

Artigo / Article

Estudo da refratariedade plaquetária do dia 0 ao 50, em pacientes submetidos a transplante de medula óssea*Study of the platelet refractoriness in patients submitted to bone marrow transplant from day 0 to day 50*

Gerson G. de Paula
Márcia C. Novaretti
Diana H. B. Pozzi
Dalton A. F. Chamone

Entre outubro de 1997 e julho de 1999 pesquisou-se a refratariedade plaquetária em 15 pacientes na fase precoce do TMO alogênico e autoplástico, com idade variando de 1 a 66 anos no Hospital São Camilo. Para esta avaliação, foram utilizados os seguintes parâmetros: evolução clínica, cálculo corrigido do incremento plaquetário (CCI), teste de microlinfocitotoxicidade dependente de complemento (CDC) e ensaios plaquetários por aderência de células vermelhas em fase sólida (SPRCA). A refratariedade plaquetária foi definida como falha de resposta a uma transfusão de dois concentrados de plaquetas ABO compatíveis, quando o cálculo corrigido do incremento plaquetário (CCI) de uma hora pós-transfusional era inferior a 7,5 ou de 24 horas < 4,5. Apenas a análise do CCI de 24 horas mostrou significância estatística. A refratariedade plaquetária foi detectada em 80,0% dos casos, tendo como causa principal os fatores não imunológicos, como: anfotericina 66,66%, doença veno-oclusiva hepática 53,33%, febre de origem indeterminada 40,0%, esplenomegalia epistaxe leve, febre, melena grave, hematêmese grave e infecção bacteriana 20,0%. Melena leve, enterorragia grave, epistaxe moderada e grave 13,33%, enquanto CIVD, enterorragia moderada e grave 6,66%. Os fatores imunológicos foram representados pela presença da reação aguda do enxerto contra hospedeiro (aGVHD) em 33,0% e infecção por citomegalovírus (CMV) em 13,33%, embora a detecção de auto-anticorpos tenha sido negativa. Conclui-se que a análise do CCI pós-transfusional de 24 horas mostrou ser um método de escolha para detecção da refratariedade e de útil aplicabilidade em pacientes trombocitopênicos refratários, em particular naqueles submetidos ao TMO. Rev. bras. hematol. hemoter. 2004;26(1):3-12.

Palavras-chave: Refratariedade plaquetária; transplante de medula óssea; transfusão de plaquetas, antígenos plaquetários humanos; testes imunológicos de citotoxicidade.

Introdução

O transplante de medula óssea (TMO) é uma modalidade terapêutica atualmente empregada no tratamento de diversas doenças, incluindo onco-hematológicas, tumores sólidos e doenças genéticas.¹ Dependendo do pro-

cesso fisiopatológico, da resposta à quimioterapia e da disponibilidade de doadores, o paciente é selecionado e dirigido ao programa de TMO alogênico ou autoplástico. Com o aparecimento da aplasia medular, em decorrência do regime de condicionamento químico e/ou radioterápico instituído, os pacientes submetidos ao TMO tornam-se

Local institucional onde o trabalho foi realizado: Hospital e Maternidade São Camilo.
Instituição científica dos autores: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Correspondência para: Gerson Geraldo de Paula
Alameda Corvina, 373 - residencial 11 - Alphaville
06540-325 - Santana de Parnaíba-SP
Telefone: 3875-5146 ou 3865-1288 - e-mail: gersongp@terra.com.br

suscetíveis a hemorragias, infecções e anemia, necessitando de transfusões de concentrados de plaquetas e hemácias.² O suporte transfusional é, portanto, fundamental para o sucesso desta terapêutica em especial, a terapia transfusional plaquetária.

Evidências passadas indicavam que a transfusão de concentrados plaquetários ABO compatíveis produziria melhores incrementos que ABO incompatível.² Atualmente verifica-se a clara participação da incompatibilidade ABO entre os fatores não imunes da refratariedade plaquetária.³ Além disso, o reconhecimento da importância da compatibilidade HLA parecia favorecer uma melhora na terapia transfusional plaquetária aos pacientes que se tornavam aloimunizados e refratários à transfusão de plaquetas.² Entretanto, sabe-se atualmente que a presença de anticorpos HLA não se mantém necessariamente durante o período de exposição às transfusões, assim como sua existência não é sinônimo de refratariedade.⁴

Por outro lado, o papel dos filtros na depleção leucocitária em concentrados de plaquetas e células vermelhas levou à redução da frequência da aloimunização e da refratariedade plaquetária e diminuição dos riscos de transmissão do citomegalovírus, da frequência de reação febril não-hemolítica pós-transfusional, com melhora da recuperação intravascular de plaquetas mesmo em pacientes previamente aloimunizados.^{5,6} Pacientes trombocitopênicos que necessitam de transfusões repetidas, em particular os receptores de transplantes de medula óssea, podem se tornar refratários à transfusão de concentrados plaquetários, devido a diversos fatores, tais como: presença de esplenomegalia, febre, infecção, coagulação intravascular disseminada, alguns antibióticos e antifúngicos, doença veno-oclusiva hepática, além de fatores imunológicos envolvidos como anticorpos dirigidos contra o sistema antigênico próprio das plaquetas, denominados de anticorpos antiplaquetários específicos, aloimunização e formação de anticorpos associados ao sistema antigênico HLA, assim como a presença da reação aguda do enxerto contra hospedeiro^{7,8,9} e a infecção pelo citomegalovírus, que podem, ambas, estar relacionadas com o aparecimento da trombocitopenia auto-imune.^{10,11} As condições de armazenamento provocam alterações no metabolismo e função das plaquetas, entre elas: o pH inicial, a temperatura de estocagem, a contagem total de plaquetas, o volume do plasma, a duração do armazenamento, a agitação durante a estocagem e o acúmulo de íon hidrogênio.¹² Numerosas variáveis inter-relacionadas também podem afetar a função e a viabilidade das plaquetas durante o armazenamento: o anticoagulante empregado na coleta do sangue, o método utilizado para preparar os concentrados de plaquetas, a composição, área de superfície e a espessura das paredes do recipiente de armazenamento.¹² Atualmente, os concentrados plaquetários são preparados e estocados a 22 graus centígrados. Nesta

temperatura, a principal dificuldade observada é a regulação do pH.¹² A diminuição do pH de 6,8 para 6,0 altera a forma das plaquetas de discos para esferas, porém sendo reversíveis se as plaquetas forem ressuspensas em plasma com pH fisiológico.¹² Todavia, com pH abaixo de 6,0, a alteração plaquetária é irreversível, tornando-a inviável após a infusão in-vivo.¹² No passado, o termo refratariedade plaquetária referia-se à falha da resposta a duas transfusões de concentrados plaquetários consecutivos,¹³ sendo a resposta à transfusão determinada pela cessação clínica do sangramento e pela mensuração pós-transfusional do incremento plaquetário.¹⁴ O incremento plaquetário, por sua vez, geralmente é mensurado entre dez minutos e uma hora¹⁴ e 24 horas, sendo expresso como um cálculo corrigido do incremento plaquetário (CCI).^{14,15,16} Atualmente, define-se a refratariedade plaquetária como a resposta transfusional inadequada, baseada em dados quantitativos do CCI ou percentual de recuperação.⁴ É sabido que a maioria das complicações do TMO ocorre durante os cem primeiros dias após este procedimento terapêutico, devido à complexidade clínica destes pacientes, principalmente em razão da toxicidade do regime de condicionamento, infecções, distúrbios imunológicos causados pelo próprio transplante, alteração do sistema hematopoético, uso intensivo de múltiplos medicamentos e, em particular, a refratariedade plaquetária no período de aplasia medular na fase precoce do TMO. Os trabalhos referentes ao papel da refratariedade plaquetária em indivíduos submetidos ao TMO são escassos e poucas publicações deste assunto foram revistas e referenciadas na revisão da literatura.

Casuística e Métodos

Foram estudados, prospectivamente, 15 pacientes aceitos e incluídos no programa de TMO no Hospital São Camilo entre outubro de 1997 e julho de 1999. Todos os pacientes, doadores e responsáveis foram informados dos propósitos, riscos e benefícios do tratamento, obtendo-se os consentimentos, por escrito, em termos explicativos quanto aos procedimentos, seguindo-se os preceitos ditados pela declaração de Helsinki. Os doadores foram selecionados entre os familiares, através de estudos de histocompatibilidade que compreenderam a tipagem sorológica dos antígenos leucocitários humanos (HLA) e a cultura mista de linfócitos sendo tipados em 100% dos casos os loci A, B, C, DR, DQ e DP. Os doadores foram considerados aptos para a doação da medula óssea, através de exames laboratoriais normais das funções cardíaca, pulmonar, renal, hepática e sorologias negativas para transfusão sanguínea, assim como do exame clínico normal. O suporte transfusional de hemácias, plaquetas randomizadas e aqueles obtidos através de procedimentos automatizados, denominados de trombocitaféreses, transfundidos

nos pacientes deste estudo no período pré-TMO, foram deleucotizados por filtros de retenção de leucócitos pré-estocagem e irradiados através do "Gama Cell", utilizando-se como fonte ionizante de irradiação o césio 137. Nesta fase se preconizava a não utilização de membros da família como doadores de sangue e hemocomponentes para evitar a possibilidade da aloimunização ao sistema HLA e HPA, com aparecimento da refratariedade plaquetária imunológica, assim como a rejeição do enxerto medular, principalmente naqueles pacientes que apresentavam como diagnóstico anemia aplástica grave.

No período pós-TMO, o suporte transfusional incluía tanto os cuidados anteriores mencionados como também a possibilidade de utilização de concentrados de trombocitaféreses, provenientes do próprio doador de medula óssea e de familiares relacionados, quando na presença de refratariedade plaquetária. As plaquetas foram transfundidas em bases profiláticas quando a contagem plaquetária era inferior a 20×10^9 /litro ou acima destes em casos de intervenção terapêutica ou sangramento, e a transfusão de concentrados de hemácias, durante o período de aplasia medular no período pós-TMO, apenas para preservar a hemoglobina dos pacientes em níveis hematimétricos maiores que 10 g/dL. As trombocitaféreses, neste período, foram realizadas para obter plaquetas de doadores voluntários, membros da família ou doadores selecionados fenotipados para o sistema HLA e de irmãos doadores da medula óssea. Foi contra-indicada a doação naqueles indivíduos que apresentavam contagem plaquetária abaixo de 150×10^9 /L no sangue periférico. Utilizaram-se máquinas de fluxo intermitente da marca Haemonetics MCS-PLUS LN 9000 e de fluxo contínuo da marca Baxter Fenwal Cs-3000. Como parte do controle de qualidade e de garantia do produto, foram realizadas contagem de leucócitos pré e pós-filtração em câmara de "Newbauer" e avaliação do pH de cada concentrado plaquetário antes da utilização, sendo administradas somente plaquetas com um pH entre 6,0 e 6,8. Conforme Harmening (1986) e Murphy (1985), a diminuição do pH de 6,8 para 6,0 altera a forma das plaquetas de discos para esferas e de forma irreversível quando abaixo de 6,0, tornando-as inviáveis após a infusão. Foi também realizada a análise do rendimento plaquetário pré e pós-filtração obtida em todas as unidades de trombocitaféreses transfundidas e adotada como ideal uma recuperação plaquetária superior a 90%, com mais de 3 logs de leucorredução. Estabeleceu-se a obtenção de uma concentração mínima de $3,0 \times 10^{11}$ células plaquetárias em mais de 90% de nossas unidades testadas. Foram utilizados como métodos de avaliação da refratariedade plaquetária o cálculo corrigido do incremento plaquetário pós-transfusional (CCI) de 1 e 24 horas, análise dos fatores imunológicos e não imunológicos envolvidos e avaliação do estado de hemostasia dos pacientes do estudo. Além disso, foram utilizados teste de

microlinfocitotoxicidade na pesquisa sorológica de anticorpos associados ao sistema HLA através da metodologia de citotoxicidade dependente de complemento (CDC), sensibilizada com antiglobulina humana (AGH) em um painel de 35 células de doadores selecionados para antígenos HLA de classe I conforme a frequência antigênica distribuída na população, bem como ensaios plaquetários em meio de fase sólida (SPRCA) na pesquisa de anticorpos associados ao sistema antigênico próprio das plaquetas utilizando-se microplacas de poliestireno na captura de anticorpos plaquetários do soro dos pacientes e doadores e uma suspensão de hemácias indicadoras recobertas por anti-IgG. As amostras dos doadores e dos pacientes foram coletadas em EDTA e não aceitas quando coaguladas para os testes realizados em SPRCA¹² e em tubo sem anticoagulante para os testes de microlinfocitotoxicidade. A refratariedade plaquetária ou a falha na resposta à transfusão de concentrados de plaquetas foi definida como a não ocorrência do incremento plaquetário pós-transfusional, em duas unidades de trombocitaféreses ABO compatíveis, que continham uma dose mínima de $3,0 \times 10^{11}$ células plaquetárias corretamente preparadas e estocadas. A fórmula utilizada para análise do cálculo corrigido do incremento plaquetário (CCI) foi representada pela equação a seguir, segundo Kickler et al (1983) e Vengelen-Tyler et al (1993): número de plaquetas transfundidas $\times 10^{11} \times \text{CCI} = (\text{contagem de plaquetas pós-transfusional} - \text{contagem de plaquetas pré-transfusional}) \times \text{superfície corpórea (m}^2)$. Um CCI maior que 7,5 - 10×10^9 em uma amostra colhida de dez minutos e uma hora após a transfusão ou um CCI maior que $4,5 \times 10^9$ em uma amostra colhida de 18 e 24 horas sugeriu uma resposta adequada à transfusão alogênica dos concentrados plaquetários. A contagem plaquetária do sangue periférico foi realizada em equipamento semi-automatizado (Coulter, série 890). Os pacientes que, repetidamente, apresentaram resposta clínica e CCI abaixo destes parâmetros, em duas unidades de trombocitaféreses ABO compatíveis, consecutiva, foram classificados como refratários à transfusão de plaquetas. Aqueles que apresentaram um CCI de um hora diminuído, à exceção daqueles que concomitantemente apresentaram-se com quadros de esplenomegalia, foram classificados, primariamente, como pacientes imunologicamente refratários à transfusão de concentrados de plaquetas. Por outro lado, os que apresentaram um CCI de 18 a 24 horas diminuído foram classificados como pacientes refratários em decorrência de fatores não imunológicos envolvidos.

Resultados

Durante o período de outubro de 1997 a julho de 1999 foram estudados, prospectivamente, 15 pacientes aceitos e incluídos no programa de TMO no Hospital São

Tabela 1
Características dos pacientes e tipos de TMO
aos quais foram submetidos

Paciente/ Doença	Idade	Sexo	Diagnóstico	Tipo de Transplante
01 LMA	1	F	Leucemia mielóide aguda em 1ª remissão completa	Transplante de medula óssea alogênico com 1 antígeno "mismatch" no locus DR
02 LMA	34	F	Leucemia mielóide aguda (M5) em 1ª remissão completa	Transplante de medula óssea alogênico
03 LMA	54	F	Leucemia mielóide aguda em 1ª recidiva	Transplante de medula óssea alogênico
04 LMA	45	M	Leucemia mielóide aguda (M6) em 1ª recidiva refratária	Transplante de medula óssea autoplástico
05 LNH	37	F	Linfoma não-Hodgkin de grau intermediário	Transplante de medula óssea alogênico
06 LNH	57	M	Linfoma não-Hodgkin de alto grau	Transplante de células progenitoras periféricas autólogas
07 LNH	66	M	Linfoma não-Hodgkin de alto grau	Transplante de células progenitoras periféricas autólogas
08 LMC	28	M	Leucemia mielóide crônica em 1ª fase crônica	Transplante de medula óssea alogênico
09 LMC	35	F	Leucemia mielóide crônica em 1ª fase crônica	Transplante de medula óssea alogênico
10 LLA	16	M	Leucemia linfóide aguda em 3ª recaída	Transplante de medula óssea alogênico
11 LLA	48	M	Leucemia linfóide aguda em 2ª recidiva	Transplante de células progenitoras periféricas autólogas
12 LAI	56	F	Leucemia aguda indiferenciada	Transplante de células progenitoras periféricas alogênico
13 MM	43	F	Mieloma múltiplo	Transplante de células progenitoras periféricas alogênico
14 LMMC	51	F	Leucemia mielomonocítica crônica com sarcoma granulocítico em fase acelerada	Transplante de células progenitoras periféricas alogênico
15 AAS	28	M	Anemia aplástica grave	Transplante de medula óssea alogênico

LMA - Leucemia mielóide aguda; LNH - Linfoma não-Hodgkin; MC - Leucemia mielóide crônica; LLA - Leucemia linfóide aguda; LAI - Leucemia aguda indiferenciada; MM - Mieloma múltiplo; LMMC - Leucemia mielomonocítica crônica; AAS - Anemia aplástica grave; M - Sexo masculino; F - Sexo feminino

Camilo. A tabela 1 sumariza as principais características dos pacientes e os tipos de TMO aos quais foram submetidos. Em se tratando do dia, a mediana do número de granulócitos para atingir níveis acima de 500/mm³ e acima de 1.000/mm³ variou, respectivamente, entre os dias + 12 e + 20 e para contagem de plaquetas acima de 50.000/mm³ nos dias + 22 ao + 24.

O suporte transfusional nos pacientes deste estudo, na fase pré-TMO, não utilizou membros da família como doadores de sangue e hemocomponentes em nenhum momento. As unidades de concentrados plaquetários administradas nos pacientes estudados no período pós-TMO foram obtidas em 100% dos casos através de concentra-

dos de trombocitaférese. Ambos os equipamentos utilizados para coleta de plaquetas em automação obtiveram concentrações plaquetárias mínimas de 3,0 x 10¹¹ células em 99,52 % das unidades testadas. A média do número de leucócitos pré e pós-filtração encontrada nos 15 pacientes do estudo foi de 1,97 x 10⁸ e 0,51 x 10⁴, respectivamente. Já a média do rendimento plaquetário resultou em 3,58 x 10¹¹ células plaquetárias pós-filtração em mais de 90% das unidades testadas. Para a comparação do número de leucócitos e rendimento plaquetário pré e pós-filtração, foi utilizado o teste não paramétrico de Wilcoxon para amostras dependentes. As variáveis foram os leucócitos pré e pós-filtração com valores de p = 0,001 e plaquetas pré e pós-filtração com valores também de p = 0,001. Conclui-se que a média do número de leucócitos e do rendimento plaquetário foi estatisticamente significativa. A média referente ao pH de cada concentrado de trombocitaférese administrado previamente às transfusões foi de 6,34, sendo 32 horas e 21 minutos a correspondente às horas em que permaneceram armazenadas. Devido à não ocorrência de variabilidade dos valores do pH estudado, não foi possível a avaliação estatística e a respectiva associação com a refratariedade plaquetária. No que se refere à compatibilidade ABO, não houve avaliação tão pouco associação estatística com a refratariedade plaquetária. O número de elementos variáveis foi insignificante e qualquer cálculo matemático incorreria em resultados falsamente adquiridos. Entretanto, considerações com respeito ao assunto foram verificadas, tais como; presença de refratariedade plaquetária no período pós-TMO, observada entre os pacientes rece-

bendo concentrados de plaquetas ABO compatíveis não relacionadas à família em 80,0% dos casos, sendo os que receberam concentrados de plaquetas ABO relacionados à família (6/13) 46,15%. Nos pacientes em que foram administrados concentrados de plaquetas ABO incompatíveis, observou-se que o percentual de refratariedade plaquetária na presença de sinais clínicos de sangramentos de forma moderada e grave foi (1/11) 9,09%, diante da doença veno-oclusiva hepática (VOD) e esplenomegalia, (2/11) 18,18%, para ambas, e em apenas um paciente, (1/11) 9,09%, não foi observada a presença de refratariedade plaquetária. Verificamos ainda em nossa casuística que um paciente (1/15) 6,60% não recebeu concentrados de plaquetas

Tabela 2
Número de componentes administrados no período pós-TMO do dia 0 ao dia + 50 e refratariedade plaquetária

Paciente/ Doença	Hemácias	Plasma	Trombocitaféreses			
			ABOCOMP		ABOINC	
			NF	F	I	RP
01 LMA em 1a RC	02	-	11	-	-	Sim
02 LMA em 1a RC	11	-	12	01 (Irmã)	03	Sim
03 LMA em 1a R	05	04	06	04 (Irmãs)	02	Sim
04 LMA em 1a RR	02	-	09	01 (Irmã)	03	Não
05 LNH GI	03	-	03	-	-	Sim
06 LNH AG	01	-	05	-	-	Não
07 LNH AG	10	01	10	-	02	Sim
08 LMC em 1a FC	10	-	10	04 (Irmãos)	03	Sim
09 LMC em 1a FC	12	36	10	03 (Irmãos)	04	Sim
10 LLA em 3a RD	08	-	10	03 (Irmãos)	06	Sim
11 LLA em 2a R	06	-	10	-	03	Sim
12 LAI	17	-	10	-	02	Sim
13 MM	07	-	08	02 (Irmãos)	-	Sim
14 LMMC em FA	39	35	22	-	09	Sim
15 AAS	11	-	12	01 (Irmão)	05	Não

LMA - Leucemia mieloide aguda; LNH - Linfoma não-Hodgkin; LMC - Leucemia mieloide crônica; LLA - Leucemia linfóide aguda; LAI - Leucemia aguda indiferenciada; MM - Mieloma múltiplo; LMMC - Leucemia mielomonocítica crônica; AAS - Anemia aplástica grave; NF - Não familiar; F - Familiar (Irmão(a) doador(a) de medula óssea, compatível no HLA classe I do MHC); I - Incompatível; RP - Refratariedade plaquetária; RC - Remissão completa; R - Recidiva; RR - Recidiva refratária; GI - Grau intermediário; AG - Alto grau; FC - Fase crônica; RD - Recaída; FA - Fase acelerada; ABO COMP - ABO Compatíveis; ABO INC - ABO Incompatíveis; MHC (Complexo Maior de Histocompatibilidade)

ABO incompatíveis e não evoluiu com refratariedade plaquetária.

A tabela 2 mostra o número de concentrados de hemácias, plaquetas e plasma administrados no período pós-TMO nos pacientes do estudo do dia 0 ao dia + 50, tipos de trombocitaféreses utilizadas e a refratariedade plaquetária. Como relatado anteriormente, dos pacientes estudados, 12/15 (80%) apresentaram refratariedade plaquetária; destes, os fatores não imunológicos foram os predominantes: 66,66% correspondeu à presença da anfotericina B, 53,33% à presença da doença veno-oclusiva hepática (VOD), 40% à presença de febre de origem indeterminada (FOI), 20% para epistaxe (EPI) leve, esplenomegalia, febre, melena grave, hematêmese grave e infecção bacteriana, 13,33% para melena leve, enterorragia grave, epistaxe (EPI) moderada e grave e 6,66% representada pela presença de enterorragia leve e moderada e CIVD. Dois pacientes apresentaram infecção pelo citomegalovírus, sendo que um deles não desenvolveu refratariedade plaquetária e outro, no período de infecção vigente, não foi transfundido com concentrado de plaquetas.

Quanto à reação aguda do enxerto contra hospedeiro, embora presente em 5/15 pacientes, o que correspondeu a 33% dos casos, não foi detectada a presença de

auto-anticorpos após a respectiva pesquisa entre os pacientes estudados. A tabela 3 mostra os fatores imunológicos e não imunológicos possivelmente envolvidos versus refratariedade plaquetária. Tanto os fatores imunológicos, quanto os não imunológicos, não apresentaram associação estatisticamente significativa com a refratariedade plaquetária quando analisados isoladamente, pois os valores obtidos de p, segundo o teste exato de Fisher, foram superiores a 0,05. Nos pacientes deste estudo, o período entre os dias + 7 ao + 21 da fase pós-TMO revelou-se o mais crítico quanto ao aparecimento de quadros hemorrágicos. O déficit em conjunto do incremento plaquetário de uma e 24 horas foi observado em 8/15 (53,33%) dos pacientes em algum momento da fase pós-TMO. Isoladamente, nenhum paciente desenvolveu alterações do CCI de uma hora, enquanto 4/15 (26,66%) apresentaram somente alterações do cálculo corrigido do incremento plaquetário de 24 horas. A tabela 4 revela a associação entre a compatibilidade ABO, alterações do CCI e a refratariedade plaquetária nos casos estudados. No que se refere ao cálculo corrigido do incremento plaquetário de uma hora, observamos a não ocorrência de associação com a refratariedade plaquetária com valores de $p = 0,077$. Toda-

via, o cálculo corrigido do incremento plaquetário de 24 horas (CCI) foi o único elemento que apresentou associação com a refratariedade plaquetária com valores de $p = 0,002$. Os resultados sorológicos, realizados através de testes de microlinfocitotoxicidade dependente do complemento (CDC) nas amostras obtidas dos 15 pacientes estudados, mostraram-se negativos para a presença de anticorpos anti-HLA. Entretanto, testes de aderência de células vermelhas em meio de fase sólida (SPRCA) revelaram-se positivos para o paciente com anemia aplástica grave. A exata especificidade do anticorpo detectada por este método no paciente supracitado não pôde ser definida; por outro lado, não se observou a presença de refratariedade plaquetária através da análise do CCI de uma e de 24 horas.

A tabela 5 relata os antecedentes obstétricos nas pacientes do estudo, apesar de não ter sido observada relação estatisticamente significativa entre eles e o número de transfusões anteriores administradas no período pré-TMO, com o aparecimento de anticorpos circulantes. A tabela 6 relata a seleção dos hemocomponentes administrados na fase pré-TMO do dia 0 ao + 50. A tabela 7 relata a seleção dos hemocomponentes administrados na fase pós-TMO do dia 0 ao + 50.

Tabela 3
Fatores não-imunológicos e imunológicos versus
refratariedade plaquetária

Fatores não-imunológicos			Refratariedade plaquetária	
Fatores não-imunológicos	N	Percentual %I	N	Percentual %
Anfotericina B p = 0,505	10/15	66,66	10/10	100,00
VOD p = 0,077	08/15	53,33	08/08	100,00
FOI p = 0,229	06/15	40,0	06/06	100,00
EPI leve p = 0,516	03/15	20,0	02/03	66,66
Esplenomegalia p = 0,999	03/15	20,0	03/03	100,00
Febre p = 0,999	03/15	20,0	03/03	100,00
Melena grave p = 0,999	03/15	20,0	03/03	100,00
Hematêmese grave p = 0,999	03/15	20,0	03/03	100,00
Infecção bacteriana p = 0,999	03/15	20,0	03/03	100,00
Melena leve p = 0,371	02/15	13,33	01/02	50,00
Enterorragia grave p = 0,999	02/15	13,33	02/02	100,00
EPI moderada p = 0,999	01/15	13,33	02/02	100,00
Enterorragia leve p = 0,999	01/15	6,66	01/01	100,00
Enterorragia moderada p = 0,999	01/15	6,66	01/01	100,00
EPI grave p = 0,999	01/15	13,33	01/01	100,00
CIVD p = 0,999	01/15	6,66	01/01	100,00
Fatores Imunológicos			Refratariedade plaquetária	
	N	Percentual %	N	Percentual %
Infecção pelo CMV p = 0,999	02/15	13,33	nenhum	-
GVHD p = 0,505	05/15	33,00	05/05	100,00

CIVD - Coagulação intravascular disseminada; VOD - Doença veno-oclusiva hepática; EPI - Epistaxe; FOI - Febre de origem indeterminada; N - Número de casos; CMV - Cítomegalovírus; GVHD - Reação aguda do enxerto contra hospedeiro

Análise Estatística

Para verificar a associação entre as variáveis, foi utilizado o teste exato de Fisher por ser o mais adequado para amostras pequenas. O teste não paramétrico de Wilcoxon para amostras dependentes foi utilizado para comparar as medidas pré e pós-filtração. Foi considerada

associação significativa quando o valor de p era menor ou igual a 0,05.

Discussão

O impacto do TMO no serviço de transfusão é, substancialmente, importante. A maioria dos pacientes candidatos a esta modalidade terapêutica apresenta doenças que requerem transfusões prévias ao transplante. Além disso, são posteriormente submetidos a um procedimento ablativo medular resultando em um período de aplasia prolongado com necessidade de um suporte transfusional relativamente intensivo até que novas células medulares reconstituam o sistema linfo-hematopoético neoformado. Apesar dos dados obtidos em nosso estudo postularem a não detecção ou inexistência de autoanticorpos HLA, ou mesmo de anticorpos plaquetários específicos HPA nas pacientes do sexo feminino, concordamos com os dados relatados pela literatura, em que a transfusão de plaquetas no período pré-transplante pode induzir a produção de anticorpos circulantes no soro dos pacientes,^{17,18,19} embora não tenha sido observada relação estatisticamente significativa entre os antecedentes obstétricos e o número de transfusões anteriores administradas no período pré-TMO, com o aparecimento de anticorpos circulantes. No período pós-TMO, ao contrário, os doadores da família, assim como o próprio doador de MO, entraram no programa de doação de aférese de plaquetas quando não ocorria uma resposta adequada à transfusão de concentrados plaquetários. O objetivo desta terapêutica foi alcançar um melhor incremento plaquetário, baseado na compatibilidade HLA.²⁰

Os dados citados na literatura revelam que a manutenção ideal da hemoglobina dos pacientes seria níveis hematimétricos superiores a 9 g/dL², muito embora, nos pacientes deste estudo tenhamos adotado como referência a transfusão de concentrados de hemácias durante o período de aplasia medular, o equivalente a 10 g/dL de hemoglobina, e a decisão para a transfusão de concentrados de plaquetas, baseada no seu uso terapêutico ou profilático. Vamos de encontro com os dados fornecidos pela literatura sobre controvérsias que ainda persistem a respeito da melhor dose a ser utilizada e da apropriada contagem plaquetária para pacientes hemostaticamente controlados e sem evidências de

Tabela 4
Compatibilidade ABO, alterações do CCI e
refratariedade plaquetária

Paciente/ Doença	Trombocitafereses		ABO	Refratariedade plaquetária	Alterações do CCI	
	ABO compatíveis				1h	24h
	NF	F				
01 LMA 1a RC	11	-	-	Sim	Sim	Sim
02 LMA 1a RC	12	01 (Irmã)	03	Sim	Sim	Sim
03 LMA 1a R	06	01 (Irmãs)	02	Sim	Não	Sim
04 LMA 1a RR	09	01 (Irmã)	03	Não	Não	Não
05 LNH GI	03	-	-	Sim	Sim	Sim
06 LNH AG	05	-	-	Não	Não	Não
07 LNH AG	10	-	02	Sim	Sim	Sim
08 LMC 1a FC	10	04 (Irmãos)	03	Sim	Não	Sim
09 LMC 1a FC	10	03 (Irmãos)	04	Sim	Não	Sim
10 LLA 3a RD	10	03 (Irmãos)	06	Sim	Sim	Sim
11 LLA 2a R	10	-	03	Sim	Não	Sim
12 LAI	10	-	02	Sim	Sim	Sim
13 MM	08	02 (Irmãos)	-	Sim	Sim	Sim
14 LMMC FA	22	-	09	Sim	Sim	Sim
15 AAS	12	01 (Irmão)	05	Não	Não	Não

LMA - Leucemia mielóide aguda; LNH - Linfoma não-Hodgkin; LMC - Leucemia mielóide crônica; LLA - Leucemia linfóide aguda; LAI - Leucemia aguda indiferenciada; MM - Mieloma múltiplo; LMMC - Leucemia mielomonocítica crônica; AAS - Anemia aplástica grave; NF - Não familiar; F - Familiar; I - Incompatível; RP - Refratariedade plaquetária; RC - Remissão completa; R - Recidiva; RR - Recidiva refratária; GI - Grau intermediário; AG - Alto grau; FC - Fase crônica; RD - Recída; FA - Fase acelerada

sangramentos.²¹ Alguns autores demonstraram que a transfusão para pacientes trombocitopênicos estáveis com níveis plaquetários de 5.000/mL havia sido uma alternativa segura.²² Por outro lado, a presença de febre ou de pequenos sangramentos elevou o nível para a transfusão profilática acima de 10.000/mL, sendo 20.000/mL utilizado para pacientes com distúrbios da coagulação ou em uso de heparina,²² embora 10.000 x 10⁹/L preconizado pela literatura e adotado pela Sociedade Americana de Hematologia (ASH 1997). Nossa casuística não pode mostrar concordância com os dados oferecidos pela literatura, pois, segundo o Departamento de Transplante de Medula Óssea daquele hospital, adotava naquela oportunidade, níveis plaquetários de 20.000/mL como gatilhos na transfusão profilática de concentrados plaquetários.^{23,24}

Outro aspecto observado foi o alto índice de aparecimento da reação febril não-hemolítica detectada nos 15 casos estudados (02/15) 13,33%, indo de encontro com os dados referenciados na literatura.²⁵ Consideramos para o futuro a adoção de uma política transfusional mais restritiva quanto à exposição antigênica aos pacientes, devido ao risco do desenvolvimento da aloimunização e da transmissão de doenças infecciosas virais e bacterianas nas transfusões profiláticas de plaquetas. Vamos de encontro com os dados da literatura, onde diz que numerosas vari-

áveis inter-relacionadas podem afetar a função e a viabilidade das plaquetas durante o armazenamento.^{26,27} De maneira geral, as condições de armazenamento e prazo de validade de plaquetas foram sempre respeitados conforme a legislação em vigor, além da análise do rendimento plaquetário e de leucócitos pré e pós-filtração, assim como média referente ao pH de cada unidade de concentrado de plaquetas. Além disso, segundo os autores, a recuperação das plaquetas do grupo sanguíneo A ou B quando infundidas nos indivíduos do grupo O pode ser diminuída, devido ao fato de os antígenos ABO estarem presentes na superfície das plaquetas.^{28,29} Entretanto, o teste exato de Fisher não pôde ser aplicado para correlacionar a compatibilidade ABO com a presença de refratariedade plaquetária, nos pacientes deste estudo, por se tratar de amostra com número de elementos variáveis e insignificantes podendo incorrer em resultados falsamente adquiridos. Concordamos na prudente utilização de concentrados de plaquetas ABO compatíveis e, na ausência destes, de plaquetas ABO incompatíveis, ponderando o risco e benefício na demora da transfusão para os pacientes.¹³ Segundo dados mencionados na literatura, a falência na obtenção de um aumento adequado na contagem plaquetária ocorre em cerca de 20% a 70%, sendo os pacientes com distúrbios hematopoiéticos malignos os mais prováveis de se tornarem refratários.³⁰ Embora a casuística oferecida neste estudo ter sido pequena, os dados obtidos demonstram que cerca de 80,0% da população alvo tornaram-se refratários à transfusão de concentrados de plaquetas em algum momento na fase precoce do transplante. Nossa casuística mostra concordância com os dados fornecidos pela literatura com respeito à prevalência dos fatores não imunes. Segundo os autores, os fatores não imunes poderiam estar presentes em mais de 80% dos pacientes.³¹ Os dados referenciados pela literatura nos revelam que o incremento plaquetário pode ser quantificado entre dez minutos e uma hora e 18 e 24 horas,^{32,33,34} sendo expresso como um cálculo corrigido do incremento plaquetário pós-transfusional (CCI).^{14,16} A literatura mostra ainda que o incremento plaquetário de uma hora era mais significativo quanto à presença de anticorpos circulantes e ao estado de refratariedade plaquetária.¹⁵ Entretanto, observamos que, em nossa casuística, a maioria dos pacientes submetidos ao TMO foi susceptível a alterações múltiplas do próprio transplante, e a análise do CCI de uma hora revelou-se um método muitas vezes inapropriado aos pacientes ambulatoriais, além de estatisticamente insignificante quando seus resultados foram avaliados de maneira isolada. Por outro lado, o CCI de

Tabela 5
Antecedentes obstétricos nas pacientes do estudo

Antecedentes Obstétricos				
Paciente/ Doença	Idade	Gestações	Paridade	Aborto
01 LMA em 1a RC	01	SAO	SAO	SAO
02 LMA em 1a RC	34	II Gesta	II Para	0
03 LMA em 1a R	54	III Gesta	III Para	0
04 LMA em 1a RR	-	-	-	-
05 LNH GI	37	III Gesta	III Para	0
06 LNH AG	-	-	-	-
07 LNH AG	-	-	-	-
08 LMC em 1a FC	-	-	-	-
09 LMC em 1a FC	35	0	0	0
10 LLA em 3 a RD	-	-	-	-
11 LLA em 2 a R	-	-	-	-
12 LAI	56	II Gesta	II Para	0
13 MM	43	II Gesta	II Para	0
14 LMMC em FA	51	III Gesta	III Para	0
15 AAS	-	-	-	-

LMA - Leucemia mielóide aguda; LNH - Linfoma não-Hodgkin; LMC - Leucemia mielóide crônica; LLA - Leucemia linfóide aguda; LAI - Leucemia aguda indiferenciada; MM - Mieloma múltiplo; LMMC - Leucemia mielomonocítica crônica; AAS - Anemia aplástica grave; (SAO) - Sem antecedentes obstétricos. (-) - Pacientes do sexo masculino; RC - Remissão completa; R - Recidiva; RR - Recidiva refratária; GI - Grau intermediário; AG - Alto grau; FC - Fase crônica; RD - Recaída; FA - Fase acelerada

uma hora não mostrou ter significância estatística quanto ao aparecimento da refratariedade plaquetária imunológica. Apesar da dificuldade na escolha de um método laboratorial eficaz em pacientes submetidos ao TMO, não vamos de encontro aos dados citados pela literatura quando nos mostram que o incremento de uma hora em níveis de $10 \times 10^3/\text{mL}$, ou acima destes, estaria associado com ausência de anticorpos linfocitotóxicos, e incrementos abaixo destes níveis, relacionados com a presença de altos títulos.³² Nossa casuística, ainda que pequena, também não apresentou concordância com os dados oferecidos pela literatura quando cita que a contagem plaquetária uma hora após a transfusão contribuiria na distinção entre a aloimunização e o encontro de outros processos clínicos, como a presença de febre, infecção, hepatoesplenomegalia e CIVD.³³ De acordo com os dados estatísticos obtidos em nosso estudo, utilizando-se o teste exato de Fisher, observou-se que apenas a variável CCI de 24 horas apresentou associação estatisticamente significativa com a refratariedade plaquetária ($p = 0,002$), indo de encontro com os dados citados pela literatura. Segundo os autores, o CCI de 18 e 24 horas encontra-se diminuído na vigência de febre, infecção, sepsis, CIVD, tempo de estocagem das plaquetas, entre outros fatores.^{13,15} Por outro lado, concordância foi também vista sobre a existência de fatores como a presença de CIVD, a administração de anfotericina B, o TMO e a presença de esplenomegalia, afetando

Tabela 6
Número de transfusões pré-TMO

Paciente/ Doença	Hemácias	Plasma	Trombocitaféreses
01 LMA em 1aRC	02	-	-
02 LMA em 1a RC	-	-	-
03 LMA em 1a R	08	-	09
04 LMA em 1a RR	05	-	07
05 LNH GI	03	06	08
06 LNH AG	-	-	-
07 LNH AG	-	-	-
08 LMC em 1a FC	-	-	-
09 LMC em 1a FC	09	-	-
10 LLA em 3a RD	04	01	39
11 LLA em 2a R	-	-	-
12 LAI	07	01	08
13 MM	-	-	02
14 LMMC em FA	14	-	33
15 AAS	06	-	03

LMA - Leucemia mielóide aguda; LNH - Linfoma não-Hodgkin; LMC - Leucemia mielóide crônica; LLA - Leucemia linfóide aguda; LAI - Leucemia aguda indiferenciada; MM - Mieloma múltiplo; LMMC - Leucemia mielomonocítica crônica; AAS - Anemia aplástica grave (-) Transfusão ausente; RC - Remissão completa; R - Recidiva. RR - Recidiva refratária; GI - Grau intermediário; AG - Alto grau; FC - Fase crônica; RD - Recaída; FA - Fase acelerada

do a CCI de 20 horas.³⁴ Nossos dados mostram ainda que a aplicabilidade dos testes de microlinfocitotoxicidade e em meio de fase sólida por aderência de células vermelhas, na pesquisa anticorpos HLA e HPA, respectivamente, permaneceu questionada, bem como, segundo o método exato de Fisher, não preditivos da presença da refratariedade plaquetária.

Conclusões

Permanece claro que a refratariedade plaquetária é uma abordagem problemática e discutível quanto ao manejo dos pacientes submetidos ao TMO. Em nosso estudo concluímos que a refratariedade plaquetária detectada em 80,0% dos nossos casos teve como principal causa os fatores não imunológicos, representados, de acordo com a frequência de aparecimento, pela anfotericina B em 66,66%, VOD em 53,33%, febre de origem indeterminada (FOI) em 40,0%, esplenomegalia, EPI leve, febre, melena grave, hematêmese grave e infecção bacteriana 20,0% cada um. Melena leve e EPI moderada e grave 13,33%, enquanto CIVD, enterorragia moderada e grave 6,66%. Os imunológicos representados pela presença da aGVHD em 33,00% dos casos e os que desenvolveram CMV, 13,33%, porém neste grupo ora não apresentaram refratariedade plaquetária pós-transfusional, ora não receberam plaquetas naquele período. Os elementos laboratoriais empregados

Tabela 7
Seleção dos hemocomponentes administrados na fase pós-TMO do dia 0 ao dia + 50

Paciente/Doença	Idade	Sexo	MO		CH	PLQ	PL
			RPT	DOD			
01 LMA em 1a RC	1	F	A -	O +	O -	A, AB	A, AB
02 LMA em 1a RC	34	F	B +	B +	B ou O +/-	B, AB, O	B, AB
03 LMA em 1a R	54	F	O +	A +	O	A, AB, O	A, AB
04 LMA em 1a RR	45	M	A -	O +	A - ou O -	A, AB, O	A, AB
05 LNH GI	37	F	O -	O +	O -	O, A, B, AB	O, A, B, AB
06 LNH AG	57	M	A +	A +	A ou O +/-	A, AB	A, AB
07 LNH AG	66	M	A +	A +	A ou O +/-	A, AB, O	A, AB
08 LMC em 1a FC	28	M	A +	A +	A ou O +/-	A, AB, O	A, AB
09 LMC em 1a FC	35	F	O +	B +	O +/-	B, AB, O	B, AB
10 LLA em 3a RD	16	M	AB +	AB +	AB ou O +/-	AB, A e B	AB
11 LLA em 2a R	48	M	A +	A +	A ou O +/-	A, AB, O	A, AB
12 LAI	56	F	A +	A +	A ou O +/-	A, AB, O, B	A, AB
13 MM	43	F	O +	O +	O +/-	O, A, B, AB	O, A, B, AB
14 LMMC em FA	51	F	B +	B +	B ou O +/-	B, AB, O, A, AB	B, AB
15 AAS	28	M	O +	B +	O +/-	B, AB, A, O	B, AB

LMA - Leucemia mielóide aguda; LNH - Linfoma não-Hodgkin; LMC - Leucemia mielóide crônica; LLA - Leucemia linfóide aguda; LAI - Leucemia aguda indiferenciada; MM - Mieloma múltiplo; LMMC - Leucemia mielomonocítica crônica; AAS - Anemia aplástica grave; (O, A, B, AB) - Concentrados de plaquetas ABO incompatíveis administrados; MO - Medula óssea; RPT - Receptor; DOD - Doador; CH - Concentrado de hemácia; PLQ - Plaquetas; PL - Plasma; RC - Remissão completa; R - Recidiva; RR - Recidiva refratária; GI - Grau intermediário; AG - Alto grau; FC - Fase crônica; RD - Recída; FA - Fase acelerada

isoladamente, como o teste de microlinfocitotoxicidade e SPRCA, não puderam ser avaliados estatisticamente, devido à existência de pouca variabilidade no público alvo e em conjunto foram não preditivos da refratariedade, além do tempo de execução, sendo a análise do CCI pós-transfusional de 24 horas, segundo o teste exato de Fisher, a única variável que apresentou associação estatisticamente significativa com a refratariedade plaquetária ($p=0,002$), um método de escolha que pode ser utilizado para indicar os indivíduos com refratariedade plaquetária, podendo ser de útil aplicabilidade na prática médica, especialmente nos pacientes submetidos ao TMO.

Abstract

From October 1997 to July 1999, platelet refractoriness was studied in 15 patients, aged from 1 to 66 years old, in the early stage of allogeneic and autologous BMT, carried out at the São Camilo Hospital. The following parameters were used for this analysis: daily clinical progress, 1- and 24 hour-post-transfusion platelet corrected count increment (CCI), complement-dependent microlymphocytotoxicity test (CDC) sensitized by human antiglobulin (AGH) and solid phase red blood cell adherence (SPRCA) platelet analysis. Platelet concentrated products were obtained from automated cell separator machines, filtered through retention filters of pre-storage leukocyte reduction and, subsequently, stored at room temperature for a maximum of 96 hours. Each platelet unit featured on average 0.51×10^6 leukocytes,

with platelet cell counts of 3.58×10^{11} . The mean pH of each thrombocytopherese concentrate was 6.34 and was storage for 32 hours and 21 minutes. Platelets concentrates were transfused on a prophylactic basis, when the platelet counts were below $20 \times 10^9 / L$ or above these values in cases of therapeutic intervention or bleeding. The platelet refractory potential was defined as the lack of response to a transfusion of two compatible ABO platelet concentrate products confirmed by the reduction in platelet CCI 1 hour after transfusion was less than 7.5 or 24 hours after transfusion was less than 4.5. Only the 24-hour CCI analysis showed statistically significance with the platelets refractoriness occurring in 80.0% of the cases, as a consequence of non-immune factors, such as, amphotericin 66.66%, veno-occlusive disease 53.33 %, undetermined fever 40.0%, splenomegaly, slight nose bleeds, fever, severe melene, severe hematemesis and bacterial infection, 20.0%. Slight melene, severe enterorrhagia and moderate and severe nose bleeds 13.33%, whereas CIVD, moderate and severe enterorrhagia were 6.66%. The presence of immune factors was detected by GVHD and CMV infections that were identified in 33.33% and 13.33% of the cases, respectively, although the detection of autoantibodies was negative. The conclusion is that the 24-hour post-transfusion CCI analysis has proven to be a predictor of platelet refractoriness and a useful test in refractory thrombocytopenic patients, mainly those undergoing BMT. *ev. bras. hematol. hemoter. 2004;26(1):3-12.*

Key words: Platelet Refractoriness; bone marrow transplant; platelet transfusion; human platelet antigen; citotoxicity immunologic tests.

Referências Bibliográficas

1. Warkentin PI. Clinical background for marrow and progenitor cell processing. In: Lasky LC, Warkentin PI. ed. Marrow and stem cell processing for transplantation. 1ed. Bethesda, Maryland, American Association of Blood Bank, 1995, p.1-5.
2. Cottler-Fox M. Transfusions. In: Burt RK, Deeg HJ, Lothian ST, Santos GW. ed. Bone marrow transplantation. 1 ed. New York, Landes Company, 1996, p.54-68.
3. Jimenez TM, Patel SB, Pineda AA, Tefferi A, Owen WG. Factors that influence platelet recovery after transfusion: resolving donor quality from ABO compatibility. Transfusion 2003;43: 328-334.
4. Vengelen-Tyler et al. American Association of Blood Banks. Technical manual. 14th ed. Bethesda, Maryland, 2003, p.341-348.
5. Meryman HT. Transfusion induced alloimmunization and immunosuppression and the effects of leukocyte depletion. Transf Med Rev 1989;3:180-93.
6. Van Marwijk Kooy M, Van Prooijen HC, Moes M et al. Use of leukocyte-depleted platelet concentrates for prevention of refractoriness and primary HLA alloimmunization: a prospective, randomized trial. Blood 1991;77:201-05.
7. First LR, Smith BR, Lipton J, Nathan DG, Parkman R, Rappeport JM. Isolated thrombocytopenia after allogeneic bone marrow transplantation: existence of transient and chronic thrombocytopenic syndromes. Blood 1985;65(2):368-374.
8. Atkinson K, Norrie S, Chan P, Zehnirith B, Dows K, Biggs J. Hemopoietic progenitor cell function after HLA-identical sibling bone marrow transplantation: influence of chronic graft-versus-host disease. Int J Cell Cloning 1986;4:203-220.
9. Anasetti C, Rybka W, Sullivan M, Banaji M, Slichter SJ. Graft-versus-host disease is associated with autoimmune-like thrombocytopenia. Blood 1989;73:1.054-1.058.
10. Benda H, Panzer S, Kiefel V, Mannhalter CH, Hinterberger W, Lechner K, Mueller-Eckhardt C. Identification of target platelet glycoprotein in autoimmune thrombocytopenia occurring after allogeneic bone marrow transplantation. Blut 1989;58:151-153.
11. Kaplan C, Morinet F, Cartron J. Virus-induced autoimmune thrombocytopenia and neutropenia. Seminars in Haematology 1992;29(1):34-44.
12. Harmening SC, Holme S, Little C. Morphological changes associates with pH changes during storage of platelet concentrates in first generation 3-day container. Vox Sang 1986;50:71-77.
13. Vengelen-Tyler et al. American Association of Blood Banks. Technical manual. 13th ed. Bethesda, Maryland, 1999.
14. Vengelen-Tyler et al. American Association of Blood Banks. Technical manual. 11th ed. Bethesda, Maryland, 1993.
15. Kickler ST, Braine GH, Ness PM, Koester A, Bias W. A radiolabeled antiglobulin test for crossmatching platelet transfusions. Blood 1983;61(2):238-242.
16. Novotny VMJ, Van Doorn R, Witvliet MD, Claas FHJ, Brand A. Occurrence of allogeneic HLA and non-HLA antibodies after transfusion of prestorage filtered platelets and red blood cells: a prospective study. Blood 1995;85(7):1.736-41.
17. Welsh KI, Burgos H, Batchelor JR. The immune response to allogeneic rat platelets; Ag-B antigens in matrix form lacking Ia. Eur J Immunol 1977;(7):267-272.
18. Claas FHJ, Smeenk RJT, Schmidt R, Van Steenbrugge GJ, Eermisse JG. Alloimmunization against the MHC antigens after platelet transfusions is due to contaminating leukocytes in the platelet suspension. Exp Haematol 1981;9(1):84-89.
19. Petranyi GG, Pedanyi A, Horuzsko A et al. Mixed lymphocyte culture-evidence that pretransplant transfusion with platelets induces FcR and blocking antibody production similar to that induced by leukocyte transfusion. Transplantation 1988;45(4):823-824.
20. Duquesnoy RJ, Filip DJ, Rodey J et al. Successful transfusion of platelet "mismatched" for HLA antigens to alloimmunized thrombocytopenic patients. Am J Hematol 1977;2:219-226.
21. Slichter SJ. Optimizing platelet transfusions in chronically thrombocytopenic patients. Seminars in Hematology 1988;35(3):269-78.
22. Gmür J et al. Safety of stringent prophylactic platelet transfusion policy for patients with acute leukemia. Lancet 1991;(338): 1.223-1.226.
23. Gaydos LA et al. The quantitative relation between platelet count and hemorrhage in patents with acute leukemia. N Engl J Med 1962;266(3):905-9.
24. Beutler E. Platelet transfusions: the 20,000/mL trigger. Blood 1993;81:1.411-3.
25. Rebulla P, Finazzi G, Marangoni F, Avvisati G, Ggliota L, Tognoni G, Barbui T, Mandelli F, Girolamo S. The threshold for prophylactic platelet transfusions in adults with acute myeloid leukemia. New England Journal of Medicine 1997; 337(26):1.870-5.
26. Murphy S. Platelet storage for transfusion. Seminars in Hematology 1985;22(3):165-76.
27. Beutler E, Kuhl W. Platelet glycolysis in platelet storage. The effect of supplemental glucose and adenine. Transfusion 1980; 20(1):97-100.
28. Lee EJ, Schiffer CA. ABO compatibility can influence the results of platelet transfusion. Results of a randomized trial. Transfusion 1989;29(5):384-9.
29. Aster RH. Effect of anticoagulant and ABO incompatibility on recovery of transfused human platelets. Blood 1965;26(6): 732-43.
30. Dzik WH. Leukoreduced blood components: laboratory and clinical aspects. In: Rossi EC, Simon TL, Moss GS, Gould SA. eds. Principles of transfusion medicine, 2nd ed. Baltimore, MD. Williams and Wilkins 1995, p.353-373.
31. Novotny VMJ. Prevention and management of platelet transfusion refractoriness. Vox Sanguinis 1999;76:1-13.
32. Daly PA, Schiffer CA, Aisner J, Wiernik PH. One-hour posttransfusion increments are valuable in predicting the need for HLA-matched preparations. JAMA 1980;243(5):435-438.
33. O'Connell B, Lee EJ, Schiffer CA. The value of 10-minute posttransfusion platelet counts. Transfusion 1988;28:66-67.
34. Bishop JF, Matthews JP, McGrath K, Yuen K, Wolf MM, Szer J. Factors influencing 20-hour increments after platelet transfusion. Transfusion 1991;31:392-396.

Avaliação:

Editor e dois revisores externos.

Conflito de interesse: não declarado**Recebido:** 11/10/2003**Aceito após modificações:** 01/03/2004