

REFRACTARIEDADE PLAQUETÁRIA

Teresa Sousa Guerreiro

RESUMO

A transfusão de plaquetas desempenha um importante papel no suporte terapêutico dos doentes cirúrgicos, hematológicos, oncológicos e transplantados. As melhorias que gradualmente se têm vindo a implementar ao nível das técnicas de separação e armazenamento plaquetar, contribuíram para a grande disponibilidade deste componente e para um significativo aumento no seu consumo em transfusão alogénica. Com esta modalidade transfusional foi possível diminuir a taxa de mortalidade por hemorragia nos doentes com trombocitopenias agudas e crónicas e mais recentemente, instituir terapêutica com quimioterapia de alta dose com suporte autólogo de medula e recurso aos factores de crescimento hematopoiético, em doentes com patologias de prognóstico fatal como as leucémias e os tumores sólidos.

Contudo em aproximadamente 10% das transfusões de plaquetas o sucesso clínico é limitado, com incrementos plaquetários discretos, desenvolvendo-se um estado de refractariedade plaquetária, que culmina numa destruição acelerada das plaquetas transfundidas. É assim posta em causa toda uma evolução terapêutica de décadas, e em última análise assiste-se nestes doentes a uma regressão do seu prognóstico e follow-up, se não for adoptada uma estratégia transfusional rápida e personalizada.

Entendida a transfusão de plaquetas como uma forma limitada de transplante, tendo o tecido transplantado uma curta mas bem definida expectativa de sobrevivência no receptor, sem possibilidade de auto perpetuação, o objectivo transfusional é avaliável clinicamente pela paragem da diátese hemorrágica e laboratorialmente por um incremento plaquetário adequado.

O estudo da refractariedade plaquetária representa de certa forma um modelo simplificado de alo-transplante, no qual os aspectos da rejeição imune são abordados. Assim é efectuada uma revisão da literatura acerca dos factos mais significativos na evolução da fisiopatologia, diagnóstico clínico e laboratorial, prevenção e atitudes terapêuticas, destacando a problemática da selecção de plaquetas compatíveis, como a etapa mais decisiva e difícil no manejo da refractariedade plaquetária. A selecção do par dador receptor de plaquetas, emerge como uma luz clarificadora de algumas complexidades inerentes ao sucesso terapêutico da transfusão de plaquetas, a qual poderá modificar a evolução clínica desta entidade nosológica.

PALAVRAS CHAVE: refractariedade à transfusão de plaquetas, RTP; anticorpos antiplaquetários, AcAp; transfusão de plaquetas, TP; incremento plaquetário, IP; concentrado plaquetário, CP; concentrado unitário de plaquetas, CUP.

ABSTRACT

Platelet transfusion plays an important role in surgical, hematological, oncological and transplant patient support. The improvements that have gradually been implemented into platelet separation and storage technologies, have contributed to the great availability of this component, and for a significant increase in its use for allogeneic transfusion.

With this mode of transfusion it has been possible to reduce the mortality rate through haemorrhages on acute and chronic thrombocytopenic patients and more recently, to institute high dosage chemotherapy with autologous bone marrow transplantation and for use with hemopoietic growth factors, in patients with fatal prognosis such as leukemia and solid tumors.

However, in approximately 10% of platelet transfusions, the clinical success is limited, with discreet platelet increment developing a state of platelet refractoriness, which ends with accelerated transfused platelet destruction, placing decades of therapeutic evolution in doubt. And finally, we witness in those patients a regression of the prognosis and follow-up, if a quick, personalised transfusion strategy is not adopted.

Platelet transfusion is seen as a limited form of transplant, with the transplant tissue having a short but well-defined survival expectation for the recipient, with no possibility of self perpetuation. The transfusional objective is clinically determined by arresting the bleeding, and at a laboratory level, by an adequate platelet increment.

The study of platelet refractoriness, represents in a way, a simplified alo-transplant model, in which immune rejection aspects will be confronted. In this way there is a revision of the most significant facts on the physiopathologic evolution of the clinical and laboratorial diagnosis and therapy, highlighting the problem of selection of compatible platelet as the most difficult and decisive stage in the handling of platelet refractoriness. The selection of the recipient donor pair, emerges like a light, clarifying some complexities inherent to the survival of the transplant and that may modify the clinical evolution of this nosological entity.

KEYWORDS: *platelet refractoriness, PR; platelet antibodies, PA; platelet transfusion, PT; platelet increment, PI; random platelet units, RPU; platelet pheresis concentrates, PPC.*

INTRODUÇÃO

A Refratariedade à Transfusão de Plaquetas (RTP) é uma entidade rara, que atinge sobretudo a população de doentes hemato-oncológicos politransfundidos, está associada a uma elevada taxa de mortalidade e obriga a uma abordagem transfusional especializada, colocando o Serviço de Imuno-Hemoterapia “à prova” no seu desempenho, ao nível do diagnóstico e do suporte transfusional subsequente.

Do ponto de vista clínico, a paragem da diátese hemorrágica e laboratorialmente, o incremento plaquetário, (IP) são sempre as expectativas que temos após a instituição terapêutica da Transfusão de Plaquetas (TP) estando os referidos parâmetros, condicionados pela situação clínica do doente. Quando estes objectivos não são atingidos, estamos perante um caso clínico e laboratorial de RTP.

1. REFERÊNCIAS HISTÓRICAS DA TERAPÊUTICA TRANSFUSIONAL PLAQUETÁRIA

Destacam-se cinco referências históricas:

1910 - A primeira tentativa bem sucedida para aumentar as contagens plaquetárias e diminuir o tempo de hemorragia num doente trombocitopénico, foi efectuada por *Duke*, com a transfusão de sangue total¹.

1962 - *Gaydos et al* documentaram a relação existente entre as contagens plaquetárias e a ocorrência de hemorragia em doentes com leucémia: esta só foi observada em pacientes com contagens plaquetárias inferiores a 50.000/ μ L e em mais de 90% dos doentes com contagens plaquetárias inferiores a 5.000/ μ L existia alguma forma de hemorragia.

1978 - *Slichter SJ* demonstrou em doentes com anemia aplástica estável, que só ocorria hemorragia franca, quando as contagens plaquetárias atingiam valores inferiores a 5.000/ μ L.

Década de 80 – Organizam-se Workshops anuais em Serologia Plaquetária, atestando da sua relevância crescente na Hematologia e Medicina Transfusional. Estruturalmente muito bem organizados com metas bem definidas, quer de âmbito Regional ou Internacional, culminam na publicação dos *Workshop proceedings* e no estabelecimento de *guidelines*: 1 concentrado plaquetário por 10 Kg de peso corporal.

1987 - Conferência de Consenso *do National Institutes of Health*, estabelecem-se os *trigger point*, só aceites pa-

cificamente mais recentemente: <5.000/ μ L = hemorragia potencialmente fatal; entre 5.000 e 10.000/ μ L = risco aumentado de hemorragia espontânea; entre 10.000 e 50.000/ μ L = risco aumentado de hemorragia durante desafios hemostáticos e finalmente se > 50.000/ μ L a hemorragia por trombocitopénia é improvável.

2. DEFINIÇÃO

A RTP é empiricamente definida como baixo rendimento transfusional, após duas ou mais transfusões² de concentrado plaquetário (CP)/concentrado unitário de plaquetas, (CUP) contendo um adequado número, ABO compatíveis, no decurso de duas semanas. Trata-se de uma Síndrome Hemorrágica cutâneo-mucosa, devida à diminuição da sobrevivência plaquetária, do próprio e/ou das plaquetas alogénicas transfundidas, raramente associada a qualquer outra doença.

3. FREQUÊNCIA

Os dados existentes na literatura não são sobreponíveis, pois dependem do conceito e da metodologia diagnóstica adoptada, mas de um modo geral a RTP tem sido descrita em 20 a 60% dos doentes que receberam múltiplas TP³. Um estudo muito recente conduzido por *Slichter et al* que abrangeu uma população relativamente homogénea de 533 doentes e de 6379 episódios transfusionais, concluiu que a RTP se desenvolve em 27% destes doentes, quando o diagnóstico se baseia no IP e em 10% quando se baseia no *Correct Count Increment*, CCI.

A população alvo são os doentes hemato-oncológicos politransfundidos.

É mais frequente no sexo masculino, apesar de na mulher um número superior ou igual a duas gravidezes ser considerado um factor de risco para o desenvolvimento de RTP.

4. ETIOLOGIA

Frequentemente é multifactorial. Em aproximadamente 66% dos casos a etiologia da RTP é não imunológica e em 33% dos casos é a aloimunização.

A identificação etiológica (imune/não imune) é importante já que a aloimunização sem factores clinicamente relevantes, pode ser circunscrita a nível terapêutico pela apropriada selecção de plaquetas. No entanto a demons-

tração de anticorpos, mesmo de título elevado, pode não estar associada a doença, o que sugere a existência de cofactores no doente⁴.

Assim um doente pode ser só refractário (não tem anticorpos, mas apresenta IP insuficiente), refractário e aloimunizado (revela anticorpos e tem IP insuficiente) ou ainda aloimunizado (tem anticorpos mas apresenta IP adequado), tal como nos é dado observar no Quadro I.

QUADRO I. ETIOLOGIA DA REFRACTARIEDADE PLAQUETÁRIA



Apenas 30% dos doentes aloimunizados são refractários à TP. Paradoxalmente nestes doentes o suporte transfusional plaquetário com plaquetas incompatíveis pode originar bons resultados. Uma explicação possível é o facto de algumas especificidades HLA terem uma expressão plaquetária fraca: é o caso dos Ags: HLA- B44 e HLA-B45.

4.1. FACTORES PLAQUETÁRIOS

4.1.1. Reduzido número de plaquetas transfundidas

Trata-se de um parâmetro que pode originar um falso diagnóstico de RTP, do ponto de vista laboratorial.

Depende do número de plaquetas do dador e do processamento do componente, sobretudo durante a etapa de desleucocitação.

As contagens plaquetárias, estão algo diminuídas nos CP/CUP após desleucocitação pré-armazenamento, DPA (filtração *in line* dos componentes, após a sua separação do sangue total dentro de 24-48 horas após a colheita e antes de se iniciar o armazenamento), dado a perda de $10 \pm 3\%$ de plaquetas, sobretudo das plaquetas grandes, as mais eficazes hemostaticamente. Estudos efectuados apontam para uma maior percentagem de granulócitos comparativamente aos linfócitos, nas amostras após filtração, independentemente da percentagem destas células no plasma préfiltração⁵.

4.1.2. Tempo de armazenamento aumentado

Durante o período de armazenamento desenvolvem-se marcadores de activação, secreção ou lise plaquetária nomeadamente: a libertação de moléculas HLA solúveis⁶, a expressão da selectina-P, GPIb, GPIIb/IIIa, vWF, anexinaV e a β -trombo-globulina sobrenadante.⁷ Em CP com um período de armazenamento superior a 3 dias registou-se um aumento da incidência das reacções adversas à transfusão não hemolíticas, devido à libertação de citocinas e à activação do Complemento. Um nível elevado de C3a dá origem à libertação de histamina, de citocinas (IL 1 β , MIP-1 α , IL6, IL8), e à diminuição da actividade das células NK. Estes efeitos são parcialmente contrariados pela DPA.

Apesar da permeabilidade dos sacos actualmente utilizados (ao permitirem trocas gasosas de O₂ e CO₂, mais adequadas), do respectivo anticoagulante (por proporcionar valores de pH > a 6.2), da solução aditiva (aumentando o ratio plasma versus solução aditiva obtêm-se melhores resultados na preservação da resposta plaquetária ao ADP⁸) e finalmente da implementação da Desleucocitação Universal de CE/CP (conseguindo-se minimizar a lesão de armazenamento deste componente), o factor idade plaquetária mantém a sua importância na abordagem terapêutica da RTP.

Laboratorialmente *Duguid et al* demonstraram que o IP obtido com CP com 5 dias de armazenamento, era 50% inferior ao obtido com plaquetas frescas⁹. A lesão de armazenamento afecta igualmente CP e CUP.

Slichter et al demonstraram que quando os doentes eram transfundidos com plaquetas frescas, a percentagem destes que necessitavam de uma 2ª TP (sempre que a contagem plaquetária após a 1ª TP era inferior a 20.000/ μ L) rondava os 24% , enquanto que esse número disparava para 62% quando os CP tinham 5 dias de armazenamento¹⁰.

Este não é um assunto pacífico, já que foram publicados artigos com resultados aparentemente contraditórios, como é o caso do estudo efectuado por Leach e AuBuchon, que concluíram que o tempo de armazenamento de CUP não afectava o CCI pós-transfusional¹¹.

Se o doente apresentar esplenomegália associada, com ou sem hiperesplenismo e/ou sequestro hepático por doença hepática crónica com hipertensão portal, a transfusão de plaquetas frescas é determinante para a sobrevivência plaquetária, pois diminui a possibilidade de sequestro hepático. Este associa-se a trombocitopenias mais graves com repercussão clínica intermitente.

Recentemente demonstrou-se num estudo piloto randomizado e duplamente cego, que com a transfusão de CP de *buffy-coat*, sujeitos a inactivação patogénica com radiação ultravioleta e *amotosalen* (prolongando o período de armazenamento deste componente até 7 dias), se obtém uma eficácia e segurança aceitáveis no suporte transfusional de doentes trombocitopénicos¹². Outros autores concluíram que o incremento plaquetário obtido com a TP obtidas em separador celular e sujeitas à já referida inactivação patogénica era significativamente inferior ao da TP contolo, o intervalo entre episódios transfusionais era menor, resultando num maior número de plaquetas transfundidas, mas contudo, a capacidade hemostática mantinha-se equivalente¹³.

4.1.3. Viabilidade plaquetária diminuída

Este parâmetro pode ser o responsável por um falso diagnóstico de RTP do ponto de vista da avaliação clínica.

Devido a alterações morfológicas, funcionais e imunitárias (por: processamento tardio do componente em relação ao momento da colheita, armazenamento desadequado ao nível da temperatura e da agitação e finalmente por redução de volume não seguida da imediata administração do componente³), a viabilidade plaquetária pode estar comprometida. As alterações dos determinantes antigénicos produzidas durante o armazenamento e analisadas através da Citometria de Fluxo, não revelaram ser estatisticamente significativas no *status* plaquetário.

O Controlo da Qualidade é assegurado com recurso às contagens plaquetárias e determinação do pH, e também produção de lactato, libertação de LDH, níveis de glicocalicina, expressão de CD-62 (GMP-140) e CD-42b (GpIb-IX), contaminação bacteriana, teste do turbilhão (avaliação qualitativa a olho nú do movimento de turbilhão típico das plaquetas) e a expressão de selectina-P. Esta última associa-se a uma redução marcada da semi-vida plaquetária, seja por sequestro esplénico e conseqüente *clearance* ou por consumo na microcirculação¹⁴. O teste do turbilhão baseia-se no fenómeno de dispersão da luz pelas plaquetas de morfologia normal, confirma se estas ainda estão na forma discóide ou completamente convertidas à forma esférica. A morfologia plaquetária configura-se na prática clínica como o melhor indicador da capacidade das plaquetas armazenadas se manterem em circulação.

O estudo efectuado por *Fabri et al* revelou que não existem diferenças significativas nestes parâmetros, nos CPs/CUPs transfundidos em doentes que desenvolveram RTP e nos que revelaram bons IP, provavelmente porque existe uma normalização do processamento dos CP e CUP.

A DPA não afecta a estrutura, a função ou a viabilidade plaquetária, apesar do conteúdo de leucócitos nos CP influenciar o pH, a pO₂ e a pCO₂.

4.2. FACTORES NÃO IMUNOLÓGICOS

São provavelmente os factores mais frequentes, mas também os mais desconhecidos e de mais difícil prevenção e intervenção já que não existem métodos de prevenção da RTP de etiologia não imune. Apenas podemos estar vigilantes para o seu aparecimento, investigar a causa subjacente e providenciar uma abordagem adequada.

Para um determinado doente poderá ser difícil individualizar o factor mais significativo, já que frequentemente é multifactorial.

Caracteristicamente as contagens plaquetárias à 1ª hora são normais (estes valores dependem obviamente do sexo e idade do doente), mas apresentam-se diminuídas às 24 horas, tal como os respectivos *Predict Platelet Count Increment*, PPCI e CCI, sendo interpretado como evidência de consumo aumentado, de etiologia não imune¹⁵.

A febre e a esplenomegália são os únicos factores não imunológicos que provocam contagens plaquetárias diminuídas, à 1ª hora.

4.2.1. Febre, infecção grave, sépsis, antibioterapia

A febre é frequentemente uma manifestação de infecção e os doentes infectados têm antibioterapia instituída. Distinguir então qual destes três factores é o responsável pela RTP, quando estão simultaneamente envolvidos é tarefa quase impossível.

Está por comprovar que a administração pré-transfusional de antipiréticos aumente a recuperação plaquetária. Provavelmente será a causa subjacente à febre "*per se*" a responsável pela RTP¹⁶.

A vancomicina é o antibiótico que mais referências tem na literatura na indução da RTP¹⁷.

Paradoxalmente a sépsis associada à TP, é actualmente a complicação infecciosa mais frequentemente associada à terapêutica transfusional¹⁸, sendo a TP uma importante causa de infeção bacteriana. Constatou-se uma frequência de contaminação bacteriana em termos percentuais em CP e CUP de 0.64% e 1.56%, respectivamente¹⁹. É um facto que convém ter presente quando abordamos doentes hemato-oncológicos politransfundidos, frequen-

temente imunodeprimidos e portanto com menor capacidade de resposta aos agentes bacterianos veiculados pela transfusão, apesar de normalmente estarem sob terapêutica antibiótica profilática.

4.2.2. Anfotericina B em perfusão endovenosa

É o fármaco classicamente relacionado com uma das formas mais graves e frequentes de RTP²⁰.

São três os mecanismos possíveis: por interferência com as glicoproteínas, por efeito tóxico directo do medicamento (resultando em disfunção plaquetária seguida de sequestro^{20,21}), ou ainda por produção de anticorpos dependentes do fármaco e consequente formação de complexos imunes circulantes, provocando destruição plaquetária²². Pode originar uma diminuição do PPCI e do CCI até 78%²³. Nem todos os doentes em terapêutica com anfotericina B desenvolvem a síndrome²⁴, provavelmente porque a administração do antifúngico dista algumas horas da TP²⁵.

4.2.3. Outras causas farmacológicas

Listagem de medicamentos que estão associados ao desenvolvimento de RTP quando administrados 24 horas antes ou após a TP:

- Anticoagulantes - heparina
- Anti-epiléticos - barbitúricos, difenilhidantoína
- Anti-hipertensores - alfa-metildopa, hidralazina, diazóxido
- Analgésicos – aspirina, acetaminofeno
- Anti-bacterianos - ampicilina, cefalotina, isoniazida, rifampicina, sulfamidas
- Diuréticos - tiazidas, furosemido, acetazolamida
- Cardiotónicos - digoxina e quinidina

Tal como para a anfotericina B estão descritos os três mecanismos fisiopatológicos já referidos. A suspensão da droga normalmente provoca a regressão do quadro.

Suspeita-se de RTP de causa farmacológica sempre que o medulograma revela a presença de megacariócitos e o paciente trombocitopénico foi transfundido com plaquetas HLA compatíveis sem obtenção de adequado I.P.

4.2.4. Esplenomegália / hiperesplenismo:

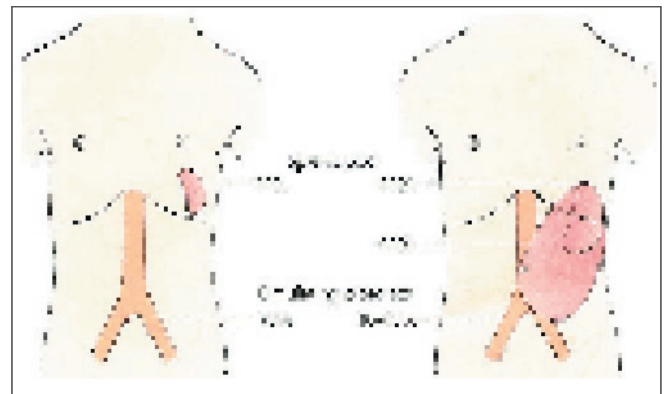
A maioria dos processos patológicos que envolvem o baço provocam o seu aumento. Consequentemente a esplenomegália ou baço palpável (sempre que apresenta

o dobro do seu tamanho) é um sinal clínico frequente e importante. A sua incidência apresenta uma grande variação geográfica, entre nós destacam-se os diagnósticos de hipertensão portal, doenças mieloproliferativas, anemias hemolíticas, endocardites infecciosas, parasitoses tropicais (como Malária, *Leishmaniasis* e *Schistosomiasis*) e as hemoglobinopatias. Pode atingir tamanho apreciável em patologias raras como: septicémia aguda, anemia megalobástica, doenças do colagénio e amiloidose.

O termo hiperesplenismo é utilizado no sentido da pancitopénia a que normalmente a esplenomegália conduz.

É o factor clínico que mais afecta o IP, através do sequestro e *clearance* esplénica. Normalmente 1/3 das plaquetas existentes em circulação são sequestradas pelo baço²⁶, o que significa que mesmo discretas alterações anatómicas (baço palpável) e/ou de função, resultam em perda plaquetária não desprezível. A esplenomegália maciça pode ocasionar um sequestro de mais de 90% das plaquetas circulantes, Quadro II.

QUADRO II . DISTRIBUIÇÃO DAS PLAQUETAS NO ORGANISMO



Distribuição das plaquetas entre a circulação e o baço, à esquerda no indivíduo normal e no doente com esplenomegália moderada/maciça à direita. (adaptado de A.V.Hoffbrand, J. E. Pettit and P.A.H.Moss. Essencial Haematology. Oxford: Blackwel Science. 4ª ed, 2004, pp 258).

A semi-vida plaquetária normal é de 7 dias, não estando diminuída nos doentes com trombocitopenia devida a esplenomegália e não se associa a risco de hemorragia aumentado, excepto nos casos em que coexistem factores imunológicos responsáveis pela RTP ou alterações da hemostase.

O doente esplenectomizado (aproximadamente 1% da população), apresenta IP pós-transfusional significativamente superior ao doente com *status* esplénico normal.

Recentemente demonstrou-se em doentes com trombocitopenias graves e esplenomegália maciça, durante o acto cirúrgico, que o pinçar da artéria esplénica aumenta o número de plaquetas circulantes em breves minutos, substituindo-se à TP pré-operatória, cujos resultados neste tipo particular de doentes estão longe de ser satisfatórios²⁷.

4.2.5. Hepatopatia incluindo doença hepática veno-oclusiva

A doença hepática veno-oclusiva surge normalmente após os regimes de condicionamento e/ou irradiação corporal total e a RTP que normalmente lhe está associada, apresenta-se como uma trombocitopenia precoce e de consumo, aproximadamente 7 dias antes do aparecimento da hepatomegália dolorosa e da súbita perda de peso. Não parece estar associada a sequestro hepático ou esplénico, nem a Acs anti-HLA. Provavelmente será devida a um mecanismo auto-imune.

4.2.6. Insuficiência renal

A urémia gera disfunção plaquetária com diminuição da adesão, da actividade procoagulante da membrana plaquetária, dos grânulos densos de serotonina, do conteúdo em ADP, de tromboxano A2 e aumento da produção de prostaciclina (pelas células endoteliais) e do *endothelial derived relaxing factor*²⁸. Estes efeitos são o resultado da reduzida *clearance* de metabolitos como o ácido guanido-succínico e dos fenóis.

4.2.7. Coagulação Intravascular Disseminada

As plaquetas alogénicas transfundidas também são consumidas durante esta coagulopatia de consumo, tal como as plaquetas do próprio e os factores da coagulação. Define-se laboratorialmente por um valor de fibrinogénio inferior a 100 mg/dL e de um valor de produtos de degradação do fibrinogénio acima do valor de referência. O tratamento da causa subjacente a esta entidade corrigirá a RTP²⁹. Entre as causas mais frequentes encontram-se a sépsis e o cancro.

4.2.8. Discrasia hemorrágica

Os resultados dos estudos efectuados sobre a RTP e a discrasia hemorrágica são contraditórios, tanto no que diz respeito ao sangramento activo como à trombocitopenia por hemodiluição³⁰.

A existência de um episódio hemorrágico moderado/grave prévio, constitui um factor preditivo de risco de hemorragia.

A hemorragia activa minor, que não põe em risco a vida do doente (petequial, hemorragia retiniana, hematuria microscópica, gengivorragia, equimose, epistaxis moderadas e episódios intermitentes de melenas) e a maior (hematemese, melena, rectorragia, hemóptise, meno e metrorragias e a hemorragia intracranéana) condicionam o diagnóstico de RTP. É aconselhável o estudo da coagulação do doente e a correcção dos factores em défice.

4.2.9. Administração simultânea de esteróides

Embora o mecanismo fisiopatológico envolvido esteja em aberto a corticoterapia comporta-se como um factor de correlação negativo quando associado à TP. Provavelmente não será mais do que um epifenómeno devido à indicação subjacente para a administração de esteróides³¹.

4.2.10. Número de transfusões efectuadas de CE, CP e CUP

Um elevado número de Transfusões efectuadas constitui um factor de risco, mas já o seu número não influencia a gravidade da RTP³².

4.2.11. Hemodiluição

A diluição das plaquetas no volume de sangue total do doente é agravada pela transfusão de componentes como CE, plasma e crioprecipitado e também pela terapêutica com cristalóides ou colóides, podendo assim gerar-se um falso diagnóstico de RTP do ponto de vista laboratorial.

4.3. FACTORES IMUNOLÓGICOS /ALOIMUNIZAÇÃO

São os responsáveis pela mais grave complicação da TP, o desenvolvimento de anticorpos contra os aloantígenos plaquetários com capacidade de destruição das plaquetas transfundidas. O PPCI e o CCI apresentam-se repetidamente baixos dez minutos e uma hora após a TP³³.

A Aloimunização é geralmente definida, como o resultado da resposta imune, RI, do receptor contra as células transfundidas, não *self*, de um dador da mesma espécie. É confirmada pela identificação do Anticorpo (Ac) no receptor contra o/os Antígenos (Ags) do dador e/ou Linfócito T, LT citotóxicos.

A RI depende dos Ags existentes no componente transfundido e do *status* imunitário do receptor, que pode estar comprometido pela patologia subjacente e/ou tera-

pêutica instituída, (por exemplo os doentes com anemia aplásica têm uma maior incidência de RTP do que aqueles com leucémia)³⁴.

Os Ags do componente transfundido não são apenas os plaquetários, mas também, os Ags dos leucócitos circulantes que os acompanham, os Ags das proteínas plasmáticas e os medicamentos (sobretudo anfotericina B e a vancomicina como já foi referido). A exposição a estes Ags ocorre através de transfusões e/ou gestações anteriores³⁵ e também após o transplante de MO/CPSP ou de órgão sólido.

Os doentes pertencentes a minorias étnicas têm um risco aumentado de aloimunização dada a grande diferença na frequência dos Ags das células sanguíneas entre etnias³⁶.

Todas estas situações são consideradas como factores de risco para a aloimunização. No entanto a aloimunização pode-se desenvolver em doentes sem história prévia transfusional, gestacional ou de transplante.

A consequente produção de AcAp pode tornar o doente refractário às TP, já que as plaquetas do doente e as transfundidas estando sensibilizadas por esses AcAp ou por complexos imunes circulantes, vão ser sequestradas pelas células fagocíticas do sistema retículo endotelial, sobretudo no baço³⁷.

Após a identificação do anticorpo a pesquisa de factores não imunológicos deverá ser efectuada, pois estes podem coexistir.

Os doentes aloimunizados deverão ser periodicamente testados para a pesquisa de AcAp, já que os níveis destes poderão eventualmente diminuir e assim sendo responderão às TP³⁸. Por outro lado essa produção poderá ocorrer tardiamente em relação ao diagnóstico de RTP³⁹.

É frequente a existência de Acs sem significado na resposta transfusional, ou seja são inconsequentes.

4.3.1. A resposta imune

Existem três grandes grupos de aloantígenos plaquetários veiculados pela TP, contra os quais o sistema imunitário do receptor, produz AcAp: os Ags dos grupos sanguíneos (ABO, *Lewis*, *Li* e *P*), os Ags específicos das plaquetas (*Human Platelet Antigen*, HPA) e por fim os Ags HLA (Antígenos Leucocitários Humanos), classe I (A e B). A aloimunização contra estes três grupos diferentes de aloantígenos tem diferentes implicações clínicas⁴⁰.

Tem-se vindo a afirmar a possibilidade de os epítomos que se desenvolvem durante o período de armazenamento das plaquetas, também funcionarem como Ags⁴¹.

Como já foi referido apesar da desleucocitação, a TP veicula leucócitos contaminantes (que expressam Ag HLA classe II) e células apresentadoras de Ag, CAA: a célula dendrítica, o macrófago e o monócito. Este sistema antigénico é o que apresenta maior polimorfismo e maior distribuição pluritecidual sendo por isso, o que coloca mais problemas de alossensibilização, quando comparado aos sistemas plaquetários e eritrocitários⁴².

A RI vai depender da composição das CAA que a TP veicula e também da resposta dos Lt do receptor⁴³.

A Desleucocitação Universal diminuindo o número de leucócitos residuais para valores inferiores a 1×10^6 /unidade CE e a 0.2×10^6 /unidade CP transfundida, previne o desenvolvimento de uma RI primária, num indivíduo não previamente sensibilizado, pois este é o número de leucócitos que se pensa ser o limiar imunogénico. Mas em doentes com antecedentes de gravidez ou previamente transfundidos, a incidência de aloimunização HLA não diminui com a desleucocitação, facto que se pode atribuir à existência de linfócitos B de memória reactiváveis pela presença de Ags HLA classe I plaquetários⁴⁴.

4.3.2. A resposta aloimune

Existem dois mecanismos de reconhecimento imune através dos quais o sistema imunitário do indivíduo, tem capacidade de responder às células alogénicas transfundidas/adquiridas por via gestacional. Em última análise ambos culminam na produção pelo Linfócito T *helper* activado, de citocinas induzindo o seu crescimento de forma autócrina, bem como a expansão de clones T citotóxicos aloreactivos e plasmócitos, com capacidade de produção de Acs específicos, para determinantes antigénicas da molécula do Complexo Major da Histocompatibilidade, CMH, do dador.

Mecanismo indirecto:

As plaquetas transfundidas expressando Ags HLA classe I, vão interagir com as CAA do sistema imune do receptor (células dendríticas ou macrófagos, positivas para o CMH classe II). A CAA internaliza o Ag plaquetário em vesículas ácidas citoplasmáticas, aonde através de numerosas etapas enzimáticas, dependentes do pH e de reacções proteolíticas processa o Ag, metabolizando-o em péptidos .que irão funcionar posteriormente como epítomos. Entretanto a molécula de MHC classe II sinte-

tizada nos ribossomas do retículo endoplasmático rugoso⁴⁵ migra para o citoplasma e aí liga-se ao já referido péptido, formando um complexo que irá até à superfície da CAA para ser reconhecida pelo Linfócito T auxiliar (LTh). O receptor do LT (TCR) vai reconhecer a região não variável do CMH, Classe II, que se encontra á superfície da CAA unida ao peptídeo.

Após esta interacção o LTh torna-se activado e inicia a produção de citocinas (num primeiro contacto a IL2 e em contactos subsequentes o interferão), que irão ser responsáveis pela diferenciação dos LB em plasmócitos secretores de anticorpos, específicos para esse Ag (na resposta primária imunoglobulinas de tipo IgM e numa resposta secundária ou anamnésica, de tipo IgG).

Mecanismo directo

Os resíduos polimórficos intactos dos Ags HLA classe II expressos pelas CAA contaminantes, que são veiculadas na TP, vão ser reconhecidos pelos linfócitos Th do receptor (ao nível do TCR), provocando uma forte resposta imune com produção de anticorpos específicos para os Ags transfundidos.

Neste caso a necessidade de CAA do receptor é ultrapassada, não ocorrendo as já referidas fases de internalização, processamento e apresentação do Ag ao LT.

4.3.3. Aloimunização HLA

A Aloimunização contra os Ags HLA classe I em cerca de 30% dos casos segundo alguns⁴⁶, é a causa imunológica mais frequente, calculando-se que nestes doentes, a aloimnização concomitante contra os polimorfismos das glicoproteínas designados por Ags específicos plaquetários seja de 10 a 15%⁴⁷.

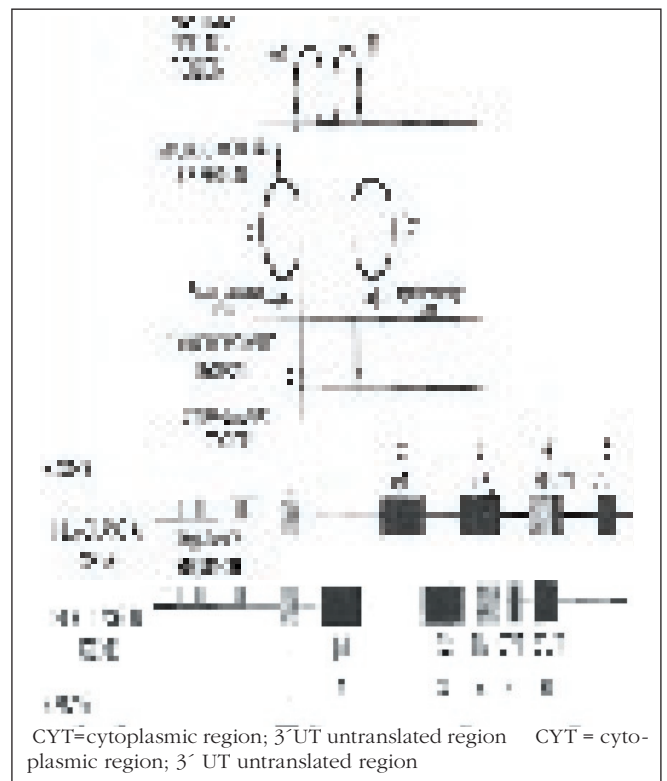
O sistema HLA foi originalmente descoberto durante a investigação de uma reacção transfusional e é hoje assumido, como tendo um papel central em várias áreas da medicina clínica nomeadamente, transplante de órgão sólido e de Medula Óssea/Células Progenitoras do Sangue Periférico, CPSP, patologia infecciosa, autoimune e não autoimune.

Ao nível do braço curto do cromossoma 6 existe um "cluster" de genes, o CMH, que vai determinar a estrutura dos Ag HLA que estão presentes á superfície da maioria das células nucleadas. As moléculas da classe I são formadas por uma cadeia polimórfica associada á $\beta 2$ microglobulina, Quadro III, enquanto que as de classe II são formadas por duas cadeias polimórficas α e β , Quadro IV.

QUADRO III. GENE/MOLÉCULA HLA CLASSE I



QUADRO IV. GENE / MOLÉCULA HLA CLASSE II



(adaptado de Cristina V. Navarrete, in Baillière Clinical Haematology. Vol.13, Nº 4, pp. 511 - 532, 2000).

Neste tipo de aloimunização interessam-nos particularmente os Ag HLA Classe I, A e B, porque são aqueles que se expressam à superfície das plaquetas e leucócitos. Já os Ag HLA classe I, C são expressos em tão pequena quantidade que se consideram desprezíveis na etiologia imune da RTP. As plaquetas expressam até 73% dos Ag HLA Classe I, A e B, do sangue total, mas não expressam os Ag HLA classe II⁴⁸. A aloimunização ocorre sobretudo contra a molécula A, a mais imunogénica⁴⁹.

Estes Ag são glicoproteínas de membrana, que apresentam um elevado grau de polimorfismo. Não são adsorvidas do plasma como sucede parcialmente com os Ag ABO, mas fazem parte integrante da membrana proteica. O número de Ag HLA por plaqueta varia de indivíduo para indivíduo, mas existe uma média de 50.000 a 120.000 moléculas HLA por plaqueta, o que as torna altamente susceptíveis aos anticorpos HLA. É esta a razão porque os anticorpos HLA são os responsáveis por mais de 30% dos casos de RTP de etiologia imune e dado o elevado grau de polimorfismo do sistema HLA, a diferença Ag é muito superior à existente para os outros Ags já referidos.

As plaquetas sózinhas são um estímulo muito fraco para a formação de anticorpos, porque o reconhecimento alógeno normalmente requer a expressão das duas classes de Ag, a classe I e a II, só encontrados à superfície dos leucócitos do dador.

A desleucocitação minimiza o nº de CAA nas TP e de CE, reduzindo a carga Ag e adiando assim o aparecimento da imunização HLA nos doentes politransfundidos. A DPA dos componentes sanguíneos aplicada como rotina na prática transfusional, revelou uma eficácia de de 80 a 90% na prevenção da aloimunização HLA, uma redução da refractariedade e do consumo de plaquetas HLA compatíveis⁵⁰.

O desenvolvimento da aloimunização primária contra os Ags HLA, demora em média aproximadamente duas a seis semanas a concretizar-se, após a primeira TP, em pacientes politransfundidos. Após cinquenta transfusões a maioria dos pacientes transfundidos, 70%, revelam Ac anti-HLA. A presença destes Ac revela uma maior correlação com a RTP do que a presença de Acs anti-HPA. A exposição prévia aos Ags HLA torna os doentes mais atreitos ao desenvolvimento de RTP e com uma resposta mais precoce.

A produção de Acs anti-HLA aumenta com o número de transfusões e é maior se o doente tiver sido transfundido com CE e CP, do que apenas com CE. Provavelmente porque os CP veiculam um maior número de glóbulos brancos do que o CE.

A desleucocitação parece não prevenir a aloimunização HLA secundária ou a RTP em doentes com história de gestação anterior. Esta desenvolve-se em aproximadamente 4% das mulheres após uma 1ª gravidez e em 26% das que atingem a 4ª⁵¹. A exposição aos antigénios HLA paternos através do feto durante a gravidez, induz uma resposta imune primária que posteriormente evolui para uma resposta anamnésica, secundária, após TP posteriores.

Os Acs anti-HLA também estão relacionados com as Reacções Transfusionalis Febris, com o Edema Pulmonar Agudo não Cardiogénico⁵² e com o aumento da rejeição no transplante de órgão sólido e de MO/CPSP.

4.3.4. Aloimunização HPA

Aproximadamente 10% dos pacientes politransfundidos desenvolvem AcAp anti-HPA, contudo desconhece-se qual a sua verdadeira contribuição na génese da RTP, sobretudo quando coexistem em doentes com aloimunização HLA.

A desleucocitação parece não afectar o grau de aloimunização para os Ags HPA^{53, 54}. Estes fazem parte integrante das glicoproteínas da membrana plaquetária e estão bem caracterizados a nível molecular, pela tecnologia de estudo de DNA.

A diferença é subtil e está na localização específica de um aminoácido (aa) na extensa sequência de aa da glicoproteína. Por sua vez as diferenças ao nível dos aa resultam de alterações específicas, na sequência de nucleótido ao nível do DNA⁵⁵.

Diversos métodos laboratoriais permitiram o acesso aos Ags das glicoproteínas plaquetárias já referidos, o que culminou na uniformização da nomenclatura, levada a cabo pelo *Working Party on Platelet Serology* e adoptado posteriormente pela *International Society of Blood Transfusion*, ISBT. Neste sistema, como nos é dado observar no Quadro V, os Ags HPA encontram-se numerados em (números árabes) de acordo com a data da sua descoberta.

A este número segue-se uma letra pequena, a ou b, que equivale a alta ou baixa frequência de cada membro do par Ag. Por exemplo o primeiro e o mais frequente Ag era conhecido por Zw^A, agora segundo a nomenclatura actual, é-o por HPA-1a. Trata-se do Ag plaquetário mais imunogénico.

O termo HPA é um pouco ambíguo por dois motivos: em primeiro lugar porque foi demonstrada a sua existência, noutras espécies de mamíferos⁵⁶ e em segundo

QUADRO V. ANTIGÉNIOS ESPECÍFICOS DAS PLAQUETAS

Antígeno	Localização	Genótipo	Alélos	Anticótipos
HPA-1	Plaquetas	B*37	B*37.1, B*37.2	HPA-1a, HPA-1b
HPA-2	Plaquetas	B*38	B*38.1, B*38.2	HPA-2a, HPA-2b
HPA-3	Plaquetas	B*39	B*39.1, B*39.2	HPA-3a, HPA-3b
HPA-4	Plaquetas	B*40	B*40.1, B*40.2	HPA-4a, HPA-4b
HPA-5	Plaquetas	B*41	B*41.1, B*41.2	HPA-5a, HPA-5b
HPA-6	Plaquetas	B*42	B*42.1, B*42.2	HPA-6a, HPA-6b
HPA-7	Plaquetas	B*43	B*43.1, B*43.2	HPA-7a, HPA-7b
HPA-8	Plaquetas	B*44	B*44.1, B*44.2	HPA-8a, HPA-8b
HPA-9	Plaquetas	B*45	B*45.1, B*45.2	HPA-9a, HPA-9b
HPA-10	Plaquetas	B*46	B*46.1, B*46.2	HPA-10a, HPA-10b
HPA-11	Plaquetas	B*47	B*47.1, B*47.2	HPA-11a, HPA-11b
HPA-12	Plaquetas	B*48	B*48.1, B*48.2	HPA-12a, HPA-12b
HPA-13	Plaquetas	B*49	B*49.1, B*49.2	HPA-13a, HPA-13b
HPA-14	Plaquetas	B*50	B*50.1, B*50.2	HPA-14a, HPA-14b
HPA-15	Plaquetas	B*51	B*51.1, B*51.2	HPA-15a, HPA-15b
HPA-16	Plaquetas	B*52	B*52.1, B*52.2	HPA-16a, HPA-16b
HPA-17	Plaquetas	B*53	B*53.1, B*53.2	HPA-17a, HPA-17b
HPA-18	Plaquetas	B*54	B*54.1, B*54.2	HPA-18a, HPA-18b
HPA-19	Plaquetas	B*55	B*55.1, B*55.2	HPA-19a, HPA-19b
HPA-20	Plaquetas	B*56	B*56.1, B*56.2	HPA-20a, HPA-20b
HPA-21	Plaquetas	B*57	B*57.1, B*57.2	HPA-21a, HPA-21b
HPA-22	Plaquetas	B*58	B*58.1, B*58.2	HPA-22a, HPA-22b
HPA-23	Plaquetas	B*59	B*59.1, B*59.2	HPA-23a, HPA-23b
HPA-24	Plaquetas	B*60	B*60.1, B*60.2	HPA-24a, HPA-24b
HPA-25	Plaquetas	B*61	B*61.1, B*61.2	HPA-25a, HPA-25b
HPA-26	Plaquetas	B*62	B*62.1, B*62.2	HPA-26a, HPA-26b
HPA-27	Plaquetas	B*63	B*63.1, B*63.2	HPA-27a, HPA-27b
HPA-28	Plaquetas	B*64	B*64.1, B*64.2	HPA-28a, HPA-28b
HPA-29	Plaquetas	B*65	B*65.1, B*65.2	HPA-29a, HPA-29b
HPA-30	Plaquetas	B*66	B*66.1, B*66.2	HPA-30a, HPA-30b
HPA-31	Plaquetas	B*67	B*67.1, B*67.2	HPA-31a, HPA-31b
HPA-32	Plaquetas	B*68	B*68.1, B*68.2	HPA-32a, HPA-32b
HPA-33	Plaquetas	B*69	B*69.1, B*69.2	HPA-33a, HPA-33b
HPA-34	Plaquetas	B*70	B*70.1, B*70.2	HPA-34a, HPA-34b
HPA-35	Plaquetas	B*71	B*71.1, B*71.2	HPA-35a, HPA-35b
HPA-36	Plaquetas	B*72	B*72.1, B*72.2	HPA-36a, HPA-36b
HPA-37	Plaquetas	B*73	B*73.1, B*73.2	HPA-37a, HPA-37b
HPA-38	Plaquetas	B*74	B*74.1, B*74.2	HPA-38a, HPA-38b
HPA-39	Plaquetas	B*75	B*75.1, B*75.2	HPA-39a, HPA-39b
HPA-40	Plaquetas	B*76	B*76.1, B*76.2	HPA-40a, HPA-40b
HPA-41	Plaquetas	B*77	B*77.1, B*77.2	HPA-41a, HPA-41b
HPA-42	Plaquetas	B*78	B*78.1, B*78.2	HPA-42a, HPA-42b
HPA-43	Plaquetas	B*79	B*79.1, B*79.2	HPA-43a, HPA-43b
HPA-44	Plaquetas	B*80	B*80.1, B*80.2	HPA-44a, HPA-44b
HPA-45	Plaquetas	B*81	B*81.1, B*81.2	HPA-45a, HPA-45b
HPA-46	Plaquetas	B*82	B*82.1, B*82.2	HPA-46a, HPA-46b
HPA-47	Plaquetas	B*83	B*83.1, B*83.2	HPA-47a, HPA-47b
HPA-48	Plaquetas	B*84	B*84.1, B*84.2	HPA-48a, HPA-48b
HPA-49	Plaquetas	B*85	B*85.1, B*85.2	HPA-49a, HPA-49b
HPA-50	Plaquetas	B*86	B*86.1, B*86.2	HPA-50a, HPA-50b
HPA-51	Plaquetas	B*87	B*87.1, B*87.2	HPA-51a, HPA-51b
HPA-52	Plaquetas	B*88	B*88.1, B*88.2	HPA-52a, HPA-52b
HPA-53	Plaquetas	B*89	B*89.1, B*89.2	HPA-53a, HPA-53b
HPA-54	Plaquetas	B*90	B*90.1, B*90.2	HPA-54a, HPA-54b
HPA-55	Plaquetas	B*91	B*91.1, B*91.2	HPA-55a, HPA-55b
HPA-56	Plaquetas	B*92	B*92.1, B*92.2	HPA-56a, HPA-56b
HPA-57	Plaquetas	B*93	B*93.1, B*93.2	HPA-57a, HPA-57b
HPA-58	Plaquetas	B*94	B*94.1, B*94.2	HPA-58a, HPA-58b
HPA-59	Plaquetas	B*95	B*95.1, B*95.2	HPA-59a, HPA-59b
HPA-60	Plaquetas	B*96	B*96.1, B*96.2	HPA-60a, HPA-60b
HPA-61	Plaquetas	B*97	B*97.1, B*97.2	HPA-61a, HPA-61b
HPA-62	Plaquetas	B*98	B*98.1, B*98.2	HPA-62a, HPA-62b
HPA-63	Plaquetas	B*99	B*99.1, B*99.2	HPA-63a, HPA-63b
HPA-64	Plaquetas	B*100	B*100.1, B*100.2	HPA-64a, HPA-64b

(adaptado de Eduardo Delaflor-Weiss E, Mintz PD. The Evaluation and Management of Platelet Refractoriness and Alloimmunization. Transfusion Medicine Reviews 2000; 14 (2):180-196)

lugar, porque estes Ags foram detectados noutras células que não só as plaquetas, tais como a célula endotelial, o fibroblasto e a célula muscular lisa para o HPA1 e HPA4 e mais recentemente demonstrou-se que o Ag HPA5 é expresso também no LT e na célula endotelial.

Nas últimas décadas tem-se assistido a um conhecimento sem precedentes da membrana plaquetária, revelando-se os polimorfismos dos Ags HPA e a distribuição pluritecidual já referida de relevante importância, a que não são alheias a patologia cardiovascular, inflamatória (nomeadamente a asma, a doença pulmonar crónica obstrutiva e as doenças inflamatórias intestinais⁵⁷), hemostática, a aterosclerose, a angiogénese e a metastização⁵⁸, já para não referir o transplante de MO/CPSP. No futuro a aplicação deste conhecimento acumulado permitirá o desenvolvimento da terapia celular e de imunomodulação.

Clinicamente semelhante à Aloimunização HLA, suspeita-se sempre que:

1. As contagens plaquetárias são inadequadas, uma hora após a TP, não são identificados Acs HLA e o doente apresenta um *crossmatch* incompatível com a maioria dos dadores ou,
2. Quando são identificados Acs no doente mas este não responde às plaquetas HLA *matched* e desconhecem-se factores não imunológicos para aquele doente⁵⁹.

4.3.5. Aloimunização contra os Ag ABO, Lewis, Ii e P

As plaquetas expressam à sua superfície os Ags ABO, Lewis, Ii e P⁶⁰, apresentando-se como glicoproteínas de membrana. Os Ags ABO e Lewis são adsorvidos a partir do plasma correlacionando-se a sua expressão com os níveis enzimáticos seguintes:

- a) n-acetylgalactosaminyltransferase (que transfere a molécula de acetylgalactosamina para a substância H- especificidade A)
- b) D-galactosyltransferase (que transfere a molécula de D-galactose para a substância H- especificidade B)⁶¹

c) fucosyltransferase (que transfere um resíduo de fucose para a n-acetylglucosamina⁶²) no caso da substância *Lewis*.

Contrariamente aos eritrócitos que expressam apenas cadeias ABH de tipo I (extrínsecas e adsorvidas a partir do plasma), as plaquetas exprimem também as de tipo II (intrínsecas e provavelmente sintetizadas pela própria plaqueta).

A densidade de Ags ABO à superfície da plaqueta varia de indivíduo para indivíduo, podendo influenciar em maior ou menor grau o resultado da TP, tal como os títulos variáveis de isoaglutininas ABO existentes nos doentes politransfundidos, condicionam o resultado da transfusão de eritrócitos. Os Acs a que os referidos Ags dão origem, apenas são clinicamente significativos para os Ags ABO.

A recuperação plaquetária é afectada pela compatibilidade ABO, mas a sua sobrevivência não o é.

Porque existem casos clínicos de RTP com incompatibilidade ABO e também porque a transfusão com plaquetas ABO incompatíveis pode originar um incremento na produção de Acs anti-HLA⁶³, sempre que possível dever-se-á respeitar a compatibilidade ABO plaquetária. Contudo porque a refractariedade por incompatibilidade ABO não é frequente e porque a diminuição do incremento plaquetário associada a esta incompatibilidade, não é suficientemente expressiva, a contra-indicação à utilização de plaquetas ABO incompatíveis não se justifica⁶⁴.

Nos dois tipos de incompatibilidade que iremos referir são os complexos imunes circulantes (entre os Ags e os respectivos Acs), os responsáveis pelos fracos incrementos plaquetários registados.

Plasma incompatível com plaquetas: quando o plasma em que estão suspensas as plaquetas do dador é incompatível com os eritrócitos do doente, é o caso de plaquetas do grupo O quando são transfundidas para um doente do grupo A ou B. É prudente evitar este tipo de incompatibilidade, na impossibilidade de a ultrapassar, optar-se-à pela redução do volume plasmático.

Plaquetas incompatíveis com plasma: quando os Ags ABH plaquetários veiculados pela TP são incompatíveis com os Acs ABH do receptor, sobretudo quando plaquetas A1 são transfundidas para um doente de grupo O. Embora a expressão dos Ags A e B plaquetários seja normalmente fraca, por vezes essa expressão é forte gerando RP. A expressão do Ag A é extremamente variável

nas plaquetas do grupo A. De facto plaquetas do grupo A2 expressam muito pouco Ag A⁶⁵.

4.3.6. Ac Relacionados com medicamentos:

O mecanismo preciso através do qual a anfotericina B, a vancomicina e a heparina, desencadeiam a RTP alóimune não está completamente esclarecido. Obviamente que a suspensão terapêutica que se acompanha de adequadas contagens plaquetárias é um bom indício da reversão do quadro⁶⁶.

Deve-se suspeitar de destruição plaquetária imunológica provocada por medicamentos, sempre que um doente trombocitopénico apresenta megacariócitos no medulograma e/ou as TP compatíveis revelam IP diminuídos.

4.3.7. Transplante de Medula Óssea, MO/Células Progenitoras de Sangue Periférico, CPSP

Uma percentagem significativa destes doentes evoluíram para um estado de RTP. A mucosite grave do período pós-transplante contribui para o risco de hemorragia aumentado observado nestes doentes⁶⁷. O transplante de MO/CPSP surge como um factor de risco independente no desenvolvimento de RTP. Os factores associados a esta falta de resposta à TP parecem ser diferentes dos observados em doentes não transplantados, e destes destacam-se: a transfusão de concentrado eritrocitário no dia da TP, superfície corporal superior a 1,7 m² e por último o sexo masculino.³¹

É interessante verificar que nestes doentes a transfusão de concentrado eritrocitário, em número superior a 25 unidades prévia ao transplante, melhora a resposta à TP, mediante um mecanismo de supressão imune, tal como no transplante renal o risco de rejeição do enxerto é reduzido pela transfusão com o mesmo componente.

Paradoxalmente o *status* CMV do dador e do receptor pré-transplante também influencia a resposta à TP, assim a exposição destes a este vírus tem uma função imunossupressora, afectando assim de uma forma positiva o IP.

Por outro lado factores classicamente correlacionados com o IP tal como, a idade do CP/CUP transfundido, a febre e a contagem absoluta de neutrófilos no momento da transfusão, não se revelaram importantes neste grupo particular de doentes, em que a tolerância imune desempenha um importante papel na resposta à TP.

Em alguns doentes com Alotransplante MO/CPSP, a RTP pode estar relacionada com a Doença do Enxerto contra

Hospedeiro, DECH, aguda ou crónica, existindo uma correlação entre os autoanticorpos encontrados, o diminuto IP e a baixa sobrevivência plaquetária⁶⁸.

4.3.8. Auto Anticorpos

Os doentes com trombocitopénia autoimune possuem Acs com capacidade de ligação às plaquetas alogénicas e autólogas. A sua existência nem sempre equivale a trombocitopénia. Estes auto-anticorpos estão descritos em doentes com uma grande variedade de patologias⁶⁹. Normalmente as TP são ineficazes.

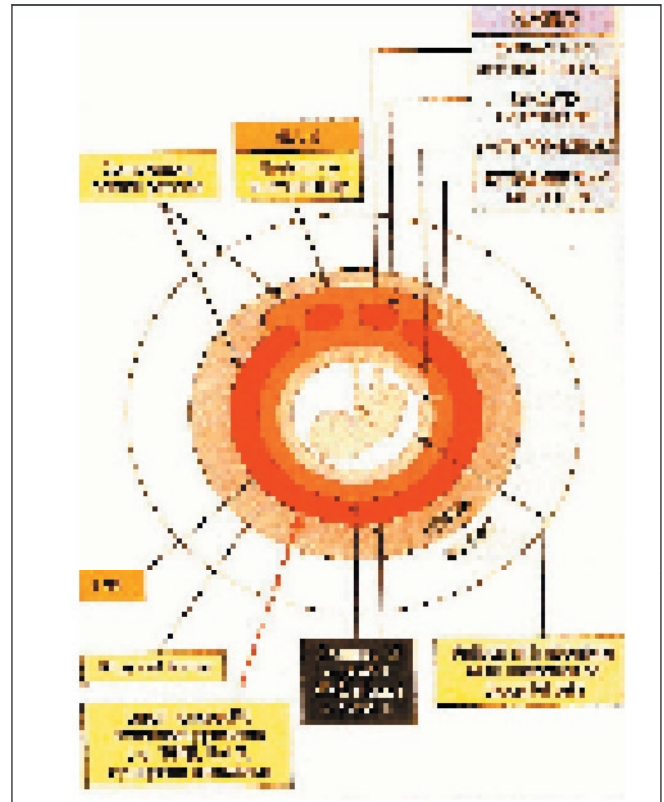
4.3.9. Gestações prévias

São um factor de risco para a aloimunização e a RTP. Durante a gravidez a mulher imuniza-se contra os Alo-Ags plaquetários fetais herdados do Pai e que ela não possui, desenvolvendo uma resposta imune primária que posteriormente pode evoluir para uma resposta imune secundária ou anamnésica, apesar de o sexo feminino ter desenvolvido ao longo dos tempos uma certa habilidade para tolerar a exposição aos Ags HLA paternos durante a gravidez, evoluindo assim para um estado de tolerância imune aos Ags HLA.

Contudo da literatura consultada não se encontra uma resposta para o facto de a trombocitopenia no recém-nascido de mãe trombocitopénica, com Acs HLA demonstráveis ser apenas de 1%. De que modo as plaquetas fetais resistem aos Aloanticorpos HLA maternos? Será que a placenta não é tão inocente como aparenta? Sempre foi aliciante a hipótese dos Ags HLA expressos nos tecidos placentários fetais adsorverem os aloanticorpos HLA maternos de classe IgG, não entrando assim na circulação fetal e daí a tão reduzida frequência de Trombocitopénia Neonatal Aloimune registada contra os Ags HLA. Mais recentemente torna-se evidente a existência de moléculas Ags HLA classe I e II no sinciotrofoblasto e no citotrofoblasto, tornando a placenta resistente ao ataque das células T maternas. Este é um mecanismo major de proteção fetal, outros são a produção de interleucinas inibitórias pela placenta, IL4 e IL10, que promovem uma resposta dos linfócitos Th2 e inibem a dos linfócitos Th1, Quadro VI.

A maioria dos Ags plaquetários estão formados a partir das 18ª semana de gestação e as trocas feto maternas ocorrem ainda mais precocemente. A aloimunização para os Ags HPA-1a é a mais frequente (75% dos casos⁷⁰) e está fortemente associada ao HLADrw52a⁷¹, mas a tentação de o considerarmos um marcador de gravidade na trombocitopenia Neo-natal Aloimune está fora de questão já que mães não respondedoras também tinham esse fenótipo.

QUADRO VI. MECANISMO PROPOSTO DE GARANTE DA SOBREVIVÊNCIA DO FETO COMO ALO-ENXERTO NA MÃE



(adaptado de Arthur Rabson, Ivan M. Roitt, editors. Really Essencial Medical Immunology. Oxford: Blackwell Science. 2ª edição, 2005, pp174).

5. DIAGNÓSTICO

É de exclusão, baseado em critérios clínicos e laboratoriais.

5.1. DIAGNÓSTICO CLÍNICO

O quadro clínico de trombocitopénia caracteriza-se por uma discrasia hemorrágica cutâneo-mucosa, cuja gravidade tem uma relação directa com o número de plaquetas e com a possível associação de factores de agravamento como a infecção, a disfunção plaquetária, a hemodiluição, a coagulopatia e a integridade do endotélio vascular. A hemorragia cutânea isolada, petequeal, ou com distribuição politópica, súbita ou insidiosa, pode associar-se à hemorragia das mucosas (epistáxis, hemóptise, gengivorragia, hematúria, meno e metrorragia, hematemese, melena, rectorragia) e mais raramente, à hemorragia retiniana e à temível hemorragia intracraniana. A tendência individual para a hemorragia num contexto de baixas contagens plaquetárias é determinada geneticamente⁷².

A abordagem diagnóstica pretende em primeiro lugar, avaliar o IP à 1ª hora (atesta a recuperação plaquetária) e à 24ª hora (avalia a sobrevivência plaquetária)⁷³. Posteriormente procede-se à identificação do AcAp, se este existir.

Tal como nos é dado observar no Quadro VII, existem dois métodos que avaliam o IP: o PPCI e o CCI.

QUADRO VII. MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DO INCREMENTO PLAQUETÁRIO

CCI (Corrected Count Increment)	
$CCI = \frac{PI \times SA \times 10^{11}}{n}$	PI = <i>Platelet Count Increment</i> SA = <i>Surface Area</i> n = <i>number platelets transfused</i>
<ul style="list-style-type: none"> • > 10.500 = normal • 7.500 - 10.500 = "border-line" • < 7.500 = refracteriedade 	
PPCI (Predicted Platelet Count Increment)	
$PPCI = \frac{n \times 0,67}{BV \times 1000}$	0.67 = correction factor for splenic uptake BV = Blood Volume
$\% \text{ PPCI} = \frac{\text{Observed Platelet Count Increment}}{\text{PPCI}}$	
<ul style="list-style-type: none"> • > 35% = Normal • 25-35% = "border-line" • < 25% = Refracteriedade 	
(adaptado de Kickler TS, and Herman J.H, eds. Current Issues in Platelet Transfusion Therapy and Platelet Alloimmunity. Bethesda, MD : AABB Press, 1999. II :33-36).	

Ao contrário da contagem de plaquetas pós transfusional e do IP (diferença entre as contagens plaquetárias pré e pós transfusionais) o PPCI e o CCI entram em linha de conta com o sequestro esplénico (PPCI), o volume sanguíneo (PPCI) e a superfície corporal (CCI). É obtida assim uma avaliação quantitativa e personalizada da TP

Os valores encontrados deverão ser superiores a 7.500 de CCI ou seja um PPCI de pelo menos 25%, tal como pode ser observado no Quadro VIII.

Por outro lado, esta metodologia obriga à contagem plaquetária do componente transfundido e omite factores que influenciam a eficácia e a eficiência transfusional, mas para os quais ainda não existe uma fórmula que os contabilize e que são:

QUADRO VIII. COMPARAÇÃO ENTRE O CCI E O PPCI NA AVALIAÇÃO DAS CONTAGENS PLAQUETÁRIAS 1 HORA APÓS A TRANSFUSÃO

CCI		PPCI
30.000	SUCCESSFUL	100
20.000		60
10.000	BORDERLINE SUCCESSFUL	30
7.500		15
4.500	UNSUCCESSFUL	15
0		0

A TP INEFICAZ É DEFINIDA POR UM CCI < 7.500 OU POR UM PPCI < 25%

(adaptado de Kickler TS, and Herman J.H, eds. Current Issues in Platelet transfusion Therapy and Platelet Alloimmunity. Bethesda, MD: AABB Press, 1999; II :33-36).

- A omissão do compartimento vascular arterial (pois as contagens plaquetárias apenas abrangem o compartimento venoso⁷⁴).
- As plaquetas contáveis nem sempre são funcionantes: é o caso do ambiente urémico, dos doentes insuficientes renais e também o das micropartículas derivadas das plaquetas, que aumentam significativamente, em 25%, a área da superfície total plaquetária, num concentrado plaquetário (neste caso são funcionantes e não contabilizadas⁷⁵).

O momento em que a contagem plaquetária é efectuada, influencia directamente o seu valor. Os mecanismos que afectam a contagem plaquetária uma hora após a TP, diferem significativamente dos que a afectam, vinte e quatro horas depois. Assim sendo, as contagens deverão ocorrer à 1ª e à 24ª hora. Do ponto de vista da prática da Enfermagem parece ser mais exequível a colheita da amostra 10 minutos depois do *terminus* da transfusão, contudo as contagens plaquetárias podem não ser absolutamente fidedignas, já que 60 minutos é o tempo mínimo requerido para que ocorra uma redistribuição das plaquetas transfundidas, no volume de sangue total.

A RTP de etiologia não imune associa-se a baixas contagens plaquetárias sobretudo às 24 horas após a TP (dificuldade na sobrevivência), enquanto que a RTP de etiologia imune apresenta baixas contagens uma hora e 24 horas após a TP (dificuldade na sobrevivência e na recuperação). Constituem excepções a esta observação a esplenomegália maciça, o shock, a terapêutica com heparina, a coagulação intravascular disseminada e a hemorragia cataclísmica.

A irradiação Gama de CP origina uma diminuição do IP à 1ª hora, mas este procedimento parece não afectar os CUP⁷⁶.

Parece existir um consumo diário plaquetaria, de base da ordem dos 7.000/ μ l no gasto diário e na manutenção da integridade vascular.

Do ponto de vista clínico e laboratorial não parecem existir diferenças significativas, entre os doentes que responderam à transfusão de CP /CUP com bons IP e os que desenvolveram um estado de RTP, excepto para o tempo de hemorragia pós-transfusional, que se encontra encurtado nos primeiros doentes.

5.2. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

Perante um achado laboratorial de trombocitopenia não enquadrável na história clínica do doente, a atitude será, colher uma nova amostra de sangue respeitando as normas, já que o atraso na mistura do sangue ao anticoagulante no momento da colheita, pode provocar a aglutinação das plaquetas e consequentemente contagens electrónicas falsamente baixas. Esta é a causa mais frequente de pseudo-trombocitopenia e a primeira que deve ser excluída, Figura I.

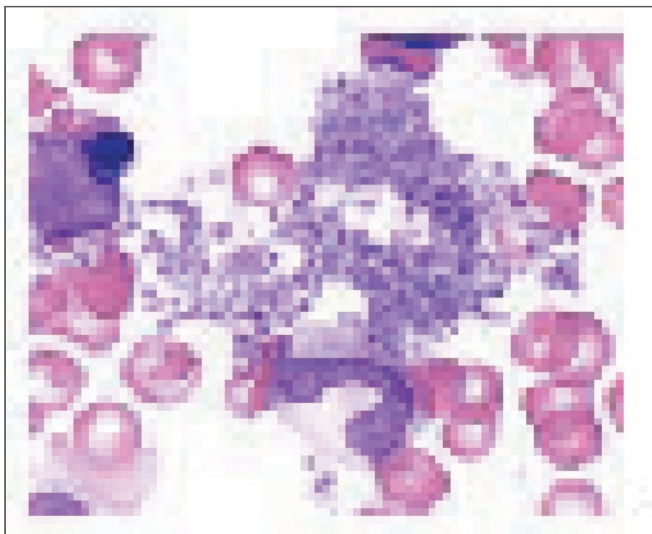


FIGURA I. PSEUDO-TROMBOCITOPÉNIA

Os agregados de plaquetas aparecem no esfregaço de sangue periférico como estruturas de grande dimensão (com permissão da American Society of Haematology-ASH Image Bank).

A persistência da trombocitopenia obriga a colheita de nova amostra para um tubo com citrato e posterior hemograma em analisador celular automático, seguido da

observação de esfregaço de sangue periférico, já que a possibilidade de estarmos perante uma falsa trombocitopenia induzida pelo anti-coagulante EDTA, é frequente e obriga à sua exclusão, Figura II.

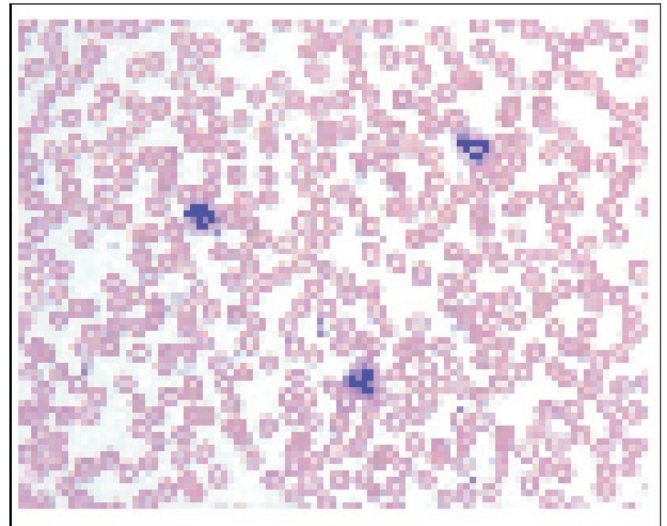


FIGURA II. PSEUDO-TROMBOCITOPÉNIA

Em grande ampliação o esfregaço de sangue periférico em citrato de sódio evidencia, plaquetas individuais e ausência de agregados plaquetários, que eram observados na amostra colhida em EDTA.(com permissão da American Society of Haematology- ASH Image Bank)

O EDTA leva à quelação do cálcio e expõe os Ags a Acs dirigidos contra a membrana plaquetária, os quais produzem agregados plaquetários que geram contagens electrónicas falsamente baixas. Recentemente constatou-se numa população de dadores a existência de uma variabilidade hematológica não desprezível, sendo alguns mais susceptíveis de desenvolver agregados plaquetários após activação plaquetária, nomeadamente nos dadores que tinham em comum o tabagismo, o exercício físico e a terapêutica com contraceptivos orais.⁷⁷

Outra causa de pseudotrombocitopenia é o satelitismo plaquetário em torno dos neutrófilos, por reduzir o número de plaquetas livres para serem contadas electronicamente. Aparentemente está envolvido um auto-Ac IgG, com especificidade contra o complexo glicoproteico IIb/IIIa da membrana plaquetária e também contra o receptor Fc γ dos neutrófilos. O esfregaço de sangue periférico é mandatório para excluir esta trombocitopenia espúria, Figura III.

A importância que desde sempre foi dada à procura de métodos e à aplicação de técnicas laboratoriais, no es-

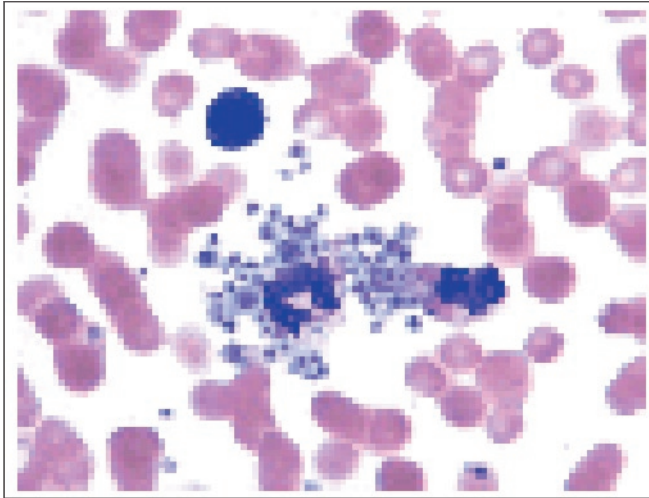


FIGURA III. PSEUDO-TROMBOCITOPÉNIA

Imagem em que se observa o satelitismo plaquetário envolvendo os neutrófilos. De notar que o linfócito não apresenta este fenómeno. O neutrófilo vacuolado à esquerda, parece ter fagocitado as plaquetas em vacúolos citoplasmáticos de cor azul. (com permissão da American Society of Haematology- ASH Image Bank)

tudo da patologia plaquetária, permitiu o acesso a uma bateria de testes baseados em princípios diferentes e que assim se completam.

A situação clínica do doente aloimmunizado *high responder* necessita de um método laboratorial de rastreio que seja simultaneamente simples de executar, sensível e específico, na detecção e identificação de Acs clinicamente significativos e que podem ser cruciais, para se estabelecer o diagnóstico de RTP.

Porque esse teste ainda não está disponível, a abordagem laboratorial utiliza vários testes, por forma a colmar as desvantagens dos mesmos.

5.2.1. Técnicas Laboratoriais

Basicamente os métodos serológicos de identificação de anticorpos AcAps, dividem-se em duas categorias: os testes directos, que revelam o Ac à superfície da plaqueta do doente e os testes indirectos, que detectam o Ac no soro do paciente. Assim dispomos actualmente de testes baseados em:

a) Plaquetas

- Imunofluorescência

A *Platelet Suspension Immunofluorescent Test*, PSIFT teste fácil de executar, reproduzível, que revela o Ac contra os Ags plaquetários, HLA e HPA. O tratamento pela cloroquina pode aumentar a especificidade do teste, ao induzir na molécula HLA classe I (constituída por uma cadeia pesada de PM de 44.000 e uma molécula de $\beta 2$ – micro-

globulina, unidas por uma ligação não covalente), uma dissociação desta, ao alterar a estrutura tridimensional dos epítopos e a sua consequente disponibilidade para a ligação com o Ac HLA, eventualmente presente⁷⁸.

Este método é útil quando se suspeita de Ac HLA e HPA, mas os resultados deverão ser interpretados cautelosamente já que de tempos a tempos um Ac HLA poderá continuar a reagir com as plaquetas tratadas com a cloroquina⁷⁹.

A Citometria de Fluxo, diminui a subjectividade da leitura, quantificando assim a imunofluorescência.

- Hemaglutinação Passiva Mista

Teste em fase sólida que combina um teste de aglutinação mista com hemaglutinação passiva⁸⁰.

- *Solid phase red cell adherence*, SPRCA:

Teste em fase sólida, sensível, rápido, mas pouco específico porque demasiado dependente das condições técnicas para a obtenção de um bom resultado.

É um dos testes de *screening* mais utilizados a nível hospitalar na detecção de Acs anti-HLA.

Utiliza como indicador a aderência de eritrócitos. Assim o Ac é detectado através dos glóbulos vermelhos que estão unidos à globulina antihumana. As plaquetas alvo são imobilizadas em camada única na superfície da microplaca, se os AcAp existirem no soro do paciente, o eritrócito liga-se à camada única plaquetária, aderindo à superfície da microplaca formando um fino filme visível.

Tal como o PSIFT este método detecta Acs contra os Ags HLA, HPA e também ABO. As técnicas de eliminação dos Ags HLA, como o tratamento com cloroquina, revelaram-se menos fiáveis do que para o PSIFT⁸¹.

b) Glicoproteínas Plaquetárias:

Vieram permitir uma boa identificação e caracterização bioquímica dos antígenos plaquetários, determinando a especificidade destes.

Imunoblotting: é mais utilizado como teste confirmatório, já que nem sempre é possível visualizar os Acs, porque o tratamento com SDS altera a estrutura antigénica e só os epítopos lineares ficam intactos.

Radioimunoprecipitação: é também utilizado como confirmatório, já que a marcação do Ag com ¹²⁵I não abrange todas as proteínas da membrana.

Ensaio de captura das Glicoproteínas Plaquetárias: utiliza actualmente plaquetas intactas.

Monoclonal Antibody Immobilisation of Platelet Ags, MAIPA:

Teste sensível, que apresenta resultados quantitativos, boa reprodutibilidade e que requer a utilização de Acs monoclonais apropriados. Estes bloqueiam os Ags HPA selectivamente, dá logo um resultado +/- para os Ags HLA⁸².

Dos testes já referidos é o único que fornece a especificidade da glicoproteína alvo do anticorpo respectivo. Os Acs monoclonais utilizados são dirigidos especificamente contra as glicoproteínas: IIb/IIIa, Ib/IX, Ia/IIa e também contra os Ags HLA classe I⁸³.

Como desvantagem há a referir o facto de alguns Acs monoclonais interferirem com a detecção de Acs humanos, porque se ligam a locais idênticos da glicoproteína, tal como o Ac do doente⁸⁴.

Kurz et al concluíram que esta técnica é mais sensível do que a da microlinfocitotoxicidade, na detecção de AcAp anti-HLA⁸⁵.

c) Genotipagem:

Os métodos de biologia molecular permitiram identificar alguns dos polimorfismos dos Ags HPA, respondendo assim a questões que a serologia tinha vindo a adiar. Identificaram-se assim trocas pontuais de bases ao nível do cDNA que, culminaram na substituição de um aminoácido na estrutura proteica, resultando na alteração da estrutura terciária da glicoproteína, definindo assim um alelo que expressa um determinado epítipo⁸⁶.

As técnicas mais utilizadas baseiam-se na *polymerase chain reaction*, PCR, pela *restrictio fragment length polymorfism*⁸⁷. As endonucleases de restrição efectuam a digestão do material amplificado pela PCR⁸⁸.

d) Microlinfocitotoxicidade

É o método clássico na demonstração da presença de Acs HLA classe I, porque como a célula alvo é o linfócito T, Lt, do paciente, os Ags HPA e ABO não são detectados. Como inconvenientes há a referir que é um teste pouco sensível e não detecta Acs HLA não citotóxicos.

Com o *Panel Reactive Antibody*, PRA, determinado pelo número de reacções positivas (= n^o de células mortas) a dividir pelo tamanho do painel, podemos identificar para que Ag HLA classe I o doente produz ou não anticorpos. Considera-se um resultado positivo se o PRA \geq a 10%⁹¹. Se o PRA é <70% em geral a situação é facilmente manejável, ao providenciarmos plaquetas Ag negativas isto é, que não tenham o/os Ags para os quais o doente

tem anticorpos. No polo oposto estão os doentes com elevado grau de aloimunização e que por isso mesmo apresentam um PRA > 70% e para os quais a abordagem é mais complexa e será abordada posteriormente.

6. ATITUDES TERAPÊUTICAS

Dado a etiologia multifactorial desta entidade nosológica a abordagem terapêutica será personalizada e de acordo com o status clínico-laboratorial do doente.

6.1. ABORDAGEM TERAPÊUTICA NA RTP DE ETIOLOGIA NÃO IMUNE

Tal como já foi referido anteriormente a identificação e consequente evicção tanto quanto possível do factor/factores responsáveis pela RTP de etiologia não imune, é importante na reversão do quadro.

Transfundir com plaquetas de dador único, frescas, respeitando a compatibilidade ABO e irradiar o componente se o doente estiver em risco de desenvolver Doença do Enxerto Contra Hospedeiro Transfusional, DECHT, ou seja na dádiva de familiar directo e no doente imunodeprimido.

A febre se existir deverá ser controlada com antipirético evitando o ácido acetil salicílico e outros inibidores da ciclo-oxigenase como os anti-inflamatórios não esteróides. As infeções deverão ser agressivamente tratadas com antibioterapia sem efeito deletério conhecido à TP.

Porque as reacções adversas à transfusão não parecem ter um efeito adverso significativo na recuperação plaquetária, sugere-se que a TP não seja suspensa se ocorrer reacção do tipo urticariforme.

Se existir um diagnóstico de esplenomegália a dose de plaquetas a administrar deverá ser aumentada.

6.2. TRANSFUSÃO DE PLAQUETAS NO DOENTE ALOIMUNIZADO

Perante uma situação de RTP comprovada clínica e laboratorialmente a atitude será,

1. Mudar de concentrados plaquetários para plaquetas de dador único (expõe o doente a um menor número de dadores)
2. Recrutar familiares consanguíneos como dadores, já que a possibilidade de se encontrarem dois ou mais Ags plaquetários comuns é elevada, obtendo-se assim

melhores IP e também porque os familiares estão à partida mais disponíveis, para dádivas frequentes.

3. Laboratorialmente:
 - a) tipar o doente para o sistema HLA, se possível
 - b) testar o doente para anticorpos citotóxicos
 - c) testar o doente para anticorpos específicos da plaqueta
4. Selecionar plaquetas frescas, período de armazenamento inferior a 48 horas
5. Respeitar a compatibilidade ABO
6. Irradiar o componente em todos os doentes em risco de virem a desenvolver a DECHT, não esquecendo os casos de dádiva directa (familiares de 1º grau).
7. Seleccionar os dadores sem os Ags correspondentes aos anticorpos detectados nos dois últimos itens, se for viável
8. Selecionar os dadores pela tipagem HLA

6.2.1. Programa de suporte Transfusional Plaquetário

a) Programa de Colheita de Dadores de Aferese

Tem dois objectivos: a manutenção de um stock plaquetário adequado e a disponibilidade num componente HLA seleccionado, sempre que necessário.

A multiculturalidade e a riqueza étnica que à séculos nos vem caracterizando como nação, se por um lado nos tornou um povo tão singular por outro, cria-nos dificuldades em providenciar aos doentes originários de África e América do Sul com aloimunização HLA, um suporte transfusional plaquetário adequado, comparando com os mesmos pacientes mas caucasianos. De facto porque apresentam fenótipos HLA menos frequentes, apenas dispõem de metade dos dadores compatíveis quando comparados com os doentes caucasianos, dado que os painéis são constituídos sobretudo por dadores caucasianos e assim, têm mais dificuldade na obtenção de um *match* A e B⁹².

Assim deverão ser tomadas medidas no sentido não só de aumentar a dimensão do painel mas também de o diversificar, dando ênfase ao desenvolvimento de um programa de recrutamento de dadores na comunidade de origem Americana e Africana⁹³.

b) Painel de Dadores Regulares de Aferese Fenotipados no Sistema HLA

O painel baseia-se na fenotipagem HLA que poderá ser efectuada pela microlinfocitotoxicidade, LMT.

c) Plaquetoteca

Sempre que possível deverão ser preparadas amostras de plaquetas dos dadores do painel (em conservação), o que permite efectuar um *cross-match* prévio à convocação do dador.

d) Programa Informático

Os dados referentes ao painel de dadores fenotipados no sistema HLA, deverão ser informatizados, num programa com acesso rápido e eficaz permitindo-nos seleccionar os dadores previsivelmente compatíveis, tanto no sistema ABO, como no sistema HLA, com os doentes em estudo.

6.2.2. Estratégias na Seleção de Plaquetas para Doentes Aloimunizados

- Plaquetas HLA Compatíveis

Esta alternativa obriga à tipagem HLA de um grande número de potenciais dadores de plaquetas, tal como a tipagem HLA de todos os pacientes com possibilidade de virem a desenvolver aloimunização. Por outro lado em pacientes aloimunizados, a TP HLA compatíveis pode não produzir o incremento plaquetário esperado, já que esses pacientes poderão estar aloimunizados contra outros Ags plaquetários já referidos HPA e ABO. Para contornar esta situação dever-se-á realizar,

- *Cross-Match* Plaquetário Cego

Põe em contacto o soro do doente (com os Acs) frente às plaquetas do dador, pesquisando-se em seguida se existe reacção.

É útil quando não possuímos a tipagem HLA do doente (porque se encontrava em aplasia ou ainda porque esta não faz parte do protocolo transfusional). Desta forma estaria assegurada a compatibilidade para a totalidade dos Ags plaquetários, mas devido ao elevado grau de polimorfismo na distribuição de fenótipos HLA na população e aos títulos elevados de anticorpos nos doentes com várias especificidade, seriam necessários painéis de dadores muito amplos, para se conseguirem encontrar dadores HLA compatíveis, sobretudo para os fenótipos menos frequentes. Então a alternativa será efectuar,

- *Cross-Match* Orientado

Combina duas selecções plaquetárias, a primeira visa excluir do painel os dadores com Ags correspondentes aos Acs que o doente revelou.

A segunda selecção efectua-se mediante *cross-match* entre o soro do doente e as plaquetas do dador, só se aceitando os dadores cujo resultado for negativo. Assim aumenta-se a segurança do procedimento ao assegurar a compatibilidade para os outros Ags plaquetários, HPA e HLA e a *pool* de dadores disponíveis é maior.

Está descrita com esta abordagem uma taxa de sucesso transfusional da ordem dos 60%.

Nos casos de doentes com aloimunização contra Ags privados, os dadores eventuais deverão ser classificados com base no número de Ags idênticos aos do paciente, Quadro IX.

QUADRO IX. GRAUS DE COMPATIBILIDADE ENTRE DADOR E RECEPTOR

GRAU	
A	Todos os 4 Ags do do dador são idênticos aos do receptor.
B1U	Apenas 3 Ags do dador estão identificados. Todos estão presentes no receptor.
B2U	Apenas 2 Ags do dador estão identificados.
B1X	Três Ags do dador são idênticos aos do receptor, o 4º pertence a um grupo de reacção cruzada.
B2UX	Dois dos 3 Ags detectados no dador estão presentes no receptor. O 3º pertence a um grupo de reacção cruzada.
B2X	Dois Ags do dador são idênticos aos do receptor, 2 são de reacção cruzada

(adaptado de Delaflor-Weiss E *et al* ⁹⁴)

24 As unidades HLA compatíveis têm maior probabilidade de sucesso, 70 a 80% para compatibilidade A ou BU, e são necessárias quando as primeiras falham ou se o soro do doente se revela incompatível com todos os concentrados plaquetários, é o caso dos doentes altamente imunizados.

Se o doente continuar a não responder à transfusão apesar das medidas já referidas, mantendo-se o estado de RTP e de discrasia hemorrágica deverá ser transfundido com as plaquetas menos incompatíveis e com maiores doses, pois pode reduzir a gravidade da hemorragia⁹⁶.

Em alguns doentes a transfusão de pequenas doses de CP, de 6 em 6 horas, apesar de não aumentar as contagens plaquetárias, pode ser eficaz na manutenção da integridade do endotélio vascular.

Concluindo, a estratégia a seguir na seleção de plaquetas para transfundir este tipo de doentes, é individualizada e de acordo com o *status* clínico-laboratorial, pressupondo uma flexibilidade e capacidade de interação com outros Serviços Hospitalares e Instituições, dado que a maioria dos Serviços de Imuno-Hemoterapia não tem implementada a totalidade da tecnologia requerida, pelo que se propõe um algoritmo orientador, Quadro X.

QUADRO X. ALGORITMO NA ABORDAGEM DA RTP DE ETIOLOGIA IMUNE



(adaptado de Phekoo *et al* ⁹⁵)

Perante um doente refractário às TP sem Acs antiplaquetários detectáveis e simultaneamente sem factores não imunológicos conhecidos, a transfusão com plaquetas HLA compatíveis poderá ser benéfica, apesar dos discretos incrementos plaquetários obtidos.

Em relação ao *timing* de transfundir deve ser dito que a produção de Trombopoietina, TPO (cujo receptor, cMpl, está localizado nos megacariócitos e plaquetas) aumenta à medida que as contagens plaquetárias descem. Assim uma diminuição da adsorção de TPO pelas plaquetas circulantes, disponibiliza-a para uma interação com os megacariócitos medulares ou com as células progenitoras

e conseqüentemente estimula a produção plaquetária⁹⁷. Esta é uma das razões para considerarmos um limiar mais baixo para a transfusão, sempre que o doente esteja hemodinamicamente estável.

6.3. OUTRAS ESTRATÉGIAS TERAPÊUTICAS

6.3.1. Redução da Antigenicidade HLA

Os Ags HLA podem ser selectivamente eliminados da membrana plaquetária através do pré-tratamento com ácido (PBS-pH 3.0, a 0º, durante 10 min). Este método que se poderia revelar interessante na abordagem dos doentes aloimunizados com uma *pool* de doadores disponível (compatíveis no sistema HLA), reduzida ou inexistente, reveste-se de profundas limitações já que, a experiência clínica é limitada e registaram-se algumas reações transfusionais graves.

A opção de eluição dos ags HLA plaquetários com cloroquina, revelou-se demasiado agressiva para a plaqueta, produzindo-se efeitos citotóxicos e alterações morfológicas que diminuem a viabilidade e a função plaquetária, para além de um elevado número de falsos positivos nos testes.

6.3.2. Bloqueio do Sistema Reticulo-Endotelial

O sistema retículo-endotelial é o árbitro final da destruição plaquetária nos doentes aloimunizados e existem duas formas de o contornar,

a) Imunoglobulina Intravenosa, IgIV (0.4 g/Kg/d x 5 dias)

O estado actual da arte não permite generalizar a sua aplicação, mesmo nos doentes com aloimunização HLA, que não respondem à transfusão de plaquetas seleccionadas segundo o cross-match orientado e estejam em discrasia hemorrágica. Aparentemente a sua administração não será eficaz de uma forma sustentada como se pretende, porque o bloqueio/inibição do receptor Fc no sistema retículo-endotelial, um dos principais mecanismos de ação da IgIV, não será completo. Assim o CCI à 1ª hora revelou um aumento significativo mas às 24 horas este diminuía, atestando uma diminuição da sobrevivência plaquetária⁹⁸. Aguardam-se resultados sobre a IgG preparada a partir do soro de mulheres múltiparas, já que aparentemente possuirá uma maior reactividade anti-HLA⁹⁹.

Os doentes com maior grau de aloimunização, PRA superior a 85%, responderam menos bem à IgIV se compararmos com aqueles doentes portadores de um PRA inferior.

b) Esplenectomia

A influência da esplenectomia na recuperação plaquetária após a TP em doentes aloimunizados não correspondeu ao esperado¹⁰⁰, ao contrário dos diagnósticos de Esplenomegália e de Trombocitopénia Autoimune. A eficácia desta abordagem terapêutica mesmo em doentes gravemente imunizados ainda não foi demonstrada.

6.3.3. Terapêutica Imunossupressora

Nunca se esperou muito da eficácia da terapêutica com prednisolona, vincristina ou ciclosporina, dado que a aloimunização plaquetária ocorre sobretudo em doentes já sob terapêutica imunossupressora instituída, embora a ideia do bloqueio do sistema imune impedir o desenvolvimento da aloimunização, ser aliciante. Nesse sentido *Ibrahim et al* demonstraram num modelo animal que a administração pré-transfusional da proteína de fusão CTLA41g, impede a produção de alo-Acs, classe IgG, ao aderir preferencialmente à molécula coestimulante B7 (existente à superfície da CAA), impedindo assim a ligação do receptor CD28 do Lt à CAA. Aguarda-se a sua aplicação ao ser humano¹⁰¹.

6.3.4. Colunas de Imuno-Adsorção

Com esta técnica está descrita uma remissão parcial nos doentes com RTP através da remoção selectiva de imunoglobulinas sobretudo IgG subclasse 1, 2 e 4 (embora na RTP a subclasse dominante de AcAp produzida seja a IgG3), da diminuição sustentada de AcAp circulantes (até 4 meses) e do aumento das contagens plaquetárias¹⁰².

Para a *American Association of Blood Banks* a aplicação da terapêutica com Colunas de Imuno-adsorção/Plasmaferese Terapêutica em pacientes com RTP, é de categoria III.

Aguardam-se resultados de futuros estudos randomizados e controlados na reavaliação do papel desta ainda dispendiosa e relativamente pouco implementada modalidade terapêutica.

6.3.5. Ácido Épsilon-aminocaproico, Ácido Tranexâmico e Aprotinina

Diversas publicações documentam a estabilização do coágulo de fibrina através da inibição da fibrinólise com a conseqüente melhoria da hemostase e controlo da hemorragia^{103, 104}. São fármacos relativamente seguros e a relação custo/eficácia é vantajosa. Poderão ter interesse nas

trombocitopenias aloimunes mas aguardam-se estudos mais alargados e randomizados sobre o seu papel nestes doentes seleccionados.

7. TERAPÊUTICAS FUTURAS

7.1. SUBSTITUTOS PLAQUETÁRIOS

Destacam-se três agentes:

a) Membranas plaquetárias em infusão

Como vantagens refira-se a baixa incidência de aloimunização (pela ausência de Ags HLA e da maioria dos Ags HPA), de complicações infecciosas (devido à inactivação viral a que foram submetidas), da DECHT e de toxicidade. Apresentam uma semi-vida prolongada.

b) Plaquetas liofilizadas

Com esta técnica as plaquetas mantêm intactas a morfologia e o perfil antigénico, o que poderá ser um óbice em doentes aloimunizados, tal como a logística exigente, como o armazenamento a -80° C. Têm uma semi-vida prolongada e são *virus-free*.

c) Tromboesferas

Ao contrário dos anteriores este agente não é produzido a partir de componentes sanguíneos celulares mas sim, da albumina e fibrinogénio o que poderá ser uma vantagem em doentes aloimunizados, para além do *status virus-free*. Parecem exercer o seu efeito hemostático directamente na formação do coágulo de fibrina. Apresenta uma semi-vida prolongada. Aguardam-se estudos que definam a sua segurança e a eficácia em doentes trombocitopénicos.

7.2. TERAPÊUTICA COM CITOCINAS ESTIMULADORAS MEDULARES

A IL-1, IL-3, IL-6 e o Factor Estimulador das Colónias de Macrófagos-Granulócitos GM-CSF, não são isentos de efeitos acessórios, estando a decorrer estudos que determinam a sua eficácia em doentes trombocitopénicos após quimioterapia ou transplante de MO/PBSC, tendo em conta a sua toxicidade. Não foram portanto ainda testados em larga escala.

O Factor de Crescimento Humano Recombinante de Megacariócitos em avaliação através de ensaios randomizados e prospectivos revela um aumento significativo do IP, sem a toxicidade dos agentes anteriores, perfilando-se assim como um agente terapêutico muito promissor.

7.3. TRANSFUSÃO DE PLAQUETAS AUTÓLOGAS CRIOPRESERVADAS

Os resultados obtidos com a transfusão deste componente situam-se entre 50 e 75% do esperado, para a transfusão de plaquetas frescas. As principais limitações desta abordagem advêm da antecipação do período de trombocitopenia restringindo assim a população alvo.

Esta abordagem mas na modalidade de colheita alogénica, também permite dar resposta aos doentes com fenótipos HLA/HPA raros .

8. PREVENÇÃO

Assume particular relevância porque o suporte transfusional do doente com RTP é sempre um desafio, mas dado a multiplicidade dos factores etiológicos envolvidos e a variabilidade intrínseca a cada doente revela-se impossível executar um plano preventivo. Objectivamente a pedra basilar na prevenção desta entidade, será sempre a implementação das boas práticas da Medicina Transfusional.

Apesar da Desleucocitação Universal dos componentes sanguíneos celulares (100% dos episódios transfusionais), Circular Normativa emanada pelo Instituto Português de Sangue em Março de 1998, e obrigatória desde Janeiro de 1999, ser já um enorme passo na prevenção da aloimunização, dado o papel crucial dos linfócitos residuais na etiologia desta entidade, alguns doentes evoluirão para um estado de RTP, que não pode ser prevenida nem corrigida. Até porque mais recentemente, toma corpo a noção de que os fragmentos leucocitários (resultantes quer do processo de filtração, quer da degeneração celular do armazenamento, poderem escapar à remoção durante o processo de filtração, se esta não for efectuada após a separação¹⁰⁵), têm capacidade de gerar aloimunização HLA e consequentemente RTP. Os fragmentos leucocitários expressam CD61, indicando a sua proveniência plaquetária, CD19 do linfócito B e CD45 comum leucocitário¹⁰⁶. De qualquer forma não foram descritos efeitos prejudiciais *major* em CE e CP provocados pela desleucocitação.

A transfusão com plaquetas de dador único previne a aloimunização no sentido de uma menor exposição do receptor, a um menor número de dadores ou seja, reduz a antigenicidade do componente.

Dado que a aloimunização plaquetária pode ser exclusivamente provocada por transfusões com CE¹⁰⁷, a sen-

sibilização dos Médicos prescritores pelos SI, no sentido da implementação de uma maior racionalização e um conhecimento mais profundo dos riscos que a transfusão encerra, actualizando os critérios que fundamentam a decisão de transfundir, preferencialmente enquadrada em Comissões de Transfusão Hospitalares, é uma abordagem pedagógica urgente e interessante mas a longo prazo, enquanto o ensino da Especialidade de Imuno-Hemoterapia no nosso País, estiver circunscrito ao ensino pós-graduado.

9. CONCLUSÕES

A RTP emergiu como um dos maiores desafios associado à Medicina Transfusional .

Cada doente refractário tem uma constelação única de factores que contribuem para a insuficiente resposta à TP, desenvolvendo-se em aproximadamente 10% dos doentes politransfundidos, de forma persistente ou transitória, contribuindo para a sua génese transfusões anteriores com CE/CP/CUP, transplante de MO/CPSP e as gestações prévias. A etiologia não imunológica constitui a maioria dos casos, destacando-se os factores relacionados com o doente, por ordem decrescente: a infecção, a terapêutica com Anfotericina B, a febre, a esplenomegália e história de episódio hemorrágico prévio. Dos factores não imunológicos relacionados com CPs/CUPs propriamente ditos, salienta-se o tempo de armazenamento superior a 48 horas.

A Aloimunização HLA classe I, A e B destaca-se na etiologia imune, estando a sua incidência em declínio desde a implementação da Desleucocitação Universal de todos os componentes sanguíneos celulares. A imunização contra os Ags HPA, HPA-1a, revela-se muito menos frequente.

Distinguindo-se o doente hemato-oncológico politransfundido na incidência desta Entidade nosológica, e podendo o desenvolvimento de RTP excluir o doente do transplante de MO/PBSC, sugere-se antes do início da Quimioterapia intensiva e sempre que se preveja a necessidade de suporte transfusional, um estudo Imuno-hematológico prévio, em que conste o despiste de AcAp com a identificação de especificidades, caso estas existam e também a fenotipagem HLA.

O suporte transfusional eficaz do doente aloimunizado e refractário apesar de complexo, dado o *status* clínico-laboratorial de cada doente e as diferentes estratégias envolvidas, é possível em aproximadamente dois terços dos casos, recorrendo a plaquetas frescas, de aferese,

ABO compatíveis, irradiadas e seleccionadas por cross-match orientado. Para este ser exequível é necessário um painel alargado nacional de dadores regulares de aférese, fenotipados para o sistema HLA, respectiva plaquetoteca e programa de colheita de plaquetas de aferese. A abordagem do doente altamente imunizado ou aquele sem dador compatível revela-se bem mais complexa. Para estes casos infelizmente a terapêutica com IgIV, a esplenectomia, as colunas de imuno-adsorção e os inibidores da fibrinólise ainda não permitem dar uma resposta mantida, segura e eficaz, aguardando-se estudos mais alargados randomizados e prospectivos, sobre o seu verdadeiro papel neste grupo tão particular de doentes.

A promoção das boas práticas da Medicina Transfusional é um desafio que se coloca a todos os especialistas desta área, que pelo seu cariz transversal a todas as especialidades médicas e cirúrgicas, obriga à referência a *standards*, à produção de recomendações racionalizantes, à vigilância da sua aplicação prática e à responsabilização do médico prescritor num quadro de melhoria contínua da Qualidade, irá provocar a longo prazo a manutenção da tendência de diminuição da incidência, um diagnóstico mais precoce e uma abordagem mais objectiva desta entidade nosológica que apesar de rara se mantém potencialmente fatal.

REFERÊNCIAS

1. Delaflor-Weiss E, Mintz PD. The evaluation and management of platelet refractoriness and alloimmunization. *Transfusion Medicine Reviews* 2000; 14 (2):180-196.
2. Bishop JF, Matthews JP, Yuen K, et al. The definition of refractoriness to platelet transfusion. *Transf Med* 1992; 2:35-41.
3. Slichter SJ. Mechanisms and Management of Platelet Refractoriness. In *Transfusion Medicine*. Nance SJ, ed. Bethesda, MD: AABB Press, 1990: 95-179.
4. Sousa Gracinda, Rodrigues Anabela, Costa João, Guerreiro Ofélia. Trombocitopénia Neonatal Aloimune. *Acta Pediátrica Portuguesa* 1998; 29: 461-465.
5. Trindade H, Carvalho H, Sousa G. Identificação das Células Residuais. *Qualidade em Medicina Transfusional. Curso Residencial Ibérico*, Lisboa 2001.
6. Seghatchian J. Platelet Storage Lesion: A comparative analysis of six leucoreduced processes in terms of biocompatibility, microvesiculation, retention of prion, and generation/removal of biological response modifiers. *ABO, Revista de Medicina Transfusional*. Dezembro de 2004; 20: 14-19.
7. Salonen K Peter, Bucher U, EU Nydegger. Comparison of post transfusion recoveries achieved with either fresh or stored platelet concentrates. *Blut* 1987; 54: 207-212.
8. Keuren Jeffrey, Cauwenberghs Sandra, Curvers Joyce. Platelet ADP response deteriorates in synthetic storage media. *Transfusion* 2006; 46: 204-212

9. Duguid JKM, Carr R, Jenkins JA et al. Clinical evaluation of the effects of storage time and irradiation on transfused platelets. *Vox Sang* 1991; 60:151-154.
10. Slichter Sherril, Kickler Thomas, Woodson Robert et al. Factors affecting posttransfusion platelet increments, platelet refractoriness and platelet transfusion intervals in thrombocytopenic patients. *Blood* 2005; 105(10): 4106-4114.
11. Leach MF, AuBuchon JP. Effect of storage time on clinical efficacy of single-donor platelet units. *Transfusion*. 1993; 33: 661-664.
12. Simonsen C Anne, Borregaard Niels and Flament Jocelyne. Transfusion of 7 day-old amotosalen photochemically treated buffy-coat platelets to patients with thrombocytopenia: a pilot study. *Transfusion* 2006; 46: 424-433
13. Mc Cullough J, Benjamin R, Goodnough T, Conlan Maureen, et al. Therapeutic efficacy and safety of platelets treated with a photochemical process for pathogen inactivation: the SPRINT Trial. *Blood* 2004; 104(5): 1534-1541.
14. Rinder HM, Murphy M et al. Progressive platelet activation with storage: evidence for shortened survival of activated platelets after transfusion. *Transfusion* 1991; 31: 409-414.
15. Higby DJ, Cohen E, Holland JF, et al: The prophylactic treatment of thrombocytopenic leukemic patients with platelets: a double blind study. *Transfusion* 1974; 14: 440-446.
16. Friedberg RC, Donnelly SF, Boyd JC, et al. Clinical and blood bank factors in the management of platelet refractoriness and alloimmunization. *Blood* 1993; 81: 3428-3434.
17. Christie DJ, Van Buren N, Lennon JS, Putnam JL et al. Vancomycin dependent Antibodies Associated with Thrombocytopenia and Refractoriness to Platelet Transfusion in Patients with Leukemia. *Blood* 1990; 75: 518-523.
18. Brilhante Dialina. Contaminação Bacteriana nos Concentrados Plaquetários: no limiar da erradicação, ou o desafio continua?. *ABO Revista de Medicina Transfusional* 2005; 23: 5-7.
19. Brilhante Dialina, Rodrigues Susana, Abreu Renato et al..Contaminação Bacteriana de Concentrados Plaquetários e de Concentrados Eritrocitários: perspectiva de um Hospital. *ABO Revista de Medicina Transfusional* 2005; 23: 9-14.
20. Sloand EM, Kumer P, Yu M, Klein HG. Effect of amphotericin B and fluconazole on platelet membrane glycoproteins. *Transfusion* 1994 ; 34: 415-420.
21. Kulpa J, Zaraulis CG, Good RA, Kutti J. Altered platelet function and circulation induced by anphotericin B in leukemic patients after platelet transfusion. *Transfusion* 1981; 21: 74-76.
22. Kutti J, Zaroulis CG, Safai- Kutti S et al: Evidence that circulating immune complexes remove transfused platelets from the circulation. *Am J Hematology* 1981; 11: 255-259.
23. Bock M, Muggenthaler K-H, Schmidt U, Heim UM. Influence of antibiotics on post-transfusion platelet increment. *Transfusion* 1996; 36:952-954.
24. Alcorta I, Pereira A, Ordinas A. Clinical and laboratory factors associated with platelet transfusion refractoriness. *Br J Haematol* 1996; 93:220-224.
25. Hussein MA, Fletcher R, Long TJ, et al. Transfusing platelets 2h after the completion of amphotericin-B decreases its detrimental effect on transfused platelet recovery and survival. *Transf Med* 1998; 8: 43-47.
26. Aster RH. Pooling of platelets in the spleen: role in the pathogenesis of hypersplenic thrombocytopenia. *J Clin Invest* 1966; 45: 645-657.
27. Wood Lucille, Jogessar Vinod, Jacobs Peter. Estimation and predictive use of corrected count increment- a proposed clinical guideline. *Transfusion and Apheresis Science* 2005; 32: 117-124.
28. Remuzzi G. Bleeding in renal failure. *Lancet* 1988; 1:1205-1208.
29. Bick RL. Disseminated intravascular coagulation: objective clinical and laboratory diagnosis, treatment, and assessment of therapeutic response. *Semin Tromb. Hemost.* 1996; 22:737-743.
30. Parker RD, Yamamoto LA, Miller WR. Interaction effects analysis of platelet transfusion data. *Transfusion* 1974; 14:567-573.
31. Klumpp TR, Herman JH, Innis S, et al. Factors associated with response to platelet transfusion following hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1996; 17: 1035-1041.
32. Godeau B, Fromont P, Seror T et al. Platelet alloimmunization after multiple transfusions: a prospective study of 50 patients. *Br J Haematology* 1992; 81:395-400.
33. Daly PA, Schiffer CA, Aisner J et al: Platelet transfusion therapy: one hour postransfusion increments are valuable in predicting the need for HLA-matched preparations. *Jama* 1980; 243:435-438.
34. Schiffer CA, Slichter SJ. Platelet transfusions from single donors. *N Engl J Med* 1982; 307:245-248.
35. Schiffer CA: prevention of alloimmunization against platelets (editorial). *Blood* 1991; 77:1-4.
36. Baur MP, Danilors JA: Population analysis of HLA-A, B, C, DR and other genetics markers. *Histocompatibility Testing 1980: Report of the Eighth International Histocompatibility Workshop*. Los Angeles: UCLA Tissue Typing Laboratory 1980; 993-995.
37. Gibbs P, Green M, Basser R. Thrombocytopenia: new approaches to resolve a major problem in chemotherapy. *The Cancer Journal* 1995; 8(5): 255-259.
38. Murphy MF, Metcalfep, Ord J et al. Disappearance of HLA and platelet-specific antibodies in acute leukaemia patients alloimmunized by multiple transfusions. *Br J Haematol* 1987; 67: 255-260.
39. Dutcher JO, Schiffer CA, Aisner J, Wiernik PH. Long-term followup of patients with leukemia receiving platelet transfusion: Identification of a large group of patients who do not become alloimmunized. *Blood* 1981;58:1007-1011.
40. Novotny Vera, Doxiadis Ilias and Brand Anneke. The reduction of HLA Classe I expression on platelets. *Transfusion Medicine Reviews* 1999; Vol 13,2: 95-105.

41. Murphy S, Gardner FH. Platelet storage at 22°C; metabolic, morphologic, and functional studies. *J Clin Invest.* 1971; 50: 370-377.
42. Trindade H, Caetano J A Machado, Transfusão e Transplantação Laços Imunológicos. *ABO, Revista de Medicina Transfusional* 2000; 4: 12-28.
43. Auchincloss H Jr, Sachs DH. Transplantation and graft rejection. In: Paul WE, ed. *Fundamental Immunology.* New York: Raven 1993; 1099 -141.
44. Sousa Gracinda. Porquê a desleucocitação universal?. *Curso de Qualidade em Medicina Transfusional da ESTM.* Lisboa 2001.
45. Benjamini Eli, Sunshine Geoffrey, Leskowitz Sidney. *Imunology. A Short Course,* third edition, Wiley-Liss, New York 1996; 10:175-198.
46. Wernet D, Schnaidt M, Mayer G, Northoff H: Serological screening, using three different test systems of platelet transfused patients with haematologic-oncologic disorders. *Vox Sang.* 1993; 65:108-113.
47. Kickler TS, and Herman J.H, eds. *Current Issues in Platelet Transfusion Therapy and Platelet Alloimmunity.* Bethesda, MD : AABB Press 1999; IV : 77-93.
48. Trindade Helder. *Resposta Imunitária Específica (Parte I), Curso Teórico, Ensino de Imunologia, 1998 /1999.* Faculdade de Ciências Médicas.
49. Laundry G J, Rees B M, Younie M and Hows J M. Incidence and specificity antibodies in multitransfused patients with acquired aplastic anemia. *Transfusion* 2004;44 (6): 814-825.
50. Seftel MD, Growe GH, Lee CY, Hogge DE et al. Universal prestorage leukoreduction in Canada decreases platelet alloimmunization and refractoriness. *Blood* 2004; 103:333-339.
51. Taanig E, Skibsted L: The frequency of platelet alloantibody in pregnant woman. *Obstet Gynecol Surv.* 1990; 45: 525-527.
52. Sousa Gracinda: *Edema Pulmonar Agudo Não Cardiogénico.* *ABO, Revista de Medicina Transfusional* 2004; 19: 21-26.
53. Novotny Vera, van Doorn R, Witvliet MD et al: Occurrence of allogeneic HLA and non-HLA antibodies after transfusion of prestorage filtered platelets and red cells. *Blood* 1995; 85: 1736-1741.
54. Sintnicolaas K, van Marwijk M, van Kooij HC et al: Leukocyte depletion of random single donor platelet transfusion does not prevent secondary human leukocyte antigen alloimmunization and refractoriness: A randomized prospective study. *Blood* 1995; 85: 824-828.
55. Sousa Gracinda. *Técnicas de Estudo das Plaquetas.* ESTM, Residential Course in platelet Immunohaematology 1994.
56. Buecher-Maxwell V, Scott MA, Godber L, et al. Neonatal alloimmune thrombocytopenia in a quarterhorse foal. *J VET Inter Med* 1996; 11:304-308.
57. Danese Silvio, Motte Carol and Claudio Fiocchi. Platelets in Inflammatory Disease: Clinical, Pathogenic and Therapeutic Implications. *American Journal of Gastroenterology* 2004; 99 (5): 938-945.
58. Gachet Christian. Regulation of Platelet Functions by P2 Receptors. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2006; 46: 277-300.
59. The Trial to Reduce Alloimmunization to Platelets study group. *N Engl. J. Med.* 1997; 337: 1861-1869.
60. Kelton JG, Hamid C, Aker S et al. The amount of blood group A substance on platelets is proportional to the amount in plasma. *Blood* 1982; 59: 980-985.
61. Anstee DJ. Blood – group active surface molecules of the human red blood cell. *Vox Sang* 1990; 58:1-20.
62. Mollicone R, Caillard T, Le Pendu J, François A et al. Expression of ABH and X (Le^a) Ags on platelets and lymphocytes. *Blood* 1988; 71: 1113-1119.
63. Chambers Linda and Herman Jay H. Considerations in the Selection of a Platelet Component: Apheresis Versus Whole Blood-Derived. *Transfusion Medicine Reviews* 1994; 13 (4): 311-322.
64. Sacher Ronald A, MD, Kickle Thomas S, MD, Shulman Ira A, MD. Management of patients refractory to platelet transfusion. *Arch Pathol Lab Med* 2003; 127: 409-414.
65. Cooling LL, Kelly K, Olson JD. Determinants of ABH expression on human blood platelets. *Blood.* 2005; 105: 3356-3364.
66. Christie DJ, van Buren N, Lennon SS et al. Vancomycin-dependent antibodies associated with thrombocytopenia and refractoriness to platelet transfusion in patients with leukemia. *Blood* 1990; 75: 518-523.
67. Friedmann Alison, Sengul Haydar and Goodman Steven. Do Basic Laboratory Tests or Clinical Observations Predict Bleeding in Thrombocytopenic Oncology Patients? *Transfusion Medicine Reviews* 2002; 16 (1) :34-45.
68. Anasetiti C, Rybka W, Sullivan KM et al. Graft-v-host disease is associated with autoimmune-like thrombocytopenia. *Blood* 1989; 73: 1054-1058.
69. Bock M, Muggenthaler K-H, Schmidt U, Heim UM. Influence of antibiotics on post-transfusion platelet increment. *Transfusion* 1996; 36: 952-954.
70. Ouwehand W H, Stafford P and Watkins N. Platelet immunology, present and future. *ISBT Science Series,* 2006; 1: 96-102.
71. Rayment R, Birchall J and Roberts D J. Neonatal alloimmune thrombocytopenia. *British Medical Journal* 2003; 327: 331-332.
72. Smethurst A, O'Connor M and Ouwehand W H. Platelet biology: collagen activation mechanisms and their relevance to transfusion medicine. *ISBT Science Series,* 2006;1: 103-106.
73. O'Connell B, Lee EY, Schiffer CA. The value of 10 minute post-transfusion platelet counts. *Transfusion,* 1988; 28: 66-7.
74. Fabri F, Soini B, Sartori R, Randi M L, Luzzatto G, Girolami A. Clinical and Laboratory factors that affect the post-transfusion platelet increment. *Transfusion Science* 2000; 23: 63-68.
75. Tans G, Rosing R, Christella M et al. Comparison of anticoagulant and pre-coagulant activities of stimulated platelet derived microparticles. *Blood* 1991;77: 2641-2648.

76. Slichter Sherril, Kickler Thomas, Woodson Robert et al. Factors affecting posttransfusion platelet increments, platelet refractoriness and platelet transfusion intervals in thrombocytopenic patients. *Blood* 2005; 105 (10): 4106-4114.
77. Sousa Gracinda, Seghatchian J. The 6 Pillars of best practice in apheresis technologies: Introductory remarks. *Transfusion and Apheresis Science*. 2006; 34: 107-123.
78. Sousa Gracinda. Técnicas de Estudo das Plaquetas. ESTM, Residential Course in platelet Immunohaematology 1994.
79. Rivière A Brutel and Engelfriet C P. A Simple Immunofluorescent Test for the Detection of Platelet Antibodies. *British Journal of Haematology* 1978; 39: 195-207.
80. Shibata Y, Juji T, Nishizawa Y, Sakamoto H. Detection of platelet antibodies by a newly developed mixed agglutination with platelets. *Vox Sang*. 1981; 41: 25-31.
81. Kaplan C: Evaluation of serological platelet antibody assays. *Vox Sang*. 1998; 74 (2): 355-358.
82. Kiefel V, Santoso S, Weisheit M et al. (MAIPA): a new tool for the identification of platelet reactive antibodies. *Blood* 1987;70: 1722-1726.
83. Kiefel V, Santoso S, Weisheit M, Mueller-Eckhaut. Monoclonal Antibody-specific Immobilization of Platelet Antigens (MAIPA): A new tool for the identification of platelet reactive antibodies. *Blood* 1987;70: 1722-1726.
84. Kiefel V. The MAIPA assay and its applications in immunohaematology. *Transfus Med* 1992; 2:181-188.
85. Kurz M, Greinix H, Hocker P et al. Specificities of anti-platelet antibodies in multitransfused patients with haemato-oncological disorders. *Br J Haematol*. 1996;95: 564-569.
86. Kroll H, Kiefel V, Santoso S. Clinical aspects and typing of platelet alloantigens. *Vox Sang*. 1998;74 (2): 345-354.
87. Unkelbach K, Kalb R, Santoso S et al. Genomic RFLP typing of human platelet alloantigens Zw(PI^A), Ko, Bak and Br (HPA-1,2,3,5,), BR. *J. Haematol*. 1995; 89: 169-176.
88. Skogen B, Boldt B, Mc Farland JG et al. Platelet alloantigen genotyping by PCR, using allele specific primers. *Proc. ISBT 5th Regional, (4th European) Congress* 1995; 614-618.
89. Tipagem HLA ABC, Manual de Técnicas da Secção de Serologia HLA. Centro de Histocompatibilidade do Sul.
90. ASHI laboratory manual. 3rd ed. Lenexa, KS: American Society for Histocompatibility and Immunogenetics, 1994.
91. Tardif GN, MacQueen JM, eds. Tissue typing reference manual. 3rd ed. Richmon, VA: Southea Stern Organ Procurement Foundation (SEOPF), 1993.
92. King K E, Ness P M, Armstrong K S. Racial differences in the availability of human leukocyte antigen-matched platelets. *Journal of Clinical Apheresis* 1996; 11:71-77.
93. Bolgiano DC, Larson EB, Slichter SL: A model to determine required pool size for HLA-typed community donor apheresis programs. *Transfusion* 1989;29: 306-310.
94. Delaflor-Weiss E.Mintz PD.The Evaluation and Management of Platelet Refractoriness and Alloimmunization. *Transfusio Medicine Reviews* 2000; 14 (2):180-196.
95. Phekoo KJ, Hambley, Win H et al. Audit of practice in platelet refractoriness. *Vox Sanguinis* 1997; 73: 81-86.
96. British Committee for Standards in Haematology 2003.Guidelines for the use of platelet transfusions. *British Journal of Haematology* 2003; 122: 10-23.
97. Slichter Sherrill. Relationship Between Platelet Count and Bleeding Risk in Thrombocytopenic Patients. *Transfusion Medicine Reviews* 2004; 18 (3):153-167.
98. Kickler TS, Braine HO et al.A randomized placebo-controlled trial of intravenous gammaglobulin in alloimmunized thrombocytopenic patients.*Blood* 1990; 75: 313-316.
99. Semple John, Kim Michael , Lazarus Alan H. γ - Globulins prepared from sera of multiparous women bind anti-HLA antibodies and inhibit an established in vivo human alloimmune response. *Blood* 2002; 100 (3): 1055-1059.
100. Hogge DE, Dutcher JP et al. The ineffectiveness of random donor platelet transfusion in splenectomized, alloimmunized recipients. *Blood* 1984; 64: 253-256.
101. Ibrahim Sherif, Jacobs Frank, Baldwin William. CTLA41g Inhibits Alloantibody Responses to Repeated Blood Transfusions. *Blood* 1996; 88: 4594-4600.
102. Gutensohn K, MD, Zander A R, MD, Kuehnl P: Protein A Immunoabsorption in Alloimmunized Patients Refractory to Platelet Transfusions and in patients with treatment-resistant Immune Thrombocytopenic Purpura.*Transfus. Sci*. 1998; 19, Suppl.:47-52.
103. Bartholomew JR, Salgia R, Bell WR: Control of bleeding in patients with immune and nonimmune thrombocytopenia with aminocaproic acid. *Arch Intern Med* 1989; 149: 1959-1961.
104. Ben Bassat I, Douer D, Ramot B: Tranexamic acid in acute myeloid leukaemia: possible reduction of platelet transfusions. *Eur J Haematol* 1990; 45: 86.
105. Rodrigues Anabela. Tipos de desleucocitação pré-armazenamento, em laboratório e de cabeceira. Curso de Qualidade em Medicina Transfusional da ESTM. Lisboa 2001.
106. Sousa Gracinda. Desleucocitação Universal questões e problemas. Curso de Qualidade em Medicina Transfusional da ESTM. Lisboa 2001.
107. Rebullia Paolo. A mini-review on platelet refractoriness. *The Haematology Journal*. 2005; 90: 247-253.

AUTOR: Teresa Sousa Guerreiro, Assistente Hospitalar de Imuno-Hemoterapia.

Correspondência: Dr^a Teresa Sousa Guerreiro, Serviço de Imuno-Hemoterapia, Hospital Fernando da Fonseca IC 19. Sítio da Venteira. 2700 Amadora. Email: teresasousaguerreiro@hotmail.com