoner i de respektive genene. Karakteristikken tilknyttet D+/D- polymorfismen er antagelig årsaken til at D-antigenet er så immunogent.(79);(86);(87)

Immuniseringsmekanismer ved HDFN

Komplekse genetiske faktorer påvirker individets mulighet til å respondere mot antigen på de røde blodcellene. Immuniseringen og dermed også alvorlighetsgraden av HDFN er dermed avhengig av en rekke faktorer.

Når de røde blodcellene fra fosteret lekker ut i sirkulasjonen vil de raskt dekkes av sirkulerende IgM og komplement, slik at de fjernes av det mononukleære fagocytosesystemet, hovedsakelig i leveren. En kritisk faktor for å vurdere graden av antistoffrespons er dosen av immuniserende antigen, altså volumet av RhD positive røde blodceller. Hemolytisk sykdom hos foster og nyfødte utvikles kun dersom RhD negative mødre opplever en signifikant transplacental blødning. Allerede etter 30-40 dagers svangerskap vil Rh(D)-antigen uttrykkes som en del av de røde blodcellenes membran og føtomaternelle blødning kan forekomme antenatalt så tidlig som seks uker inn i svangerskapet.(74) På grunn av at det føtoplacentale blodvolumet er omtrent 25, 100 og 400 ml ved henholdsvis 20, 30 og 40 svangerskapsuker vil tilfellene og volumet av føtomaternelle blødninger øke etter hvert som svangerskapet utvikler seg og dermed også sjansene for blodgruppeimmunisering.(4);(88);(89) En annen faktor som påvirker immunogenisiteten ved HDFN er antigenuttrykket på de røde blodcellene, hvor R2r fenotypen uttrykker mest D-antigen og dermed gir en mer effektiv sensitivering. Mottakers immunrespons er også av betydning, for eksempel kan enkelte mødre produsere anti- D allerede i det første svangerskapet og forårsake alvorlig hemolytisk sykdom.(74) Det har vist seg at dersom mor og foster er ABO- uforlikelige reduseres immunresponsen mot RhD- antigen. Risikoen for immunisering etter fødsel av det førstefødte barnet hos en RhD- negativ kvinne er 16 % dersom det RhD- positive fosteret er ABO- kompatibelt med moren, 2 % dersom mor og barn er inkompatible med hensyn på ABO, 2-5 % etter en abort.(90) Årsaken til dette er antagelig en redusert levetid på de røde blodcellene ved en ABO- uforlikelighet slik at immunsystemet får mindre mulighet til å gjenkjenne disse.(91)

Patogenesen ved HDFN bestemmes av en rekke faktorer som inkluderer henholdsvis; immunglobulinklasse, glycolysering og mengde av maternelle antistoffer, antall og tetthet av bindingssteder for antigen, struktur, utvikling og vevsdistribusjon av blodgruppeantigen, effektiviteten til transplacental overføring av IgG, funksjonell modning av fosterets milt, polymorfisme med hensyn på effektiviteten av Fc-reseptorens funksjon samt tilstedeværelse av HLA- relaterte inhiberende antistoffer.(91, 92);(93)

En viktig bestemmende faktor for immunresponsen generelt er produkter av major histocompatibility complex (MHC)- genene, spesielt HLA-DR genene. Tidligere trodde man ikke at produksjon av anti- D var så sterkt bundet til HLA- type. Dog har det i senere tid vist seg at HLA-DRB1*1501 allelet er signifikant overrepresentert (47,6 %) i RhD- negative donorer som produserer anti-D antistoff i respons til RhD- positive røde blodceller, og at HLA-DR er det begrensende lokus for T-celler spesifikke for Rh-proteinpitoper.(85);(84) Antistoffrespons knyttet til immunglobulin G er i de fleste tilfeller knyttet til T-hjelpeceller, produksjonen av antistoffer spesifikke for de røde blodcellene som anti-D, er intet unntak. T-hjelpeceller kjenner igjen korte antigenderiverte peptider som presenteres av spesialiserte antigenpresenterende celler. Der konteksten for en slik gjenkjenning er avgjørende for om en spesifikk immunrespons aktiveres eller tolereres. Antistoffresponsen mot de røde blodcellene involverer etter all sannsynlighet aktivering av antigenspesifikke B-celler. Disse er dannet av B-cellemediert ligering gjennom B-cellerreseptoren på B-celleoverflaten og interaksjoner mellom T-celler og B-celler spesifikke for røde blodceller.(94)

Subklassifisering av IgG er ikke noe som regelmessig utføres, men i tilfeller med HDFN er det viktig for å bestemme det kliniske resultatet av tilstanden. Antistoffer av typen IgG1 vil som regel krysse placenta på et tidlig stadium under svangerskapet, og mengden IgG1 i fosterserum er allerede opp i maternelle nivå ved 20 svangerskapsuke. Disse antistoffene er derfor ansvarlig for en større morbiditet før fødselen sammenliknet med IgG3-antistoffer som krysser placenta sent i svangerskapet. Disse antistoffene når ikke maternelle verdier før 28-32 svangerskapsuke, men er derimot mer hemolytisk effektive enn IgG1, slik at man får et mer alvorlig forløp med større celledestruksjon etter fødselen.(74, 90)

Immunrespons ved HDFN

Hemolytisk sykdom hos foster og nyfødte (HDFN) skyldes i de fleste tilfeller uforlikelighet mellom morens og fosterets Rhesustype, der mor er RhD- negativ og fosteret RhD- positiv. Den Rh-negative fenotypen representerer fravær av D-proteinet på de røde blodcellene og er som regel et resultat av manglende RhD- gener på begge kromosomene. Dette peptidet er svært immunogent, og kan forårsake signifikant antistoffrespons hos D-negative individer.(79);(86);(87) Immuniseringen forekommer når immunsystemet kommer i kontakt med et antigen for første gang.(95) Ved HDFN er dette når den RhD- negative moren utsettes for RhD- positive røde blodceller. Dette skjer gjennom asymptomatiske føtomaternelle blødninger under svangerskapet, i forbindelse med forløsning, ved abort eller ved manipulering av fosteret. Frekvensen og volumet av disse spontane føtomaternelle blødningene vil øke med økende svangerskapslengde og er således størst ved fødselen.(88);(89) Om det foreligger en immunisering avhenger av blødningens størrelse, frekvensen av føtomaternelle transfusjoner, og forlikelighet mellom morens og barnets ABO- blodgruppe. Både immunogenisiteten til de føtale røde blodcellene og den immunogene responskapasiteten til moren spiller en viktig rolle i patogenesen.(92);(95) Etter den initiale eksponeringen rekrutteres det kloner av B- og T-celler som kjenner igjen RBC-antigen. Det maternelle immunsystemet initierer produksjonen av antistoffer, i første omgang er disse av IgM- type, og denne formen for antistoffer kan ikke krysse placenta. Etter hvert som immunresponsen modnes dannes antistoffer i form av IgG, som kan transporteres over placenta. Når moren har blitt sensitivert for D-antigen vil hennes serum innholde anti-D.(90)

Når anti-D antistoffene har krysset placenta går de inn i den føtale sirkulasjonen og fester til RhD-antigen på de føtale røde blodcellene. Dette fører til at det dannes rosetter på makrofagene i det retikuloendoteliale systemet, spesielt i milten. Interaksjonen mellom makrofager og røde blodceller dekket av IgG skjer gjennom reseptorspesifisitet for Fc- delen av IgG.(74);(90) De antistoffdekkede røde blodcellene blir så lysert av lysosomale enzymer frigjort fra makrofager og NK- celler, eller så fagocytteres de hele. Destruksjon av antistoffdekkede røde blodceller fra det retikuloendoteliale systemet, og i enkelte tilfeller i form av en intravaskulær destruksjon, fører til utvikling av anemi. I tillegg til anemi kan også fosteret utvikle nøytropeni og trombocytopeni som følge av økt erytropoiese. Hastigheten av hemolysen bestemmer alvorlighetsgraden av HDFN,

denne kan inndeles i mild, moderat eller alvorlig. Den milde varianten tåles av fosteret og som regel er den ikke behandlingstrengende. Ved mer alvorlige tilstander vil hemolysen føre til opphopning av bilirubin i den umodne leveren, i verste tilfelle fører dette til utvikling av kjernikterus.(96) Hydrops fœtalis utvikler seg når fosterets Hb synker under 7g/l og er en tilstand karakterisert av væskeakkumulering og ødemdannelse i minst to av de fœtale rommene.(90)

De maternelle antistoffene som overføres transplacentalt kan være både naturlig forekommende antistoffer (anti- A, anti- B) eller så kan det være antistoffer som utvikles som følge av sensitivisering ved transfusjon eller svangerskap. Utover RhD-antigenet finnes det en rekke andre blodcelleantigen som kan føre til utvikling av hemolytisk sykdom med alloimmune antistoffer mot de røde blodcellene. Det er identifisert nesten 50 forskjellige overflateantigen på de røde blodcellene som kan disponere for hemolytisk sykdom. Disse antistoffene har kjemiske strukturerer som karbohydrater, proteiner, glykoproteiner eller sialoglykoproteiner. Utover Rhesus, så kan følgende andre antigen forårsake hemolytisk sykdom; Kell, Duffy, Kidd og MNS-systemet, men bare anti- RhD, anti-Rhc, anti-E og anti-Kell kan gi en alvorlig tilstand.(90);(97) Uforlikelighet mellom ABO- blodgrupper, hvor mor har blodtype O og barnet en annen blodtype, kan finne sted som følge av at morens serum har naturlig forekommende antistoffer i form av anti- A og anti- B. Denne tilstanden er sjelden siden antistoffene som dannes som regel er av IgM, og i de få tilfeller hvor det dannes IgG blir tilstanden som regel mindre alvorlig enn ved Rh-uforlikelighet. Årsaken til dette er at de fœtale røde blodcellene uttrykker mindre ABO- antigen enn voksne, og at disse antigen uttrykkes på en rekke andre organ enn blodceller, slik at sjansen for at antistoffene binder seg til målantigen er betydelig redusert. Det foreligger utover de nevnte en rekke antistoffer som i teorien kunne ha forårsaket signifikant hemolyse som følge av at de dannes mot en stor andel røde blodceller. Men de korresponderende antigen til disse antistoffene er dårlig utviklet under fosterlivet og ved fødselen, og kan dermed ikke forårsake en adekvat immunreaksjon. Årsaken kan være at det enten foreligger mangel på antigenbindende seter på de røde blodcellene eller manglende absorpsjon av fœtale antigen i placenta.(91) Så selv om de korresponderende antistoffene er av IgG-type og foreligger i høye titere, så vil antistoffene ikke feste til de røde blodcellene hos fosteret eller det nyfødte barnet når de krysser placenta, og utløser dermed ingen hemolysereaksjon. Dette gjelder for eksempel ved immunisering fra

blodgruppene Lu(B), Yt(a) og VEL.(76) Antigen for anti-erytrocytt IgG er vanligvis proteiner. Dette inkluderer viktige antigen som Rh-assosiert glykoprotein. I kontrast til dette er anti-erytrocytt IgM rettet mot polysakkarider, og inkluderer ABO og I-antigen som man finner på anion- og glukose- transporterprotein i cellemembranen hos de røde blodcellene. De aller fleste naturlige forekommende anti- A og anti- B antistoffer skaper ikke problem, fordi de er av IgM-typen. De kan således ikke transporteres over den føtoplacentale sirkulasjonen.(77)

Behandlingsprinsipper- og strategier ved HDFN

Ved RhD- immunisering er antigenet lokalisert til de røde blodcellene og transplacental overføring av maternelle anti-RhD antistoffer resulterer i hemolytisk sykdom hos foster og nyfødte. De kliniske manifestasjoner ved denne tilstanden strekker seg fra asymptomatisk mild anemi til hydrops føtalis og intrauterin død som følge av en økt destruksjon av de røde blodcellene.(74) Diagnostikken av HDFN baserer seg på tilstedeværelse av hyperbilirubinemi, positive maternelle antistoffer eller diagnosen anemi/hydrops føtalis, positiv neonatal direkte Coombs test og/eller hemolyse på blodfilm.(90)

T-celleadministrering av anti-RhD IgG antistoff til RhD-negative kvinner etter fødsel av RhD-positive barn ble innført for 40 år siden, og har sammen med tilhørende screeningprogram sørget for å redusere immuniseringsrisikoen med 90 %.(75) Den inhibitoriske effekten av IgG- antistoff på immunresponsen er kjent som antistoffmediert immunsuppresjon (AMIS). Selv om AMIS-effekten har blitt godt beskrevet foreligger det fortsatt usikkerhet rundt dets mekanismer.(3) Følgende hypoteser er foreslått som forklaring på AMIS virkningsmekanismer:

1. *"The antigen clearance theory"*: IgG fjerner antigen før det gjenkjennes av immunsystemet.(95)
2. *"The FcγRIIB-mediated B-cell inhibition theory"*: antigen-IgG-komplekset ligger både B-cellereseptoren og inhibitorisk FcγRIIB på B-cellene og inaktiverer antigen-spesifikke B-celler.
3. *"The epitope masking theory"*: antigenepitopen blokkeres av IgG slik at antigen-spesifikke B-celler ikke kan gjenkjenne antigenet.

I følge hypotesen om antigen clearance som årsak til anti-D effekt beskrives en mekanisme hvor IgG hindrer antistoffrespons ved å akselerere fagocytose og eliminering av røde blodceller fra sirkulasjonen gjennom det mononukleære fagocytosesystemet før antigen kan kjennes igjen av immunsystemet.(95) Denne prosessen kan skje ved at IgG- opsoniserte RBC interagerer med aktiverte IgG-reseptorer på effektorceller og signaliserer om fagocytose eller aktiverer komplement og påskynder eliminering av røde blodceller.(98);(99) Dyremodeller for AMIS gir liten støtte til denne teorien. Ikke bare har enkelte slike modeller vist antigen clearance uavhengig av anti-RBC IgG, men det viser seg også at AMIS- effekten er relatert til antallet IgG- molekyler på RBC- overflaten, heller enn IgG sin evne til å fikse komplement eller binde Fc γ R. IgG sin inhibitoriske effekt er også vist å være uavhengig av komplement. Sist, men ikke minst er det også blitt vist at Fc γ R-kjeden, nødvendig for Fc γ R-mediert fagocytose, ikke er nødvendig for AMIS- effekt.(100);(101)

Den andre hypotesen foreslår at AMIS- effekten forekommer ved at RBC og IgG danner et kompleks som kan levere negative signaler som inaktiverer antigen-spesifikke B-celler gjennom Fc γ RIIB. Dyremodeller for AMIS har dog vist at Fc γ RIIB ikke er nødvendig for AMIS- effekten.(102);(103);(104) Det er nå påvist en rekke FcR-likende molekyler som man spekulerer i om kan mediere B-aktivering istedenfor den klassiske Fc γ RIIB- veien.(105)

Den siste teorien knyttet til AMIS- effekten foreslår at IgG binder antigen og hindrer røde blodceller fra å kjenne igjen de korresponderende epitopene.(106) I ettertid har det visst seg at mengden IgG som hindrer antistoffrespons ikke saturer alle epitoper.(107) I tillegg har forsøk vist at både røde blodceller og IgG- opsoniserte RBC interagerer med B-celler og setter i gang en tidlig B- celleaktivering.(94)

Disse funnene gjør at man nå spekulerer i om IgG forandrer antigenprosesseringen og presentasjonen med det resultat at aktiviteten til T-hjelpecellene og B-cellene reduseres, slik at den humorale immunresponsen mot antigenet minker. På denne måten kan IgG hindre eller forsterke presentasjonen av spesifikke peptider og proliferasjonen av epitopespesifikke T- celler. I tillegg til dette kan IgG internalisert sammen med antigenet presenteres for T- celler og rekruttere IgG- spesifikke regulatoriske T- celler

som har mulighet til å nedregulere antistoffproduksjonen hos B- cellene.(3, 94, 108);(109)

Likheter og forskjeller mellom HDFN og FNAIT

Hemolytisk sykdom hos foster og nyfødte (HDFN) og føtal/neonatal alloimmun trombocytopeni (FNAIT) er begge alloimmune tilstander som skyldes uforlikelighet mellom moren og fosteret. Alloimmune tilstander hos fosteret dannes som følge av at fosteret har arvet halvparten av sitt genetiske materiale fra faren. Når morens immunsystem kommer i kontakt med antigen på fosterets uforlikelige celler under svangerskapet vil det dannes en immunrespons med spesifikke antistoffer mot disse cellene. Dette fører til destruksjon av de aktuelle fostercellene hvor manifesteringen av slike tilstander avhenger av hvilke celler som er målet for morens antistoffer.

Hemolytisk sykdom hos foster og nyfødte og føtal/neonatal alloimmun trombocytopeni er de vanligste alloimmuniseringstilstandene under svangerskap, hvor den ene skyldes immunisering mot røde blodceller og den andre immunisering mot blodplater. Det foreligger en rekke likheter og forskjeller mellom de to alloimmune tilstandene, både med hensyn på antigen, immuniseringsmekanismer og immunrespons. ^(Tabell 1)

Antigen

Ved både HDFN og FNAIT presenterer fosteret uforlikelige antigen på henholdsvis røde blodceller og blodplater som utløser en immunrespons og IgG-antistoffproduksjon hos mor. Strukturen av de røde blodcellenes og blodplatenes antigen er svært forskjellig. HPA-antigen på platen er et resultat av en aminosyres forskjell. Der uforlikeligheten ved FNAIT i de fleste tilfeller skyldes en Leu/Pro-aminosyre polymorfisme i glykoprotein IIIa, hvor bærere av prolinaminsyren kan danne en immunrespons mot leucinbærere.(25) Forskjellen ved Rhesus-uforlikelighet omfatter et helt proteinkompleks. Der Rhesus- negative mangler hele RhD-proteinet, har RhD-positive dette proteinet intakt, men det kan variere i sammensetningen av E/e og C/c. (79);(86);(87)

Årsaken til at det dannes alloimmunrespons mot ulike blodkomponentene er kontakt med uforlikelige celler under svangerskapet. De vanligste årsakene til slik kontakt er transfusjoner eller føtomaternelle blødninger. Omtrent 79 % av tilfellene med FNAIT

skyldes antistoffer mot humant blodplateantigen (HPA)-1a. Disse antistoffene dannes sjeldent etter transfusjoner. Derimot dannes anti-HPA-5a og anti-HPA-1b, som er den andre og tredje vanligste årsaken til FNAIT, ved transfusjoner.(22) I kontrast til dette står produksjon av anti-D, som er den vanligste årsaken til antistoffer mot røde blodceller. Disse antistoffene dannes både som følge av uforlikelige svangerskap og ved transfusjoner.(76) Således virker det som om anti-HPA-1a- responsen er unik i det at svangerskap er essensiell for dets induksjon, en situasjon som ikke foreligger for RhD-antigenet ved HDFN.(4)

Immuniseringsmekanismene

Immuniseringen forekommer når immunsystemet kommer i kontakt med et antigen for første gang. Ved både HDFN og FNAIT foreligger det en rekke faktorer som påvirker immunisering og ikke minst hvor alvorlig tilstanden blir. Enkelte av disse faktorene er like for de to tilstandene, som volumet antigen morens immunsystem kommer i kontakt med, mens andre er spesifikke for den ene tilstanden, som HLA- DRB3*0101- restriksjon ved FNAIT.

Selv om både blodplatene og de røde blodcellene har flere antigen på overflaten av sine celler så foreligger det ikke immunisering mot alle antigenuforlikeligheter. Dette skyldes i stor grad immunogene egenskaper hos antigen, hvor enkelte antigen har større egenskap til å utløse immunrespons enn andre. RhD- blodgruppen er det mest immunogene antigenet på de røde blodcellene. Dette skyldes den unike tilstanden hvor immunresponsen dannes mot et helt protein og ikke en alleldifferanse som ved K/k eller E/e uforlikelighet.(79);(86);(87) Ved FNAIT kan overvekten av HPA-1a- immunisering skyldes at dette alloantigenet uttrykkes med svært mange bindingssteder på platene. Man regner med at omtrent 40 000 HPA-1a alloantigen presenteres per plate fra HPA-1a homozygote til forskjell fra 2000 bindingssteder hos homozygote HPA-5a.(110);(111)

Ved HDFN forekommer immuniseringen når den RhD- negative moren utsettes for RhD- positive røde blodceller. Siden RhD- antigen kun finnes på de røde blodcellene er det sannsynlig at moren blir immunisert ved føtalt utslipp av røde blodceller. Dette skjer gjennom asymptomatiske føtomaternelle blødninger under svangerskapet, altså i

forbindelse med forløsningen, ved abort eller ved manipulering av fosteret. Siden det kreves en viss frekvens og størrelse på dette utslippet, er de aller fleste tilfellene assosiert til fødselen.(88);(89) Observasjoner i de senere år tyder på at de fleste tilfeller av immunisering mot HPA- 1a også skjer i forbindelse med fødselen, hvor blodplater fra fosteret frigjøres til maternell sirkulasjon. Men ved FNAIT ser man at 25-30 % eller færre av immuniseringstilfellene finner sted under det første svangerskapet.(27);(39) Per dags dato er man ikke sikker på hvilke føtale vev utover platen som forårsaker immuniseringen eller om det foreligger flere kilder til antigen som kan forårsake de overnevnte tilfellene. Men man vet at HPA-1a uttrykkes på reseptormolekyler i cellematrix-molekyler og celle-celleinteraksjoner på en rekke ulike celler, i motsetning til RhD som kun uttrykkes på blodcellene.(46) Integrin β 3, epitop for HLA-1a, uttrykkes av forskjellige celler som kan komme i kontakt med det maternelle immunsystemet, og man spekulerer i om flere av disse cellene kan være en årsak til immunisering under det første svangerskapet. Et foreslått vev for immunisering som er tilstede allerede tidlig i svangerskapet er trofoblastene. Både cytotrofoblastene og syncytiotrofoblastene mangler HLA- klasse I, mens ekstravilløse trofoblaster uttrykker HLA-G.(4);(48) Trofoblastene finnes allerede fra den føtomaternelle interfasen, og er kjent for å overføres til den maternelle sirkulasjonen under svangerskapet. Dermed kan trofoblastene være en kilde for HPA-1a under svangerskapet hos HPA-1bb kvinner, uavhengig av om det forekommer en overføring av antigen ved føtomaternell blødning. Det finnes nemlig tre måter føtalt materiale kan komme over i den maternelle sirkulasjonen; gjennom føtomaternelle blødninger, etter skade på chorion vili og ved placentalt DNA eller ST-debris. Sistnevnte finner sted allerede fra syvende svangerskapsuke og i økende mengde ettersom placenta vokser utover i svangerskapet.(4, 47)

Omtrent 1 ml eller mindre volum av røde blodceller kreves for å stimulere en anti-D utvikling. De små volumene røde blodceller som går over i morens sirkulasjon under svangerskapet er en viktig årsak til de få tilfellene av HDFN under første svangerskap (<1 %).(4);(112) Det faktum at forekomsten av HPA-1a alloimmuniseringer i det første svangerskapet hos HPA-1a negative kvinner er mye høyere (4-24 %), når andelen føtale plater som kommer i kontakt med det maternelle immunsystemet er lavt, kan tyde på at dette antigenet har en høyere immunogenisitet under svangerskapet enn det de røde blodcellenes antigen har.(29);(37, 44);(113) Hos gravide kvinner foreligger det en

kompleks kombinasjon av aktivering i det systemiske immunsystemet og en forskyvning mot Th2- immunrespons. Den lave inflammatoriske immunitilstanden kombinert med en oppregulering av den humorale immunresponsen kan forklare at det skjer en antistoffresponsen selv mot små volum av allogene føtale celler.(4)

Det aktuelle glykoproteinet som er involvert i plateuforlikelighet er tilstede allerede fra svangerskapsuke 16 og de føtale antigen er fullt uttrykt i uke 18. Siden maternelle IgG kan transporteres over placenta fra uke 14, så er det fullt mulig for IgG-alloantistoffer mot HPA-1a å foreligge allerede fra svangerskapsuke 16.(30);(38);(42);(43) RhD-antigenet som forårsaker de fleste tilfellene av HDFN er tilstede på de røde blodcellenes membran fra 30 svangerskapsdag. For at det skal skje en immunisering må disse cellene komme i kontakt med morens immunsystem og ved HDFN skjer dette ved føtomaternelle blødninger. Slike blødninger kan inntreffe allerede fra sjette svangerskapsuke.(74) For at de føtomaternelle blødningen skal forårsake en immunisering må det foreligge en signifikant mengde med antigen som presenteres for moren immunsystem. Siden både frekvensen og volumet av de føtomaternelle blødningene øker utover svangerskapet, vil også forekomsten av alloimmunisering øke etter hvert som svangerskapet utvikler seg. (88);(89) Om antigenet utløser en immuniseringsrespons hos moren er utover dette avhengig av immunogenisiteten til de uforlikelige cellene og den immunogene responskapasiteten hos moren.(92);(95)

Ved både HDFN og FNAIT foreligger det en rekke faktorer som påvirker immunresponsen. Ved FNAIT begrenses forekomsten av alloimmuniseringen ved HLA-DRB3*0101-restriksjon.(26);(29);(58) Dette allelet utgjør sammen med HLA- DRA allelet, MHC II molekylet; HLA- DR52a.(27);(31) Sistnevnte er nødvendig for at det skal utløses en T-cellerrespons mot HPA-1a ved uforlikelighet. Årsaken til dette er at HPA-1a Leu 33 passer i bindingssetet på HPA- DR52a og danner et stabilt peptid MHC II-kompleks som kan kjennes igjen av HPA-1a- spesifikke T-celler, aktivere disse og initierer antistoffproduksjon.(31) Man har funnet at T-cellerresponsen mot RhD-peptider er sterkere bundet til HLA enn først antatt. HLA-DRB1*1501 allelet er signifikant overrepresentert i RhD- negative donorer som produserer anti-D antistoff i respons til RhD- positive røde blodceller, og at HLA-DR er et begrensende lokus for T-celler spesifikke for Rh- lokuset.(84);(85)

Immunresponsen

Ved både HDFN og FNAIT er resultatet av immuniseringen en aktivering av en humoral immunrespons hos mor. Når føtale antigen kommer i kontakt med morens immunsystem dannes det spesifikke antistoffer mot disse. Antistoffene er i første omgang av IgM-type, men vil omdannes til IgG dersom det forekommer reimmunisering og immunforsvarets respons mot antigen modnes. Når antistoffene har blitt omdannet til IgG kan de transporteres over placenta, en egenskap som IgM-antistoffer ikke har. IgG vil i fostersirkulasjonen feste til cellene som uttrykker tilsvarende antigen og merke disse for destruksjon slik at de fjernes av det retikuloendoteliale systemet. Alvorlighetsgraden av de to tilstandene er i stor grad avhengig av subklassen av maternelle IgG- alloantistoff, tettheten av målantigen på fosterets celler, aktivitet av fagocytene og beinmargens evne til å kompensere for den akselererte destruksjonen av fosterceller.(23);(52) IgG som resultat av alloimmunisering er det immunglobulinet som har flest effektor- funksjoner. Det medierer adhesjon, fagocytose og lysis av IgG-dekkede celler via IgG Fc- reseptor på makrofagene. IgG er også det eneste antistoffet som kan krysse placenta, en egenskap som er helt avgjørende for at en alloimmun tilstand skal kunne utvikles. De fleste alloantistoffene mot røde blodceller og blodplater er IgG1, enkelte ganger IgG3 eller en kombinasjon av de to. (4);(53);(54) Antistoffer av typen IgG1 vil som regel krysse placenta på et tidlig stadium under svangerskapet og mengden IgG1 i fosterserum er allerede opp i maternelle nivå ved 20 svangerskapsuke, således er disse antigen ansvarlig for en større morbiditet før fødselen sammenliknet med IgG3-antistoffer som krysser placenta sent i svangerskapet, men som til gjengjeld er mer effektive etter fødselen.(74, 90)

På samme måte som ved hemolytisk sykdom hos foster og nyfødte vil alloimmun trombocytopeni bli verre i de påfølgende svangerskapene.(24);(56);(24, 57) For begge tilstander skyldes dette antagelig at den første immuniseringen kun gir en primær immunrespons, mens ved reimmunisering foreligger det en sekundær immunrespons hvor det har blitt utviklet hukommelsesceller mot det aktuelle antigenet. Dette gir en hurtigere og mer effektiv immunrespons med tilsvarende mer alvorlige konsekvenser for fosteret. Ikke minst fordi immunresponsen kan utløses allerede tidlig i svangerskapet siden de maternelle antistoffene allerede finnes i morens serum.

Ved både HDFN og FNAIT har det vist seg at morens ABO- fenotype og genotype spiller en viktig rolle for immunresponsen. Dersom moren og barnet er uforlikelige med hensyn på ABO- genotype ved HDFN vil immuniseringen av de røde blodcellene være redusert, antagelig på grunn av redusert levetid for de røde blodcellene, og HDFN får et mildere forløp.(90);(91) Ved FNAIT vil fosteret ha større sjanse for å utvikle en alvorlig trombocytopeni dersom mor har blodgruppe A enn om hun har blodgruppe O. Ved denne tilstanden tror man assosiasjonen mellom ABO- type og alvorlighetsgrad kan være forårsaket av potensielle bindinger til en eller flere gener som koder for regulerende faktorer for immunresponsen.(28)

Ved begge alloimmuniseringstilstandene er det påvist en korrelasjon mellom antistoffnivå og alvorlighetsgraden av fosteraffeksjon. Ved anti-HPA-1a- alloimmunisering vil nivåene av antistoff i morens plasma i siste trimester og ved fødsel korrelere inverst med fosterets trombocytall.(44) Nivåene av anti-D er ingen eksakt prediktor for alvorlighetsgraden av HDFN, men brukes retningsgivende for å anslå graden av anemi, der alvorlighetsgraden øker med andelen antistoff. Ved HDFN vil også immunrespons mot flere RhD-epitoper gi produksjon av mer antistoff og et mer alvorlig sykdomsforløp.(84)

Humane leukocyt antigen og assosiasjoner til HDFN og FNAIT

Human leukocyt antigen (HLA) er navnet på major histocompatibility complex hos mennesker. Superlokuset er lokalisert til kromosom 6 og inneholder en rekke gener relatert til menneskenes immunforsvar, deriblant celleoverflate antigenpresenterende proteiner. HLA- A, -B og -C tilsvarer MHC klasse I som presenterer peptider fra innsiden av cellen. Peptidene som presenteres av denne HLA- gruppen trekker til seg cytotoxiske T-celler. HLA -DP, -DM, -DQ og -DR tilsvarer MHC klasse II og presenterer peptider fra utsiden av cellen. Peptidene som presenteres av denne HLA- gruppen stimulerer T-hjelpeceller, som er nødvendig for aktivering av antistoffproduserende B-celler. Det foreligger stor genetisk diversitet mellom individer i den humane populasjonen med hensyn på HLA- molekylene, en egenskap som har vist seg å ha betydning både ved HDFN og FNAIT.(114) Man regner med at det foreligger produksjon av anti-HLA hos moren mot paternale HLA i 7-39 % av svangerskap.(46);(115)

Selv om HLA- antistoffer er relativt vanlig i svangerskap er det svært sjeldent at disse antistoffene forårsaker alloimmune tilstander hos fosteret. En rekke teorier har blitt foreslått for å forklare dette; differensial plateabsorpsjon, redusert HLA- uttrykk på neonatale celler eller binding av alloantistoffer til føtale makrofager som resulterer i inhibering av føtal celledestruksjon.(46);(116) Interessant er det også at HLA- allogenkjennning mellom moren og det semiallogene fosteret virker å være viktig for et vellykket svangerskap, samtidig som en mismatch mellom mor og foster med hensyn på HLA øker den placentale funksjonen og virker gunstig på svangerskapet.(4);(117)

HLA utgjør sammen med ABO- blodgruppesystemet og platespesifikke antigen tre klinisk relevante platealloantigen som kan forårsake FNAIT.(118);(119) Det er beskrevet tilfeller av anti-HLA alloantistoffer ved FNAIT i fravær av HPA-antistoffer. Disse antistoffene er spesifikke for klasse I HLA og uttrykt på plateoverflaten.(46); (119) Siden både plater og nøytrofile uttrykker HLA er det derfor mulig at HLA- antistoffer forårsaker både alloimmune trombocytopeni og nøytropeni. Slike tilfeller er karakterisert av manglende forekomst av anemi, siden modne erytrocytter ikke presenterer HLA på overflaten.

Milde tilfeller av hemolytisk sykdom hos foster og nyfødte forårsaket av RhD- blodgruppens antistoffer er assosiert til maternelle HLA- alloantistoffer som reagerer med humant leukocyt antigen (HLA) hos barnet.(120) Det er påvist en assosiasjon mellom høyre tittle av anti- HLA klasse- I alloantistoffer og milde tilfeller av HDFN, således er antistoffer mot HLA-A,-B, og -C foreslått å virke beskyttende mot alvorlig HDFN.(121)

Anti- HLA-antistoffene inhiberer Fc γ R-reseptor I, II og kanskje III.(122);(123) Denne inhiberingen er sterk, ved høye konsentrasjoner fullstendig. Inhiberingen forekommer gjennom bipolare bindinger til anti- HLA-antistoffene.(124) Disse funnene har resultert i en hypotese om at slik inhibering av effektorcellene på neonater eller placenta induisert av maternelle antistoffer kan beskytte barnet mot alvorlig HDFN. Årsaken til dette er at erytrocytter sensitivert for maternelle IgG antistoffer ikke lenger kan binde til Fc γ R- i effektorceller på grunn av blokkert effekt fra HLA- antistoffene. (120);(125) På denne måten forhindres blodcellenes destruksjon. Fc γ R- reseptorblokkaden er vist å være sterkest når de røde blodcellene og HLA- antistoffene er av samme subtype.(123)

Antistoff mot antigen i Rh-systemet er ofte funnet sammen med antistoff mot HLA-antigen. Antagelig fordi disse har samme etiologiske bakgrunn i det at de er et resultat av transplacental blødning hvor det overføres erythrocytter med blodgruppeantigen på overflaten og leukocyttar med HLA- antigen til morens sirkulasjon.(121)

Behandlingsprinsippene

Hemolytisk sykdom hos foster og nyfødte behandles profylaktisk med injisering av anti-D i svangerskapsuke 28, 34 og innen 72 timer etter fødsel (europeiske retningslinjer). Den inhibitoriske effekten av IgG- antistoff på immunresponsen er kjent som antistoffmediert immunsuppresjon (AMIS). Dagens screening- og profylakseprogram ble innført for 40 år og har redusert insidensen av HDFN med 90 %.(75) Før profylakseregimet ble innført ble HDFN behandlet med et regime som likner dagens behandling for FNAIT med amniocentese, føtal blodsamling, intrauterine transfusjoner, kontrollert tidlig forløsning, IVIg og utvekslingstransfusjoner post partum. Revolusjonerende for HDFN sin behandling var identifiseringen av føtomaternelle blødninger som årsak til anti-D alloimmunisering.(74)

I dag består behandlingen mot føtal og neonatal allomun trombocytopeni av maternell IVIg- og kortikosteroidbehandling samt ansamling av føtale blodceller, plateoverføring intrauterint eller postpartum og tidlig forløsning.(26) Det finnes ingen internasjonal konsensus rundt behandlingsstart, doser eller kombinasjoner av de ulike behandlingsprinsippene, det baseres i stor grad på alvorlighetsgrad og eventuelle tidligere utfall. Observasjoner som tyder på at immuniseringsmekanismene for FNAIT er mer lik HDFN enn tidligere antatt, og at hovedmekanismen for immunisering er føtomaternelle blødning i forbindelse med fødsel av første uforlikelige barn, har åpnet mulighetene for et screening- og profylakseprogram av samme typen som for HDFN.

Den utløsende faktor for alloimmunisering

Den adaptive immunresponsen bygger alltid på aktivering fra aksessoriske celler. Hva som utløser selve immunresponsen ved FNAIT og HDFN er fortsatt ukjent. Aktiveringen av T-celler og produksjonen av antistoffer krever aktiverte APC'er. Ved FNAIT og HDFN mangler man "fare"-signalet som utløser modningen av slike celler og presentasjon av de nødvendige ko-stimulerende faktorene for aktivering av T-celler

og påfølgende immunrespons. Enkelte foreslår at svangerskapet i seg selv utgjør et slikt signal i det maternelle immunsystemet. Men dette er omdiskutert som følge av immunsystemets aktive rolle også under selve svangerskapet.(36)

Diskusjon

Hemolytisk sykdom hos foster og nyfødte (HDFN) og Føtal/Neonatal alloimmun trombocytopeni (NAIT) er begge alloimmune tilstander som utvikles under svangerskap dersom det foreligger uforlikelighet mellom mor og barn mot henholdsvis røde blodceller og blodplater. I dette litteraturstudiet var en av målsetningene å se på om immunresponsene som resulterer i henholdsvis HDFN og FNAIT var mer lik enn tidligere antatt, ikke minst med tanke på tidspunkt og årsak til immunisering. Ved HDFN forekommer immuniseringen nesten utelukkende ved fødselen som følge av at de aktuelle røde blodcelleantigen overføres ved føtomaternelle blødninger.(92)

Immuniseringen ved FNAIT har tidligere vært antatt å forekomme under det første uforlikelige svangerskapet. Flere studier utført i senere tid har riktignok pekt i retning av at selv om det foreligger tilfeller med immunisering i svangerskapet, er ikke dette hovedmekanismen for immunisering ved FNAIT. Observasjoner herfra tyder på at flertallet av immuniseringstilfellene ved FNAIT heller forekommer på samme måte som ved HDFN, hvor antigen overføres i assosiasjon til føtomaternelle blødninger under fødsel av uforlikelig foster.(27) Men selv om flertallet av FNAIT- immuniseringene skjer ved fødselen, så foreligger langt flere tilfeller av immunisering mot plateantigen under det første uforlikelige svangerskap enn mot røde blodceller. Dette er sannsynligvis et resultat av at det finnes antigenkilder utover de føtomaternelle blødningene ved FNAIT. Denne teorien understøttes av det faktum at plateantigen, i motsetning til blodcelleantigen, finnes på flere humane vev. Slike vev kan være en antigenkilde for immunisering uavhengig av om det forekommer overføring av antigen ved føtomaternell blødning. Et foreslått vev for immunisering mot plater i svangerskapet er trofoblastene.(46) Dette vevet er tilstede allerede tidlig i fosterlivet, det bærer det aktuelle glykoproteinet involvert i uforlikelighet, og det er i kontakt med maternell sirkulasjon gjennom hele svangerskapet.(4);(47)

Når morens immunsystem blir sensitivert overfor uforlikelige fosterantigen utvikles det en immunrespons mot disse. Immunresponsen som utvikles etter en immunisering ved de to alloimmune tilstandene synes i stor grad å være lik. Både HDFN og FNAIT initierer en humoral immunrespons med placental overføring av IgG- antistoffer med resulterende destruksjon av cellene som presenterer de aktuelle antigen.

Alvorlighetsgraden av de to tilstandene er avhengig av subklassen av de maternelle IgG alloantistoffene, tettheten av målantigen på fosterets celler, aktivitet av fagocytene og beinmargens evne til å kompensere for den akselererte destruksjonen av føtale celler.(23);(52) Utover dette ser det ut til at flere genetiske faktorer er med å påvirke både utvikling og alvorlighetsgrad av HDFN og FNAIT, som for eksempel HLA- type og ABO- fenotype. Selv om samme genetiske faktorer virker å spille inn ved de to alloimmune tilstandene, ser det ut til at deres rolle og årsak kan være forskjellig ved henholdsvis HDFN og FNAIT.

Den andre målsetningen som skulle besvares var om FNAIT kunne forebygges ved hjelp av spesifikke antistoffer på prinsipielt samme måte som HDFN. Dagens screening- og profylakseprogram mot HDFN ble innført for 40 år og har redusert insidensen av HDFN med 90 %.(75) Ved HDFN forebygges immunisering ved injisering av anti-RhD-sera. Virkningsmekanismene for denne behandlingen er til tross for mye forskning i stor grad ukjent, men det spekuleres i om effekten er forårsaket av at IgG forandrer antigenprosesseringen og presentasjonen med det resultat at aktiviteten til T-hjelpecellene og B-cellene reduseres, slik at den humorale immunresponsen mot antigenet minker.(3, 94);(108);(109) For HDFN kom behandlingsgjennombruddet etter at man hadde konstatert at immuniseringen skjedde i forbindelse med de føtomaternelle blødningene ved fødsel(74), det betydde at man hadde et holdepunkt for når forebyggende behandling måtte skje. For FNAIT har tidligere antatt tidspunkt for immunisering sammen med manglende intervensjonsprinsipp og parametere for vurdering av alvorlighetsgrad satt sine begrensninger på behandlingsutviklingen. Av den grunn vil en bedre forståelse av immuniseringsmekanismen ved FNAIT og tidspunkt for immuniseringen være sentral for optimalisering av forebygging og behandling av tilstanden. Det faktum at observasjoner peker i retning av at immuniseringen ved FNAIT i stor grad foregår ved samme tidspunkt som for HDFN (27), gir et holdepunkt for når intervensjonen må skje. Det at immunisering mot både HDFN og FNAIT resulterer i en humoral immunrespons, hvor selve immunresponsen i stor grad påvirkes av samme faktorer, tyder på at immunresponsene er svært like og prinsipielt burde kunne nedreguleres etter samme prinsipper.

De funn som tyder på at HDFN og FNAIT er mer like enn tidligere antatt, både med hensyn på immuniseringstidspunkt og selve immunresponsen som utvikles, vitner om

muligheten for å innføre et screening- og profylakseprogram etter samme prinsipper som ved HDFN også ved FNAIT. Dette vil antagelig ha en signifikant effekt på de aller fleste tilfeller av FNAIT, på lik linje med de resultat man så ved innføring av dette for HDFN. En viktig forskjell mellom de to tilstandene, som man må tas hensyn til, er at en del immuniseringer ved FNAIT forekommer under det første uforlikelige svangerskapet. Dette betyr at for FNAIT vil det være av særlig betydning å kartlegge både årsaken til immuniseringene under svangerskapet samt når det optimale tidspunktet for AMIS-effekt foreligger.

Tabeller

Tabell 1: Likheter og forskjeller mellom HDFN og FNAIT ¹

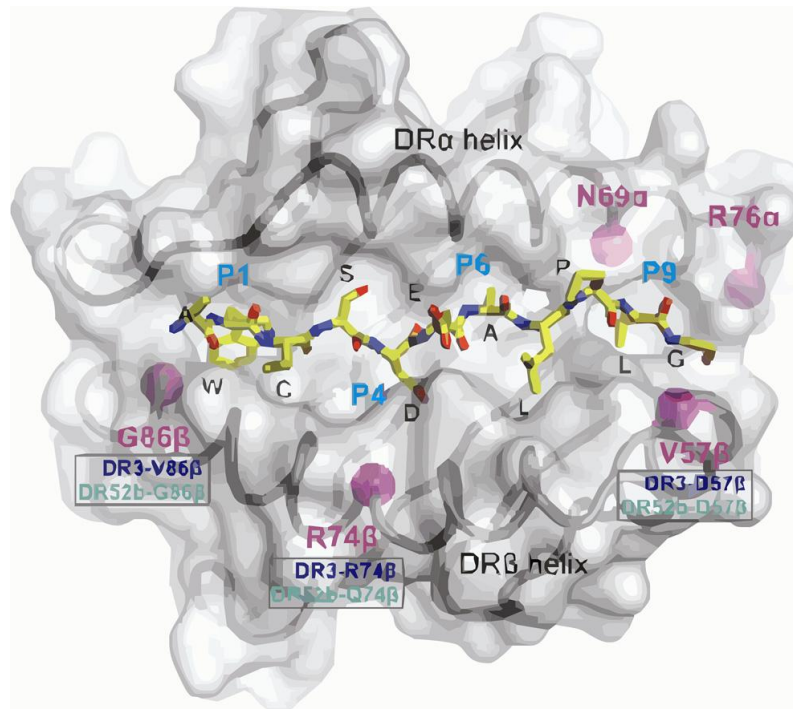
| Karakteristikk | HDFN | FNAIT |
|---|---|---|
| Antigen (vanligste): | RhD | HPA-1a |
| Årsak til antigenuforlikelighet: | Fravær/tilstedeværelse av RhD-proteinet | Aminosyresubstitusjon, Pro/Leu på GPIIIa |
| Antigenkilde: | Røde blodceller | Blodplater, trofoblaster ++ |
| Immuniseringsmekanisme: | Føtomaternelle blødninger | Føtomaternelle blødninger, trofoblastavstøtning |
| Immunrespons: | Humoral, IgG | Humoral, IgG |
| HLA- type: | HLA-DRB1*1501 | HLA-DRB3*0101, HLA*DQB1*0201 |
| Sentrale elementer ved patogenese: | Tetthet og mengde antigen, subklasse IgG, immunogen responskapasitet, fagocytaktivitet, beinmargskompensasjon, ABO-type, HLA-type | Tetthet og mengde antigen, subklasse IgG, immunogen responskapasitet, fagocytaktivitet, beinmargskompensasjon, ABO-type, HLA-type |
| Antigen tilstede på aktuelle celler: | 30 svangerskapsdag | 14 uker, fullt uttrykt i uke 18 |
| Alvorlig kliniske fenotype: | Kjernikerus, hydrops | ICH |
| Profylakse: | Anti- D IgG | Ikke tilgjengelig |
| Screeningprogram: | Tilgjengelig | Ikke tilgjengelig |
| Tilgjengelig testing: | I enhver blodbank | Sendeprobe |
| Prevalens av klinisk sykdom: | | |
| Uten profylakse | 1/100(126) | 1/1100(29) |
| Med profylakse postpartum | 1/2500(127) | Ikke tilgjengelig |
| Med profylakse antepartum og postpartum | 1/5000(127) | Ikke tilgjengelig |
| Risk for alloimmunisering uten profylakse: ² | 16-17 %(75) | 10 %(29) |
| Risk for alloimmunisering med profylakse: | 0,8-15 %(75) | Ikke tilgjengelig(45) |
| Påvirkning av det første barnet: | Sjeldent (45) | Forekommer(45) |
| Immunisering av primigravidae: | 5-7 %(128) | 25 %(45) |
| Immunisering i forbindelse med fødsel: | 93-5 % | 75 % |
| Behandling i neste svangerskap: | Anti-D IgG nivå, UL, IgG, in utero transfusjoner, planlagt forløsning | Anti-HPA-1a nivå, UL, IgG ev m/ kortikosteroider, in utero transfusjoner |

¹ Tabellen bygger på en tilsvarende tabell i Heidi Tillers PhD-thesis.(45)

² Gjelder RhD-negative (HDFN) og HPA- 1a- negative, DRB3*01:01- positive (FNAIT).

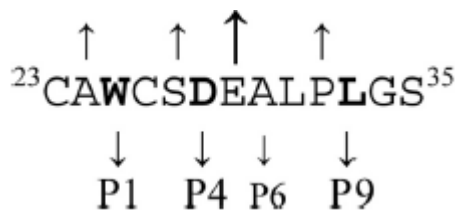
Figurer

Figur 1: HPA1a:HLA-DR52a komplekset



Illustrasjon av peptidbindingsstedet på HPA1a:HLA-DR52a- komplekset. Polypeptidets grunnstruktur er farget i mørkegrått. Utvalgte residuer er farget i lilla, deres erstatninger ved DR3 med blått og ved DR52b med grønt. Bindingslommene p1, p4, p6 og p9 er merket med blått. (39)

Figur 2: HPA-1a epitopen med forankringssteder og T-cellekontaktpunkt:



Figuren viser HPA1a epitopen med sine forankringspunkter og kontaktpunkter for T-celler. Denne strukturen danner basis for selektiv presentasjon av HPA-1a av DR52a. (39)

Hovedforankringspunktene er vist med "piler ned" og navn på forankringslommen, kontaktpunkter for T-cellene med "piler opp".

Ordliste over forkortelser

AMIS – Antistoffmediert immunsuppresjon

APC – Antigenpresenterende celler

BCR – B-cellereseptor

CT – Cytotrofoblaster

EVT – Ekstravilløse trofoblaster

FcRn – Neonatal fragment crystallin reseptor

FNAIT – Føtal og neonatal alloimmun trombocytopeni

GP – Glykoprotein

Hb - Hemoglobin

HDN – Hemolytisk sykdom hos foster og nyfødte

HLA – Humant leukocyt antigen

HPA – Humant plateantigen

ICH – Intrakraniell blødning

IgG – Immunoglobulin G

IVIG – Intravenøst immunoglobulin

IL - Interleukin

MHC – Major histocompatibility complex

NK – Naturlige drepeceller

RBC – Røde blodceller

Rh – Rhesus

ST – Syncytiotrofoblaster

STMP – Syncytiotrofoblastene brush border

TCR – T-cellereseptor

T-regs – Regulatoriske T-celler

UL – Ultralyd

English summary

Background

In this essay a thorough examination of differences and similarities between hemolytic disease of the newborn (HDFN) and fetal/neonatal alloimmune thrombocytopenia (FNAIT) was conducted, in particular examining the mechanisms of immunization and antigens. The objective was to consider if the mechanisms of immunization that results in respectively HDFN and FNAIT are more similar than previously considered and if so, could FNAIT be prevented with specific antibodies in the same way as HDFN is prevented with anti-D.

Material and methods

To answer these questions a literature study encompassing relevant articles regarding HDFN and FNAIT was carried out. Relevant articles were found through systematic searches in medical databases, such as PubMed, Tidsskriftet for Den norske Legeforening, Medline and UpToDate.

Results and interpretation

An alloimmune response develops as a consequence of antigen incompatibility between mother and the fetus on respectively red blood cells with HDFN and blood platelets with FNAIT. The incompatible antigens result in a humoral immune response with production of IgG- antibodies. These antibodies can be transported across the placenta and promote destruction of fetal cells. Immunization resulting in HDFN is a consequence of fetomaternal bleedings during labor. Immunization resulting in FNAIT was previously thought to occur during the first incompatible pregnancy, but observations suggest that the majority of immunizations occur during labor. This indicates that the mechanisms of immunization in FNAIT are more similar to HDFN than previously thought. An important difference between the two mechanisms of immunization is that the RhD-antigens only exist on the red blood cells, while the platelet antigens exist on different tissues. A higher number of immunizations during the first incompatible pregnancy with FNAIT can be explained by the existence of several antigen sources. As it seems that the mechanisms of immunization between HDFN and HDNF are more similar than previously thought, especially considering the

time of immunization, it is likely that the same prevention strategies, with infusion of specific antibodies, can be used with FNAIT in the same manner as with HDFN.

Referanseliste

1. Arraut A TS, Caughey AB. Erythrocyte alloimmunization and pregnancy 2011. Available from: <http://emedicine.medscape.com/article/273995-overview>.
2. McPhee H. Pathophysiology of Diseases. Sixth edition ed: Lange; 2010.
3. Kumpel BM, Elson CJ. Mechanism of anti-D-mediated immune suppression--a paradox awaiting resolution? Trends in immunology. 2001;22(1):26-31. Epub 2001/04/05.
4. Kumpel BM, Manoussaka MS. Placental immunology and maternal alloimmune responses. Vox sanguinis. 2012;102(1):2-12. Epub 2011/09/03.
5. Ellis SA, Sargent IL, Redman CW, McMichael AJ. Evidence for a novel HLA antigen found on human extravillous trophoblast and a choriocarcinoma cell line. Immunology. 1986;59(4):595-601. Epub 1986/12/01.
6. Piccinni MP, Scaletti C, Maggi E, Romagnani S. Role of hormone-controlled Th1- and Th2-type cytokines in successful pregnancy. Journal of neuroimmunology. 2000;109(1):30-3. Epub 2000/09/02.
7. Moffett-King A. Natural killer cells and pregnancy. Nature reviews Immunology. 2002;2(9):656-63. Epub 2002/09/05.
8. Tilburgs T, Schonkeren D, Eikmans M, Nagtzaam NM, Datema G, Swings GM, et al. Human decidual tissue contains differentiated CD8+ effector-memory T cells with unique properties. J Immunol. 2010;185(7):4470-7. Epub 2010/09/08.
9. Apps R, Gardner L, Sharkey AM, Holmes N, Moffett A. A homodimeric complex of HLA-G on normal trophoblast cells modulates antigen-presenting cells via LILRB1. European journal of immunology. 2007;37(7):1924-37. Epub 2007/06/06.
10. Ristich V, Liang S, Zhang W, Wu J, Horuzsko A. Tolerization of dendritic cells by HLA-G. European journal of immunology. 2005;35(4):1133-42. Epub 2005/03/17.
11. Piccinni MP, Giudizi MG, Biagiotti R, Beloni L, Giannarini L, Sampognaro S, et al. Progesterone favors the development of human T helper cells producing Th2-type cytokines and promotes both IL-4 production and membrane CD30 expression in established Th1 cell clones. J Immunol. 1995;155(1):128-33. Epub 1995/07/01.
12. Simister NE, Story CM. Human placental Fc receptors and the transmission of antibodies from mother to fetus. Journal of reproductive immunology. 1997;37(1):1-23. Epub 1998/03/21.
13. Simister NE, Mostov KE. An Fc receptor structurally related to MHC class I antigens. Nature. 1989;337(6203):184-7. Epub 1989/01/12.
14. Gitlin D, Biasucci A. Development of gamma G, gamma A, gamma M, beta IC-beta IA, C 1 esterase inhibitor, ceruloplasmin, transferrin, hemopexin, haptoglobin, fibrinogen, plasminogen, alpha 1-antitrypsin, orosomucoid, beta-lipoprotein, alpha 2-macroglobulin, and prealbumin in the human conceptus. The Journal of clinical investigation. 1969;48(8):1433-46. Epub 1969/08/01.
15. Bright NA, Ockleford CD. Cytotrophoblast cells: a barrier to maternofetal transmission of passive immunity. The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society. 1995;43(9):933-44. Epub 1995/09/01.
16. Dancis J, Lind J, Oratz M, Smolens J, Vara P. Placental transfer of proteins in human gestation. American journal of obstetrics and gynecology. 1961;82:167-71. Epub 1961/07/01.
17. Malek A, Sager R, Schneider H. Maternal-fetal transport of immunoglobulin G and its subclasses during the third trimester of human pregnancy. Am J Reprod Immunol. 1994;32(1):8-14. Epub 1994/08/01.
18. Barrett B, Volwiler W. Agammaglobulinemia and hypogammaglobulinemia; the first five years. Journal of the American Medical Association. 1957;164(8):866-70. Epub 1957/06/22.
19. Avent ND, Reid ME. The Rh blood group system: a review. Blood. 2000;95(2):375-87. Epub 2000/01/11.
20. Ghetie V, Ward ES. FcRn: the MHC class I-related receptor that is more than an IgG transporter. Immunology today. 1997;18(12):592-8. Epub 1998/01/13.
21. Dreyfus M, Kaplan C, Verdy E, Schlegel N, Durand-Zaleski I, Tchernia G. Frequency of immune thrombocytopenia in newborns: a prospective study. Immune Thrombocytopenia Working Group. Blood. 1997;89(12):4402-6. Epub 1997/06/15.
22. Davoren A, Curtis BR, Aster RH, McFarland JG. Human platelet antigen-specific alloantibodies implicated in 1162 cases of neonatal alloimmune thrombocytopenia. Transfusion. 2004;44(8):1220-5. Epub 2004/07/22.

23. Serrarens-Janssen VM, Semmekrot BA, Novotny VM, Porcelijn L, Lotgering FK, Delemarre FM, et al. Fetal/neonatal allo-immune thrombocytopenia (FNAIT): past, present, and future. *Obstetrical & gynecological survey*. 2008;63(4):239-52. Epub 2008/03/20.
24. Bussel JB, Zabusky MR, Berkowitz RL, McFarland JG. Fetal alloimmune thrombocytopenia. *The New England journal of medicine*. 1997;337(1):22-6. Epub 1997/07/03.
25. Newman PJ, Derbes RS, Aster RH. The human platelet alloantigens, PIA1 and PIA2, are associated with a leucine33/proline33 amino acid polymorphism in membrane glycoprotein IIIa, and are distinguishable by DNA typing. *The Journal of clinical investigation*. 1989;83(5):1778-81. Epub 1989/05/01.
26. McQuilten ZK, Wood EM, Savoia H, Cole S. A review of pathophysiology and current treatment for neonatal alloimmune thrombocytopenia (NAIT) and introducing the Australian NAIT registry. *The Australian & New Zealand journal of obstetrics & gynaecology*. 2011;51(3):191-8. Epub 2011/06/03.
27. Kjeldsen-Kragh J, Killie MK, Tomter G, Golebiowska E, Randen I, Hauge R, et al. A screening and intervention program aimed to reduce mortality and serious morbidity associated with severe neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Blood*. 2007;110(3):833-9. Epub 2007/04/13.
28. Ahlen MT, Husebekk A, Killie MK, Kjeldsen-Kragh J, Olsson ML, Skogen B. The development of severe neonatal alloimmune thrombocytopenia due to anti-HPA-1a antibodies is correlated to maternal ABO genotypes. *Clinical & developmental immunology*. 2012;2012:156867. Epub 2011/11/24.
29. 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(7):2280-7. Epub 1998/09/25.
30. Sukati H, Bessos H, Barker RN, Urbaniak SJ. Characterization of the alloreactive helper T-cell response to the platelet membrane glycoprotein IIIa (integrin-beta3) in human platelet antigen-1a alloimmunized human platelet antigen-1b1b women. *Transfusion*. 2005;45(7):1165-77. Epub 2005/07/01.
31. Skogen B, Killie MK, Kjeldsen-Kragh J, Ahlen MT, Tiller H, Stuge TB, et al. Reconsidering fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia with a focus on screening and prevention. *Expert review of hematology*. 2010;3(5):559-66. Epub 2010/11/19.
32. Ahya R, Turner ML, Urbaniak SJ. Fetomaternal alloimmune thrombocytopenia. *Transfusion and apheresis science : official journal of the World Apheresis Association : official journal of the European Society for Haemapheresis*. 2001;25(2):139-45. Epub 2002/01/05.
33. Metcalfe P, Watkins NA, Ouweland WH, Kaplan C, Newman P, Kekomaki R, et al. Nomenclature of human platelet antigens. *Vox sanguinis*. 2003;85(3):240-5. Epub 2003/10/01.
34. Landau MaR, N. Molecular insight into human platelet antigens: structural and evolutionary conservation analyses offer new perspective to immunogenic disorders. *Transfusion*. 2011;51.
35. Fitzgerald LA, Poncz M, Steiner B, Rall SC, Jr., Bennett JS, Phillips DR. Comparison of cDNA-derived protein sequences of the human fibronectin and vitronectin receptor alpha-subunits and platelet glycoprotein IIb. *Biochemistry*. 1987;26(25):8158-65. Epub 1987/12/15.
36. Stuge TB, Skogen B, Ahlen MT, Husebekk A, Urbaniak SJ, Bessos H. The cellular immunobiology associated with fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Transfusion and apheresis science : official journal of the World Apheresis Association : official journal of the European Society for Haemapheresis*. 2011;45(1):53-9. Epub 2011/06/29.
37. Kumpel BJD. Immunocytochemical analysis of CD41, CD61 and human platelet antigen - 1a expression in human placenta. *Transfusion Medicine*. 2003;113(36).
38. Wu S, Maslanka K, Gorski J. An integrin polymorphism that defines reactivity with alloantibodies generates an anchor for MHC class II peptide binding: a model for unidirectional alloimmune responses. *J Immunol*. 1997;158(7):3221-6. Epub 1997/04/01.
39. Rayment R, Kooij TW, Zhang W, Siebold C, Murphy MF, Allen D, et al. Evidence for the specificity for platelet HPA-1a alloepitope and the presenting HLA-DR52a of diverse antigen-specific helper T cell clones from alloimmunized mothers. *J Immunol*. 2009;183(1):677-86. Epub 2009/06/19.
40. Parry CS, Gorski J, Stern LJ. Crystallographic structure of the human leukocyte antigen DRA, DRB3*0101: models of a directional alloimmune response and autoimmunity. *Journal of molecular biology*. 2007;371(2):435-46. Epub 2007/06/23.
41. L'Abbe D, Tremblay L, Filion M, Busque L, Goldman M, Decary F, et al. Alloimmunization to platelet antigen HPA-1a (PIA1) is strongly associated with both HLA-DRB3*0101 and HLA-DQB1*0201. *Human immunology*. 1992;34(2):107-14. Epub 1992/06/01.

42. Simister NE. Placental transport of immunoglobulin G. *Vaccine*. 2003;21(24):3365-9. Epub 2003/07/10.
43. Gruel Y, Boizard B, Daffos F, Forestier F, Caen J, Wautier JL. Determination of platelet antigens and glycoproteins in the human fetus. *Blood*. 1986;68(2):488-92. Epub 1986/08/01.
44. 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;93(6):870-7. Epub 2008/04/30.
45. Tiller H. New clinical aspects of fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: Platelet antibodies may harm more than platelets – how to detect and prevent pregnancies at risk. [A dissertation for the degree of Philosophiae Doctor.]: University of Tromsø; 2012.
46. Taaning E. HLA antibodies and fetomaternal alloimmune thrombocytopenia: myth or meaningful? *Transfusion medicine reviews*. 2000;14(3):275-80. Epub 2000/07/29.
47. 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*. 2008;48(10):2077-86. Epub 2008/08/05.
48. Johansen M, Redman CW, Wilkins T, Sargent IL. Trophoblast deportation in human pregnancy-- its relevance for pre-eclampsia. *Placenta*. 1999;20(7):531-9. Epub 1999/08/24.
49. Huppertz B, Frank HG, Kingdom JC, Reister F, Kaufmann P. Villous cytotrophoblast regulation of the syncytial apoptotic cascade in the human placenta. *Histochemistry and cell biology*. 1998;110(5):495-508. Epub 1998/11/24.
50. Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, Rai V, Sargent IL, Redman CW, et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet*. 1997;350(9076):485-7. Epub 1997/08/16.
51. Finning KM, Martin PG, Soothill PW, Avent ND. Prediction of fetal D status from maternal plasma: introduction of a new noninvasive fetal RHD genotyping service. *Transfusion*. 2002;42(8):1079-85. Epub 2002/10/19.
52. Blanchette VS, Johnson J, Rand M. The management of alloimmune neonatal thrombocytopenia. *Bailliere's best practice & research Clinical haematology*. 2000;13(3):365-90. Epub 2000/10/13.
53. Proulx C, Filion M, Goldman M, Bradley A, Devine D, Decary F, et al. Analysis of immunoglobulin class, IgG subclass and titre of HPA-1a antibodies in alloimmunized mothers giving birth to babies with or without neonatal alloimmune thrombocytopenia. *British journal of haematology*. 1994;87(4):813-7. Epub 1994/08/01.
54. Mattila PS, Seppala IJ, Eklund J, Makela O. Quantitation of immunoglobulin classes and subclasses in anti-Rh (D) antibodies. *Vox sanguinis*. 1985;48(6):350-6. Epub 1985/01/01.
55. Husebekk A SB. Maternelle antistoffers betydning ved trombocytopeni hos nyfødte. *Tidsskriftet for Den Norske Lægeforening*. 2001(1211):3160-2.
56. Fernandes JC. Neonatal thrombocytopenia2011. Available from: http://www.uptodate.com/contents/neonatal-thrombocytopenia?source=search_result&search=neonatal+alloimmune+thrombocytopenia&selectedTitle=2%7E13.
57. Herman JH, Jumbelic MI, Ancona RJ, Kickler TS. In utero cerebral hemorrhage in alloimmune thrombocytopenia. *The American journal of pediatric hematology/oncology*. 1986;8(4):312-7. Epub 1986/01/01.
58. 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;113(16):3838-44. Epub 2009/01/13.
59. Arnold DM, Smith JW, Kelton JG. Diagnosis and management of neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Transfusion medicine reviews*. 2008;22(4):255-67. Epub 2008/10/14.
60. Bussel JB, Zacharoulis S, Kramer K, McFarland JG, Pauliny J, Kaplan C. Clinical and diagnostic comparison of neonatal alloimmune thrombocytopenia to non-immune cases of thrombocytopenia. *Pediatric blood & cancer*. 2005;45(2):176-83. Epub 2005/04/14.
61. Bussel JB, Kimberly RP, Inman RD, Schulman I, Cunningham-Rundles C, Cheung N, et al. Intravenous gammaglobulin treatment of chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood*. 1983;62(2):480-6. Epub 1983/08/01.
62. Blanchette V, Andrew M, Perlman M, Ling E, Ballin A. Neonatal autoimmune thrombocytopenia: role of high-dose intravenous immunoglobulin G therapy. *Blut*. 1989;59(1):139-44. Epub 1989/07/01.
63. Derycke M, Dreyfus M, Ropert JC, Tchernia G. Intravenous immunoglobulin for neonatal isoimmune thrombocytopenia. *Archives of disease in childhood*. 1985;60(7):667-9. Epub 1985/07/01.

64. Fehr J, Hofmann V, Kappeler U. Transient reversal of thrombocytopenia in idiopathic thrombocytopenic purpura by high-dose intravenous gamma globulin. *The New England journal of medicine*. 1982;306(21):1254-8. Epub 1982/05/27.
65. Berkowitz RL, Bussel JB, McFarland JG. Alloimmune thrombocytopenia: state of the art 2006. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2006;195(4):907-13. Epub 2006/08/01.
66. Berkowitz RL, Lesser ML, McFarland JG, Wissert M, Primiani A, Hung C, et al. Antepartum treatment without early cordocentesis for standard-risk alloimmune thrombocytopenia: a randomized controlled trial. *Obstetrics and gynecology*. 2007;110(2 Pt 1):249-55. Epub 2007/08/02.
67. Letsky EA, Greaves M. Guidelines on the investigation and management of thrombocytopenia in pregnancy and neonatal alloimmune thrombocytopenia. Maternal and Neonatal Haemostasis Working Party of the Haemostasis and Thrombosis Task Force of the British Society for Haematology. *British journal of haematology*. 1996;95(1):21-6. Epub 1996/10/01.
68. Roberts I, Murray NA. Neonatal thrombocytopenia. *Seminars in fetal & neonatal medicine*. 2008;13(4):256-64. Epub 2008/04/02.
69. Allen D, Verjee S, Rees S, Murphy MF, Roberts DJ. Platelet transfusion in neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Blood*. 2007;109(1):388-9. Epub 2006/12/28.
70. te Pas AB, Lopriore E, van den Akker ES, Oepkes D, Kanhai HH, Brand A, et al. Postnatal management of fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: the role of matched platelet transfusion and IVIG. *European journal of pediatrics*. 2007;166(10):1057-63. Epub 2006/12/21.
71. Francis JN, Till SJ, Durham SR. Induction of IL-10+CD4+CD25+ T cells by grass pollen immunotherapy. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2003;111(6):1255-61. Epub 2003/06/06.
72. Tiller H, Killie MK, Chen P, Eksteen M, Husebekk A, Skogen B, et al. Toward a prophylaxis against fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: induction of antibody-mediated immune suppression and prevention of severe clinical complications in a murine model. *Transfusion*. 2012. Epub 2012/01/19.
73. Firan M, Bawdon R, Radu C, Ober RJ, Eaken D, Antohe F, et al. The MHC class I-related receptor, FcRn, plays an essential role in the maternofetal transfer of gamma-globulin in humans. *International immunology*. 2001;13(8):993-1002. Epub 2001/07/27.
74. Urbaniak SJ, Greiss MA. RhD haemolytic disease of the fetus and the newborn. *Blood reviews*. 2000;14(1):44-61. Epub 2000/05/11.
75. Urbaniak SJ. The scientific basis of antenatal prophylaxis. *British journal of obstetrics and gynaecology*. 1998;105 Suppl 18:11-8. Epub 1998/12/24.
76. Cohen DW. Hemolytic disease of the newborn: RBC alloantibodies in pregnancy and associated serologic issues 2011. Available from: <http://www.uptodate.com/contents/hemolytic-disease-of-the-newborn-rbc-alloantibodies-in-pregnancy-and-associated-serologic-issues>.
77. Rich R ea. *Clinical immunology: principles and practice*. Mosby; 2008.
78. Egbor M, Knott P, Bhide A. Red-cell and platelet alloimmunisation in pregnancy. *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology*. 2012;26(1):119-32. Epub 2011/11/29.
79. Avent ND. The rhesus blood group system: insights from recent advances in molecular biology. *Transfusion medicine reviews*. 1999;13(4):245-66. Epub 1999/12/20.
80. Eyers SA, Ridgwell K, Mawby WJ, Tanner MJ. Topology and organization of human Rh (rhesus) blood group-related polypeptides. *The Journal of biological chemistry*. 1994;269(9):6417-23. Epub 1994/03/04.
81. Avent ND, Liu W, Warner KM, Mawby WJ, Jones JW, Ridgwell K, et al. Immunochemical analysis of the human erythrocyte Rh polypeptides. *The Journal of biological chemistry*. 1996;271(24):14233-9. Epub 1996/06/14.
82. Avent ND, Ridgwell K, Tanner MJ, Anstee DJ. cDNA cloning of a 30 kDa erythrocyte membrane protein associated with Rh (Rhesus)-blood-group-antigen expression. *The Biochemical journal*. 1990;271(3):821-5. Epub 1990/11/01.
83. Carritt B, Kemp TJ, Poulter M. Evolution of the human RH (rhesus) blood group genes: a 50 year old prediction (partially) fulfilled. *Human molecular genetics*. 1997;6(6):843-50. Epub 1997/06/01.
84. Stott LM, Barker RN, Urbaniak SJ. Identification of alloreactive T-cell epitopes on the Rhesus D protein. *Blood*. 2000;96(13):4011-9. Epub 2000/12/09.
85. Hall AM, Cairns LS, Altmann DM, Barker RN, Urbaniak SJ. Immune responses and tolerance to the RhD blood group protein in HLA-transgenic mice. *Blood*. 2005;105(5):2175-9. Epub 2004/09/24.

86. Avent ND, Martin PG, Armstrong-Fisher SS, Liu W, Finning KM, Maddocks D, et al. Evidence of genetic diversity underlying Rh D-, weak D (Du), and partial D phenotypes as determined by multiplex polymerase chain reaction analysis of the RHD gene. *Blood*. 1997;89(7):2568-77. Epub 1997/04/01.
87. Colin Y, Cherif-Zahar B, Le Van Kim C, Raynal V, Van Huffel V, Cartron JP. Genetic basis of the RhD-positive and RhD-negative blood group polymorphism as determined by Southern analysis. *Blood*. 1991;78(10):2747-52. Epub 1991/11/15.
88. Bowman JM, Pollock JM, Penston LE. Fetomaternal transplacental hemorrhage during pregnancy and after delivery. *Vox sanguinis*. 1986;51(2):117-21. Epub 1986/01/01.
89. Woodrow JC, Finn R. Transplacental haemorrhage. *British journal of haematology*. 1966;12(3):297-309. Epub 1966/05/01.
90. Wagle S. Hemolytic Disease of the newborn. 2011; Available from: <http://emedicine.medscape.com/article/974349-overview>.
91. Basu S, Kaur R, Kaur G. Hemolytic disease of the fetus and newborn: Current trends and perspectives. *Asian journal of transfusion science*. 2011;5(1):3-7. Epub 2011/05/17.
92. Moise KJ. Pathogenesis and prenatal diagnosis of Rhesus (Rh) alloimmunization 2012. Available from: <http://www.uptodate.com/contents/pathogenesis-and-prenatal-diagnosis-of-rhesus-rh-alloimmunization>.
93. Hadley AG. Laboratory assays for predicting the severity of haemolytic disease of the fetus and newborn. *Transplant immunology*. 2002;10(2-3):191-8. Epub 2002/09/10.
94. Brinc D, Denomme GA, Lazarus AH. Mechanisms of anti-D action in the prevention of hemolytic disease of the fetus and newborn: what can we learn from rodent models? *Current opinion in hematology*. 2009;16(6):488-96. Epub 2009/09/05.
95. Kumpel BM. On the immunologic basis of Rh immune globulin (anti-D) prophylaxis. *Transfusion*. 2006;46(9):1652-6. Epub 2006/09/13.
96. Dean L. *Blood Groups and Red Cell Antigens*. Bethesda (MD): National Center for Human Genome Research; 2005.
97. Kornstad L. New cases of irregular blood group antibodies other than anti-D in pregnancy. Frequency and clinical significance. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica*. 1983;62(5):431-6. Epub 1983/01/01.
98. Freedman J, Massey A, Chaplin H, Monroe MC. Assessment of complement binding by anti-D and anti-M antibodies employing labelled antiglobulin antibodies. *British journal of haematology*. 1980;45(2):309-18. Epub 1980/06/01.
99. Ravetch JV, Bolland S. IgG Fc receptors. *Annual review of immunology*. 2001;19:275-90. Epub 2001/03/13.
100. Brinc D, Le-Tien H, Crow AR, Freedman J, Lazarus AH. IgG-mediated immunosuppression is not dependent on erythrocyte clearance or immunological evasion: implications for the mechanism of action of anti-D in the prevention of haemolytic disease of the newborn? *British journal of haematology*. 2007;139(2):275-9. Epub 2007/09/28.
101. Heyman B, Wigzell H. Immunoregulation by monoclonal sheep erythrocyte-specific IgG antibodies: suppression is correlated to level of antigen binding and not to isotype. *J Immunol*. 1984;132(3):1136-43. Epub 1984/03/01.
102. Karlsson MC, Getahun A, Heyman B. FcγRIIB in IgG-mediated suppression of ses: different impact in vivo and in vitro. *J Immunol*. 2001;167(10):5558-64. Epub 2001/11/08.
103. Sinclair NR. Fc-signalling in the modulation of immune responses by passive antibody. *Scandinavian journal of immunology*. 2001;53(4):322-30. Epub 2001/04/04.
104. Karlsson MC, Wernersson S, Diaz de Stahl T, Gustavsson S, Heyman B. Efficient IgG-mediated suppression of primary antibody responses in Fcγ receptor-deficient mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1999;96(5):2244-9. Epub 1999/03/03.
105. Davis RS, Ehrhardt GR, Leu CM, Hirano M, Cooper MD. An extended family of Fc receptor relatives. *European journal of immunology*. 2005;35(3):674-80. Epub 2005/02/03.
106. Hjelm F, Carlsson F, Getahun A, Heyman B. Antibody-mediated regulation of the immune response. *Scandinavian journal of immunology*. 2006;64(3):177-84. Epub 2006/08/22.
107. Houghton G, Nash DR. Specific immunosuppression by minute doses of passive antibody. *Transplantation proceedings*. 1969;1(1):616-8. Epub 1969/03/01.
108. Watts C, Lanzavecchia A. Suppressive effect of antibody on processing of T cell epitopes. *The Journal of experimental medicine*. 1993;178(4):1459-63. Epub 1993/10/01.

109. Antoniou AN, Watts C. Antibody modulation of antigen presentation: positive and negative effects on presentation of the tetanus toxin antigen via the murine B cell isoform of FcγRII. *European journal of immunology*. 2002;32(2):530-40. Epub 2002/02/06.
110. Pischel KD, Bluestein HG, Woods VL, Jr. Platelet glycoproteins Ia, Ic, and IIa are physicochemically indistinguishable from the very late activation antigens adhesion-related proteins of lymphocytes and other cell types. *The Journal of clinical investigation*. 1988;81(2):505-13. Epub 1988/02/01.
111. Santoso S, Kiefel V, Mueller-Eckhardt C. Immunochemical characterization of the new platelet alloantigen system Bra/Brb. *British journal of haematology*. 1989;72(2):191-8. Epub 1989/06/01.
112. Zipursky A, Israels LG. The pathogenesis and prevention of Rh immunization. *Canadian Medical Association journal*. 1967;97(21):1245-57. Epub 1967/11/18.
113. Turner ML, Bessos H, Fagge T, Harkness M, Rentoul F, 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(12):1945-56. Epub 2005/12/24.
114. Wikipedia. Human leukocyte antigen. Available from: http://en.wikipedia.org/wiki/Human_leukocyte_antigen.
115. King KE, Kao KJ, Bray PF, Casella JF, Blakemore K, Callan NA, et al. The role of HLA antibodies in neonatal thrombocytopenia: a prospective study. *Tissue antigens*. 1996;47(3):206-11. Epub 1996/03/01.
116. Gramatges MM, Fani P, Nadeau K, Pereira S, Jeng MR. Neonatal alloimmune thrombocytopenia and neutropenia associated with maternal human leukocyte antigen antibodies. *Pediatric blood & cancer*. 2009;53(1):97-9. Epub 2009/02/21.
117. Rugeles MT, Shearer GM. Alloantigen recognition in utero: dual advantage for the fetus? *Trends in immunology*. 2004;25(7):348-52. Epub 2004/06/23.
118. Sharon R, Amar A. Maternal anti-HLA antibodies and neonatal thrombocytopenia. *Lancet*. 1981;1(8233):1313. Epub 1981/06/13.
119. Taaning E, Petersen S, Reinholdt J, Bock J, Svejgaard A. Neonatal Immune Thrombocytopenia Due to Allo- or Autoantibodies: Clinical and Immunological Analysis of 83 Cases. *Platelets*. 1994;5(1):53-8. Epub 1994/01/01.
120. Neppert J, Kissel K. Protection against immune haemolytic disease of newborn infants by maternal monocyte-reactive IgG alloantibodies. *Lancet*. 1992;339(8807):1481. Epub 1992/06/13.
121. Neppert J, v Witzleben-Schurholz E, Zupanska B, Bartz L, Greve O, Eichler H, et al. High incidence of maternal HLA A, B and C antibodies associated with a mild course of haemolytic disease of the newborn. Group for the Study of Protective Maternal HLA Antibodies in the Clinical Course of HDN. *European journal of haematology*. 1999;63(2):120-5. Epub 1999/09/10.
122. Neppert J, Marquard F, Mueller-Eckhardt C. Murine monoclonal antibodies and human alloantisera specific for HLA inhibit monocyte phagocytosis of anti-D-sensitized human red blood cells. *European journal of immunology*. 1985;15(6):559-63. Epub 1985/06/01.
123. Neppert J, Jungi TW. Antibodies to human major histocompatibility complex products inhibit Fcγ receptors types I and II. *Transfus Med*. 1996;6(2):125-31. Epub 1996/06/01.
124. Neppert J, Mueller-Eckhardt G, Heine O. Reduced immune phagocytosis of monocytes from neonates whose mothers produce HLA antibodies. *Vox sanguinis*. 1988;54(3):177-80. Epub 1988/01/01.
125. Neppert J. Rhesus-Du and -D incompatibility in the newborn without haemolytic disease: inhibition of immune phagocytosis? *Vox sanguinis*. 1987;53(4):239. Epub 1987/01/01.
126. Bussel J. Diagnosis and management of the fetus and neonate with alloimmune thrombocytopenia. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*. 2009;7 Suppl 1:253-7. Epub 2009/07/28.
127. Koelwijjn JM, de Haas M, Vrijkotte TG, Bonsel GJ, van der Schoot CE. One single dose of 200 microg of antenatal RhIG halves the risk of anti-D immunization and hemolytic disease of the fetus and newborn in the next pregnancy. *Transfusion*. 2008;48(8):1721-9. Epub 2008/05/30.
128. Hartmann O, Brendemoen OJ. Incidence of Rh antibody formation in first pregnancies; outcome of pregnancies in 23 cases not previously sensitized to Rh antigens. *Acta paediatrica*. 1953;42(1):20-3. Epub 1953/01/01.