



**ACADEMIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE SÃO JOSÉ DO RIO PRETO  
PÓS-GRADUAÇÃO EM HEMATOLOGIA E BANCO DE SANGUE**

**MARIANA SOUSA PATROCINIO**

**REVISÃO: INCIDÊNCIA, TESTES DE COMPATIBILIZAÇÃO E  
MANEJO DA REFRATARIEDADE PALQUETÁRIA IMUNE**

**SÃO JOSÉ DO RIO PRETO  
2022**

**MARIANA SOUSA PATROCINIO**

**REVISÃO: INCIDÊNCIA, TESTES DE COMPATIBILIZAÇÃO E  
MANEJO DA REFRATARIEDADE PLAQUETÁRIA IMUNE**

Trabalho de conclusão de curso  
entregue à Academia de Ciência  
e Tecnologia para obtenção de  
título em Hematologia e Banco de  
Sangue.

**SÃO JOSÉ DO RIO PRETO**

**2022**

## **RESUMO**

A refratariedade plaquetária imune é quando não obtemos um incremento plaquetário ideal após transfusão ABO compatível por conta da presença de anticorpos no receptor contra as plaquetas do doador. Sua ocorrência é maior em pacientes que recebem transfusões crônicas e aqueles submetidos a quimioterapia, principalmente os oncohematológicos. Os principais anticorpos envolvidos na refratariedade plaquetária são os anti-HPA 1b e 5b, anti-HLA de classe I. O manejo da refratariedade plaquetária envolve a seleção de doadores com compatibilidade HLA/HPA, seleção de plaquetas antígeno-negativas e prova cruzada, também foi descrito o uso do Eculizumab e infusões de concentrado de plaquetas por períodos longos como sendo possíveis saídas para reverter o quadro da refratariedade plaquetária. A importância do conhecimento das técnicas de prevenção e criação de um banco de dados universal contendo informações referentes a presença de antígenos em doadores de plaquetas e anticorpos já detectados nos pacientes é cada vez mais importante para as agências transfusionais, além do desenvolvimento de softwares que facilitem a compatibilização doador-receptor.

Palavras-chave: transfusão, plaqueta, refratariedade, imune, aloimunização.

## **ABSTRACT**

Immune platelet refractoriness is when we do not obtain an ideal platelet increment after ABO-compatible transfusion due to the presence of antibodies in the recipient against the donor's platelets. It's more common in patients who receive chronic transfusions and those undergoing chemotherapy, especially oncohematological ones. The main antibodies involved in platelet refractoriness are anti-HPA 1b and 5b, anti-HLA class I. The management of platelet refractoriness involves the selection of donors with HLA/HPA compatibility, selection of antigen-negative platelets and crossmatching, the use of Eculizumab and platelet concentrate infusions for long periods has also been described as being possible solutions to overcome the platelet refractoriness. The importance of knowledge of prevention techniques and the development of a universal database bank containing data regarding the presence of antigens in platelet donors and antibodies already detected in patients is increasingly important for transfusion agencies, in addition to the development of softwares that facilitate donor recipient matching.

Keywords: transfusion, platelet, refractoriness, immune, aloimmunization.

## INTRODUÇÃO

O concentrado de plaquetas (CP) pode ser obtido através da centrifugação de doações de sangue total ou por aférese, estima-se que cada unidade de CP apresente cerca de  $5,5 \times 10^{10}$  plaquetas em 50-60 mL de plasma, as unidades obtidas por aférese possuem aproximadamente  $3 \times 10^{11}$  plaquetas em 200-300mL de plasma. A dose usual do CP é de 1U de CP para cada 10 kg de peso do paciente, em pacientes pediátricos o cálculo é de 5-10ml/kg. A compatibilidade ABO e RhD é altamente recomendada, visto que tal incompatibilidade pode reduzir até 20% o incremento plaquetário, contribuindo para desenvolvimento de refratariedade plaquetária imune <sup>1</sup>.

As indicações de transfusões de CP são associadas a plaquetopenias por: falência medular, distúrbios associados a função plaquetária, plaquetopenia por diluição ou destruição periférica e procedimentos cirúrgicos, sendo cada caso bem avaliado tendo em vista a contagem de plaquetas que o paciente apresenta e seu estado clínico geral, presença de sangramento ativo, pode ser profilático, mas deve visar sempre um desfecho com benefícios reais ao paciente<sup>1'2</sup>.

Após a administração do CP se faz necessário avaliar o incremento corrigido da contagem (ICC) 1 hora e 24 horas após a transfusão. O ICC é calculado pela multiplicação do incremento plaquetário desejado (IP) pela superfície corporal do paciente (SC) dividido pela dose de plaquetas administrada.

$$\text{ICC} = \text{IP} \times \text{SC} / \text{dose}$$

Quando temos valores de ICC superiores a 7,5 em 1 h e entre 4,5 a 5 em 20-24 h, podemos considerar a transfusão bem sucedida. O ICC 1 hora avalia a recuperação plaquetária e o ICC 24h a sobrevida plaquetária <sup>1'4</sup>

A refratariedade a transfusão de plaquetas é quando não obtemos um incremento ideal após transfusões de CP ABO compatíveis e recentes, nesses casos o ICC 1 h se encontra abaixo de 5 e o ICC 24h abaixo de 2,5. A refratariedade plaquetária ocorre por causas imunes e não-imunes. Sendo uma problemática cada vez mais frequente, principalmente quando falamos de pacientes politransfundidos <sup>3'4</sup>.

As causas não imunes de refratariedade plaquetária são: esplenomegalia, febre, coagulação intravascular disseminada, hemorragias, medicamentosas ou

por comorbidades (doenças veno-oclusiva). A ocorrência por causas imunes é menos frequente, sendo a causa de 10% a 25% dos casos de refratariedade, e se deve por conta de aloimunizações seja pelo sistema antígeno leucocitário humano (HLA) ou contra os antígenos plaquetários humanos (HPA) <sup>4'5</sup>.

O sistema HLA tem sua expressão controlada por genes presentes no cromossomo 6, sendo uma herança genética mendeliana. O HLA classe I tem suas moléculas expressas em quase todas as células nucleadas, já o HLA classe II tem uma expressão mais restrita às células imunológicas, estando presente nos linfócitos B, linfócitos T e células apresentadoras de antígenos (monócitos, macrófagos e células dendríticas). As plaquetas possuem maior expressão de antígenos HLA classe I, os mais relevantes para a refratariedade plaquetária são os HLA-A e HLA-B <sup>6</sup>. A principal função de tal sistema é o processamento de antígenos para seu reconhecimento pelos linfócitos T <sup>7</sup>. Portanto, a compatibilidade do sistema HLA é fundamental para o sucesso de transplantes e se faz cada vez mais importante dentro da hemoterapia.

O sistema HPA origina-se de polimorfismos dos genes codificadores dos aminoácidos que compõem as glicoproteínas da membrana plaquetária. Temos 12 HPAs agrupados em seis sistemas bialélicos (HPA 1 a 5 e 15), onde a presença de aloanticorpos ocorre mais frequentemente para o alelo A do que o B. A presença de tais anticorpos está associada a destruição plaquetária e conseqüentemente plaquetopenia <sup>8'9</sup>. Logo, a compatibilidade do sistema HPA do doador e receptor de CP é fundamental para o sucesso da transfusão, em certos casos.

A plaquetopenia é um problema de saúde pública e a única alternativa em muitos casos é a transfusão de CPs, a refratariedade plaquetária é uma condição que causa extrema preocupação ao manejo dos pacientes, principalmente os oncohematológicos. Logo, é de extrema importância que o tema seja cada vez mais estudado e explorado no meio acadêmico.

## **OBJETIVO**

Tendo em vista, os desafios clínicos que a refratariedade plaquetária apresenta e sua ocorrência por causas imunes, buscamos fazer uma revisão bibliográfica na literatura sobre o tema.

## **METODOLOGIA**

Foi realizada uma revisão bibliográfica por meio de buscas nas principais plataformas eletrônicas de publicações científicas, sendo elas: Public/Publisher Medline (PubMed); Scientific Electronic Library Online (SciELO); Literatura Latino-Americana e do Caribe em ciências da saúde (LILACS), Google Scholar. Os descritores utilizados foram “refratariedade plaquetária imune” e “platelets immune refractoriness”. O período selecionado foi de 10 anos da data de publicação dos trabalhos científicos.

## **DESENVOLVIMENTO**

### **1 PACIENTES MAIS ACOMETIDOS PELA REFRATARIEDADE PLAQUETÁRIA IMUNE**

Os pacientes que recebem transfusões plaquetárias crônicas, principalmente aqueles que são portadores de leucemias mielóides agudas, síndrome mielodisplásica e submetidos a quimioterapias acabam sofrendo mais com aloimunizações e refratariedade plaquetária imune <sup>10</sup>. Estudo de Hortelão 2012, mostrou que de 30 pacientes oncohematológicos 20% apresentaram refratariedade plaquetária. Pacientes que receberam transplantes de medula óssea também enfrentam tal situação, como demonstrado no estudo de Ziza et al. 2021 <sup>11</sup>, todos os 11 pacientes com suspeita de refratariedade plaquetária imune apresentaram positividade para anticorpos anti-HLA classe I e/ou HPA no teste de compatibilização plaquetária.

### **2 ANTICORPOS ENVOLVIDOS NA REFRATARIEDADE PLAQUETÁRIA E METODOLOGIAS PARA DETECÇÃO DE COMPATIBILIDADE**

Os principais antígenos envolvidos na refratariedade plaquetária são aqueles dos sistemas ABO, HPA e HLA como já descrito em literatura.

De acordo com o estudo de Bianchini et. al. 2012 <sup>10</sup>, que avaliou as frequências genóticas e alélicas dos antígenos plaquetários por PCR, foi demonstrado que em relação aos antígenos HPA o alelo A foi o mais frequente

com base nos 150 pacientes oncohematológicos trombocitopênicos analisados, sugerindo que os pacientes homocigotos para o alelo B apresentam maior predisposição para a aloimunização e refratariedade plaquetária pós transfusões, já que a probabilidade de entrarem em contato com antígenos incompatíveis chega a 100%.

O estudo conduzido na Argélia pesquisando a frequência de anticorpos anti-HPA em pacientes poli transfundidos, pela metodologia de Imobilização de Antígenos Plaquetários com Anticorpos Monoclonais (MAIPA) demonstrou que dos 177 pacientes 21 pacientes foram refratários a transfusão de plaquetas e apenas 14% ocorreu por causas imunes, apresentando anticorpos anti-HPA 1b, anti-HPA 5b e anti-complexo glicoproteico GPIb IX de plaquetas, com associação aos anticorpos anti-HLA em alguns casos <sup>12</sup>.

A análise de anticorpos em pacientes submetidos a transplante de medula óssea com refratariedade plaquetária pelo teste de imunofluorescência plaquetária (PIFT), capaz de identificar anticorpos contra os HLA de classe I e HPA, demonstrou alta prevalência de anticorpos neste grupo de pacientes e a importância da realização de testes de compatibilização <sup>11</sup>.

O estudo de Dutra et al. 2019 <sup>13</sup> analisou a frequência alélica e haplotípica de doadores saudáveis de plaquetas pela metodologia de microarrays, foi observado que o haplótipo obtido de HLA no Brasil é mais semelhante ao hispânico seguido pelo caucasiano, já o HPA foi semelhante aos encontrados na Argentina, Rio Grande do Sul e Itália, ressaltando a importância do conhecimento genotípico da população brasileira e criação de um banco de dados de doadores possibilitando transfusões mais compatíveis e compartilhamento de dados entre as agências transfusionais.

Além das metodologias já comentadas acima, destacam-se também a citometria de fluxo, slot blotting, teste de linfotoxicidade dependente de complemento (CDC) e detecção de anticorpos específicos contra doador (DSA). O estudo comparativo da citometria de fluxo e slot blotting com a metodologia de MAIPA demonstrou que a citometria de fluxo apresenta maior sensibilidade e especificidade, mas o slot blotting com uma sensibilidade aceitável é uma técnica eficaz, com boa capacidade para detecção de antígenos HLA e HPA ou ambos <sup>14</sup>, a citometria de fluxo aparenta ter maior correlação com os antígenos HLA, sendo uma metodologia rápida e muito importante nos testes de prova cruzada

entre doador e receptor <sup>15</sup>. O CDC mede a citotoxicidade dos anticorpos dos pacientes que serão transfundidos, sendo útil nos casos de incompatibilidade HLA como preditivo para o sucesso transfusional, já o DSA foi um método seguro para guiar compatibilidade e incompatibilidades aceitáveis HLA, resultando em transfusões com um bom ICC, mostrando-se um método valioso para os casos de refratariedade plaquetária <sup>16</sup>

### **3 MANEJO DA REFRATARIEDADE PLAQUETÁRIA IMUNE**

Uma vez diagnosticada a refratariedade plaquetária, com base no cálculo de CCI, incremento e porcentagem de recuperação plaquetária, precisamos de estratégias afim de superar tal desfecho negativo.

Abordagens com base na seleção de doadores com compatibilidade HLA se faz necessária, sendo 3 estratégias muito utilizadas: identificação de doadores HLA/HPA compatíveis, seleção de plaquetas antígeno-negativas e prova cruzada <sup>17</sup>.

A seleção de plaquetas antígeno-negativas baseia-se na pesquisa de plaquetas de doadores sem antígenos HLA para os quais o paciente já possui anticorpos contra. O que aumenta a quantidade de plaquetas aptas para transfusão, porém não impede futuras aloimunizações, é uma alternativa interessante em um curto período de tempo <sup>17,18</sup>.

A prova cruzada é uma alternativa interessante e rápida para avaliar a interação entre o plasma do receptor e as plaquetas do doador, é uma alternativa em casos que ainda não está disponível os resultados dos testes de detecção de antígenos e anticorpos para os sistemas HLA e HPA. Tornando possíveis as transfusões de CPs para pacientes com sensibilização baixa a moderada contra antígenos HLA em casos de urgências médicas <sup>19</sup>.

A seleção de plaquetas HLA/HPA compatíveis é o melhor cenário no caso de refratariedade plaquetária imune, mas requer um banco de dados de doadores com antígenos já conhecidos e também realizar a tipagem completa do paciente a ser transfundido, sendo um processo que requer mais tempo <sup>18</sup>.

Há outras alternativas ao manejo da refratariedade plaquetária como a infusão de plaquetas por períodos mais longos e uso de Eculizumab. O estudo de Cid et al. 2017 avaliou infusões contínuas por 24 horas em pacientes com refratariedade plaquetária e demonstrou ser uma saída para os casos em que



não temos disponibilidade de plaquetas HLA/HPA compatíveis, havendo eficácia no tratamento e prevenção de hemorragia nestes pacientes.

O Eculizumab é um anticorpo monoclonal que age inibindo a fração C5 do complemento, foi administrada uma dose única para pacientes aloimunizados e refratários as transfusões de plaquetas que apresentavam intensa trombocitopenia, obteve-se um incremento plaquetário em 40% dos pacientes mesmo alguns recebendo plaquetas HLA incompatíveis, logo, a inibição do complemento pode ser um modo de tratar a refratariedade plaquetária imune <sup>20</sup>.

## **CONCLUSÃO**

A refratariedade plaquetária é definida como uma falha transfusional, onde não obtemos um incremento plaquetário desejado, gerando diversas consequências que envolvem: aumento do risco de sangramento, redução da sobrevida, internações mais longas e mais despesas médicas <sup>21</sup>.

Os métodos para prevenção da refratariedade plaquetária incluem uso de CP ABO compatíveis, coletados recentemente, CPs obtidos por aférese e leucorreduzidos (filtrados ou irradiados) <sup>2</sup>. Sendo de extrema importância principalmente para aqueles pacientes que recebem transfusões crônicas.

Atualmente temos diversos métodos para detecção de anticorpos facilitando a compatibilidade das transfusões. Porém o acesso ainda é restrito, as técnicas de prevenção acabam sendo mais vantajosas como demonstrado em um estudo clínico com pacientes em tratamento de leucemia mieloide aguda 16% daqueles que receberam transfusão de CP sem leucorredução apresentaram refratariedade a transfusão de plaquetas, a leucorredução por filtração ou irradiação UV é igualmente eficaz na redução da refratariedade plaquetária, mas observou-se que os CP obtidos por aférese não apresentaram benefícios quando comparado com as randômicas, mesmo sendo considerado como um dos métodos de profilaxia <sup>22</sup>.

Os pacientes que receberão transfusões de plaquetas crônicas precisam ser melhor assistidos, realizando a pesquisa de aloanticorpos antes mesmo do início do esquema transfusional, além de acompanhamentos periódicos <sup>23</sup>. Foi observado um bom manejo para os pacientes submetidos a transplante de célula-tronco hematopoiética alogênico, quando realizada a pesquisa de aloanticorpos por citometria de fluxo ou imunofluorescência precocemente <sup>24</sup>.

A criação de um banco de dados contendo os genótipos, antígenos e anticorpos do sistema HLA dos doadores e pacientes, disponíveis para os bancos de sangue, agências transfusionais e equipes oncológicas seria um grande avanço ao combate da refratariedade plaquetária, reduzindo sua ocorrência e melhor utilização dos CPs <sup>25</sup>.

Os avanços tecnológicos em sistemas e softwares eficazes na análise de dados, afim de oferecerem painéis para compatibilização HLA e HPA se mostram cada vez mais necessários.

Na ausência de um cenário ideal à compatibilização plaquetária, técnicas alternativas como o uso do Eculizumab podem ser uma saída relativamente segura para o manejo da refratariedade plaquetária.

Contudo, precisamos ressaltar a importância da identificação precoce de pacientes aloimunizados, implementar medidas que visem aumentar a acessibilidade aos testes empregados nos estudos de compatibilização e priorizar tais análises, já que é o melhor cenário para o grupo de pacientes mais suscetível ao desenvolvimento da refratariedade plaquetária.

## REFERÊNCIAS

- 1 Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde. Guia para o Uso de Hemocomponentes. 2015.
- 2 Hemocentro de Campinas, UNICAMP. Manual Orientações em Hemoterapia. 2018
- 3 Hospital Universitário Prof.Polydoro Ernani de São Thiago, Universidade Federal de Santa Catarina UFSC/EBSERH Manual para o Uso Racional do Sangue. 2017.
- 4 Biagini, S; Albiero, A. Manual de Transfusão. São Paulo: Fundação Pró-sangue Hemocentro de São Paulo. 2018.
- 5 Doughty, H., Murphy, M., Metcalfe, P., Rohatiner, A., Lister, T. & Waters, A. Relative importance of immune and non-immune causes of platelet refractoriness. *Vox Sanguinis*, 1994.
- 6 Choo SY. The HLA system: genetics, immunology, clinical testing, and clinical implications. *Yonsei Med J*. 2007
- 7 FRAGA, R. S.; NEUMANN, J. Complexo de Histocompatibilidade Principal. In: SCROFERNEKER, M. L.; POHLMANN, P. R. (Ed.). *Imunologia básica e aplicada*. Porto Alegre: Sagra Luzzatto, 1998.
- 8 Hurd CM, Cavanagh G, Schuh A, Ouwehand WH, Metcalfe P. Genotyping for platelet-specific antigens: techniques for the detection of single nucleotide polymorphisms. *Vox Sang*, 2002.
- 9 Metcalfe P, Watkins NA, Ouwehand WH, Kaplan C, Newman P, Kekomaki R, et al. Nomenclature of human platelet antigens. *Vox Sang*, 2003.
- 10 BIANCHI JVS, Azevedo MRA, Jens R, Nukui Y, Charmone DAF. 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.
- Hortelão DGQ. *Ativação Plaquetária e Outros Fatores Condicionantes da Resposta à Transfusão De Plaquetas*. Universidade Católica Portuguesa, Porto Instituto de Ciências da Saúde, 2012.
- 11 Ziza KNC, Conrado MCAV, Oliveira VB, Dezan MR, Rocha V, Mendrone-Junior A, Dinardo CL. Investigação da Refratariedade Plaquetária Imune em Pacientes Submetidos ao Transplante de Células Progenitoras Hematopoiéticas. *Hematology, Transfusion and Cell Therapy*, 2021.
- 12 Brouk H, Bertrand G, Zitouni S, Djenouni A, Martageix C, Griffi F, Kaplan C, Ouelaa H. HPA antibodies in Algerian multitransfused patients: Prevalence and involvement in platelet refractoriness. *Transfus Apher Sci*, 2015
- 13 Dutra VF, Bub CB, Costa TH, Santos LD, Bastos EP, Aravechia MG, Kutner JM. Frequência alélica e haplotípica dos antígenos plaquetários e leucocitários humanos em doadores de plaquetas. *Einstein Journal*, 2019.
- 14 Ameri Z, Vahidi R, Khaleghi M, Dehesh T, Sheikhbardsiri A, Farsinejad A. Slot blotting and flow cytometry: two efficient assays for platelet antibody screening among patients with platelet refractoriness. *Vox Sang*. 2021
- 15 Bub CB, Martinelli BM, Avelino TM, Gonçalves AC, Barjas-Castro Mde L, Castro V. Platelet antibody detection by flow cytometry: an effective method to evaluate and give transfusional support in platelet refractoriness. *Rev Bras Hematol Hemoterapy*, 2013

16 Karlström C, Linjama T, Edgren G, Lauronen J, Wikman A, Höglund P. HLA-selected platelets for platelet refractory patients with HLA antibodies: a single-center experience. *Transfusion*, 2019

17 . Stanworth SJ, Navarrete C, Estcourt L, Marsh J. Platelet refractoriness--practical approaches and ongoing dilemmas in patient management. *Br J Haematol*. 2015

18 Forest SK, Hod EA. Management of the Platelet Refractory Patient. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2016;19(1):1-19. Kopko PM, Warner P, Kresie L, et al. Methods for the selection of platelet products for alloimmune-refractory patients. *Transfusion*, 2015.

19 Kopko PM, Warner P, Kresie L, et al. Methods for the selection of platelet products for alloimmune-refractory patients. *Transfusion*, 2015.

Cid J, Guijarro F, Carbassé G, Lozano M. 24-h continuous infusion of platelets for patients with platelet transfusion refractoriness. *Br J Haematol*, 2018

20 Vo P, Purev E, West KA, McDuffee E, Worthy T, Cook L, Hawks G, Wells B, Shalabi R, Flegel WA, Adams SD, Reger R, Aue G, Tian X, Childs R. A pilot trial of complement inhibition using eculizumab to overcome platelet transfusion refractoriness in human leukocyte antigen allo-immunized patients. *Br J Haematol*, 2020

21 Meehan, KR, Matias, CO, Rathore, SS, Sandler, SG, Kallich, J, LaBrecque, J, Erder, H & Schulman, KA. Platelet transfusions: utilization and associated costs in a tertiary care hospital. *American Journal of Hematology*, 2000.

22 Trial to Reduce Alloimmunization to Platelets Study Group. Leukocyte reduction and ultraviolet B irradiation of platelets to prevent alloimmunization and refractoriness to platelet transfusions. *N Engl J Med*, 1997

23 WENDEL, RCLF. Avaliação de Diferentes Metodologias Laboratoriais para Detecção de Aloanticorpos Plaquetários. Determinação da Prevalência e Importância Clínica Destes Aloanticorpos em Pacientes Transfundidos. Tese (Doutorado) Universidade de São Paulo, 2008.

24 Faulhaber, GAM, Franz JPM. Estudo de refratariedade plaquetária e suporte transfusional em pacientes submetidos ao transplante de células-tronco hematopoéticas alogênico. Tese (Doutorado) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2021.

25 Gordon WJ, Baronas J, Lane WJ. A FHIR Human Leukocyte Antigen (HLA) Interface for Platelet Transfusion Support. *Appl Clin Inform*, 2017.