



FACULDADE DE
MEDICINA
LISBOA

TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Pediatria

Trombocitopenia Neonatal Aloimune: um estudo de caso

Lúcia Mafalda Bastos da Silva Pinho Fialho

Março'2019



FACULDADE DE
MEDICINA
LISBOA

TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Pediatria

Trombocitopenia Neonatal Aloimune: um estudo de caso

Lúcia Mafalda Bastos da Silva Pinho

Orientado por:

Prof. Doutora Sandra Rute Romão Valente Pereira Grilo

Março'2019

Resumo

A trombocitopenia neonatal aloimune (TNAI) é uma condição rara mas potencialmente grave, com uma incidência de aproximadamente 1:1000 nados vivos, incidência esta que não inclui abortos e casos assintomáticos que escapam ao diagnóstico, estando provavelmente subdiagnosticada. Resulta da destruição das plaquetas do feto e/ou recém-nascido induzida por anticorpos maternos dirigidos contra antígenos plaquetários fetais. É a causa mais comum de trombocitopenia isolada e grave associada a hemorragias no período neonatal. Cerca de 10% dos casos de TNAI condicionam uma hemorragia intracerebral (HIC) sendo que 90% dos casos, ocorrem *in útero*. Ao contrário da doença hemolítica do recém-nascido por incompatibilidade do sistema Rh, a TNAI pode manifestar-se de forma grave mesmo a primeira gestação pelo que alguns autores debatem a importância do rastreio durante a gravidez. Descreve-se o caso de um bebé nascido por cesariana às 36 semanas + 1 dia, por suspeita pré-natal de hemorragia intracraniana. Ao nascimento documenta-se uma trombocitopenia grave que posteriormente se veio a confirmar ser de causa aloimune, por incompatibilidade do antígeno HPA1a (o antígeno que mais frequentemente causa TNAI), associada a hemorragia intracraniana direita de dimensões consideráveis com ventriculomegália.

Palavras-chave: Trombocitopenia neonatal aloimune. HPA1a. Hemorragia intracraniana. Transfusão plaquetária

Abstract

Neonatal alloimmune thrombocytopenia (TNAI) is a rare but potentially serious condition, affecting approximately 1:1000 newborn babies. This does not include abortions and asymptomatic cases that escape diagnostic, reason for being probably underdiagnosed. It causes the destruction of the fetus and/or newborn platelets by maternal antibodies directed against the fetus platelets antigens. It is the most common cause of isolated and serious thrombocytopenia associated to bleeding in the neonatal period. Around 10% of the cases of TNAI result in intracerebral haemorrhage, in these 90% occur inside the uterus. Unlike the hemolytic disease of the newborn through Rh system incompatibility, TNAI can manifest in a serious way in the first trimester, reason why some authors argue the importance of being screened during pregnancy. In this paper we describe the case of a baby born through caesarean delivery at 36 weeks plus 1 day of age, because it was suspected of having intracranial haemorrhage. It was found to be having a serious trombocitopenia that was later confirmed of being caused by the incompatibility of the HPA1a antigen (the most common antigen in TNAI), associated with right intracranial bleeding of considerable dimension with ventriculomegaly.

Keywords: Neonatal alloimmune thrombocytopenia. HPA1a. Intracranial bleeding. Platelet transfusion.

Índice de siglas

AAS- ácido acetilsalicílico	MAIPA- monoclonal antibody immobilization of platelet antigen
ACM- artéria cerebral média	NICU- neonatal intensive care unit
ADN- ácido desoxirribonucleico	NEC- enterocolite necrotizante
AINE- anti-inflamatório não esteróide	PL- punção lombar
APC- célula apresentadora de antígenos	PCR- polymerase chain reaction
APTT- tempo de tromboplastina parcial ativado	PCR- proteína C reativa
CID- coagulação intravascular disseminada	PMN- polimorfonucleares
CP- concentrado de plaquetas	RN- recém-nascido
Fc- recetor de anticorpos	RM-CE- ressonância magnética crânio-encefálica
FOP- foramen oval patente	SAAF- Síndrome dos anticorpos antifosfolípidos
GP - glicoproteína	TN- trombocitopenia neonatal
HBPM- heparina de baixo peso molecular	TNAI- trombocitopenia neonatal aloimune
HIC- hemorragia intracerebral	TP- Tempo de protrombina
HPA - antígenos plaquetários humanos	TORCH- infecções por Toxoplasmose; Outros: sífilis (VDRL), varicela-zoster, parvovírus B19; Rubéola, Citomegalovírus (CMV), Herpes simplex (HSV 1 e 2)
HLA- antígenos leucocitários humanos	UCIN- unidade de cuidados intensivos neonatais
HIV- vírus da imunodeficiência humana	VPM- volume plaquetário médio
IG- idade gestacional	VHB- vírus da hepatite B
IgEV- imunoglobulina intravenosa	VPP- valor predictivo positivo
IgG- imunoglobulina G	VPN- valor predictivo negativo
IR- índice de resistência	VM- ventriculomegália
IL- índice de Levene	VL- ventrículos laterais
MAV- malformação arteriovenosa	
MHC- complexo major de histocompatibilidade	

Índice de Figuras e Quadros

Figura 1. Valores de referência para contagem plaquetária (A) e volume plaquetário médio (B) nos 3 primeiros dias após o nascimento. (9)

Figura 2. Valores de referência para contagem plaquetária (A) e volume plaquetário médio (B) durante os primeiros 90 dias após o nascimento. (10)

Figura 3. Efeito da idade pós-natal na contagem plaquetária do RN pré-termo. (11)

Figura 4. Transferência de IgG através da placenta humana. A ligação entre IgG e o FcRN ocorre à porção Fc e não Fab da IgG. (13)

Figura 5. Alguns dos HPAs major humanos em vários complexos de glicoproteínas que são responsáveis pela aloimunização de grávidas provocando trombocitopenia fetal e neonatal aloimune. (15)

Quadro 1. Diagnóstico diferencial de trombocitopenia neonatal por mecanismo de ação. Retirado de Consensos da Sociedade Portuguesa de Neonatologia. (19)

Quadro 2. Diagnóstico diferencial de trombocitopenia neonatal por etiologia (trombocitopenias adquiridas e trombocitopenias hereditárias). (20)

Figura 6. Orientação diagnóstica na trombocitopenia de início precoce (21)

Figura 7. Orientação diagnóstica na trombocitopenia de início tardio (22)

Figura 8. Evolução da contagem de plaquetas por estratégia de tratamento pós-natal. (32)

Figura 9. Evolução da contagem de plaquetas ao longo dos dias de vida do RN e medidas terapêuticas instituídas (35)

Figura 10. Ecografia transfontanelar, plano coronal (36)

Figura 11. Evolução das dimensões dos ventrículos laterais e do índice de resistência da artéria cerebral anterior e medidas terapêuticas (37)

Índice

Introdução	7
Trombocitopenia Neonatal	7
Trombocitopenia Neonatal Aloimune	12
Definição e Patogénese	12
Fatores de risco para a imunização HPA 1a	16
Apresentação Clínica	17
Diagnóstico	19
Diagnóstico de trombocitopenia	19
Diagnóstico diferencial	19
Diagnóstico etiológico	25
Diagnóstico pré-natal	26
Tratamento pré-natal	29
Tratamento pós-natal	30
Prognóstico	32
Caso clínico	34
Apresentação do caso clínico	34
Discussão	39
Discussão do caso clínico	39
Prognóstico	45
Bibliografia	47

Introdução

A trombocitopenia neonatal aloimune (TNAI) é uma condição rara mas potencialmente grave, com uma incidência de aproximadamente 1:1000 nados vivos^{1,2,3}, incidência esta que não inclui abortos e casos assintomáticos que escapam ao diagnóstico, estando provavelmente subdiagnosticada. Resulta da destruição das plaquetas do feto e/ou recém-nascido induzida por anticorpos maternos dirigidos contra antigénios plaquetários fetais. É a causa mais comum de trombocitopenia isolada e grave associada a hemorragias no período neonatal. Cerca de 10% dos casos de TNAI condicionam uma hemorragia intracerebral (HIC) sendo que 90% dos casos, sem tratamento pré-natal, ocorrem *in utero*⁴.

Proponho-me a analisar e discutir um caso clínico de um recém-nascido a quem foi documentada a suspeita, ainda no período pré-natal de hemorragia intracraniana que se verificou associada a uma trombocitopenia grave objetivada ao nascimento.

A parte inicial do trabalho foca-se na trombocitopenia e o seu objetivo é o suporte para a discussão do caso clínico. Os aspetos relacionados com a avaliação ecográfica fetal, especificamente relacionados com as alterações encefálicas em causa, são abordadas mais sumária e tardiamente junto da discussão, correspondendo a uma tentativa de articulação da especialidade de obstetria com a neonatologia.

Os principais objetivos deste trabalho são explanar a marcha diagnóstica de um caso clínico de trombocitopenia neonatal; destacar a importância da anamnese, história obstétrica materna e exame físico; identificar parâmetros clínicos que ajudam a prever a gravidade do quadro clínico; refletir sobre a abordagem diagnóstica e terapêutica utilizadas neste caso clínico; abordar o impacto do prognóstico da hemorragia intracerebral e ainda abordar o rastreio pré-natal da trombocitopenia neonatal aloimune.

Trombocitopenia Neonatal

A trombocitopenia neonatal (TN) ocorre em menos de 1% de todos os RNs⁵ embora se desenvolva em cerca de 18-35% daqueles com necessidade de internamento nas Unidades de

Cuidados Intensivos Neonatais (UCIN)⁶, constituindo uma das mais frequentes patologias do foro hematológico nestes RNs.

Num estudo de coorte retrospectivo relativo a 23 anos, Resh et al.⁶ avaliaram 371 RN (1,8/1000 nados vivos) com trombocitopenia. As causas mais frequentemente identificadas de TN foram a sépsis precoce e tardia (47% dos casos) e a asfixia (25% dos casos). Em menor escala a enterocolite necrotizante - estadios de Bell \geq IIa (4,1%), as anomalias cromossômicas (3,9%), a doença hemolítica do recém-nascido (2,4%) e infecções por citomegalovírus (2,4%) também cursaram com TN. Mais raramente a TN resultou da síndrome Kasabach-Merritt (0,5%), trombose (0,5%) e doenças metabólicas (0,5%). A transferência de auto-anticorpos ou alo-anticorpos maternos contra as plaquetas fetais representou cerca de 1% dos casos de TN avaliados neste estudo⁶.

As plaquetas são fragmentos anucleares de megacariócitos envolvidas na hemostase primária. A trombopoiese é o processo de produção de plaquetas a partir de megacariócitos maduros. Este processo é mediado pela trombopoietina, uma citocina responsável pelas modificações que ocorrem no citoplasma do megacariócito necessárias para a liberação das plaquetas na circulação. A megacariocitopoiese é o processo anterior, de proliferação e maturação dos megacariócitos desde a célula progenitora da medula óssea até aos megacariócitos maduros⁷. O mecanismo de atuação plaquetário depende da sua capacidade de adesão a moléculas expostas nas paredes endoteliais lesadas e posterior agregação e mudança de conformação (hemostase primária). Estes acontecimentos são seguidos da ativação da cascata de coagulação e deposição de fibrina para formar um coágulo maduro (hemostase secundária)⁸.

O valor normal de plaquetas no RN situa-se entre 150.000 e 450.000/ μ L embora possa haver uma maior amplitude e alguma variabilidade nos limites da normalidade, que variam com a idade gestacional (IG) e pós-natal^{5,40}. As curvas do Intermountain Multihospital Healthcare NICU's group – EUA indicam os valores de referência para a contagem plaquetária e o volume plaquetário médios nos 3 primeiros dias após o nascimento para IG entre as 22 e 42 semanas e, posteriormente, a evolução até aos 90 dias pós-natais (figuras 1, 2 e 3)^{5,40}.

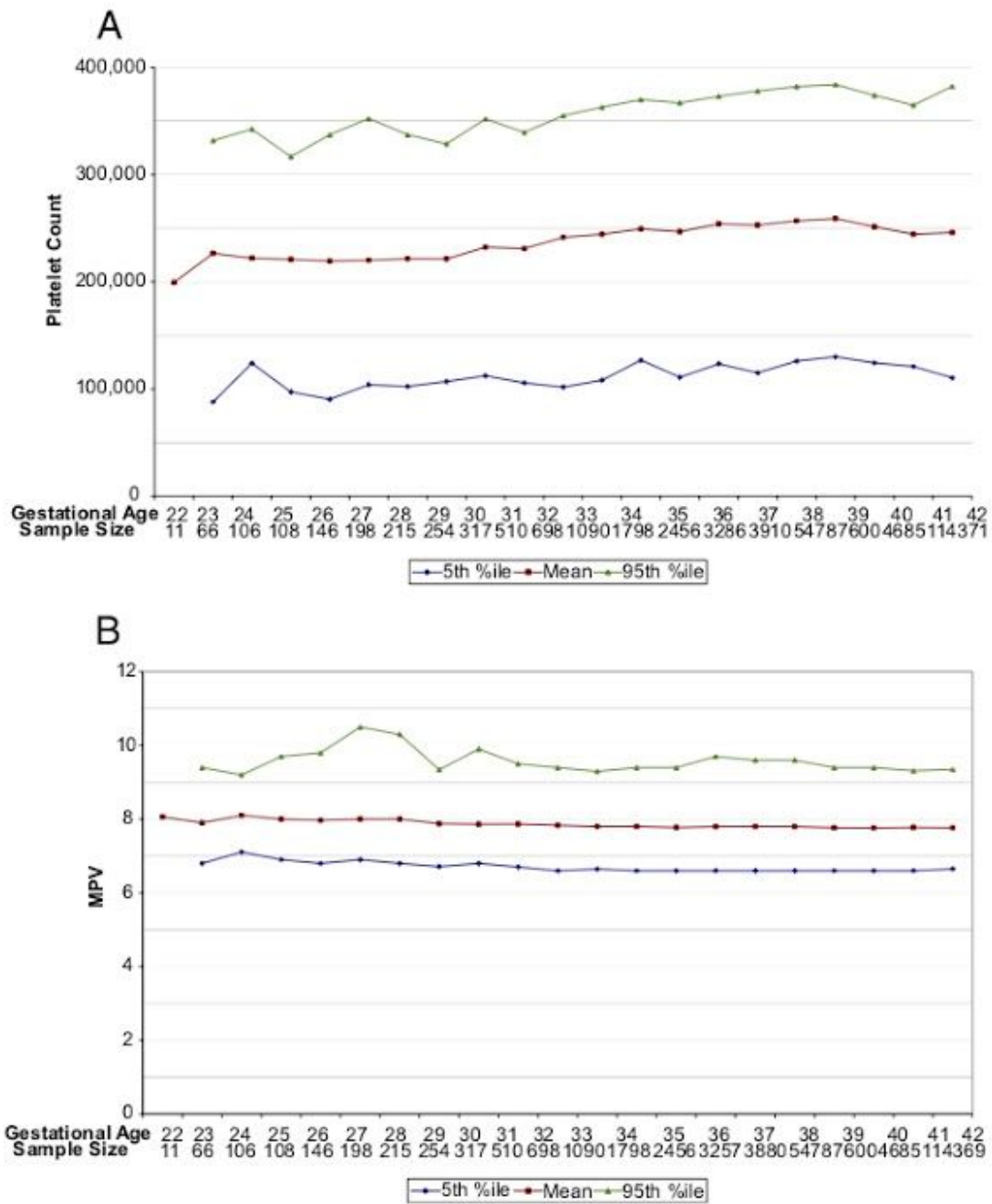


Figura 1. Valores de referência para contagem plaquetária (A) e volume plaquetário médio (B) nos 3 primeiros dias após o nascimento⁴⁰.

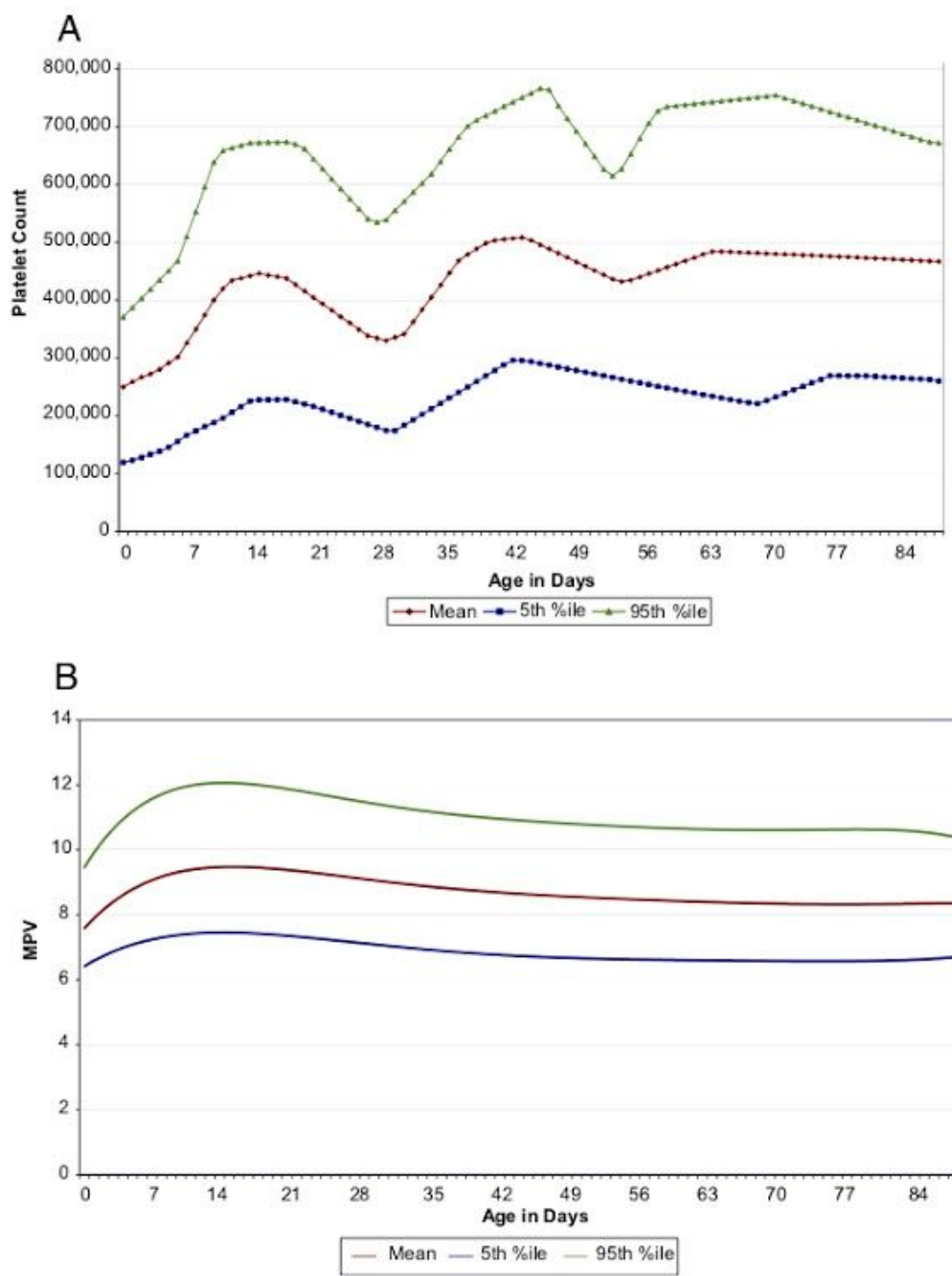


Figura 2. Valores de referência para contagem plaquetária (A) e volume plaquetário médio (B) durante os primeiros 90 dias após o nascimento⁴⁰.

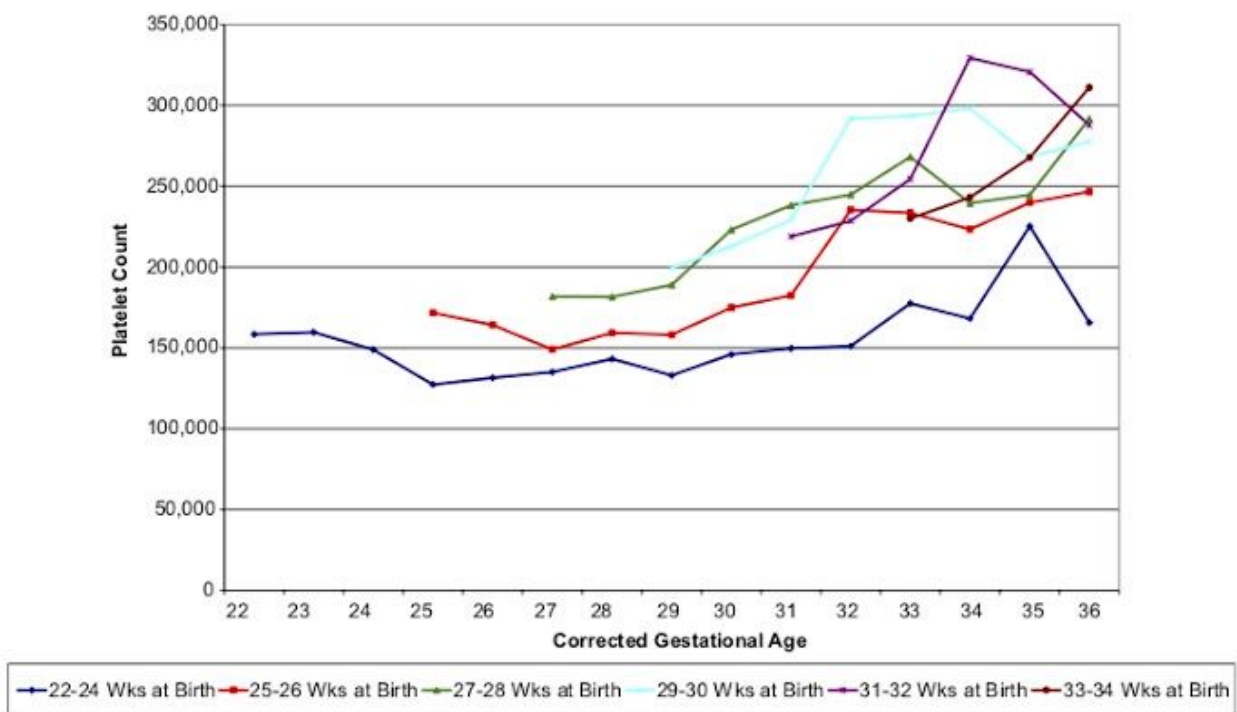


Figura 3. Efeito da idade pós-natal na contagem plaquetária do RN pré-termo⁴⁰.

Apesar da trombocitopenia poder ser definida abaixo de uma contagem plaquetária inferior a 150.000/ μL , um valor abaixo de 100.000/ μL é considerado anormal, qualquer que seja a IG ou pós-natal, carecendo este valor de confirmação⁵. De forma reversa, a normalização da trombocitopenia implica a subida da contagem plaquetária para valores acima dos 150.000/ μL .

O grau de trombocitopenia pode ser definido da seguinte forma: ligeira, contagem de plaquetas de 100.000 a 150.00/ μL ; moderada, uma contagem de plaquetas de 50.000 a <100.000/ μL ; grave, uma contagem de plaquetas de 30.000 a <50.000/ μL ; e muito grave, uma contagem de plaquetas <30.000/ μL ⁶. Uma contagem de plaquetas inferior a 50.000/ μL (grave) surge em cerca de 25% dos RN afetados com TP⁵. A probabilidade de ocorrer um evento hemorrágico é inversamente proporcional ao número de plaquetas⁵.

Trombocitopenia neonatal aloimune

Definição e patogénese

Das trombocitopenias provocadas por anticorpos as duas mais frequentes ocorrem por transferência de auto-anticorpos ou alo-anticorpos maternos contra as plaquetas fetais. Os auto-anticorpos são produzidos em mulheres com púrpura trombocitopenica autoimune ou lúpus eritematoso sistémico e estes provocam trombocitopenia materna e fetal. Os alo-anticorpos habitualmente não causam trombocitopenia materna ligando-se apenas a antígenos plaquetários fetais.

Na TNAI o sistema imunitário materno identifica como desconhecido um antígeno plaquetário fetal herdado do pai e desenvolve anticorpos IgG específicos contra esse antígeno, designando-se neste caso de alo-anticorpos ^{5,7}.

A produção de alo-anticorpos pode ocorrer durante o parto ou na sequência de um aborto, por hemorragia feto-materna e conseqüente passagem das plaquetas fetais para a circulação materna. Adicionalmente especula-se que a interação entre as células sanguíneas maternas e trofoblastos antígeno-positivos ou micropartículas de trofoblastos podem desempenhar um papel importante na geração de uma resposta imunitária sem ocorrência de hemorragia⁹. Este dado pode explicar o porquê de, ao contrário da doença hemolítica do RN que se manifesta habitualmente numa segunda gravidez incompatível, a TNAI se manifestar logo durante a primeira gravidez, mesmo na ausência de abortos prévios.

Após o contacto com os antígenos das plaquetas/trofoblastos fetais estes são digeridos por células apresentadoras de antígenos (APCs), tais como células dendríticas e macrófagos. As APCs apresentam à sua superfície, através do complexo major de histocompatibilidade (MHC) II, os peptídeos antigénicos, resultantes do processamento dos antígenos, que irão ativar receptores de células T CD4+. O mecanismo resulta na produção de anticorpos específicos contra os antígenos fetais.

As diferentes subclasses de imunoglobulinas G (IgG) são as únicas que passam a barreira hemato-placentária e, por isso, as responsáveis pela opsonização das plaquetas fetais e a sua conseqüente destruição. Embora não se saiba ao certo como as IgGs são transportadas para o lado fetal, através de estudos em modelos animais concluiu-se que é o recetor de anticorpos

fetal (FcRN) e não materno, o responsável pelo transporte transplacentário de diferentes isotipos de IgGs⁹ (figura 4). Adicionalmente existe um processo de transferência transplacentária Fc-independente embora os autores consideram o recetor FcRn fundamental na indução da TNAI. Os recetores de anticorpos (Fc) estão presentes à superfície de células efetoras (macrófagos, natural killers, linfócitos, etc.) e reconhecem as regiões constantes dos anticorpos (domínios Fc) que por sua vez se encontram ligados através da porção Fab aos antigénios. Para além do já conhecido mecanismo de destruição de plaquetas, desconhece-se se os mesmos anticorpos anti-plaquetários têm algum efeito a nível da produção de plaquetas via ligação a megacariócitos¹⁰.

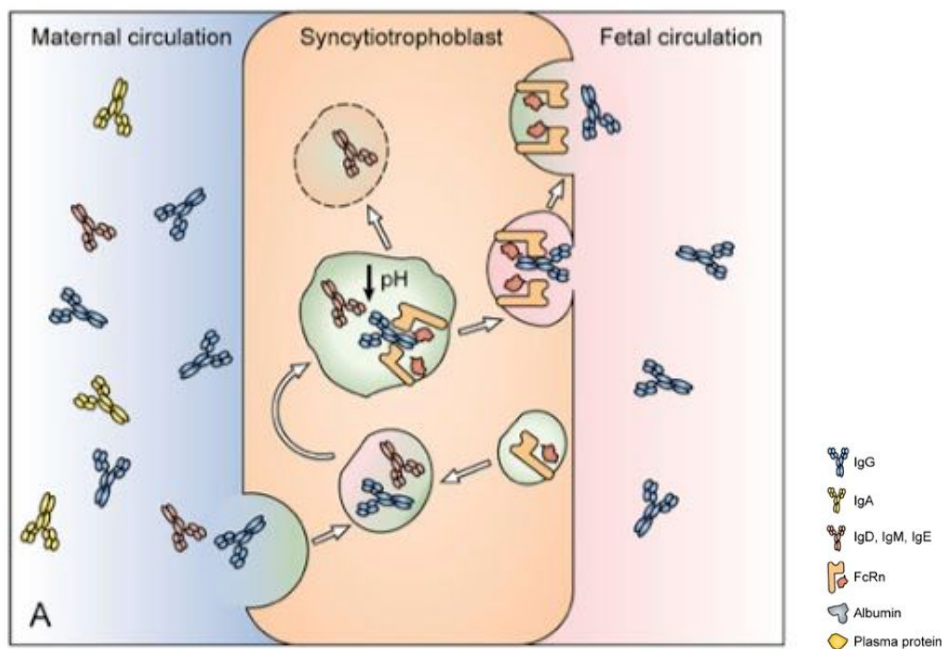


Figura 4. Transferência de IgG através da placenta humana. A ligação entre IgG e o FcRN ocorre à porção Fc e não Fab da IgG³⁹.

Megacariócitos fetais podem ser encontrados nos pulmões e fígado fetais a partir das 12 semanas de gestação e os antigénios plaquetários expressos em quantidades normais a partir das 16 semanas¹. De forma ainda mais precoce, numa segunda gravidez, os alo-anticorpos maternos (produzidos em gravidezes anteriores) podem ser detetados no sangue fetal desde as 6 semanas de gestação, aumentando o seu título logo no início do segundo trimestre¹. Desta forma é importante considerar sempre a história obstétrica da grávida/puérpera

nomeadamente abortos anteriores ou partos de crianças a quem tenha sido diagnosticado TNAI.

Os antígenos mais frequentemente implicados na TNAI fazem parte do sistema de antígenos plaquetários específicos (HPA - Human Platelet Antigen) que são expressos à superfície das plaquetas através de glicoproteínas (GP). Estas glicoproteínas desempenham um papel fundamental na adesão e agregação plaquetária. A maior parte dos HPAs resultam de polimorfismos de nucleótido único (substituição de aminoácidos) localizados nos principais recetores plaquetários: GPIIb/IIIa (integrina α IIb/ β 3 e recetor de fibrinogénio), o complexo GPIb-IX-V (recetor do fator von Willebrand), o complexo GPIa/IIa (recetor de colagénio) e ainda em CD109 uma proteína ancorada a um glicosilfosfatidilinositol¹¹.

Na população caucasiana e africana o HPA mais vulgarmente envolvido é o HPA1a, presente em aproximadamente 80-85% dos casos de TNAI^{2,13}. Os antígenos HPA1a e HPA1b são produtos de alelos polimórficos que diferem por alteração de um único par de bases no gene que codifica a glicoproteína GPIIIa (integrina β 3). Esta alteração conduz à substituição do aminoácido leucina por prolina na posição 33 da proteína, resultando numa conformação distinta¹².

97 a 98% dos indivíduos caucasianos expressam HPA1a nas suas plaquetas (HPA1a/1a em homozigotia ou 1a/1b em heterozigotia), os restantes 2 a 2,5% são HPA1a negativo (o mesmo que HPA1b/1b). São as mães pertencentes a este grupo - HPA1b/1b homozigóticas - que se encontram em risco de produzir os aloanticorpos, caso o pai seja HPA1a positivo em heterozigotia ou homozigotia². Existe portanto um pequeno grupo, em que sendo a mãe e o pai HPA1a negativos, não existe este risco.

Mais de 95% dos casos de TNAI confirmados sorologicamente, em caucasianos, dizem respeito à imunização contra 5 sistemas de antígenos plaquetários humanos, HPA 1, 2, 3, 5 e 15¹². Apesar destes 5 sistemas serem os mais frequentemente envolvidos, HPA1 é responsável por 80% dos casos de incompatibilidade na população caucasiana, HPA5 está associada a um fenótipo menos grave e HPA3 constitui apenas 1% dos casos de incompatibilidade feto-materna². Foram já identificados muitos outros HPAs (Zdravic em 2016 remete para a identificação de 36 HPAs diferentes)⁹ (figura 5), denominados HPAs de baixa frequência, que embora contribuam apenas para uma pequena fração dos casos de

TNAI podem ser considerados e requerer-se a sua genotipagem, nos casos de forte suspeita do diagnóstico e ausência de incompatibilidade feto-materna para os HPAs mais frequentes⁷.

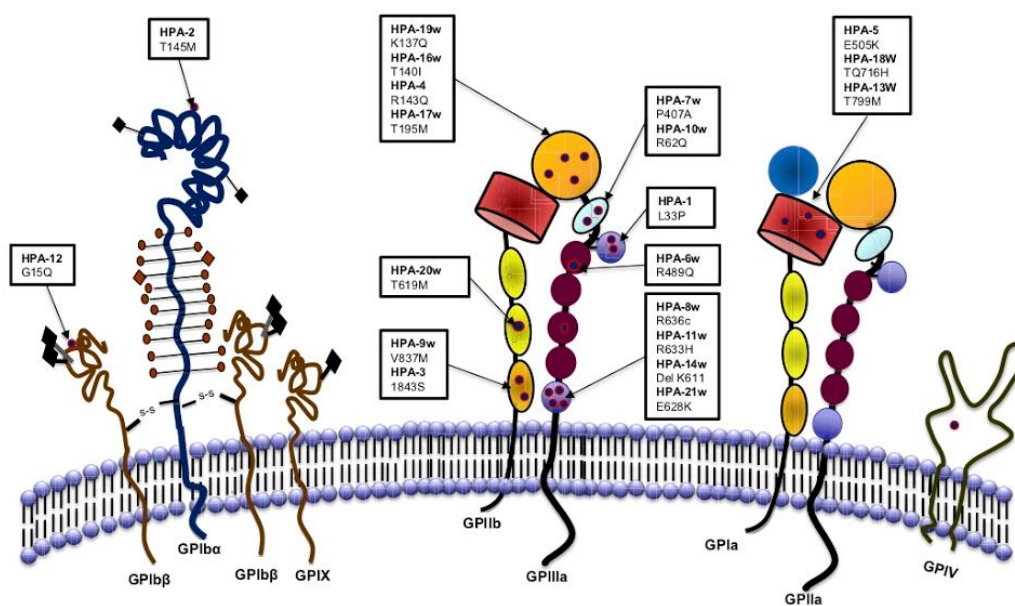


Figura 5. Alguns dos HPAs major, humanos, em vários complexos de glicoproteínas que são responsáveis pela aloimunização de grávidas, provocando trombocitopenia fetal e neonatal aloimune²⁶.

É igualmente importante considerar que a frequência destes HPAs varia entre as populações, em particular na população asiática, onde o HPA4b é responsável por cerca de 80% dos casos de TNAI².

A superfície das plaquetas contém outros antígenos para além dos HPA, incluindo antígenos do grupo sanguíneo ABO, antígenos leucocitários humanos (HLA) e GPIV (CD36, Nak)¹¹. Embora possa ocorrer, a TNAI por estes tipos de antígenos é muito rara.

Habitualmente as plaquetas expressam pequenas quantidades de antígenos A e B, do sistema ABO, na sua superfície. Contudo cerca de 5% dos indivíduos A ou B possuem plaquetas com um elevado número de antígenos deste tipo - acima de 20.000 por plaqueta - e são por isso denominados “type 2 high-expressers”. Os fetos “type 2 high-expressers”, adicionalmente ao risco de doença hemolítica, podem estar em risco de trombocitopenia aloimune no caso da mãe ser ABO incompatível e se desenvolva uma isoimunização¹².

A imunização materna à glicoproteína IV (CD36, Nak) é responsável por uma clínica de TNAI semelhante à provocada por antígenos HLA específicos embora não tenha sido nunca

reportada em caucasianos, presumivelmente pela raridade do fenótipo CD36 negativo nesta população¹².

Adicionalmente, o papel dos anticorpos anti-HLA na TNAI permanece controverso embora não possa ser excluída a sua importância no agravamento dos sintomas de TNAI¹².

Fatores de Risco para a imunização HPA1a

O antígeno plaquetário HPA1a é o mais frequentemente envolvido na patogênese da TNAI e, por esse motivo, aquele que tem sido mais estudado. Sabe-se que a incompatibilidade HPA1a isoladamente não explica o desenvolvimento de TNAI pois apenas cerca de 12% das grávidas HPA1a negativas com fetos HPA1a positivos produzem os aloanticorpos, ou seja, a maioria das gravidezes HPA1a incompatíveis (88%) não resultam em imunização^{1,2}.

Está descrito na literatura que mais de 90% dos aloanticorpos anti-HPA1a se desenvolvem em grávidas HLA-DRB3*01:01, conferindo esta condição um risco 20 a 25 vezes superior de produção deste tipo de aloanticorpos^{2,9}.

Os genes da Classe II do HLA codificam glicoproteínas expressas em APCs veiculando uma forma de apresentação de antígenos às células T. Estes genes incluem HLA-DR, HLA-DP e HLA-DQ. *01:01 constitui um dos 4 alelos possíveis do antígeno HLA-DRB3.

O antígeno leucocitário humano HLA-DRB3*01:01 está presente em mais de 90% das grávidas imunizadas em comparação com 27% na população geral; esta interdependência parece estar relacionada com a maior afinidade da glicoproteína GPIIIa (integrina β 3) que contém leucina na posição 33, na ligação a DRB3*01:01¹². Adicionalmente o mesmo autor sugere que a presença de dois alelos HLA (DRB3*01:01 e DRB4*01:01) aumenta o risco e a gravidade da TNAI e reduz o sucesso do tratamento com imunoglobulinas.

Parece também existir uma correlação entre o fenótipo e genótipo ABO maternos com a severidade da trombocitopenia. Mulheres imunizadas do grupo 0 apresentam menos risco de ter um RN com TNAI grave do que mulheres imunizadas do grupo A. Num estudo realizado em 2012 por Ahlen et al. apenas 20% dos RN filhos de mães do grupo 0 foram diagnosticados com TNAI grave em comparação com 47% dos RN filhos de mães do grupo A¹⁴.

Li et al.¹⁴ descrevem ainda que o status inflamatório da grávida pode desempenhar um papel na imunização sugerindo que um evento pró-inflamatório possa desencadear a resposta aloimune. Desta forma infecções virais e bacterianas podem facilitar o risco de doença fetal.

Apresentação Clínica

O paradigma da TNAI (sobretudo na incompatibilidade HPA1a) tem sido que os anticorpos maternos anti-HPA1a causam destruição de plaquetas fetais e que é o baixo número de plaquetas no feto/recém-nascido que desencadeiam a hemorragia. Assim é amplamente aceite que a tendência para a hemorragia é inversamente proporcional ao número de plaquetas em circulação⁵. Um dado importante para compreender as implicações clínicas da TNAI é o facto dos aloanticorpos HPA1a marcarem as plaquetas para destruição através da sua ligação à integrina $\beta 3$. A integrina $\beta 3$ está presente no complexo GPIIb/IIIa das plaquetas mas também na superfície endotelial vascular via complexo $\alpha V\beta 3$ (receptor vitronectina). Portanto, a ligação dos aloanticorpos não se estabelece apenas com plaquetas fetais mas também com a superfície endotelial vascular e produz efeitos diretos na angiogénese¹⁴. Yougbaré¹⁵ descreve os anticorpos HPA1a (ou anti- $\beta 3$) como responsáveis por diminuir a expressão de fatores pró-angiogénicos, aumentar a expressão de fatores anti-angiogénicos e provocar a down-regulation na sinalização AKT (serina/treonina cinase responsável pela de síntese intracelular de proteínas). Os mesmos são responsáveis pela inibição da proliferação das células endoteliais e consequentemente da rede vascular das veias umbilicais, *in vitro*, inferindo-se uma possível relação com o mecanismo de restrição de crescimento intra-uterino verificado em alguns casos de TNAI¹⁵.

Atualmente considera-se pouco provável que a trombocitopenia e as alterações na coagulação sejam o único fator determinante do risco de hemorragia na TNAI por HPA1a. Estudos recentes apontam as alterações verificadas na integridade vascular como o principal fator de risco de hemorragia nos fetos/ recém-nascidos com TNAI. Esta alteração no paradigma permite explicar a dificuldade em prever outcomes adversos (sobretudo hemorragia intracraniana) quando se considera isoladamente a contagem plaquetária¹⁴. Este dado reforça a importância da monitorização dos níveis de anticorpos maternos (durante a gravidez) em associação com a contagem de plaquetas fetais.

Os sintomas de TNAI podem surgir ainda *in utero* ou em RNs com menos de 72 horas de vida^{9,17}. A TNAI pode ser assintomática, sobretudo se a contagem de plaquetas for superior a 50.000/ μ L. Contudo, a maioria dos casos apresentam-se com uma contagem de plaquetas abaixo dos 50.000/ μ L, com um padrão de hemorragia predominantemente mucocutânea (petéquias localizadas ou generalizadas, púrpura, equimoses) e/ou mais raramente com hemorragia de órgãos (gastrointestinal, pulmonar, intracraniana, etc.). Apesar dos sinais de trombocitopenia, os RNs encontram-se, regra geral, clinicamente bem. Na ausência de manifestações cutâneas pode apenas ser detetada uma trombocitopenia em avaliação analítica realizada por outros motivos¹⁷.

A mãe habitualmente é assintomática com uma contagem plaquetária normal¹⁸ e pode haver história familiar de outros irmãos afetados. Habitualmente a trombocitopenia persiste enquanto houver níveis de IgG materna em circulação fetal (semi-vida de cerca de 21 dias) ocorrendo uma recuperação nas primeiras 4 semanas, acompanhando a descida do título de anticorpos⁵. A consequência mais temível da TNAI é a hemorragia intracraniana (HIC) pelo potencial risco de vida e pelo compromisso do neurodesenvolvimento nos sobreviventes¹. Por oposição à hemorragia intraventricular típica da prematuridade relacionada com a fragilidade vascular da matriz germinal perante insultos à estabilidade hemodinâmica, a hemorragia cerebral intraparenquimatosa é predominante na TNAI.

A TNAI é a causa mais frequente de trombocitopenia precoce grave e de HIC em RNs de termo⁵. A HIC ocorre em cerca de 9% dos casos sendo a hemorragia intraparenquimatosa (e no lobo temporal) a mais frequentemente observada¹⁴. No Centro Médico Universitário de Leiden, no Reino Unido, foi conduzido um estudo de cohort retrospectivo observacional de todos os casos de HIC decorrente de TNAI reportados entre 1993 e 2014⁴. Neste estudo os autores verificaram que a maioria (90%) das HIC, registadas naquele centro, ocorrem antes do nascimento, o que vai ao encontro com o publicado anteriormente¹⁹, e que a maioria das hemorragias são intraparenquimatosas e progridem para complicações como a hidrocefalia e quistos porencefálicos (complicações estas relacionadas com piores outcomes a nível do neurodesenvolvimento). A morte por HIC ocorreu em 1/3 dos casos e alterações a nível do neurodesenvolvimento foram comuns nos sobreviventes^{13,4}.

Diagnóstico

Diagnóstico de trombocitopenia

Perante um recém-nascido saudável que se apresenta com petéquias ou outros sinais de discrasia muco-cutânea deve confirmar-se laboratorialmente a trombocitopenia com a realização de hemograma ao RN. A determinação do volume plaquetário médio (VPM) pode ajudar a esclarecer o diagnóstico, nomeadamente distinguindo entre um processo de destruição/consumo (plaquetas com volume grande) e um processo por diminuição da produção (plaquetas pequenas)⁵.

Perante o recém-nascido com suspeita pré-natal de HIC deve começar-se com avaliação da contagem plaquetária, estudo da coagulação com APTT, TP e fibrinogénio.

Diagnóstico diferencial

Classicamente podemos dividir as causas de trombocitopenia de acordo o tamanho das plaquetas, a forma de aquisição - adquiridas ou hereditárias/congénitas (quadro 1) e em relação ao mecanismo patológico. Quanto ao mecanismo patológico podemos subdividir as trombocitopenias por diminuição de produção versus pelo aumento do consumo/destruição de plaquetas ou ainda causas mistas (quadro 2).

Diagnóstico Diferencial da TP por Etiologia

Trombocitopenias Adquiridas

Imunes

- Aloimune **(a)**
- Autoimune **(a)**
- Induzida pela Heparina

Infeção Congénita / Perinatal

- Citomegalovirus **(a)**
- Rubéola
- VIH
- Enterovirus
- Herpes simples
- Parvovirus B 19
- Toxoplasmose **(a)**
- Estreptococo grupo B

Outras

Infeção Pós-Natal

- Sepsis **(a)**

Outras

- Hipóxia Fetal Crónica **(a)** (insuficiência placentária, RCIU, hipertensão e diabetes maternas)
- Enterocolite Necrotizante **(a)**
- Asfixia Perinatal **(a)**
- Coagulação Intra-Vascular Disseminada
- Tromboembolismo
- Síndrome (S.) de Kasabach-Merritt
- Distúrbios Infiltrativos (Leucemia congénita, osteopetrose)
- Aneuploidias (trissomias 13, 18, 21)
- Distúrbios Metabólicos
- Insuficiência Hepática
- Hiperesplenismo
- Necrose Gorda Subcutânea do RN

Trombocitopenias Hereditárias

- Disfunção Plaquetária ausente ou ligeira
 - S. de Trombocitopenia com Ausência de Radio (Síndrome TAR)
 - Trombocitopenia Congénita Amegacariocítica (CAMT)
 - Trombocitopenia Amegacariocítica e sinostose radio-ulnar
 - Anemia de Fanconi
 - Trombocitopenia ligada ao MYH9
 - Trombocitopenia Autossómica Dominante (ligada ao cromossoma 10)
 - Doença de Von Willebrand tipo 2B
 - Púrpura Trombocitopénica Trombótica (deficiência de ADAMTS13)
- Disfunção Plaquetária
 - S. Wiskott-Aldrich
 - Macrotrombocitopenia ligada ao X (mutações GATA-1)
 - S. Chediak-Higashi
 - S. Bernard-Soulier
 - S. Paris-Trousseau (S. Jacobsen)

RCIU-Restrição do Crescimento Intra-Uterino; ADAMTS13, A *Disintegrin And Metalloproteinase with ThromboSpondin-1-like domains*.

(a) Causas frequentes de trombocitopenia.

Quadro 1. Diagnóstico diferencial de trombocitopenia neonatal por etiologia (trombocitopenias adquiridas e trombocitopenias hereditárias). Retirado de Consensos da Sociedade Portuguesa de Neonatologia⁵.

Diagnóstico Diferencial da TP por Mecanismo de Ação

Diminuição de Produção: Distúrbios genéticos (S. TAR; Anemia de Fanconi; CAMT; Aneuploidias – triss. 13, 18 e 21); Distúrbios congénitos das plaquetas (S. Wiskott-Aldrich, S. Bernard-Soulier); Distúrbios infiltrativos (leucemia, neuroblastoma, doenças de armazenamento);

Aumento de Destruição (+freq): Trombocitopenias imunes, induzidas por fármacos maternos; Consumo Periférico: Hiperesplenismo, S. Kasabach-Merritt, CID, Infecção, NEC, Trombose;

Causas Mistas: Hipotermia, Asfixia, D. Von Willebrand tipo 2B, Pré-eclâmpsia, Diluição (exsanguíneo-transfusão),...

Quadro 2. Diagnóstico diferencial de trombocitopenia neonatal por mecanismo de ação. Retirado de Consensos da Sociedade Portuguesa de Neonatologia⁵.

O aumento da destruição é o mecanismo mais comum, pode ocorrer em várias condições neonatais e a causa imune é origem frequente de trombocitopenia precoce.

No estudo etiológico da trombocitopenia devem ser considerados a altura de instalação da trombocitopenia (<72h precoce ou >72h tardia), o estado clínico do RN (cl clinicamente bem ou clinicamente doente), a forma de apresentação (trombocitopenia sintomática ou assintomática), a gravidade da trombocitopenia, a idade gestacional (termo ou pré-termo), a história materna/familiar, a ocorrência de asfixia perinatal, o uso de drogas na mãe ou no RN, a presença de dismorfias e/ou icterícia e/ou hepatoesplenomegália e ainda a contagem plaquetária⁵. Os fluxogramas apresentados nas figuras 6 e 7 são a abordagem sugerida pelos Consensos da Sociedade Portuguesa de Neonatologia em relação à trombocitopenia no RN.

As etiologias mais comuns de trombocitopenia de instalação precoce, ou seja, presente nas **primeiras 72 horas de vida** e também durante a vida fetal, estão mais frequentemente associadas com hipóxia fetal crónica, uma consequência da insuficiência placentária, ou hipóxia perinatal aguda (asfixia perinatal)⁸. Menos frequentemente podem relacionar-se com infeções perinatais²⁰. Especialmente na asfixia perinatal o insulto hipóxico aumenta o número de eritrócitos imaturos no sangue periférico com consequente diminuição relativa no número de plaquetas.

ORIENTAÇÃO DIAGNÓSTICA NA TROMBOCITOPENIA DE INÍCIO PRECOCE (<72H VIDA)

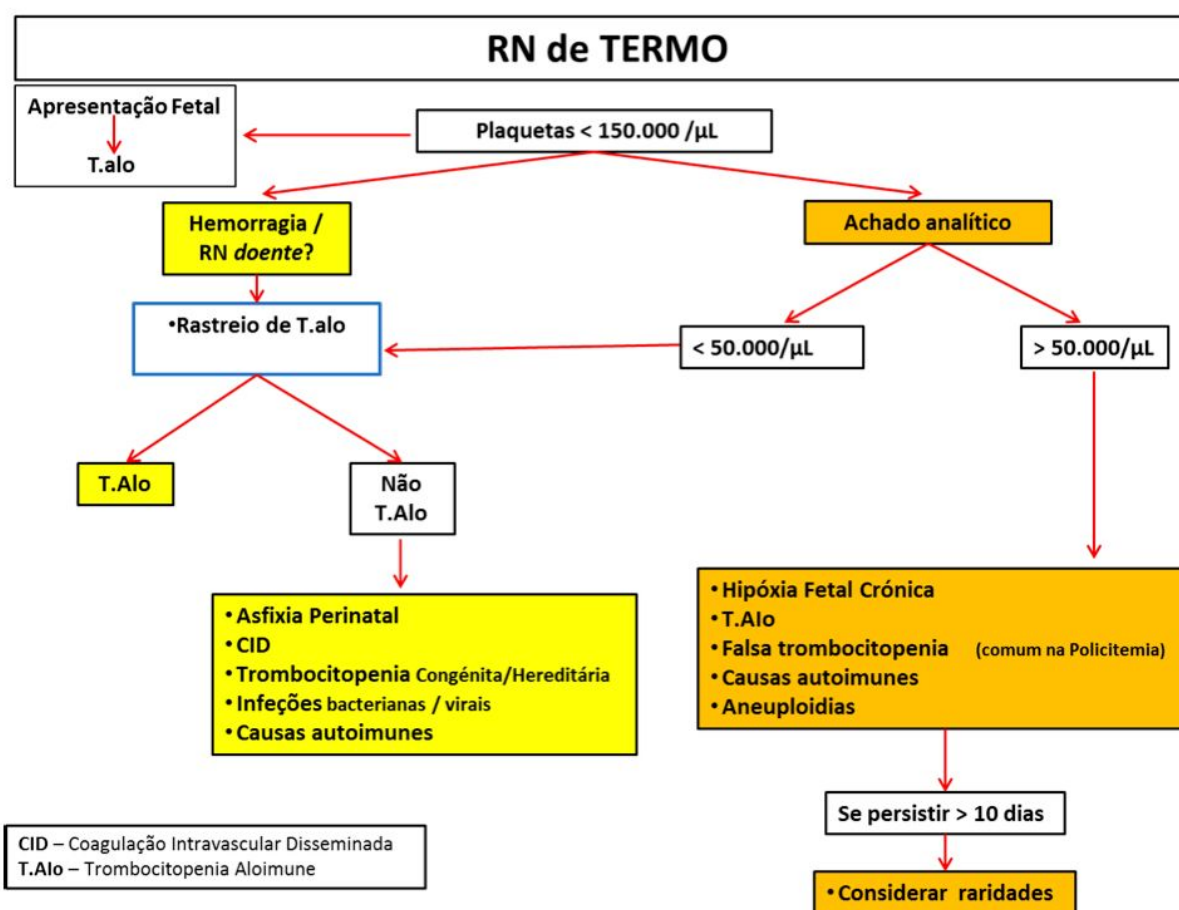


Figura 6. Orientação diagnóstica na trombocitopenia de início precoce. Fluxograma ou tabela resumo que apresenta uma possível abordagem diagnóstica à trombocitopenia neonatal de acordo com altura da apresentação, IG do RN e contagem plaquetária. Retirado de Consensos da Sociedade Portuguesa de Neonatologia⁵.

Por outro lado, a maioria das trombocitopenias **após as primeiras 72 horas da vida** resultam maioritariamente de sépsis bacterianas e fúngicas e/ou enterocolite necrotizante (NEC); o mecanismo envolvido resulta do consumo de plaquetas provocado pela coagulação intravascular disseminada (CID) associada e provavelmente exacerbada pela fraca reserva medular²⁰. No estudo de cohort PROGRAM (estudo randomizado controlado, em dupla ocultação e multicêntrico) os autores observaram que os casos de trombocitopenia associados a sépsis foram tão comuns nas sépsis a *estafilococcus coagulase negativos* como nas sépsis a gram-negativos ou outros agentes bacterianos (60 versus 45% dos episódios respetivamente)²⁰.

**ORIENTAÇÃO DIAGNÓSTICA
NA TROMBOCITOPENIA DE INÍCIO TARDIO
(>72H VIDA)**

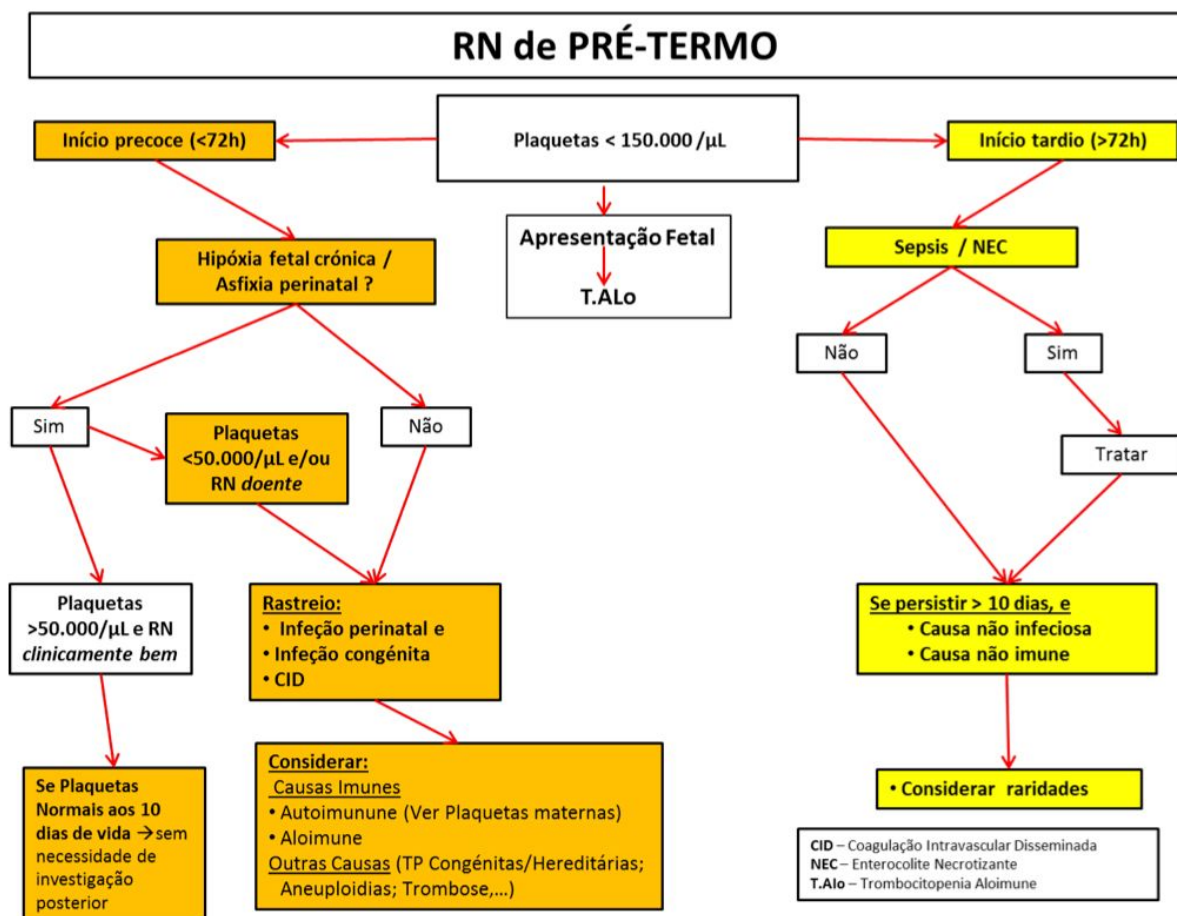


Figura 7. Orientação diagnóstica na trombocitopenia de início tardio. Fluxograma ou tabela resumo que apresenta uma possível abordagem diagnóstica à trombocitopenia neonatal de acordo com altura da apresentação, IG do RN e contagem plaquetária. Retirado de Consensos da Sociedade Portuguesa de Neonatologia⁵

No **RN clinicamente doente (ou prematuro)** a trombocitopenia surge mais frequentemente associada à sépsis/CID, seguida por NEC, asfíxia perinatal, hipóxia intrauterina crônica, infecções do grupo TORCH (toxoplasmose e citomegalovírus principalmente)⁸. Nas infecções virais congênitas, para além de trombocitopenia, há um aumento do número de linfócitos circulantes com uma morfologia típica que indica a sua pré-ativação²⁰. Distúrbios do metabolismo, como a acidémia metilmalónica, o uso de certos antibióticos (ampicilina, vancomicina, cefalosporinas) e outros fármacos (heparina, AINE), ou o próprio processo de trombose ao redor de um cateter de longa duração também podem ser causas de trombocitopenia no RN doente ou prematuro; nestes casos manifestando-se habitualmente a trombocitopenia depois dos primeiros 4 dias de vida⁸. Não é habitual um RN prematuro apresentar trombocitopenia por TNAI sobretudo pela elevada prevalência das outras causas embora não se deva excluir este diagnóstico com base na prematuridade.

Num **RN aparentemente saudável**, a trombocitopenia é provavelmente secundária à insuficiência placentária ou a um processo imunomediado, auto ou aloimune. A TNAI manifesta-se geralmente por uma trombocitopenia mais pronunciada, com contagens plaquetárias geralmente $<50.000/\mu\text{L}$ enquanto que a insuficiência placentária produz uma trombocitopenia leve a moderada ($50.000/\mu\text{L}$ a $150.000/\mu\text{L}$) 4 a 7 dias após o parto e que resolve espontaneamente em cerca de 10 dias. As características clínicas presentes numa história de insuficiência placentária incluem um RN pequeno para a IG, uma história de restrição de crescimento intrauterino ou hipertensão materna, diabetes ou pré-eclâmpsia⁸. A hipóxia crônica da insuficiência placentária conduz à hematopoiese no sentido de aumentar o número de eritrócitos em detrimento do número de plaquetas e neutrófilos. Estudos *in vitro* demonstram uma redução no número de megacariócitos e precursores, na presença de elevados níveis de trombopoietina²⁰. Assim os RN com trombocitopenia secundária a insuficiência placentária apresentam outras alterações hematológicas que ajudam na confirmação do diagnóstico incluindo neutropénia transitória, aumento do número eritrócitos nucleados em circulação, com ou sem policitémia e corpos Howell-Jolly²¹.

Filhos de mães com transferência placentária de auto-anticorpos anti-plaquetários apresentam habitualmente uma trombocitopenia leve a moderada e um menor risco de hemorragia grave em comparação com recém-nascidos em que a causa da trombocitopenia seja aloimune ou por insuficiência placentária, embora uma trombocitopenia grave possa ocorrer⁷. A **trombocitopenia auto-imune** resulta de auto-anticorpos maternos direcionados para

plaquetas maternas e plaquetas fetais. Neste caso a contagem plaquetária materna antes do parto possui valor preditivo, condicionando um maior risco de trombocitopenia fetal. Contudo nem sempre a gravidade de trombocitopenia reflete o grau de trombocitopenia neonatal pelo que todos os RN cuja mãe tenha púrpura trombocitopenica idiopática, lúpus eritematoso sistêmico ou outra doença autoimune conhecida devem ser triados para trombocitopenia ao nascimento independentemente da contagem de plaquetas maternas no parto⁸. A realização de hemograma à mãe no caso de desconhecimento de doença autoimune é fundamental.

Também importa reconhecer que a trombocitopenia pode ser a primeira manifestação de doença grave (sépsis, NEC, coagulação intravascular disseminada, etc.) mesmo no RN aparentemente saudável e mesmo que não curse com a elevação de outros parâmetros inflamatórios (por exemplo leucocitose com neutrofilia, PCR e procalcitonina). Fará sentido em muitos casos a realização de hemoculturas e início empírico de antibioterapia se outras etiologias de trombocitopenia não forem imediatamente aparentes.

No RN com contagem de plaquetas $<150.000/\mu\text{L}$ deve-se, em primeiro lugar, repetir a colheita para descartar um falso positivo relacionado com o consumo de plaquetas no local de punção (presença de coágulos). O exame físico deve incluir a inspeção da pele e mucosas em busca de petéquias ou púrpura e ainda verificar se o RN apresenta algum sinal de doença. Rever as serologias maternas e apurar se a gravidez foi vigiada bem como averiguar a presença de microcefalia ou organomegalias podem orientar no sentido de uma infecção congénita ou neonatal⁸.

No RN com plaquetas $<150.000/\mu\text{L}$ ou um diagnóstico suspeito de TNAI deve realizar-se uma ecografia transfontanelar para avaliar e documentar a presença de hemorragia intracraniana. A ecografia transfontanelar deve ser repetida em caso de alterações neurológicas suspeitas ou de forma seriada até à resolução da trombocitopenia⁸.

Casos mais raros e que cursam com trombocitopenia podem estar envolvidos. Tanto a síndrome de trombocitopenia e ausência de rádio (TAR) como a anemia de Fanconi estão associadas a trombocitopenia e anomalias das extremidades superiores. Certas aneuploidias como a trissomia 21 e a Síndrome de Turner e ainda distúrbios genéticos, como a trombocitopenia amegacariocítica congénita (CAMT), a Síndrome de Wiskott-Aldrich (WAS) e a síndrome de Jacobsen podem cursar com trombocitopenia neonatal. Contagens

diminuídas de múltiplas linhagens celulares hematopoiéticas pode significar um distúrbio infiltrativo da medula óssea (leucemia congénita ou osteopetrose). Nos casos em que exista forte suspeição destas situações específicas poderá ser necessária determinação do cariótipo, a pesquisa de mutações/deleções particulares, biópsia/aspirado de medula óssea e estudo metabólico, etc.

Diagnóstico etiológico

Com base num estudo que decorreu na Polónia PREVFNAIT: ‘Prevention of alloimmune thrombocytopenia in fetuses and neonates (AIMPN) in Poland’’, dos cerca de 200 casos de TNAI estimados tendo em conta os seus dados demográficos, menos de 30 casos são efetivamente diagnosticados¹³. Todos os anos, muitos casos de TNAI escapam ao diagnóstico e tratamento adequados¹⁹. Uma baixa taxa de diagnóstico pode refletir a ausência de diagnóstico antenatal, a ausência de manifestações clínicas em alguns casos e ainda o desconhecimento da doença em centros menos diferenciados¹³.

Mesmo sendo estabelecido após o nascimento do bebé em cerca de 90% dos casos, o diagnóstico é de grande importância, primeiro ao permitir tratar o bebé afetado e segundo ao permitir o acompanhamento de gravidezes futuras do casal¹⁷.

O diagnóstico de TNAI é laboratorial e implica uma suspeita clínica, a confirmação da trombocitopenia e a exclusão das causas mais frequentes de trombocitopenia como sépsis, enterocolite necrosante, asfíxia perinatal, coagulação intravascular disseminada, anomalias cromossómicas, doença hemolítica do recém-nascido e infeções do grupo TORCH¹⁷. A avaliação laboratorial deve (1) confirmar a incompatibilidade entre os sistemas HPA materno e fetal/paterno e, ao mesmo tempo, (2) confirmar a presença de anticorpos maternos anti-HPA^{4,7,17}. No caso de um resultado laboratorial duvidoso o teste deve ser repetido um mês depois e o mais cedo possível para qualquer gravidez subsequente⁴.

O ensaio de imobilização monoclonal de antígenos de plaquetas (MAIPA) é considerado *gold-standard* para a deteção de anticorpos antiplaquetários, pois confirma a presença e demonstra o tipo de anticorpos envolvidos (permite a deteção de vários antígenos raros além dos mais comuns HPA1, HPA3, HPA5 e HPA15)⁹. Os resultados demoram 2 a 3 dias pelo que são principalmente utilizados na confirmação do diagnóstico e monitorização dos níveis

de anticorpos maternos em gestações subsequentes. No caso deste teste não ser eficaz na identificação dos anticorpos (sobretudo na ausência de avidéz) existe a possibilidade de recorrer à *surface plasmon resonance technology*⁹.

A taxa de recorrência familiar depende do genótipo paterno: em caso de homozigotia paterna a taxa de recorrência é virtualmente de 100%, enquanto que em caso de heterozigotia paterna é cerca de 50%^{1,9}. Em ambos os casos deve ser realizada a genotipagem fetal em gravidezes subsequentes. Atualmente a identificação de HPA1a pode ser obtida através do ADN fetal livre na circulação materna, de forma não invasiva⁹; por oposição às técnicas invasivas, tais como biópsia das vilosidades coriônicas ou amniocentese, que podem ainda ser de interesse em algumas situações particulares¹⁸.

Diagnóstico pré-natal

Apesar da falta de evidência, é amplamente difundida a ideia de que gravidezes subsequentes produzem consequências mais graves para o feto/recém-nascido incompatível e comportam um maior risco de recorrência²². Assim, a ênfase atual encontra-se no rastreio e na abordagem terapêutica apenas para gravidezes subsequentes, embora também seja tema de discussão quais as gravidezes que poderão beneficiar de tratamento antenatal. A gravidade da TNAI na gravidez anterior e os níveis séricos de anticorpos anti-HPA1a da grávida podem ser parâmetros importantes na estratificação da doença *in utero*²³. Níveis maternos de anticorpos HPA1a superiores ou iguais a 3 IU/ml durante a gravidez possuem elevada sensibilidade (90%) na predição de TNAI grave sendo este o cut-off utilizado em guidelines nacionais na Noruega²³. O valor preditivo positivo (VPP) da concentração dos anticorpos é reportado como sendo similar ao valor preditivo da história clínica obstétrica, contudo a última não pode ser utilizada para a determinação do risco numa primeira gravidez. Por outro lado o valor preditivo negativo (VPN) da concentração de anticorpos é superior à história obstétrica, ou seja, a probabilidade do feto desenvolver TNAI na ausência de anticorpos maternos anti-HPA1a é muito baixo mesmo que tenha sido diagnosticado TNAI ao recém-nascido da gestação anterior¹³. Alguns estudos não confirmam a correlação entre a concentração de anticorpos e a gravidade da TNAI²⁴. Estes resultados discrepantes foram discutidos, e sugeriu-se que a quantificação do nível de anticorpos maternos anti-HPA1a por MAIPA pode ser útil em contexto de rastreio mas talvez não o seja em casos em que a TNAI já foi

diagnosticada numa gravidez anterior sendo urgente a definição de cut-offs ou de outros marcadores para esta população específica¹.

Contudo, e como relatam alguns autores²³, alguns dados não suportam a opinião comum de que a gravidade da aloimunização HPA1a seja superior em gestações subsequentes. Tiller et al.²³ reportam num estudo observacional prospetivo Dinamarquês, que decorreu entre 2004 e 2012, cujo objetivo foi avaliar gravidezes subsequentes em mulheres previamente HPA1a imunizadas e que não receberam tratamento antenatal, de forma a determinar o curso natural da TNAI ao longo de diferentes gravidezes na mesma mulher. Os autores referem que recém-nascidos, com irmãos mais velhos a quem foi diagnosticado TNAI, apresentaram contagens plaquetárias semelhantes ou superiores sem tratamento antenatal, em dois terços das gestações subsequentes. Este estudo leva à consideração de que em qualquer gravidez (primeira ou subsequentes) em que ocorra TNAI, o risco de TNAI grave existe, e que portanto todas as gravidezes merecem especial atenção na abordagem a esta doença e não especialmente as subsequentes. É com base nesta premissa que surge a ideia do rastreio universal.

O rastreio e a imunoprofilaxia na incompatibilidade ao antígeno D do sistema Rh limitaram a prevalência e a gravidade da doença hemolítica do recém-nascido, com muitas vidas salvas a este propósito. Vários estudos confirmam que um programa de rastreio para a identificação de mulheres HPA1a negativas é custo-efetivo na prevenção da TNAI já que a monitorização da produção de anticorpos maternos conjugados com o doppler ecográfico poderão permitir o tratamento de grávidas em risco de doença fetal¹.

Entre 2013 e 2016 decorreu um estudo na Polónia PREVFNAIT 'Prevention of alloimmune thrombocytopenia in fetuses and neonates (AIMPN)¹³. Os objetivos deste estudo foram o estabelecimento de um protocolo de rastreio para TNAI HPA1a e respetivo tratamento precoce. A tipificação de HPA1a foi feita por fenotipagem (análise FACS - fluorescence activated cell sorter) ou por genotipagem a todas as mulheres inscritas voluntariamente no programa. Todas as mulheres identificadas como HPA1a negativas (HPA1b/1b) foram testadas quanto à presença de anticorpos anti-HPA1a às 16–20, 24, 32 e 40 semanas de gestação e posteriormente cerca de 6 semanas no pós-parto. As mesmas mulheres foram adicionalmente tipadas para HLA de forma a verificar o envolvimento do HLA-DRB3*0101 na TNAI. Os pais foram testados quanto à zigotia de HPA1, já que no caso do pai ser

heterozigoto (HPA1a/b) existe uma possibilidade de 50% de que o feto seja compatível com a mãe (HPA1b/1b). Em mulheres com anticorpos HPA1a, a determinação da genotipagem plaquetária fetal foi não-invasiva através da análise do ADN fetal livre, isolado no plasma materno de modo a estabelecer a incompatibilidade. Todas as gestantes aloimunizadas com anticorpos anti-HPA1a e com trombocitopenia fetal/neonatal ou HIC em gestações anteriores foram tratadas empiricamente com IgEV 1g/kg semanal, a partir de 24 a 28 semanas de gestação. O tratamento adequado na primeira gestação foi feito com base na contagem individual de plaquetas fetais (realizada entre as 24-28 semanas de gestação). Grávidas de fetos com trombocitopenia foram tratadas com uma dose de IgEV de 1g/kg semanalmente. A colheita de sangue fetal foi realizado novamente no terceiro trimestre (34-36 semanas) para avaliar a eficácia da terapêutica e para planejar a via de parto. As mulheres com fetos com trombocitopenia grave (contagem de plaquetas inferior a 50.000/ μ L) diagnosticada próximo do termo receberam esteróides (prednisona 1mg/kg uma vez por dia) e o parto ocorreu por cesariana.

O aspeto mais limitante apresentado no modelo de rastreio anterior, é a determinação não invasiva da genotipagem fetal para HPA1a. Este procedimento tem sido discutido quer pelos seus condicionamentos técnico-laboratoriais com o impacto que testes falsos-positivos possam implicar na gestão da gravidez, quer pelos custos que a técnica acarreta e seu custo-benefício. Orzinka, et al³⁶ apresentam um protocolo laboratorial de determinação do genótipo HPA1a fetal de forma não invasiva e concluem que o método utilizado (real-time polymerase chain reaction PCR e next-generation sequencing NGS) é confiável para predizer o genótipo fetal HPA1a permitindo uma correta gestão do risco de TNAI. O método foi inicialmente utilizado durante a fase de definição do protocolo de rastreio anteriormente apresentado e é atualmente oferecido a todas as mulheres grávidas negativas para HPA1a com anticorpos anti-HPA1a executado pelo laboratório de referência em Varsóvia, o Instituto de Hematologia e Medicina Transfusional. A grande utilidade deste teste é poder determinar a quem realizar a imunoprofilaxia com imunoglobulina para a TNAI.

Atualmente existe um outro projeto europeu, disponível em <http://www.profnait.eu> que permite a mulheres parturientes com um RN diagnosticado com TNAI serem dadoras de plasma. As proteínas mais importantes do plasma são os fatores de coagulação e as imunoglobulinas. A doação de plasma HPA1a negativo será útil na produção de novos fármacos com imunoglobulinas utilizados na imunoprofilaxia ou tratamento de

fetos/recém-nascidos com suspeita ou TNAI documentada. Atualmente é possível ser dadora nos EUA, Alemanha, Noruega e Suécia.

Tratamento pré-natal

Kamphuis e Tiller¹⁹ publicaram recentemente um estudo de cohort multicêntrico onde avaliaram o tipo de tratamento antenatal recebido e respectivos outcomes em mais de 600 casos de TNAI (referentes a casos clínicos em 10 países diferentes) ao longo de décadas. Os autores relatam que parece não haver benefício na aplicação de procedimentos diagnósticos ou terapêuticos invasivos (cordocentese para colheita de amostra de sangue fetal ou para administração fetal de IgEV/esteróides). Ao longo dos anos em que o estudo decorreu, a maior parte dos centros deixou de recorrer a estes procedimentos invasivos ou limitou a sua utilização a situações particulares. Atualmente é prática comum a estratégia não invasiva através da administração materna de IgEV, com ou sem esteroides, sendo que esta previne a hemorragia no feto ou RN em praticamente todos os casos. Neste estudo os autores reportam uma frequência de HIC de 3,7%, mais baixa que em estudos anteriores, o que segundo os mesmos pode ser explicado pelo tratamento antenatal. A frequência anteriormente reportada de HIC era de 10% na TNAI grave, que ocorre em cerca de 0,04% das gravidezes²⁵.

O potencial terapêutico da IgEV durante a gestação na prevenção da TNAI ocorre provavelmente a vários níveis, (1) no soro materno ligando-se aos antígenos fetais antes ainda de ocorrer resposta imunitária materna, prevenindo-a; (2) impedindo a transferência transplacentária de IgG no caso de já ter ocorrido resposta imunitária materna; e ainda (3) no sangue fetal bloqueando os recetores Fc nas células efectoras tais como macrófagos¹⁹. O tratamento implica a administração de IgEV à gestante semanalmente, a partir do 2º trimestre até ao final da gravidez⁷.

Adicionalmente a utilização de IgEV pode prevenir a hemorragia através de um efeito direto nas células endoteliais e não apenas impedindo a diminuição da contagem plaquetária¹⁶. O autor relata que este efeito é sobretudo verificado TNAI mediada por anticorpos HPA-1a (anti-integrina $\beta 3$) mas não na mediada por anti-GPIIb α , apesar de níveis semelhantes de trombocitopenia nos dois grupos. Como já abordado anteriormente os anticorpos anti-integrina $\beta 3$, para além de conduzirem à destruição plaquetária reduzem a densidade

vascular dos vasos cerebrais e da retina, comprometendo a sinalização para a angiogénese e promovendo o aumento da apoptose endotelial¹⁵. Uma das explicações apontadas para os casos que não respondem ao tratamento antenatal com IgEV (cerca de 20%) poderá estar relacionada com a impossibilidade de prevenção da lesão das células endoteliais nas TNAI não mediadas por anti-integrina $\beta 3$ ²³.

Uma alternativa para otimizar o tratamento antenatal será no futuro a combinação de IgEV com um fármaco cujo alvo seja a inibição do recetor FcRn. De acordo com Zdravic²⁶ esta combinação poderá ser útil na prevenção e tratamento da TNAI por prevenir o transporte transplacentário de anticorpos aloimunes através das vias dependentes de FcRn e independentes de FcRn (IgEV)²⁶. Além disso, a terapia anti-FcRn pode ser útil para a prevenção do transporte transplacentário de anticorpos patogénicos para o feto em outras doenças aloimunes, como a doença hemolítica do feto/RN e a neutropenia neonatal aloimune ou transferência de anticorpos patogénicos de mães com patologia autoimune, incluindo PTI, doença de Graves, Sjogren, anemia autoimune hemolítica e LES²⁶. Atualmente já existe a possibilidade de inibir o FcRn com rozanolixizumab[®] que permite uma nova abordagem terapêutica ao reduzir as concentrações de IgG patogénicos em doenças autoimunes. Atualmente em utilização em estudos de fase 2 em doentes com trombocitopenia imune (NCT02718716) e miastenia *gravis* (NCT03052751)⁴¹. A sua utilização ainda não está documentada durante a gravidez.

Outra forma de tratamento pode incluir fármacos anti-células NK uterinas, utilizados para prevenção e tratamento da restrição de crescimento intrauterino relacionada com os mecanismos fisiopatológicos envolvidos na TNAI³⁸.

Ademais programar o parto perto do termo (por indução ou cesariana) num centro com cuidados perinatais diferenciados e assegurar a disponibilidade de concentrados plaquetários compatíveis para administração se necessário, são requisitos importantes^{17,27}.

Tratamento pós-natal

Em Portugal, para o tratamento de RN a quem foi diagnosticada TNAI após o nascimento, são seguidas as recomendações dos consensos nacionais de neonatologia de 2013⁵. Este documento preconiza a transfusão de plaquetas com contagens plaquetárias inferiores a

50.000/ μ L (na ausência de hemorragia ativa) e com contagens plaquetárias inferiores a 100.000/ μ L na presença de hemorragia ativa ou risco grave de hemorragia. Idealmente devem ser utilizadas plaquetas HPA-compatíveis e, caso não estejam disponíveis, utilizam-se plaquetas maternas lavadas - para remoção dos anticorpos presentes no plasma - ou ainda plaquetas random/ dador aleatório. A dose a administrar deve ser entre 10-15ml/kg sendo que esta dose prevê um aumento de 50 a 100.000/ μ L plaquetas.

A utilização clínica de concentrados plaquetários deve cumprir os requisitos legais de hemovigilância (conforme o Decreto Lei nr. 267/2007) e a decisão de transfundir deve ser fundamentada clínica e laboratorialmente.

A utilização de imunoglobulina humana endovenosa (IgEV), 1 g/kg/dia, é referida apenas para o caso de ser necessário aguardar pela disponibilidade de plaquetas compatíveis. O uso de corticoides está reservado para trombocitopenias graves, refratárias aos tratamentos anteriores.

Num estudo de cohort realizado no Centro Médico Universitário de Leiden no Reino Unido entre 2006 e 2017²⁸, os autores verificaram que a contagem de plaquetas atinge valores mais elevados e de forma mais célere nas transfusões plaquetárias HPA compatíveis (plaquetas negativas para os antígenos HPA mais comuns: 1a/5b). Sugerem no entanto que, na ausência de plaquetas HPA-compatíveis, a transfusão com plaquetas de dador aleatório são apropriadas como estratégia de primeira linha na TNAI. A contagem de plaquetas e o tempo até atingir essa contagem são estatisticamente sobreponíveis, bem como o número de RN em que houve necessidade de repetir transfusão (figura 8). Ainda neste estudo verificaram que os casos que não receberam nenhum tipo de tratamento apresentaram uma contagem de plaquetas que ultrapassou os 50.000/ μ L de forma espontânea ao fim de 2 dias, sem ocorrência de novas hemorragias. Estes casos parecem corroborar o atual limite de transfusão (<20.000/ μ L na ausência de hemorragia) preconizado pelas guidelines Holandesas e poderão ser úteis na discussão do cut-off de transfusão de <50.000/ μ L preconizado nas guidelines Portuguesas, considerando adicionalmente o valor da massa plaquetária nos critérios transfusionais.

O tratamento com plaquetas antígeno-negativas é preconizado por vários autores até à normalização da contagem plaquetária e que, por vezes, cursos de transfusões de 4 a 6 semanas podem ser necessários para a normalização dos valores absolutos de plaquetas¹⁰.

Depois do diagnóstico ser estabelecido deve ser encaminhado o casal para aconselhamento genético de forma a gerir o risco de trombocitopenia aloimune em gravidezes futuras⁷.

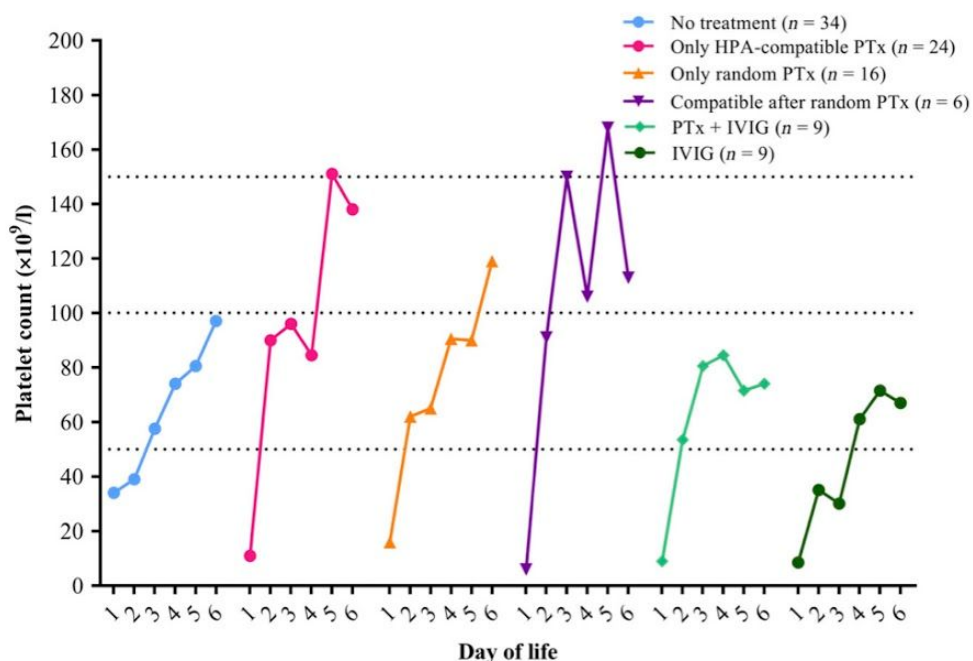


Figura 8. Evolução da contagem de plaquetas por estratégia de tratamento pós-natal. HPA, antígeno plaquetário humano; IVIG imunoglobulina intravenosa; PTx, transfusão de plaquetas²⁸.

Prognóstico

Desde que não ocorra HIC o prognóstico da TNAI é bom. A maior parte dos casos não acarreta sequelas futuras. A contagem de plaquetas atinge valores normais após cerca de 3 a 4 semanas após o nascimento com ou sem tratamento²⁸. Pela maior incidência de HIC durante o período pré-natal (cerca de 90%) este constitui o período de maior risco²⁹.

Ainda no Centro Médico Universitário de Leiden no Reino Unido foi levado a cabo outro estudo de cohort retrospectivo observacional de todos os casos de HIC decorrente de TNAI reportados entre 1993 e 2015⁴. Este estudo focou-se nas sequelas a longo prazo a nível do neurodesenvolvimento em crianças que sofreram de HIC causada pela TNAI, usando medidas psicométricas padronizadas. Foram incluídas no estudo 10 crianças que sobreviveram à HIC e, em 6 (60%) identificaram-se alterações graves a nível do neurodesenvolvimento. Considerou-se como alterações graves do neurodesenvolvimento qualquer uma das seguintes: paralisia cerebral grave (gross motor function classification

system \geq nível II), cegueira bilateral, surdez bilateral com necessidade de amplificação ou atraso global no desenvolvimento psicomotor significativo (<-2 desvios padrão abaixo da média das crianças da mesma idade, o que corresponde a um $QI < 70$ nas crianças mais velhas). Das restantes 4 crianças, 2 apresentaram alterações moderadas a nível do neurodesenvolvimento (alterações visuais graves e epilepsia) e apenas 2 não apresentaram qualquer tipo de sequelas⁴.

Na medida em que a maior parte dos casos de HIC ocorrem *in utero* (90%)⁴ parece sensato afirmar que a maior parte das sequelas a longo prazo só podem ser evitadas através do rastreio e tratamento preventivo eficaz, durante a gravidez.

Caso Clínico

Apresentação do caso clínico

Recém-nascido (RN) filho de mãe caucasiana de 37 anos, índice obstétrico (IO) 0/0/2/0, 2 abortos espontâneos do 1º trimestre, em 2015 e em 2017. Medicada com heparina de baixo peso molecular (HBPM) e ácido acetil salicílico (AAS) de baixa dosagem, durante a gravidez, por história de abortos prévios. Grupo sanguíneo A Rh positivo, saudável e sem antecedentes pessoais de relevo. Fumou até aos 25 anos e negava consumo de álcool, outra medicação ou substâncias de abuso. Casal não consanguíneo. Pai saudável, caucasiano, também sem antecedentes pessoais de relevo e sem filhos de outras relações. Gestação de 36 semanas + 1 dia, vigiada, com serologias a 04/06/2018, referentes ao 3º trimestre, negativas (VDRL, VHB, VIH 1 e 2, rubéola, CMV e herpesvírus (HSV) 1). Não imune à toxoplasmose. Diabetes gestacional diagnosticada no 2º trimestre, controlada com dieta. Ecografias obstétricas às 21 e às 33 semanas de gestação sem alterações. Às 35 semanas + 6 dias foi observada no Hospital de Santa Maria (HSM) por hemorragia vaginal. Na ecografia efetuada diagnosticou-se ventriculomegália (VM) bilateral, no feto, de +/-20mm (VM grave > 15mm) pelo que ficou internada. Repetiu ecografia após 2 dias onde se observou agravamento da VM (cornos posteriores de 29 e 27mm) e se documentou imagem parieto-temporal heterogénea direita com 48x25mm, sugestiva de foco hemorrágico. Por suspeita de enfarte hemorrágico foi decidido parto por cesariana no mesmo dia. Não fez indução da maturação pulmonar.

RN do sexo masculino com peso de 2,660g (P50) com um índice de apgar (IA) 10/10 e sem necessidade de reanimação. Transferido para a unidade de cuidados intensivos neonatais (UCIN) por ventriculomegalia e suspeita de enfarte hemorrágico. À admissão na unidade documenta-se discrasia muco-cutânea com petéquias dispersas, hemorragia num local de punção e um perímetro cefálico (PC) de 36,8cm (P>97). Estava vigíl, com boa vitalidade, estável do ponto de vista respiratório em O₂ ambiente com saturações periféricas de O₂ entre 97 e 100%, com uma fontanela anterior (FA) normotensa e exame neurológico sem alterações.

A avaliação laboratorial inicial documenta Hg 14.3g/dl, trombocitopenia grave de 5.000/ μ L plaquetas, tempo de tromboplastina parcial ativada (aPPT) de 120seg, tempo de protrombina (TP) normal e fibrinogênio 122mg/dl. Realizou duas transfusões de concentrado plaquetário (CP) 20ml/kg em D1 com subida para 15.000/ μ L plaquetas e plasma fresco congelado (PFC) 15ml/kg com normalização das provas de coagulação: aPPT 30.2/29. Fez 3 tomas de Imunoglobulina (IgEV) 1g/kg entre D1-D2. Adicionalmente, pela gravidade e recorrência do quadro fez 2 ciclos de corticoterapia com metilprednisolona. O primeiro entre D3-D6 1mg/kg/dose (2,7mg) de 12/12h. Reiniciou a corticoterapia a D7 por nova diminuição da contagem de plaquetas desta vez a 1mg/kg/dose (2,7mg) de 8/8h. Na figura 9 está descrito, com mais detalhe, este ciclo e restantes medidas terapêuticas relacionadas com a trombocitopenia. No total fez 12 transfusões de CP sendo que nenhuma delas foi de plaquetas HPA1a negativas.

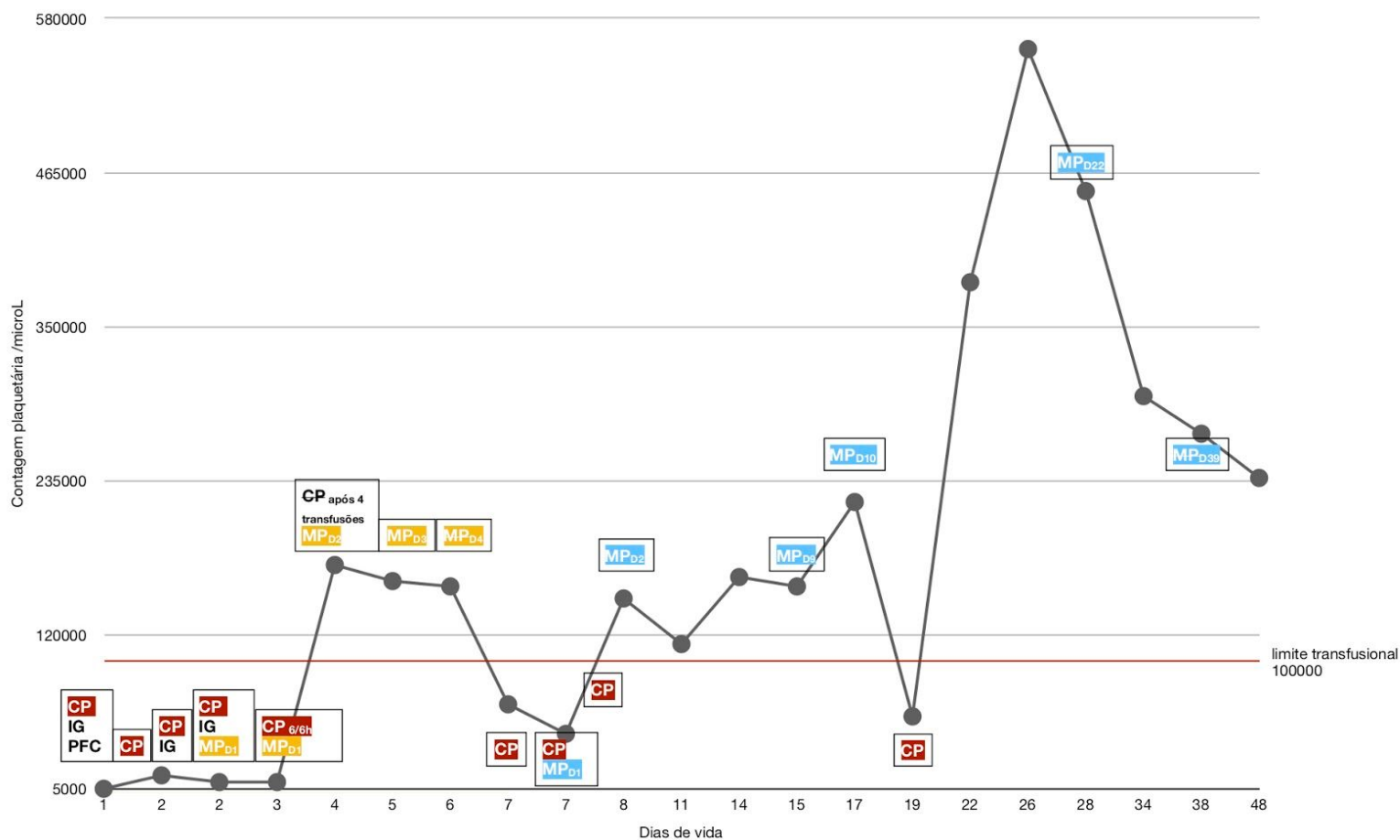


Figura 9. Evolução da contagem plaquetária e medidas terapêuticas. Gráfico que demonstra a evolução da contagem de plaquetas ao longo dos dias de vida do RN (a avaliação bidiária foi reportada). São também apresentadas as medidas terapêuticas instituídas. CP - concentrado plaquetário; IG - imunoglobulina EV; PFC - plasma fresco congelado; MP - metilprednisolona; ~~CP~~ - suspende concentrado plaquetário.

A amarelo está representado o primeiro ciclo de metilprednisolona EV 1mg/kg/dose de 12/12 horas, completou 7 doses entre D2-D6 de vida.

A azul está representado o segundo ciclo de metilprednisolona EV entre D7-D45 de vida. Entre D1-D10 foi administrado 1mg/kg/dose de 8/8h, de D10-D22 foi reduzido para 1mg/kg/dose de 12/12h, e de D22-D45 fez redução progressiva de 10%dose/dia até à suspensão. A partir de D42 a metilprednisolona passou a oral.

À data da alta (D52) apresentava uma contagem plaquetária de 237.000/ μ L plaquetas verificando-se uma estabilização do número de plaquetas após suspensão do segundo ciclo de corticoterapia.

Realizou ecografia transfontanelar (EcoTF) à admissão (figura 10) confirmando-se ventriculomegália (VM) bilateral supratentorial sem desvio da linha média, hemorragia intraventricular bilateral com coágulos em reabsorção nos ventrículos laterais (VL) e hematoma parieto-occipital direito (49x32mm) predominantemente hipocogénico sugestivo de enfarte hemorrágico já em reabsorção. Cisterna magna alargada com 1.25mm, cerebelo sem lesões hemorrágicas e vermis aparentemente íntegro. O índice de resistência (IR) artéria cerebral anterior era de 0,93.

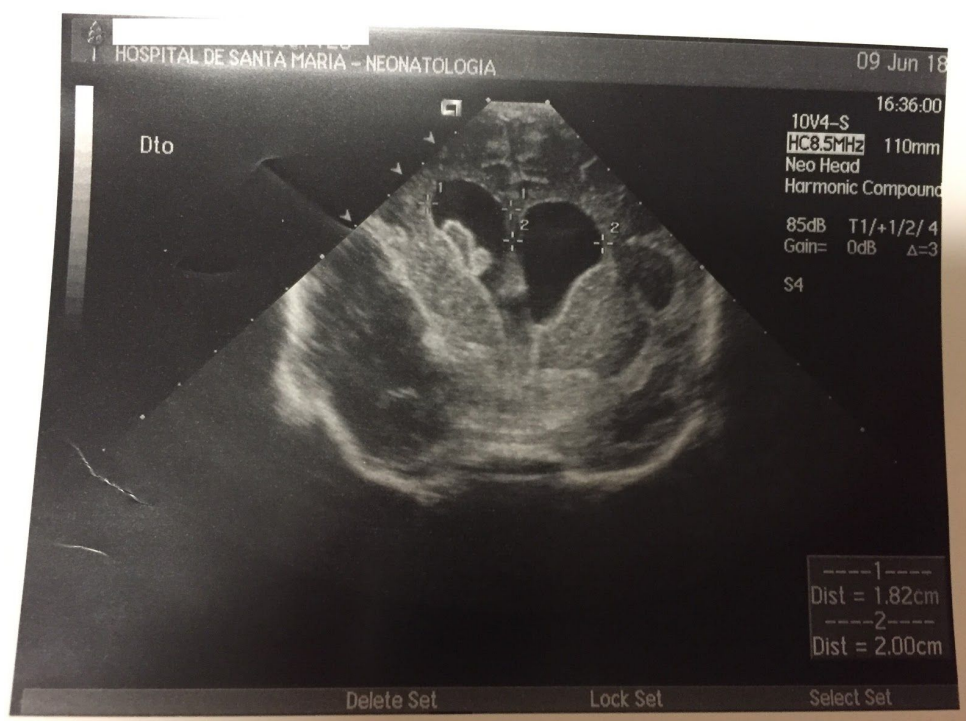


Figura 10. Ecografia transfontanelar, plano coronal

Em D2 verificou-se aumento da lesão porencefálica parietal direita para 53x26mm (correspondente ao território da ACM). Nas ecografias seriadas subsequentes, o índice Levene (IL) mostrou um aumento progressivo da VM com melhoria contínua após PL evacuadora e colocação de shunt ventrículo-peritoneal; a lesão parieto-occipital manteve-se estável embora a D5 se tenha observado aumento ligeiro da lesão quística porencefálica, com aspeto hemorrágico recente, sem evolução nos exames posteriores. O estudo por doppler seguiu a mesmo padrão evolutivo da VM com normalização inicial dos IR relacionado com a estabilização clínica, aumento posterior progressivo até à PL evacuadora e shunt ventrículo-peritoneal. Na figura 11 é apresentado, com mais detalhe, a evolução ecográfica ao longo do internamento.

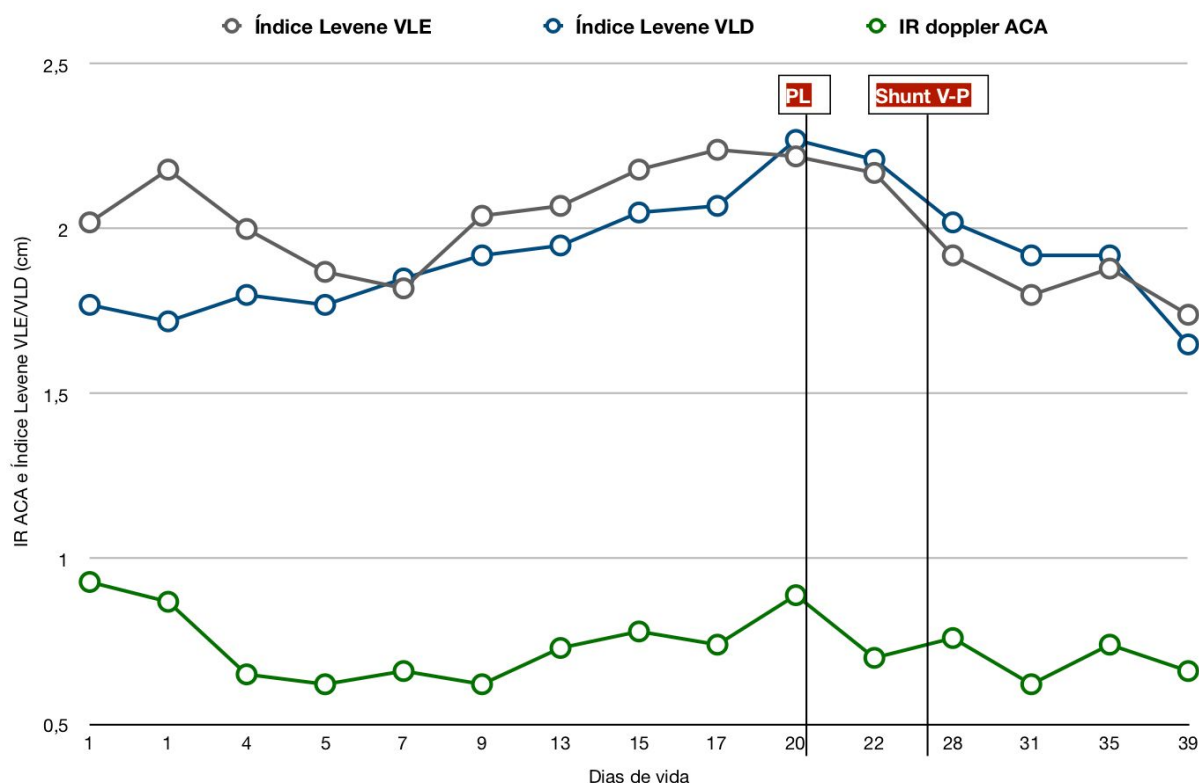


Figura 11. Evolução das dimensões dos ventrículos laterais e do índice de resistência da artéria cerebral anterior e medidas terapêuticas. Gráfico que documenta as dimensões dos ventrículos laterais, ao longo do internamento e o índice de resistência da artéria cerebral anterior avaliado por eco-doppler (a avaliação bidiária foi reportada). São apresentadas as datas quer da punção lombar evacuadora em D20 (drenados 19,5ml LCR) quer da cirurgia de colocação de shunt ventricular para a cavidade abdominal a D27.

Índice Levene (IL) - distância absoluta entre a foice e a parede lateral do corno frontal do ventrículo lateral ao nível do 3º ventrículo; (Valores de referência para 36 semanas de idade pós-menstrual aproximadamente entre 1,05 (percentil 3) e 1,3 cm (percentil 97)) VLE - Ventrículo lateral esquerdo; VLD - Ventrículo lateral direito; IR - índice de resistência; ACA - artéria cerebral anterior; PL - punção lombar; Shunt V-P - Shunt ventrículo-peritoneal.

O aEEG à admissão apresentava um traçado com voltagem de base normal, com ciclo de sono-vigília incipiente, sem convulsões elétricas. Esteve sob monitorização eletroencefálica contínua entre D1 e D2 sem registos de episódios convulsivos.

Fez duas ressonâncias magnéticas crânio-encefálicas (RM-CE), a primeira a D3, que confirmou “volumosa lesão hemorrágica intraparenquimatosa temporo-frontal direita, medindo cerca de 55,5mm (CC) x 52mm (AP) x 31mm (TR), em fase subaguda precoce/tardia, associando-se rotura ependimária e hemorragia intraventricular no ventrículo lateral direito e sedimentos hemáticos nos cornos occipitais bilateralmente. Coexiste discreto edema vasogénico peri-lesional. Associa-se hipersinal ao longo do seio lateral direito, com restrição à difusão, admitindo-se componente hemorrágico nesta topografia. Coexiste alargamento do sistema ventricular compatível com hidrocefalia”. A D43 realiza a segunda RM-CE que revelou “volumoso hematoma intraparenquimatoso temporo-parietal direito em fase subaguda tardia com molde hemático intraventricular direito de menores dimensões face ao exame anterior. Redução das dimensões das cavidades ventriculares, persistindo ectasia de tipo hidrocefalia dos ventrículos laterais. Fina coleção hemática extra-axial temporal direita”.

No contexto da trombocitopenia, discrasia muco-cutânea e hemorragia intracerebral foi colhido sangue materno (para genotipagem HPA e pesquisa de anticorpos antiplaquetários) e RN (genotipagem HPA e determinação da incompatibilidade HPA com a mãe) a D2. O diagnóstico de trombocitopenia neonatal aloimune HPA1a foi confirmado e estabelecido a D4, em articulação com o serviço de imunohemoterapia do Hospital de Santa Maria.

Por hidrocefalia secundária a hemorragia intracerebral foi seguido por neurocirurgia ao longo do internamento. Inicialmente sem indicação cirúrgica ou critérios para punção lombar (PL) evacuadora. Por agravamento clínico e imagiológico da hidrocefalia realizou PL evacuadora a D20 (19,5ml de LCR, aproximadamente 7,5 ml/kg) e colocou sistema de drenagem ventrículo-peritoneal (SDVP) a D29. Com evolução clínica favorável no pós-cirúrgico. Teve alta do ponto de vista neurocirúrgico a D47 com consulta agendada um mês após a alta.

Para avaliação das sequelas da hemorragia intracerebral e hidrocefalia foi seguido pela neuropediatria: sem alterações ao exame neurológico, à exceção de macrocefalia ($P > 97$) e sem indicação para terapêutica anticonvulsivante durante todo o internamento.

Durante o internamento o RN esteve sempre clinicamente estável do ponto de vista cardiorespiratório, em ar ambiente, sem sinais de dificuldade respiratória, com radiografia de

tórax em D1 sem alterações. Realizou ecocardiograma onde se documentou foramen oval patente (FOP) com uma boa função global.

A D19 apresentou um pico febril de 38,1°C (temperatura cutânea). Analiticamente destacou-se um discreto aumento relativamente aos valores de base na proteína C reativa 1,58 mg/dl e na procalcitonina 1,68 ng/ml. No final do mesmo dia a reavaliação laboratorial destaca leucocitose de 18.880/L com neutrofilia de 80.5%, PCR 5.6 mg/dl e procalcitonina 7.95 ng/ml e ainda trombocitopenia de 59.000/ μ L. Por suspeita de sépsis com meningite iniciou antibioterapia dupla empírica com meropenem 41 mg/kg (8/8h) e vancomicina 11 mg/kg (6/6h) após colheita de hemocultura e urocultura. A D20 fez PL evacuadora e diagnóstica (exame bacteriológico e citoquímico). O exame citoquímico do licor é turvo hemático com coágulo, xantocrômico com 73.6 células/ μ L e predomínio de PMN, proteinorráquia de 235.8 mg/dl e glicorráquia de 32 mg/dl. Não foram isolados agentes no LCR nem na hemocultura. No contexto da sépsis clínica tardia, sem isolamento de agente e com disfunção hematológica cumpriu 10 dias de antibioterapia e fez novo concentrado plaquetário com melhoria clínica e laboratorial.

Teve alta médica a D52 de vida com 3500g, a fazer alimentação total por tetina, 7 dias após ter suspenso a prednisolona com manutenção da contagem de plaquetas dentro dos valores de referência (237.000/ μ L à data da alta). Neurologicamente apresentava um exame normal e as ecografias cerebrais seriadas mostravam diminuição progressiva do volume dos ventrículos. Saiu com agendamento de reavaliação clínica e ecografia cerebral após uma semana e com referenciação para as sub-especialidades de hematologia pediátrica, pediatria do desenvolvimento e neuropediatria e especialidades de neurocirurgia e medicina física e reabilitação.

Discussão

Discussão do Caso Clínico

A ventriculomegalia (VM) é um achado não-específico na ecografia fetal. Corresponde a um marcador de patologia do sistema nervoso central fetal associado a múltiplas condições clínicas que podem não ser imediatamente aparentes na ecografia³⁰. A VM pode ocorrer por

obstrução à drenagem do líquido céfalo-raquidiano (com progressão para hidrocefalia) ou por expansão anormal da cavidade ventricular decorrente de processos destrutivos do parênquima periventricular³¹. Infecções virais *in utero* (especialmente por citomegalovírus, parvovírus B19, enterovírus, vírus varicela-zoster e vírus da coriomeningite linfocitária), bacterianas (sífilis) e parasitárias (principalmente toxoplasmose) são as causas que mais frequentemente se relacionam com ventriculomegália por destruição do parênquima periventricular. Na grande maioria, as infecções do parênquima cerebral fetal cursam com hidrocefalia associada a calcificações difusas e/ou periventriculares, microcefalia, hipoplasia cerebelar e do corpo caloso³². A causa obstrutiva mais comum é a obstrução por coágulos sanguíneos provenientes de hemorragia intraventricular. Outras causas obstrutivas raras são a espinha bífida (a perda de LCR para a cavidade amniótica provoca herniação cerebral pelo foramen magno dificultando a drenagem de LCR), doenças genéticas ligadas ao cromossoma X (que provocam estenose do aqueduto de sylvius), entre outras³¹.

No caso em discussão a ventriculomegália ocorreu de forma aguda (cerca de 3 semanas após uma ecografia sem alterações) e tardiamente na gestação (35 sem + 6 dias). Como não se objetiva nenhuma alteração cerebral adicional decidiu-se internamento para estudo. Habitualmente o estudo de ventriculomegália implica a realização de ecografias seriadas e realização de RMN-CE fetal para caracterização mais detalhada da VM, do impacto da VM no parênquima cerebral e de outras alterações associadas.

O diagnóstico fetal de hemorragia intracraniana (HIC) pode ser particularmente difícil sobretudo na gestação tardia, onde ocorre com mais frequência³⁰. De acordo com Gui et al.³³ a ultrassonografia pré-natal permite um diagnóstico preciso da HIC fetal embora os achados sejam variáveis e mudem com o passar do tempo. Uma hemorragia recente apenas é identificada ecograficamente se ocorrer a formação de um coágulo sanguíneo. O coágulo recente aparece como uma coleção uniformemente hiperecogénica, sem cone de sombra. Posteriormente os coágulos apresentam-se com uma parede/revestimento hiperecogénico externo e um núcleo anecogénico interno³³. Os achados ecográficos são muitas vezes subtis e bastante variáveis o que os torna difíceis de identificar e de diferenciar de outras lesões intracranianas³³. É importante reconhecer que o grau de detalhe do SNC por ecografia transabdominal varia consideravelmente de acordo com o equipamento utilizado³¹. Também a experiência do operador³¹ e o biótopo materno podem ser determinantes para a acuidade diagnóstica de estádios precoces de hemorragia intracerebral.

Na presença de ventriculomegália associada à suspeita de hemorragia às 36 semanas + 1 dia é habitual diferir-se o diagnóstico definitivo para o período pós-natal pois a conduta terapêutica nesta fase não vai ser alterada. Eventualmente há centros e autores que defendem a confirmação diagnóstica *in utero* através de RMN-CE e etiológica por cordocentese. Optou-se pela confirmação diagnóstica e investigação etiológica após o nascimento que ocorreu por cesariana no dia em que foi equacionada a possibilidade de hemorragia intracerebral.

A história clínica materna e familiar era negativa para diátese hemorrágica e não existiam antecedentes maternos de trombocitopenia nem de doenças autoimunes. Durante a gestação não se documentou insuficiência placentária, não houve evidências de infecções do grupo TORCH, de coagulação intravascular disseminada (trombocitopenia de consumo) nem de toma de fármacos (indometacina, digoxina, penicilina, antiepilépticos, quinidina) para além dos descritos na apresentação do caso clínico. Há contudo uma história de 2 abortos anteriores, no primeiro trimestre, deste casal.

Ao exame objetivo o recém-nascido estava clinicamente bem, documentando-se discrasia muco-cutânea e hematoma em local de punção; à palpação abdominal sem hepato ou esplenomegalia. Não apresentava dismorfias ou malformações major. Estes dados tornam menos provável uma trombocitopenia relacionado com trissomias (13 e 18, por exemplo) ou doenças hereditárias do metabolismo.

A avaliação laboratorial inicial documentou uma trombocitopenia grave (5.000/ μ L plaquetas), sem anemia (Hb 14.3g/dl) ou neutropénia (57% de neutrófilos). PCR inicial <0.03mg/dl. Não foi documentado o volume plaquetário médio (VPM) que poderia apontar para aumento da destruição/consumo (em caso de plaquetas grandes) ou diminuição da produção (se plaquetas normais ou pequenas). A avaliação laboratorial nesta fase torna menos provável alterações medulares (expectável uma diminuição das 3 séries) ou insuficiência placentária (desvio da produção medular no sentido da eritropoiese).

Tendo em conta os aspectos clínico-laboratoriais descritos as possíveis hipóteses diagnósticas serão a infeção congénita neonatal, distúrbios hematológicos e a trombocitopenia neonatal aloimune.

Infeção congénita neonatal

Diversas infecções virais, bacterianas e parasitárias *in utero* são associadas a alterações no normal desenvolvimento estrutural cerebral incluindo hidrocefalia e calcificações. O mecanismo de lesão resulta inflamação/infecção do tecido cerebral. A ausência imagiológica de outras alterações para além da VM (especialmente calcificações), serologias maternas negativas para VDRL, CMV e toxoplasmose com uma PCR inicial <0.03mg/dl e a ausência de manifestações extra-SNC (hepato ou esplenomegália) tornam a etiologia infecciosa menos provável. Contudo seria importante averiguar as serologias maternas para outros vírus que cursam com VM nomeadamente parvovírus B19, enterovírus, vírus varicela-zoster e vírus da coriomeningite linfocitária.

Distúrbios hematológicos

Apesar da história clínica materna e familiar ser negativa para diátese hemorrágica e consanguinidade, não se podem excluir distúrbios hemorrágicos hereditários (deficiência fator von Willebrand (vWD), hemofilias A/B/C e distúrbios raros como a disfibrinogenemia ou deficiência do fator XIII) especialmente numa mulher com antecedentes obstétricos de 2 abortos.

A maior parte dos casos de vWD não cursa com trombocitopenia (exceção pode ser o subtipo 2B), o TP está dentro dos valores de referência e o APTT encontra-se aumentado em cerca de 25% dos casos. Adicionalmente a doença de vW habitualmente não se manifesta no período pré natal e não se associa a HIC. Os outros distúrbios hemorrágicos referidos não cursam com trombocitopenia embora na hemofilia B existam relatos de hemorragia intracraniana como manifestação inicial da doença no período neonatal.

Distúrbios hemorrágicos induzidos por fármacos numa grávida sob terapêutica anticoagulante + antiagregante plaquetária devem também ser investigados. Contudo, e de acordo com a literatura, a HBPM não atravessa a barreira hemato-placentária não sendo por isso nem teratogénica nem causa de hemorragia fetal³⁴. Ainda relativamente à HBPM estão apenas descritos casos de trombocitopenia materna induzida pela heparina sem repercussão na contagem de plaquetas fetais³⁴. De acordo com as mais recentes recomendações do Colégio Americano de Obstetrícia e Ginecologia, também o AAS pode ser seguramente administrado durante a gravidez e durante o 3º trimestre, não aumentando o risco de hemorragia intracraniana nem outras complicações hemorrágicas³⁵.

A definição de aborto de repetição implica a ocorrência de 3 ou mais abortos. A partir dos 35 anos a ocorrência de 2 abortos é incluído dentro da categoria de abortos de repetição. As principais causas de abortos de repetição são alterações anatómicas ou genéticas fetais bem como alterações imunológicas como é o caso das trombofilias ou doenças autoimunes associadas às trombofilias. O Síndrome dos anticorpos antifosfolípidos (SAAF) é uma trombofilia adquirida muito associada à ocorrência de abortos de repetição e para a qual a administração de HBPM + AAS aumenta de 10 para 90% a probabilidade de uma mulher com a doença ter uma gravidez bem sucedida. Embora a indicação formal para a administração de HBPM e AAS esteja bem documentada no SAAF há quem opte pela sua administração em outras trombofilias (défice de fator V de Layden, défice de proteína C e S, etc) ou mesmo antecedentes de complicações obstétricas graves sem nenhuma trombofilia documentada ³⁴.

Trombocitopenia neonatal aloimune

A favor deste diagnóstico temos a presença de VM de instalação recente, próximo do termo da gestação, associada à suspeita de hemorragia intracraniana unilateral fetal e posterior confirmação ecográfica ao nascimento e um RN aparentemente saudável, onde as únicas alterações ao exame objetivo são a discrasia muco-cutânea e um hematoma em local de punção. Também a gravidade da trombocitopenia (5.000/ μ L) representa um achado laboratorial não específico mas muito frequente na TNAI.

Esta apresentação é altamente sugestiva de TNAI. Não se pode contudo excluir a presença de uma malformação arteriovenosa (MAV), apesar da sua manifestação habitual não ser a rutura espontânea durante o período pré-natal e desta não cursar com trombocitopenia. A RMN é, portanto, fundamental para esclarecer as alterações do parênquima cerebral, embora nem sempre seja possível o diagnóstico numa fase precoce.

Ainda dentro das trombocitopenias exclui-se insuficiência placentária por não haver história obstétrica documentada, o RN apresentar um peso normal para a IG e tanto os reticulócitos como a fórmula leucocitária se apresentarem sem alterações ao nascimento. Também já tinha sido excluída trombocitopenia materna por púrpura trombocitopenica idiopática, lúpus eritematoso sistémico ou outra doença autoimune.

O diagnóstico de trombocitopenia neonatal aloimune GPIIb/IIIa (HPA1a) foi confirmado e estabelecido a D4 de vida do RN, em articulação com o serviço de imuno-hemoterapia do

Hospital de Santa Maria pelo método de ELISA (um dos módulos do procedimento MAIPA). A incompatibilidade HPA1a é a mais frequente e corresponde a cerca 80% dos casos na população caucasiana.

A documentação inicial de trombocitopenia grave (5.000/ μ L plaquetas) e uma confirmação ecográfica à admissão de hematoma parieto-occipital direito em evolução (48x25mm para 49x32mm no mesmo dia) implica medidas agressivas para parar a hemorragia e prevenir novos focos hemorrágicos. Mesmo na ausência de diagnóstico etiológico definitivo, o tratamento inicial foi dirigido para o tratamento da TNAI devido à elevada probabilidade do diagnóstico. Reunidos os critérios de transfusão optou-se por administração de CP em associação com imunoglobulina EV (terapêutica adjuvante), repetindo-se nos dois dias seguintes por resposta insuficiente. A IgEV pode otimizar e prolongar o efeito da transfusão ao inibir a destruição periférica de plaquetas por ligação aos recetores Fc dos anticorpos, competindo pela ligação às plaquetas³⁷. Foram administrados CP sempre que a contagem de plaquetas foi inferior a 100.000/ μ L sendo este o limite mínimo considerado seguro na presença de hemorragia grave. Em D3 de vida foi necessária a administração de CP de 6/6h por um valor absoluto muito baixo de 10.000/ μ L plaquetas e demora na subida da contagem. De ressaltar que todos os CP administrados foram de dador aleatório. As administrações subsequentes de CP poderiam ter sido de plaquetas HPA1a negativo ou alternativamente plaquetas maternas lavadas, conforme sugere a literatura, o que poderia ter sido determinante na subida da contagem de plaquetas mais precoce.

A utilização de corticoides EV é documentada, na literatura, como tratamento alternativo embora exista falta de evidência na sua utilização e os possíveis efeitos secundários sejam elevados³⁷. Foi utilizada neste caso, após insucesso terapêutico com as medidas anteriores em D2 de vida. Por corticodependência houve necessidade de se recorrer a um segundo ciclo mais prolongado procedendo-se depois a uma diminuição progressiva da dose até à suspensão. A sépsis tardia diagnosticada neste recém-nascido poderá ter sido potenciada pelo corticoterapia e o seu efeito imunossupressor, não descurando contudo a sepsis associada aos cuidados de saúde e associada a cateteres venosos periféricos.

Em último recurso poderia ter sido utilizada a técnica de exsanguíneo-transfusão com o intuito de remover os aloanticorpos da circulação fetal. Pode ainda ser uma opção na ausência de plaquetas ou imunoglobulina mas atualmente esta técnica não é aplicável devido aos

elevados riscos de complicações hemorrágicas associadas ao procedimento que são particularmente elevados em recém-nascidos com uma contagem plaquetária baixa³⁷.

Prognóstico

Apesar de à data da alta o exame neurológico ser normal há descrição, durante o internamento, de irritabilidade e tremores das extremidades.

No caso de HIC no contexto de TNAI é muito importante o estabelecimento de um programa de seguimento em consultas, bem como a utilização de métodos imagiológicos (ecografias seriadas e RMN) que poderão fornecer dados para o estabelecimento do prognóstico e caracterização das sequelas futuras, bem como permitir a intervenção precoce corrigindo ou otimizando as alterações identificadas.

Neste caso em particular não foi possível acompanhar o protocolo de seguimento do bebé pois a família mudou-se para Bruxelas no final de 2018. De qualquer forma passo a destacar as impressões clínicas das consultas após a alta. As consultas de reabilitação pediátrica e de neurocirurgia ocorreram cerca de 1 mês após a alta, aos 2 meses de idade corrigida (3 meses de idade real), da primeira destaca-se um bebé bem disposto que sorri e que parece seguir objetos. Movimentos simétricos nos 4 membros, com tónus muscular normal, mas com desorganização funcional. Atitudes de hiperextensão do tronco e de encerramento das mãos. A segunda consistiu na reavaliação aos 2 meses de pós-operatório após colocação de SDVP parietal direita, onde se objetivou uma fontanela anterior mole e deprimida com um PC=39.5cm (P15-P50). Por fim a consulta de oftalmologia ocorreu 5 meses após o nascimento e destaca-se o encaminhamento para consulta de subvisão e de estrabismo. Sem outros dados adicionais.

Assim destaca-se a desorganização funcional e a suspeita de sub-visão e estrabismo que poderão representar alterações iniciais do neurodesenvolvimento ou não ter qualquer significado patológico, que só o seguimento permitirá definir.

Adicionalmente deve ser proporcionado aconselhamento genético ao casal no planeamento de uma nova gravidez. Em terceiro lugar, caso ocorra uma nova gravidez deve determinar-se o genótipo HPA fetal e em caso de incompatibilidade a administração profilática de

imunoglobulina EV semanal a partir das 16 semanas com o intuito de prevenir a ocorrência de hemorragia intracraniana. Para além disso deverá ser fornecida informação esclarecedora e detalhada à mãe sobre o seu fenótipo HPA. Uma vez que se encontra imunizada contra o antígeno HPA1a, ou seja, ao possuir anticorpos anti-HPA1a, encontra-se em risco de desenvolver púrpura pós-transfusional na eventualidade de lhe serem transfundidas plaquetas HPA1a (as mais frequentes). É uma situação clínica rara mas de elevada gravidade.

Apesar de ser um assunto controverso, há países, sobretudo do norte da Europa que têm vindo a desenvolver estratégias de rastreio universal da TNAI. Discute-se no entanto os custos da sua aplicação, os benefícios (tendo em conta a raridade das formas graves de apresentação, já que são essas as que representam o core da nossa preocupação) e ainda pelo impacto que testes falsos-positivos representam na gestão da gravidez. Ainda assim o rastreio e o tratamento precoce pre-natal poderiam ter influenciado o curso e os *outcomes* deste caso em particular.

Em termos epidemiológicos seria também interessante saber o HLA desta mãe já que a literatura descreve que a presença do genótipo HLA-DRB3*01:01 e o grupo de sangue A (o grupo sanguíneo desta mãe) são fatores que aumentam o risco de produção de aloanticorpos e relacionam-se com o risco e com a gravidade da TNAI.

Bibliografia

1. Tiller, H., Husebekk, A., Ahlen, M.T., Stuge, T.B., Skogen, B. (2017) Current perspectives on fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia - increasing clinical concerns and new treatment opportunities. *International Journal of Women's Health* 9:223–234.
2. McGuinn, C.E., Mitchel W.B., Bussel, J.B. Fetal and Neonatal Alloimmune Thrombocytopenia. In: *Transfusion Medicine and hemostasis*. 2nd edition. Elsevier:2013; 609-613.
3. Kjeldsen-Kragh, J., Killie, MK., Tomter, G., et al (2007) A screening and intervention program aimed to reduce mortality and serious morbidity associated with severe neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Blood* 110(3):833-839.
4. Winkelhorst, D., Kamphuis, M.M., Steggerda, S.J., Rijken, M., Oepkes, D., Lopriore, E., van Klink, J.M.M. (2018) Perinatal outcome and long-term neurodevelopment after intracranial haemorrhage due to fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Fetal diagnosis and therapy*. doi:10.1159/000488280.
5. Vasconcellos, G., Portela, A., Pinto, R., Guedes, B. (2013) Trombocitopenia no recém-nascido. *Consensos da Sociedade Portuguesa de Neonatologia*.
6. Resch, E., Hinkas, O., Urlesberger, B., Resch, B. (2018) Neonatal thrombocytopenia - causes and outcomes following platelet transfusion. *European Journal of Pediatrics* 177:1045-1052.
7. Scott, J. P. Platelet and blood vessel disorders. In: Kielgman, Robert., et al. *Nelson textbook of Pediatrics*. Edition 20. Philadelphia Elsevier: 2016; 2400-2408.
8. Sillers, L., Van Slambrouck, C., Lapping-Car, G. (2015) Neonatal Thrmboctopenia: etiology and diagnosis. *Pediatric Annals* 44(7):175–180.
9. Zdravic, D., Yougbare, I., Vadasz, B., Li, C., Marshall, A.H., Chen, P., Kjeldsen-Kragh, J. (2016) Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Seminars in fetal & neonatal medicine* 21:19-27.
10. Rayment, R., Brunskill, SJ., Soothill PW., Roberts, DJ., Bussel, JB., Murphy, MF. (2011) Antenatal interventions for fetomaternal alloimmune thrombocytopenia. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2011, Issue 5. Art. No.: CD004226. DOI: 10.1002/14651858.CD004226.pub3.

11. Hayashi, T., Hirayama, F. (2015) Advances in alloimmune thrombocytopenia: perspectives on current concepts of human platelet antigens, antibody detection strategies, and genotyping. *Blood transfusion* 13(3):380-390.
12. Peterson, J.A., McFarland, J.G., Curtis, B.R., Aster, R.H. (2013) Neonatal alloimmune thrombocytopenia: pathogenesis, diagnosis and management. *British Journal of Haematology* 161(1):3-14.
13. Brojer, E., Husebekk, A., et al (2016) Fetal/Neonatal Alloimmune thrombocytopenia: pathogenesis, diagnostics and prevention. *Archivum Immunologiae et therapiae experimentalis* 64:279-290.
14. Ahlen, MT., Husebekk, A., Kjær Killie, M., Kjeldsen-Kragh, J., Olsson, M., Skogen, B. (2012) The Development of Severe Neonatal Alloimmune Thrombocytopenia due to Anti-HPA-1a Antibodies is Correlated to Maternal ABO Genotypes. *Clinical and Developmental Immunology*. Article ID 156867, doi:10.1155/2012/156867.
15. Yougbaré, I., et al. (2015) Maternal anti-platelet $\beta 3$ integrins impair angiogenesis and cause intracranial hemorrhage. *The Journal of clinical investigations* 125(4):1545-1556.
16. Bertrand, G., Kaplan, C. (2014) How do we treat fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia?. *Transfusion* 54(7):1698-1703.
17. Teixeira, A.T., Barradas, A., Trindade, C., Barroso, R. (2018) Trombocitopenia neonatal aloimune: Um diagnóstico a ter em mente. *Acta Pediátrica Portuguesa* 49:193-196.
18. Paidas, M.J. (2018) Neonatal alloimmune thrombocytopenia: Parental evaluation and pregnancy management [consultado em 27 de Agosto de 2018]. Disponível em: <https://uptodate.com>
19. Kamphuis, M.M., Tiller, H., van den Akker, E.S., Westgren, M., Tiblad, E., Oepkes, D. (2017) Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: management and outcome of a large international retrospective cohort. *Fetal diagnosis and therapy* 41:251-257.
20. Carr, R., Kelly, AM., Williamsonc, LM. (2015) Neonatal Thrombocytopenia and Platelet Transfusion – A UK Perspective. *Neonatology* 107:1-7.
21. Chakravorty, S., Roberts, I. (2012) How I manage neonatal thrombocytopenia. *British Journal of Haematology* 156:155-162.

22. Bertrand, G., Petermann, R., Kaplan, C., (2014) Prediction of IVIG treatment efficiency in fetal/neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Blood* 124(4):654-655.
23. Tiller, H., Husebekk, A., Skogen, B., Kjeldsen-Kragh, J., Kjær, M. (2016) True risk of fetal/neonatal alloimmune thrombocytopenia in subsequent pregnancies: a prospective observational follow-up study. *BJOG* 123(5):738-744.
24. Ghevaert C, Campbell K, Stafford P et al (2007) HPA-1a antibody potency and bioactivity do not predict severity of fetomaternal alloimmune thrombocytopenia. *Transfusion* 47:1296–1305.
25. Kamphuis, M.M, Paridaans, N., Porcelijn, L., De Hass, M. et al (2010) Screening in pregnancy for fetal or neonatal alloimmune thrombocytopenia: systematic review. *BJOG* 117:1335-1343.
26. Zdravic, D., Yougbare, I., Vadasz, B., Li, C., Marshall, AH., Chen, P., Kjeldsen-Kragh, J., Ni, H., (2016) Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. Elsevier: *Seminars in fetal & neonatal medicine* 21:19-27.
27. Kampuis, MM., Paridaans, N., Porcelijn, L., De Haas, M., van der Schoot, CE., Brand, A., Bonsel, GJ., Oepkesa, D. (2010) Screening in pregnancy for fetal or neonatal alloimmune thrombocytopenia: systematic review. *BJOG*. DOI: 10.1111/j.1471-0528.2010.02657.
28. Winkelhorst, D., Oostweegel, M., Porcelijn, L., Middelburg, et al. (2018) Treatment and outcomes of fetal/neonatal alloimmune thrombocytopenia: a nationwide cohort study in newly detected cases. *British Journal of Hematology* DOI: [10.1111/bjh.15216](https://doi.org/10.1111/bjh.15216)
29. Mendes, L.R., Ferrão, A., Malcata, C., Morais, A. (2006) Trombocitopenia Neonatal Aloimmune - Apresentação Clínica Tardia. *Acta Pediátrica Portuguesa* 37(1):27-29.
30. Putbrese, B., Kennedy, A. (2016) Findings and differential diagnosis of fetal intracranial haemorrhage and fetal ischaemic brain injury: what is the role of fetal MRI? *Br J Radiol* 2017; 90: 20160253.
31. Dall'Asta1, A., van Oostrum, N., Basheer1, SN., Paramasivam, G., Ghi, T., Galli, L., Groenenberg, I., Tangi, A., Accorsi, P., Echevarria, M., Perez, MA., Baiget, GA., Prefumo, F., Frusca, T., Go, A., Lees, CC. (2018) Etiology and Prognosis of Severe Ventriculomegaly Diagnosed at Late Gestation. *Ultraschall in Med*. doi: <https://doi.org/10.1055/a-0627-7173>
32. Cordeiro, C., Tsimis, M., Burd, I. (2015) Infections and Brain Development. *Obstet Gynecol Surv* 70(10):644–655.

33. Ghi, T., Simonazzi, G., Perolo, A., Savelli, L., Sandri, F., Bernardi, B., Santini, B., Bovicelli, L., Pilu, G. (2003) Outcome of antenatally diagnosed intracranial hemorrhage: case series and review of the literature. *Ultrasound Obstet Gynecol* 22:121–130.
34. Fonseca, AG., (2012) Hereditary Thrombophilia and Pregnancy: Thrombotic Risk and Pregnancy Outcome. *Acta Med Port* 25(6):433-441.
35. Committee on Obstetric Practice and Society for Maternal–Fetal Medicine (2018) Low-Dose Aspirin Use During Pregnancy. *Obstetrics & Gynecology* 132(1):44-52.
36. Orzinska, A., Guz, K., Uhrynowska, M., Dębska, M., Mikula, M., Ostrowski, M., Ahlen, MT., Husebekk, A., Brojer, E. (2018) Noninvasive prenatal HPA-1 typing in HPA-1a negative pregnancies selected in the Polish PREVFNAIT screening program. *Transfusion* 58(11): 2705-2711.
37. Winkelhorst, D., Oepkes, D., Lopriore, E. (2017) Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: evidence based antenatal and postnatal management strategies. *Expert Review of Hematology* 10(8):729-737.
38. Yougbaré, I., Tai, W-S., Zdravic, D., et al. (2017) Activated NK cells cause placental dysfunction and miscarriages in fetal alloimmune thrombocytopenia. *Nature Communications* 8(224):1-13.
39. Pyzik, M., Rath, T., Lencer, W.I., Baker, K., Blumberg, R. (2015) FcRn: The architect behind the immune and non-immune functions of IgG and albumin. *The Journal of Immunology* 194(10):4595–4603.
40. Christensen, R.D., Henry, E., Jopling, J., Wiedmeier, S.E., (2009) The CBC: Reference Ranges for Neonates. *Seminars in Perinatology-Elsevier* 33(1):3-11
41. Smith, B., Kiessling, A., Lledo-Garcia, R., et al. (2018) Generation and characterization of a high affinity anti-human FcRn antibody, rozanolixizumab, and the effects of different molecular formats on the reduction of plasma IgG concentration. *Taylor & Francis group* 10(7):1111–1130.