

Снежана Сретеновић,  
Жива Живић

Центар за хематологију, Интерна клиника,  
Клинички центар, Крагујевац, Србија  
Гастроентерохепатологија, Интерна клиника,  
Клинички центар, Крагујевац, Србија

## Имуна тромбоцитопенија и *Helicobacter pylori* инфекција

### Кључне речи:

имунолошка тромбоцитопенија,  
хронична (*ITP chr*),  
*Helicobacter pylori*

### Сажетак

**Увод.** Тромбоцитопенија се дефинише као смањење броја тромбоцита испод  $150 \times 10^9/l^1$ . Хронична имунолошка тромбоцитопенична пурпура (*ITP chr*) је аутоимуна болест проузрокована деструкцијом тромбоцита обложених антитромбоцитним аутоантителима у моноцитно макрофажном систему. *H.pylori* антитела могу имати унакрсну реакцију са антигенима мембране тромбоцита. *H. pylori* је убиквитарна грам-негативна бактерија која је умешана у патогенезу чира на желуцу и дванаестопалачном цреву, повезана је са аденокарциномом и *MALT* лимфомом, а такође и бројним аутоимуним болестима међу којима је и идиопатска тромбоцитопенија.

**Циљ рада.** Циљ рада је био да се утврди: учесталост инфекције са *H.pylori* међу новодијагностикованим тромбоцитопенијама; корелација ендоскопски верификоване лезије желудачне слузнице и *H.pylori* инфекције међу нашим испитаницима; учинак ерадикационе терапије на тромбоцитопенију код наших испитаника.

**Метод.** Учињена је проспективна анализа новооткривених болесника са тромбоцитопенијом који су прошли кроз једну хематолошку амбуланту у периоду од 01.03.2008. до 01.03.2009. а праћени су до 01.02.2010. Анализирано је 50 болесника. Сви болесници су подвргнути фиберендоскопском прегледу желуца уз политопске биопсије, урађен је уреза тест којим је верификована инфекција са *H.pylori*. Код болесника су учињени анализа по полу и старости као и лабораторијске анализе, вредности седиментације еритроцита, комплетне крвне слике, имунолошке, вирусолошке, хемостазни параметри, анализа хепатограма и урина, анамнеза и физикални преглед. Свим болесницима је урађена стернална пункција уз анализу мијелограма, који је показао постојање мегакариоцита. Статистички методи обраде података су дескриптивни (мере централне тенденције - аритметичка средина) и аналитичка статистика -  $\chi^2$  тест и процентуална значајност. Критеријум за значајност је  $p < 0,05$ .

**Резултати.** Просечна старост наших испитаника је 52,4 године; однос полова 4:1 у корист жена. Нема корелације између хеморагијског синдрома и броја тромбоцита, нема разлике у учесталости између благе, средње тешке и тешке тромбоцитопеније. У 28/50 испитаника постоји инфекција са *H.pylori*. Патолошке промене у желуцу различитог степена (ерозије и улкуси) дијагностиковане су код 22/28 позитивна болесника. Спроведена је ерадикациона терапија код свих болесника и сви су добро реаговали на прву терапијску линију лечења – кортикостероиди. Од 50 испитаника, код 9 је верификована акутна тромбоцитопенија, код 41 постоји хронична тромбоцитопенија. Само један болесник је након спроведене ерадикације *H. pylori* постигао нормалан број тромбоцита.

**Закључак.** Инфекција са *H.pylori* је била присутна код 56% испитаника, што показује неопходност тестирања у испитивању тромбоцитопеније у нашој популацији. Постоји висока повезаност лезије слузнице желуца и инфекције са *Helicobacter pylori* у наших испитаника,  $\chi^2$  тест;  $p < 0,05$ . Само код једног болесника након ерадикационе терапије *Helicobacter pylori* постигнут је нормалан број тромбоцита у посматраном периоду од 23 месеца, што указује на мултипле механизме настанка тромбоцитопеније.

.....

## Увод

Тромбоцитопенија се дефинише као смањење броја тромбоцита испод  $150 \times 10^9/l$ . Хронична имунолошка тромбоцитопенична пурпура (*ITP chr*) је аутоимуна болест проузрокована деструкцијом тромбоцита обложених антитромбоцитним аутоантителима у моноцитно макрофажном систему. Одликује се изолованом тромбоцитопенијом у трајању дужем од шест месеци, крварењем по кожи и слузокожама уз нормалан или повећан број мегакариоцита у коштаном сржи и одсуством других тромбоцитопенија<sup>2</sup>. Дијагноза *ITP* се поставља искључивањем јер за сада не постоји ниједан клинички ни лабораторијски тест на основу кога се може поставити дијагноза *ITP* са сигурношћу<sup>2</sup>. Моноклонска антитела су директно против антигена - гликопротеина *Gp IIb-IIIa*, *Gp Ia-IIa* и *Gp Ib-IX*, која су преваходно описана још од *Kiefer-a* са минималним модификацијама<sup>5,6</sup>. Данас се зна да је око 75% аутоантитела у хроничној тромбоцитопенији уперено против *Gp IIb/IIIa* и *GP Ib/IX*, а 40% болесника има аутоантитела против оба антигена. Ова аутоантитела не само да облажу тромбоците, већ су уперена и против мегакариоцита оштећујући њихово сазревање и ослобађање тромбоцита<sup>3,4</sup>. Национални институт за здравље САД наводи да се идиопатска тромбоцитопенија (*ITP*) јавља како у деце, тако и у одраслих. Деца обично добију акутни облик - привремену врсту *ITP*-а, углавном након вирусних инфекција. Одрасли углавном добијају *ITP* – у хроничном облику. *Helicobacter pylori* је убиквитарна грам-негативна бактерија која је умешана у патогенезу чира на желуцу и дванаестопалачном цреву, повезана је са аденокарциномом, *MALT* лимфомом, а такође и са бројним аутоимуним болестима, међу којима је и идиопатска тромбоцитопенија<sup>5,6</sup>. *Helicobacter pylori* антитела могу имати унакрсну реакцију са антигенима мембране тромбоцита, што је показано *immunoblot* есејом (*Mikrogen, Martinsried, Germany*) коришћеним од оболелих од *ITP*-а, а који су били и *Helicobacter pylori* позитивни, те су детектована *IgG* и *IgA* антитела директно

уперена против антигена ове бактерије (*CagA*, *VacA*, *UreB*, *HspA*, *HsB* и *UreaA*) а своју активност могу остварити и мимикријом<sup>6</sup>.

## Циљ рада

Утврдити учесталост инфекције са *Helicobacter pylori* међу новодијагностикованим тромбоцитопенијама;

Утврдити и упоредити ендоскопски верификоване лезије желудачне слузнице и *H.pylori* инфекције у односу на изоловану инфекцију без лезије слузнице желуца, међу нашим испитаницима;

Утврдити учинак ерадикационе терапије на тромбоцитопенију код наших испитаника.

## Метод

Учињена је проспективна анализа 50 новооткривених болесника са тромбоцитопенијом који су прошли кроз једну хематолошку амбуланту у периоду од 01.03.2008. до 01.03.2009. а праћени су до 01.02.2010. Сви болесници су подвргнути фиберендоскопском прегледу желуца уз политопске биопсије за уреза тест. Учињена је анализа по полу и старости. У болесника који су обухваћени овом студијом, урађене су следеће лабораторијске анализе: седиментација еритроцита, фибриноген, комплетна крвна слика аутоматски добијена на бројачу за крвне елементе *AL-816*, имунологија, вирусологија, параметри хемостазе, анализа хепатограма уз анамнезу и физикални преглед сваког болесника. Код свих болесника је урађена стерилна пункција уз анализу мијелограма (обојен по *MGG*), који је показао постојање мегакариоцита. Коришћени су статистички методи обраде података, дескриптивне мере централне тенденције (аритметичка средина), методи аналитичке статистике за процену значајности разлике  $\chi^2$  тест и процентуална анализа. Критеријум за статистичку значајност била је вероватноћа  $p < 0,05$ .

## Резултати

Просечна старост наших 50 испитаника је 52,4 године. Нема значајне разлике у просечној старости међу половима - просечна старост жена је 50,3 године, мушкараца 52,9 година. Међу нашим испитаницима са новооткривеном тромбоцитопенијом, однос женског према мушком полу је 4:1 у корист жена. Просечан број тромбоцита на презентацији у наших испитаника био је  $49,84 \pm 34,02 \times 10^9/l$ .

Анализирајући старосно доба жена са тромбоцитопенијом, 67,5% је било у добу од 40 до 69 година. У мушкој популацији, од 10 болесника 7 је имало од 30 до 69 година (Табела 1).

**Табела 1 .** Расподела према старости и полу болесника са тромбоцитопенијом

Старосни интервал жена	n	%
20 - 29	6	15 %
30 - 39	1	2,5 %
40 - 49	9	22,5 %
50 - 59	10	25,0 %
60 - 69	8	20,0 %
70 - 79	5	12,5 %
80 - 89	1	2,5 %
Укупно	40	100 %
Старосни интервал мушкараца	n	%
20 - 29	1	10 %
30 - 39	2	20 %
40 - 49	1	10 %
50 - 59	2	20%
60 - 69	2	20%
70 - 79	1	10 %
80 - 89	1	10 %
Укупно	10	100 %

Анализом броја тромбоцита међу испитаницима, благу тромбоцитопенију чини 24%, умерену 38% а тешку 38% (Табела 2).

**Табела 2 .** Расподела према броју тромбоцита на пријему

Plt - n x 10 <sup>9</sup>	n	%
80 - 139	12	24 %
79 - 30	19	38 %
< 29	19	38 %
Укупно	50	100 %

У 50% болесника на пријему регистрован је хеморагијски синдром. Хеморагијски синдром није у корелацији са бројем тромбоцита,  $\chi^2$  тест ( $p=0,098$ ) ( $p>0,05$ ).

На презентацији, 66% наших болесника било је без дијагнозе друге болести (Табела 3).

**Табела 3.** Новодијагностиковане пратеће болести уз тромбоцитопенију на презентацији

Врста болести	N / %
<i>Sy sicca primaria</i>	3 / 6%
Sjogrenov sy	2 / 4 %
SLE	4 / 8 %
<i>Sy antiphospholipidum</i>	8 / 16 %
Без дијагнозе друге болести	33 / 66 %
Укупно	50 / 100 %

Анализом 50 испитаника са новодијагностикованом верификованом мегакариоцитном тромбоцитопенијом уз негативну вирусологију (*HbsAg, HCV, HIV*), ендоскопским прегледом уз политопске биопсије код 56% болесника утврђена је инфекција са *Helicobacter pylori* (Табела 4).

**Табела 4.** *Helicobacter pylori* позитивност код верификоване тромбоцитопеније на презентацији

<i>Helicobacter pylori</i>	n	%
позитивни	28	56 %
негативни	22	44 %
Укупно	50	100 %

У 78,57% позитивних верификују се и патолошке промене слезнице желуца (ерозије, улкуси различите локализације). При иницијалном прегледу нико од болесника није наводио било какве тегобе гастроинтестиналног тракта. Постоји статистички значајна разлика у учесталости истовременог постојања ендоскопски верификоване лезије слезнице желуца и присутне *H.pylori* инфекције у односу на изоловану инфекцију без лезије слезнице желуца,  $\chi^2$  тест ( $p=0,0042$ ) ( $p<0,05$ ).

У посматраном периоду од 23 месеца, само 18% наших испитаника је било са акутном тромбоцитопенијом а код 82% верификована је хронична тромбоцитопенија.

## Дискусија

Удруженост имунолошке тромбоцитопеније и инфекције са *Helicobacter pylori* први су показали Gasbarrini и сарадници<sup>7</sup> доказујући антитромбоцитна антитела у болесника код којих је верификована инфекција

и низак број тромбоцита. Крварење је спонтано у кожи и слузницама, а назива се *пурпура*. Овај назив означава излазак еритроцита из капилара, при чему промене могу бити тачкасте (петехије) или сливене (екхимозе). Спонтано крварење у болесника са тромбоцитопенијом јавља се тек када се број тромбоцита смањи испод  $50 \times 10^9/l$ . Тачан праг у броју тромбоцита који осигурава хемостазу није могуће са сигурношћу установити; у прилог томе говоре и испитивања која су показала да при истом ниском броју тромбоцита,  $5 \times 10^9/l$ , неки болесници значајно крваре, а неки у знатно мањој мери<sup>8</sup>. И у наших испитаника нема корелације између броја тромбоцита и хеморагијског синдрома. Убиквитарност инфекције са *Helicobacter pylori* показује и присутност међу нашим испитаницима. Неколико механизма може објаснити повезаност *H.pylori* инфекције и *ITP*-а. Један од њих су антители против *H.pylori* и посебно против *CagA* протеина који показује унакрсну реакцију са антигенима тромбоцита и убрзава њихову разградњу<sup>9,10</sup>. Други могући механизам је модулација имунитета домаћина и аутоактивација *B-1* ћелија, као и измена фагоцитног капацитета моноцита заједно са ниским нивоом инхибитора *FcγR* рецептора *II B* пратећи инфекцију *H.pylori*<sup>11,12</sup>. Жене 2-3 пута чешће оболевају од *ITP* у односу на мушкарце и то у репродуктивном периоду, међутим, две нове студије показују да инциденција *ITP* расте са старошћу и да је највећа у 8. и 9. деценији, са медијаном дијагностиковања 56 година. Обе студије су установиле да после 65. године више нема разлике у заступљености полова међу оболелима од *ITP*<sup>2</sup>. Код наших испитаника тај однос је чак 4 према 1 у корист жена, са старосном медијаном која корелира са подацима из литературе. *ITP* је честа хематолошка болест са 4 до 10 новооболелих на 100.000 становника годишње<sup>2</sup>. У свету је до сада спроведено 11 студија о удружености инфекције са *H. pylori* и *ITP*, од тога осам у Јапану и по једна у Италији, Канади и Сједињеним Америчким Државама. Највећа преваленција инфекције са *Helicobacter pylori* је у Јапану. Постоји упадљива географска разлика присутне инфекције са *H. pylori* међу болесницима са *ITP*, као и одговор броја тромбоцита након ерадикације, наиме, ове учесталости су у корелацији<sup>13</sup>. У земљама са високом преваленцијом *H. pylori* инфекције као што је Јапан, постоји добар одговор у броју тромбоцита након спроведене ерадикације, као и у Италији где је тест на *H. pylori* препоручен у стандардној дијагностици одраслих суспектних на *ITP* уз ерадикациону терапију у иницијалном третману *H. pylori* позитивних пацијената<sup>14</sup>. Само три студије из САД и Канаде су показале ниску повезаност *H.pylori* инфекције и броја тромбоцита, као и слаб одговор броја тромбоцита након учињене ерадикације<sup>15</sup>. Сада се долази до закључка да инфекција са *H.pylori* не искључује повезаност са *ITP*-ом али није једини узрок<sup>16</sup>. То је показано и међу

нашим испитаницима, али је свакако бољи *respons* на примену прве линије терапије након ерадикације инфекције. Објашњење различитог одговора на спроведену ерадикацију *H. pylori* је можда у различитим генотиповима *H. pylori* са различитих географских подручја<sup>17</sup>. На пример, *H. pylori* који перзистира у Јапану испољава високу продукцију *cytotoxin-associated gene A (CagA)*, док је учесталост *CagA*-позитивног *H.pylori* у западним земљама знатно нижа. Детекција и ерадикација *H. pylori* је једноставна, јефтина и треба је препоручити у иницијалном третману *ITP*-а, посебно у подручјима са високом учесталошћу инфекције<sup>16,17</sup>. Евидентно је да је то случај и у наших болесника, што овај рад и показује. Третман подразумева *Amoxicillin 2x1 g, Clathromycin 2x500 mg* током седам дана, уз инхибитор протонске пумпе током месец дана. Већ педесет година препорука за иницијални третман *ITP*-а је примена кортикостероида у дози од  $1 \text{ mg/kg}$  ТТ; код нериспондера друга линија је примена имуноглобулина као припрема за спленектомију; као трећа линија код релапсирајућих након претходног је примена имунотерапије (*rituximab* уз кортикостероиде); као четврта агонисти *TPO* рецептора или комбинација више лекова истовремено све до трансплантације матичне ћелије хематопоезе, а све ради обезбеђења сигурног броја тромбоцита који ће омогућити безбедну хемостазу<sup>2</sup>.

## Закључак

1. *Helicobacter pylori* позитивност у 56% наших испитаника намеће обавезу ендоскопског испитивања уз уреза тест и спровођење ерадикационе терапије у болесника са новодијагностикованом тромбоцитопенијом.
2. Промене слузнице желуца ендоскопски верификоване уз *Helicobacter pylori* инфекцију су учесталије од само верификоване инфекције без лезије слузнице у наших испитаника.
3. Ерадикација *Helicobacter pylori* инфекције побољшава ефекат прве линије лечења тромбоцитопеније - кортикостероида. Само у једног болесника након ерадикације постигнут је нормалан број тромбоцита који се одржава током периода од 23 месеца, што потврђује ипак мултипле механизме у настанку хроничне тромбоцитопеније и на нашим просторима.

Snežana Sretenović,  
Živa Živić

Clinical center Kragujevac, Serbia,  
Clinic of internal medicine, hematology dpt.  
Clinical center Kragujevac, Serbia,  
Clinic of internal medicine, gastroenterohepatology dpt.

# Immune thrombocytopenia and *Helicobacter pylori* infection

## Key words:

Immune thrombocytopenia,  
*Helicobacter pylori*

## Abstract

**Introduction:** Thrombocytopenia is defined as number of thrombocytes less than  $150 \times 10^9/l$ . Chronic immune thrombocytopenic purpura (IT chr) is an autoimmune disease caused by destruction of thrombocytes encased with anti-thrombocyte autoantibodies in monocyte macrophage system. Anti *H.pylori* antibodies can cross-react with thrombocyte membrane antigens. *H.pylori* is widespread gram-negative bacterium, involved in pathogenesis of gastric and duodenal peptic ulcers, and associated with adenocarcinoma and MALT lymphoma, and various autoimmune diseases such as idiopathic thrombocytopenia.

**Objective:** (1) Establish the frequency of *H.pylori* infection among newly diagnosed cases of thrombocytopenia. (2) Establish the correlation between lesions of gastric mucous membrane, confirmed by endoscopic evaluation, and *H.pylori* infection in our examinees. (3) Establish the effect of eradication therapy on thrombocytopenia in our examinees.

**Method:** Prospective analysis of patients with thrombocytopenia who visited hematology outpatient department in period from 01.03.2008. to 02.03.2009, with follow-up until 01.02.2010. Research included 50 patients. Detailed medical history, physical examination, laboratory analyses (ESR, CBC, liver function tests, immune, viral, and haemostatic parameters and urine analysis), fiber gastric endoscopy with polytopic biopsy and Urease test evaluation of *H.pylori* infection, and bone marrow aspiration, which revealed the existence of megakaryocyte, were performed in all subjects. Statistical methods were descriptive methods (central tendencies measurement – arithmetic mean) analytic statistics -  $\chi^2$  test and percentual significance. Criterion for significance is  $p < 0.05$ .

**Results:** The average age of the examinees is 52,4 years. The Male: female ratio is 1:4. There is no correlation between hemorrhagic syndrome and the number of platelets, also there is no difference in frequency of mild, moderate and severe thrombocytopenia. *H.pylori* infection was documented in 28 patients (out of 50). Various pathological changes in gaster (erosions and ulcers) were diagnosed in 22 out of 28 positive patients. Eradication treatment was conducted in all patients and they all responded on initial glucocorticoide treatment. 9 patients had acute thrombocytopenia, and 41 had Chronic thrombocytopenia. Platelet count was normalized in only 1 patient after *H.pylori* eradication therapy.

**Conclusion:** *H.pylori* infection was present in 56% of patients which implies the necessity of *H.pylori* testing in thrombocytopenic patients. There is strong association between gastric mucosa lesions and *H.pylori* infection in our patients,  $\chi^2$  test ( $p < 0,05$ ). Platelet count was normalized in only 1 patient after *H.pylori* eradication during 23 month long period of observation. That implies multiple mechanisms of thrombocytopenia.

## Литература References

1. Роловић З и Марисављевић Д: *Хеморагијски синдром и тромбозе - приручник за дијагнозу и лечење хеморагијског синдрома и тромбоза*. Спринт-Београд, 2002;стр. 45- 47.
2. Сувајђић Вуковић Н. *Примарна имунолошка тромбоцитопенија код одраслих – савремени концепт*. Acta Clinica, децембар 2011;11(3):35-37.
3. Cines DB, Blanchette VS. *Immune thrombocytopenic purpura*. N.Engl J Med 2002;46:995-1008.
4. Stasi R. *Immune pathophysiology of primary immune thrombocytopenia*. In: Hematologica Education program for 16th Congress of the European Hematology Association, June 9-12.2011, London, United Kingdom, 2011;5:173-8.
5. Gasbarrini A, Franceschi F. *Autoimmune diseases and Helicobacter pylori infection*. Biomed Pharmacother. 1999;53:223-226.
6. Ko GH, Park HB, Shin MK, et al. *Monoclonal Antibodies against Helicobacter pylori cross-reaction with human tissue*. Helicobacter. 1997;2: 210-215.
7. Gasbarrini A, Franceschi F, Tartaglione R et al. *Regression of autoimmune thrombocytopenia after eradication of Helicobacter pylori*. Lancet 1998;352:878.
8. George JN, Rizvi MA. *Diagnosis and management of thrombocytopenia*. In: Hemostasis and thrombosis. Basic Principles and Clinical Practise. Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Clowers AW, George JN, editors. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001;p.1021-1029.
9. Takahashi T, Yuijiri T, Shinohara K et al. *Molecular mimicry be involved in the pathogenesis of H. Pylori – associated chronic idiopathic thrombocytopenic purpura*. Br J Haematol ?;124:91-96.
10. Franceschi F, Christodulides N, Kroll MH et al. *Helicobacter pylori and idiopathic thrombocytopenic purpura*. Ann Intern Med 2004;140:766-7.
11. Yamanishi S, Iizumi T, Watanabe E et al. *Implication for induction of autoimmunity via activation of B – I cells by Helicobacter pylori urease*. Infect Immun 2006;74:248-56.
12. Asahi A, Nishimoto T, Okazaki Y et al. *Helicobacter pylori eradication shifts monocyte Fc gamma receptor balance toward inhibitory Fc gamma R II B in immune thrombocytopenic purpura patients*. J Clin Invest 2008 ;118:2939-49.
13. Law RH, Zhang O, McGowan et al. *An overview of the serrpin superfamily*. Genome Biol. 2006;7:216-26.
14. Emilia G, Luppi M, Zuccini P, Morselli M et al. *Helicobacter pylori infection and chronic immune thrombocytopenic purpura: longterm results of immune thrombocytopenic purpura: longterm results of bacterium eradication and association with bacteriam virulence profiles*. Blood 2007;110:3833-41.
15. Jackson SC, Beck PL, Buret AG et al. *Long term platelet responses to Helicobacter pylori eradication in Canadian patients with immune thrombocytopenic purpura*. Int J Hematol 2008;88:212-8.
16. Stasi R, Sarpatwari A, Segal JB, Osborn J et al. *Effects of eradication of Helicobacter pylori infection in patient with immune thrombocytopenic purpura: a systematic review*. Blood 2009;113: 1231-40.
17. Emilia G, Luppi M, Zucchini P et al. *Helicobacter pylori infection and chronic immune thrombocytopenic purpura: longterm results of bacteriam eradication and association with bacteriam virulence profiles*. Blood 2007;110:3833-41.