

REFRACTARIEDAD PLAQUETARIA

LEIDY HERNÁNDEZ
LEIDY ANA LORENA HERNÁNDEZ BERMÚDEZ

Estudiante de bacteriología

Trabajo de grado para optar el título de Bacterióloga.

Directora:



AURA ROSA MANASCERO GÓMEZ



PONTIFICIA UNIVER SIDAD JAVERIANA

FACULTAD DE CIENCIAS

CARRERA DE BACTERIOLOGIA

BOGOTÁ D. C

2014

NOTA DE ADVERTENCIA

“La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos
Por los alumnos en sus trabajos de tesis. Solo velara para que no se
Publique nada contrario al dogma y a la moral católica y porque la
Tesis no contenga ataques personales contra persona alguna, antes
Bien se en ellas el anhelo de buscar la verdad y la justicia”

ARTICULO 23 RESOLUCION NÚMERO 13 DE JULIO DE 1946

TABLA DE CONTENIDO

JUSTIFICACIÓN.....	8
OBJETIVOS.....	9
1. MARCO TEÓRICO.....	10
1.1. Ontogenia de la plaquetas.....	10
1.1.1. Megacariopoyesis.....	10
1.1.2. Trombopoyesis.....	11
1.2. Estructura de la plaqueta.....	12
1.3. ANTÍGENOS PLAQUETARIOS HUMANOS HPA.....	18
1.3.1. Los antígenos de la GPIIb/IIIa.....	19
1.3.2. Los antígenos de la GPIa/IIa.....	20
1.3.3. Antígenos de CD109.....	20
1.4. ANTIGENOS ABO.....	21
1.5. ANTIGENO LEUCOCITARIO HUMANO HLA.....	21
1.6. FUNCIONES DE LA PLAQUETA.....	22
1.6.1. Hemostasia.....	23
1.6.2. Inflamación e inmunidad innata.....	26
1.6.3. Remodelación tisular.....	28
1.7. MECANISMOS DE MUERTE CELULAR.....	28
1.8. MÉTODOS DE OBTENCIÓN DE PLAQUETAS.....	30
1.8.1. Procedimiento para la preparación del PRP.....	30
1.8.2. Procedimiento para la preparación de plaquetas Buffy-Coat.....	32
1.8.3. Plaquetas por aféresis.....	33
1.9. INDICACIONES PARA LA TRANSFUSIÓN DE CONCENTRADOS PLAQUETARIOS.....	33
1.9.1. Transfusión profiláctica.....	33
1.9.2. Transfusión terapéutica.....	34
1.9.3. Indicaciones para la transfusión de Concentrados Plaquetarios en neonatos.....	35
1.9.4. Cálculo de la dosis de plaquetas a transfundir.....	36
1.9.5. Dosis de transfusión de plaquetas.....	36
1.9.6. Respuesta inicial a la transfusión de plaquetas.....	36
1.10. LESIONES DE ALMACENAMIENTO.....	37

2. METODOLOGÍA.....	39
2.1. Selección de artículos.....	39
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	39
3.1. Selección de artículos.....	39
3.2. Frecuencia de antígenos plaquetarios humanos (HPA).....	41
3.2.1. ASIA.....	41
3.2.2. EUROPA.....	50
3.2.3. AFRICA.....	55
3.2.4. AMERICA.....	60
3.3. Comportamiento de las frecuencias alélicas de HPA-1 al HPA-16.....	64
3.4. Causas de la refractariedad plaquetaria	66
3.5. Patologías asociadas a la Refractariedad Plaquetaria.....	70
3.6. Alternativas transfusionales.....	72
4. CONCLUSIONES.....	77
5. RECOMENDACIONES.....	77
6. BIBLIOGRAFÍA.....	79

RESUMEN

Objetivo: Identificar en la literatura las principales causas reportadas de refractariedad plaquetaria (RP) y las alternativas planteadas por los diferentes grupos para disminuir su frecuencia y severidad

Metodología: Se realizó una búsqueda sistemática consultando 5 bases de datos: Science Direct, Scielo, Medline (PubMed), Scopus y Google scholar en la que se seleccionaron los artículos publicados entre los años 2006-2014, de idioma Inglés y español, que trataran del estudio de la frecuencia de antígenos plaquetarios, causa de RP y del manejo para la prevención de la refractariedad.

Resultados: se seleccionaron 150 artículos para el estudio de la RP. Estos fueron divididos en frecuencia de antígenos plaquetarios humanos (HPA) y antígenos leucocitarios humanos (HLA), causas de la RP, patologías asociadas a la RP y alternativas transfusionales.

Conclusiones: la refractariedad plaquetaria se presenta en un rango de 2 al 30%. La frecuencia de los HPA varía según la población de estudio. La principales causas son la presencia de anticuerpos HLA y HPA en un 59.1%, y de factores clínicos como la esplenomegalia en un 86%, fiebre y coagulación intravascular diseminada en un 68.2%. Los antígenos HPA-1 a HPA-6 y HPA-15 son los principales antígenos causantes de la refractariedad plaquetaria. La leucoreducción es uno de los métodos por los cuales se puede prevenir la aloinmunización, ya que elimina el 99.9% de los leucocitos.

Palabras claves: refractariedad plaquetaria, antígenos plaquetarias, transfusión de plaquetas.

ABSTRACT

Objective: To identify in literature the main reported causes of platelet refractoriness (PR) and the alternatives proposed by different groups to reduce their frequency and severity.

Methods: A systematic search was conducted at 5 databases: Science Direct, Scielo, Medline (PubMed), Scopus and Google scholar in the articles published between 2006 to 2014, in English and Spanish were selected and treated the study of the frequency of platelet antigens, cause PR, management and prevention of refractoriness.

Results: 150 items to study PR were selected. These were divided into frequency of human platelet antigens (HPA) and human leukocyte antigen (HLA), causes of PR, diseases associated with platelet transfusion refractoriness and alternatives.

Conclusions: platelet refractoriness occurs in a range of 2 to 30%. The frequency of HPA varies depending on the population studied. The main causes are the presence of HLA and HPA antibodies in 59.1%, and clinical factors such as splenomegaly in 86%, fever and disseminated intravascular coagulation in 68.2%. The HPA-1 antigens HPA-6 HPA-15 are the main causes of platelet refractoriness antigens. Leukoreduction is one of the methods by which it could prevent alloimmunization, because it eliminates 99.9% of leukocytes.

Key words: platelet refractoriness, antigens platelet, platelet transfusion.

JUSTIFICACIÓN

Según el reporte de SIVIGILA del Instituto Nacional de Salud (INS) durante el año 2010 en Colombia se transfundieron 900.460 hemocomponentes de los cuales 217.612 fueron unidades de plaquetas (24.2%), de las unidades transfundidas el 69.5% corresponde a plaquetas estándar y 30.5% a plaquetoféresis.

Actualmente la refractariedad plaquetaria se presenta en un rango de 2 al 30% en pacientes que reciben transfusiones y de ellos el 20 al 50% de los pacientes desarrollan aloanticuerpos contra antígenos HLA y/o HPA.

En pacientes con neoplasias de origen hematológico la refractariedad plaquetarias se presenta en un rango de 61% a 66.7%.

Con el presente trabajo pretendemos identificar y comprender las diferentes causas asociadas a la refractariedad plaquetaria que han sido reportadas en diferentes partes del mundo y en los diferentes grupos de pacientes que requieren una transfusión sanguínea, esta identificación ayudará a recomendar protocolos de manejo de las transfusiones de plaquetas para lograr disminuir la frecuencia de la refractariedad plaquetaria en nuestro país.

OBJETIVOS

General

Identificar en la literatura las principales causas reportadas de refractariedad plaquetaria y las alternativas planteadas por los diferentes grupos para disminuir su frecuencia y severidad.

Específicos

1. Identificar la frecuencia y el tipo de reacciones que generan la refractariedad plaquetaria.
2. Identificar cuáles son las patologías que se asocian con la mayor prevalencia de refractariedad plaquetaria
3. Establecer cuáles han sido las alternativas transfusionales que han mostrado mejores resultados frente al problema de la refractariedad plaquetaria
4. Recomendar un protocolo en el uso de plaquetas para transfusión que genere una menor frecuencia de refractariedad plaquetaria

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Ontogenia de las plaquetas

1.1.1. Megacariopoyesis

Se llama megacariopoyesis al proceso de diferenciación de la línea megacariocítica. Las células troncales hematopoyéticas (CTH) tienen dos características funcionales que las distinguen: son capaces de auto-renovarse y son multipotenciales. Las CTH dan origen a un progenitor multipotente, el progenitor mieloide común (PMC), los cuales se pueden diferenciar hacia un progenitor bipotente el progenitor eritroide-megacariocítico (PEM) llamado también unidad formadora de colonias eritro-megacariocítica (UFC-EM). Los PEM dan lugar a unidades formadoras de brotes megacariocitos (UFB-Meg), los cuales, a su vez, generan unidades formadoras de colonias megacariocíticas (UFC-Meg), que dan origen a los precursores denominados megacarioblastos, en orden jerárquico madura y genera el megacariocito inmaduro (Meg-I), este una vez que desarrollan un citoplasma maduro dan lugar a los megacariocitos maduros (Meg-M), quienes finalmente liberaran las plaquetas.¹ (Figura 1).

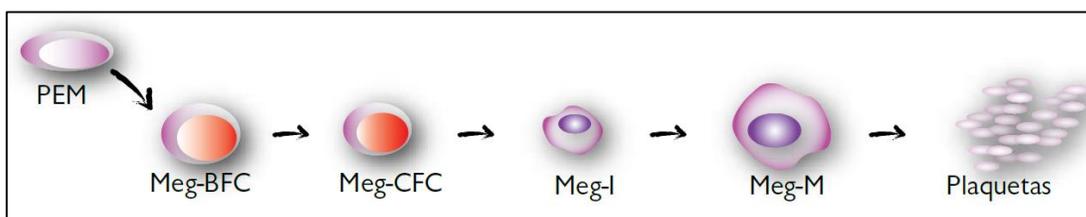


Figura 1. Diferenciación megacariocítica. El progenitor eritroide-megacariocítico (PEM), da lugar a Células Formadoras de Brotes Megacariocíticos (Meg-BFC), los cuales a su vez, generan Células Formadoras de Colonias Megacariocíticas (Meg-CFC), que posteriormente generarán megacariocitos inmaduros (Meg-I) y maduros (Meg-M), que finalmente liberarán a las plaquetas.

Tomado de: Mayani y col, 2007.

El megacarioblasto es una célula de 15 a 50 μ de diámetro, posee un núcleo ovalado o arriñonado, tiene dos juegos de cromosomas (4n) y el citoplasma es hiperbasófilo, ya que tiene una gran cantidad de ribosomas, pero aún no presenta gránulos. La siguiente célula progenitora es el promegacariocito que mide 20 a 80 μ de diámetro con un citoplasma menos basófilo, pero con presencia de gránulos, por último tenemos al megacariocito maduro que mide 12 a 150 μ de diámetro, con núcleo cerebriforme o multilobulado, citoplasma basófilo con granularidad variable.^{2,3} La trombopoyetina (TPO) promueve la endomitosis, un proceso donde el megacariocito duplica su material genético, tiene

mitosis pero sin cariocinesis ni citocinesis, por lo que se convierte en una célula de gran tamaño y con núcleo poliploide, llega a tener hasta $128n$ en un único núcleo. La poliploidía de la célula aparentemente es necesaria para la subsecuente acumulación de citoplasma para liberar una adecuada cantidad de plaquetas. El proceso de diferenciación y proliferación megacariocítica es regulada especialmente por la TPO que es una hormona producida principalmente en los hepatocitos, en células de túbulos contorneados del riñón y las células del estroma de la médula ósea, en particular los fibroblastos; en el proceso también intervienen varias citocinas como las interleucinas IL-3, IL-6 e IL-11. La producción y secreción TPO está mediada principalmente por la unión a su receptor Mpl que está presente tanto en megacariocitos como en las plaquetas circulantes. Si aumenta el número de plaquetas, aumenta el número de moléculas de TPO que se quedan adheridas a los receptores en su membrana y, por lo tanto, disminuye la TPO que queda libre y que llega a la médula ósea; en cambio, si disminuye el número de plaquetas, disminuye también el número de moléculas de TPO retenidas en la membrana de la plaqueta y como consecuencia, aumenta la concentración de TPO en la médula ósea estimulando la diferenciación megacariocítica.^{1,2}

1.1.2 Trombopoyesis

Es el proceso de liberación de plaquetas a partir del citoplasma del megacariocito maduro. El sistema de membranas del megacariocito sirve como depósito para la formación de las proplaquetas. Una vez los megacariocitos maduran entran en apoptosis, fragmentan su citoplasma, migran al nicho vascular y se ramifican en forma de proplaquetas para que finalmente se separen una a una y sean liberadas en los vasos sanguíneos sinusoidales de la médula ósea hacia la periferia. Un megacariocito puede extenderse de 10 a 20 proplaquetas, estas funcionan como líneas de ensamblaje para la producción de plaquetas. Una vez en el torrente sanguíneo, las proplaquetas se convierten en preplaquetas. Las preplaquetas son partículas anucleadas discoidales de $2-10 \mu$ de diámetro que se pueden convertir de forma reversible en proplaquetas, proceso que es mediado por la polimerización bidireccional de los microtúbulos en cada extremo de las proplaquetas las cuales darán lugar a las plaquetas.⁴ Cada megacariocito maduro puede dar lugar a 10000 plaquetas.²

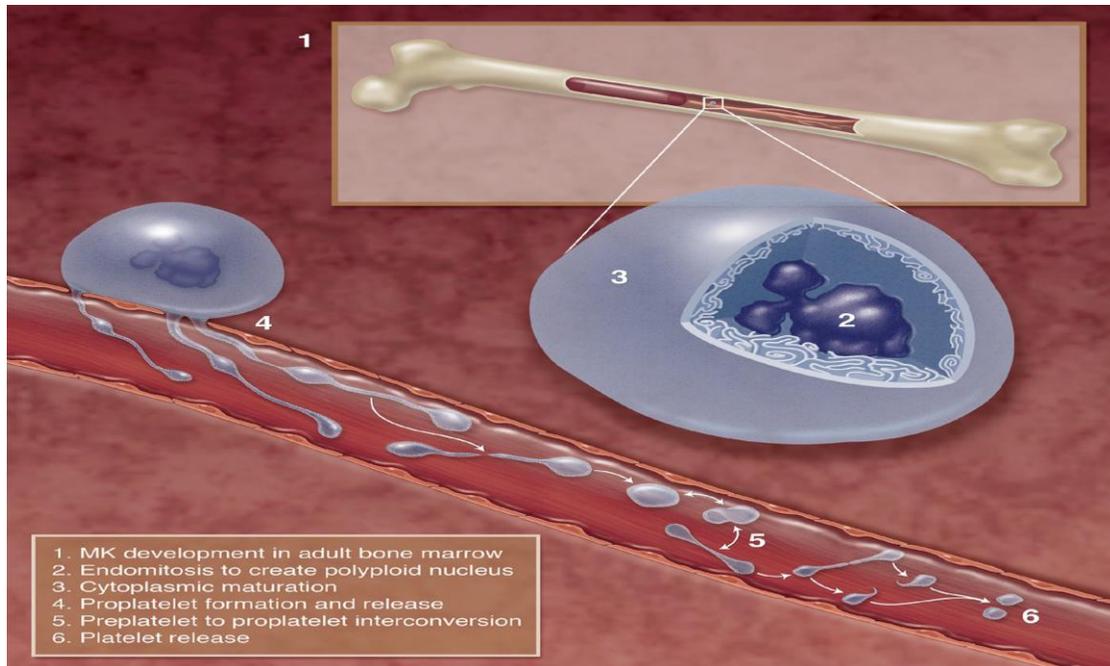


Figura 2. Esquema de la producción de plaquetas. Tomado de: Machlus, y col 2013.

Las plaquetas son fragmentos citoplasmáticos del megacariocito, que miden de 2 a 4µ de diámetro, presentan un volumen plaquetario medio de 8,3 a 11,6 fL y 10 pg de peso. Una vez liberadas a la circulación, al menos el 30% de las plaquetas van al bazo y allí se almacenan. Tienen una vida media en la sangre de 7 a 10 días y su concentración oscila entre 150.000 y 450.000 por µL.⁵

1.2 Estructura de la plaqueta

Los principales elementos citológicos de las plaquetas son la membrana plasmática, los gránulos específicos de almacenamiento, el citoesqueleto, el sistema canalicular abierto, el sistema tubular, presentando también organelas comunes a otras células como mitocondrias y gránulos de glucógeno que constituyen la reserva energética de estas células.

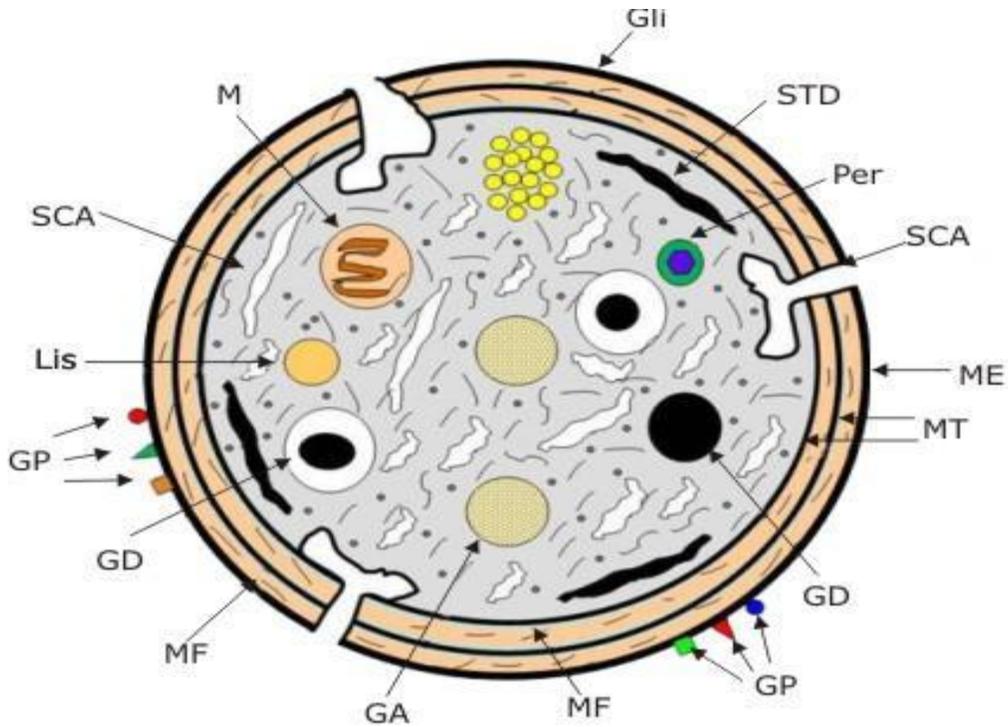


Figura 3. Esquema de las principales características de la ultraestructura plaquetaria. GA: granulo alfa; GD: granulo denso; Glu: glucógeno; GP: glicoproteínas; Lis: lisosoma; M: mitocondria; MF: microfilamento; MT: microtubulos; ME: membrana externa; Per: peroxisoma; SCA: sistema canicular abierto; STD: sistema tubular denso. Tomado de: Monteiro, y col. 2001.

La membrana forma el límite o separación de la plaqueta con el exterior. Está integrada por tres capas:

Una cubierta exterior o glicocáliz de 15-20 nm de grosor, que contiene receptores glicoproteicos, entre ellos el complejo Ib/V/IX, que cuyo ligando en el proceso de adhesión es el factor de von Willebran (FvW) y el complejo IIb/IIIa, ligando del fibrinógeno en el proceso de agregación. Las glicoproteínas (GP), además, integran en su estructura química los antígenos plaquetarios de membrana. En el glicocáliz, se encuentran también otros complejos no glicoproteicos capaces de iniciar la activación plaquetaria, posee receptores para agonistas plaquetarios como el ADP, así como también posee receptores para los inhibidores de la agregación como el AMPc. La segunda capa es una típica bicapa lipídica, asimétrica, especialmente rica en ácido araquidónico. En respuesta a la activación, la membrana expone una superficie cargada negativamente denominado factor plaquetario 3 (FP3) ó fosfolípidos plaquetarios, esenciales como soporte o fase sólida de las reacciones enzimáticas de las proteasas de serina y sus cofactores para la

formación de fibrina. De igual forma, el ácido araquidónico entra en el metabolismo de los eicosanoides, participando en la transmisión del estímulo recibido en las membranas hacia las regiones celulares efectoras. La capa más interna es el área submembranosa, que está unida a las porciones transmembranas de algunas GP, y contiene filamentos submembranosos que forman parte del citoesqueleto. En esta zona se produce la transformación de las señales recibidas en la superficie exterior, en los mensajes químicos y alteraciones físicas que activaran a la plaqueta. Las GP de membrana de las plaquetas actúan como receptores mediando, entre otras, dos funciones de capital importancia para el mantenimiento de una hemostasia correcta: la adhesión de las plaquetas sobre superficies vasculares dañadas y la interacción plaqueta-plaqueta o agregación plaquetaria.⁶

Las integrinas son una familia de GP de la membrana implicadas en interacciones célula-matriz o célula-célula. Son heterodímeros constituidos por dos subunidades, α y β , y para la mayoría de estos receptores el lugar de reconocimiento en el ligando es el tripéptido Arg-Gly-Asp (RGD). Este grupo incluye cinco receptores de la membrana plaquetaria: GPIIb/IIIa, GPIa/IIa, GPIc/IIa, GPIc'/IIa y el receptor de la vitronectina.

- La GPIIb/IIIa es la integrina más abundante con un peso molecular de 228 kDa, y se encuentra en forma de heterodímeros α IIb β 3 dependientes de calcio. Su función principal es la de receptor para el fibrinógeno, mediando la agregación plaquetaria. Este complejo actúa como receptor para otras proteínas adhesivas, además del fibrinógeno, tales como la fibronectina, el FvW, trombospondina y la vitronectina. A través de uniones con estas proteínas adhesivas, interviene en el proceso de adhesión al subendotelio, la unión con FvW es relevante especialmente en los vasos sanguíneos de alto flujo sanguíneo. Estos complejos solamente adquieren capacidad para interactuar con las proteínas adhesivas, después de la activación de la plaqueta. Por otra parte, el complejo GPIIb/IIIa interviene en la retracción del coágulo, uniendo la red de fibrina extracelular al aparato contráctil intracelular.
- La GPIa/IIa es el receptor para el colágeno, corresponde al heterodímero α 2 β 1 y está presente en la plaqueta en un número aproximado de 2.000 moléculas por célula. Este receptor funciona en el proceso de adhesión a la matriz extracelular, y también está implicado en la agregación de las plaquetas inducida por el colágeno.

- La GPIc/IIa, GP Ic'/IIa y el receptor de la vitronectina: corresponden a las integrinas minoritarias de la membrana plaquetaria $\alpha 5\beta 1$, $\alpha 6\beta$ y $\alpha V\beta$, y son, respectivamente, los receptores para la fibronectina, laminina y vitronectina.

A la familia de las GP ricas en leucina pertenecen proteínas con funciones muy diversas, que tienen en común la presencia de un número variado de copias de un segmento, con una secuencia de 24 residuos de aminoácidos rica en leucina (LRG). En este grupo está incluido el complejo GP Ib/IX/V de la membrana plaquetaria.

- El complejo glicoproteico GPIb/IX/V (CD42) es un receptor específico implicado en la adhesión y agregación plaquetaria. En su porción citoplasmática, el complejo interacciona con una proteína del citoesqueleto llamada actin-binding protein (ABP). La unión de las proteínas contráctiles pueden ser especialmente importante en el proceso de adhesión plaquetaria. La GPIb desempeña un papel fundamental en la hemostasia primaria actuando como receptor de contacto de las plaquetas con el subendotelio, principalmente con el colágeno, a través de un ligando adhesivo, el FvW. Cuando se une al endotelio el FvW adquiere una conformación que permite su interacción con la superficie plaquetaria. El receptor GPIb/IX/V también funciona como lugar de unión de alta afinidad para la trombina, participando en la propagación de la respuesta a este importante agonista en la activación y agregación plaquetaria.^{6,7}
- La GPVI es una glicoproteína mayoritaria de la membrana plaquetaria con un peso de 88 kD y funciona como receptor para la trombospondina, y para las fibrillas de colágeno del tipo I.⁸

En la membrana plaquetaria existen otro tipo de receptores, no glicoproteicos, para diversos agonistas de tipo fisiológico ADP, Tromboxano A₂ (TxA₂), trombina, serotonina, adrenalina, prostanoides, PAF (factor activador de plaquetas).

- La liberación de ADP es esencial como agonista en el proceso de agregación plaquetaria y actúa mediante su interacción con receptores específicos localizados en la superficie plaquetaria. Se conocen dos receptores para el ADP en la plaqueta, uno acoplado a la proteína Gq (el P2Y₁) y otro acoplado a Gi (el P2Y₁₂), que es esencial para la hemostasia primaria. Ambos receptores actúan de modo sinérgico en la activación de las plaquetas. El P2Y₁ probablemente sea lo que origina la activación inicial reversible, mientras que el P2Y₁₂ es necesario para la activación prolongada y la agregación

plaquetaria. El ADP y el ATP no sólo pueden actuar como coactivadores plaquetarios, sino también influir en el tono vascular.

- El (TxA₂) se sintetiza en la plaqueta como consecuencia de la liberación de ácido araquidónico por la acción de la fosfolipasa A₂. El ácido araquidónico es el sustrato de la ciclooxigenasa-1 (COX-1). La COX-1 produce endoperóxidos cíclicos de las prostaglandinas, PGG₂ y PGH₂ como productos iniciales, que se transformarán en TxA₂ por la actividad de la TxA₂ sintasa.
- El receptor del PAF puede unirse de forma específica a esta molécula, generado por diversas células circulantes activadas, produciendo cambio de forma, secreción y agregación de plaquetas.⁶

Otros receptores plaquetarios incluyen el receptor funcional de la trombina.

La trombina es el agonista plaquetario más potente que también facilita la producción de fibrina desde el fibrinógeno. Los receptores activados por la proteasa (PAR) son receptores de la trombina. La trombina es una enzima, por lo que puede activar más de una molécula del receptor. Al unirse la trombina al receptor, ocurre una liberación proteolítica en la molécula del receptor, lo que produce la activación de cuatro tipos diferentes de proteínas G que estimulan señales diferentes en la célula. Hasta el momento se han descrito cuatro tipos diferentes de PAR. De ellos, solamente el PAR-1 y el PAR-4 se expresan en las plaquetas humanas y cualquiera de los dos estimula la agregación y la secreción plaquetarias. El PAR-1 es el receptor principal de trombina en las plaquetas y produce la activación de la plaqueta con concentraciones bajas de trombina (EC₅₀, 50 pM), mientras que PAR-4 necesita concentraciones de trombina mayores (EC₅₀, 5.000 pM).⁹ Existen diferentes mecanismos endógenos que pueden contrarrestar el efecto de los agonistas que inducen la activación de las plaquetas.

- La PGI₂ estimula la adenilciclase en la plaqueta y aumenta los niveles intracelulares de AMPc, mientras el Óxido nítrico (ON) estimula la síntesis de GMPc, que es el más potente inhibidor de la hidrólisis del AMPc. Ambos inhiben la adhesión y agregación plaquetaria y además, estimulan la reducción del calcio libre intracelular así modulan la agregación plaquetaria.⁷
- El ON es el principal regulador de la activación de las plaquetas. El ON producido por la propia plaqueta interviene en el proceso de inhibición de la agregación plaquetaria y en la reducción del reclutamiento de nuevas plaquetas al trombo formado. Son muchos los

mecanismos por los que el ON puede inhibir las plaquetas. El segundo mensajero principal de las acciones del ON es el GMP cíclico (GMPc). El GMPc previene la activación de las plaquetas a través de al menos tres mecanismos: aumenta indirectamente la concentración de AMPc por inhibición de la fosfodiesterasa 3 (PDE-3); el aumento de AMPc actúa sinérgicamente con el de GMPc para inhibir la agregación plaquetaria; el GMPc inhibe la activación de la fosfatidilinositol-3 cinasa (PI3K) que produce la activación de la GPIIb/ IIIa, y el GMPc produce la fosforilación del receptor del TxA2 e inhibe su función. Además, e independientemente de la producción de GMPc, el ON inhibe la exocitosis de los gránulos densos, los lisosomas y los gránulos plaquetarios.⁹ Las plaquetas poseen organelos inespecíficos, como mitocondrias y peroxisomas, que tienen características y funciones similares a los de otras células pero, además, portan organelos específicos, que son los gránulos alfa, los gránulos densos y lisosomas.

- Los gránulos α son reservorios de proteínas que van desde factores de crecimiento como el PDGF (factor de crecimiento derivado de plaquetas), TGF-B (factor de crecimiento transformante B), multimerina o proteína de unión al factor V/Va, hasta moléculas de adhesión o receptores que utiliza la plaqueta para interactuar con otras células. Entre estos receptores se incluyen las glucoproteínas GPIb y la integrina α Ib β 3. Otra de las moléculas de adhesión contenidas en estos gránulos es la P-selectina, que permite la interacción de las plaquetas con las células endoteliales, los leucocitos y otras células inmunitarias. También contiene factores de coagulación como el FI o Fibrinógeno, FII o Protrombina, FV, FVIII, XI y XII. Los factores V, XI y XII son secretados tras la activación de la plaqueta. El FXI y FXII son sintetizados endógenamente en los megacariocitos; y moléculas asociadas a la respuesta inflamatoria, como las citocinas.¹⁰
- La liberación de los gránulos densos en las plaquetas ocurre por exocitosis, y desde ellos se liberan difosfato de adenosina (ADP), trifosfato de adenosina (ATP), fosfato inorgánico, polifosfatos, serotonina y calcio, entre otros.
- Los lisosomas plaquetarios contienen elastasas y otras proteasas que facilitan la degradación de la matriz extracelular, además de crear un ambiente ácido que favorecerá la acción de estas enzima.⁹

El citoesqueleto tiene como funciones la regulación de las propiedades de la membrana, tales como sus contornos y estabilidad, junto a los microtúbulos propicia el mantenimiento de la forma de la plaqueta en reposo; la mediación de la distribución lateral de las glicoproteínas receptoras en la membrana y constituyen una barrera para la exocitosis.¹¹

El sistema canalicular abierto está formado por canales ramificados, se conecta a la membrana externa y posee características similares a ella en cuanto a su composición. A través de este sistema se transportan las GPIIb/IIIa y la GP1b hacia los gránulos alfa.¹¹

El sistema tubular denso es un sistema de membranas que aparece en la vecindad de los microtúbulos y rodea los organelos, con apariencia, y funciones similares a las del retículo endoplásmico liso de otras células. Regula la activación plaquetaria mediante el secuestro o liberación de calcio, de forma similar a los túbulos del músculo esquelético y por un mecanismo más rápido que el de las mitocondrias. También posee ATPasas, enzimas del metabolismo del ácido araquidónico y adenilato ciclasa.¹¹

El citoplasma contiene partículas de glucógeno diseminadas o aglomeradas que constituyen la fuente energética de esta célula. Contiene ribosomas en muy pocas cantidades, fundamentalmente en las células jóvenes, lo que concuerda con la casi nula actividad de síntesis proteica. Soporta, además, los microtúbulos que aparecen en forma de circunferencia, ubicados de manera concéntrica y que mantienen la forma discoide de la célula y garantizan su resistencia a la deformación.¹¹

1.3 ANTÍGENOS PLAQUETARIOS HUMANOS HPA

Los aloantígenos plaquetarios HPA son las porciones polimórficas de las GP de la membrana plaquetaria, se expresan en formas polimórficas causadas por polimorfismos de un único nucleótido (SNP) en los genes que las codifican. Los cambios de aminoácidos resultantes de estos SNPs inducen cambios en la estructura de la GP para formar antígenos que son capaces de generar una respuesta inmune en individuos susceptibles al ser expuestos durante el embarazo o la transfusión sanguínea.¹²

Hasta la fecha, se han descrito 33 HPA expresados en seis glicoproteínas plaquetarias diferentes, GPIIb, GPIIIa, GPIBa, GPIBb, GPIa y CD109. Doce antígenos se agrupan en seis grupos bialélicos (HPA-1, HPA-2, HPA- 3, HPA-4, HPA-5 y HPA-15). Los HPA se numeran en el orden de su descubrimiento designado con el antígeno de mayor frecuencia 'a' y el antígeno menor frecuencia 'b'.¹² Los antígenos que no han sido definidos serológicamente son designados con la letra "w" de workshop.¹³ En la Tabla 1 encontramos los diferentes HPA.

Tabla 1. Antígenos plaquetarios humanos HPA.

Antígeno	GP	Identificación HGNC	Cromosoma	Cambio nucleotídico	Proteína madura
HPA-1a/1b	GPIIIa	ITGB3	17	176T>C	L33P
HPA-2a/2b	GP1ba	GP1BA	17	482C>T	T T145M
HPA-3a/3b	GP1Ib	ITGA2B	17	2621T>G	I843S
HPA-4a/4b	GPIIIa	ITGB3	17	506G>A	R143Q
HPA-5a/5b	GP1a	ITGA2	5	1600G>A	E505K
HPA-6w	GPIIIa	ITGB3	17	1544G>A	R489Q
HPA-7w	GPIIIa	ITGB3	17	1297C>G	P407A
HPA-8w	GPIIIa	ITGB3	17	1984C>T	R636C
HPA-9w	GP1Ib	ITGA2B	17	2602G>A	V837M
HPA-10w	GPIIIa	ITGB3	17	263G>A	R62Q
HPA-11w	GPIIIa	ITGB3	17	1976G>A	R633H
HPA-12w	GP1Ib	GP1BB	22	119G>A	G15E
HPA-13w	GP1a	ITGA2	5	2483C>T	T799M
HPA-14w	GPIIIa	ITGB3	17	1909_1911delAAG	K611del
HPA-15a/15b	CD109	CD109	6	2108C>A	S682Y
HPA-16w	GPIIIa	ITGB3	17	497C>T	T T140I
HPA-17w	GPIIIa	ITGB3	17	662C>T	T195M
HPA-18w	GP1a	ITGA2	5	2235G>T	Q716H
HPA-19w	GPIIIa	ITGB3	17	487A>C	K137Q
HPA-20w	GP1Ib	ITGA2B	17	1949C>T	T619M
HPA-21w	GPIIIa	ITGB3	17	1960G>A	E628K
HPA-22bw	GP1Ib	ITGA2B	17	584A>C	K164T
HPA-23bw	GPIIIa	ITGB3	17	1942C>T	R622W
HPA-24bw	GP1Ib	ITGA2B	17	1508G>A	S472N
HPA-25bw	GP1a	ITGA2	5	3347C>T	T1087M
HPA-26bw	GPIIIa	ITGB3	17	1818G>T	K580N
HPA-27bw	GP1Ib	ITGA2B	17	2614C>A	L841M

HGNC Human Genome Organization Gene Nomenclature Committee

Tomado de: Elkins *et al*/ 2010

1.3.1. Los antígenos de la GPIIb/IIIa

La GPIIb (integrina AIIb, RCD41) y GPIIIa (integrina bIIIa, CD61) están codificadas por los genes ITGA2B y ITGB3, respectivamente, y ambos se localiza en el cromosoma 17. La GPIIb y la GPIIIa y forman un complejo no covalente dependiente de calcio (complejo GPIIb/IIIa) en la superficie de las plaquetas. Los cambios conformacionales inducidos por la activación de GPIIb/IIIa permiten su unión a estos ligandos a través de la secuencia RGD de los aminoácidos arginina (R), glicina (G) y ácido glutámico (D). La GPIIb sólo se

expresa en las plaquetas, pero GPIIIa también forma un complejo con αv para formar $\alpha v/b3$, que es un receptor para vitronectina y otras proteínas, y se expresa en las plaquetas y células endoteliales. Veinte de los treinta y tres HPAs son llevados por la GP IIb y IIIa. HPA-1a, es el aloantígeno más conocido y el primero en ser descrito, y es expresado en GPIIIa, y los anticuerpos HPA-1a son los aloanticuerpos plaquetarios más detectados con frecuencia en el laboratorio clínico. Los anticuerpos HPA-1a son la causa de la mayoría (~ 85%) de los casos confirmados serológicamente de la trombocitopenia fetal y la trombocitopenia neonatal aloinmune (FNAIT). El antígeno HPA-1b de menor frecuencia se expresa con mayor frecuencia en la población caucásica, y las personas con el HPA-1b/1b son los que pueden producir anticuerpos HPA-1a. Los antígenos HPA-4 se expresan también en GPIIIa y han sido implicados en trombocitopenia feto/neonatal aloinmune (TFNAI), purpura post-transfusional (PPT) y refractariedad a la transfusión de plaquetas (RP). El antígeno HPA-4b es muy poco frecuente en la raza blanca, pero más frecuente en las poblaciones de Asia, en la que anti-HPA-4a y anti-HPA-4b están implicados con mayor frecuencia en los trastornos plaquetarios aloinmunes.¹²

1.3.2 Los antígenos de la GPIa/IIa

La GPIa/IIa (integrina A2B1, CD49b/CD29) es un importante receptor de colágeno en las plaquetas. GPIa está codificada por ITGA2 en el cromosoma 5 y GPIIa por ITGB1 en el cromosoma 9. La GPIa lleva HPA-5a/b, y el nivel de intervalo de la GPIa/IIa es de 3000-5000 moléculas por plaqueta dependiendo del tipo de HPA-5a/ b y del polimorfismo C807T expresado en GPIa. Las plaquetas de los individuos con los polimorfismos 807T y HPA-5b expresan niveles más altos de GPIa. HPA-5 anticuerpos son los segundos más frecuentemente detectado, después de HPA-1a en los trastornos inmunes de plaquetas, pero como el número de antígenos expresados por las plaquetas es menor para HPA-5, la gravedad de la trombocitopenia tiende a ser más leve. Los HPA-13bw, HPA-18bw y los HPA-25bw son los antígenos de baja frecuencia también expresadas en GPIa que han sido implicados en FNAIT. Curiosamente, el polimorfismo HPA-13bw causa defectos funcionales que reduce las respuestas de plaquetas a la agregación inducida por el colágeno.¹²

1.3.3 Antígenos de CD109

CD109 es un glicosilfosfatidilinositol (GPI) unido a la proteína codificada por CD109 en el cromosoma 6. Sólo hay unas 1.000 moléculas de CD109 por plaqueta, pero números más

grandes se expresan en los linfocitos T activados, células hematopoyéticas CD34+ y células endoteliales. La proteína CD109 se une y regula negativamente la señalización del factor transformante de crecimiento beta (TGF-beta). CD109 lleva los antígenos HPA-15. Los anticuerpos contra antígenos HPA-15 son difíciles de detectar, debido al bajo número de copias por plaquetas.¹²

1.4 ANTÍGENOS ABO

Las plaquetas presentan antígenos de grupo sanguíneo A y B, en concordancia con el grupo sanguíneo ABO del donante. La importancia de los antígenos ABO consiste en la presencia de anticuerpos naturales en el plasma que podrían formar inmunocomplejos con antígenos A y B solubles del receptor y mediar la liberación de citocinas proinflamatorias implicadas en la reacción febril. La supervivencia de las plaquetas puede verse afectada si el concentrado plaquetario (CP) es ABO no es idéntico al del receptor.
14,15

1.5 ANTÍGENO LEUCOCITARIO HUMANO HLA

Las moléculas del HLA pertenecen al llamado complejo mayor de histocompatibilidad. La función principal de estas es la regulación de la respuesta inmune mediante una unión al receptor de células T durante la presentación de antígenos, o el reconocimiento de lo propio en el cuerpo, o a receptores inhibidores en las células NK. Los genes del HLA se localizan en la banda 21.3 del brazo corto del cromosoma 6 (6p21.3). Existen dos clases de antígenos HLA: HLA clase I y HLA clase II. La región del HLA-I comprende los genes del HLA-A, -B, y -C, están constituidos por una cadena polimórfica α unida a otra no polimórfica β 2-microglobulina codificada en el cromosoma 15; son expresados en varias células nucleadas y plaquetas, con la excepción de los espermatozoides y las células trofoblásticas. Los genes HLA-A y HLA-B son la causa principal de la refractariedad plaquetaria. La región del HLA-II incluye los genes de los productos HLA-DR, DQ, y DP, los cuales están constituidos por 2 cadenas, una α y otra β , y son expresados únicamente en las células presentadoras de antígenos, linfocitos B, linfocitos T activados, células dendríticas, macrófagos, células de Langerhans y algunas células endoteliales. Los *locus* genéticos DR, DP y DQ codifican para estos antígenos y están constituidos por dos cadenas polipeptídicas potencialmente polimórficas, las cadenas α y β cada una codificada por los genes DRA1, DRB1, DPA1, DPB1, DQA1, DQB1, respectivamente. La presentación de péptidos degradados por las células como resultado del procesamiento

de antígenos extraños constituye la función fisiológica de las moléculas del sistema HLA. Los antígenos de clase I presentan antígenos intracelulares como los víricos, que serán el blanco de las células citotóxicas, y los antígenos de clase II presentan fundamentalmente antígenos extracelulares como los bacterianos que son procesados en las células presentadoras de antígenos y reconocidos por los linfocitos T cooperadores.^{16, 17,18}

1.6 FUNCIONES DE LA PLAQUETA

Las plaquetas son indispensables para la hemostasia, ya que son las encargadas de facilitar la reparación de las pequeñas rupturas que suceden a diario en los vasos sanguíneos de pequeño calibre y, en el caso de heridas más grandes, son totalmente indispensables para formar el coágulo primario que sirve para detener de manera inmediata la pérdida de sangre porque pueden adherirse a la colágena del subendotelio expuesto y agregarse entre ellas. Adicionalmente, su membrana lipídica sirve como soporte o fase sólida para que se anclen los factores de coagulación, cuya activación culmina con la formación de fibrina que le da estabilidad al coágulo, lo que facilita la reparación del vaso sanguíneo dañado. Las alteraciones tanto en la cantidad como en la calidad plaquetaria dan lugar a patologías muy diversas ligadas con eventos trombohemorrágicos. Por citar algunos ejemplos: la trombocitopenia, o disminución del número de plaquetas en sangre, cuyas causas pueden ser diversas, predispone a hemorragias, sobre todo de piel y mucosas, pero puede llegar a poner en riesgo la vida si las cuentas son muy bajas; por otro lado, la trombocitosis, o aumento en el número de plaquetas en sangre, puede aumentar el riesgo de eventos trombóticos. Pero no solo las alteraciones cuantitativas de las plaquetas son importantes, también algunos padecimientos en los que la calidad de las plaquetas es deficiente predisponen a los pacientes a hemorragias, como la enfermedad de Bernard-Soulier, en la cual existen mutaciones en el complejo glucoproteína Ib/V/IX que resulta en macrotrombocitopenia. Debido a que esta glucoproteína es importante para la adhesión, estas plaquetas presentan un mal funcionamiento.²

Las plaquetas participan en procesos importantes como la hemostasia, inflamación, remodelación tisular y en los mecanismos de defensa innata.¹⁹

1.6.1 Hemostasia

El sistema hemostático implica una interacción compleja entre la vasculatura, los componentes celulares y las proteínas plasmáticas que interactúan para mantener la hemostasia o equilibrio entre los procesos pro y anticoagulantes que se dan en la cotidianidad en un cuerpo sano. El sistema hemostático se puede dividir en la hemostasia primaria, secundaria y terciaria para definir mejor los mecanismos interdependientes que se combinan para mantenerla. La hemostasia primaria describe la interacción celular de las plaquetas y el endotelio y la formación del trombo plaquetario o trombo primario que se localiza en el punto de la lesión del vaso. La hemostasia secundaria se describe como la activación del sistema de coagulación que es iniciado, amplificado y prolongado en una secuencia de activaciones de las proteínas de la coagulación para la formación de la fibrina encargada de darle estabilidad al trombo primario, el proceso es regulado por una serie de mecanismos de retroalimentación positivos y negativos. Hemostasia terciaria es una descripción del sistema fibrinolítico que regula la ruptura de los coágulos de fibrina, la recuperación de la integridad vascular y la neutralización de las proteasas de serina y los cofactores que fueron activados en la formación de fibrina.²⁰

En la circulación las células endoteliales (CE) secretan diversos mediadores negativos que actúan en la prevención de la iniciación de la hemostasia primaria y secundaria. Los más importantes reguladores negativos son la prostaglandina I₂ (PGI₂) y el ON.

Los mediadores positivos de la hemostasia, por ejemplo el factor tisular (FT) está presente en la membrana celular subendotelial, que en circunstancias normales son inaccesibles debido a la barrera física proporcionada por las CE. En condiciones inflamatorias, por ejemplo el cáncer y la artritis reumatoide, estas mismas CE puede también producir FT. El principal regulador positivo de la vasoconstricción es el péptido de endotelina-1 (ET-1) que se disipa hacia las células musculares lisas. La ET-1 también estimula la proliferación celular, la agregación plaquetaria y la producción de citoquinas. Otro pro-coagulante importante es la trombospondina-1, que activa diversas proteínas de la membrana de las plaquetas que actúan como agonistas plaquetarias.²¹ Cuando ocurre una lesión vascular, el daño causado a las CE hace que se secrete ET-1 y se produzca la vasoconstricción y agregación de plaquetas. La activación de CE conduce al aumento de expresión de FvW y FT. La formación del tapón de plaquetas en el sitio de la lesión vascular se produce en varias etapas. En primer lugar FvW liberado de los cuerpos WeibelePalade se une al colágeno en la superficie subendotelial mediante la unión del

dominio A1 de FvW al complejo glucoproteico GPIb/IX/V. Esta adhesión estable se logra mediante dos integrinas, A2B1 (GPIa-IIa) y α IIb β 3 (GPIIb-IIIa) que se unen directamente al colágeno expuesto. Estas tres glicoproteínas (GPIb/IX/V, A2B1 y α IIb β 3) conducen a la inmovilización de la plaqueta. La señalización por medio de las integrinas y GPVI conduce a la liberación de dos importantes agonistas el tromboxano A2 (TxA2) y ADP.²¹ El ADP contribuye también a la propagación de la activación de las plaquetas. Ya hemos señalado que el ADP se libera desde los gránulos densos de las plaquetas, pero también por las células endoteliales y por los eritrocitos. El ADP, mediante su unión a los receptores P2Y₁₂, inhibe la adenilato ciclasa y reduce la formación de adenosinmonofosfato cíclico (AMPc) en la plaqueta, lo que facilita la agregación. El ADP, por su unión a los receptores P2Y₁, produce la activación de la fosfolipasa C. Estos dos receptores están acoplados a proteínas Gq y Gi respectivamente, lo que tiene gran importancia en el efecto del ADP en las plaquetas. Por ejemplo, el receptor Gq es el responsable del cambio de forma de la plaqueta inducido por ADP dependiente del reordenamiento de los filamentos de actina en la plaqueta acoplados a la activación de los receptores P2Y₁. El TxA2 también usa como mecanismo de inhibición de la activación plaquetaria la reducción en la formación de AMPc. Sin embargo, el receptor plaquetario del TxA2 no está directamente acoplado a la proteína Gi, lo que hace que el TxA2 requiera la liberación de ADP para inhibir la actividad de adenilato ciclasa.⁹ La unión del ADP a su receptor plaquetario induce un cambio conformacional de los receptores GPIIb/IIIa lo que permite que se unan al fibrinógeno y de esta manera se formen agregados plaquetarios.⁸

La hemostasia secundaria es la interacción de las proteínas plasmáticas o factores de coagulación entre sí, las cuales se activan en una serie de reacciones en cascada que conducen a la formación de fibrina. Acorde con la teoría celular de la coagulación, esta se produce en tres etapas interrelacionadas: la fase de iniciación, tiene lugar en las células productoras de FT, como fibroblastos y monocitos, y conduce a la generación de los factores Xa, IXa y pequeñas cantidades de trombina, las suficientes para iniciar el proceso de reclutamiento y agregación de plaquetas, de formación de fibrina y de activación de factores pro-coagulantes V y VIII y FXIII. La fase de amplificación se traslada a la superficie de las plaquetas, que son activadas por la trombina generada y acumulan factores y cofactores en su superficie, lo que permite el ensamblaje necesario para que tengan lugar las reacciones enzimáticas procoagulantes. En la fase final, de propagación, las proteasas se combinan con los cofactores en la superficie plaquetaria, y se promueve

la generación de grandes cantidades de trombina que a su vez favorece la formación de fibrina.²²

Fase de iniciación: tras una lesión vascular el FT) es el principal iniciador de la coagulación in vivo y un componente integral de la membrana celular. Durante el proceso hemostático que tiene lugar tras la lesión vascular, se produce el contacto de la sangre circulante con el subendotelio, lo que favorece la unión del FT con el Factor VII circulante y su posterior activación. El complejo FT/VIIa activa los factores IX y X.²² El FXa se combina en la superficie celular con el FVa para producir pequeñas cantidades de trombina, que jugarán un papel preponderante en la activación de plaquetas y factor VIII durante la siguiente fase. Es importante anotar que el factor VII es el único factor de la coagulación que circula activo en pequeñas cantidades (1%), lo cual le permite interactuar de manera rápida con el FT. En la fase de amplificación el daño vascular favorece el contacto de las plaquetas y componentes plasmáticos con tejidos extravasculares. Las plaquetas se adhieren a la matriz subendotelial, y son activadas en lugares donde se ha expuesto FT. Las pequeñas cantidades de trombina generadas amplifican la señal procoagulante inicial y, por ende, activan los factores V, VIII y XI, que se ensamblan en la superficie plaquetaria. Durante la fase de propagación el complejo “tenasa” (VIIIa, IXa, Ca⁺⁺ y fosfolípidos) cataliza la conversión de factor Xa, mientras que el complejo “protrombinasa” (Xa, Va, Ca⁺⁺ y fosfolípidos) cataliza en la superficie plaquetaria, la conversión de protrombina en grandes cantidades de trombina (“explosión de trombina”), resultando en la escisión proteolítica del fibrinógeno y en la formación de monómeros de fibrina que se polimerizan para consolidar un coágulo estable de fibrina. La protrombinasa es 300.000 veces más activa que el FXa en catalizar la activación de protrombina. La trombina generada activaría, así mismo, al factor XIII o factor estabilizador de la fibrina, y a un inhibidor fibrinolítico el inhibidor de la vía del factor tisular (TFPI) necesarios para la formación de un coágulo de fibrina resistente a la lisis.^{24,25}

El sistema de la coagulación debe estar regulado para mantener la hemostasia, y evitar la generación de excesivas cantidades de trombina. Ello se lleva a cabo por acción de sistemas anticoagulantes naturales, presentes en el endotelio vascular, en el que los más importantes son el TFPI, la antitrombina y el sistema de la proteína C. El TFPI se une al complejo FT/FVII e impide la fase inicial de la coagulación. Su principal lugar de producción son las células endoteliales. Un conjunto de serpinas actúan inhibiendo los factores activos, una de ellas es la antitrombina III inhibe la trombina y otros factores de la coagulación como FXa y FIXa. Por último, el sistema de la proteína C se activa en el

endotelio por trombina, en presencia de un receptor endotelial, trombomodulina y la proteína S. La proteína C circulante se une a otro receptor específico de naturaleza endotelial (EPCR). El complejo formado por estas proteínas permite la rápida conversión de proteína C en proteína C activada que, en colaboración con la proteína S como cofactor, inhibe los factores V y VIII y disminuye la generación de trombina, además de poseer otras propiedades anticoagulantes y antiinflamatorias.²⁴

La fibrinólisis es un mecanismo esencial para eliminar los coágulos de fibrina durante la fase de cicatrización, de igual forma es el mecanismo utilizado para remover los coágulos intravasculares e impedir la trombosis. El efector final del sistema es la plasmina, que degrada la fibrina en productos de degradación de la fibrina (PDF) y dímero D. La plasmina es producida a partir de un precursor inactivo, el plasminógeno, por acción de dos activadores del plasminógeno: activador tisular (t-PA) y activador tipo urocinasa (u-PA). La regulación de los activadores tiene lugar por la acción de inhibidores de plasminógeno (PAI), de los que el más relevante es el PAI-1, mientras que la plasmina circulante es rápidamente inhibida por la α 2- antiplasmina, lo que evita una fibrinólisis sistémica. La fibrinólisis se inicia por el t-PA liberado desde el endotelio en respuesta a diversos estímulos (trombina, oclusión venosa, ejercicio físico, etc). Una vez liberado se une a la fibrina donde activa el plasminógeno a plasmina que degrada la fibrina del coágulo. La trombina puede activar otro inhibidor fibrinolítico, el TAFI, el cual elimina residuos de lisina de la fibrina, lo que impide la unión del plasminógeno y ulterior degradación del coágulo.^{24, 26}

1.6.2 Inflamación e inmunidad innata

Las plaquetas activadas secretan una serie de sustancias proinflamatorias y mitogénicas potentes en el microambiente local. Estos mediadores modulan funciones de otras plaquetas, leucocitos, y células endoteliales. Las plaquetas secretan quimiocinas (CCL3, 5, 7, 17, CXCL1, 4, 5, 7, y 8), citoquinas (por ejemplo, IL-1b, el ligando CD40, b-tromboglobulina), factores de crecimiento (por ejemplo, PDGF, TGF-b, EGF, VEGF, bFGF). Estos factores participan en la supervivencia celular, la proliferación, la quimiotaxis. Las quimiocinas de las plaquetas desempeñan un papel clave en la activación de diferentes tipos de células y pueden inducir la adhesión mediante la activación de integrinas. Las quimiocinas inflamatorias de plaquetas se encuentran tanto en la subfamilia CC-y CXC.²⁷

CXCL4 (factor de plaquetas 4) es una quimiocina que se expresa constitutivamente y abundantemente en las plaquetas. CXCR3b endotelial, una variante de empalme de CXCR3, es un receptor específico para CXCL4 y puede explicar un efecto angiostático inducida por las plaquetas activadas. CXCL4 puede activar neutrófilos en la presencia de co-estímulos apropiados, tales como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α). Esta combinación de estímulos conduce a la exocitosis del contenido de gránulos secundarios de leucocitos (tales como lactoferrina), pero no gránulos primarios o lisosomas. CXCL8 puede ser también un elemento importante de quimioquinas para el reclutamiento de neutrófilos y actúa a través de CXCR1 y CXCR2 en neutrófilos (humanos). CXCL7 activa los neutrófilos y de ese modo promueve la quimiotaxis, la adhesión a las células endoteliales, y la desgranulación de primaria y gránulos secundarios de unirse a su receptor CXCR2.²⁷

Las quimiocinas CC liberadas por las plaquetas no tienen efectos dramáticos en los neutrófilos, sino que aumentan la activación paracrina de otras plaquetas. Los neutrófilos activados regulan su ARN mensajero y los niveles de proteína de CCR-1 y se vuelven sensibles a varias quimiocinas CC, tales como CCL3, CCL5, CCL7 y, que inducen la migración y la movilización dependiente de Ca^{2+} . El ligando CD40 (CD40L), una proteína transmembrana, fue descrita originalmente en las células T CD4+ estimuladas y en mastocitos, así como basófilos. Preformada CD40L se almacena en las plaquetas y transloca rápidamente a la superficie celular tras la activación. El CD40L, expresado en la superficie o secretado por las plaquetas, puede unirse a CD40 endotelial e induce la secreción de quimioquinas y la regulación positiva de moléculas de adhesión. Este proceso conduce al reclutamiento y extravasación de leucocitos en el sitio de la lesión y de ese modo vincula inmediatamente hemostasia al sistema inflamatorio. Las plaquetas activadas secretan IL-1 β , un importante activador de las células endoteliales. La interacción de las plaquetas activadas con células endoteliales induce una secreción dependiente de IL-1 β de IL-6, CXCL8, CCL2 (MCP-1) a partir de células endoteliales. Además de la inducción y la liberación de estos mediadores inflamatorios, IL-1 β induce un aumento de la expresión de moléculas de adhesión, tales como E-selectina, VCAM-1, ICAM-1, $\alpha v\beta 3$ integrina y otros.²⁷

Las plaquetas que se unen a las células endoteliales activadas pueden interactuar con los leucocitos, e inducir una "captura secundaria" que induce primero interacciones de los neutrófilos con plaquetas, seguido por la interacción entre neutrófilos y endotelio. La

interacción de los plaquetas con FvW está mediada por el complejo GIIb/IX/V. Estas interacciones inducen la activación de GPIIb/IIIa con una posterior unión de GPIIb/IIIa a FvW inmovilizado, fibrinógeno y otros ligandos. La unión de la integrina $\alpha 5\beta 1$ a la fibronectina también puede mediar en la adhesión estable. La adhesión firme de los leucocitos a las plaquetas se consigue por CD11b/CD18 y CD11a/CD18. Otros mecanismos implicados en la adhesión firme incluyen la unión simultánea de fibrinógeno a GPIIb/IIIa en las plaquetas y CD11b/CD18 en leucocitos y la unión de GPIba a CD11b/CD18.²⁷

1.6.3 Remodelación tisular

Las plaquetas están implicadas en el mantenimiento y/o restablecimiento de la integridad de la pared del vaso, contribuyendo al proceso de reendotelización en los lugares de lesión. Cuando ocurre una lesión de un tejido, las plaquetas inician su cicatrización y reparación. Este proceso requiere la activación de las plaquetas y la consiguiente liberación del contenido de sus gránulos, sobre todo de los gránulos α , los cuales almacenan factores estimulantes del crecimiento celular y función de los fibroblastos y células endoteliales. Los gránulos α contienen los factores de crecimiento PDGF y EGF que promueven el crecimiento y la mitosis del fibroblasto. Estas sustancias también poseen actividad quimiotáctica, principalmente el PDGF. Otro factor de crecimiento de los gránulos implicado en este proceso es el TGF- β , que a concentraciones bajas estimula la proliferación de los fibroblastos, mientras que a concentraciones elevadas lo inhibe. Adicionalmente, el TGF- β estimula la secreción de proteínas por el fibroblasto principalmente colágeno (de tipo I y II) y fibronectina. Normalmente la fibrosis tisular es acompañada de la proliferación del endotelio, porque tanto el TGF- β como el EGF son angiogénicos. Las plaquetas contienen además, una sustancia citoplasmática específica para la proliferación del endotelio, designada como factor de crecimiento de células endoteliales derivado de la plaqueta (PD-ECGF). Por otra parte, el PF4 de origen plaquetario contribuye a la regulación de la cantidad de fibras extracelulares, inhibiendo las colagenasas, proteasas fisiológicas responsables de la degradación de la matriz colagénica.⁸

1.7 MECANISMOS DE MUERTE CELULAR

Los anticuerpos naturales son anticuerpos presentes en el suero en ausencia de contacto previo con un antígeno. Se dividen en regulares naturales que son los producidos contra

el sistema ABO (anti-A y anti-B) y los anticuerpos irregulares naturales que son anti M, anti A, anti N, anti P1 entre otros.²⁸ Una de las hipótesis que explica el desarrollo de estos anticuerpos se basa en las configuraciones responsables de los determinantes antigénicos A y B de la membrana eritrocitaria también existe en otras entidades biológicas, en particular en las paredes celulares de las bacterias. La presencia de la flora bacteriana en el intestino humano, polvo, alimentos y otros sustratos provocan la exposición de todas las personas a antígenos de tipo A o B.²⁹

Las plaquetas, al igual que los eritrocitos y prácticamente todas las células del organismo, expresan antígenos del sistema ABO en su superficie y en el plasma de todos los individuos. Cuando se transfunde unidades sanguíneas ABO incompatibles los receptores con grupo sanguíneo O y B sintetizan anticuerpos anti-A, los de grupos O y A sintetizan anticuerpos anti-B, mientras que los del grupo AB no sintetizan anticuerpos.³⁰

Las plaquetas humanas permanecen en la circulación durante 8 a 10 días, el 10% de las plaquetas es eliminado cada día principalmente en el bazo (remoción por parte de los macrófagos del sistema reticuloendotelial SRE) y el hígado.³¹ Durante su envejecimiento en la circulación, las plaquetas sufren una serie de cambios físicos, bioquímicos y funcionales, que determinan en gran parte su heterogeneidad.³²

El componente principal de la membrana plasmática de las plaquetas son los lípidos y están integralmente involucrados en actividades biológicas plaquetarias tales como mantención de la fluidez de la membrana, producción de eicosanoides y la actividad procoagulante del FP3. Los fosfolípidos constituyen cerca del 80% de los lípidos plaquetarios. En las plaquetas humanas se han identificado cinco fosfolípidos mayores: fosfatidilcolina (FC), que constituye alrededor del 38% del total de fosfolípidos, fosfatidiletanolamina (FE) 27%, esfingomiélin (EM) 17%, fosfatidilserina (FS) 10% y fosfatidilinositol (FI) 5%. En las plaquetas humanas, los lípidos de la membrana plasmática tienen una distribución asimétrica: el 93% de la EM y 45% de la FC se encuentran en la mitad externa de la bicapa, mientras que un 80% de la FE y 92% de la FS se encuentran en la mitad interna; siendo imposible descartar que cantidades menores de FS se expresen en la mitad externa de la membrana.³²

La asimetría de los fosfolípidos de membrana se mantiene por tres actividades diferentes: Translocasa de aminofosfolípidos: la actividad de translocasa de aminofosfolípidos dependiente de ATP.³²

“Flopassa” dependiente de ATP: esta actividad también fue descubierta en eritrocitos y transporta principalmente colinofosfolípidos (neutros) a la cara externa en menor medida aminofosfolípidos. Su actividad concertada con aquélla descrita para la translocasa provee a la célula de un efectivo mecanismo que corrige las alteraciones en la distribución de fosfolípidos, evitando posibles consecuencias patológicas.³²

“Escrablase” de lípidos: la membrana plasmática dispone de un mecanismo dependiente de Ca^{++} que rápidamente mueve fosfolípidos hacia adentro y afuera, llevando en minutos a la pérdida de la asimetría de los fosfolípidos de membrana. En resumen, la generación y mantención de la asimetría de los fosfolípidos de la membrana celular es producto de la acción sincrónica y cooperativa de la aminofosfolípido translocasa y “flopassa” inespecífica, mientras que la actividad de la “escrablase” resulta en su colapso. La pérdida de esta distribución asimétrica de los fosfolípidos se produce por daño celular, activación o muerte celular programada (apoptosis). Estos mecanismos generales pueden explicar una gran variedad de situaciones en las que se produce pérdida en la asimetría de fosfolípidos: eritrocitos y plaquetas almacenadas, células falciformes, glóbulos rojos envejecidos y células tumorales indiferenciadas.³²

La biogénesis y mantención de la asimetría de fosfolípidos es de gran importancia en la homeostasis del organismo, debido a que la exposición de fosfolípidos aniónicos en la cara externa de las membranas celulares se asocia a daño celular, lo que se traduciría en: el aumento de la actividad procoagulante, ya que los fosfolípidos aniónicos, en particular FS, proveen sitios de unión y ensamblaje de los complejos tenasa y protrombinasa, requeridos para la activación del factor X y protrombina respectivamente; la activación de complemento a través de la vía alterna y el reconocimiento y remoción de las plaquetas por parte de los macrófagos del SER, que poseen receptores para FS.³²

La muerte celular de las plaquetas se debe a múltiples estímulos químicos inducidos por células externas. Estos estímulos son: la despolarización $\Delta\Psi_m$, la formación del poro de transición de permeabilidad mitocondrial (MPTP), la formación, expresión, activación y translocación de los miembros pro-apoptóticos de las proteínas de la familia Bcl-2 (tales como Bax, Bak y Bid) a la mitocondria, la liberación del citocromo c de la mitocondria al citosol, la activación de caspasas, escisión de las proteínas del citoesqueleto, la exposición de fosfatidilserina (FS) en la cara externa de la membrana plasmática. La trombina, la GPIIb/IIIa y las GPIb además de participar en los procesos de hemostasia y formación del trombo son mediadores en el proceso de apoptosis de las plaquetas.³³

La apoptosis es llevada por diferente mecanismo que involucran a receptores en la superficie de las plaquetas inducidos por trombina como PAR-1. Las GP como la GPIIb/IIIa, GPI α , que además de su función principal de receptores de activación y agregación plaquetaria actúan como señales pro-apoptóticas, que conducen a la muerte de las plaquetas.³⁴

1.8 MÉTODOS DE OBTENCIÓN DE PLAQUETAS

La obtención de los concentrados de plaquetas se realiza por medio de tres técnicas, a partir de la donación de sangre total y mediante la donación por aféresis.³⁵ A partir de la sangre total podemos obtener dos clases de concentrado de plaquetas (CP) que son plasma rico en plaquetas (PRP) y buffy coat (BC). El método de preparación se explica a continuación.

Los materiales utilizados son:

- Sangre total recién recogida: mantener la sangre a temperatura ambiente (20 a 24°C) antes de la separación del PRP de los glóbulos rojos. Esta separación debe realizar dentro de las 8 horas de la extracción, o dentro del plazo especificado en las instrucciones de uso de la recolección de la sangre, procesamiento y sistema de almacenamiento.
- Filtro en línea (si se preparan los componentes leucocitos reducidos pre-almacenamiento).
- Clips metálicos y sellador de la mano.
- Instrumentos (tijeras, hemostátos).
- Extractor de plasma.
- Sellador dieléctrico (opcional).
- Centrífuga
- Escala.
- Rotador

1.8.1 Procedimiento para la preparación del PRP.

- No enfriar la sangre antes o durante la separación de plaquetas, ajuste el control de temperatura de la centrífuga refrigerada a 20°C. Se centrifuga la sangre usando un giro suave.

- Pasar el PRP dentro de la bolsa de transferencia prevista para el almacenamiento de plaquetas. Sellar el tubo dos veces entre la bolsa primaria y el conector Y de las dos bolsas auxiliares y corte entre los dos sellos.
- Centrifugar el PRP a 20°C usando un giro "fuerte" de 5000g durante 5 minutos o 5000 x g durante 7 minutos (más el tiempo de desaceleración) esto debe ser generalmente suficiente. Cada laboratorio individual debe establecer sus propios parámetros.
- Extraer el plasma pobre en plaquetas en la segunda bolsa de transferencia, y sellar el tubo. Las normas AABB para bancos de sangre y servicios de transfusión exige que debe permanecer suficiente plasma con el concentrado de plaquetas para mantener un pH de 6.2 o mayor a éste, para todo el período de almacenamiento. Este nivel de pH por lo general requiere un mínimo de 35 ml de plasma cuando el almacenamiento es de 20 a 24°C, pero es preferible un volumen de 50 a 70 ml. El recipiente de concentrado de plaquetas se debe dejar inmóvil, con la cara de la etiqueta hacia abajo, a temperatura ambiente durante aproximadamente 1 hora.
- Resuspender las plaquetas en cualquiera de las siguientes maneras:
 - Manipular el contenedor de plaquetas suavemente con la mano para conseguir la resuspensión uniforme.
 - Coloque el recipiente en un rotador a temperatura ambiente. El lento, agitación suave debe lograr la resuspensión uniforme dentro de 2 horas.
 - Mantener la suspensión de plaquetas a de 20 a 24°C con agitación suave continua.
 - Las plaquetas deben ser inspeccionadas antes de la emisión para asegurarse de que no hayan agregados plaquetarios.³⁶

Se obtienen 0,55-0,75 x 10¹¹ plaquetas por unidad.

1.8.2 Procedimiento para la preparación de plaquetas Buffy-Coat.

- La sangre total debe ser almacenado a 20 a 24°C antes de la centrifugación.
- Centrifugar la sangre total a 3840 rpm por 6 minutos a 22°C. la sangre se separa en diferentes componentes en función de su gravedad específica.
- Después de la centrifugación, el sobrenadante (plasma) y el precipitado (células rojas) se transfieren a las correspondientes bolsas auxiliares. El sobrenadante pobre en plaquetas se transfiere a una bolsa auxiliar y el BC a otra.³⁷

- Aproximadamente 50 ml de la capa leucocitaria permanece en la bolsa. Cerca de 20-30 ml de plasma fue devuelto al BC, con el objetivo de limpiar las células residuales de los tubos y la obtención de una cantidad apropiada de plasma en el BC.
- Se recolectan un pool de BC de 4 a 6 unidades del mismo grupo ABO/Rh y somete a una centrifugación suave a 1200 rpm durante 6 min a 22°C, con curvas de aceleración y deceleración de cinco y cuatro, respectivamente, junto con una bolsa auxiliar vacía. El sobrenadante (PRP), se pasa a una bolsa de almacenamiento de plaquetas vacía y se sella el tubo. El volumen final de la BC varía entre 50 a 90 ml. Se puede usar un filtro en línea para eliminar los leucocitos durante la transferencia.³⁶

Se obtienen más de 60×10^{11} plaquetas por unidad.

1.8.3 Plaquetas por aféresis

En la aféresis, la sangre es retirada de un donante en una solución anticoagulante y se separa en componentes. La plaquetoféresis es un procedimiento en el que toda la sangre se procesa a partir de un donante y se separan solo las plaquetas y los restantes componentes de la sangre se devuelven al donante. Se obtienen $3 - 5 \times 10^{11}$ plaquetas por unidad de aféresis.³⁸

1.9 INDICACIONES PARA LA TRANSFUSIÓN DE CONCENTRADOS PLAQUETARIOS.

La transfusión de plaquetas está indicada para la profilaxis (Tabla 2) y el tratamiento de la hemorragia en pacientes con trombocitopenia o con trastornos funcionales primarios o secundarios de las plaquetas (Tabla 3 y 4). En la tabla 6 y 7 se encuentran las indicaciones para la transfusión de concentrados plaquetarios en neonatos

1.9.1 Transfusión profiláctica³⁹

Tabla 2. Conteo de plaquetas e indicación de transfusión profiláctica

Usualmente indicada	Zona gris	Usualmente no indicada
<10.000/ μ L	10.000 – 50.000/ μ L Transfunda a su paciente con base en el riesgo de sangrado mayor	> 50.000/ μ L

Tomado de: Peñuela y col, 2010.

Tabla 3. Conteo de plaquetas e indicación de transfusión por patologías

Indicación de trasfusión profiláctica de plaquetas	Umbral (μL)
Leucemia aguda, excepto leucemia promielocítica aguda (FAB M3), en pacientes inestables	20.000
Leucemia aguda, excepto leucemia promielocítica aguda (FAB M3), cuando el riesgo de refractariedad es alto	10.000
Leucemia promielocítica aguda (FAB M3)	Evaluar otras coagulopatías
Aplasia medular o mielodisplasia, en pacientes inestables o durante tratamiento	10.000
Trasplante alogénico de médula ósea	10.000
Trasplante autólogo de células madre periféricas	10.000
Cáncer de vejiga o tumores necróticos durante Tratamiento	20.000
Tumores sólidos durante tratamiento	10.000
Cirugía ocular o neurocirugía	100.000
Cirugía mayor, sin otros factores de riesgo de sangrado	50.000 – 100.000
Cirugía mayor en sitios no críticos	50.000
Punción lumbar, anestesia epidural, endoscopia y biopsia, colocación de catéter venoso central, biopsia hepática	50.000

Tomado de: Peñuela y *col*, 2010.

- Paciente con un recuento plaquetario $< 10,000/\mu\text{L}$, sin hemorragia ni presencia de factores de hiperconsumo asociados a: fiebre, sepsis, aspergilosis invasiva, terapia con anfotericina B, desórdenes plasmáticos de la coagulación, cefalea, alteración de conciencia, déficit neurológico, alteraciones de la visión, sangrado menor reciente, disminución rápida del recuento plaquetario, hipertensión arterial (HTA), esplenomegalia/hepatopatías, leucocitosis $> 75000/\mu\text{L}$.
- Paciente con recuento plaquetario $< 20,000/\mu\text{L}$, con factores de hiperconsumo asociados.

1.9.2 Transfusión terapéutica³⁹

Tabla 4. Indicaciones de transfusión terapéutica

Usualmente indicada	Zona gris	Usualmente no indicada
$< 50.000/\mu\text{L}$	50.000 – 100.000/ μL Transfunda a su paciente con base en el riesgo de sangrado mayor	$> 100.000/\mu\text{L}$

Tomado de: Peñuela y *col*, 2010.

Tabla 5. Conteo de plaquetas e indicación de transfusión terapéutica por patologías

Indicación de transfusión terapéutica de plaquetas	Umbral (μL)
Transplante de células madre periféricas con sangrado activo	Cualquier valor
Paciente quirúrgico con sangrado activo	50.000
Transfusión masiva con sangrado activo y lesión neurológica	75.000- 100.000
Circulación extracorpórea con sangrado no quirúrgico o por coagulopatía plasmática	Cualquier valor
CID con sangrado mayor y trombocitopenia	50.000
Defectos en la función plaquetaria con sangrado perioperatorio	Cualquier valor

Tomado de: Peñuela y col, 2010.

1.9.3 Indicaciones para la transfusión de Concentrados Plaquetarios en neonatos³⁹

Tabla 6. Indicaciones para la transfusión de CP en neonatos

Usualmente indicada	Zona gris	Usualmente no indicada
< 20.000 - 30.000/ μL	30.000 – 100.000/ μL Transfunda a su paciente con base en el riesgo de sangrado mayor	> 100.000/ μL

Tomado de: Peñuela y col, 2010.

Tabla 7. Conteo de plaquetas e indicación de transfusión terapéutica en neonatos por patologías

Indicación de transfusión terapéutica de plaquetas	Umbral (μL)
Trombocitopenia aloinmune	20.000 – 30.000
Algún tipo de trombocitopenia	20.000 – 30.000
Peso al nacer <1000 g, Hemorragia intraventricular anterior Hemorragia cerebral intraparenquimatosa (48-72 h) Coagulopatía concomitante, neonato enfermo críticamente (con sepsis o fluctuación de la presión arterial), durante un procedimiento invasivo	30.000 – 50.000
Sangrado activo	50.000 – 100.000

Tomado de: Peñuela y col, 2010.

En la trombocitopenia aloinmune del recién nacido: los CP deben ser de donantes que carezcan del antígeno responsable (si es necesario de la madre, se lavan, se irradian y se suspenden en plasma compatible ABO)

1.9.4 Cálculo de la dosis de plaquetas a transfundir

La dosis de plaquetas a transfundir puede ser calculada usando la siguiente fórmula:

$$\text{Dosis de plaquetas}(x10^{11}) = \frac{IP \times VS \times 1.5}{100}$$

IP: incremento del número de plaquetas

VS: volumen de sangre del paciente (L) (área de superficie corporal en m² x 2,5, o el peso en kg x 0,8)

1.5: factor de corrección para la captación esplénica.⁴⁰

1.9.5 Dosis de transfusión de plaquetas

Pacientes pediátricos: 0,5 X 10¹¹ plaquetas/10 kg (un CP de la sangre total por cada 10 kg)

Pacientes adultos: alrededor de 3 X 10¹¹ plaquetas (un CP de aféresis o un PC de un grupo de cinco a ocho CP de sangre total o un pool de BC)⁴⁰

1.9.6 Respuesta inicial a la transfusión de plaquetas

Existen varios métodos para determinar la respuesta inicial a una transfusión de plaquetas, entre ellos tenemos: el porcentaje de recuperación de las plaquetas transfundidas (PPR) y el cálculo del incremento del recuento (CCI). Estas dos determinaciones se calculan por las siguientes fórmulas y ambos requieren el conocimiento de la cantidad de plaquetas transfundidas y una estimación del volumen de sangre del paciente.^{41,42}

$$PPR = \frac{(\text{incremento de plaquetas}/\mu\text{L}) \times (\text{Peso en Kg} \times 75\text{mL})}{(\text{Numero de plaquetas del producto}/\mu\text{L})(\text{Volumen de plaquetas en mL})} \times 100$$

La estimación del volumen de sangre más utilizado para el cálculo de PPR es de 75 ml/kg.³⁹

$$CCI = \frac{(\text{incremento de plaquetas}/\mu\text{L}) \times (\text{superficie del area corporal } m^2)}{\text{numero de plaquetas transfundidas } (x 10^{11})}$$

Una transfusión de plaquetas con éxito en un paciente estable se define a menudo como CCI $>7.5 \times 10^9/L$ una hora después de finalizar la transfusión y CCI $>4.5 \times 10^9/L$ después de 20 a 24 horas.³⁹

1.10 LESIONES DE ALMACENAMIENTO

Las lesiones de almacenamiento son la suma de todos los cambios que ocasionan daño a la estructura y la función de las plaquetas, que surgen desde el momento en que la sangre es retirada del donante hasta el momento en que las plaquetas se transfunden al receptor.⁴³

Las plaquetas deben ser almacenadas a temperatura ambiente con una agitación constante, lo cual es necesario para mantener su viabilidad. Los CP tienen un tiempo de almacenamiento límite, debido al riesgo por crecimiento bacterias y la viabilidad de las plaquetas, este tiempo es de máximo cinco días, pero se aceptan 7 días si se utilizan sistemas de detección y procedimientos de inactivación de bacterias.^{42,44,45,46}

En la tabla 8 se resume los cambios que presentan las plaquetas después de 7 días en condiciones óptimas de almacenamiento.^{45,47,48}

Tabla 8. Principales lesiones de almacenamiento que sufren las plaquetas

	Cambios
Actividad Metabólica	Incrementa el consumo de glucosa y aumenta la producción de lactato. Disminuye la utilización de la glucosa Incrementa la pCO ₂ y se acumula el lactato
Agregación	Baja respuesta de los agonistas que inducen la agregación.
Morfología	Transformación de discoide a esferoide Disminución del volumen medio de la plaqueta por fragmentación, o por la formación de micropartículas
Activación	Aumento de la P-selectina (CD62P), P-selectina soluble y la expresión CD63 debido a la liberación de los granulos α Externalización de la fosfatidilserina
Expresión de GP	Incremento de la expresión de GPIIa y GPIIb Incremento de la expresión de CD41 y CD61 Agrupación de las subunidades α de la GPIb
Apoptosis	Activación de la maquinaria de apoptosis No hay cambio o reducción de los potenciales transmembrana mitocondrial

Señalización	Ligero descenso en la unión al FvW Reducción del flujo de iones de calcio
Adhesión	Disminución de la unión al fibrinógeno

La hidrólisis del ATP es la principal fuente de energía para las plaquetas. Las plaquetas pueden generar ATP a través de dos rutas metabólicas, estas son la aerobia y la anaerobia. La glicólisis aerobia es dependiente de oxígeno, de la cual se obtiene ATP y se genera el piruvato, sustrato del ciclo del ácido tricarboxílico (TCA), y este a su vez es sustrato de los ácidos grasos libres en el plasma, cuyo producto final es CO₂. Durante la glucólisis anaerobia la glucosa se convierte en lactato y se libera un ion de hidrógeno, el ion hidrógeno puede ser amortiguado por el bicarbonato en el plasma y se convierte en CO₂ y H₂O; sólo el plasma contiene bicarbonato suficiente para amortiguar un aumento de lactato; el agotamiento de la glucosa y aumento en la concentración de lactato a más de 28 mmol/L puede resultar en bajos niveles de ATP y la reducción del pH lo que podría resultar en la pérdida de viabilidad de las plaquetas. La cantidad de CO₂ también contribuye considerablemente al aumento del pH ya que el CO₂ es un ácido volátil.⁴⁴

La calidad de las plaquetas almacenadas por lo general se evalúa mediante puntuación de la morfología, respuesta a los agonistas, aumento en respuesta shock y la evaluación de citometría de flujo de la expresión glicoproteínas (GPIb, GPIIb, GPIIIa), y marcadores de activación plaquetaria (CD40L, CD62P y CD63). Por otra parte, las micropartículas derivadas de plaquetas aumentan durante el almacenamiento, y mediante la expresión de antígenos de superficie característicos de las plaquetas activadas, pueden participar en procesos trombogénicos.⁴⁵

2. METODOLOGÍA

Se realizó una búsqueda sistemática consultando 5 bases de datos: Science Direct, Scielo, Medline (PubMed), Scopus y Google scholar. Se utilizaron palabras claves para la búsqueda de artículos en español e inglés; las palabras fueron antígenos plaquetarios, transfusión de plaquetas, factores inmunitarios y no inmunitarios que interfieren en la transfusión de plaquetas, refractariedad plaquetaria, manejo y prevención de la refractariedad plaquetaria.

2.1 Selección de artículos

Para la selección de artículos se tuvieron en cuenta los siguientes criterios:

Criterios de selección para aceptar artículos: Artículos de texto completo o full text, año de publicación 2006-2014, idioma en Inglés y español, estudio de la frecuencia de antígenos plaquetarios, causa de refractariedad plaquetaria, publicaciones que muestran el manejo que han dado para la prevención de la refractariedad.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Selección de artículos

En la búsqueda bibliográfica se identificaron 500 artículos de los cuales se excluyeron 370 por no cumplir con los criterios de selección. Se seleccionaron 130 artículos de los cuales 18 artículos se encontraron en Science Direct, 3 en Scielo, 52 en Medline, 30 en Scopus y 27 en Google scholar. Tabla 9.

Tabla 9. Artículos seleccionados por base de datos.

Base de datos	Número de artículos encontrados	Número de artículos seleccionados
Science Direct	87	18
Scielo	5	3
Medline	98	52
Scopus	124	30
Google scholar	186	27
TOTAL	500	130

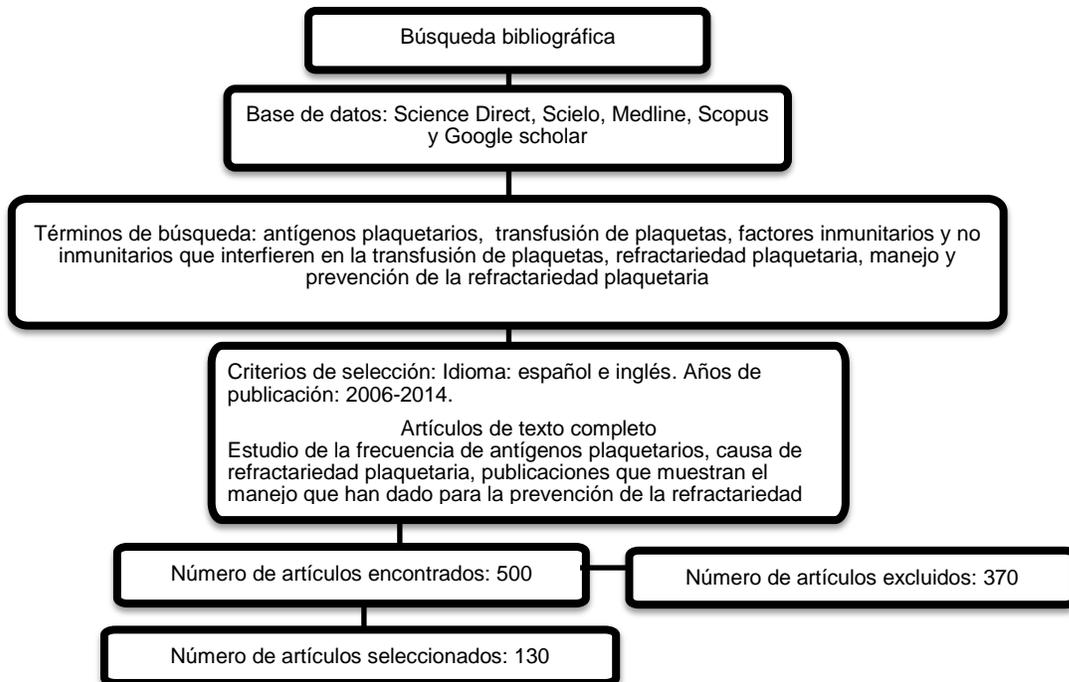


Fig. 4 Diagrama de flujo de la búsqueda bibliográfica.

Acorde con los objetivos del trabajo, se dividió la búsqueda en: frecuencia de antígenos plaquetarios humanos (HPA) y antígenos leucocitarios humanos (HLA); causas de la refractariedad plaquetaria (RP); patologías asociadas a la RP y las alternativas transfusionales, como se muestra en la tabla 10, en Science Direct, Scielo, Medline, Scopus y Google Scholar se encontraron 18, 3, 52, 30 y 27 artículos respectivamente. En la siguiente tabla se resume el número de artículos seleccionados que se clasificaron en frecuencia de antígenos HLA y HPA, causas u origen de la refractariedad plaquetaria (RP), patologías asociadas a la RP y alternativas transfusionales de cada una de las bases consultadas.

Tabla 10. Tipo de artículos encontrados acorde con los objetivos del trabajo

Base de datos	Frecuencia HPA y HLA	Causas de RP	Patologías asociadas a la RP	Alternativas transfusionales	Total
Science Direct	1	2	4	11	18
Scielo	1	0	0	2	3
Medline	11	13	12	16	52

Scopus	13	4	9	4	30
Google scholar	13	3	4	7	27
Total	39	22	29	40	130

HPA: antígenos plaquetarios humanos; HLA: antígenos leucocitarios humanos;
 RP: refractariedad plaquetaria.

3.2 Frecuencia de antígenos plaquetarios humanos (HPA)

Las frecuencias genotípicas, fenotípicas y alélicas se organizaron por continentes acorde con lo encontrado en las bases de datos consultadas.

En el continente de Asia, Europa, África y América se encontraron seis, cuatro, cuatro y dos países respectivamente que en estas bases de datos han reportado prevalencias. En la tabla 11 se encuentran los países correspondientes a cada continente.

Tabla 11. Países que se encontraron en la consulta

Continente	País
Asia	China, Pakistán, Irán, Malasia, Indonesia, Taiwán
Europa	Macedonia, Croacia, Polonia, Alemania.
África	Líbano, Argelia, Egipto, Jordania.
América	Argentina, Brasil.

3.2.1 ASIA.

Se encontraron reportados datos para China, Paquistán, Irán, Malasia, Indonesia Taiwán. En la Tabla 12 se encuentran los datos correspondientes a las frecuencias alélicas de HPA y en la Tabla 13 las frecuencias genotípicas de HPA en el continente asiático.

En China, Feng y colaboradores en el 2006⁴⁹ determinaron la frecuencia de los antígenos plaquetarios Humanos (HPA) en la población China, en el que se analizaron 1000 muestras de sangre recogidas con anticoagulante EDTA de donantes de dos grupos étnicos 500 de China del norte y 500 de China del sur usando la técnica molecular reacción en cadena de la polimerasa con primers de secuencia específica (PCR-SSP).

No encontraron diferencias significativas en las frecuencias observadas entre los donantes de China del norte y del sur. Basados en los resultados los dos grupos fueron combinados a un grupo homogéneo.

En los 1000 donantes la frecuencia alélica que encontraron de HPA-1b, HPA-2b, HPA-3b, HPA-4b, HPA-5b, HPA-6bw fueron 0.6%, 48.5%, 40.55%, 0.45%, 1.40%, 1.35%, 0.05% y 46,8% respectivamente. Los donantes homocigotos para los alelos HPA-2b, HPA-3b, HPA-5b mostraron baja frecuencia, al igual que para los antígenos HPA-7bw, HPA-8bw, HPA-9bw, HPA-11bw, HPA-12bw, HPA-13bw, y HPA-14bw. Además ellos concluyeron que el riesgo de trombocitopenia aloimmune o refractariedad a la transfusión de plaquetas inducida por los antígenos HPA 7w hasta el HPA 14w y HPA 16w es muy baja. La selección de donadores con HPA compatibles para la transfusión de plaquetas es una estrategia para proporcionar una mejora en la transfusión de plaquetas.

Posteriormente, Nie y colaboradores en el año 2010⁵⁰ determinaron el genotipo y la frecuencia alélica de HPA 1 al 16. Se analizaron 200 muestras de sangre de donantes por aféresis de 19 a 53 años de edad. Las muestras fueron recogidas con anticoagulante EDTA y analizadas por medio de PCR-SSP.

Las frecuencias obtenidas a partir de los donantes fueron 99.50% y 0.50% para HPA-1a y HPA-1b; 96.25% y 3.75% para HPA-2a y HPA-2b; 54.25% y 45.75% para HPA-3a y HPA-3b; 99.5% y 0.5% para HPA-4a y HPA-4b; 99% y 1% para HPA-5a y HPA-5b; 97% y 3% para HPA-6a y HPA-6b; 42.25% y 57.75% para HPA-15a y HPA-15b; 100% y 0 para HPA-7a y HPA-7b; 100% para HPA-8a, HPA-9a, HPA-10a, HPA-11a, HPA-12b, HPA-13a, HPA-14a y HPA-16a mientras que para HPA-8b, HPA-9b, HPA-10b, HPA-11b, HPA-12b, HPA-13b, HPA-14b y HPA-16b fue 0. No se encontraron homocigotos para HPA-1b/1b, HPA-2b/2b, HPA-4b/4b, HPA-5b/5b, HPA-7b/7b, HPA-8b/8b, HPA-9b/9b, HPA-10b/10b, HPA-11b/11b, HPA-12b/12b, HPA-13b/13b, HPA-14b/14b y HPA-16b/16b.

En el estudio, la amplificación del ADN se llevó a cabo de forma simultánea mediante el uso de 16 primers de secuencia específica (SSP) y se demostró que es un método fiable para detectar los 16 HPA y puede ser utilizado para diagnosticar los síndromes aloimmune y la búsqueda de HPA compatibles para tratar a pacientes con refractariedad a la transfusión de plaquetas (RP).

En los resultados que obtuvieron no se encontraron homocigotos HPA-1b/1b, solo se encontró un individuo heterocigoto HPA-1a/1b. Tampoco se encontraron homocigotos para HPA-2b/2b; en cambio, se encontraron 15 individuos heterocigotos, ellos afirman que puede jugar un papel más importante en desórdenes autoinmunes que HPA-1.

Se encontró baja frecuencia de los antígenos HPA-7b a HPA-14b y HPA-16b en chinos cantonenses, lo que indica la baja incidencia de NAIT, PPT Y RP.

Ellos concluyeron que HPA-3 y HPA-15 deben ser considerados los antígenos de alta prioridad más que HPA-2, HPA-6, HPA-1, HPA-5 y HPA-4.

En Pakistán, Bhatti y colaboradores en el 2010⁵¹ determinaron la frecuencia alélica de HPA-1 a HPA-5 y HPA-15 y la importancia de estos antígenos en los desórdenes plaquetarios inmunológicos como NAIT y RP en individuos pertenecientes a los principales grupos étnicos y las principales castas en este país. Las muestras obtenidas comprenden 593 personas (484 varones y 109 mujeres) pertenecientes a los principales grupos étnicos (*Punjabis, Pathans, Sindhis y Balochis*). Se excluyeron individuos que compartían algún parentesco con los individuos seleccionados. Para la genotipificación se tomaron muestras sanguíneas con anticoagulante EDTA y usaron técnicas de PCR y electroforesis para determinar la frecuencia alélica de HPA-1a varió de 82 a 96%; HPA-2a de 87 a 98%; HPA-3a varió de 43 a 73%; HPA-5a de 80 a 94% y HPA-15a de 42 a 73%. Las frecuencias alélicas de HPA-1a/1b a 5a/5b y 15a/15b en los individuos paquistaníes fueron 89%/11%, 92%/8%, 69%/31%, 100%/0%, 90%/10% y 59%/41%. Se compararon las frecuencias alélicas de HPA de los diversos grupos étnicos y de las castas de la población de Pakistán y encontraron que no hay diferencia significativa entre las frecuencias genotípicas de HPA-1 a HPA-5 y HPA-15. Las frecuencias más bajas de HPA-1a se encontraron en *Balochis* (82 a 86%), mientras que los *Sindhis* tuvieron una frecuencia que va desde 93 a 96%. Los otros grupos étnicos no presentaron una frecuencia génica significativamente diferente de HPA-1.

Los *Pathans* fueron significativamente diferentes de los *Sindhis* ($p < 0.05$), ya que presentaron menor frecuencia de HPA-3a (62.5 vs 75). El alelo HPA-4b no se detectó en ninguna de las muestras de ADN en el estudio. De modo que todos los individuos paquistaníes (593) fueron homocigotos para HPA-4a, sin distinción de casta o grupo étnico.

HPA-1bb, HPA-2bb y HPA-5bb tuvo frecuencias de 2, 1 y 2.5%, respectivamente, en el número total de individuos paquistaníes. La prevalencia genotípica de HPA-3bb oscila entre 5 y 17%.

En Irán, Mojgan y colaboradores en el 2011⁵² determinaron la frecuencia génica de HPA-2, HPA-3 y HPA-5 en la población iraní por la técnica reacción en cadena de la polimerasa con Polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción PCR-RFLP. Se tomaron muestras sanguíneas de 120 iraníes (99 donantes saludables y 21 pacientes con RP) con anticoagulante EDTA.

La frecuencia de fenotipos de HPA se determinaron: (en donantes) HPA-2a/2a: 75,4%, HPA-2a/2b: 24,8%, HPA-3a/3a: 8,1%, HPA-3a/3b: 70,7%, HPA-3b/3b: 21,2%, HPA-5a/5a: 99% y HPA-5a/5b: 1%; (en pacientes) HPA-2a/2a: 66,7%, HPA-2a/2b: 33,3%, HPA-3a/3b: 23,8%, HPA-3a/3b: 47,6%, HPA-3b/3b: 28,6%, HPA-5a/5b: 90,5%, y HPA-5a/5b: 9,5%. La frecuencia de los genotipos evaluados en pacientes y donadores fueron: HPA-2a 87%, HPA-2b 13%, HPA-3a 28%, HPA-3b 72%, HPA-5a 99%, y HPA-5b 1%.

No encontraron individuos homocigotos b/b para los antígenos HPA-2 y HPA-5.

La frecuencia alélica de HPA-3b fue de 72%, mientras que la de HPA-3a fue de 28%.

En Malasia, Tan y colaboradores en el 2012⁵³ investigaron la distribución de HPA-1 a HPA-6 y HPA-15 en los tres principales grupos étnicos de la población de Malasia (malaya, china e india). Se tomaron muestras de sangre con EDTA en un total de 600 donantes al azar, 200 de cada uno de los tres grupos étnicos y fueron genotipificados por medio de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR-RT) con sondas de hidrólisis y PCR con polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (PCR-RFLP).

Los genotipos encontrados en el estudio para los malayos y chinos fueron HPA-1a/1a HPA-2a/2a HPA-3a/3b HPA-4a/4a HPA-5a/5a HPA-6a/6a y HPA-15a/15b, y HPA-1a/1a HPA-2a/2a HPA-3a/3a HPA-4a/4a HPA-5a/5a HPA-6a/6a y HPA-15a/15b para los Indios. También encontraron que las frecuencias de los alelos de HPA en los malayos y en los chinos tienden ser similares a los de otras poblaciones de Asia oriental y sudoriental, mientras que las de los indios fueron comparables con las frecuencias que se encuentran en los europeos.

Ellos encontraron un desequilibrio significativo en HPA-4 y este se limita solo a los malayos. El alelo HPA-4b, comúnmente es asociado con japoneses y coreanos y se ha encontrado en China continental y la India.

Es posible que el alelo HPA-4b se haya introducido en la población malaya a través de la mezcla con otros grupos étnicos. Aparte de HPA-4b, el antígeno HPA-6b es casi exclusivamente de la población asiática.

El alelo "b" generalmente se presentó bajas frecuencias en todos los sistemas HPA ensayados excepto para HPA-1, HPA-3 y HPA-15. La frecuencia de los alelos HPA-1b entre los indios fue de 11,5% y fue significativamente mayor que la frecuencia 2,5% y 0 observados entre los malayos y chinos, respectivamente. La ausencia del alelo HPA-1b entre los donadores chinos, refleja su rara presencia en las poblaciones de Asia oriental.

Al comparar el genotipo de HPA-1 entre los tres grupos, todos los pares fueron significativamente diferentes (malayos y chinos, $p=0,03$; malayos e indios, $p<0,001$; chinos e Indios, $p<0,001$) lo que indica que cada grupo tiene diferentes riesgos de aloinmunización causado por el sistema HPA-1.

Se observaron los alelos "b" de HPA-2 y HPA-5 son más altos en África, y muestran una disminución gradual hacia el este. Las frecuencias más bajas de HPA-2b y HPA-5b se han reportado en europeos y asiáticos.

En Indonesia, Asmarinah y colaboradores en el 2013⁵⁴ determinaron la frecuencia de los principales alelos de HPA-1 a HPA-6 y HPA-15 en donantes de Indonesia. Se tomaron 500 muestras sanguíneas con EDTA y se genotipificaron usando PCR-SSP. Las frecuencias génicas de los alelos HPA-1b, HPA-2b, HPA-3b, HPA-4b, HPA-5b, HPA-6b y HPA-15b fueron 2.3%, 6%, 49.3%, 5.2%, 3.2%, 4.4% y 4.9% respectivamente. No se encontraron donantes homocigotos para el HPA-1b, HPA-2b y HPA-6b, lo que indica que el riesgo de aloinmunización de plaquetas causado por estos HPA es extremadamente baja en la población Indonesa, sin embargo, la aloinmunización por HPA-3, HPA-4, HPA-5 y HPA-15 pueden causar trombocitopenia aloinmune. Se encontraron seis donantes homocigotos para HPA-5bb y un sólo un homocigoto para HPA-4bb.

En Taiwán, Pai y colaboradores en el 2013⁵⁵ determinaron la frecuencia de HPA-1 a HPA-6 y HPA-15 en 998 donantes de plaquetas por aféresis taiwaneses utilizando PCR-SSP. Se tomaron muestras de sangre con EDTA.

En los resultados que obtuvieron la frecuencia de los alelos HPA fueron 99.55% y 0.45% para el HPA-1a y HPA-1b; 96.49% y 3.51% para el HPA-2a y HPA-2b; 55.81% y 44.19% para HPA-3a y HPA-3b; 99.75% y 0,25% para HPA-4a y HPA-4B; 98.50% y 1.50% para HPA-5a y HPA-5 b; 97.75% y 2.25% para HPA-6a y HPA-6b; 53.71% y 46.29% para HPA-

15a y HPA-15b . Las frecuencias de los alelos HPA-15b y HPA-3a, se pueden considerar los más importantes, seguidos por HPA-2, HPA-6, HPA-1, HPA-5, y HPA-4, como causa de trombocitopenia fetal/neonatal aloinmune (FNAIT), purpura pos transfusional (PTP), y RP.

Los antígenos HPA-3 y HPA-15 mostraron mayor heterocigosidad entre todos los antígenos HPA. La frecuencia de los genotipos de HPA-3 a/a, a/b, y b/b fue de 29.7%, 52.3% y 18% y el 28.4%, 50.7%, 20.9% de HPA-15 a/a, a/b y b/b respectivamente.

La frecuencia genotípica de los homocigotos para HPA-1a/a es de 99.1%, de HPA-2a/a 93.2%, de HPA-4a/a 99.5%, de HPA-5a/a 97%, y HPA-6a/a 95.6% y la frecuencia genotípica de heterocigotos para HPA-1a/b es de 0.9%, para HPA-2a/b 6.6%, para HPA-4a/b 0.5%, para HPA-5a/b 3% y para HPA-6a/b 4.3%. La frecuencia de homocigotos a/a es mayor que la de los heterocigotos a/b. Encontraron que dos personas tenían HPA-2b/b y una con HPA-6b/b y no se encontraron homocigotos b/b para HPA-1, HPA-4 y HPA-5.

El alelo "a" fue más dominante que el alelo "b" en casi todos los HPA, excepto en HPA-3 y HPA-15. El alelo HPA-3a tuvo una frecuencias de 55,8% y para HPA-3b 44,2%; 53.7% y 46,3% para HPA-15a y HPA-15b, respectivamente.

Ellos estimaron la probabilidad de aloinmunización contra los antígenos HPA-1, HPA-2, HPA-3, HPA-4, HPA-5, HPA-6 y HPA-15 como una forma de evaluar el riesgo de ocurrencia de trombocitopenia fetal/neonatal aloinmune TFNA y RP en Taiwán.

La probabilidad de la incompatibilidad feto-maternal en HPA-1, HPA-2, HPA-4, HPA-5, HPA-6 y HPA-15 fue muy baja.

Tabla 12. Frecuencia alélica de los antígenos plaquetarios HPA encontrados en el continente asiático.

País	CHINA				PAKISTAN				CHINA				IRAN						MALASIA						TAIWAN		INDONESIA				JAPON	
Autor	Feng et al.				Batthi et al.				Nie et al.				Mojgan et al.						Tan, et al.						Pai, et al.		Asmarinah et al.				Matsuhashi et al.	
Año	2006				2010				2010				2011						2012						2013		2013				2014	
n poblacional	n=500				n=593				n=200				n=120						n=600						n=998		n=500				n=380	
Método	PCR-SSP y PCR				PCR				PCR-SSP y Electroforesis				PCR-RFLP						PCR-RT						PCR-SSP		PCR-SSP				hemaglutinación mixta pasiva, MAIPA	
Población	Donantes		Grupos étnicos		Donantes		Donantes		Pacientes con RP		Ambos grupos		Donantes en archipiélago indo malayo		Donantes en China		Donantes en India		Donantes		Donantes de grupos étnicos		Donantes									
	n	%	N	%	n	%	n	%	N	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%								
HPA-1a	NR	99,4	NR	88,5	398	99,5	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	97,5	NR	100	NR	88,5	1987	99,55	NR	97,7	NR	NR								
HPA-1b	NR	0,6	NR	11,5	2	0,5	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	2,5	NR	0	NR	11,5	9	0,45	NR	2,3	NR	NR								
HPA-2a	NR	95,15	NR	92	385	96,25	NR	88	NR	83	NR	87	NR	96,25	NR	96,75	NR	96	1926	96,49	NR	94	NR	NR								
HPA-2b	NR	4,85	NR	8	15	3,75	NR	12	NR	17	NR	13	NR	3,75	NR	3,25	NR	4	70	3,51	NR	6	NR	NR								
HPA-3a	NR	59,45	NR	69	217	54,25	NR	26	NR	38	NR	28	NR	50,25	NR	57,25	NR	62	1114	55,81	NR	50,7	NR	NR								
HPA-3b	NR	40,55	NR	31	183	45,75	NR	74	NR	62	NR	72	NR	49,75	NR	42,75	NR	38	882	44,19	NR	49,3	NR	NR								
HPA-4a	NR	99,55	NR	100	398	99,5	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	99,5	NR	99,75	NR	99,75	1991	99,75	NR	94,8	NR	NR								
HPA-4b	NR	0,45	NR	0	2	0,5	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0,5	NR	0,25	NR	0,25	5	0,25	NR	5,2	NR	NR								
HPA-5a	NR	98,65	NR	90	396	99	NR	99,5	NR	98	NR	99	NR	95	NR	98,25	NR	94	1966	98,5	NR	96,8	NR	NR								
HPA-5b	NR	1,35	NR	10	4	1	NR	0,5	NR	2	NR	1	NR	5	NR	1,75	NR	6	30	1,5	NR	3,2	NR	NR								
HPA-6a	NR	100	NR	NR	388	97	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	99,25	NR	98,25	NR	99,5	1951	97,75	NR	95,6	NR	NR								
HPA-6b	NR	0	NR	NR	12	3	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0,75	NR	1,75	NR	0,5	45	2,25	NR	4,4	NR	NR								
HPA-7a	NR	100	NR	NR	400	100	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR								
HPA-7b	NR	0	NR	NR	0	0	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR								
HPA-8a	NR	100	NR	NR	400	100	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR								
HPA-8b	NR	0	NR	NR	0	0	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR								
HPA-9a	NR	100	NR	NR	400	100	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR								
HPA-9b	NR	0	NR	NR	0	0	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR								
HPA-10a	NR	99,95	NR	NR	400	100	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR								
HPA-10b	NR	0,05	NR	NR	0	0	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR								
HPA-11a	NR	100	NR	NR	400	100	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR								
HPA-11b	NR	0	NR	NR	0	0	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR								
HPA-12a	NR	100	NR	NR	400	100	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR								
HPA-12b	NR	0	NR	NR	0	0	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR								
HPA-13a	NR	100	NR	NR	400	100	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR								
HPA-13b	NR	0	NR	NR	0	0	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR								
HPA-14a	NR	100	NR	NR	400	100	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR								
HPA-14b	NR	0	NR	NR	0	0	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR								
HPA-15a	NR	53,2	NR	59	161	40,25	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	51,5	NR	49,75	NR	40,75	1072	53,71	NR	55,1	NR	55,1								
HPA-15b	NR	46,8	NR	41	239	59,75	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	48,5	NR	50,25	NR	59,25	924	46,29	NR	44,9	NR	44,9								
HPA-16a	NR	100	NR	NR	400	100	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR								
HPA-16b	NR	0	NR	NR	0	0	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR								

Tabla 13. Frecuencia encontrada de los genotipos de los antígenos plaquetarios HPA en el continente asiático.

País	CHINA		CHINA		PAKISTAN		IRAN				MALASIA						INDONESIA		TAIWAN	
Autor	Feng et al.		Nie et al.		Batthi et al.		Moigan et al.				Tan, et al.						Asmarinah et al.		Pai, et al.	
Año	2006		2010		2010		2011				2012						2013		2013	
n poblacional	n=1000		n=200		n=593		n=120				n=600						n=500		n=998	
Método	PCR-SSP y PCR		PCR-SSP y Electroforesis		PCR		PCR-RFLP				PCR-RT						PCR-SSP		PCR-SSP, PCR SBT y Electroforesis	
Población	Donantes		Donantes		Grupos étnicos		Donantes		Pacientes con RP		Donantes archipiélago indo malayo		Donantes de China		Donantes de India		Donadores de grupos étnicos		Donantes	
	N	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
HPA-1aa	988/1000	98,9	198/200	99	NR	79,4	NR	NR	NR	NR	190/200	95	200/200	100	155/200	77,5	477/500	95,4	989/998	99,1
HPA-1ab	12/1000	1,2	2/200	1	NR	19	NR	NR	NR	NR	10/200	5	0	0	44/200	22	23/500	4,6	9/998	0,9
HPA-1bb	0	0	0/200	0	NR	2	NR	NR	NR	NR	0	0	0	0	1/200	0,5	0	0	0	0
HPA-2aa	904/1000	90,4	185/200	92,5	NR	85	NR	75,5	NR	66,7	185/200	92,5	188/200	94	185/200	92,5	440/500	88	930/998	93,18
HPA-2ab	95/1000	9,5	15/200	7,5	NR	13,5	NR	24,5	NR	33,3	15/200	7,5	11/200	5,5	14/200	7	60/500	12	66/998	6,61
HPA-2bb	1/1000	0,1	0/200	0	NR	1,2	NR	NR	NR	NR	0	0	1/200	0,5	1/200	0,5	0	0	2/998	0,2
HPA-3aa	358/1000	35,8	60/200	30	NR	51	NR	8,1	NR	23,8	49/200	24,5	66/200	33	78/200	39	134/500	26,8	296/998	29,65
HPA-3ab	473/1000	47,3	97/200	48,5	NR	36,6	NR	70,7	NR	47,6	103/200	51,5	97/200	48,5	92/200	46	239/500	47,8	522/998	52,3
HPA-3bb	169/1000	16,9	43/200	21,5	NR	12,4	NR	22,5	NR	28,6	48/200	24	37/200	18,5	30/200	15	127/500	25,4	180/998	18,04
HPA-4aa	991/1000	99,1	198/200	99	NR	100	NR	NR	NR	NR	199/200	99,5	199/200	99,5	199/200	99,5	449/500	89,8	993/998	99,5
HPA-4ab	9/1000	0,9	2/200	1	NR	0	NR	NR	NR	NR	0	0	1/200	0,5	1/200	0,5	50/500	10	5/998	0,5
HPA-4bb	0	0	0/200	0	NR	0	NR	NR	NR	NR	1/200	0,5	0	0	0	0	1/500	0,2	0	0
HPA-5aa	973/1000	97,3	196/200	98	NR	82	NR	99	NR	90,5	180/200	90	193/200	96,5	177/200	88,5	474/500	94,8	968/998	96,99
HPA-5ab	26/1000	2,6	4/200	2	NR	16	NR	1	NR	9,5	20/200	10	7/200	3,5	22/200	11	20/500	10	30/998	3,01
HPA-5bb	1/1000	0,1	0/200	0	NR	2,5	NR	NR	NR	NR	0	0	0	0	1/200	0,5	6/500	1,2	0	0
HPA-6aa	973/1000	97,3	189/200	94,5	NR	NR	NR	NR	NR	NR	197/200	98,5	193/200	96,5	198/200	99	456/500	91,2	954/998	95,59
HPA-6ab	27/1000	2,7	10/200	5	NR	NR	NR	NR	NR	NR	3/200	1,5	7/200	3,5	2/200	1	44/500	8,8	43/998	4,31
HPA-6bb	0	0	1/200	0,5	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0	0	0	0	0	0	0	0	1/998	0,1
HPA-7aa	1000/1000	100	200/200	100	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
HPA-7ab	0	0	0	0	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
HPA-7bb	0	0	0	0	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
HPA-8aa	1000/1000	100	200/200	100	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
HPA-8ab	0	0	0	0	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
HPA-8bb	0	0	0	0	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
HPA-9aa	1000/1000	100	200/200	100	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
HPA-9ab	0	0	0	0	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
HPA-9bb	0	0	0	0	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
HPA-10aa	999/1000	99,9	200/200	100	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
HPA-10ab	1/1000	0,1	0	0	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
HPA-10bb	0	0	0	0	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
HPA-11aa	1000/1000	100	200/200	100	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
HPA-11ab	0	0	0	0	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
HPA-11bb	0	0	0	0	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
HPA-12aa	1000/1000	100	200/200	100	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
HPA-12ab	0	0	0	0	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
HPA-12bb	0	0	0	0	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
HPA-13aa	1000/1000	100	200/200	100	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
HPA-13ab	0	0	0	0	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR

HPA-13bb	0	0	0	0	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR						
HPA-14aa	1000/1000	100	200/200	100	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR						
HPA-14ab	0	0	0	0	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR						
HPA-14bb	0	0	0	0	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR						
HPA-15aa	281/1000	28,1	51/200	25,5	NR	NR	NR	NR	NR	NR	50/200	25	46/200	23	36/200	18	131/500	26,2	283/998	28,36	
HPA-15ab	502/1000	50,2	59/200	29,5	NR	NR	NR	NR	NR	NR	106/200	53	107/200	53,5	91/200	45,5	289/500	57,8	506/998	50,7	
HPA-15bb	217/1000	21,7	90/200	45	NR	NR	NR	NR	NR	NR	44/200	22	47/200	23,5	73/200	36,5	80/500	16	209/998	20,94	
HPA-16aa	1000/1000	100	200/200	100	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR							
HPA-16ab	0	0	0	0	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR							
HPA-16bb	0	0	0	0	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR							

3.2.2 Europa

Se encontraron datos para Macedonia, Croacia, Polonia, Alemania. En la Tabla 14 se encuentran los datos correspondientes para las frecuencias alélicas de HPA, en la Tabla 15 las frecuencias genotípicas de HPA y en la Tabla 16 las frecuencias fenotípicas de HPA en el continente europeo.

En Macedonia, Pavkovic y colaboradores en el 2006⁵⁶ realizaron el primer estudio para determinar y analizar la frecuencia de alelos HPA-1, HPA-2, HPA-3 y HPA-5 en la República de Macedonia. Ellos genotipificaron 122 muestras de sangre de donantes para HPA-1 o polimorfismo PIA, 32 para HPA-2, 115 para HPA-3 y 126 para HPA-5 usando PCR-RFLP. Los resultados del estudio para las frecuencias fenotípicas en la población de Macedonia fueron las siguientes: 97.5% para HPA-1a, 24.5% para HPA-1b; 98.5% para el HPA-2a, 28% para HPA-2b; 80% para el HPA-3a, 64.3% para HPA-3b; 99.2% para el HPA-5a y 17.5% para HPA-5b. Las frecuencias de los alelos de HPA en este estudio fueron las siguientes: 86.5% para HPA-1a, 13.5% para HPA-1b; 85.2% para el HPA-2a, 14.8% para HPA-2b; 57.8% para el HPA-3a, 42.2% para HPA-3b; 90.9% para el HPA-5a y 9.1% para HPA-5b. La frecuencia genotípica que observaron en población macedonia fueron las siguientes: a/a= 92/122 (75,4%), a/b=27/122 (22,1%), b/b= 3/122 (2,5%) para HPA-1 o PIA; a/a= 95/132 (72,09%), a/b=35/132 (26,5%) y b/b= 2/132 (1,5%) para HPA-2; a/a= 41/115 (35,6%),a/b= 51/115 (44,4%) y b/b= 23/115 (20%) para HPA-3; a/a= 104/126 (82,5%), a/b= 21/126 (16,7%), y b/b= 1/126 (0,8%) para HPA-5.

Este estudio fue el primero que se realizó en Macedonia, en donde las frecuencias alélicas de HPA-1, HPA-3 y HPA-5 no presentan diferencias significativas respecto a otras poblaciones europeas, excepto que en HPA-2, se observó mayor prevalencia 14.8%, lo que significa que la población de Macedonia tiene un alto riesgo de aloinmunización en este sistema HPA.

En Croacia, Pavic y colaboradores en el 2010⁵⁷ investigaron la frecuencia de los alelos HPA-1, HPA-2, HPA-3 y HPA-5 en 219 donantes de Croacia de edades desde 0 a 69 años. La genotipificación fue realizada mediante PCR-SSP. Las frecuencias alélicas obtenidas fueron: HPA-1a (85.4%), HPA-1b (14.6%), HPA-2a (89%), HPA-2b (11%), HPA-3a (85.75%), HPA-3b (42.5%), HPA-5a (89.5%) y HPA-5b (10.5%). Ellos obtuvieron frecuencias genotípicas homocigotas de HPA-1a/a (72.6%), HPA-2a/a (79%) y HPA-5a/a (79.9%), excepto HPA-3a/a (32%) mayores a las heterocigotas o las homocigota b/b. Además compararon este estudio con otros estudios Europeos, y concluyeron que la

frecuencia del alelo HPA-2b fue significativamente alto en la población de Croacia que en Holanda y en Alemania, y fue similar a la de la población de Eslovenia. La frecuencia de HPA-3b y HPA-5b fueron significativamente mayor que en Suiza para HPA-3b y en Finlandia para HPA-5b, siendo estos los países con menor frecuencia de los países Europeos. Además que la frecuencia alta de HPA-5b puede predisponer a la población de Croacia a un mayor riesgo de aloinmunización.

En Polonia, Maślanka y colaboradores en el 2011⁵⁸ evaluaron la frecuencia génica de HPA-15a y HPA-15b. Se tomaron muestras de sangre con EDTA de 300 donantes de 19 a 55 años. La genotipificación se realizó por reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real PCR-RT. Como resultado obtuvieron las frecuencias genotípicas de HPA-15a/b, HPA-15a/a y HPA-15b/b fue de 48.33%, 24.33% y de 27.33% respectivamente. En Polonia, la frecuencia alélica de HPA-15a es menor que HPA-15b, 48% frente a 51.5%. La distribución de los alelos HPA-15 es similar a la de Australia, pero en países como Noruega, Reino Unido, Croacia, Alemania, Pakistán, Japón, China, el porcentaje de alelo HPA-15a es mayor que la de HPA-15b.

En Alemania, Hauck y colaboradores en el 2012⁵⁹ compararon la frecuencia de HPA-1 a HPA-5 y HPA-15, entre donantes de sangre caucásicos y turcos, para obtener información de si aumenta el riesgo de aloinmunización por HPA en parejas mixtas y en la transfusión de plaquetas. Se tomaron muestras de sangre con EDTA a 119 donantes caucásicos y 117 donantes turco y se genotipificaron por PCR-SSP. En los resultados que obtuvieron el alelo "a" de los antígenos HPA fue más frecuente en ambos grupos de estudio, a excepción de HPA-15. Con respecto a HPA-15, el alelo HPA-15a fue el alelo más frecuentemente encontrado en caucásicos (HPA-15a: 51.7% y HPA-15b: 48.3%), mientras que entre los donantes turcos HPA-15b fue más frecuente que HPA-15a (HPA-15a: 47.4% y HPA-15b: 52.6%). El alelo HPA-4b se encontró en un donante de Turquía, mientras que en los donantes caucásicos no se encontró el alelo. El riesgo aloinmunización por transfusión o embarazo fue similar para ambos grupos. La probabilidad de incompatibilidad de HPA-1a es de 1,6% cuando los padres son de origen turco y un 3,3% cuando los padres son de raza blanca (caucásicos)

La distribución del genotipo HPA fue similar en ambos grupos étnicos sin diferencias significativas en las frecuencias de HPA. Con respecto a la aloinmunización los turcos que reciben transfusión de plaquetas donadas por individuos caucásicos no presentan ningún

riesgo de aloinmunización por HPA. Tampoco se presenta riesgo de trombocitopenia neonatal aloimmune (TNAI) en los recién nacidos entre parejas caucásicas y Turcas.

Además encontraron que tres de los donantes turcos eran homocigotos para HPA-2b, y ninguno en donadores caucásicos, esta diferencia entre las personas caucásicas y turcas puede aumentar el riesgo de aloinmunización y ser una de las razones para que se presente RP.

La distribución de las frecuencias de HPA-5a/b fue similar en el estudio entre turcos y caucásicos. Con respecto a HPA-15 en los donadores caucásicos es más frecuente el alelo HPA-15a, mientras que en los donadores turcos se presenta el alelo HPA-15b.

Tabla 14. Frecuencia alélica de los antígenos plaquetarios HPA encontrados en el continente europeo

País	Macedonia		CROACIA		POLONIA		ALEMANIA			
Autor	Pavkovic et al.		Pavic et al.		MašLanka et al.		Hauck et al.			
Año	2006		2010		2011		2012			
n poblacional	n=495		n=219		n=3000		n=119		n=117	
Método	PCR-SSP/RFLP		PCR		PCR-RT, MAIPA		PCR-SSP			
Población	Voluntarios		Voluntarios		Voluntarios		donadores caucásicos		donadores turcos	
	N	%	n	%	n	%	n	%	n	%
HPA-1a	211	86,5	374	85,4	NR	NR	NR	79,8	NR	86,3
HPA-1b	33	13,5	64	14,6	NR	NR	NR	20,2	NR	13,7
HPA-2a	225	85,2	390	89	NR	NR	NR	90,8	NR	86,8
HPA-2b	39	14,8	48	11	NR	NR	NR	9,2	NR	13,3
HPA-3a	133	57,8	252	57,5	NR	NR	NR	56,7	NR	60,7
HPA-3b	97	42,2	186	42,5	NR	NR	NR	43,2	NR	39,3
HPA-4a	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	100	NR	99,6
HPA-4b	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0	NR	0,4
HPA-5a	229	90,9	392	89,5	NR	NR	NR	91,6	NR	89,3
HPA-5b	23	9,1	46	10,5	NR	NR	NR	8,4	NR	10,7
HPA-15a	NR	NR	NR	NR	NR	48	NR	51,7	NR	47,4
HPA-15b	NR	NR	NR	NR	NR	51,5	NR	48,3	NR	52,6

Tabla 15. Frecuencia encontrada de los genotipos de los antígenos plaquetarios HPA en el continente europeo

País	Macedonia		CROACIA		ALEMANIA			
Autor	Pavkovic et al.		Pavic et al.		Hauck et al.			
Año	2006		2009		2012			
n poblacional	n=122		n=219		n=119		n=117	
Método	PCR-SSP/RFLP		PCR		PCR-SSP			
Población	Voluntarios		Voluntarios		donantes caucásicos		donantes turcos	
	n	%	n	%	n	%	n	%
HPA-1aa	92/122	75,4	159/219	72,6	NR	60	NR	76,1
HPA-1ab	27/122	22,1	56/219	25,6	NR	33,6	NR	20,5
HPA-1bb	3/122	2,5	4/219	1,8	NR	3,4	NR	0,34
HPA-2aa	95/122	72	173/219	79	NR	81,5	NR	76,1
HPA-2ab	35/122	26,5	44/219	20,1	NR	18,5	NR	21,4
HPA-2bb	2/122	1,5	2/219	0,9	NR	0	NR	0,26
HPA-3aa	41/122	35,6	70/219	32	NR	32,8	NR	41,9
HPA-3ab	51/122	44,4	112/219	51,1	NR	47,9	NR	37,6
HPA-3bb	23/122	20	37/219	16,9	NR	19,3	NR	20,1
HPA-4aa	NR	NR	NR	NR	NR	100	NR	99,2
HPA-4ab	NR	NR	NR	NR	NR	0	NR	0,8
HPA-4bb	NR	NR	NR	NR	NR	0	NR	0
HPA-5aa	104/122	82,5	175/219	79,9	NR	84,9	NR	79,5
HPA-5ab	21/122	16,7	42/219	19,2	NR	13,4	NR	19,7
HPA-5bb	1/122	0,8	2/219	0,9	NR	0,17	NR	0,08
HPA-15aa	NR	NR	NR	NR	NR	27,4	NR	20,5
HPA-15ab	NR	NR	NR	NR	NR	48,7	NR	53,9
HPA-15bb	NR	NR	NR	NR	NR	23,9	NR	25,6

Tabla 16. Frecuencia encontrada de los fenotipos de los antígenos plaquetarios HPA en el continente europeo

País	Macedonia		CROACIA	
Autor	Pavkovic et al.		Pavic et al.	
Año	2006		2009	
n poblacional	n=495		n=219	
Método	PCR y PCR-RFLP		PCR	
Población	Voluntarios		Voluntarios	
	n	%	N	%
HPA-1a	119/122	97,5	215/219	98,2
HPA-1b	30/122	24,5	60/219	27,4
HPA-2a	130/132	98,5	217/219	99,1
HPA-2b	37/132	28	46/219	21
HPA-3a	92/115	80	182/219	83,1
HPA-3b	74/115	64,3	149/219	68
HPA-4a	NR	NR	NR	NR
HPA-4b	NR	NR	NR	NR
HPA-5a	125/126	99,2	217/219	99,1
HPA-5b	22/126	17,5	44/219	20,1
HPA-6a	NR	NR	NR	NR
HPA-6b	NR	NR	NR	NR
HPA-7a	NR	NR	NR	NR
HPA-7b	NR	NR	NR	NR
HPA-8a	NR	NR	NR	NR
HPA-8b	NR	NR	NR	NR
HPA-9a	NR	NR	NR	NR
HPA-9b	NR	NR	NR	NR
HPA-11a	NR	NR	NR	NR
HPA-11b	NR	NR	NR	NR
HPA-15a	NR	NR	NR	NR
HPA-15b	NR	NR	NR	NR

3.2.3 AFRICA

Se encontraron datos para Líbano, Argelia, Egipto, Jordania. En la Tabla 17 se encuentran los datos correspondientes para las frecuencias alélicas de HPA y en la Tabla 18 las frecuencias genotípicas de HPA en el continente africano.

En Líbano, Sabbagh y colaboradores en el 2007⁶⁰ investigaron el perfil genotípico HPA-1 además de la prevalencia de los alelos 1a y 1b en la población libanes. Se seleccionaron aleatoriamente 205 muestras de sangre de donantes pertenecientes al registro de HLA, individuos sanos de diferentes áreas del Líbano y de comunidades religiosas del país (cristianos, musulmanes y drusos) usando PCR e hibridación reversa. En los resultados que obtuvieron las frecuencias genotípicas de HPA-1a/a fueron más prevalentes (65.85%) seguidas de HPA-1a/b (30.24%) y por último HPA-1b/b (3.91%). La frecuencia alélica de HPA-1a fue de 81% y de 19% para HPA-1b. La alta prevalencia de la HPA-1b en la población libanesa sugiere que hay un mayor riesgo de aloinmunización. Ellos

concluyeron que se debe hacer la detección de aloanticuerpos HPA antes de cualquier transfusión.

En Argelia, Brouk y colaboradores en el 2010⁶¹ determinaron la frecuencia de los alelos de HPA-1, HPA-2, HPA-3, HPA-4, HPA-5, HPA-9, HPA-15 y GPIIb IVS21 (-7) en la población argelina de Annaba y en diferentes grupos étnicos. Se tomaron muestras de sangre de 485 donadores argelinos. Los participantes nacieron en Argelia, 357 representan las áreas en el norte y fueron Arabs y Bebers y 128 participantes del sur como Mzab y Tuareg. Se realizó la genotipificación por PCR-SSP y PCR-RFLP. Ellos observaron un aumento en la frecuencia de homocigotos de HPA-5b, particularmente en la población de Annaba (7,61%) y en Mzab (5,13%). La frecuencia alélica HPA-2b fue de (14.7 a 19.3%) y fue similar a la observada en las poblaciones del África subsahariana. La alta frecuencia de homocigotos HPA-2b (Kabyle 5%; Mzab 2.44% y 2.19% Annaba) podría aumentar el riesgo de aloinmunización. La mutación GPIIb Ak (2614C>A) se encontró en estas poblaciones. Se observaron altas frecuencias de alelos para el HPA-1b (11.2 a 20.9%), HPA-3b (31.2 a 41.1%) y HPA-5b (8.7 a 21.7%), lo que lleva a un alto riesgo de aloinmunización en la población argelina, especialmente Mzab y Annaba. Estos resultados podrían tener algún impacto en el diagnóstico, prevención y tratamiento de aloinmune trombocitopenia.

La frecuencia de HPA-1bb, en particular la de Annaba (4.35%) sugieren que esta población corre un mayor riesgo de aloinmunización materno-fetal o post-transfusión.

Con respecto a HPA-5 se obtuvo un aumento en la frecuencia de los individuos homocigotos para HPA-5b, en la población de Annaba (7.61%) y en la población Mzab (5.13%), que es caracterizado por matrimonios consanguíneos. En cuanto al sistema HPA-2 observaron que la frecuencia del alelo HPA-2b en las poblaciones de Argelia es de 14.7 a 19.3% y es mayor que la encontrada en poblaciones caucásicas (7.5% en Reino Unido a 13% en Italia), pero similar a la encontrada en bereberes de Marruecos (18.2) y en menor medida, en las poblaciones del África subsahariana. La alta frecuencia de homocigotos de HPA-2b en Kabile (5%); en Mzab (2.44%) y en Annaba (2.19%) podría aumentar el riesgo de aloinmunización.

La mutación GPIIb Ak (2614C> A) está situada entre HPA-9 y HPA-3 con una frecuencia de aproximadamente 1% en todos los grupos étnicos argelinos.

En Egipto y Jordania, Salem y colaboradores en el 2014⁶² determinaron las frecuencias génicas de HPA-1 a HPA-5 en egipcios y jordanos, y compararon estos datos con los establecidos para otras poblaciones. Se tomaron muestras de sangre de 230 adultos de Ismailia (Egipto) y de 116 adultos de Amman (Jordania) y se analizaron por PCR-SSP.

Las frecuencias de los genes en egipcios fueron: HPA-1a (76.7%) y HPA-b (23.3%); HPA-2a (75.9%) y HPA-2b (24.1%); HPA-3a (70.4%) y HPA-3b (29.6%); HPA-4a (100%) y HPA-4 (0%); HPA-5a (72.8%) y HPA-5b (27.2%), mientras que las frecuencias de los jordanos fueron: HPA-1a (82.1%) y HPA-b (17.9%); HPA-2a (87.7%) y HPA-2b (12.3%); HPA-3a (66%) y HPA-3b (34%); HPA-4a (100%) y HPA-4 (0%); HPA-5a (79.5%) y HPA-5b (20.5%). Las frecuencias génicas para HPA-2b y HPA-5b entre los egipcios fueron los más altos reportados entre los árabes. La frecuencia de los alelos HPA-1b en 106 jordanos fue de 17.5%. La frecuencia de HPA-2b fue de 24.1% entre 218 egipcios y 12.3% en 114 jordanos mientras que la frecuencia del alelo HPA-3b fue de 29.6% en 213 egipcios y 34% en 106 jordanos. El alelo HPA-4b está ausente o es muy raro entre los egipcios y los jordanos; de hecho, el alelo HPA-4b no se detectó entre los 222 de Egipto ni entre 116 jordanos. La frecuencia del alelo HPA-5b fue de 27.2% entre 230 egipcios y 20.5% entre 112 jordanos. La comparación de las frecuencias génicas de los alelos de HPA-1, a HPA-5 para los egipcios y jordanos mostraron que no hubo diferencias significativas entre las dos poblaciones estudiadas, a excepción de la frecuencia del gen HPA2 ($p= 0,012$).

Las frecuencias genotípicas de los homocigotos HPA-1a/a, 2a/a, 3a/a, 4a/a, y 5a/a fueron más altas que los heterocigotos (a/b) o los homocigótico (b/b).

Las frecuencias alélicas de HPA-2b (24,1%) y HPA-5 (27,2%) fueron entre los egipcios las más altas registradas hasta ahora entre los africanos del norte y las poblaciones árabes del medio oriente.

Tabla 17. Frecuencia alélica de los antígenos plaquetarios HPA encontrados en el continente africano.

País	LIBANO		ARGELIA														POBLACIÓN ARABE			
Autor	Sabbagh et al.		Brouk, et al.														Salem et al.		Salem et al.	
Año	2007		2010														2014		2014	
n poblacional	n=205		n=357										n=128				n=230		n=116	
Método	PCR e Hibridación reversa		PCR-SSP														PCR-SSP		PCR-SSP	
Población	Donantes		Donantes Annaba		Donantes Este(Arab, Chaoui, Soufi)		Donantes Kabile		Donantes Middle		Donantes Oeste		Donantes Mzab		Donantes Tuareg		Voluntarios de Egipto		Voluntarios de Jordania	
	n	%	N	%	n	%	n	%	N	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
HPA-1a	NR	81	NR	79,3	NR	83,6	NR	88,7	NR	87,3	NR	82,3	NR	84,1	NR	79	NR	76,7	NR	82,1
HPA-1b	NR	19	NR	20,7	NR	16,4	NR	11,3	NR	12,7	NR	17,7	NR	15,9	NR	21	NR	23,3	NR	17,9
HPA-2a	NR	NR	NR	81,9	NR	85,2	NR	82,5	NR	85,3	NR	85,3	NR	83,5	NR	80,6	NR	75,9	NR	87,7
HPA-2b	NR	NR	NR	18,1	NR	14,8	NR	17,5	NR	14,7	NR	14,7	NR	16,5	NR	19,4	NR	24,1	NR	12,3
HPA-3a	NR	NR	NR	61,5	NR	66,3	NR	61,3	NR	65	NR	58,8	NR	59	NR	68,8	NR	70,4	NR	66
HPA-3b	NR	NR	NR	38,5	NR	33,7	NR	38,7	NR	35	NR	41,2	NR	41	NR	31,2	NR	29,6	NR	34
HPA-4a	NR	NR	NR	100	NR	100	NR	100	NR	100	NR	100	NR	100	NR	100	NR	100	NR	100
HPA-4b	NR	NR	NR	0	NR	0	NR	0	NR	0	NR	0	NR	0	NR	0	NR	0	NR	0
HPA-5a	NR	NR	NR	81	NR	84,4	NR	91,3	NR	85,9	NR	84,9	NR	85,9	NR	84,5	NR	72,8	NR	79,5
HPA-5b	NR	NR	NR	19	NR	15,6	NR	8,7	NR	14,1	NR	15,1	NR	14,1	NR	15,5	NR	27,2	NR	20,5

Tabla 18. Frecuencia encontrada de los genotipos de los antígenos plaquetarios HPA en el continente africano.

País	LIBANO		ARGELIA														POBLACIÓN ARABE			
Autor	Sabbagh et al.		Brouk, et al.														Salem et al.			
Año	2007		2010														2014		2014	
n poblacional	n=205		n=357											n=128			n=230		n=116	
Método	PCR e Hibridación reversa		PCR-SSP														PCR-SSP		PCR-SSP	
Población	Donantes		Donantes Annaba		Donantes Este(Arab, Chaoui, Soufi)		Donantes Kabile		Donantes Middle		Donantes Oeste		Donantes Mzab		Donantes Tuareg		voluntarios De Egipto		voluntarios de Jordania	
	n	%	n	%	N	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
HPA-1aa	135/205	65,85	92	63,05	128	70,3	40	80	71	77,46	34	64,71	82	68,29	31	58,06	122/206	59,22	70/106	66,04
HPA-1ab	63/205	30,24	NR	32,6	NR	26,6	NR	17,5	NR	19,72	NR	35,29	NR	31,71	NR	41,94	72/206	34,95	34/106	32,08
HPA-1bb	8/205	3,91	NR	4,35	NR	3,1	NR	2,5	NR	2,82	NR	0	NR	0	NR	0	12/206	5,83	2/106	1,89
HPA-2aa	NR	NR	91	65,95	125	72	40	70	68	70,59	34	70,6	82	69,52	31	61,29	122/218	55,96	88/114	77,19
HPA-2ab	NR	NR	NR	31,86	NR	26,4	NR	25	NR	29,41	NR	29,4	NR	28,04	NR	38,71	87/218	39,91	24/114	21,05
HPA-2bb	NR	NR	NR	2,19	NR	1,6	NR	5	NR	0	NR	0	NR	2,44	NR	0	9/218	4,13	2/114	1,75
HPA-3aa	NR	NR	91	38,46	120	43,34	40	37,5	70	45,71	34	35,29	83	34,94	32	43,75	108/213	50,7	50/106	47,17
HPA-3ab	NR	NR	NR	46,16	NR	45,83	NR	47,5	NR	38,57	NR	47,06	NR	48,19	NR	5	84/213	39,44	40/106	37,74
HPA-3bb	NR	NR	NR	15,38	NR	10,83	NR	15	NR	15,72	NR	17,65	NR	16,87	NR	6,25	21/213	9,86	16/106	15,09
HPA-4aa	NR	NR	92	100	120	100	40	100	70	100	34	100	82	100	32	100	22/222	100	116/116	100
HPA-4ab	NR	NR	92	69,56	115	72,18	40	85	71	74,65	33	75,75	78	61,54	29	68,69	0	0	0	0
HPA-4bb	NR	NR	NR	22,83	NR	24,34	NR	12,5	NR	22,53	NR	18,18	NR	33,33	NR	31,04	0	0	0	0
HPA-5aa	NR	NR	NR	7,61	NR	3,48	NR	2,5	NR	2,5	NR	6,07	NR	5,13	NR	0	130/230	56,52	68/112	60,71
HPA-5ab	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	75/230	32,61	42/112	37,5
HPA-5bb	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	25/230	10,87	2/112	1,79

3.2.4 AMÉRICA

Se encontraron datos para Argentina y Brasil. En la Tabla 19 se encuentran los datos correspondientes para las frecuencias alélicas de HPA y en la Tabla 20 las frecuencias genotípicas de HPA en el continente americano.

En Argentina, De la Vega y colaboradores en el 2008⁶³ determinaron las frecuencias de los alelos de siete sistemas HPA en dos grupos étnicos diferentes de la ciudad de Rosario, Argentina, y un grupo amerindio minoritario recién llegados desde el norte del país, los tobas. Se tomaron muestras de sangre de 192 donantes y 27 amerindios Toba y estas muestras fueron genotipificadas para HPA-1, HPA-2, HPA-3, HPA-4, HPA-5, HPA-6 y HPA-15 usando PCR-SSP. Los datos mostraron que la distribución de los alelos HPA entre argentinos de Rosario es bastante similar a la reportada entre los europeos. Las frecuencias que se observaron en los Tobas, aunque es un número pequeño de las muestras de aborígenes estudiados, son similares a los reportados para otras poblaciones amerindias. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas para la distribución de los genotipos de HPA-1, HPA-3, HPA-5 y HPA-15 entre ambos grupos, lo que indica que se presenta un alto riesgo de aloinmunización por HPA asociado a la transfusión y el embarazo.

En Brasil, Bianchi y colaboradores en el 2012⁶⁴ evaluaron la frecuencia de antígenos plaquetarios humanos HPA-1, HPA-2, HPA-3, HPA-4, HPA-5 y HPA-15 en pacientes oncohematológicos con trombocitopenia y analizaron la probabilidad de su incompatibilidad con las transfusiones de plaquetas. Se tomaron 150 muestras de ADN de pacientes oncohematológicos que presentaron trombocitopenia con un recuento de plaquetas por debajo de 20.000/ μ l e indicados para recibir transfusión de concentrados de plaquetas (CP) entre 1994 y 2010.

De los 150 pacientes que participaron en este estudio, 65 participantes eran varones (44%) y 85 mujeres (56%). Las edades de los participantes oscilaron entre 13 hasta 80 años con una edad media de 46 años. En el estudio participaron 28 pacientes que presentan anemia aplásica (18,7%), 64 fueron diagnosticados con leucemia mieloide aguda o leucemia linfocítica (42,7%), 19 participantes tuvieron leucemia mieloide crónica y la leucemia linfocítica (12,7%) y 39 participantes fueron diagnosticados con linfoma de Hodgkin o linfoma no Hodgkin (26%). Las frecuencias de los alelos encontrados fueron:

HPA-1a: 83.7%; HPA-1b: 16.3%; HPA-2a: 83%; HPA-2b: 17%; HPA-3a: 70%; HPA-3b: 30%; HPA-4a: 100%; HPA-4b: 0%; HPA-5a: 88.7%; HPA-5b: 11.3%; HPA-15a: 45.7% y HPA-15b: 54.3%.

La frecuencia del antígeno HPA-4 en la población reduce la probabilidad de incompatibilidad a prácticamente cero. Con respecto al antígeno HPA-3 y HPA-15, los individuos homocigotos están en un mayor riesgo de aloinmunización debido a la alta probabilidad de incompatibilidad; sin embargo en el estudio realizado las frecuencias más altas fueron observadas en individuos heterocigotos HPA-3 (37,3%) y HPA-15 (42%).

HPA-15 merece una atención especial ya que es responsable de 6,2% de todos los casos aloinmunización y presenta limitaciones en la detección de anticuerpos debido a la variación en la expresión del antígeno y la inestabilidad de la molécula CD109.

Posteriormente, Conti y colaboradores en el 2014⁶⁵ determinaron las frecuencias de alelos HPA-1, HPA-2, HPA-3, HPA-4, HPA-5, HPA-6, HPA-7, HPA-8, HPA-9, HPA-11 y HPA-15.

Se tomaron muestras de 158 donantes brasileños que donaron plaquetas por aféresis entre noviembre de 2010 y octubre de 2011. La genotipificación de los antígenos HPA se realizó usando microensayos, excepto para HPA-2, en donde se utilizó PCR-SSP.

Del total de donantes se realizó una clasificación según la etnia, y como resultado se obtuvo que el 96,3% pertenecía al mismo grupo étnico. 83,8% de raza blanca, el 13,6% afrodescendientes (incluidos los mulatos y los negros), 2.6% asiáticos, y no se encontraron donantes indígenas.

Con respecto a la frecuencia alélica predominó el alelo "a" para HPA-1 HPA-9 y HPA-11, 85.4%, 98.7% y 100% respectivamente, mientras que el alelo "b" estuvo ausente para HPA-6, HPA-7, HPA-8 y HPA-11.

HPA-3 y HPA-15 mostraron alta prevalencia del genotipo heterocigoto "ab", 44.30% y 46.84%, respectivamente. Detectaron un caso de HPA-4ab y dos casos de HPA-9abw.

Una de las muestras poseía el antígeno HPA-2, este no pudo ser interpretado por microensayo debido a que tenía la mutación GPIb 468 C>G; este donante se caracterizó como HPA-2ab por PCR-SSP.

Tabla 19. Frecuencia alélica de los antígenos plaquetarios HPA encontrados en el continente americano.

País	ARGENTINA				BRASIL		BRASIL	
Autor	De la Vega et al.				Bianchi et al.		Conti et al.	
Año	2008				2010		2014	
n poblacional	n=192		n=27		n=150		n=158	
Método	PCR-SSP				PCR-SSP		PCR-SSP	
Población	Donantes argentinos		Donantes amerindios toba		Voluntarios		Donantes	
	N	%	N	%	n	%	n	%
HPA-1a	NR	87,8	NR	100	NR	83,7	NR	85,4
HPA-1b	NR	12,2	NR	0	NR	16,3	NR	14,6
HPA-2a	NR	87,5	NR	94,4	NR	83	NR	87,3
HPA-2b	NR	12,5	NR	5,6	NR	17	NR	12,7
HPA-3a	NR	61,2	NR	38,9	NR	70	NR	65,2
HPA-3b	NR	38,8	NR	61,1	NR	30	NR	34,8
HPA-4a	NR	100	NR	100	NR	100	NR	99,7
HPA-4b	NR	0	NR	0	NR	0	NR	0,3
HPA-5a	NR	92,7	NR	100	NR	88,7	NR	90,5
HPA-5b	NR	7,3	NR	0	NR	11,3	NR	9,5
HPA-6a	NR	100	NR	100	NR	NR	NR	100
HPA-6b	NR	0	NR	0	NR	NR	NR	0
HPA-7a	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	100
HPA-7b	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0
HPA-8a	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	100
HPA-8b	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0
HPA-9a	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	98,7
HPA-9b	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	1,3
HPA-11a	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	100
HPA-11b	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0
HPA-15a	NR	51,1	NR	65,8	NR	45,7	NR	53,2
HPA-15b	NR	48,9	NR	31,5	NR	54,3	NR	46,8

Tabla 20. Frecuencia encontrada de los genotipos de los antígenos plaquetarios HPA en el continente americano

País	ARGENTINA				BRASIL		BRASIL	
Autor	De la Vega et al.				Bianchi et al.		Conti et al.	
Año	2008				2010		2014	
n poblacional	n=192		n=27		n=150		n=158	
Método	PCR-SSP				PCR-SSP		PCR-SSP	
Población	Donantes argentinos		Donantes amerindios toba		Voluntarios		Donantes	
	N	%	n	%	n	%	n	%
HPA-1aa	NR	76,6	NR	100	107/150	71,3	NR	74,05
HPA-1ab	NR	22,4	NR	0	37/150	24,7	NR	22,88
HPA-1bb	NR	1	NR	0	6/150	4	NR	3,27
HPA-2aa	NR	77,1	NR	88,9	105/150	70	NR	77,22
HPA-2ab	NR	20,8	NR	11,1	39/150	26	NR	20,25
HPA-2bb	NR	2,1	NR	0	6/150	4	NR	2,53
HPA-3aa	NR	39,6	NR	18,5	77/150	51,3	NR	43,04
HPA-3ab	NR	43,2	NR	40,7	56/150	37,3	NR	44,3
HPA-3bb	NT	17,2	NT	38,9	17/150	11,3	NR	12,66
HPA-4aa	NR	100	NR	100	150/150	100	NR	99,37
HPA-4ab	NR	0	NR	0	0	0	NR	0,63
HPA-4bb	NR	0	NR	0	0	0	NR	0
HPA-5aa	NR	86,5	NR	100	119/150	79,3	NR	82,91
HPA-5ab	NR	12,5	NR	0	28/150	18,7	NR	15,19
HPA-5bb	NR	1	NR	0	3/150	2	NR	1,9
HPA-6aa	NR	100	NR	100	NR	NR	NR	100
HPA-6ab	NR	0	NR	0	NR	NR	NR	0
HPA-6bb	NR	0	NR	0	NR	NR	NR	0
HPA-7aa	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	100
HPA-7ab	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0
HPA-7bb	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0
HPA-8aa	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	100
HPA-8ab	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0
HPA-8bb	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0
HPA-9aa	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	98,73
HPA-9ab	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	1,27
HPA-9bb	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0
HPA-11aa	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	100
HPA-11ab	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0
HPA-11bb	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0
HPA-15aa	NR	24,6	NR	48,1	37/150	24,7	NR	29,75
HPA-15ab	NR	53,9	NR	40,7	63/150	42	NR	46,84
HPA-15bb	NR	22,5	NR	11,1	50/150	33,3	NR	23,42

3.3 Comportamiento de las frecuencias alélicas de HPA-1 al HPA-16

En la tabla 21, se muestra el comportamiento de los antígenos HPA-1 al HPA-16 en los cuatro continentes de estudio.

El comportamiento de las frecuencias alélicas de los HPA en el continente asiático es el siguiente 88.5 a 99.55% para HPA-1a, 0 a 11.5% para HPA-1b, 83 a 96.75% para HPA-2a, 3.25 a 17% para HPA-2b, 26 a 59.45% para HPA-3a, 31 a 74% para HPA-3b, 94.8 a 100% para HPA-4a, 0 a 5.2% para HPA-4b, 90 a 99.5% para HPA-5a, 0.5 a 10% para HPA-5b, 95.6 a 100% para HPA-6a, 0 a 4.4% para HPA-6b, 100% para HPA-7a, HPA-8a, HPA-9a, HPA-12a, HPA-13a, HPA-14a y HPA-16a, 99.95 a 100% para HPA-10a, 0 a 0.5% para HPA-10b, 40.25 a 59% para HPA-15a y 41 a 59.75% para HPA-15b.

El comportamiento de las frecuencias alélicas de los HPA en el continente europeo es el siguiente 79.8 a 86.5% para HPA-1a, 13.5 a 20.2% para HPA-1b, 85.2 a 90.8% para HPA-2a, 9.2 a 14.8% para HPA-2b, 56.7 a 60.7% para HPA-3a, 39.3 a 43.2% para HPA-3b, 99.6 a 100% para HPA-4a, 0 a 0.4% para HPA-4b, 89.3 a 91.6% para HPA-5a, 8.4 a 10.7% para HPA-5b, 47.4 a 51.7% para HPA-15a y 48.3 a 52.6% para HPA-15b.

El comportamiento de las frecuencias alélicas de los HPA en el continente africano es el siguiente 76.7 a 88.7% para HPA-1a, 11.3 a 23.3% para HPA-1b, 75.9 a 87.78% para HPA-2a, 12.3 a 24.1% para HPA-2b, 58.8 a 70.4% para HPA-3a, 29.6 a 41.2% para HPA-3b, 100% para HPA-4a, 0% para HPA-4b, 72.8 a 91.3% para HPA-5a y 8.7 a 27.2% para HPA-5b.

El comportamiento de las frecuencias alélicas de los HPA en el continente americano es el siguiente 83.7 a 100% para HPA-1a, 0 a 16.3% para HPA-1b, 83 a 94.4% para HPA-2a, 5.6 a 17% para HPA-2b, 38.9 a 70% para HPA-3a, 30 a 61.1% para HPA-3b, 99.7 a 100% para HPA-4a, 0 a 0.3% para HPA-4b, 88.7 a 100% para HPA-5a, 0 a 11.3% para HPA-5b, 100% para HPA-6a, HPA-7a, HPA-8a y HPA-11a, 98.7% para HPA-9a, 1.3 para HPA-9b, 45.7 a 65.8% para HPA-15a y 31.5 a 54.3% para HPA-15b.

Los antígenos HPA-6, HPA-7, HPA-8, HPA-9, HPA-10, HPA-11, HPA-12, HPA-13, HPA-14 y HPA-16 son comúnmente expresados tanto en Asia como en América. El antígeno HPA-4 es expresado en los individuos procedentes de los cuatro continentes en estudio.

En Asia y América las mayores frecuencias se presentan en los siguientes alelos. Para el alelo HPA-1a fueron de 88.5 a 99.55% y 83.7 a 100%, 83 a 96.75% y 83 a 94.4% para HPA-2a, 31 a 74% y 30 a 61.1% para HPA-3b, 90 a 99.5% y 88.7 a 100% para HPA-5a, 40.25 a 55.1% y 45.7

a 65.8% para HPA-15a y 41 a 59.75% y 31.5 a 54.3% para HPA-15b; al igual que en Europa y África las frecuencias de HPA-1b fueron 13.5 a 20.2% y 11.3 a 23.3%

El antígeno HPA-1b presentan una frecuencia elevada de 13.5 a 20.2% y 11.3 a 23.3% en los continentes de África y Europa; y de 0 a 11.5% y 0 a 16.3% en Asia y América.

La frecuencia del antígeno HPA-2b en Asia y América 3.25 a 17%, 5.6 a 17%, respectivamente, son menores que las que se encuentra en el continente africano 12.3 a 24.1%

En cuanto al antígeno HPA-3a su prevalencia es mayor en los continentes de África y América 58.8 a 70.4% y 38.9 a 70%.

En África el antígeno HPA-5a con rangos de 8.7 a 27.2% tiene una prevalencia superior que la que se presenta en Asia, Europa y América 0.5 a 10% 8.4 a 10.7% y 0 a 11.3%

Por ejemplo, si analizamos del antígeno HPA-1a, las frecuencias de Asia y América son superiores a las de Europa y África, por lo tanto, si uno de los individuos de procedencia europea es transfundido con plaquetas de un individuo de procedencia americana tiene mayor riesgo de desarrollar aloinmunización contra el antígeno HPA-1a.

Tabla 21. Comportamiento de las frecuencias alélicas de los HPA en Asia entre el 2006 y 2014, en Europa entre 2006 y 2012, en África entre 2007 y 2014 y América entre 2008 y 2014.

Continentes Antígeno	ASIA	EUROPA	AFRICA	AMERICA
HPA-1a	88.5 - 99.55%	79.8 – 86.5%	76.7 – 88.7%	83.7 – 100%
HPA-1b	0 - 11.5%	13.5 – 20.2%	11.3 – 23.3%	0 – 16.3%
HPA-2a	83 - 96.75%	85.2 – 90.8%	75.9 – 87.7%	83 – 94.4%
HPA-2b	3.25 – 17%	9.2 – 14.8%	12.3 – 24.1%	5.6 – 17%
HPA-3a	26 - 59.45%	56.7 – 60.7%	58.8 – 70.4%	38.9 – 70%
HPA-3b	31 – 74%	39.3 – 43.2%	29.6 - 41.2%	30 – 61.1%
HPA-4a	94.8 - 100%	99.6 – 100%	100%	99.7 - 100%
HPA-4b	0 – 5.2%	0 – 0.4%	0%	0.3 - 0%
HPA-5a	90 - 99.5%	89.3 – 91.6%	72.8 – 91.3%	88.7 – 100%
HPA-5b	0.5 – 10%	8.4 – 10.7%	8.7 – 27.2%	0 - 11.3%
HPA-6a	95.6 - 100%	NR	NR	100%
HPA-6b	0 – 4.4%	NR	NR	0%
HPA-7a	100%	NR	NR	100%
HPA-7b	0%	NR	NR	0%
HPA-8a	100%	NR	NR	100%
HPA-8b	0%	NR	NR	0%
HPA-9a	100%	NR	NR	98.7%
HPA-9b	0%	NR	NR	1.3%
HPA-10a	99.95 – 100%	NR	NR	NR
HPA-10b	0 – 0.05%	NR	NR	NR
HPA-11a	100%	NR	NR	100%
HPA-11b	0%	NR	NR	0%
HPA-12a	100%	NR	NR	NR
HPA-12b	0%	NR	NR	NR
HPA-13a	100%	NR	NR	NR
HPA-13b	0%	NR	NR	NR
HPA-14a	100%	NR	NR	NR
HPA-14b	0%	NR	NR	NR
HPA-15a	40.25 – 55.1%	47.4 – 51.7%	NR	45.7 – 65.8%
HPA-15b	41 – 59.75%	48.3 – 52.6%	NR	31.5 – 54.3%
HPA-16a	100%	NR	NR	NR
HPA-16b	0%	NR	NR	NR

3.4 Causas de la refractariedad plaquetaria

La refractariedad a la transfusión de plaquetas es el resultado de la disminución de la supervivencia de las plaquetas provocada por mecanismos inmunes y/o no inmunes. En la Tabla 22 se encuentran los resultados de los principales factores descritos encontrados en la presente revisión y que como se indica involucran tanto mecanismos inmunes como no inmunes. Se encontraron 51 artículos que daban razón de las causas asociadas a la refractariedad así como de las patologías asociadas a la misma.

Tabla 22. Factores involucrados en el desarrollo de la refractariedad plaquetaria.

No inmunes	Inmunes
<p>Factores clínicos</p> <p>Esplenomegalia 86.4%(19/22)^{31,35,66,67,68,69,71,73,74,75,76,77,78,79,81,83,85,86,87}</p> <p>Infección 31.8%(7/22)^{35,66,71,76,83,85,86}</p> <p>Fiebre 68.2%(15/22)^{31,35,66,67,68,69,74,76,78,79,81,82,83,86,87}</p> <p>Sepsis 36.4%(8/22)^{35,68,69,74,75,76,83,84}</p> <p>Hemorragia 54,5%(12/22)^{35,66,67,72,74,76,77,78,79,83,86,87}</p> <p>Coagulación intravascular diseminada CID 68.29%(15/22)^{31,35,66,87,69,72,74,75,76,77,79,81,83,86,87}</p> <p>Enfermedad venooclusiva VOD 27.3%(6/22) ^{66,67,68,74,86,87}</p> <p>Enfermedad injerto contra huésped GVHD 31.8%(7/22) ^{66,67,68,69,74,79,83}</p> <p>Transplante de medula y de células madre 13.6%(3/22) ^{66,74,86}</p>	<p>Anticuerpos</p> <p>HLA 59.1%(13/22) ^{31,35,69,70,74,75,78,79,80,82,83,85,86}</p> <p>HPA 59.1%(13/22) ^{31,35,69,70,72,74,75,78,79,81,80,83,85}</p> <p>Sistema ABO 27.3%(6/22)^{67,70,72,74,77,83}</p> <p>Circulación de inmunocomplejos 9.1%(2/22)^{69,87}</p> <hr/> <p>Fiebre/ reacciones febriles 4.5%(1/22)⁶⁷</p> <p>Trombocitopenia autoinmune ITP 4.5%(1/22)⁷⁷</p>
<p>Medicamentos</p> <p>Anfotericina 54,5%(12/22)^{31,35,66,68,72,76,77,78,79,86,87}</p> <p>Vancomicina 18.2%(4/22)^{35,72,77,83}</p> <p>Ciprofloxacina 4.5%(1/22)³⁵</p> <p>Heparina 31.8%(7/22)^{31,35,67,72,74,79,83}</p> <p>Quinidina 4.5%(1/22)⁷⁴</p> <p>Penicilina 13.6%(3/22)^{31,66,74}</p> <p>Diuréticos 4.5%(1/22)⁷⁵</p> <p>Ciclosporina 4.5%(1/22)⁷⁶</p>	
<p>Factores asociados al paciente</p> <p>Género (hombres) 4.5%(1/22)³⁵</p> <p>Incremento de peso 9.1%(2/22)^{35,83}</p> <p>Incremento de altura 9.1%(2/22)^{35,82}</p> <p>Embarazos previos 22.8%(5/22)^{35,66,72,77,81,83}</p> <p>Transfusiones previas 18.2%(4/22)^{35,72,75,83}</p>	
<p>Factores asociados a los productos</p> <p>Tiempo de almacenamiento 13.6%(3/22)^{35,79,83}</p> <p>Dosis 9.1%(2/22)^{79,83}</p> <p>Compatibilidad ABO 9.1%(2/22)^{79,83}</p> <p>Uso de soluciones aditivas 4.5%(1/22)⁸³</p> <p>Irradiación 4.5%(1/22)⁸³</p> <p>Reducción de patógenos 4.5%(1/22)⁸³</p>	

Dentro de los mecanismos inmunes encontramos que los anticuerpos HLA y anticuerpos HPA, corresponden al 59.1% de los anticuerpos asociados a la RP, 27.3% a incompatibilidad ABO, 9.1% a circulación de inmunocomplejos, y 4.5% a reacciones febriles y trombocitopenia autoinmune. En los factores no inmunes se encuentran factores clínicos, factores asociados al paciente, factores asociados a los productos y los asociados a medicamentos. En los factores

clínicos la esplenomegalia se presenta en un 86.4%, 31.8% en infección, 68.2% en fiebre, 36.4% en sepsis, 54.5% en hemorragia, 68.29% en coagulación intravascular diseminada, 27.3% en enfermedad venooclusiva, 31.8% en enfermedad injerto contra huésped y 13.6% en trasplante de medula y de células madre. En los factores asociados al paciente el 4.5% corresponde a género, 9.1% a incremento de peso e incremento de altura, 22.8% a embarazos previos y 18.2% a transfusiones previas. En los factores asociados al producto el 13.6% corresponde a el tiempo de almacenamiento, 9.1% a la dosis y la compatibilidad ABO, 4.5% a el uso de soluciones aditivas, 4.5% a la irradiación y reducción de patógenos. Los medicamentos que causan la RP son anfotericina en un 54.5%, 18.2% a la vancomicina, 4.5% a la ciprofloxacina, 31.8% a la heparina, 4.5% a la quinidina, 13.6% a la penicilina, 4.5% a los diuréticos y a la ciclosporina.

La principal causa de la refractariedad plaquetaria RP está dada por la aloinmunización antígenos leucocitarios humanos HLA seguida de la aloinmunización por antígenos plaquetarios humanos HPA; el 44.3% (27/61) de las aloinmunizaciones por HLA y/o HPA es debido a una previa exposición a aloantígenos durante el embarazo, transfusiones y/o trasplantes.^{31,35,51,59,60,63,65,66,67,68,70,71,73,79,82,84,87,88,89,90,91,92,93,94,95,96,97}

No todos los pacientes con anticuerpos HLA, son refractarios a la transfusión de plaquetas. En un estudio de 131 pacientes con leucemia que recibieron inducción a la quimioterapia, 45% de los pacientes que recibieron plaquetas de un pool aleatorios de donantes desarrollaron aloanticuerpos, 16% desarrollaron refractariedad y el 13% desarrollaron aloanticuerpos y refractariedad.⁷⁹

La RP en paciente con enfermedades hematológicas o con cáncer, el 72 al 88% son debido a factores no inmunes y el 25 a 39% a factores inmunes.⁷¹ En pacientes con cáncer el 70–80% de los casos de RP es debido a factores no inmunes.⁷⁶ En un estudio realizado en pacientes con leucemia que durante la inducción de la quimioterapia, el 45% de los pacientes recibieron plaquetas de varios donantes desarrollaron aloanticuerpos, 16% desarrollaron RP y el 13% desarrollaron aloanticuerpos y RP.³¹

La aloinmunización con HLA es la mayor causa de RP, aunque la aloinmunización por HLA puede variar entre individuos, debido a que en la membrana de una sola plaqueta se expresan hasta 20000 moléculas de HLA clase I.¹¹

Los aloanticuerpos producidos pueden favorecer la eliminación de plaquetas de la circulación, comprometiendo la respuesta a la transfusión. En un estudio realizado a 16 paciente oncohematológicos, 7 de los pacientes fueron hombres y 9 fueron mujeres. De las 9 mujeres, 7 de ellas estuvieron embarazadas y 2 de ellas tuvieron RP debido a que mostraron resultados positivos en el panel reactivo de anticuerpos contra HLA clase I (22%); la causa probable de la aloinmunización fue haber tenido dos y tres embarazos previos. De los 7 hombres solo uno presento RP debido a que recibió aproximadamente 184 transfusiones de CP, lo cual favorece la aloinmunización especialmente por la exposición a CP no leucoreducidos.⁷³

Los factores inmunes y no inmunes están asociados con el consumo acelerado de plaquetas. Dentro de la respuesta inicial de las plaquetas la mayoría de las causas no inmunes disminuyen la supervivencia de plaquetas en el CCI de 18 a 24 horas más que en la recuperación en el CCI de 1 hora. La baja supervivencia es debida a las siguientes condiciones esplenomegalia, fiebre, infección, uso de antibióticos, terapia con anfotericina B, coagulación intravascular diseminada, trasplante de progenitores hematopoyéticos, enfermedad veno-oclusiva hepática, enfermedad injerto contra huésped y sangrado.⁶⁶

Las causas inmunes del consumo de plaquetas incluyen anticuerpos HLA de clase I o HPA, mayor y menor incompatibilidad ABO y anticuerpos inducidos por medicamentos. Los pacientes con consumo mediado inmunológicamente presentan disminución de la recuperación post-transfusión de plaquetas en 1 hora y la supervivencia en 18 a 24 horas en el CCI.³¹

HPA-1, HPA-2, HPA-3, HPA-4, HPA-5, HPA-6 y HPA-15 son los antígenos que inducen TNAI, PPT y RP. HPA-3 y HPA-15 son los antígenos principales causantes de estas patologías, seguidos de HPA-2, HPA-6, HPA-1, HPA-5 y HPA-4.^{51,54,64} Los aloanticuerpos contra anti-HPA-1 son los más comunes en la RP en caucásicos, mientras que los anti-HPA-2b son los más prevalentes en Japón para la RP.⁶⁴

En un estudio realizado en Pakistán la probabilidad de incompatibilidad de HPA-1, HPA-2 y HPA-5 entre individuos paquistaníes es de 18, 14 y 16%, respectivamente, mientras que 34 y 37% son en el caso de HPA-3 y HPA-15.⁵¹ En otro estudio realizado en Taiwán el elevado riesgo de incompatibilidad de HPA-3 y HPA-15 fue de 37.16% y 37.76%, respectivamente, mientras que las posibilidades de incompatibilidad a HPA-1, HPA-2, HPA-4, HPA-5 y HPA-6 fueron mucho más bajas de 7%.⁶⁴

La incompatibilidad de HPA después de recibir transfusiones aleatorias de plaquetas y de glóbulos rojos es causada principalmente por los antígenos HPA-3 y HPA-15 y varió de 0 hasta

0.37. ^{52,64} Estudios recientes han demostrado la aloinmunización en el 8% de los pacientes oncohematológicos que recibieron transfusiones de CP. Dentro de los anticuerpos asociados a la RP, el anticuerpo más común fue el anti-HPA-5b (50%), seguido por anti-HPA-1b y anti-HPA-5a.⁶⁴

3.5 Patologías asociadas a la Refractariedad Plaquetaria

Los antígenos de plaquetas humanas específicos son estructuras polimórficas ubicadas en las glicoproteínas de la membrana puede reconocer aloantígenos como autoantígenos.

La aloinmunización causada por incompatibilidad HPA puede causar diferentes condiciones clínicas, como trombocitopenia fetal y neonatal aloimmune TFNAI o trombocitopenia fetomaternal aloimmune TFMAI o trombocitopenia neonatal aloimmune TNAI en un 100%, purpura post-transfusional PPT en el 89.7%, trombocitopenia aloimmune pasiva TAP en el 10%, trombocitopenia asociada a trasplante TAT, trombocitopenia inmune inducida por medicamentos DITP y purpura trombocitopenia idiopática en el 6.9%. En la tabla 23 se encuentran los porcentajes correspondientes a las patologías asociadas a la RP.

Tabla 23. Las patologías principalmente asociadas a la RP son TNAI y PPT.

Patologías asociadas a la RP	Frecuencia de reporte		Autores que la reportan
	N	%	
Trombocitopenia fetal y neonatal aloimmune	29/29	100%	12, 52, 53, 55, 57, 58, 61, 62, 64, 66, 67, 68, 93, 94, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 108, 109, 110, 111, 112, 113
Purpura post-transfusional	25/29	86.2%	12, 55, 56, 57, 58, 60, 61, 63, 64, 66, 68, 69, 70, 93, 94, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 112
Trombocitopenia aloimmune pasiva	3/29	10.34%	57, 64, 68
Trombocitopenia asociada a trasplante	2/29	6.9%	64, 70
Trombocitopenia inmune inducida por medicamentos	2/29	6.9%	57, 107
Púrpura trombocitopenica idiopática	2/29	6.9%	57, 107

La trombocitopenia neonatal aloimmune TNAI es un trastorno de sangrado grave del feto causada por la reacción de aloanticuerpos maternos contra antígenos sanguíneos fetales, que surge debido a la incompatibilidad de grupo sanguíneo entre la madre y el feto.

En Egipto la frecuencia de inmunización en mujeres embarazadas es de 1:1129, que es comparada con la frecuencia en caucásicos. La presencia de HLA DBR3*0101 predispone a mujeres embarazadas con HPA-1bb a desarrollar anticuerpos anti HPA-1b.⁶³ La frecuencia del alelo HLA DBR3*0101 en un estudio realizado en Egipto a mujeres embarazadas, fue de 33.8%, mientras que en la población caucásica fue del 27%.¹⁰⁹

Las frecuencias de los HPA en los casos de TNAI cambian entre las diferentes poblaciones.

Según el estudio realizado por Davores y col, determinaron aloanticuerpos HPA en 1162 casos de TNAI; encontraron que en Estado Unidos el anticuerpo HPA-1a es frecuentemente responsable del 86% de los casos de TNAI, mientras que el anticuerpo más frecuente en Japón es anti-HPA-4b.¹⁰⁹

En China HPA-1 y HPA-15 fueron considerados los más relevantes en TNAI.⁵²

En Europa y Estados Unidos se presentaron algunos casos severos de TNAI debido a anti-HPA-9b (Max). En Japón no se han reportado casos de TNAI asociadas con anti-HPA-1a o anti-HPA-1b. La incompatibilidad de HPA-4b en TNAI representa el 72% de los casos relacionados con TNAI en Japón, y también se han reportado casos de TNAI debido a HPA-2b, HPA-3a, HPA-5b, HPA-6b.^{61,66}

HPA-21bw también parece ser único entre los asiáticos y se ha observado en un 1.1% en japoneses y chinos comparados con <0.3% en los caucásicos. Tres casos de FNAIT secundarios a anti-HPA-21bw han sido reportados, dos de ellos han sido japoneses.^{55,98}

La probabilidad de incompatibilidad feto-maternal en madres con HPA-1aa fue de 90 de cada 1.000 embarazos en todos los individuos (paquistaníes). Las posibilidades de falta de coincidencia feto-maternal en madres con HPA-2aa oscilan entre 19 y 103 de 1.000 embarazos en las diferentes castas y grupos étnicos. Por lo que respecta a las madres con HPA-5aa, el riesgo de falta de coincidencia feto-maternal se encontró que oscilan desde 56 hasta 122 de 1.000 embarazos. En madres con HPA-3aa y HPA-3bb, el riesgo de falta de coincidencia con los antígenos fetales durante el embarazo resultó ser 129 a 155 de 1000 y 35 a 99 de 1000, respectivamente. La probabilidad de la falta de coincidencia entre la madre y el feto en el caso de las mujeres con HPA-15aa osciló de 76 a 183 de 1.000 embarazos, mientras que el riesgo en las madres con HPA-15bb se estableció entre 79 a 147 de 1.000 embarazos.⁵¹

En madres con HPA-3aa y HPA-3bb el riesgo de incompatibilidad con los antígenos fetales durante el embarazo se encontró que era de 138/1000 y 109/1000, respectivamente; y para madres embarazadas con HPA-15a/a fue de 133/1000 y 115/1000 para HPA-15b/b.⁵⁵

No solo los anticuerpos HPA se encuentran involucrados en la TNAI, también se ha encontrado anticuerpos ABO.^{83,108}

La púrpura post-transfusión PPT es un raro evento inducido por aloanticuerpos dirigidos contra HPA caracterizado por un episodio de severa trombocitopenia que ocurre aproximadamente de 5 a 14 días después de la transfusión de componentes sanguíneos. La incidencia de la PPT es de 1:24000 cuando se transfunden componentes sanguíneos.⁸³

En poblaciones blancas los anticuerpos más comúnmente asociados con la PPT son HPA-1a. También los anticuerpos HPA-3a, HPA-5a y HPA-5b están relacionados con PPT.⁹⁸

3.6 Alternativas transfusionales

La transfusión de concentrados plaquetarios es evaluado por medio del porcentaje de recuperación de las plaquetas transfundidas (PPR) y del cálculo del incremento del recuento (CCI), la medición del conteo de plaquetas se hace 1 hora y 18 a 24 horas después de la transfusión. En el PPR y CCI la adecuada respuesta a la transfusión de plaquetas debe ser mayor de 20% en 10 a 60 minutos, mayor de 10% en 18 a 24 horas y mayor de 7.5 en 10 a 60 minutos, mayor a 4.5 en 18 a 24 horas, respectivamente.⁸²

Las diferencias que pueden explicar las variación en los productos transfundidos y los factores del paciente como el diagnóstico, la condición física, los medicamentos, el conteo pre-transfusional y la incompatibilidad ABO de los CP transfundidos. Los pacientes que reciben quimioterapia pueden tener el conteo de plaquetas bajo 10000/ μ l. Tiekstra y *col* monitorearon una cohorte de pacientes con enfermedades hemato-oncológicas para estudiar los efectos coexistentes entre el uso de medicamentos y la condición clínica de los pacientes en el CCI de 1 y/o 24 horas después de la transfusión. Los factores que afectan el CCI de 1 hora fueron el uso de medicamentos inmunosupresores ($p=0.200$), el uso de antiretrovirales ($p=0.063$) y la fiebre ($p=0.024$), mientras que los factores que afectan el CCI de 24 horas fueron el uso de antibióticos ($p=0.024$), trasplantes previos ($p=0.034$) y transfusiones previas ($p=0.011$)¹²⁰

Tinmouth y *col*, recomienda que si los pacientes muestran una respuesta pobre después de dos transfusiones de plaquetas ABO compatible, se deben buscar anticuerpos HLA y HPA en plasma.¹¹⁹

En el diagnóstico de la RP se utilizan diferentes técnicas para la detección de aloanticuerpos HLA y HPA que se encuentran descritos en la Tabla 28.^{89,120,121}

Tabla 28. Técnicas utilizadas para la detección de anticuerpos en caso de RP.

Técnica	Anticuerpos
Prueba de linfocitotoxicidad LCT	HLA
Prueba de inmunofluorescencia plaquetaria PIFT	HLA y HPA
Prueba de inmunofluorescencia linfocítica	HLA
Ensayo por Inmunoabsorción ligado a enzimas ELISA	HLA
inmovilización de antígenos específicos con anticuerpos monoclonales MAIPA	HPA o HPA-HLA
Prueba de aglutinación de glóbulos rojos en fase sólida	HLA y HPA
Citometría de flujo múltiple	HLA

La aloinmunización y la RP puede ser prevenida mediante el uso de plaquetas de un solo donante, HLA compatible y leucoreducción o irradiación de los componentes sanguíneos.⁷⁹

Gurkan y col, estudiaron la eficacia de la transfusión profiláctica de plaquetas en 33 pacientes con leucemia mieloide aguda LMA y síndrome mielodiplásico SMD y que recibieron trasplantes alogénico de células madres, 33 de los pacientes recibieron 41 transfusiones de sangre de un solo donante SDAP y 105 de diferentes donantes RDP durante 100 días después del trasplante. Todos los pacientes que recibieron transfusiones de RDP fueron ABO compatibles, mientras que 4 (9.8%) pacientes con transfusiones SDAP recibieron ABO incompatible. La RP se presentó en 7 de las 41 transfusiones SDAP (17.1%) y en 32 de la 105 transfusiones (30.5%). En otros estudio realizados por Slicther *et al* reportaron la superioridad de SDAP sobre RDP en pacientes que reciben quimioterapia.⁸⁰

La aloinmunización por HLA de clase I es la mayor causa de la RP cuando RDP son transfundidas. La aloinmunización se puede desarrollar a los pocos días o en varios meses después de la transfusión inicial. Los pacientes quienes han sido inmunizados ya sea por transfusión, embarazo o trasplante de órganos pueden desarrollar anticuerpos a los 4 días después de la transfusión.⁸⁹

En China la frecuencia de RP inducida por HLA clase I y aloanticuerpos HPA se han estimado cerca del 31 a 63% y 23.5%, respectivamente.¹²²

En 1997 se introdujo una prueba de reducción de la aloinmunización TRAP, que determina la efectividad de la leucoreducción por filtros y la irradiación UV-B en plaquetas de un solo donante obtenidas por aféresis y plaquetas obtenidas de donantes al azar para prevenir RP.^{83,99}

La prueba fue igualmente efectiva usando la irradiación UV-B y la leucoreducción sin importar el uso de plaquetas de un solo donante o de varios donantes, pues no afectó la frecuencia de aloinmunización.⁶⁸

Comparando los métodos de obtención de las plaquetas el uso CP de varios donantes como el plasma rico en plaquetas PRP está mucho más asociado a las reacciones adversas post-transfusión que el uso de Buffy Coats BC. El uso de CP obtenidos por aféresis en comparación con el BC no presentó ninguna diferencia significativa.¹²³

En el estudio realizado por Heddle *y col*, donde compararon el CCI en 1 hora y/o 18 - 24 horas entre plaquetas derivadas de sangre total (PRP o BC) y plaquetas obtenidas por aféresis, como resultado obtuvieron que los CP obtenidos por aféresis se asocian con un CCI significativamente elevado en 1 hora (2.49; 95% IC, 2.21 -2.77) y un CCI en 18 a 24 horas de (1.64; 95% IC, 0.60-2.67).¹²⁴

La leucoreducción por filtración disminuyó la frecuencia de aloinmunización de 45% a 18%, y la refractariedad del 16% al 7%.³⁵

Según Bassuni *y col*, el uso de la leucoreducción en 617 pacientes canadienses con leucemia aguda que reciben quimioterapia, disminuye la frecuencia de aloinmunización del 19% al 7% ($p < 0.001$).¹²⁵

El conteo de leucocitos residuales en los componentes leucoreducidos según la asociación Americana de Bancos de Sangre AABBs en unidades de un solo donante y de donantes aleatorios son menos de 0.83×10^6 leucocitos y 5.0×10^6 leucocitos respectivamente. Mientras que el Europa son menos de 0.2×10^6 y 1.0×10^6 en unidades de un solo donante y de donantes aleatorios.^{126,127}

En un estudio se comparó la reducción de leucocitos en plaquetas derivadas de la sangre total por medio de dos filtros BioP-plus y PXL8, evaluaron la leucoreducción, la recuperación de plaquetas y el tiempo de filtración en cada uno de los filtros. La reducción de leucocitos utilizando BioP-plus fue de 99.1% y 99.7% para PXL-8; la recuperación de plaquetas fue de 84.2% para BioP-plus y 86.7% para PXL-8. El tiempo de filtración en el filtro BioP-plus fue más

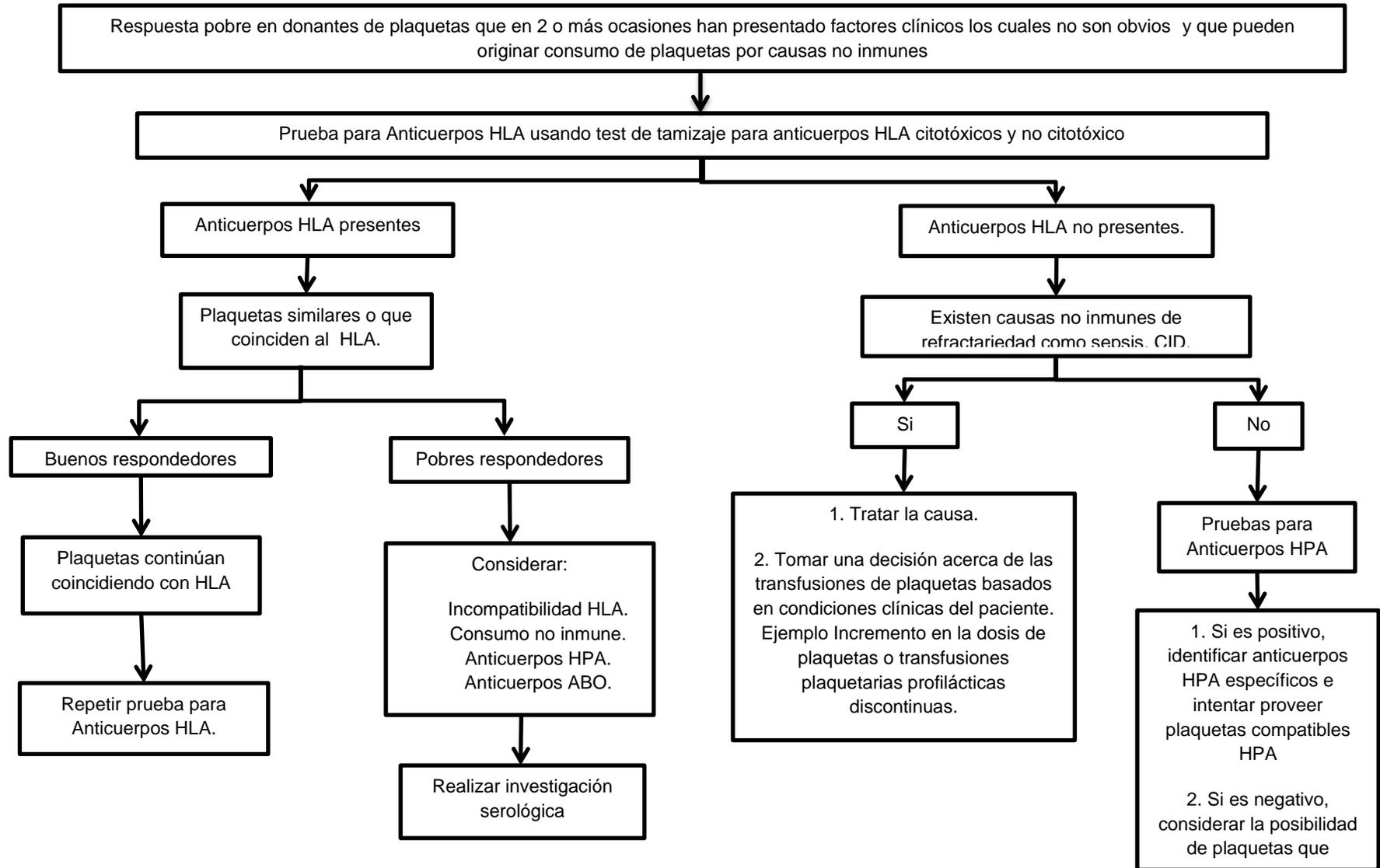
corto que el de PXL-8. Además ellos evaluaron la agregación plaquetaria post-filtración y como resultado encontraron que disminuyó significativamente de 59.34 a 46.56% para BioP-plus y 58.50 a 51.92% para PXL-8.¹²⁸

En un estudio realizado para determinar los efectos de la leucoreducción y el tratamiento de componentes tratados con rayos ultravioleta en 530 pacientes. Como resultado obtuvieron que el 55% de los pacientes transfundidos con componentes no leucoreducidos y 28% de los componentes leucoreducidos desarrollaron anticuerpos nuevos HLA clase I, y 51% y 15% desarrollaron anticuerpos nuevos HLA Clase II, respectivamente. La frecuencias de los anticuerpos nuevos HLA clase I, pero no los anticuerpos HLA clase II fueron significativamente reducidos con el tratamiento con UV ($p < 0.05$); 36 y 55% de los componentes tratados como UV desarrollaron anticuerpos nuevos HLA clase I y II, respectivamente.¹²⁹

Según Shenata *y col*, con el uso de plaquetas ABO idéntico el incremento del conteo de plaqueta fue consistentemente alto. La diferencia entre el uso de plaquetas ABO idéntico y no idéntico fue de $4 \times 10^9/L$ con respecto al incremento del conteo de plaquetas. Basados en la revisión en encontraron que el uso de plaquetas ABO idéntico parece reducir la frecuencia de la RP, comparado con el uso de plaquetas ABO no idénticas.¹³⁰

En la figura 4 se encuentra el algoritmo planteado por Murphy donde se plantea la investigación y el manejo de pacientes que presentan RP.⁸⁸

Figura 4. Algoritmo de investigación y manejo de pacientes refractarios a la transfusión de plaquetas



4. CONCLUSIONES

La frecuencia de los HPA varía según la población de estudio. Se muestra variación entre países y al interior de los países algunos autores mostraron diferencias por etnias y razas. Los rangos de refractariedad reportados van del 2 al 30%. Se puede concluir que existe un riesgo de aloinmunización al recibir plaquetas de individuos de diferente procedencia.

Los antígenos HPA-1 a HPA-6 y HPA-15 son los principales antígenos causantes de la RP y las patologías reportadas como asociadas con mayor frecuencia son la TNAI y la PPT. Las patologías como la trombocitopenia aloinmunes pasiva, trombocitopenia asociada a transplante, trombocitopenia inmune inducida por medicamentos y la trombocitopenia purpura idiopática se presenta en menor frecuencia.

Las principales causas de la refractariedad a la transfusión de plaquetas son la presencia de anticuerpos HLA y HPA en un 59.1%, y de factores clínicos como la esplenomegalia en un 86%, fiebre y coagulación intravascular diseminada en un 68.2% los causantes de la RP.

El uso de concentrados plaquetarios obtenidos por aféresis permite el aumento del CCI en la 1 hora después de la transfusión como a las 18-24 horas, respecto al uso de concentrados derivados de sangre total.

La leucoreducción es uno de los métodos por los cuales se puede prevenir la aloinmunización, ya que elimina el 99.9% de los leucocitos. La leucoreducción en aféresis es mucho menor que la que se realiza en unidades de varios donantes.

5. RECOMENDACIONES

La leucoreducción es uno de los principales métodos utilizados actualmente para evitar la aloinmunización por antígenos HLA y HPA, y reducir la frecuencia de la refractariedad a la transfusión de plaquetas.

Se recomienda identificar el perfil antigénico HLA y HPA en pacientes que por su patología van a recibir plaquetas en forma periódica para evitar la aloinmunización y por tanto la refractariedad a la transfusión de plaquetas.

No se han realizado estudios previos sobre la prevalencia de los antígenos HPA en Colombia. Por lo tanto, un estudio de las frecuencias génicas o alélicas son necesarios para conocer qué

perfil antigénico puede presentar un individuo al que se le realizara una transfusión. Con el estudio de las frecuencias génicas se puede establecer un registro de donantes.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Mayani, H., Flores, E., Pelayo, R., Montesinos, J., Flores, P., Chávez, A. Hematopoyesis. *Cancerología* (2007); 2: 95-107
2. González, A., Falcón, C., Fortoul, T. Vías de señalización implicadas en la megacariopoyesis. *Gaceta Médica de México*. 2010; 146(2): 136-43
3. León, B. biopsia de medula osea. *Acta de Pediatría Mexicana*. 2010;31(4):178-187
4. Machlus, K., Italiano, J. The incredible journey: From megakaryocyte development to platelet formation. *The Journal of cell biology*. 2013; 201(6):785-796
5. Campuzano, G., Utilidad clínica del extendido de sangre periférica: las plaquetas. *Medicina & Laboratorio* 2008; 14: 511-531.
6. Moux, P. trombocitopenias. S. A. Elsevier. España. 2001:450
7. García, C., Coma, C. Características estructurales y funcionales de las plaquetas. *Revista Cubana Angiología y Cirugía Vascul*. 2000; 1(2):132-41.
8. Monteiro, M., Martínez, M. La Citometría de Flujo en el Análisis de las Plaquetas:(I) Aspectos Estructurales y Funcionales de las Plaquetas. *Revista de Diagnóstico Biológico*, 2001; 50(3): 111-136.
9. López, A., Macaya, C. Plaqueta: fisiología de la activación y la inhibición. *Revista española de cardiología suplementos* 2013; 13:2-7.
10. Blair, R., Flaumenhaft R. Platelet α -granules: Basic biology and clinical correlates. *Blood reviews*. 2010; 23(4): 277-289
11. Schwartz, A., Martínez, G., Re, Lamberto. Factores de crecimiento derivados de plaquetas y sus aplicaciones en medicina regenerativa. Potencialidades del uso del ozono como activador. *Revista Española de Ozonoterapia*. 2012; 1(1):54-73
12. Curtis, B., McFarland, J. Human platelet antigens 2013. *Vox sanguinis*, 2014; 106(2): 93-102
13. Elkins, M., Davenport, R., O'Malley, B., Bluth, M. Molecular Pathology in Transfusion Medicine. *Clinical in laboratory medicine*. 2013; 33: 805–816
14. Gurevitz, A. Update and utilization of component therapy in blood transfusions. *Laboratory of Medicine*, 2010; 41(12):739-744.
15. Bencomo, A. Los derivados plaquetarios en medicina regenerativa. *Revista Cubana de Hematología*. 2012; 28(4):308-309

16. Martínez, S., Brito, A., Piedra, M., Trujillo, Y., Bonet, L., Peña, N., Viguera, R. El sistema de antígenos leucocitarios humanos de clase II y la infección causada por el virus de la hepatitis C. 2006; 31(1): 23-33
17. Arrieta, E., Salazar, L. Tipificación molecular de los antígenos leucocitarios humanos, Estado del arte y perspectivas para los trasplantes de células madre en Costa Rica. 2010; 52(1): 8-15
18. Brown, J., Navarrete, V. Clinical relevance of the HLA system in blood transfusion. Vox sanguinis. 2011; 101(2):93-105.
19. Guzmán, A., Maldonado, L., Mendoza, R. Hicks, J. La función plaquetaria más allá de la hemostasis: participación en las enfermedades respiratorias. Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias. 2005; 18(3):240-246.
20. Monagle, P., Massicotte, P. Developmental haemostasis: Secondary haemostasis. Seminars in Fetal and Neonatal Medicine. 2011; 16(6): 294-300
21. Batty, P., Smith, J. Haemostasis. Surgery (Oxford). 2010; 28(11): 530-535.
22. Páramo, J., Panizo, E., Pegenaute, C., Lecumberri, R. Coagulación 2009: una visión moderna de la hemostasia. Revista Médica Universidad de Navarra. 2009; 53(1): 19-23.
23. Mann, K., Brummel, K., Orfeo, T., Butenas, S. Models of blood coagulation. Blood Cells, Molecules, and Diseases, 2006; 36(2): 108-117
24. Gálvez, K., Cortéz, C. Coagulación y sangrado masivo: nuevos conceptos fisiopatológicos. Medicina Universidad Pontificia Bolivariana. 2011; 30(2): 163-169
25. Anand, M., Rajagopal, K., Rajagopal, R. A model for the formation and lysis of blood clots. Pathophysiology of haemostasis and thrombosis. 2006; 34(2-3): 109-120
26. Galvez, K., & Cortes, C. Tromboelastografía: nuevos conceptos en la fisiología de la hemostasia y su correlación con la coagulopatía asociada al trauma. Revista Colombiana de Anestesiología. 2012; 40(3): 224-230
27. Zarbock, A., Polanowska, K., Ley, K. Platelet-neutrophil-interactions: linking hemostasis and inflammation. Blood reviews. 2007; 21(2): 99-111.
28. Luna, J. Anticuerpos Irregulares, su importancia en medicina transfusional. Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social. 2005; 43(1), 17-20.
29. Lira, M., Tamez, C., Chávez, P., Olachea, D. Prevalencia de donantes de plaquetas con títulos altos de anti-A y anti-B. Revista latinoamericana de patología clínica y medicina de laboratorio. 2013; 60(4): 230-34
30. American Association of Blood Banks. Manual técnico. Edición 2007:306

31. Thiagarajan, P. Afshar, V. Platelet transfusion therapy. *Hematology/oncology clinics of North America*. 2013; 27(3): 629-643
32. Pereira, J. La fisiopatología de la hemostasia: algunos aspectos sobre la vida y muerte de las plaquetas en la circulación. *Boletín escuela de medicina UC, Pontificia Universidad Católica de Chile*. 2008; 33: 5-19
33. Gyulkhandanyan, A., Mutlu, A., Freedman, J., Leytin, V. Markers of platelet apoptosis: methodology and applications. *Journal of thrombosis and thrombolysis*. 2012; 33(4): 397-411.
34. Leytin, V. Apoptosis in the anucleate platelet. *Blood reviews*. 2012; 26(2): 51-63.
35. Stroncek, D., Rebullá, P. Platelet transfusions. *The lancet*. 2007;370:427-38
36. American Association of Blood Banks. *Advancing Transfusion and Cellular Therapies Worldwide. Blood Collection, Component Preparation, and Storage*. Edición 25. 2008: 941-61
37. Ali, S. F. Platelet activation of platelet concentrates derived from buffy coat and apheresis methods. *Transfusion and Apheresis Science*. 2011; 44(1): 11-13
38. Suresh, B., Arun, R., Yashovardhan, A., Deepthi, K., Sreedhar, K., Jothibai, D. Changes in pre- and post-donation haematological parameters in plateletpheresis donors. *The Journal of Clinical and Scientific Research* 2014;3:85-9
39. Peñuela, O., López, J. Rey, G., Beltrán, M. *Guía rápida para tomar decisiones en Medicina Transfusional*. Instituto Nacional de Colombia. Bogotá D.C. 2010: 12-7
40. Liunbruno, G., Bennardello, F., Lattanzio, A., Piccoli, P., & Rossetti, G. Recommendations for the transfusion of plasma and platelets. *Blood Transfusion*. 2009; 7(2): 13-45.
41. Slichter, S. Platelet transfusion therapy. *Hematology/oncology clinics of North America*. 2007; 21(4): 697-729.
42. Apelseth, T., Hervig, T., Bruserud, Ø. Current practice and future directions for optimization of platelet transfusions in patients with severe therapy-induced cytopenia. *Blood reviews*. 2011; 25(3): 113-122.

43. Thon, J., Schubert, P., Devine, D. Platelet storage lesion: a new understanding from a proteomic perspective. *Transfusion medicine reviews*. 2008; 22(4): 268-279
44. Tynngård, N. Preparation, storage and quality control of platelet concentrates. *Transfusion and apheresis science*. 2009; 41(2): 97-104
45. Ohto, H., Nollet, K. E. Overview on platelet preservation: better controls over storage lesion. *Transfusion and Apheresis Science*. 2011; 44(3): 321-325
46. Devine, D., Serrano, K. The platelet storage lesion. *Clinics in laboratory medicine*. 2010;30(2): 475-487
47. Shrivastava, M. The platelet storage lesión. *Transfusion and Apheresis Science*. 2009;41(2): 105-113
48. Cauwenberghs, S., van Pampus, E., Curvers, J., Akkerman, J., Heemskerk, J. Hemostatic and Signaling Functions of Transfused Platelets. *Transfusion Medicine Reviews*. 2007; 21(4): 287-294
49. Feng, M., Liu, D., Shen, W., Wang, J., Guo, Z., Zhang, X., Zhao, T. Establishment of an HPA-1-to-16-typed platelet donor registry in China. *Transfusion Medicine*. 2006; 16(5):369-374.
50. Nie, M., Zhou, J., Fu, S., Wang, X., Ma, P. The allele frequencies of HPA 1-16 determined by PCR-SSP in Chinese Cantonese donors. *Transfusion Medicine*. 2010; 20(6):376-382
51. Bhatti, A., Uddin, M., Ahmed, A., Bugert, P. Human platelet antigen polymorphisms (HPA-1,-2,-3,-4,-5 and-15) in major ethnic groups of Pakistan. *Transfusion Medicine*. 2010; 20(2):78-87
52. Shaiegan, M., Samiei, H., Ataee, Z., Madani, T., Ahmadi, J., Azarkeivan, A., Kasraian, L. Frequency of Human Platelet Antigens (HPA-2, 3, 5) polymorphism in Iranians evaluated by RFLP-PCR. *Iranian Journal of Blood and Cancer*, 2011;3:101-5
53. Tan, J., Lian, L., Nadarajan, V. Genetic polymorphisms of human platelet antigens-1 to-6, and-15 in the Malaysian population. *Blood Transfusion*. 2012; 10(3): 368-76
54. Dharma, R., Ritchie, K., Rahayu, S., Putricahya, E., Santoso, S. Human platelet-specific antigen frequencies in Indonesian population. *Transfusion Medicine*, 2013; 23(4):250-253.

55. Pai, C., Burnouf, T., Chen, W., Lin, I. Human Platelet Antigen Alleles in 998 Taiwanese Blood Donors Determined by Sequence-Specific Primer Polymerase Chain Reaction. *BioMed research international*. 2013: 1-5
56. Pavkovic, M., Petlichkovski, A., Strezova, A., Arsov, T., Trajkov, D., Spiroski, M. Gene frequencies of human platelet antigens in the Macedonian population. *Tissue antigens*. 2006; 67(3):241-246.
57. Pavic, M., Zadro, R., Coen, D., Radic, M., Dodig, S. Gene frequencies of platelet-specific antigens in Croatian population. *Transfusion Medicine*, 2010; 20(2):73-77.
58. Maślanka, K., Michur, H., Guz, K., Wrobel, A., Uhrynowska, M., Misiak, A., Żupańska, B. The relevance of HPA-15 antigen expression for anti-HPA-15 antibody detection. *International journal of laboratory hematology*. 2012; 34(1):65-69.
59. Hauck-Dlimi, B., Hammon, K., Eckstein, R., Ott, S., Zimmermann, R., Dengler, T., Ringwald, J. Human platelet antigen genotypes in Turkish and Caucasian blood donors in Germany. *Tissue antigens*. 2012; 80(3):214-218.
60. Sabbagh, S., Taher, T., Zaatari, G. S., Mahfouz, R. Gene frequencies of the HPA-1 platelet antigen alleles in the Lebanese population. *Transfusion Medicine*. 2007; 17(6):473-478.
61. Brouk, H., Halle, L., Bertrand, G., Neche, Z., Ouelaa, H. Kaplan, C. Human platelet antigen allele frequencies in different Algerian populations. *Tissue antigens*. 2010; 75(6):673-678.
62. Salem, A., Hamed, A., Abdalla, M., Almawi, W. Gene frequencies of human platelet alloantigens 1–5 in two Arab populations. *Blood Transfusion*. 2014; 12(1): s281-5
63. De La Vega, E., Nogues, N., Fernandez, A., Chialina, S., Blanzaco, D., Theiller, E., Muñoz-Díaz, E. Human platelet-specific antigens frequencies in the Argentinean population. *Transfusion Medicine*. 2008; 18(2):83-90.
64. Bianchi, S., Azevedo, D., Jens, E., Nukui, Y., Chamone, F. Frequency of human platelet antigens in oncohematological patients with thrombocytopenia and the probability of incompatibility to platelet transfusions. *Revista brasileira de hematologia e hemoterapia*. 2012; 34(3):202-205.

65. Conti, F., Bertrand, G., Dezan, M., Costa, T., Aravechia, M., Mota, M., Kutner, J. Molecular HPA genotyping by microarray in Brazilian blood donors. *Transfusion*. 2014; 54(2):405-411.
66. Vassallo, R. New paradigms in the management of alloimmune refractoriness to platelet transfusions. *Current opinion in hematology*. 2007; 14(6):655-663.
67. Slichter, S. Evidence-based platelet transfusion guidelines. *American Society of Haematology*. 2007;(1), 172-178
68. Hod, E., Schwartz, J. Platelet transfusion refractoriness. *British journal of haematology*. 2008; 142(3): 348-360.
69. Marwaha, N., Sharma, R. Consensus and controversies in platelet transfusion. *Transfusion and Apheresis Science*. 2009; 41(2):127-133.
70. Spiess, D. Platelet transfusions: the science behind safety, risks and appropriate applications. *Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology*, 2010; 24(1):65-83.
71. Eisenberg, S. Refractory response to platelet transfusion therapy. *Journal of Infusion Nursing*. 2010; 33(2):89-97.
72. Pai, C., Lo, C., Lin Tsai, J., Chang, S., Lin, T., Lin, S., Lin, I. Epitope-based matching for HLA-alloimmunized platelet refractoriness in patients with hematologic diseases. *Transfusion*. 2010; 50(11):2318-2327.
73. Ferreira, A., Zulli, R., Soares, S., Castro, D., Moraes-Souza, H. Identification of platelet refractoriness in oncohematologic patients. *Clinics*. 2011; 66(1): 35-40.
74. Pandey, P., Tiwari, K., Sharma, J., Singh, B., Dixit, S., Raina, V. A prospective quality evaluation of single donor platelets (SDP)—An experience of a tertiary healthcare center in India. *Transfusion and Apheresis Science*, 2012; 46(2):163-167.
75. Shastry, S., Chaudhary, R. Clinical factors influencing corrected count increment. *Transfusion and Apheresis Science*. 2012; 47(3): 327-330.
76. Federici, B., Vanelli, C., Arrigoni, L. Transfusion issues in cancer patients. *Thrombosis research*. 2012; 129: S60-S65.
77. L., McBride, E., Ford, C., Gupta, S. Transfusion medicine problems and solutions for the pediatric hematologist/oncologist. *Pediatric blood & cancer*. 2012; 58(7):1106-1111.
78. Quaglietta, A., Nicolucci, A., Accorsi, P., Pompa, A., Pierelli, L., Lacone, A. Survey of current practice for monitoring and management of platelet refractoriness in Italy. *Transfusion and Apheresis Science*. 2012; 47(3): 271-276.

79. Pavenski, K., Freedman, J., Semple, W. HLA alloimmunization against platelet transfusions: pathophysiology, significance, prevention and management. *Tissue antigens* 2012; 79(4): 237-245.
80. Gurkan E, Patah A, Saliba R, Ramos A, Anderson S, Champlin R. Efficacy of prophylactic transfusions using single donor apheresis platelets versus pooled platelet concentrates in AML/MDS patients receiving allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2007;40: 461–464
81. Wiita, P., Nambiar, A. Longitudinal management with crossmatch-compatible platelets for refractory patients: alloimmunization, response to transfusion, and clinical outcomes (CME). *Transfusion.* 2012; 52(10):2146-2154.
82. Holbro, A., Infantia, L., Sigleb, J., & Busera, A. Platelet transfusion: basic aspects. *Swiss Medical Weekly*, 2013; 143: w13885.
83. Tsuno, H., Matsushashi, M., Iino, J., Nagura, Y., Okazaki, H., Santoso, S. The importance of platelet antigens and antibodies in immune-mediated thrombocytopenia. *International Society of Blood Transfusion.* 2013; 9(1):104-111.
84. Veldhuisen, B., Porcelijn, L., Ellen van der Schoot, C., Haas, D. Molecular typing of human platelet and neutrophil antigens (HPA and HNA). *Transfusion and Apheresis Science.* 2014; 50(2): 189-199.
85. Vassallo, R., Fung, M., Rebull, P., Duquesnoy, R., Saw, C. L., Slichter, J, Shehata, N. Utility of cross-matched platelet transfusions in patients with hypoproliferative thrombocytopenia: a systematic review. *Transfusion.* 2104; 54(4): 1180-1191.
86. Weibert, E., Alam, Q., Chargé, B., Sheffield, P. Platelet Utilization: A Canadian Blood Services Research and Development Symposium. *Transfusion medicine reviews.* 2014;28(2): 84-97
87. Fasano, M., Mamcarz, E., Adams, S., Donohue Jerussi, T., Sugimoto, K., Tian, X., Childs, W. Persistence of recipient human leucocyte antigen (HLA) antibodies and production of donor HLA antibodies following reduced intensity allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *British journal of haematology.* 2014; 166, 425–434
88. Murphy, M. Managing the platelet refractory patient. *International Society of Blood Transfusion Science Series* 2014; 9:234–238
89. Chockalingam, P., Sacher, A. Management of patients refractory to platelet transfusion. *Journal of Infusion Nursing*, 2007; 30(4): 220-225.

90. Kaiser-Guignard, J., Canellini, G., Lion, N., Abonnenc, M., Osselaer, C., Tissot, D. The clinical and biological impact of new pathogen inactivation technologies on platelet concentrates. *Blood reviews*. 2014; 28(6): 235-241
91. Prudent, M., D'Alessandro, A., Cazenave, P., Devine, V., Gachet, C., Greinacher, A., Zolla, L. Proteome Changes in Platelets After Pathogen Inactivation—An Interlaboratory Consensus. *Transfusion medicine reviews*. 2014; 28(2): 72-83.
92. Lin, J. S., Lyou, J. Y., Chen, Y. J., Chen, P. S., Liu, H. M., Ho, C. H., Tzeng, C. H. Unappreciated HLA antibodies in adult immune thrombocytopenic purpura. *Journal of the Formosan Medical Association*. 2007;106(2): 105-109
93. Quiel, A., Jürgen, B., Greinacher, A., Lassen, S., Wörl, R., Witt, S., & Schweder, T. Sensitive detection of idiotypic platelet-reactive alloantibodies by an electrical protein chip. *Biosensors and Bioelectronics*. 2102; 36(1); 207-211.
94. Saw, C., Szykoluk, H., Curtis, B., Zelcer, S., Eckert, K., Forrest, D., Nickerson, P., Petraszko, T., Goldman, M. Two cases of platelet transfusion refractoriness associated with anti-CD36. *Transfusion*. 2010; 50:2638-2642
95. Bub, C. B., Martinelli, B. M., Avelino, T. M., González, A. C., Barjas-Castro, L., Castro, V. Platelet antibody detection by flow cytometry: an effective method to evaluate and give transfusional support in platelet refractoriness. *Revista brasileira de hematologia e hemoterapia*. 2013;35(4): 252-255
96. McVey, M., Cserti-Gazdewich, M. Platelet transfusion refractoriness responding preferentially to single donor aphaeresis platelets compatible for both ABO and HLA. *Transfusion medicine*. 2010; 20: 346–353
97. Edinur, H., Dunn, P., Lea, R., Chambers, K. Human platelet antigens frequencies in Maori and Polynesian populations. *Transfusion Medicine*. 2013; 23: 330–337
98. Nadarajan, S. Genetic polymorphisms of human platelet antigens in the Asian population: implications in the establishment of platelet donor registries. *International Society of Blood Transfusion Science Series*, 2014; 9(1):118-123.
99. Slichter, J., Bolgiano, D., Kao, J., Kickler, S., McFarland, J., McCullough, J., Woodson, R. Persistence of lymphocytotoxic antibodies in patients in the trial to reduce alloimmunization to platelets: implications for using modified blood products. *Transfusion medicine reviews*. 2011; 25(2): 102-110.
100. Lucas, G., Culliford, S., Green, F., Sidra, G., Calvert, A., Green, A. Harrison, P., Harvey, J., Allen, D., Smillie, D., Masurekar, A., Marks, F., Russell, N., Massey, E.

- Recipient-derived HPA-1a antibodies: a cause of prolonged thrombocytopenia after unrelated donor stem cell transplantation. *Transfusion*. 2010; 50:334-339
101. Chong, W., Metcalfe, P., Mushens, R., Lucas, G., Ouwehand, W., Navarrete, C. Detection of human platelet antigen-1a alloantibodies in cases of fetomaternal alloimmune thrombocytopenia using recombinant b3 integrin fragments coupled to fluorescently labeled beads. *Transfusion* 2011;51:1261-1270
102. Matsushashi, M., Tsuno, N., Sone, S., Mishima, Y., Nagura, Y., Watanabe-Okochi, N., Ikeda, T., Kashiwase, K., Fukuda, S., Iriyama, T., Hyodo, H., Yamashita, T., Kamei, Y., Arai, S., Minami, M., Fujii, T., Kurokawa, M., Tozuka, M., Takahashi, K., Santoso, S. The role of alloantibodies against human platelet antigen-15 in multiply platelet transfused patients. *Transfusion* 2014; 54:1093-1099
103. Stafford P, Garner SF, Huiskes E, Kaplan C, Kekomaki R, Santoso S, Tsuno NH, Watkins NA, Ouwehand WH. Three novel b3 domain-deletion peptides for the sensitive and specific detection of HPA-4 and six low frequency b3-HPA antibodies. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2008; 6:376–83.
104. Campbell, K., Rishi, K., Howkins, G., Gilby, D., Mushens, R., Ghevaert, C., Metcalfe, P., Ouwehand, W., Lucas, G. A modified rapid monoclonal antibody-specific immobilization of platelet antigen assay for the detection of human platelet antigen (HPA) antibodies: a multicentre evaluation. *Vox Sanguinis*. 2007;93:289–297
105. Berry, J., Allen, D., Porcelijn, L., de Haas, M., Kekomaki, R., Kaplan, C., Ouwehand, W., Metcalfe, P. Collaborative studies to establish the first World Health Organization International Standard for detection of human antibody against human platelet antigen-3a. *Vox Sanguinis*. 2007; 93: 309–315
106. Metcalfe, P., Allen, D., Kekomaki, R., Kaplan, C., de Haas, M., Ouwehand, W. An International Reference Reagent (minimum sensitivity) for the detection of anti-human platelet antigen 1a. *Vox Sanguinis*. 2009; 96: 146–152
107. Edinur, H., Dunn, P., Lea, R., Chambers, K. Human platelet antigens frequencies in Maori and Polynesian populations. *Transfusion Medicine*. 2013; 23: 330–337
108. Wu, G. Detection of clinically relevant platelet antibodies in the Asian population. . *International Society of Blood Transfusion Science Series*. 2014; 9(1): 112-117
109. Husebekk, A., El Ekiaby, M., Gorgy, G., Killie, M., Uhlin-Hansen, C., Salma, W., Navarrete, C., El Afandi, M., Skogen, B., Ahlen, M. Foetal/neonatal alloimmune thrombocytopenia in Egypt; human platelet antigen genotype frequencies and antibody

- detection and follow-up in pregnancies. *Transfusion and Apheresis Science*. 2012;47: 277–282
110. Hadhri, S., Gandouz, R., Chatti, N., Bierling, P., Skouri, H Gene frequencies of the HPA-1 to -6 and -15 human platelet antigens in Tunisian blood donors. *Tissue Antigens*. 2010;76: 236–239
 111. Kaplan, C The role of the low-frequency antigens in neonatal alloimmune thrombocytopenia. *ISBT Science Series*. 2007;2:106–110
 112. Hayashi, T., Amakishi, E., Matsuyama, N., Yasui, K., Furuta, A., Hori, Y., Fukumori, Y., Tanaka, S., Curtis, R., Inoue, M., Hirayama, F. Detection of antibodies against human platelet antigens 15a and 15b by using a cell line panel. *British Journal of Haematology*. 2010;151: 402–412
 113. Chakravorty, S., Roberts, I. How I manage neonatal thrombocytopenia. *British Journal of Haematology*. 2011;156:155–162
 114. Koh, Y., Taniue, A., Ishii, H., Matsuyama, N., Amakishi, E., Hayashi, T., Nakano, S. Neonatal alloimmune thrombocytopenia caused by an antibody specific for a newly identified allele of human platelet antigen-7. *Transfusion*. 2010; 50(6): 1276-1284
 115. Lannan, K., Sahler, J., Spinelli, S., Phipps, R., Blumberg, N. Transfusion immunomodulation — the case for leukoreduced and (perhaps) washed transfusions. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*. 2013; 50: 61–68
 116. Refaai, M., Phipps, R., Spinelli, S., Blumberg, N. Platelet transfusions: impact on hemostasis, thrombosis, inflammation and clinical outcomes. *Thrombosis research*. 2011; 127(4): 287–291
 117. Sahler, J., Grimshaw, K., Spinelli, S., Refaai, M., Phipps, R. Blumber, N. Platelet storage and transfusions: New concerns associated with an old Therapy. *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms Haematology*. 2011; 8(1-2): e9-e14
 118. Tiekstra, M., Rondeel, J., Slomp, J., Smid, W., Eggen, J. A positive effect of immune suppression on corrected count increment after platelet transfusion at 1 but not at 24 h. *Transfusion and Apheresis Science*. 2013;49:189–192
 119. Tinmouth, T., Semple, E., Shehata, N., Branch, R. Platelet immunopathology and therapy: A Canadian Blood Services research and development symposium. *Transfusion medicine review*. 2006; 20(4): 294-314.
 120. Arruda, R. A novel strategy for the screening for platelet refractoriness: prospects and limitations. *Revista brasileira de hematologia e hemoterapia*. 2013; 35(4): 233-234.

121. Kopko, P. M., Warner, P., Kresie, L., & Pancoska, C. Methods for the selection of platelet products for alloimmune-refractory patients. *Transfusion*. 2014:1-10
122. Jia, Y., Li, W., Liu, N., Zhang, K., Gong, Z., Li, D., Shan, X. Prevalence of platelet-specific antibodies and efficacy of crossmatch-compatible platelet transfusions in refractory patients. *Transfusion Medicine*. 2014:1-5
123. Xu, Z., Xia, J., Ye, X. The platelet GP specific antibodies and HLA antibodies in PTR patients. *Journal of Tropical Medicine*. 2009; 9: 527–559.
124. Andreu, G., Vasse, J., Sandid, I., Tardivel, R., Semana, G. Use of random versus apheresis platelet concentrates. *Transfusion clinique et biologique*, 2007; 14(6): 514-521.
125. Heddle, M., Arnold, M., Boye, D., Webert, E., Resz, I., Dumont, J. Comparing the efficacy and safety of apheresis and whole blood–derived platelet transfusions: a systematic review. *Transfusion*. 2008; 48(7): 1447-1458.
126. Bassuni, W., Blajchman, M., Al-Mosharya, M. Why implement universal leukoreduction? *Hematology/Oncology and Stem Cell Therapy*. 2008; 1(2): 106-123
127. Blajchman, A. The clinical benefits of the leukoreduction of blood products. *Journal of Trauma-Injury, Infection, and Critical Care*. 2006; 60(6): S83-S90
128. Cho, H., Choi, H., Hur, M., Moon, W., Park, M., Yun, M. Comparison of two leukocyte reduction filters for whole blood derived platelets. *Transfusion and Apheresis Science*. 2012; 47(1): 21-25.
129. Jackman, P., Deng, X., Bolgiano, D., Utter, H., Schechterly, C., Lebedeva, M., Norris, J. Leukoreduction and ultraviolet treatment reduce both the magnitude and the duration of the HLA antibody response. *Transfusion*. 2014; 54(3): 672-680.
130. Shehata, N., Tinmouth, A., Naglie, G., Freedman, J., Wilson, K. ABO-identical versus nonidentical platelet transfusion: a systematic review. *Transfusion*. 2009; 49(11):2442-2453.