

Conocimientos actuales sobre la patogénesis, presentación clínica, diagnóstico y manejo de la trombocitopenia neonatal aloinmune

Current knowledge on neonatal alloimmune thrombocytopenia's pathogenesis, clinical presentation, diagnostic and management

Gilberto Soler Noda^{1*} <http://orcid.org/0000-0002-1156-2143>

Yisenia Romero Díaz¹ <http://orcid.org/0000-0003-0472-4404>

Mariela Forrellat Barrios¹ <http://orcid.org/0000-0002-1590-9191>

Antonio Bencomo Hernández¹ <http://orcid.org/0000-0002-6209-0393>

¹ Instituto de Hematología e Inmunología. La Habana, Cuba.

*Autor para la correspondencia. Correo electrónico: gsolern@infomed.sld.cu

RESUMEN

Introducción: La trombocitopenia neonatal aloinmune es una enfermedad producida por anticuerpos maternos contra antígenos plaquetarios fetales heredados del padre. Puede ser causa de hemorragia intracraneal y conducir a la muerte o discapacidad en el feto/neonato. Aunque es la causa más grave de trombocitopenia en el neonato y la más común en los recién nacidos a término, en general ha sido poco investigada.

Objetivos: Exponer los conocimientos actuales sobre la patogénesis, presentación clínica, diagnóstico y del manejo pre- y posnatal de la trombocitopenia neonatal aloinmune,

Métodos: Se realizó una revisión de la literatura, en inglés y español, a través del sitio web PubMed y el motor de búsqueda Google académico de artículos publicados en los últimos 10 años. Se hizo un análisis y resumen de la bibliografía revisada.

Resultados: Los anticuerpos IgG maternos son transportados a través de la placenta a la circulación fetal, opsonizan las plaquetas fetales que son removidas por fagocitosis. Los antígenos más implicados son el HPA-1a y HPA-4a. La fisiopatología de la enfermedad es

muy similar a la enfermedad hemolítica perinatal, pero aún no se han implementado programas de pesquisa y el diagnóstico se realiza después del nacimiento del niño afectado de trombocitopenia, hemorragia intracraneal o muerte *in útero* de causa no explicada.

Consideraciones finales: El impacto clínico de la trombocitopenia neonatal aloimmune y las oportunidades de tratamiento potencian la necesidad de implantar programas de pesquisa para la detección de fetos en riesgo de padecer esta enfermedad.

Palabras clave: trombocitopenia neonatal aloimmune; NAIT; antígenos plaquetarios humanos; HPA; embarazo.

ABSTRACT

Introduction: Neonatal alloimmune thrombocytopenia is a disease produced by maternal antibodies against fetal platelet antigens inherited from the father. It can be a cause of intracranial hemorrhage and lead to death or disability in the fetus / neonate. Although it is the most serious cause of thrombocytopenia in newborns and the most common in full-term infants, it has generally been poorly investigated.

Objectives: To approximate to current knowledge about the pathogenesis, clinical presentation, diagnosis and pre- and post-natal management of neonatal alloimmune thrombocytopenia.

Methods: A review of literature, in English and Spanish, through PubMed website and Google scholar search engine of articles published in the last 10 years was conducted. An analysis and summary of the reviewed bibliography was made.

Results: Maternal IgG antibodies are transported through the placenta to the fetal circulation, opsonizing fetal platelets that are removed by phagocytosis. The most involved antigens are HPA-1a and HPA-4a. The pathophysiology of this disease is very similar to perinatal hemolytic disease, but research programs have not been implemented yet and diagnosis is made after birth of children affected by thrombocytopenia, intracranial hemorrhage or in uterus death by unexplained causes.

Final considerations: Clinical impacts of neonatal alloimmune thrombocytopenia and treatment opportunities enhance the need to implement screening programs for the detection of fetuses at risk of suffering from this disease.

Keywords: neonatal alloimmune thrombocytopenia; NAIT; human platelet antigens; HPA; pregnancy.

Recibido: 29/12/2017

Aceptado: 01/12/2018

Doce antígenos han sido agrupados en seis sistemas bialélicos (HPA-1, HPA-2, HPA-3, HPA-4, HPA-5 y HPA-15), designados con las letras "a" los Ag de alta frecuencia y "b", los de baja frecuencia, respectivamente. Para los sistemas en los que solo se ha demostrado Ac para un solo antígeno, se señalan con la letra "w" (del inglés *workshop*), por ejemplo: HPA-8bw (tabla).⁽⁴⁾

La mayoría de estos Ag se encuentran en el complejo glucoproteico GPIIb/IIIa; son esenciales en la agregación plaquetaria como receptor para fibrinógeno, fibronectina, vitronectina y factor von Willebrand. Otros importantes complejos son GPIb/IX/V, el mayor receptor de factor de von Willebrand involucrado en la adhesión plaquetaria al endotelio vascular dañado; GPIa/IIa, receptor de colágeno y el CD109, que también realiza esta función.^(5,6)

Tabla - Antígenos plaquetarios humanos (HPA)

Ag	Frecuencia (%)			Glicoproteína /cambio de aminoácido	Gen / cambio de nucleótido	Enfermedad asociada
	Blancos	Africanos	Asiáticos			
HPA bialélicos						
HPA-1a	72 a/a	90	100	GPIIIa / L33P	ITGB3 / T196C	NAIT, PPT, RP
HPA-1b	26 a/b	10	0			
-	2 b/b	-	-			
HPA-2a	85 a/a	71	95	GPIIb / T145M	GPIBA / C524T	NAIT, PPT, RP
HPA-2b	14 a/b	29	5			
-	1 b/b	-	-			
HPA-3a	37 a/a	68	59,5	GPIIb / I843S	ITGA2B / T2621G	NAIT, PPT, RP
HPA-3b	48 a/b	32	40,5			
-	15 b/b	-	-			
HPA-4a	>99,9 a/a	100	99,5	GPIIIa / R143Q	ITGB3 / G526A	NAIT, PPT, RP
HPA-4b	< 0,1 a/b	0	0,5			
-	< 0,1 a/b	-	-			
HPA-5a	88 a/a	82	98,6	GPIa / E505K	ITGA2 / G1648A	NAIT, PPT, RP
HPA-5b	20 a/b	18	0,4			
-	1 b/b	-	-			
HPA-15a	35 a/a	65	53	CD109 / Y703S	CD109 / A2108C	NAIT, PPT, RP
HPA-15b	42 a/b	35	47			
HPA-15b	23 b/b	-	-			
HPA baja frecuencia						
GPIIb						
HPA-9bw		<1 b/b		GPIIb / V837M	ITGA2B / A2603G	NAIT
HPA-20bw		<1 b/b		GPIIb / T619M	ITGA2B / C1949T	NAIT
HPA-22bw		<1 b/b		GPIIb / K164T	ITGA2B / A585C	NAIT
HPA-24bw		<1 b/b		GPIIb / S472N	ITGA2B / G1508A	NAIT
HPA-27bw		<1 b/b		GPIIb / L841M	ITGA2B / C2614A	NAIT

Tabla – Continuación ..

Ag	Frecuencia (%)			Glicoproteína /cambio de aminoácido	Gen / cambio de nucleótido	Enfermedad asociada
	Blancos	Africanos	Asiáticos			
GPIIIa						
HPA-6bw		<1 b/b		GPIIIa / R489Q	ITGB3 / A1564G	NAIT
HPA-7bw		<1 b/b		GPIIIa / P407A	ITGB3 / G1317C	NAIT
HPA-8bw		<1 b/b		GPIIIa / R636C	ITGB3 / T2004C	NAIT
HPA-10bw		<1 b/b		GPIIIa / R62Q	ITGB3 / A281G	NAIT
HPA-11bw		<1 b/b		GPIIIa / R633H	ITGB3 / A1996G	NAIT
HPA-14bw		<1 b/b		GPIIIa / K611del	ITGB3 / AAG1929-31	NAIT
HPA-16bw		<1 b/b		GPIIIa / T140I	ITGB3 / C517T	NAIT
HPA-17bw		<1 b/b		GPIIIa / T195M	ITGB3 / C622T	NAIT
HPA-19bw		<1 b/b		GPIIIa / K137Q	ITGB3 / A487C	NAIT
HPA-21bw		<1 b/b		GPIIIa / E628K	ITGB3 / G1960A	NAIT
HPA-23bw		<1 b/b		GPIIIa / R622W	ITGB3 / C1942T	NAIT
HPA-26bw		<1 b/b		GPIIIa / K580N	ITGB3 / G1818T	NAIT
GPIb						
HPA-12bw		<1 b/b		GPIb β / G15E	GPIBB / A141G	NAIT
GPIa						
HPA-13bw		<1 b/b		GPIa / M799T	ITGA2 / T2531C	NAIT
HPA-18bw		<1 b/b		GPIa / Q716H	ITGA2 / G2235T	NAIT
HPA-25bw		<1 b/b		GPIa / T187M	ITGA2 / C3347T	NAIT

Fuente: Curtis BR, McFarland JG. Human platelet antigens-2013. Vox Sang. 2014;106:93-102.⁴

NAIT: trombocitopenia neonatal al inmune; PPT: púrpura postransfusional;
RP: refractariedad a la transfusión de plaquetas.

El objetivo que nos proponemos con esta revisión es exponer los conocimientos actuales sobre la patogénesis, presentación clínica, diagnóstico y del manejo pre- y posnatal de la trombocitopenia neonatal aloinmune.

MÉTODOS

se realizó una revisión de la literatura, en inglés y español, a través del sitio web PubMed y el motor de búsqueda Google académico de artículos publicados en los últimos 10 años. Se hizo un análisis y resumen de la bibliografía revisada.

RESULTADOS

Fisiopatogenia

El mecanismo para la producción de NAIT es similar al de la enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN). La madre puede presentar aloinmunización contra Ag de los eritrocitos, leucocitos y plaquetas; provocados por embarazos previos, transfusiones previas o recientes, o por el embarazo actual y el feto puede ser afectado por Ac generados por este estímulo. Para que se produzca NAIT, es necesario que el Ag paterno sea capaz de poseer fuerza en su expresión y ocupar un gran número de sitios antigénicos sobre las GPs de la membrana plaquetaria y estimular la formación de un Ac de clase IgG.^(7,8)

La hemorragia feto-materna (HFM); paso de células fetales a la circulación materna, está presente en el 75 % de los embarazos, en la mayoría de los casos, sin procesos patológicos. La placenta es una membrana activa y selectiva, cuyo carácter dinámico condiciona el tránsito en ambos sentidos. El punto de contacto directo entre las circulaciones útero-feto-placentarias es el trofoblasto, unidad funcional compuesta del lado materno por la sangre del espacio intervelloso y del lado fetal, por los capilares vellosos. La presión en los capilares vellosos se estima que es menor en el lado materno, lo que explicaría el paso de células fetales a la circulación materna desde épocas tempranas de gestación.⁽⁹⁾ Los Ac IgG formados pasan activamente a través del trofoblasto a la circulación fetal puesto que este tejido posee receptores para la fracción Fc de esta inmunoglobulina (Ig); una vez reconocida la molécula de IgG, esta es transportada al interior del trofoblasto en una vesícula endocítica y llevada hasta el lado fetal, donde se produce la exocitosis de la IgG a la circulación del feto mediando la destrucción plaquetaria a través de la fagocitosis vía receptor Fcγ (RFcγ) por los macrófagos del sistema mononuclear fagocítico, como consecuencia se produce disminución en los recuentos plaquetarios.⁽¹⁰⁾

Ag más frecuentes involucrados en la ocurrencia de NAIT

El Ag HPA-1a/b, fue el primer Ag descubierto por *Zucker* y otros en 1959.⁽¹¹⁾ En 1962, *Shulman* y colaboradores, identifican en muestras de sangre de madres que tuvieron hijos con NAIT grave; Ac con esta especificidad, involucrados en la incompatibilidad materno-fetal por Ag específicos de plaquetas.^(12,13)

Los Ac de especificidad HPA-1a son responsables del 75-85 % de los casos diagnosticados clínicamente, mientras que los Ac con especificidad HPA-1b de 14 %. Los Ac con especificidad HPA-5b, afectan al 4,3 % de los casos. Los debido a especificidad HPA-3a son poco frecuentes (< 1 %).⁽⁷⁾ Los casos reportados con especificidad HPA-4b, son también muy poco frecuentes, solo en Japón, donde casi la totalidad de su población es HPA-1a, se registra un mayor número de casos de NAIT por este Ac.⁽¹⁴⁾

Cuadro clínico

La NAIT es un proceso similar al de la EHRN, pero a diferencia de esta, puede producirse en la primera gestación, hasta en 30 % de los casos.⁽¹⁵⁾ En los enfermos típicos se observa un recién nacido de madre sana, no trombocitopénico, en la que tanto el embarazo como el parto transcurrieron sin complicaciones. Al momento del parto, o algunas horas después, se aprecia un neonato con púrpura cutánea en forma de petequias o equimosis, que puede acompañarse, en los casos graves, de hematuria, hemorragia digestiva e incluso hemorragia intracraneal; por lo que el neonato nace deprimido en grado variable. Los conteos plaquetarios igualmente son variables, en casos graves pueden ser inferiores a $20 \times 10^9/L$ y con tendencia a disminuir en las primeras 24-72 horas⁽¹⁰⁾

El fenómeno es grave, ya que potencia el desarrollo de hemorragia cerebral entre 10-30 % de los neonatos con resultado de muerte en 10 % de estos. Aproximadamente, 50 % se produce durante la vida intrauterina, por lo general entre las semanas 30 y 35 de gestación. En casos excepcionales, las hemorragias aparecen antes de las 20 semanas.^(16,17) En casos poco comunes, su presentación puede coincidir con hidrocefalia aislada, anemia fetal de causa no explicada, abortos recurrentes e incluso, *hydrops fetal*. Es importante señalar, que los Ag HPA tienen total expresión a partir de las 16 semanas y el paso trasplacentario puede ocurrir a partir de las 14 semanas.^(18,19,20,21,22)

Algunos autores estiman que la incidencia de trombocitopenia grave por aloanticuerpos maternos afecta 1 de cada 1 200 embarazos en mujeres caucásicas;⁽²³⁾ otros, 1 de cada 2 000,⁽²⁴⁾ y 1 de cada 800-1 000 nacidos vivos;⁽²⁵⁾ por lo que puede plantearse que la entidad pase inadvertida en la práctica clínica.⁽²⁶⁾

Según estudios realizados por diferentes autores, no existe relación demostrada entre el título de Ac y la gravedad de la enfermedad.⁽²⁷⁾ Entre estos estudios se encuentran los realizados por *Kaplan* y otros, en los que en 1 de cada 5 madres que tuvieron hijos afectados de NAIT grave, los Ac no eran detectables al igual que *Bussel* y colaboradores, que encontraron entre 7 mujeres embarazadas que tuvieron niños afectados, en 2 de ellas estos Ac no fueron demostrables.^(28,29) Sin embargo, en estudios realizados por *Williamson* y *Jaegtvik*, en mujeres en el tercer trimestre de gestación, se encontró asociación entre la concentración de estos Ac y la gravedad de la enfermedad.^(30,31) En el momento actual se discuten los diversos métodos por los que se realiza la detección y cuantificación de estos Ac, pero no se ha llegado a consenso.^(32,33)

Inmunogenicidad de los Ag HPA

Las bases genéticas para la aloinmunización materna contra los Ag específicos de plaquetas siguen siendo investigadas.

La aloinmunización al Ag HPA-1a está asociada a los alelos HLA-II: DRB3*0101 y DQB1*0201; la aloinmunización HPA-1b no está asociada a DRB3*0101, ni a otra molécula HLA-II. La sustitución de Leu33/Pro33 en la glucoproteína IIIa es importante en la presentación del Ag. Los datos muestran que la región dismórfica Leu33/Pro33 es alelo específica para la activación de las células T y proveer de información a las células B para la síntesis de Ac; sin embargo, el valor predictivo positivo es solo de 35 %, lo que limita su empleo.^(34,35)

La respuesta inmune al Ag HPA-5b está fuertemente asociado al gen DRB1 en la secuencia codificadora de los residuos Glu-Asp en las posiciones 69 y 70 de la cadena DRβ.⁽³⁶⁾ Debido al pobre número de casos registrados a otros Ag, los análisis estadísticos no son significativos dentro de la población general, como los vistos para el Ag HPA-6b y los haplotipos DR*1501, DQA1*0102 y DQB1*, de madres inmunizadas.⁽³⁷⁾

Diagnóstico inmunohematológico

Usualmente, la primera sospecha de NAIT surge cuando el neonato exhibe petequias, equimosis, hemorragias u otros síntomas por lo que el tratamiento debe comenzar en base a los conteos plaquetarios y de los hallazgos clínicos, al mismo tiempo que las investigaciones serológicas son críticas para la efectividad del tratamiento y el correcto manejo de futuros embarazos.⁽³⁸⁾

Estudios serológicos

Las técnicas de citometría de flujo son ensayos sensibles y rápidos que permiten detectar inmunoglobulinas de los isotipos IgG e IgM reactivas contra plaquetas y son empleadas para la pesquisa del suero materno contra plaquetas lavadas de ambos progenitores y contra panel de plaquetas fenotipadas para los antígenos HPA más comunes, procedentes de donantes de grupo O. También se utilizan en la pesquisa de anticuerpos anti-HLA de clase I.^(39,40)

Una de estas técnicas es la prueba de inmunofluorescencia de plaquetas en suspensión (PSIFT por sus siglas en inglés: *platelet suspensión immunofluorescencetest*). Las plaquetas maternas son incubadas con suero control anti-HPA que permite la formación del complejo Ag-Ac. Este complejo es marcado con suero antiglobulínico humano marcado con un fluorocromo [isotiocianato de fluoresceína (FITC)], que se detecta por citometría de flujo.⁽⁴¹⁾

La identificación de la GP contra el cual los Ac maternos son específicos, se realiza mediante ensayos en fase sólida. Uno de estos métodos es la técnica de MACE [del inglés *modified antigen capture enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA)], donde las plaquetas “blanco” son incubadas con el suero materno, lavadas y lisadas con detergentes aniónico, por ejemplo triton X-100. La GP de interés es capturada sobre la fase sólida por su unión con el anticuerpo monoclonal específico para esta. Después de varios lavados, el Ac materno unido a la GP retenida es detectado por ELISA. Esta técnica es rutinariamente

utilizada para detectar Ac maternos reactivos con Ag HPA presentes en los complejos GPIIb/IIIa y GPIa/IIa, con el empleo de plaquetas paternas y de panel como dianas. En casos específicos se emplean ensayos de captura de antígenos (ACE: *antigen capture ELISA*) para la detección de Ac contra el complejo GPIb/IX, que porta los Ag HPA-2a/b, CD36 (GPIV) y HLA de clase I.^(42,43)

Otro método empleado es la técnica de inmovilización de antígenos plaquetarios con anticuerpos monoclonales (por sus siglas en inglés *MAIPA*), muy similar a la técnica de MACE y equivalentes en especificidad y sensibilidad. Sin embargo, para la detección de Ac maternos contra los Ag HPA-15a/b, se realiza mediante la técnica de MAIPA utilizando plaquetas frescas, porque la proteína CD109, transportadora de estos antígenos, es débilmente expresada sobre la plaqueta (aproximadamente 1000 copias por plaquetas) y es relativamente lábil.⁽⁴⁴⁾ Otras técnicas empleadas son aquellas que incluyen la tecnología Luminex para la detección de los Ac causantes de esta entidad.⁽⁴⁵⁾

Estudios de genotipo plaquetario

Los estudios de biología molecular complementan las investigaciones serológicas. El cambio de nucleótidos que codifican Ag individuales puede ser rápidamente identificado con ensayos de discriminación alélica empleando una sonda marcada con 5' fluoresceína, la cual se une a alelos específicos. La inhibición de la fluorescencia se produce por la adición de una sonda al extremo 3'. Cuando la sonda específica se ha unido y se produce la extensión de la cadena, la sonda 3' es eliminada resultando en reportes de fluorescencia presentes en el alelo "blanco". Otra técnica basada en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), es la PCR-SSP (PCR- primer secuencia específica) seguido de electroforesis y visualización de las bandas de ADN.⁽⁴⁶⁾

Por otra parte, el genotipaje HPA del padre permite determinar si este es homocigótico o heterocigótico para el Ag en cuestión. Si es homocigótico, en todos los embarazos siguientes los fetos serán heterocigóticos y por consiguiente incompatibles con el Ac materno. Si es heterocigótico, el 50 % tiene la probabilidad de heredar el marcador. El genotipaje se puede realizar entre las 8-10 y 18-20 semanas de gestación en muestras de líquido amniótico o vellosidades coriónicas.⁽⁴⁷⁾ En muchos laboratorios de investigaciones se han desarrollado métodos no invasivos prenatales para el genotipaje HPA en el plasma materno como es el ensayo de secuenciación en paralelo, pero no se han implementado aun en la práctica rutinaria en la mayoría de los países.⁽⁴⁸⁾

Interpretación de los resultados

La reacción de Ac IgG maternos con las plaquetas paternas y no con las maternas con resultados negativos en las pruebas para la detección de Ac anti-HLA de clase I, sugieren la presencia de Ac anti-HPA. De igual modo, la reacción del suero materno con las plaquetas

fetales y los resultados negativos con las plaquetas de panel indican la presencia de Ac maternos dirigidos contra Ag HPA de baja frecuencia. Sin embargo, si el padre es incompatible con la madre en cuanto a Ag del sistema de grupo eritrocitario ABO, la reacción puede ser debido a esta incompatibilidad y no por HPA.⁽⁴⁹⁾

En 20-35 % de los sueros maternos se detectan Ac específicos contra Ag HPA presentes en las plaquetas del padre y no en la madre. El Ag HPA-1a, es el Ag diana más común en 75- 90 % de los casos resueltos; HPA-5b en 8-15 %, HPA-1b en 1-4 %, HPA-3a en 1-2 % y HPA-5a aproximadamente 1 %.⁽⁷⁾ En estudios recientes, Ac específicos contra HPA-15b se detectan en 4 %.⁽⁵⁰⁾ En madres descendientes de asiáticos es más frecuente encontrar Ac contra HPA-4b, -6b y -21b y en madres afroamericanas, Ac contra GPIV (CD36), en comparación con madres caucásicas. Ocasionalmente, varios Ac anti HPA pueden estar concomitando en la misma madre.⁽⁷⁾

En los casos en los que el Ag sensibilizante es de baja frecuencia, la identificación de la GP transportadora por técnicas en fase sólida es muy útil, al igual que la secuenciación de exones relevantes que codifiquen Ag de baja frecuencia en el ADN paterno, aunque la sensibilización por estos Ag se encuentra en muy baja frecuencia.⁽⁴⁷⁾

Casos no resueltos

Aproximadamente dos tercios de los casos en que se sospecha NAIT no responden a la incompatibilidad HPA. En muchos de estos, la trombocitopenia es consecuencia de las múltiples causas no inmunes.⁽⁵¹⁾ En los casos restantes, otras causas de NAIT no son identificadas. En estas instancias altos títulos de Ac anti-HLA de clase I están presentes en la madre. En efecto, las primeras publicaciones de NAIT causadas por inmunización HPA-1a, describen dos casos asociados al nuevo Ag identificado Pl^{B1}, que posteriormente se demostró que era HLA de clase I, el Ag HLA-A2.⁽¹²⁾ Sin embargo, son necesarios estudios adicionales para definir cuando estos Ac producen NAIT o contribuyen a la gravedad de la enfermedad.⁽⁵²⁾

Ac específicos contra HPA-3a/b, son muy difíciles de detectar por métodos serológicos. Recientemente *Zhu* y otros, encuentran que el dominio calf-2 de la GP-IIb, donde se ubican estos Ag, no se muestra en la estructura cristalográfica del ectodominio GPIIb/IIIa, lo que sugiere que esta región no está rígidamente restringida, de aquí la dificultad en su detección.⁽⁵³⁾ Los Ag de baja frecuencia HPA-9b y HPA-27b están localizados en calf-2, muy próximos a HPA-3a/b y Ac específicos para estos marcadores; son difíciles de detectar, quizás por la misma razón. La incompatibilidad materno-fetal para los Ag HPA-3a y -3b es común; quizás el perfeccionamiento de los ensayos para la detección de los Ac con estas especificidades demuestre que estos son más frecuentes de lo que se sospecha.⁽⁵⁴⁾

Otros estudios sugieren como causa de NAIT la presencia de Ac de baja avidéz por el Ag, los cuales son removidos por los lavados necesarios de las plaquetas para el desarrollo de las

técnicas serológicas. Los Ac de este tipo pueden ser detectados por análisis de resonancia de la superficie plasmática (SPR) donde la señal se traduce en unidades de resonancia generadas en tiempo real como ligandos unidos al Ag inmovilizado, aunque esta técnica no sustituye a los ensayos rutinarios, se hace necesarios estudios adicionales para definir cuáles Ac de baja avidéz causan NAIT “Ac-negativo”.⁽⁵⁵⁾

La confirmación serológica de NAIT es particularmente importante para el manejo de los embarazos posteriores. Sin embargo, en los casos con NAIT “real” donde la confirmación serológica no es posible por los escenarios antes mencionados, o porque la muestra materna fue tomada antes de que los Ac fueran detectables; el genotipaje de las plaquetas fetales es el procedimiento de elección.⁽⁴⁷⁾

Tratamiento

El neonato afectado de NAIT es normalmente identificado cuando los signos clínicos de sangrado son evidentes poco tiempo después del nacimiento y los conteos plaquetarios confirman una trombocitopenia aislada. El tratamiento inmediato para la trombocitopenia grave (conteos plaquetarios inferiores a $30 \times 10^9/L$) con signos graves de sangramiento evidente (petequias, equimosis, hemorragia gastrointestinal, genitourinario o intracraneal) es la transfusión de plaquetas de donantes fenotipados, con plaquetas carentes del Ag contra el cual se dirige el Ac materno, frescas (menos de 72 h), con volumen reducido, ABO compatibles, citomegalovirus negativo e irradiadas. Si no se cuenta con este tipo de producto, se pueden utilizar plaquetas de donante al azar (con los mismos requerimientos anteriores), que aumentan temporalmente los conteos plaquetarios hasta un valor mínimo y reducen la posibilidad de sangramientos, aun cuando son incompatibles con el Ac materno. En adición, la administración de IgG intravenosa (IVIG) a dosis de 0,4-1 g/kg/d de 2-5 días, permite prolongar la sobrevivencia de las plaquetas incompatibles y disminuir el período de trombocitopenia.⁽¹⁰⁾

Las plaquetas HPA compatibles también pueden ser obtenidas por plaquetoféresis de la madre del neonato afectado, sobre todo en aquellos casos en los que se requiere un soporte transfusional por un período más prolongado. Si las plaquetas maternas son utilizadas, es esencial que estas sean lavadas con solución salina fisiológica (SSF) para remover el Ac causal del plasma materno y resuspendidas en volumen reducido de SSF o plasma normal AB e irradiadas para prevenir la enfermedad de injerto contra huésped transfusional en el neonato.⁽⁵⁶⁾ La trombocitopenia moderadamente grave (conteos plaquetarios de $30-50 \times 10^9/L$) sin hemorragia, puede ser tratada con IVIG con una dosis total de 2 g/kg durante 2-5 días.⁽⁵⁷⁾

Manejo de los embarazos posteriores

NAIT tiende a ser más grave en los embarazos posteriores cuando ya se tuvo un neonato afectado con esta condición. El manejo de estos embarazos depende de la experiencia del

obstetra en su diagnóstico y manejo. En estos casos se deben considerar varios aspectos: *primero*: determinar si el feto es incompatible con el Ac previamente demostrado y cuando o no es detectable; *segundo*: si el feto es incompatible, estimar el grado de trombocitopenia fetal y el riesgo antenatal de hemorragia intracraneal y *tercero*: ofrecer una terapia antenatal a la madre para aminorar la trombocitopenia fetal y reducir la posibilidad de sangramientos pre- y postnatal.⁽⁵⁸⁾

El riesgo de NAIT ha sido estratificado en riesgo estándar (tipo I), alto riesgo (tipo II) y riesgo muy alto (tipo III).⁽⁵⁹⁾ En el tipo I se le administra a la madre IVIG en dosis de 1 g/kg/semana o prednisona en dosis de 0,5 mg/kg diariamente, comenzando a las 20 semanas de edad gestacional; para el tipo II, IVIG en dosis de 1 g/kg/semana y prednisona a razón de 1 mg/kg diariamente a partir de las 20 semanas y en el tipo III, IVIG 2 g/kg/semana comenzando a las 12 semanas. Si a las 20 semanas de gestación se detecta trombocitopenia en las muestras fetales, se adiciona prednisona a dosis de 1 mg/kg/día.^(60,61,62)

El impacto clínico de NAIT junto con las oportunidades de tratamiento potencia la necesidad de implantar programas de pesquisa para la detección de fetos en riesgo de padecer esta enfermedad. Generalmente, en la mayoría de los casos el diagnóstico se realiza después del nacimiento, por lo que no se aplica el tratamiento antenatal que permitiría disminuir la morbilidad y mortalidad por esta causa.

CONSIDERACIONES FINALES

El impacto clínico de la trombocitopenia neonatal aloinmune y las oportunidades de tratamiento potencian la necesidad de implantar programas de pesquisa para la detección de fetos en riesgo de padecer esta enfermedad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Brojer E, Husebekk A, Debska M, Uhrynowska M, Guz K, Orzinska A. et al. Fetal/Neonatal Alloimmune Thrombocytopenia: Pathogenesis, Diagnostics and Prevention. Arch Immunol Ther. Exp. 2016;64:279-90. doi: 10.1007/s00005-015-0371-9.
2. Metcalfe P, Watkins NA, Ouwehand WH. Nomenclature of Human Platelet Antigens. Vox Sang. 2003;85:240-5. doi: 10.1046/j.1423-0410.2003.00331.x.
3. Peterson J, Pechauer S, Gitter M, Kanack A, Curtis B, Reese J, et al. New platelet glycoprotein polymorphisms causing maternal immunization and neonatal alloimmune thrombocytopenia. Transfusion. 2012;52:1117-24. doi: 10.1111/j.1537-2995.2011.03428.x.

4. Curtis BR, McFarland JG. Human platelet antigens-2013. *Vox Sang.* 2014;106:93-102. doi: 10.1111/vox.12085.
5. Zdravic D, Yougbare I, Vadasz B, Li C, Marshall AH, Chen P, et al. Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Sem Fetal Neonatal Med.* 2016;21:19-27. doi: 10.1016/j.siny.2015.12.004.
6. Curtis BR. Recent progress in understanding the pathogenesis of fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Br J Haematol.* 2015;171:671-82. doi: 10.1111/bjh.13639.
7. Kamphuis MM, Paridaans NP, Porcelijn L, Lopriore E, Oepkes D. Incidence and consequences of neonatal alloimmune thrombocytopenia: a systematic review. *Pediatrics.* 2014; 133:715-21. doi: 10.1542/PEDS.2013-3320
8. Vadasz Brian PC, Yougbare I, Zdravic D, Li J, Li C, Carrim N, et al. Platelets and platelet alloantigens: lessons from human patients and animal models of fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Genes Dis.* 2015;2(2):173-85. doi: 10.1016/j.gendis.2015.02.003
9. Dubruc E, Lebreton F, Giannoli C, Rabilloud M, Huissoud C, Devouassoux-Shisheboran M, et al. Placental histological lesions in fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: A retrospective cohort study of 21 cases. *Placenta.* 2016;48:104-9. doi: 10.1016/j.placenta.2016.10.009.
10. Ronzoni S, Keunen J, Shah PS, Kelly EN, Windrim R, Seaward PG, et al. Management and Neonatal Outcomes of Pregnancies with Fetal/Neonatal Alloimmune Thrombocytopenia: A Single-Center Retrospective Cohort Study. *Fetal Diagn Ther.* 2019;45:85-93. doi: 10.1159/000487303.
11. Hurtado B, Trakala M, Ximénez-Embún P, El Bakkali A, Partida D, Sanz-Castillo B, et al. Thrombocytopenia-associated mutations in Ser/Thr kinase MASTL deregulate actin cytoskeletal dynamics in platelets. *J Clin Invest.* 2018;128(12):5351-67. doi: org/10.1172/JCI121876.
12. Ya F, Tian J, Li Q, Chen L, Ren J, Zhao Y, et al. Cyanidin-3-O- β -glucoside, a Natural Polyphenol, Exerts Proapoptotic Effects on Activated Platelets and Enhances Megakaryocytic Proplatelet Formation. *J Agric Food Chem.* 2018;66(41):10712-20. doi: 10.1021/acs.jafc.8b03266
13. Cloutier N, Allaey I, Marcoux G, Machlus KR, Mailhot B, Zufferey A, et al. Platelets release pathogenic serotonin and return to circulation after immune complex-mediated sequestration. *PNAS.* 2018;115(7): E1550-E1559. doi: 10.1073/pnas.1720553115.
14. Aster RH, Newman PJ. HPA-1a/b (PLA1/A2, Zwa/b): The Odyssey of an alloantigen system. *Immunohematology.* 2007;23:1-8.

15. Wu GG. Detection of clinically relevant platelet antibodies in the Asian population. *ISBT Sc Ser.* 2014;9:112-7. doi:10.1111/VOXS.12098.
16. Norton A, Allen DL, Murphy MF. Review. Platelet alloantigens and antibodies and clinical significance. *Immunohematology.* 2004;20 (2):89-99.
17. Winkelhorst D, Kamphuis MM, de Kloet LC, Zwaginga JJ, Oepkes D, Lopriore E. Severe bleeding complications other than intracranial hemorrhage in neonatal alloimmune thrombocytopenia: a case series and review of the literature. *Transfusion.* 2016;56:1230-35. doi: 10.1111/trf.13550.
18. Delbos F, Bertrand G, Croisille L, Ansart-Pirenne H, Bierling P, Kaplan C. Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: predictive factors of intracranial hemorrhage. *Transfusion.* 2016; 56(1):59-66. doi: 10.1111/trf.13274.
19. Santoso S, Wihadmadyatami H, Bakchoul T, Werth S, Al-Fakhri N, Bein G, et al. Antiendothelial alphavbeta3 antibodies are a major cause of intracranial bleeding in fetal/neonatal alloimmune thrombocytopenia. *ArteriosclerThromb Vasc Biol.* 2016;36:1517-24. doi: 10.1161/ATVBAHA.116.307281.
20. Yougbaré I, Lang S, Yang H, Chen P, Zhao X, Tai WS, et al. Maternal anti-platelet $\beta 3$ integrins impair angiogenesis and cause intracranial hemorrhage. *J Clin Invest.* 2015; 125(4):1545-56. doi: 10.1172/JCI77820.
21. Murphy MF, Hambley H, Nicolaidis K, Waters AM. Severe fetomaternalalloimmune thrombocytopenia presenting with fetal hydrocephalus. *Prenat Diagn.* 1996;16:1152-5. doi:10.1002/(SICI)1097-0223(199612)16:12<1152:AID-PD8>3.0.CO;2-J.
22. Stanworth SJ, Hockett GA, Williamsom LM. Fetomaternal alloimmune thrombocytopenia presenting antenatal as hydrops fetalis. *Prenat Diagn.* 2001;21:423-4. doi: 10.1002/pd.84.
23. Muñiz E, Ginovart G. Trombocitopenia aloimmune en el feto y en el recién nacido. *An Pediatr.* 2003;58:562-7. doi: 10.1016/S1695-4033(03)78122-3.
24. Campbell-Lee SA, de Santis Parsons D, Sue Shirey R, Kickler TS. Neonatal alloimmune thrombocytopenia due to anti-HPA-5b (Bra). *Immunohematology.* 2003;19(4):127-31.
25. Kaplan C. Neonatal alloimmune thrombocytopenia: a 50 year story. *Immunohematology.* 2007;23:9-13.
26. Tiller H, Husebekk A, Ahlen MT, Stuge TB, Skogen B. Current perspectives on fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia– increasing clinical concerns and new treatment opportunities. *Internat J Women’s Health.* 2017;9:223-34. doi: 10.2147/IJWH.S90753

27. Soler Noda G, Aquino Rojas S, Bencomo Hernández A, Sosa González L. Trombocitopenias neonatales en La Habana: incidencia y características de la enfermedad. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter.* 2017;33(3). Acceso: 08/11/2017. Disponible en: <http://www.revhematologia.sld.cu/index.php/hih/article/view/518>
28. Bessos H, Turner M, Urbaniak SJ. Is there a relationship between anti-HPA-1a concentration and severity of neonatal alloimmune thrombocytopenia? *Immunohematology.* 2005;21:102-8.
29. Petermann R. Thirty years of platelet immunology in fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia management, current situation. *Transfus Clin Biol.* 2017;24(3):166-71. doi: 10.1016/j.traccli.2017.05.010.
30. Winkelhorst D, Murphy MF, Greinacher A, Shehata N, Bakchoul T, Massey E, et al. Antenatal management in fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: a systematic review. *Blood.* 2017;129(11):1538-47. doi: 10.1182/blood-2016-10-739656.
31. Williamson LM, Hackell G, Rennie J. Williamson LM, Hackett G, Rennie J, et al. The natural history of fetomaternalalloimmunization to the platelet specific antigen HPA-1a (PLA1, Zwa) as determined by antenatal screening. *Blood.* 1998;92: 2280-7
32. Wienzek-Lischka S, König IR, Papenkort EM, Hackstein H, Santoso S, Sachs UJ, et al. HLA-DRB3*01:01 is a predictor of immunization against human platelet antigen-1a but not of the severity of fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Transfusion.* 2017;57(3):533-40. doi: 10.1111/trf.13950.
33. Carmo JCD, Klippel PS, Cordeiro SDC, Fernandes ÂMDS, Pinto RM, Weber SS, et al. Molecular typing of human platelet antigens in immune thrombocytopenia patients in northern Brazil. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2017;39(2):122-6. doi: 10.1016/j.bjhh.2017.01.003.
34. Di Cristofaro J, Frassati C, Montagnie R, Basire A, Merieux Y, Picard C. Identification of anti-HPA-1a allo-antibodies using IgG platelet antibody detection and crossmatch system assay with Galileo Echo. *Platelets.* 2015;26(5):421-4. doi: 10.3109/09537104.2014.945409.
35. Wienzek-Lischka S, König IR, Papenkort EM, Hackstein H, Santoso S, Sachs UJ, et al. HLA-DRB3*01:01 is a predictor of immunization against human platelet antigen-1a but not of the severity of fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Transfusion.* 2017;57(3):533-40. doi: 10.1111/trf.13950.
36. Sainio S, Javela K, Tuimala J. and Haimila, K. Maternal HLA genotyping is not useful for predicting severity of fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Br J Haematol,* 2017; 176:111-7. doi:10.1111/bjh.14385.

37. Semana G, Zazoun T, Alizadeh M, Morel-Kopp MC, Genetet B, Kaplan C. Genetic susceptibility and anti-human platelet antigen 5b alloimmunization. Role of HLA class II and TAP genes. *Hum Immunol.* 1996;46:114-9. doi: 10.1016/0198-8859(96)00019-5.
38. Reiher VSA, Hönger G, Infanti L, Passweg JR, Hösli I, Frey BM, et al. Human platelet antigen antibody induction in uncomplicated pregnancy is associated with HLA sensitization. *Transfusion.* 2017;57(5):1272-9. doi: 10.1111/trf.14053.
39. Ronzoni S, Keunen J, Shah PS, Kelly EN, Windrim R, Seaward PG, et al. Management and Neonatal Outcomes of Pregnancies with Fetal/Neonatal Alloimmune Thrombocytopenia: A Single-Center Retrospective Cohort Study. *Fetal Diagn Ther.* 2019;45(2):85-93. doi: 10.1159/000487303.
40. Aebischer D1, Bartusik D2, Tabarkiewicz J. Laser flow cytometry as a tool for the advancement of clinical medicine. *Biomed Pharmacother.* 2017;85:434-43. doi: 10.1016/j.biopha.2016.11.048.
41. Orzińska A, Guz K, Uhrynowska M, Dębska M, Mikula M, Ostrowski J, et al. Noninvasive prenatal HPA-1 typing in HPA-1a negative pregnancies selected in the Polish PREVFNAIT screening program. *Transfusion.* 2018;58(11):2705-11. doi: 10.1111/trf.14963.
42. Jain NC, Dhawedkar RG, Vegad JL, Kono CS. Detection of antiplatelet antibody: comparison of platelet immunofluorescence, agglutination, and immunoinjury tests using rabbit antiquine platelet serum. *Vet Clin Pathol.* 1991;20(1):23-29.
43. Sarkar RS, Philip J, Jain N. Detection and Identification of Platelet-Associated Alloantibodies by a Solid-Phase Modified Antigen Capture Elisa (MACE) Technique and Its Correlation to Platelet Refractoriness in Multi platelet Concentrate Transfused Patients. *Indian J Hematol Blood Transfus.* 2015;31(1):77-84. doi: 10.1007/s12288-014-0374-4.
44. Sarkar RS, Philip J, and Jain N. Detection and Identification of Platelet-Associated Alloantibodies by a Solid-Phase Modified Antigen Capture Elisa (MACE) Technique and Its Correlation to Platelet Refractoriness in Multi platelet Concentrate Transfused Patients. *Indian J Hematol Blood Transfus.* 2015;31(1):77-84. doi: 10.1007/s12288-014-0374-4.
45. Zhou S, Liang X, Wang N, Shao L, Yu W, Liu M. Association of human platelet antigen polymorphisms with platelet count and mean platelet volume. *Hematology.* 2018;23(8):517-21. doi: 10.1080/10245332.2018.1445580.
46. Cooper N, Bein G, Heidinger K, Santoso S, Sachs UJ. A bead-based assay in the work-up of suspected platelet alloimmunization. *Transfusion.* 2016;56(1):115-8. doi: 10.1111/trf.13351.

47. Metzner K, Bauer J, Ponzi H, Ujcich A, Curtis BR. Detection and identification of platelet antibodies using a sensitive multiplex assay system-platelet antibody bead array. *Transfusion*. 2017;57(7):1724-1733. doi: 10.1111/trf.14122.
48. Hayashi T, Hirayama F. Advances in alloimmune thrombocytopenia: perspectives on current concepts of human platelet antigens, antibody detection strategies, and genotyping. *Blood Transfus*. 2015;13: 380-90. doi: 10.2450/2015.0275-14.
49. Wienzek-Lischka S, Krautwurst A, Frohner V, Hackstein H, Gattenlöhner S, Bräuninger A, et al. Noninvasive fetal genotyping of human platelet antigen-1a using targeted massively parallel sequencing. *Transfusion*. 2015;55(6):1538-44. doi:10.1111/trf.13102.
50. Li RS, Ling B, Lu P. Development of quantitative monoclonal antibody-specific immobilization of platelet antigens assay for antibodies against human platelet antigen-1a, 3a, and 5b. *Platelets*. 2018;29(1):71-5. doi: 10.1080/09537104.2017.1294681.
51. Lucas G, Poles A, Woźniak MJ, Gilmore R. Further observations on the clinical significance and inheritance of the low-frequency platelet antigen HPA-28bw. *Transfusion*. 2016;56(4):873-7. doi: 10.1111/trf.13429.
52. Ronzoni S, Keunen J, Arnold D, Smith J, Ryan G. Antenatal management of fetal neonatal alloimmune thrombocytopenia (FNAIT) and neonatal outcome according to the category of risk. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2016;48 (S1):357. doi: 10.1002/uog.17088.
53. Wendel K, Akkök ÇA, Kutzsche S. Neonatal alloimmunethrombocytopenia associated with maternal HLA antibodies. *BMJ Case Rep*. 2017;2017. pii: bcr-2016-218269. doi: 10.1136/bcr-2016-218269.
54. Sen M, Koksall AC, Yuki K, Wang J, Springer TA. Ligand- and cation-induced structural alterations of the leukocyte integrin LFA-1. *J Biol Chem*. 2018;293(17):6565-77. doi: 10.1074/jbc.RA117.000710
55. Poles A, Lucas G, Green F, Walser P, Davey S, Ridgwell K, et al. Neonatal alloimmune thrombocytopenia due to a new alloantigen Bl(a) defined by an Asp458Gly substitution in GPIIIa. *Transfusion*. 2019;59(1):396-404. doi: 10.1111/trf.14990.
56. Solh Z, Breakey V, Murthy P, Smith JW, Arnold DM. Triplets with neonatal alloimmune thrombocytopenia due to antibodies against human platelet antigen 1a. *Transfusion*. 2016;56(5):1166-1170. doi: 10.1111/trf.13494.
57. Chen L, Liu Z, Liu T, Ma X, Rao M, Wang Y, et al. Neonatal alloimmune thrombocytopenia caused by anti-HPA antibodies in pregnant Chinese women: a study protocol for a multicentre, prospective cohort trial. *BMC Pregnan Childbirth*. 2017;17(1):281. doi: 10.1186/s12884-017-1453-y.

58. Van Der Lugt NM, Kamphuis MM, Paridaans NP, Figuee A, Oepkes D, Walther, et al. Neonatal outcome in alloimmune thrombocytopenia after maternal treatment with intravenous immunoglobulin. *Blood Transfus.* 2015;13(1):66-71. doi: 10.2450/2014.0309-13.
59. Tiller H, Husebekk A, Skogen B, Kjeldsen-Kragh J, Kjaer M. True risk of fetal/neonatal alloimmune thrombocytopenia in subsequent pregnancies: a prospective observational follow-up study. *BJOG.* 2016;123:738-44. doi: 10.1111/1471-0528.13343.
60. Winkelhorst D, Oepkes D and Lopriore E. Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: evidence based antenatal and postnatal management strategies. *Exp Rev Hematol.* 2017;10 (8):729-37. doi: 10.1080/17474086.2017.1346471.
61. Rossi KQ, Lehman KJ, O'Shaughnessy RW. Effects of antepartum therapy for fetal alloimmune thrombocytopenia on maternal lifestyle. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2016;29 (11): 1783-8. doi: 10.3109/14767058.2015.1063607.
62. Paridaans NP, Kamphuis MM, TauneWikman A, Tiblad E, Van den Akker ES, Lopriore E, et al. Low-dose versus standard-dose intravenous immunoglobulin to prevent fetal intracranial hemorrhage in fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: a randomized trial. *Fetal Diagn Ther.* 2015;38(2):147-53. doi:10.1159/00038090.

Conflictos de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses de ningún tipo.

Declaración de responsabilidad autoral

Gilberto Soler Noda: realizó contribuciones sustanciales a la concepción y diseño del trabajo, la obtención, análisis o interpretación de datos, la redacción y la corrección del manuscrito en su versión final. Aprobó la última versión presentada.

Yisenia Romero Díaz: participó en la concepción y diseño del trabajo, el análisis e interpretación de datos, la redacción y la corrección del manuscrito en su versión final. Aprobó la versión final presentada.

Mariela Forrellat Barrios: participó en el diseño del trabajo, el análisis e interpretación de datos, la redacción y la corrección del manuscrito. Aprobó la versión final presentada.

Antonio Bencomo Hernández: participó en la concepción y diseño del trabajo, la redacción y corrección del manuscrito. Aprobó la versión final presentada.