

Patogenia de las Citopenias Autoinmunes Primarias

Patricia Vergara M.

Inmunóloga Clínica, Hospital Las Higueras, Talcahuano, Servicio de Medicina, Sección de Reumatología

Resumen

Las enfermedades autoinmunes son trastornos secundarios a una desregulación del sistema inmune; éste pierde la capacidad de autotolerancia, y produce un daño crónico, continuo y progresivo.

Son patologías muy diversas y pueden llegar a afectar hasta el 5% de la población.

Pueden ser clasificadas en sistémicas u órgano-específicas, dependiendo si el antígeno reconocido es exclusivo del tejido target.

A este grupo de enfermedades corresponden las citopenias autoinmunes, condiciones que se caracterizan por disminución del recuento de glóbulos rojos, plaquetas, leucocitos o la mezcla de ellos.

Si bien los mecanismos patogénicos que participan en la producción de cada una de ellas son similares, cada una tiene características que la hacen particularmente interesante.

De esta manera tenemos que la **anemia hemolítica autoinmune (AHAI)** es un síndrome clínico que se produce debido a la disminución de glóbulos rojos secundaria a una destrucción exagerada de ellos, mediada por una alteración de la respuesta inmune, en la que los antígenos de la membrana de estas células son reconocidos como extraños por nuestro sistema inmune.

La clasificación de la AHAI está dada por la temperatura óptima de unión entre el anticuerpo y la membrana del glóbulo rojo; de esta forma, tenemos tres grandes grupos: por Anticuerpos calientes (WAHA), por Anticuerpos fríos (CAHA) y Mixtas (mediadas por anticuerpos calientes y fríos).

El diagnóstico de AHAI se confirma con la demostración de anticuerpos y/o proteínas del complemento en la superficie de los eritrocitos; entre ellos encontramos: Coombs directo y Coombs indirecto, test de Coombs directo anti-IgM, búsqueda de C3b en la membrana del

glóbulo rojo y finalmente la prueba cualitativa de Donath-Landsteiner.

Las **trombopenias autoinmunes** corresponden a un grupo de desórdenes que se caracterizan por tener un recuento plaquetario bajo 150.000, mediado por una alteración del sistema inmune.^(3, 14)

La trombocitopenia autoinmune puede ser clasificada como primaria o secundaria, y éstas a su vez, en agudas y crónicas, dependiendo si duran seis meses o más, respectivamente.

Se han descrito anticuerpos que reaccionan contra glicoproteínas de la membrana de la plaqueta como: GPIIb/IIIa, GPIb/IX, Ia/IIa, IV y V y otros múltiples antígenos.

También se han encontrado alteraciones en la producción de megacariocitos, lo que podría acentuar más la trombocitopenia.

Las **neutropenias inmunomediadas** son el resultado de una destrucción periférica aumentada, debido a anticuerpos en contra de los antígenos de la membrana celular del neutrófilo.

Los neutrófilos presentan antígenos que comparten con otras células (Ej. moléculas HLA) y antígenos específicos. El nombre Antígeno Neutrófilo se refiere a que esos antígenos se encuentran en los neutrófilos, pero no excluyen la posibilidad que también estén en otros granulocitos.

En la neutropenia autoinmune los anticuerpos están dirigidos con mayor frecuencia contra antígenos del sistema antigénico HNA-1.

Se han detectado, además, autoanticuerpos dirigidos contra el complejo glicoproteico de adhesión CD11b/CD18 y contra actina.

Para hacer el diagnóstico de neutropenia autoinmune es necesario realizar al menos dos exámenes para poder detectar anticuerpos antineutrófilos; el **test de aglutinación de granulocitos (GAT)**, asociado al **test de inmunofluorescencia del granulocito (GIFT)**.

El GAT está mediado principalmente por IgM y se encuentra positivo en un 2% de los casos, y el GIFT detecta IgG, siendo positivo el 98% de los casos.

Palabras clave: Citopenias autoinmunes primarias.

Correspondencia: Patricia Vergara Moscoso

Dirección: O` Higgins 1672, Dpto. 403, Concepción, VIII Región.

E-mail: patriciavergaram@gmail.com; fax: 02-7375916

Summary

Autoimmune diseases are disorders secondary to a deregulation of the immune system, which loses the capacity for self-tolerance, resulting in chronic, continuous and progressive damage.

These pathologies are very diverse and affect up to 5% of the population.

They can be classified into systemic or organ-specific, depending on whether the recognized antigen is unique to the target tissue.

Autoimmune cytopenias belong to this group of diseases and are characterized by a decreased count of red blood cells, platelets, leukocytes, or a mix of these.

While the pathogenic mechanisms involved in the production of each are similar, each has features that make it particularly interesting.

We have **autoimmune hemolytic anemia (AIHA)**, which is a clinical syndrome that occurs due to a decreased number of red blood cells secondary to an exaggerated destruction of the same, mediated by an alteration of the immune response, in which the membrane antigens of these cells are recognized as foreign by our immune system.

The classification of AIHA is given by the optimum bond **temperature between the antibody and red blood cell membrane**. There are 3 main groups: warm antibodies (WAHA), Cold antibodies (CAHA) and mixed (mediated by hot and cold antibodies).

AIHA diagnosis is confirmed with the demonstration of antibodies and/or complement proteins on the surface of red blood cells, among these are the direct and indirect Coombs test, direct anti-IgM Coombs test, the search for C3b in the membrane of the red cell and, finally, the qualitative Donath-Landsteiner test.

Autoimmune thrombocytopenia is associated with a group of disorders characterized by a platelet count under 150,000, mediated by an alteration of the immune system.^(3, 14)

Autoimmune thrombocytopenia can be classified as primary or secondary, and these, in turn, into acute and chronic, depending on whether they last 6 months or more, respectively.

Antibodies that react against the glycoproteins of the platelet membrane, such as GPIIb / IIIa, GPIB / IX, Ia / IIa, IV and V, and other multiple antigens have been described. Alterations in the production of megacariocytes have also been found, which could lead to an increased trombocytopenia.

Immune neutropenias are the result of an increased peripheral destruction, due to antibodies against the antigens of the neutrophil cell membrane.

Neutrophils present antigens shared with other cells (e.g. HLA molecules) and specific antigens. The name

antigen neutrophils refers to the fact that these antigens are found in neutrophils, but do not exclude the possibility that they may be in other granulocytes.

In autoimmune neutropenia, the antibodies are most frequently directed against HNA-1 antigens, moreover, autoantibodies directed against the CD11b/CD18 glycoprotein adhesion complex and against actins have also been detected.

In order to diagnose autoimmune neutropenia, we require at least two tests to detect antineutrophil antibodies: the granulocyte agglutination test (GAT), associated with the granulocyte immunofluorescence test (GIFT).

GAT is mainly mediated by IgM and is positive in 2% of cases, and GIFT detects IgG, with positive results in 98% of cases.

Key words: Primary autoimmune cytopenias.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades autoinmunes se producen por una pérdida de la autotolerancia, lo que lleva a la activación de linfocitos contra antígenos propios, con la subsecuente producción de autoanticuerpos y/o linfocitos citotóxicos, que van a mediar el daño, ya sea de tejidos o de células.⁽¹⁾

Estas enfermedades son diversas y heterogéneas, y entre el 2% al 5% de la población es afectada por alguna de éstas. Generalmente son crónicas, produciendo un daño continuo y progresivo.⁽²⁾

Las enfermedades autoinmunes son clasificadas, principalmente, de dos maneras:

1° Según el mecanismo de daño presente en ellas, que son los mismos que operan en la inmunidad adaptativa y en las enfermedades por hipersensibilidad, es decir, la clasificación de Gell y Coombs.

La 2ª manera de clasificarlas es dependiendo si son órgano-específicas o sistémicas, las que a su vez pueden ser subdivididas en primarias o secundarias.

Se habla de enfermedad órgano-específica cuando el fenómeno de autoinmunidad y, por lo tanto, el daño tisular, está confinado a un órgano o linaje celular, pues el autoantígeno al cual va dirigida la respuesta está presente exclusivamente de ese tejido.⁽²⁾

A este grupo de patologías pertenecen las citopenias autoinmunes, condiciones que se caracterizan por disminución del recuento de glóbulos rojos, plaquetas, leucocitos o la mezcla de ellos.

Si bien los mecanismos patogénicos que participan en la producción de cada una de ellas son similares, cada una tiene características que la hacen particularmente interesante.

En este capítulo revisaremos la patogenia de las citopenias autoinmunes primarias, además, la caracterización de los principales antígenos de cada una de estas células, y cómo son reconocidos o, mejor dicho, desconocidos por nuestro sistema inmune.

ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOINMUNE

Los eritrocitos son células anucleadas y bicóncavas de aproximadamente 7,5 μm de diámetro. Su principal función es el transporte de oxígeno a los tejidos. Presentan una sobrevivencia de alrededor de 120 días, periodo después del cual son retirados desde la circulación por el Sistema Fagocítico Mononuclear (SFM).⁽³⁾

La **anemia hemolítica autoinmune (AHAI)** es un síndrome clínico que se produce debido a la disminución de glóbulos rojos secundaria a una destrucción exagerada de ellos, mediada por una alteración de la respuesta inmune, en la que los antígenos de la membrana de estas células son reconocidos como extraños por nuestro sistema inmune.^(4,5) En el mundo occidental la incidencia anual es alrededor de 0,6 a 1,3/100.000 habitantes.⁽⁵⁾

La clasificación de la AHAI está dada por la temperatura óptima de unión entre el anticuerpo y la membrana del glóbulo rojo; de esta forma, tenemos tres grandes grupos: por Anticuerpos calientes (WAHA), por Anticuerpos Fríos (CAHA) y Mixtas (mediadas por Ac. calientes y fríos).⁽⁶⁻⁸⁾

La distinción es importante, ya que tanto el mecanismo de acción como el tratamiento son diferentes si se trata de una CAHA o una WAHA.⁽⁷⁾

ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOINMUNE POR ANTICUERPOS CALIENTES (WAHA)

Corresponde a una patología poco común (70% al 75% de las AHAI), con una incidencia aproximada de 1 por 75.000 a 80.000 personas.

Se llama WAHA porque es mediada por anticuerpos, en su mayoría de isotipo IgG, que reaccionan en forma óptima a 37 °C.

Se observa principalmente en mujeres mayores de 40 años, siendo el *peak* a los 70 años.^(7, 2, 3)

La destrucción eritrocitaria ocurre como consecuencia de la fagocitosis de los glóbulos rojos opsonizados con autoanticuerpos. Los responsables de la eritrofagocitosis son macrófagos, principalmente esplénicos y en cierto grado por las células de Kupffer en el hígado.^(3, 8, 9)

Los macrófagos expresan en su superficie receptores Fc γ , particularmente para IgG1 e IgG3 y receptores para fragmentos del complemento C3 y C4; por lo tanto, cuando se encuentran juntos (inmunoglobulinas (IgG1 o IgG3) + fragmentos del complemento (C3 y C4)) en la superficie del

glóbulo rojo, actúan sinérgicamente, logrando que el macrófago capture y fagocite con mayor capacidad la célula.⁽⁷⁾

Los glóbulos rojos atrapados pueden ser parcial o totalmente fagocitados; la digestión parcial da como resultado la formación de **esferocitos**; éstos son más rígidos y menos deformables, por lo tanto están expuestos a fragmentarse o destruirse en futuros pasajes por el bazo, aumentando la anemia.⁽⁷⁾

A pesar que muchos anticuerpos calientes fijan complemento, la hemólisis intravascular mediada por el “Complejo de ataque de membrana” (porción terminal de la cascada del complemento) y la hemoglobinuria son infrecuentes en esta patología gracias a la presencia de proteínas reguladoras del complemento, presentes en el plasma y en la superficie de los glóbulos rojos.⁽⁷⁾

Las inmunoglobulinas de isotipo IgG pueden ser divididas en cuatro tipos: IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4; de éstas la IgG1 y la IgG3 son las que se unen con mayor afinidad al RFc γ I (receptor ya mencionado, que se encuentra, entre otras partes, en la superficie de las células fagocíticas); por lo tanto, el grado de destrucción del glóbulo rojo es mayor en presencia de estos isotipos. IgG1 es el isotipo encontrado con mayor frecuencia en esta patología.

Estudio Inmunológico

El diagnóstico de AHAI se confirma con la demostración de anticuerpos y/o proteínas del complemento en la superficie de los eritrocitos.

Lo anterior se investiga a través de la realización de la prueba de **Coombs directa o PAD**.

Esta prueba contiene un “amplio-espectro” de ac. antiglobulinas dirigidos contra las Ig humanas y contra las proteínas del complemento; se utilizan para realizar un *screening* del GR del paciente. Esta prueba se considera positiva cuando se observa aglutinación de los GR; en ese caso se pueden utilizar antisueros monoespecíficos con anticuerpos anti IgG y/o anticomplemento para definir patrón de la sensibilización del GR. (También, en casos muy seleccionados, se pueden utilizar antisueros monoespecíficos contra IgM o IgA).⁽⁷⁾

Sin embargo, aproximadamente 2% a 5% de los pacientes con AHAI tendrán una prueba de Coombs directa negativa; esto se podría explicar porque, a pesar que menos de 10 moléculas de anticuerpos pueden acortar sustancialmente la sobrevivencia de los eritrocitos, se requiere una proporción superior a 500 moléculas de anticuerpos para dar una prueba de Coombs directa positiva.

Por consiguiente, puede ocurrir hemólisis grave aun cuando la concentración de anticuerpos sobre los eritrocitos se encuentre por debajo del nivel de detección de la prueba de Coombs.

Los anticuerpos también pueden ser identificados por medio de la **prueba indirecta de Coombs** o **PAI**; esta prueba implica la reacción del suero del paciente con eritrocitos con antígenos conocidos. Si el suero del paciente contiene un anticuerpo del antígeno correspondiente, se producirá aglutinación o sensibilización de los glóbulos rojos. En este último caso, la adición de la antiglobulina de Coombs producirá aglutinación de los eritrocitos sensibilizados.⁽⁷⁾

ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOINMUNE POR ANTICUERPOS FRÍOS (CAHA)

En este grupo se reconocen dos cuadros clínicos: el síndrome de las aglutininas frías (CAS) y la Hemoglobinuria paroxística a frigore.⁽³⁾

a) Síndrome de aglutininas frías (CAS)

En 1937 se describió por primera vez la asociación entre la aglutinación en frío y la hemólisis.

En su patogenia participan anticuerpos IgM que se unen a los glóbulos rojos a temperaturas entre 10 y 30 °C induciendo hemólisis mediada por complemento. En el 90% de los casos un carbohidrato de la superficie del glóbulo rojo, el antígeno "I", es el reconocido por las IgM.^(10, 2, 5)

Es extremadamente infrecuente, con una prevalencia de 16 por 1.000.000 de habitantes, que corresponde aproximadamente a un 15% de todas las AHAI. Se observa principalmente en personas de edades mayores, en promedio de 76 años. La relación mujer/hombre es de 0,5 a 0,6.^(6, 10)

El CAS puede ser primario (idiopático) o secundario, generalmente a infecciones, por *Mycoplasma pneumoniae* o Virus de Epstein-Barr o a patologías linfoproliferativas.⁽¹⁰⁾

Los anticuerpos responsables de la aglutinación a bajas temperaturas son llamadas **aglutininas frías (AF)**, y se han encontrado tanto en personas sanas como en pacientes con AHAI.

En personas sanas estas aglutininas frías se unen a la superficie del eritrocito de manera óptima a temperaturas entre 0 a 4 °C; este rango térmico no tendría ninguna significación clínica, ya que el hombre logra esas temperaturas en estados perimortem, y los títulos son bajos. Por el contrario, en personas con CAS los anticuerpos, además de ser monoclonales, tienen un rango térmico mayor (hasta 35 °C), lo que contribuiría a su patogenicidad. Al disminuir la temperatura de la sangre al pasar por las partes acrales del cuerpo se unen las aglutininas frías a la membrana del glóbulo rojo, precipitando su aglutinación.^(10, 5)

Los complejos Antígeno-Anticuerpo formados indu-

cen la unión y activación del complemento a través de la vía clásica (mediada por inmunoglobulinas); de esta manera C1 activa a C4 y a C2, generando la C3 convertasa, que a su vez permite la formación de C3b.

Posteriormente cuando la temperatura sube a 37 °C (al retornar la sangre a la parte central del cuerpo) las aglutininas se separan de los glóbulos rojos, pero como C3b no depende de la temperatura, permanece unido.

Algunos de estos glóbulos rojos que están opsonizados por C3b son secuestrados y destruidos en el Sistema Retículo Endotelial, fundamentalmente en el hígado (principal mecanismo de lisis en este tipo de anemia).

Los glóbulos rojos sobrevivientes, que mantienen C3b unido a su superficie, pueden evolucionar de dos maneras: 1) que C3b se divida en C3c y C3d, dejando un gran número de C3d en la superficie celular, y 2) que continúe la activación del complemento, resultando en la activación de la C5 convertasa, terminando en la formación complejo de ataque de membrana con la consecuente lisis celular en el sistema intravascular.⁽¹⁰⁾

En relación al isotipo del anticuerpo implicado en esta enfermedad, son, principalmente, IgM, ya sea pentamérico o hexamérico; la importancia clínica de esto se basa en resultados falsos negativos en el **test de Coombs directo anti-IgM** si la muestra no es periférica; en cambio, esta prueba es **positiva por definición para C3b**.^(10, 5)

b) AHAI por hemolisina bifásica o Hemoglobinuria Paroxística a Frigore (HPF)

Es una enfermedad extremadamente rara, con una incidencia que no supera el 2%. No existe predominio de ninguna raza.

La edad promedio de presentación es de cinco años; sin embargo, se han descrito casos en personas de 80 años. La relación hombre-mujer es de 2:1.^(6, 3)

La Hemoglobinuria Paroxística a Frigore puede ser primaria (idiopática) o secundaria. Antiguamente era asociada a sífilis, sarampión, parotiditis, varicela.^(4, 6, 11)

La HPF es causada por un anticuerpo IgG o "criohemolisina", denominado **hemolisina bifásica de Donath-Landsteiner**, dependiente del complemento, con especificidad contra los antígenos P (P1 y P2), respetando al genotipo pp; también se han descrito, pero con menor frecuencia, ac anti-i y anti-Pr.^(2, 6, 11)

Las hemolisinas que producen la HPF son IgG y tienen un comportamiento bifásico característico: tienen una *fase fría* en que ocurre la unión del anticuerpo con el glóbulo rojo y se produce activación inicial del complemento y una *fase caliente* durante la cual ocurre la lisis.

Esto se puede comprobar en el laboratorio haciendo la **prueba cualitativa de Donath-Landsteiner**. El compor-

tamiento bifásico de las aglutininas permite diferenciar la HPF de la anemia hemolítica por anticuerpos fríos.^(6, 11)

Esta prueba se debe considerar en personas con Coombs directo positivo; sólo a C3 el Coombs indirecto puede ser positivo si se realiza a bajas temperaturas.^(6, 11)

AHA MIXTA

Corresponden a aproximadamente el 8% de las AHA; se observa en pacientes que cumplen criterios de WAHA y de CAHA, ya que presentan tanto anticuerpos IgG (calientes) como IgM (fríos).

Este tipo de anemia puede ser primaria o secundaria, principalmente a Enfermedades Autoinmunes como Lupus Eritematoso Sistémico o a Neoplasias como linfoma.^(6, 5)

El curso clínico de esta patología se caracteriza por presentar una hemólisis severa que responde inicialmente de manera favorable; sin embargo, posteriormente evoluciona con exacerbaciones intermitentes de curso crónico, haciendo muy difícil su manejo.⁽⁶⁾

INMUNOPATOGENIA DE LAS AHAI EN GENERAL

Rol del complemento

Sea cual fuere el mecanismo de la activación del complemento, la explosiva e inespecífica acción de los mecanismos finales del complemento puede ser dañina para células sanas y/o para el tejido adyacente, proceso que se conoce como *innocent bystander*.

Para evitar el daño a lo propio, el complemento cuenta con una serie de proteínas reguladoras; algunas son solubles y otras se encuentran asociadas a membrana.⁽¹²⁾

Las células utilizan principalmente el sistema regulador, a través de proteínas asociadas a la membrana, entre ellos el CD55 o DAF (factor de aceleración del decaimiento).

DAF corresponde a una proteína de superficie de cadena simple anclada a la membrana celular a través de un grupo glicosilfosfatidilinositol (GPI). Su función es evitar la acción del complemento en superficie de células autólogas normales, principalmente a través de la vía clásica.

Se encuentra extensamente expresada en las membranas celulares. Defectos genéticos en el gen de anclaje GPI llevan a un menor número de CD55 o pérdida de éste en los glóbulos rojos.

Esta proteína protege a las células de la lisis uniéndose a C9; de esta manera inhibe su incorporación al complejo C5-9, previniendo la polimerización final del MAC en la superficie de la membrana.⁽¹²⁾ Su alteración también se encuentra asociada a la producción de Hemoglobinuria Paroxística Nocturna.⁽¹²⁾

HEMOGLOBINURIA PAROXÍSTICA NOCTURNA

El nombre de esta patología está basado en sus manifestaciones clínicas más que en su patogenia.

Antiguamente se pensaba que la lisis celular era mayor en la noche, por la acidosis que se produce durante el sueño, la cual llevaría a la activación del complemento. Sin embargo, actualmente se sabe que la lisis de los glóbulos rojos ocurre durante todo el día, y no sólo durante la noche ni de manera paroxística, y que la concentración urinaria lograda durante la noche produce la coloración más intensa típica de esta patología.⁽¹²⁾

La PNH es considerada, actualmente, una anemia hemolítica adquirida debido a una mutación en las *stem cells* (SC), ya que la pérdida de las proteínas GPI de superficie no sólo ocurre en los glóbulos rojos, sino también en leucocitos y plaquetas.

El defecto bioquímico corresponde a una mutación genética que lleva a la inhabilidad para sintetizar el GPI que une las proteínas reguladoras del complemento (DAF y CD59) a las membranas de las células.⁽¹²⁾

TROMBOPENIAS INMUNES

Las plaquetas son elementos celulares anucleados que se originan por la fragmentación del citoplasma de los megacariocitos en la médula ósea, desde donde salen a la circulación y viven por ocho a 10 días antes de ser removidos por el SFM.^(3, 13)

Sistema de antígenos de las plaquetas

Los antígenos plaquetarios pueden ser divididos en dos grupos:

- Aloantígenos compartidos con otras células sanguíneas (Ej. antígenos de los sistemas ABH, Lewis) y células de otros tejidos (moléculas HLA)
- Aloantígenos plaquetarios específicos.⁽³⁾

El **complejo heterodimérico GPIIb-IIIa** (CD41-CD61) es la proteína más abundante de la superficie de las plaquetas. Representa alrededor del 15% de la masa proteica de la membrana. Su activación la transforma en el receptor de fibrinógeno y su papel en la agregación plaquetaria es fundamental.^(3, 13)

Además de las integrinas, las plaquetas poseen otro receptor glicoproteico de membrana, la **GPIb-IX** (CD42b.c-CD42a), que pertenece a la familia de "proteínas ricas en leucina". Este complejo constituye el receptor para el factor von Willebrand (FvW), considerado el mayor responsable de la unión de las plaquetas a la matriz

extracelular. Cada plaqueta contiene 20.000-30.000 moléculas del complejo en su superficie.^(3, 13)

El complejo **GPIIb-IIIa** (CD49b-CD29), formado por cadenas únicas de 167 y 157 kDa, respectivamente, ha sido demostrado como uno de los receptores que median la interacción de las plaquetas con el colágeno, a través de la GPIIb.^(3, 13)

PÚRPURA TROMBOPÉNICO INMUNE (PTI)

Las trombopenias inmunes corresponden a un grupo de desórdenes que se caracterizan por tener un recuento plaquetario bajo 150.000, mediado por una alteración del sistema inmune.^(3, 14)

La trombocitopenia autoinmune puede ser clasificada como primaria o secundaria, y éstas a su vez en agudas y crónicas, dependiendo si duran seis meses o más, respectivamente.^(14, 15)

La incidencia estimada es de 100 casos por 1.000.000 de habitantes por año, siendo la mitad de los casos pacientes en edad pediátrica.⁽¹⁵⁾

La presentación clínica es muy variable: desde casos agudos, muy sintomáticos, a hallazgos incidentales de trombocitopenia asintomática.

Debido a sus diferencias clínicas, de manejo y posiblemente fisiopatológicas, se consideran por separado el PTI crónico del adulto y el PTI agudo, visto con mayor frecuencia en niños.⁽³⁾

PTI crónico

Es más frecuente en mujeres entre la tercera y cuarta década de la vida, aunque puede ocurrir a cualquier edad. El púrpura es la manifestación clínica más frecuente.⁽³⁾

En esta patología las plaquetas son sensibilizadas por autoanticuerpos, principalmente de tipo IgG, con menor frecuencia IgM y ocasionalmente IgA.

La destrucción plaquetaria es similar a la fagocitosis extravascular (esplénica), de glóbulos rojos mediados por IgG.^(3, 14)

PTI agudo

El PTI agudo se presenta principalmente en los niños. Es por lo general una enfermedad autolimitada. Se caracteriza por una historia corta de sangrado mucocutáneo en niños de dos a 10 años de edad, de cualquier sexo.

La incidencia es de un caso por 100.000 niños. Es muy frecuente el antecedente de una infección viral reciente o antecedente de vacunación.⁽¹⁶⁾

Debido al distinto curso clínico del PTI agudo del niño respecto del crónico, se han sugerido mecanismos patogénicos diferentes para los dos síndromes. Hasta ahora los mecanismos propuestos para el PTI agudo son:

- Interferencia de un virus con la maduración de los megacariocitos
- Reactividad cruzada de anticuerpos antivirales con las plaquetas
- Unión de complejos inmunes virus-antivirus a la superficie plaquetaria
- Producción de un autoanticuerpo verdadero.⁽³⁾

A principios de los años 80 se describió la presencia de anticuerpos específicos contra estructuras presentes en las plaquetas, como la Glicoproteína Plaquetaria GPIIb/IIIa. Sin embargo, la presencia de ellos por sí solos no justificaría la producción de la enfermedad, ya que no producen disfunción plaquetaria.⁽¹⁶⁾

Se han descrito también anticuerpos que reaccionan contra GPIIb/IX, Ia/IIa, IV y V y otros múltiples antígenos.^(14, 15)

Por otra parte, ¿por qué se producen estos anticuerpos? Tampoco se sabe.⁽¹⁶⁾ Se ha planteado que la destrucción de plaquetas por células presentadoras de antígenos, no necesariamente mediadas por anticuerpos, podría generar neoantígenos, llevando a la presentación de éstos, con la consecuente formación de anticuerpos que se unirían a los antígenos de la membrana plaquetaria y llevarían finalmente a la trombocitopenia, a través del reconocimiento y destrucción de estas células opsonizadas por el Sistema Macrofágico Mononuclear.^(14, 15)

En dos estudios se ha demostrado que estos anticuerpos son monoclonales: el primero encontró que la porción VH 3-30 de la cadena pesada se encuentra altamente representada en las personas que cursan con PTI, y el segundo, a su vez, mostró una restricción en la cadena liviana de los anticuerpos. Como es lógico pensar, la existencia de selección de afinidad, además de la presencia de IgG, indica la participación de los linfocitos T en la producción de estos anticuerpos.⁽¹⁶⁾

Rol de los linfocitos T

Se han demostrado varias anomalías en los linfocitos T de estos pacientes, y es probable que sean por lo menos tres los principales mecanismos involucrados.

1° Desbalance Th1/Th2 con predominio de la acción Th1.⁽¹⁷⁾

- Existe un número aumentado de linfocitos T HLA-DR+
- Se observa un aumento del n° de receptores de IL-2
- El perfil de citoquinas sugiere una activación de LTh1
- Existen niveles disminuidos de IL-10 en pacientes con enfermedad activa, comparado con los pacientes en remisión y con los controles.

2° Liberación de citoquinas que interfieren con la maduración megacariocítica o producción plaquetaria: se observa un aumento de GM-CSF y de M-CSF, lo cual sugiere que la activación macrofágica estaría asociada al desarrollo de PTI.

3° Efecto citotóxico directo:

- Existe un aumento de la expresión de genes citotóxicos como: Granzima A, Granzima B y Perforina
- Aumento de la expresión de genes involucrados en la respuesta Th1: INF- γ y R de IL-2.^(16, 17)
- Aumento compensatorio de los receptores inhibitorios tipo KIR en los linfocitos T, en pacientes en remisión comparado con los pacientes con enfermedad activa
- En algunos pacientes se ha encontrado un aumento de los linfocitos CD8+, los cuales serían los principales responsables de la citotoxicidad
- La participación de la citotoxicidad podría explicar por qué no existe una destrucción plaquetaria en el 100% de las veces que se inoculó suero de diferentes pacientes con PTI y por qué existe un porcentaje de pacientes que no tienen anticuerpos antiplaquetarios. Ello podría explicar la heterogenicidad de la enfermedad.

La Trombopoyetina (TPO) se encuentra en niveles normales, mientras que la IL-11 está elevada.

Esto apoya lo recién explicado, es decir, que el PTI está asociado a un perfil citoquímico de tipo Th1, mientras que aquellas de tipo Th2 se encuentran disminuidas.

Inicialmente, los megacariocitos se encuentran en niveles normales en la médula ósea, lo que podría ser explicado porque no hay cambios en la producción de TPO.⁽¹⁸⁾

El Factor Activador de Plaquetas (PAF), el Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas (PDGF- $\alpha\beta$), el Factor Transformante (TGF- β) y las quimioquinas RANTES (regulated upon activation, normal T cell expressed and secreted o CCL5) y MCP-3 (monocyte chemoattractant protein-3 o CCL7) son citoquinas quimioatrayentes de monocitos, granulocitos y linfocitos T.

Estas quimioquinas son secretadas por las plaquetas activadas; por lo tanto, al igual que la IL-11 se encuentra aumentada en forma secundaria a la activación plaquetaria, llevando a mayor flujo de monocitos, granulocitos y linfocitos T, potenciando la destrucción plaquetaria.^(17, 18)

Linfocitos T Reguladores

Los linfocitos reguladores constituyen entre un 5% a un 15% de los linfocitos T periféricos, y ellos participan en la inmunorregulación a través de contacto directo o secretando citoquinas inhibitorias.

Se ha visto que el porcentaje de linfocitos CD4+CD25+ se encuentra disminuido en pacientes con PTI activo comparado con personas sanas; sin embargo, el porcentaje de este linaje celular no tiene diferencia estadísticamente significativa entre personas sanas y pacientes con PTI en remisión.⁽¹⁹⁾

Alteración en la producción de megacariocitos y plaquetas

En pacientes con PTI siempre se ha asumido que existe un aumento compensatorio pero inadecuado de la producción de plaquetas; sin embargo, se ha visto que este aumento de la producción sólo se observa en un tercio de los pacientes con esta patología y que en el resto existe una disminución de la producción y en el mejor de los casos una producción igual a la normal.⁽¹⁶⁾

Lo anterior podría ser explicado por una acción directa de los anticuerpos sobre los megacariocitos. Esto es apoyado por el hecho que los anticuerpos más importantes encontrados son los anti GPIIb-IIIa y los anti GPIb-XI y que ambas glicoproteínas se encuentran expresadas en la superficie de los megacariocitos, eso sumado a que se ha visto la unión de estos anticuerpos a estas células.^(16, 13)

Se ha descrito tanto la supresión de la producción como la maduración megacariocítica tras la inoculación de suero de pacientes con PTI.⁽¹⁶⁾

Se han encontrado, además, degeneraciones compatibles con apoptosis de megacariocitos asociado a un aumento de caspasa-3 activada, en un porcentaje importante de pacientes con PTI, los cuales se revierten con prednisona e IVIG.

Rol de los Receptores Fc

Como ya se ha mencionado, las plaquetas opsonizadas por anticuerpos son destruidas por el sistema macrofágico mononuclear (SMN).

Los receptores del complemento podrían contribuir a este proceso; sin embargo, el principal mecanismo está dado por el sistema de receptores Fc (FcR).

Los efectos de estos receptores dependen del balance en la activación entre los receptores activadores (Fc γ RIIa y Fc γ RIIIa) y los inhibidores (Fc γ RIIb).

Aún no está claro cómo se mantiene ese balance; es más, se ha visto que diferentes tratamientos para el PTI actuarían en diferentes receptores Fc; por ejemplo, la respuesta frente a la IV anti-D estaría mediada por la acción sobre Fc γ RIIa; el rituximab actuaría en Fc γ RIIIa.

Por otra parte, se encuentran aumentados los recepto-

res FcRn, lo que sugiere un rol importante de la recirculación de los anticuerpos.⁽¹⁶⁾

Rol del Complemento

Como ya ha sido mencionado previamente, la expresión de CD55 y de CD59 son fundamentales para mantener un control adecuado de la actividad del complemento, evitando la producción de citopenias, secundarias a la lisis mediada por este mecanismo.

En esta patología se ha demostrado que existe un déficit principalmente de CD59; es más, este déficit se asocia a la severidad de la trombocitopenia; mientras que el déficit de CD55 es menos frecuente y no se asocia al grado de severidad.⁽¹²⁾

Rol de los Genes

Como toda patología autoinmune, se desarrolla por acción de algún(os) factor(es) ambiental(es) en pacientes susceptibles genéticamente.

Existe evidencia indirecta que apoya este postulado; por ejemplo:

Esta patología ha sido descrita en gemelos homocigotos y en varias personas de un mismo grupo familiar. Además existen familias que presentan mayor incidencia de citopenias autoinmunes (no necesariamente de la misma línea celular).^(15, 16, 20)

Existen estudios contradictorios en relación a la asociación de esta enfermedad con genes HLA; algunos han encontrado una mayor prevalencia de HLA-DRw2 y DRB1*0410 en algunas etnias.

Por otra parte, los alelos HLA DR4 y DRB1*0410 se han asociado a una respuesta desfavorable y favorable, respectivamente, a corticoides, y HLA DRB1*1501 ha sido asociado a una mala respuesta a la esplenectomía.⁽¹⁵⁾

Sin embargo, numerosos estudios no han encontrado asociación con genes ni HLA I ni II.^(15,16)

En relación a otros genes, se han encontrado polimorfismos del TNF también en los receptores FcγRIIa, FcγRIIb y FcγRIIIa.

Por otra parte, polimorfismos del TNF-β se han relacionado con mayor tendencia a la cronicidad de la enfermedad.⁽¹⁶⁾

La limitada información sobre asociaciones genéticas hace pensar que los pacientes tienen una mayor susceptibilidad a formar autoanticuerpos que a padecer PTI; esto es apoyado por la frecuente asociación a otras patologías autoinmunes, como enfermedad tiroidea y LES, a pesar de no encontrar aún una relación directa con algún gen HLA.⁽¹⁶⁾

Factores ambientales

Infecciones virales

El PTI en niños ocurre con alta frecuencia después de una infección viral. El mecanismo exacto a través del cual se llega a la producción de PTI es desconocido; sin embargo, los postulados son los mismos que en las enfermedades autoinmunes sistémicas.⁽¹⁶⁾

También se ha visto aumento de la incidencia de esta patología en pacientes con VIH, Virus de Epstein-Barr (VEB) y Virus Hepatitis C (VHC); por otra parte, el inicio del tratamiento del VHC o el VIH se correlaciona con un aumento en el recuento plaquetario, demostrando un rol directo de estas infecciones.⁽¹⁶⁾

El VHC pareciera aumentar el número de autoanticuerpos, y el VEB se ha asociado a una linfoproliferación y aumento de producción de anticuerpos.

Infecciones bacterianas

Se ha postulado un mimetismo molecular con el *Helicobacter pylori* que culpa a la proteína citotóxica asociada al gen A (CagA), ya que la erradicación de esta bacteria se ha asociado a un aumento del recuento plaquetario y a una disminución en el número de anticuerpos contra esta proteína.⁽¹⁶⁾

Estudio inmunológico

Estos exámenes se pueden dividir en dos grandes grupos:

1) Pesquisa de anticuerpos plaquetarios sin estudio de la especificidad y 2) Estudio de la especificidad de los anticuerpos.

1) IgG asociada a plaquetas y anticuerpos antiplaquetarios circulantes:

El estudio inmunológico inicial tiene como objetivo demostrar IgG asociada a las plaquetas (PAIgG) o anticuerpos antiplaquetarios circulantes (AcAP).

Para la determinación de la PAlgG de superficie, lo más frecuente es utilizar pruebas de unión directa de un anticuerpo anti-IgG humana marcado con radioisótopo enzima o fluoresceína; la cantidad de IgG asociada a las plaquetas es directamente proporcional a la cantidad de ligando marcado que permanece unido a las plaquetas. Para la pesquisa de AcAP se utilizan los mismos métodos en forma indirecta.

2) Métodos para estudio de especificidad antigénica:

Estos métodos son capaces de identificar la glicoproteína plaquetaria específica a la que se une el anticuerpo, pero no cuantifican la cantidad de IgG unida.

Existen varios métodos: Western Blot, Inmunoprecipitación, ELISA con captura de antígeno.⁽³⁾

NEUTROPENIAS AUTOINMUNES

Los neutrófilos maduros representan el mayor porcentaje (55%-65%) de leucocitos sanguíneos en los adultos. Tienen como función principal la fagocitosis y destrucción de agentes infecciosos, proceso que es independiente de la especificidad de la respuesta inmune.⁽³⁾

Neutropenia se define cuando el número de neutrófilos circulantes es inferior a 1.500/ul. El resultado clínico de ello es siempre relacionado a un aumento en el riesgo de infecciones. La frecuencia y severidad de la infección dependen de la causa y son directamente proporcionales al grado de neutropenia y a la velocidad de instalación.^(21, 3)

La neutropenia se puede clasificar en leve, moderada y severa, dependiendo del recuento de neutrófilos. Neutropenia leve si el recuento de neutrófilos está entre 1.000 y 1.500/ul, moderada entre 500 y 1.000/ul y severa cuando es inferior a 500/ul.^(21, 22)

La primera evidencia convincente de que los autoanticuerpos pudiesen causar neutropenia data del año 1975. En esa época se demostró que estos autoanticuerpos facilitaban la fagocitosis de los neutrófilos por los macrófagos residentes del bazo y además eran capaces de alterar algunas de las funciones de aquellos neutrófilos no destruidos.⁽²¹⁾

Las **neutropenias inmunomediadas** son el resultado de una destrucción periférica aumentada, debido a anticuerpos en contra los antígenos de la membrana celular del neutrófilo. Las neutropenias inmunes pueden ser **primarias**, si no están asociadas a otras patologías, o **secundarias**, cuando se encuentran en el contexto de otra patología, por ejemplo, enfermedades autoinmunes; suelen estar asociadas a otras enfermedades autoinmunes, como anemia hemolítica, LES, síndrome de Evans, o hematológicas, como linfoma, leucemia y mieloma.⁽²¹⁾

Sistemas antigénicos de los neutrófilos

Los neutrófilos presentan antígenos que comparten con otras células (Ej. moléculas HLA) y antígenos específicos. El nombre Antígeno Neutrófilo se refiere a que esos antígenos se encuentran en los neutrófilos, pero no excluyen la posibilidad que también estén en otros granulocitos.^(3, 13)

HNA-1

Antiguamente llamado sistema NA, se expresa en la glicoproteína FcγRIIIb (CD16). Su nombre proviene del

inglés *Human neutrophil alloantigen*. Los HNA se caracterizan por ser expresados en los neutrófilos, pero no tienen expresión sistémica; incluyen HNA-1a y HNA-1b (NA1 y NA2, respectivamente) y corresponden a los primeros antígenos descritos en una neutropenia aloinmune en un neonato.^(3, 13)

HNA-2

Corresponde al sistema NB, antes formado por los antígenos NB1 y NB2. NB1; corresponde a una glicoproteína de 58-64 kDa (CD177), que al igual que FcγRIII se encuentra unido a la membrana a través de GPI.

Actualmente no se incluye NB2 en el HNA-2, ya que en el último *workshop* internacional de inmunología del neutrófilo se encontró inconsistencia al buscar los anticuerpos contra NB2 en el suero de pacientes; además, los antígenos reconocidos requerían de mayor caracterización.^(3, 13)

HNA-2 se encuentra sólo en un subgrupo de neutrófilos, pero está extensamente distribuido en la población.⁽¹³⁾

Se han descrito sistemas HNA-3a, HNA-4a y HNA5a, menos estudiados hasta el momento.⁽¹³⁾

En la neutropenia autoinmune los anticuerpos están dirigidos con mayor frecuencia contra antígenos del sistema antigénico HNA-1.

Se han detectado, además, autoanticuerpos dirigidos contra el complejo glicoproteico de adhesión CD11b/CD18 y contra actina.⁽³⁾

Los neutrófilos opsonizados con anticuerpos específicos contra cualquiera de estas glicoproteínas que componen el sistema antigénico son fagocitados por macrófagos de la médula ósea, bazo y otros órganos linfoides.

Si bien a diferencia de los hematíes los granulocitos resisten la acción lítica del complemento, este mecanismo igual es importante en la patogenia de la neutropenia, al aumentar el secuestro de estas células por los macrófagos esplénicos.⁽³⁾

La falta de relación entre los niveles de autoanticuerpos circulantes y el grado de neutropenia se podría justificar por:

- La actividad opsonizante adicional del complemento, activado por los autoanticuerpos antineutrófilos, puede amplificar la fagocitosis, mecanismo ya explicado en la anemia hemolítica autoinmune
- El estado funcional del Sistema Fagocítico puede ser más o menos efectivo en la destrucción celular
- Distintos anticuerpos tienen diferente habilidad para reconocer no sólo a determinantes antigénicos expresados por células maduras, sino también por sus precursores mieloides de la médula ósea.⁽²¹⁾

En esta revisión me referiré sólo a las Neutropenias autoinmunes primarias, ya que las Neutropenias inmunes secundarias, ya sea por trasplante de *stem cells* (NSTSC), inducida por drogas y Neutropenia secundaria propiamente tal, como su nombre lo dice, son secundarias y traspasan la finalidad de este capítulo.^(22, 13)

NEUTROPENIA AUTOINMUNE (AIN)

El primer reporte de la existencia de autoanticuerpos antineutrófilos fue en 1975, cuando Boxer describió seis casos de personas que tenían neutrófilos opsonizados, lo que facilitaba su fagocitosis por macrófagos esplénicos.⁽²¹⁾

Es más frecuente en recién nacidos y lactantes menores; con una incidencia de 1/100.000, se diagnostica durante los primeros meses de vida (cinco-15 meses).

A pesar que la neutropenia es significativa al momento de la presentación (500 a 1.000 neutrófilos/ul), el curso clínico es por lo general benigno, con un riesgo moderado de infecciones y una tendencia a la resolución espontánea a los dos a tres años de vida en un 95% de los casos.⁽²¹⁾

El estudio de la médula ósea es normo o hiper celular, con un número normal o bajo de neutrófilos maduros. En algunos casos se puede encontrar una detención en el estado mielocito/metamielocito, probablemente porque los anticuerpos en ese paciente reconocen antígenos expresados no sólo en los neutrófilos maduros, sino también en los precursores de la médula ósea.⁽²¹⁾

Los autoanticuerpos responsables de esta forma primaria actúan en contra de HNA (antígenos de neutrófilos humanos). En la mayoría de los casos estos antígenos son isoformas glicosiladas de FcγRIIIb (CD 16b).⁽²¹⁾

Los anticuerpos encontrados con mayor frecuencia corresponden a los IgG **anti-HNA-1a** y **HNA-1b**. Con menos frecuencia se encuentran anticuerpos antiglicoproteínas del complejo de adhesión (CD11/CD18), los que corresponden a **HNA-2a** (Gp 50-64), **HNA-4a** (Gp-70-95) y **HNA-4b**, también anti CR1 y anti FcγRIIb.⁽²¹⁻³⁾

Hasta el momento se desconoce la causa exacta de producción de estos autoanticuerpos; por ello se han planteado varias hipótesis, no excluyentes entre ellas:

- Mimetismo molecular con antígenos microbianos
- Aumento o expresión anormal de antígenos HLA
- Pérdida de la actividad supresora contra clones de linfocitos autorreactivos.⁽²¹⁾

Estos autoanticuerpos no sólo aumentan la destrucción de los neutrófilos, sino que además producen defectos en la adhesión, defectos en la agregación, alteración de la quimiotaxis/fagocitosis y falla en la activación meta-

bólica, afectando no sólo el número de neutrófilos, sino también su función.^(21, 23)

A diferencia de lo que se observa con las pruebas serológicas establecidas para los glóbulos rojos, los exámenes para detectar anticuerpos antineutrófilos son más complicados, ya que el granulocito es una célula frágil, de sobrevivida corta y que además se activa con facilidad. Por ejemplo, la agrupación espontánea, *in vitro*, es muy común para este tipo celular, lo que podría significar falsos positivos al realizar un **test de aglutinación de granulocitos (GAT)**, el cual representaría un *cross-link* entre los anticuerpos unidos a la superficie del granulocito.

Por lo anterior es necesario realizar al menos dos exámenes para poder detectar anticuerpos anti-neutrófilos; el ya nombrado GAT asociado al **test de inmunofluorescencia del granulocito (GIFT)**.

El GAT está mediado principalmente por IgM y se encuentra positivo en un 2% de los casos, y el GIFT detecta IgG, siendo positivo el 98% de los casos.

En este momento el mejor examen existente corresponde al **Monoclonal antibody-specific immobilization of granulocyte antigens (MAIGA)**; con este método se podría utilizar un panel con anticuerpos específicos.^(22, 23)

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Fagiolo E, Toriani-Terenzi C. Th1 and Th2 Cytokine Modulation by IL-10/IL-12 Imbalance in Autoimmune Haemolytic Anaemia (AIHA). *Autoimmunity* 2002; 35(1):39-44.
2. Ferreira A, Afani A, Lanza P, Aguillón J, Sepúlveda C. *Inmunología Básica y Clínica* Editorial Mediterráneo 2005, 1ª Edición: 250-264.
3. Palomo I, Ferreira A, Sepúlveda C, Roseblant M, Vergara U. *Fundamentos de Inmunología Básica y Clínica* 2002, Editorial Universidad de Talca, Capítulo 26:437-457.
4. Vengelen-Tyler V. *Manual Técnico AABB. Stilcograf*, 13ª Edición, 2001; 436-463.
5. Valent P, Lechner K. Diagnosis and treatment of autoimmune haemolytic anaemias in adults: a clinical review. *Wien Klin Wochenschr* 2008; 120(5-6):136-151.
6. Petz L. Cold antibody autoimmune hemolytic anemias. *Blood Reviews* 2007; doi:10.1016/j.blre.2007.08.002.
7. Packman C. Hemolytic anemia due to warm autoantibodies. *Blood Reviews* 2007; doi:10.1016/j.blre.2007.08.001.
8. Arndt P, Leger R, Garratty G. Serologic findings in autoimmune hemolytic anemia associated with immunoglobulin M warm autoantibodies. *Transfusion* 2009; 49:235-242.
9. Shvidel L, Shtalrid M, Duek A, Haran M, Berrebi A, Sigler E. Direct Antiglobulin Test Reactive With Complement Only In Warm Type Autoimmune Hemolytic Anemia. *Int J Lab Hem* 2008; 30:494-498.
10. Berentsen S, Beiske K, Tjonnfjord G. Primary chronic cold agglutinin disease: An update on pathogenesis, clinical features and therapy. *Hematology* 2007; 12(5):361-370.
11. Giascr P, Bravo M, Vildósola J. Hemoglobinuria paroxística por frío en el lactante. *Rev Chil Pediatr* 1987; 58 (3):241-243.
12. Ruiz-Argüelles A, Llorente L. The role of complement regulatory proteins (CD55 and CD59) in the pathogenesis of autoimmune hemocytopenias. *Autoimmunity Reviews* 2007; 6:155-161.

13. Rozman P. Platelet antigens. The role of human platelet alloantigens (HPA) in blood transfusion and transplantation. *Transpl Immunol* 2002; 10:165-181.
 14. McMillan R. The Pathogenesis of Chronic Immune Thrombocytopenic Purpura. *Semin Hematol* 2007; 44(4 Suppl 5):S3-S11.
 15. Cines B, Blanchette V. Immune Thrombocytopenic Purpura. *N Engl J Med* 2002; 346(13) 995-1008.
 16. Cooper N, Bussel J. The pathogenesis of immune thrombocytopaenic purpura. *B J Haematol* 2006; 133:364-374.
 17. Semple J. T cell and cytokine abnormalities in patients with autoimmune thrombocytopenic purpura. *Trans Apher Science* 2003; 28:237-242.
 18. Andersson J. Cytokines in idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP). *Acta Paediatr Suppl* 1998; 424:61-4.
 19. Bin Liu, Hui Zhao, Man-Chiu Poon, Zhibo Han, Dongsheng Gu, Maoqiang Xu, Hairong Jia, Renchi Yang, Zhong Chao Han. Abnormality of CD4+CD25+ regulatory T cells in idiopathic thrombocytopenic purpura. *J Comp* 2006; 78:139-143.
 20. Jeong-Shi Lin, Jau-Yi Lyou, Ying-Ju Chen, Pei-Shan Chen, Hsueng-Mei Liu, Chao-Hung Ho, Tsung-Chi Hao, Cheng-Hwai Tzeng. Unappreciated HLA Antibodies in Adult Immune Thrombocytopenic Purpura. *J Formos Med Assoc* 2007; 106(2):105-109.
 21. Capsoni F, Sarzi-Puttini P, Zanella A. Primary and secondary autoimmune neutropenia. *Arthritis Res Ther* 2005; 7(5):2008-214.
 22. Palmblad J, Papadaki H, Eliopoulos G. Acute and chronic neutropenias. What is new? *J Intern Medicine*, 2001; 250:476-491.
 23. Maheshwari A, Christensen R, Calhoun D. Immune-mediated neutropenia in the neonate. *Acta Paediatr Suppl* 2002; 438:98-103.
 24. Bux J. Human neutrophil alloantigens. *Vox Sanguinis* 2008; 94:277-285.
-