

Gaceta Médica de México

Volumen
Volume 138

Número
Number 5

Septiembre-Octubre
September-October 2002

Artículo:

Mecanismos celulares y bioquímicos involucrados en la fisiopatogenia de la púrpura trombocitopénica autoinmune.

Derechos reservados, Copyright © 2002:
Academia Nacional de Medicina de México, A.C.

**Otras secciones de
este sitio:**

-  [Índice de este número](#)
-  [Más revistas](#)
-  [Búsqueda](#)

***Others sections in
this web site:***

-  [Contents of this number](#)
-  [More journals](#)
-  [Search](#)



www.medigraphic.com

Mecanismos celulares y bioquímicos involucrados en la fisiopatogenia de la púrpura trombocitopénica autoinmune

Ma. Victoria Domínguez-García,^{*,**} Héctor Rodríguez-Moyado^{**,***}

Recepción versión modificada 05 de abril del 2001; aceptación 17 de abril del 2001

Resumen

La púrpura trombocitopénica autoinmune (PTA) es un síndrome causado por la destrucción excesiva de plaquetas recubiertas por autoanticuerpos dirigidos contra antígenos de la membrana plaquetaria. Se ha demostrado que la destrucción de plaquetas se lleva a cabo en los macrófagos del sistema retículo endotelial, pero todavía no se conocen los mecanismos inmunológicos involucrados en la destrucción. El objetivo de este artículo es revisar la información acerca de la fisiopatogenia de esta enfermedad.

Ante la dificultad de tener estudios controlados en humanos se ha recurrido a los modelos en animales de laboratorio. Entre estos modelos están los ratones (NZW X BXSB) F1 con púrpura autoinmune, y los llamados ratones "Harrington" con púrpura inmune.

Los estudios en humanos sugieren que existen diferencias en la patogénesis de la PTA aguda y crónica, particularmente al nivel de células T reactivas; por ejemplo, una elevada actividad de Th (CD4+) con actividad reducida T supresora (CD8+) concomitante en la forma crónica, pero en la forma aguda no se ha encontrado predominio de algún fenotipo especial, e incluso puede haber disminución de CD4+. La proliferación de linfocitos inducida por diferentes mitógenos se encuentra elevada en los pacientes con PTA crónica, pero disminuida en los pacientes con PTA aguda.

Palabras clave: Púrpura trombocitopénica autoinmune.

Introducción

A pesar de que se reconoce a la púrpura trombocitopénica autoinmune (PTA) como un síndrome definido, no se cuenta con datos precisos de la incidencia mundial.

Summary

Autoimmune thrombocytopenic purpura (ATP) is a bleeding disorder caused by excessive destruction of antibody-coated platelets. It is known that platelet destruction takes place in macrophages of reticulo-endotelial system, but immunological mechanisms involved in such destruction are unknown. The objective of this article is to review the literature concerning pathogenesis of ATP: to have controlled experimental conditions some animal laboratory models have been used. The (NZW X BXSB) F1 mice have been studied as autoimmune disease model and Harrington mouse as an immune purpura model.

Studies in humans suggest that there are some differences in pathogenesis of acute or chronic ATP, particularly in reactive T cells. For example, in chronic form there are high levels of The (CD4+) activity concomitant with low levels of T suppressor (CD8+) activity, while in acute form there is no dominance of any particular T cell activity or CD4+ is even decreased. Mytogen lymphocyte proliferation is increased in chronic ATP but decreased in acute form.

Key words: Autoimmune thrombocytopenic purpura.

Un estudio sueco reportó 6.6 casos por cada 100,000 habitantes y un estudio danés 3.2.^{1,2} En México no se cuenta con ningún estudio de su incidencia.

A la fecha no se conoce el mecanismo o los mecanismos involucrados en la producción de autoanticuer-

* Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM, D.F.

** Banco Central de Sangre, Centro Médico Nacional Siglo XXI. IMSS, México, D.F.

*** Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea, SS. México, D.F.

Correspondencia y solicitud de sobretiros: Ma. Victoria Domínguez García. Departamento de Inmunología. Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM, México, D.F. C.P. 04510 Tel.: 56-22-38-54 Fax.: 56-22-33-69 e-mail.: mavi@biomedicas.unam.mx

pos que llevan a la destrucción plaquetaria y a las manifestaciones hemorrágicas. El objetivo de este artículo es revisar la información acerca de la fisiopatogenia de esta enfermedad. En primer lugar desde un punto de vista general, en segundo lugar de lo observado en los modelos en ratón y finalmente de los mecanismos celulares y bioquímicos involucrados.

Púrpura trombocitopénica autoinmune

La PTA es un síndrome causado por la destrucción excesiva de plaquetas recubiertas por autoanticuerpos dirigidos contra antígenos de la membrana plaquetaria. La destrucción de las plaquetas se lleva a cabo en los macrófagos del sistema retículo endotelial.³⁻⁷

Mediante diversas técnicas de laboratorio se ha podido demostrar la presencia de autoanticuerpos en el suero de hasta el 80% de los pacientes con PTA. La mayoría de los anticuerpos están dirigidos contra epítomos de glucoproteínas de la membrana plaquetaria, principalmente el complejo GPIIb-IIIa, Ib-IX, Ia-IIa, IV y V. En la mayoría de los pacientes se encuentran mezclas de anticuerpos que reaccionan con más de una glucoproteína.⁸⁻¹⁶

La presencia de anticuerpos antiplaqueta en la PTA fue demostrada por vez primera por Harrington *et al.* en el año de 1951.¹⁷

La clase de inmunoglobulina involucrada es IgG en el 92% de los casos, la subclase IgG1 es la más frecuente (82%).¹⁸⁻¹⁹ Se ha demostrado la fijación de complemento hasta C3b en casos muy raros.¹⁹

El comportamiento de los anticuerpos antiplaqueta en la fisiopatología de la enfermedad es controversial; sin embargo, en general se está de acuerdo en que el título de éstos disminuye en pacientes que están en remisión y aumenta en periodos de recurrencia de la enfermedad.^{16,20}

La PTA puede ser primaria (idiopática) y secundaria. En la PTA primaria no se identifica la causa, la secundaria está relacionada con enfermedades como el lupus eritematoso sistémico (LES), neoplasias, infecciones bacterianas, infecciones virales como en el caso de los virus de la hepatitis B y de la inmunodeficiencia humana (VIH),²¹⁻²⁵ y otras causas fortuitas como el uso de drogas terapéuticas como la quinidina, quinina, heparina, etc.²⁵

Entre los adultos, la PTA idiopática afecta principalmente a las mujeres: aproximadamente el 72% de todos los pacientes. En la mayoría de los casos la enfermedad es insidiosa, crónica, recurrente, con episodios de remisión. En los niños en cambio, generalmente se presenta después de una infección viral y afecta a ambos sexos por igual, se inicia abruptamente y remite espontáneamente en el 80% de los casos.^{22,25-27}

El diagnóstico de PTA se basa en la historia clínica, el examen físico, la biometría hemática y la observación del extendido de la sangre periférica. El cuadro clínico co-

mún es la presencia de púrpura trombocitopénica. En este síndrome hemorrágico las petequias en piel y mucosas, las epistaxis y gingivorragias son las manifestaciones más comunes. La hematuria, hemorragia de tubo digestivo o del sistema nervioso central son menos frecuentes, pero cuando ocurren ponen en peligro la vida de los pacientes.²⁷ En la biometría hemática el dato principal es una cuenta de plaquetas baja. Para muchos investigadores clínicos la observación del extendido de sangre periférica es muy importante, ya que proporciona información sobre el tamaño y morfología de plaquetas, eritrocitos y leucocitos, de esta manera se pueden distinguir algunas posibles causas de plaquetopenia.²⁸

Para el tratamiento de la PTA, se han empleado históricamente dos recursos: los esteroides suprarrenales como la prednisona, y la esplenectomía. Los primeros son eficaces como tratamiento primario, la segunda como tratamiento electivo en el síndrome agudo y grave y en los casos con recaída en lapso de seis meses.²⁷⁻³³ La tendencia actual es retardar lo más posible la esplenectomía y el uso de esteroides.^{6,34-39}

Un problema importante es el tratamiento de aquellos pacientes con trombocitopenia grave y persistente a pesar de la prednisona y la esplenectomía. Se han intentado numerosas opciones de tratamiento por diferentes grupos de investigadores; como son el uso de esteroides, inmunosupresores (azatioprina), gammaglobulina anti-D endovenosa en dosis altas, gammaglobulina anti-D en dosis bajas en forma de eritrocitos opsonizados; todas ellas con éxito relativo. Los resultados de algunos de estos esquemas de tratamiento no se han logrado reproducir por otros grupos, o bien sólo se observa remisión transitoria.²⁹⁻³⁹

Modelo murino

Desde 1983 se ha usado a los ratones para el estudio de la fisiopatogenia de la púrpura. En los primeros experimentos se demostró la presencia de macrófagos con citoplasma "esponjoso" (células *foamy*). Estas células ya se habían observado en el bazo de los pacientes con PTA. Las células *foamy* fueron inducidas: por inyección subcutánea de plaquetas previamente recubiertas con un anticuerpo anti-plaquetas murinas, inyectando fosfolípidos comercializados (PE, PC, SM, PS) y también con membranas de eritrocitos. Este fenómeno se debe a la degradación incompleta de las membranas plaquetarias en los lisosomas, los fosfolípidos derivados de las membranas de las plaquetas son los responsables del aspecto esponjoso.^{40,41}

En 1987 Corash usó un modelo murino de púrpura trombocitopénica inmune, en el cual la trombocitopenia se indujo por inyección intraperitoneal de un anticuerpo antiplaqueta, para evaluar la relación entre la poliploidía

de los megacariocitos y el volumen medio de las plaquetas. No existió correlación ya que la poliploidía aumentó de 16 N a 32 N sólo 48 horas después de la trombocitopenia, y el volumen plaquetario aumentó a las 8 horas.⁴²

En 1989 Stenberg en el mismo modelo observó que efectivamente el volumen medio de las plaquetas aumenta a las 8 horas y permanece por 24 horas, 48 horas después, las plaquetas recuperan su volumen normal. Este aumento en volumen se debe a que los megacariocitos liberan plaquetas de mayor tamaño y con características del citoplasma diferentes a las normales. Estos resultados sugieren que las características de las plaquetas liberadas no dependen de la ploidía ni de cambios citoplasmáticos de los megacariocitos. Por lo tanto, tal vez se deba a la acción del anticuerpo sobre el megacariocito.⁴³

Los ratones (NZW X BXSB) F1 son un modelo de trombocitopenia autoinmune.⁴⁴ La hembra NZW tiene predisposición para LES y el macho BXSB tiene el factor acelerador de autoinmunidad en el cromosoma Y (Yaa).⁴⁵ Los ratones machos que resultan de esta cruce desarrollan trombocitopenia a los 4 meses de edad, pero los anticuerpos antiplaqueta se pueden observar desde los 2 meses de edad. Estos ratones desarrollan también nefritis lúpica e infarto del miocardio. Hay una gran correlación entre la presencia de anticuerpos antiplaqueta, la plaquetopenia y el acortamiento de la vida media plaquetaria. Lo que indica que los anticuerpos en la superficie de las plaquetas tienen un papel crucial en la destrucción de las plaquetas, por lo que estos ratones W/B F1 son animales muy útiles como modelo para estudiar la PTA.⁴⁶

El bazo de estos ratones captó una gran cantidad de plaquetas marcadas con radioisótopos en comparación con controles normales. Después de la esplenectomía se observó que las cuentas plaquetarias se elevaban hasta por 6 meses. También la cantidad de anticuerpos unida a la membrana de las plaquetas disminuyó por un tiempo; no así la cantidad de anticuerpos en el suero. A pesar de que el bazo es el principal órgano de producción de anticuerpos y destrucción plaquetaria hay otros órganos donde ocurren estos fenómenos.⁴⁷

Los ratones W/B F1 se trataron con prednisolona y se observó un aumento en la cuenta plaquetaria, 4 semanas después del tratamiento, así como un aumento de la vida media de las plaquetas; pero no se observó reducción en la producción de anticuerpos. Además disminuyó la fagocitosis de eritrocitos autólogos marcados con ⁵¹Cr.⁴⁸

Se ha usado deoxispergualina en estos ratones y se observó que previene el desarrollo de trombocitopenia e inhibe la cantidad de anticuerpos circulantes en contra de las plaquetas, también disminuye la nefritis lúpica.⁴⁹

Los ratones W/B F1 que fueron alimentados con una dieta pobre en carbohidratos tuvieron menor cantidad

de anticuerpos anti-plaquetas, menor cantidad de células formadoras de anticuerpos y fagocitosis disminuida de eritrocitos recubiertos de IgG, en comparación con aquellos que recibieron una dieta normal. Estos ratones con dieta normal y posteriormente con dieta restringida hicieron remisión de la trombocitopenia.⁵⁰ De estos mismos ratones W/B F1 se aislaron 7 clonas de anticuerpos antiplaquetas que se inyectaron a ratones sin pelo. Dos de estas clonas produjeron trombocitopenia, niveles elevados de anticuerpos unidos a plaquetas, púrpura y megacariocitosis. Dos clonas reaccionaron con DNA de una y de dos cadenas, y una clona reaccionó con cardiolipina, pero ninguna de estas tres últimas fue patogénica. Los anticuerpos monoclonales patogénicos se unieron a una proteína plaquetaria de 100 kD.⁵⁰

Los ratones W/B F1 también tienen hipergammaglobulinemia, básicamente a expensas de IgG2a e IgG2b. La relación de células B pequeñas en reposo y células B grandes activas es muy baja comparada con ratones normales. Las células B pequeñas responden fácilmente a los lipopolisacáridos, lo que hace pensar que están genéticamente programadas para activarse fácilmente, y provocar una superproducción de anticuerpos. Un número significativo de células B CD5+ se encontró en los nódulos linfáticos de los ratones W/B F1 viejos. Todos estos hallazgos indican que las células B han sido activadas *in vivo*.⁵¹

McKenzie hace un modelo murino de púrpura inmune "humanizado". Para este modelo emplea ratones transfectados con el gene humano del receptor de inmunoglobulinas FcγRIIIa (CD32) (no existe la contraparte murina de este receptor) y ratones sin transfectar. Al inyectar el anticuerpo 4A5 (de rata contra plaquetas de ratón) se produce trombocitopenia moderada en los ratones normales y severa en los transfectados. Este estudio demostró la importancia de FcγRIIIa en la destrucción plaquetaria.⁵²

En el experimento de Campbell, llamado "ratón Harrington", se trasplantaron células mononucleares de cordón umbilical humano a ratones que recibieron altas dosis de radiación para evitar el rechazo. Después de 4 semanas se demostró la presencia de plaquetas humanas en dichos ratones. Posteriormente se les administró un anticuerpo anti-plaquetas humanas por vía endovenosa, se observó trombocitopenia a las tres horas, de la cual se recuperaron cuatro días después. Este modelo puede ser de gran ayuda para estudiar la PTA humana en los ratones.⁵³

Mecanismos celulares y bioquímicos en humanos con PTA

En 1999 Louwes y colaboradores estudiaron 101 pacientes con PTA definiendo dos subgrupos. Uno de

ellos (59%) tenía las siguientes características: producción plaquetaria normal o aumentada, destrucción periférica aumentada, vida media de las plaquetas reducida a 1.6 ± 1.4 días. Cuarenta y ocho de estos pacientes además tuvieron secuestro esplénico aumentado y 30 de 34 fueron sometidos a esplenectomía con remisión parcial o completa. Los del segundo grupo (41%) tenían: producción plaquetaria disminuida y vida media de las plaquetas más prolongada (3.6 ± 2 días) que los del grupo anterior. En este grupo, la respuesta a la esplenectomía fue menor (62%) y tenían producción defectuosa de megacariocitos en la médula ósea.⁵⁴

Estos resultados nos conducen a reconsiderar la fisiopatología de la PTA. Se empezará por revisar el papel de los linfocitos en esta enfermedad.

Linfocitos T

Hay muchos estudios relacionados con el papel de los autoanticuerpos en esta enfermedad autoinmune; sin embargo, se ha estudiado relativamente poco la inmunorregulación de las células T en cuanto a la producción de autoanticuerpos anti-plaqueta.⁵⁵

Hay evidencia que sugiere que en la PTA crónica la producción de estos autoanticuerpos anti-plaqueta está bajo la influencia de varios mecanismos anormales mediados por linfocitos, por ejemplo una elevada actividad de Th (CD4+) con reducción concomitante de la actividad T supresora (CD8+).⁵⁶⁻⁵⁹ Sin embargo, da la impresión de que las condiciones en la PTA aguda son diferentes y no

Cuadro I. Resumen de características inmunológicas en la PTA aguda, crónica y crónica refractaria

	PTA aguda	PTA crónica	PTA crónica refractaria
<i>Linfocitos T</i>			
Linfocitos T CD4+	actividad normal o reducida	actividad aumentada	
Linfocitos T CD8+	actividad normal	actividad reducida	
Linfocitos T TCR $\gamma\delta$ +		aumentados	
Proliferación con PHA, ConA, PWM	reducida	aumentada	reducida
<i>Linfocitos B</i>			
Linfocitos B CD5+		aumentados	
Genes más usados de IgG		VH6	
Detección de anticuerpos	difícil	difícil	difícil
<i>Células NK</i>			
Nivel de células NK		normal o reducido	aumentado
Actividad de células NK		normal	aumentada
<i>Citocinas séricas</i>			
IL-2	normal	aumentada	
sIL-2R	aumentado	aumentado	
M-CSF		normal	muy aumentado
IL-6	normal	normal	aumentada
IL-10	normal	aumentada	aumentada
IFN γ	normal	aumentado	aumentado
IL-11		aumentada	aumentada
TPO		normal o disminuida	disminuida
<i>Citocinas in vitro</i>			
Células CD2+			
IFN γ		normal	aumentada
TNF α		normal	aumentada
IL-6		normal	normal
<i>Células mononucleares de sangre periférica</i>			
IL-2		nivel bajo	
IFN γ		nivel bajo	
IL-4		nivel elevado	
IL-10		nivel elevado	
P-Selectina		aumentada	aumentada

se ha encontrado predominio de algún fenotipo especial, o incluso puede haber disminución de CD4+. ⁶⁰⁻⁶²

Se ha encontrado un número elevado de linfocitos TCR $\gamma\delta$ +. Existiendo una correlación positiva entre este heterodímero en la membrana de los linfocitos T y el grado de trombocitopenia. La presencia de este heterodímero puede ser importante en la patogénesis de la púrpura, por lo menos en algunos pacientes. ⁶³⁻⁶⁵ Los genes involucrados en el rearreglo del TCR son los genes Vb 3,6,10,13.1 y 14. ⁶⁶

La proliferación de linfocitos inducida por diferentes mitógenos (PHA, Con A, PWM) generalmente se encuentra elevada en los pacientes con PTA crónica, pero en los pacientes con PTA aguda se encuentra disminuida. ⁶⁰⁻⁶¹ Los pacientes con PTA crónica que no responden al tratamiento con esteroides o esplenectomía tienen esta respuesta blastogénica reducida comparada con los pacientes que sí responden. ⁶²

La citocina IL-2 es producida por linfocitos T activados, su función es la de factor de crecimiento para otros linfocitos, además de estimular a otros linfocitos T, también estimula a linfocitos B para la producción de los anticuerpos. ^{57,64} En general, se ha encontrado aumento en la producción de IL-2 en la PTA aguda y crónica, aunque esta sobreproducción no se debe a un aumento en la cantidad de linfocitos T CD4+, sino a una actividad intrínseca diferente. ^{61,63,67}

Por último, se ha demostrado la interacción de células Th con células presentadoras de antígeno como el estímulo primario para la producción de anticuerpos anti-plaqueta en estos pacientes. ⁶⁸⁻⁷⁰

Linfocitos B

Los pacientes con PTA tienen anticuerpos que reconocen diferentes antígenos plaquetarios, principalmente los complejos GPIIb-IIIa, Ib-IX, Ia-IIa y otros. ^{16,20} No se conoce el mecanismo por el cual estos anticuerpos llevan a la disfunción de las células T supresoras, pero esta disfunción conduce a la perpetuación del fenómeno autoinmune. Algunos estudios han demostrado que este fenómeno puede corregirse con dosis repetidas de IgG, que al parecer aumenta la actividad T supresora. ⁷¹⁻⁷³ Se ha visto que en los pacientes con anticuerpos contra GPIIb, la trombocitopenia es más severa y la respuesta a los esteroides es pobre. Esto puede deberse a que además de la IgG estos pacientes tienen IgM y C3 asociado a las plaquetas. ⁷⁴ Los linfocitos B CD5+ son células inmaduras que secretan preferentemente anticuerpos IgG. En algunos pacientes con PTA crónica existe una correlación positiva entre el porcentaje de células B CD5+ y la cantidad de IgM asociada a las plaquetas. De aquí se especula que las células CD5+ juegan un papel muy importante en la producción de

autoanticuerpos. El tratamiento con dosis altas y repetidas de IgG intravenosa disminuye la cantidad de los linfocitos CD5+. ⁷⁵⁻⁷⁷

En los estudios de citogenética de los pacientes con PTA no se encuentran diferencias en la utilización de genes VH y VK de las inmunoglobulinas, aunque hay algunos reportes de que se emplean más los genes de la familia VH6. ⁷⁸⁻⁷⁹

Finalmente, ha sido muy difícil demostrar la presencia de anticuerpos antiplaquetas en el suero de los pacientes con PTA. Tal vez se deba a que son anticuerpos de baja afinidad, por lo que se han usado, con poco éxito, una serie de procedimientos para mejorar la detección. ⁷⁵ Además no se ha encontrado una correlación ni entre la cantidad de anticuerpo asociado a las plaquetas y la cantidad de anticuerpos en el suero, ni entre la trombocitopenia y la presencia de púrpura. ⁷⁵⁻⁸⁰

Células asesinas naturales (NK)

Resulta muy difícil establecer el papel que juegan las células NK en la fisiopatogenia de la púrpura. Algunos autores han encontrado actividad NK citotóxica reducida en PTA crónica idiopática y PTA secundaria. ⁵⁵⁻⁸¹ Pero otros han encontrado que los pacientes con PTA crónica estable tienen niveles normales de estas células, mientras que aquellos pacientes que tienen púrpura activa presentan un aumento en el número de células NK y este aumento es más acentuado en los pacientes refractarios al tratamiento con esteroides o esplenectomía. Además del aumento en cantidad, también está incrementada la respuesta proliferativa de estas células. ^{61,82-84}

La menor actividad NK en un grupo de pacientes con PTA crónica aumentó después de la terapia con IFN α . ⁸¹ En un paciente que estaba recibiendo tratamiento con danazol se observó una fluctuación cíclica de su cuenta plaquetaria cada cuatro semanas, se encontró correlación entre el aumento de la cuenta de plaquetas y el aumento en la actividad de las células NK. ⁸⁵

Citocinas

Ya se ha mencionado que los linfocitos T activados secretan varias citocinas. De éstas se ha seleccionado IL-2 para identificar el estadio activado de las células T. La producción de citocinas se ha estudiado en células *in vitro*, en el sobrenadante de los cultivos celulares y en el suero o plasma de los pacientes. De esta forma se tienen resultados un tanto contradictorios, con niveles disminuidos, normales o aumentados dependiendo si el estudio se realizó *in vivo* o *in vitro*.

Los niveles plasmáticos de factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF) se encuentran normales en los pacientes con PTA crónica estable, mode-

radamente aumentados en los pacientes con PTA activa, y muy aumentados en aquéllos con PTA severa y refractaria. Cuando los pacientes reciben tratamiento con IgGIV a altas dosis el factor M-CSF disminuye ligeramente y las cifras de plaquetas aumentan. Estos resultados sugieren que M-CSF puede influenciar la destrucción plaquetaria en los pacientes con PTA al aumentar la cantidad de macrófagos.⁸⁶ Los niveles de IL-6 correlacionan con los niveles de M-CSF, y cuando este factor disminuye, los niveles de IL-6 también disminuyen significativamente. Estos resultados sugieren que altas dosis con IgGIV abaten la destrucción plaquetaria por disminución de estas dos citocinas.⁸⁷⁻⁹⁰

Un alto porcentaje (53%) de niños con PTA crónica a diferencia de niños con PTA aguda (9%) tenían niveles séricos aumentados de IL-2, IFN γ e IL-10, y no tenían niveles detectables de IL-4 ni IL-6, lo cual sugiere una activación temprana de Th0 y Th1. Esto sugiere que existen diferencias en la patogénesis de la PTA aguda y crónica, particularmente al nivel de células T reactivas.⁶⁷ Tal vez se trata de etapas diferentes de un mismo camino fisiopatológico.

Se ha postulado que la respuesta de citocinas en la PTA crónica es tipo Th1 ya que los niveles séricos de IL-2, IFN γ e IL-11 están elevados; mientras que IL-4 está disminuida. El aumento de IL-11 puede deberse a la gran cantidad de plaquetas que se están produciendo por megacariocito.⁹¹ También el receptor soluble de IL-2 (sIL-2R) está aumentado en el plasma de los pacientes con PTA aguda o crónica, y no responde al tratamiento con metilprednisolona en pacientes con PTA crónica. No hubo correlación de este receptor con la cuenta de plaquetas ni antes ni después del tratamiento.⁹²

El tratamiento con IgG anti-D no modifica los niveles séricos de citocinas y tampoco afecta las poblaciones de linfocitos ni el repertorio del TCR; es decir este anticuerpo únicamente bloquea el sistema retículo endotelio.^{35,93}

Los estudios *in vitro* de la producción de citocinas en células CD2+ de sangre periférica en pacientes con PTA crónica en fase activa muestran que hay producción aumentada de IFN γ y TNF α (estimuladas con PHA) comparados con pacientes con PTA crónica estable. No hubo diferencias significativas en la producción de IL-6. La severidad clínica de esta enfermedad correlaciona con la secreción alterada de citocinas por células CD2+.⁸³

Las células mononucleares de sangre periférica de pacientes con PTA crónica en cultivo (estimuladas con PHA) secretan niveles bajos de IL-2 e IFN γ , y niveles elevados de IL-4 e IL-10. Después del tratamiento con IFN α se corrigen los valores de todas estas citocinas.

Esta corrección se ve reflejada en la disminución de los anticuerpos anti-GPIIb-IIIa asociados a las plaquetas, así también como en la reducción del alto porcentaje de células T con TCR $\gamma\delta$.

Estos resultados son consistentes con un aumento en actividad Th1 y disminución en la actividad Th2.⁸¹

La trombopoyetina puede estar normal o disminuida en los pacientes con PTA, pero aumentada en los pacientes con otras causas de trombocitopenia no inmunológicas.^{88,94} Se han observado niveles disminuidos de TPO y aumentados de IL-6 y P-selectina en estos pacientes antes del tratamiento con esteroides. Después del tratamiento se normalizan todos los valores. TPO puede estar disminuida por la masa incrementada de megacariocitos, IL-6 puede estar aumentada para compensar la megacariocitopoyesis/trombopoyesis y el aumento de P-selectina puede reflejar una compensación de hiperactividad plaquetaria o puede ser un marcador de la destrucción.⁹⁵

Medio ambiente

Dos hechos apoyan la caracterización de la PTA como un trastorno inmunitario. Primero, los anticuerpos en contra de las plaquetas a menudo aparecen después de una infección viral o bacteriana provocando la eliminación de estas células. La enfermedad viral puede cambiar la respuesta inmune compleja del hospedero a diferentes niveles y en las infecciones bacterianas se da el fenómeno de adherencia inmune.⁹⁶ Segundo, una mezcla de inmunoglobulinas de donadores sanos (IgGIV) suministrada al paciente, puede influenciar el desbalance de la respuesta inmunitaria en PTA.^{73,97}

En relación con infección viral se han reportado varios ejemplos de mimetismo molecular entre proteínas virales y proteínas humanas. Es particularmente importante el mimetismo entre proteínas del VIH-1 y plaquetas humanas, ya que los anticuerpos dirigidos contra las proteínas de virus dan reacción cruzada con las proteínas plaquetarias jugando un papel en la trombocitopenia que se presenta en algunos de los pacientes VIH+.⁹⁸⁻¹⁰² En la colitis ulcerativa se ha presentado púrpura secundaria, y se ha podido demostrar la presencia de anticuerpos unidos a las plaquetas, que desaparecieron después de la remisión de la colitis. Se piensa que hay inmunoestimulación por antígenos lumenales de la mucosa intestinal y una inmunorregulación alterada o tal vez mimetismo molecular.¹⁰³

Tratamiento con anticuerpos

A pesar de que no se sabe como funciona la IgGIV en ésta y otras enfermedades autoinmunes, el tratamiento de la PTA con dosis elevadas de inmunoglobulinas G por vía endovenosa (IgGIV) es útil en casos de pacientes refractarios a otros tratamientos.^{34,36-37} Se piensa que actúa modificando la relación de linfocitos CD4/CD8 disminuyendo los linfocitos CD4+. Estos resulta-

dos sugieren que durante el tratamiento la población CD4+ es influenciada resultando en activación reducida de células B dependientes de linfocitos T,¹⁰⁴ además de la disminución en la cantidad de linfocitos CD5+ (*vide supra*).⁷⁵⁻⁷⁷ También se piensa que producen un bloqueo de los receptores Fc de los macrófagos, inhibiéndose así la destrucción del complejo plaqueta-anticuerpos.^{4,6,7,32,105-108}

Por la metodología llamada "*phage display*" se seleccionaron anticuerpos de pacientes con PTA que se unieron a las IgG's usadas como tratamiento. Las secuencias moleculares de las regiones variables de las cadenas pesada y ligera mostraron extensas mutaciones en los CDR, y dos fueron idénticas a genes germinales, que son usados por muchos otros autoanticuerpos. Estos resultados implican una interacción específica de IgIV con autoanticuerpos del suero y el receptor de células β (β CR) derivados de genes germinales muy relacionados con la generación de autoanticuerpos. Es decir hay interacción específica entre los idiotipos de los anticuerpos de los pacientes y los anticuerpos anti-idiotipo presentes en las preparaciones de IgIV.¹⁰⁹

Otro anticuerpo que se usa como tratamiento es IgG anti-D.²⁹⁻³⁹ que se cree que funciona bloqueando al sistema retículo endotelial,^{32,105} ya que no afecta las poblaciones de linfocitos, ni el repertorio del TCR, y tampoco la producción de citocinas.⁹³

Una paciente de 44 años con PTA refractaria recibió tratamiento con un anticuerpo monoclonal murino (197 subclase IgG2a) que se une a dos distintos epítopes de Fc γ RI (CD64) de la membrana de los macrófagos, resultando en entrecruzamiento y modulación de este receptor. A pesar de que se obtuvo mejoría clínica con resolución de equimosis orales y epistaxis desde la primera administración del anticuerpo, no se observó cambio en la cuenta de plaquetas después de 5 días de tratamiento. La paciente tuvo monocitopenia que duró los 5 días de tratamiento, y revirtió después de administrar IgIV.¹¹⁰ También se ha usado anti Fc γ RIII (CD16), este anticuerpo logró bloquear la fagocitosis plaquetaria por los macrófagos.¹¹¹

Tratamiento con interferón alfa (IFN α)

Existen muchos reportes del éxito que tiene el tratamiento con IFN α en los pacientes con PTA crónica y refractaria a los tratamientos convencionales (alrededor del 30 al 70% de los pacientes responden). También se ha usado en la PTA asociada a SIDA. Aunque en la mayoría no se mencionan reacciones colaterales, en algunos casos se ha observado la presencia de fiebre.¹¹²⁻¹²¹

El IFN α produce disminución de la cantidad de anticuerpos antiplaqueta¹¹³ y aumento de la vida media

de las plaquetas,¹¹⁷ sin cambiar los niveles de linfocitos T CD4+.¹⁰⁷ Sin embargo, también se ha reportado que no tiene ningún efecto¹²² y que incluso puede presentarse PTA como reacción secundaria en el tratamiento de la hepatitis C con esta citocina.¹²³

Discusión

Las características de evolución de los síndromes de PTA aguda y crónica son:

- Variación en el título de anticuerpos en relación directa con las manifestaciones hemorrágicas.
- Variación de la secreción de citocinas también en relación con la actividad hemorrágica. Estos resultados permiten suponer que el estímulo que lo produce está presente y activo en las etapas con mayor "actividad hemorrágica". La interacción entre las células T y β favorece la destrucción al aumentar las clonas de células activadas, con secreción de citocinas y aumento correspondiente de los receptores de citocinas en las células T y de receptores de inmunoglobulinas en los macrófagos.

La observación de un efecto aparentemente directo de la globulina gamma anti-D (en pacientes D positivos) y de los eritrocitos opsonizados con anticuerpo anti-D, sobre receptores Fc y probablemente de complemento de la membrana de los macrófagos, en un número substancial de casos de PTA crónica refractaria,³² con la mejoría de la cifra de plaquetas y de los signos hemorrágicos sugiere bloqueo de estos receptores. Este bloqueo no es suficiente para lograr la remisión completa, por lo que podemos hipotetizar que el estímulo crónico que activa la autoinmunidad persiste y que estimula también otras formas de destrucción plaquetaria con producción de IgM fijadora de complemento y destrucción intravascular o la participación de otras células ubicadas en el hígado, o la destrucción por células NK.

Los complejos inmunes de plaqueta + virus o bacteria, en alguna forma aún no aclarada pueden tener afinidad por las proteínas de la membrana plaquetaria (IIb-IIIa, etc) que pueden jugar un papel fisiológico en la eliminación de estos complejos y que en los casos en que su función es superada por exceso de antígeno microbiano, los receptores IIb-IIIa quedan expuestos a la acción del anticuerpo anti complejo plaqueta-microbio.

Probablemente, mientras no se encuentren otras formas de tratamiento que rompan la secuencia: agente estimulante $\rightarrow$ producción de anticuerpos $\rightarrow$ formación de complejo Ag-microbiano+ Ag-plaquetario $\rightarrow$ destrucción por fagocitosis, no se alcanzará la remisión completa de los casos crónicos refractarios. Los casos agudos (no fulminantes), como se ha observado, en su

mayoría remiten espontáneamente, podríamos hipotetizar que en ellos la concatenación: estímulo → producción de anticuerpos → fagocitosis, ocurre de manera equilibrada y el sujeto expuesto finalmente logra recuperar su homeostasis.

A pesar de los esfuerzos para estudiar el mecanismo o mecanismos bioquímicos que llevan, por una parte, al desorden inmunitario y por otra a la destrucción plaquetaria en la PTA, todavía no hay la información necesaria para dilucidar el fenómeno.

Los estudios en humanos muestran resultados muy contradictorios y los modelos en ratón todavía no están bien caracterizados. Los resultados contradictorios de los estudios en humanos son resultado de que abarcan sólo una pequeña población de pacientes. Algunos reportan los resultados de un solo paciente y algunos otros incluyen de tres a 30 pacientes cuando más. Además de la dificultad que representa poder contar con pacientes vírgenes a los tratamientos y lo que ocurre con cada uno de éstos. Los modelos en ratón, si bien son una ayuda, tienen grandes desventajas. Por una parte los ratones W/B F1 tienen una enfermedad autoinmune de fondo, por lo que son modelo de PTA secundaria. A pesar de la homología que puede haber entre las proteínas de las plaquetas murinas y las plaquetas humanas, así como las proteínas de las células del sistema inmune, no son del todo comparables. Por ejemplo, los ratones no tienen la contraparte del receptor FcγRII en los macrófagos. Se ha tratado de superar estas desventajas con la creación de los modelos "humanizados" de púrpura inmune, pero todavía hacen falta más estudios.

Conclusiones

Las observaciones clínicas en el hombre permiten distinguir varios hechos:

1. La PTA puede ser de evolución aguda o crónica.
2. La forma aguda en niños, evoluciona a la curación espontáneamente en una proporción de 80% o más de los casos.
3. La forma crónica se observa en mayor proporción en el adulto. En ellos 20% se transforma en crónica refractaria, en tanto no remitan con el tratamiento medicamentoso ni con la esplenectomía.
4. Podemos suponer que el estímulo para la formación de autoanticuerpos es un complejo Ag-microbiano+ receptor IIb-IIIa de las plaquetas, que mientras el agente infectante persista, por superación de los mecanismos de depuración del paciente, dará lugar a la cronicidad del síndrome.
5. Es deseable, pero éticamente imposible estudiar la evolución natural de la PTA en humanos, sin tratamiento, para conocer específicamente la patogenia de este síndrome.

Referencias

1. **George JN.** Thrombocytopenia due to enhanced platelet destruction by immunologic mechanisms. In: Williams Hematology, Fifth edition (E. Beutler, M Lichtman, B Coller and T Kipps eds) 1995 Pp 1315-1355. McGraw-Hill, New York.
2. **Frederiksen H, Schmidt K.** The incidence of idiopathic purpura in adults increase with age. *Blood* 1999;94:909-913.
3. **Wendell FR.** Treatment of chronic immune thrombocytopenia. *Clin Hematol* 1983;12:267-284.
4. **Pizzuto J, Ambriz R.** Therapeutic experience on 934 adults with ITP: multicentric trial of the cooperative Latin American Group in hemostasis and thrombosis. *Blood* 1984;64:1179-1183.
5. **Schwartz RS.** Autoimmunity and autoimmune diseases. In: Fundamental Immunology. Paul W E. Ed) Raven Press LTD. 3a Edición New York 1993 PP 1075.
6. **Sandier SG.** The spleen and splenectomy in immune (idiopathic) thrombocytopenic purpura. *Semin Hematol* 2000;37 (suppl 1):10-12.
7. **Chadburn J.** The spleen: anatomy and anatomical function. *Semin Hematol* 2000;37(suppl 1):13-21.
8. **George JN, Mayez A, El-Harake, Gary ER.** Chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* 1994;331:1207-1211.
9. **van Leeuwen EF, van der Ven JTHM, Engelfriet CP, van dem Borne.** Specificity of autoantibodies in autoimmune thrombocytopenia. *Blood* 1982;59:23-26.
10. **Beardsley DS, Spiegel JE, Jacobs MM, Handin RI, Lux IV SE.** Platelet membrane glycoprotein contains target antigens that bind anti-platelet antibodies in immune thrombocytopenias. *J Clin Invest* 1984;74:1701-1707.
11. **Tsubakio T, Tani P, Woods VL Jr, Mcmillan R.** Autoantibodies against platelet GPIIb/IIIa in chronic ITP react with different epitopes. *Br J Haematol* 1987;67:345-348.
12. **McMillan R, Tani P, Millard F, Berchtold L, Renshaw L, Woods VL.** Platelet-associated and plasma anti-glycoprotein autoantibodies in chronic ITP. *Blood* 1987;70:1040-1045.
13. **Kekomaki R, Dawson B, McFarland J, Kunicki TJ.** Localization of human platelet autoantigens to the cysteine-rich region of glycoprotein IIIa. *J Clin Invest* 1991;88:847-854.
14. **Fujisawa K, Tani P, O'Toole TE, Ginsberg MH, McMillan R.** Different specificities of platelet-associated and plasma autoantibodies to platelet gpIIb-IIIa in patients with chronic immune thrombocytopenic purpura. *Blood* 1992;79:1441-1446.
15. **Fujisawa K, Tani P, McMillan R.** Platelet-associated antibody to glycoprotein IIb/IIIa from chronic immune thrombocytopenic purpura patients often binds to divalent cation-dependent antigens. *Blood* 1993;81:1284-1289.
16. **Berchtold P, McMillan R, Tani P, Sommerville-Nielsen S, Blanchette KS.** Autoantibodies against platelet membrane glycoproteins in children with acute and chronic immune thrombocytopenic purpura. *Blood* 1989;74:1600-1602.
17. **Harrington WJ, Minnich V, Hollingsworth JW, Moore CV.** Demonstration of a thrombocytopenic factor in the blood of patients with thrombocytopenic purpura. *J Lab Clin Med* 1951;38:45-49.
18. **Shulman NR, Jordan JV Jr.** Platelet immunology. In: Hemostasis and Thrombosis. 2nd ed. Edited by Colman R.W. J.B. Lippincott Co. Philadelphia.1987; PP 493-509.
19. **Mollison PL, Engelfried R, Contreras M.** Immunology of leucocytes, platelets and plasma components, in "Blood

- transfusion in clinical medicine". Ninth edition. Blackwell Scientific Publications. 1993;PP 617-632.
20. **Berchtold P, Wenger M.** Autoantibodies against platelet glycoproteins in autoimmune thrombocytopenic purpura: their clinical significance and response to treatment. *Blood* 1993;81:1246-1250.
21. **Kelton J, Gibbons S.** Autoimmune platelet destruction: ITP. *Semin Thromb Hemost* 1982;8:83-104.
22. **Karparkin S.** Autoimmune thrombocytopenic purpura. *Semin Hematol* 1985;22:260-288.
23. **Waters AH.** Autoimmune thrombocytopenia: Clinical aspects. *Semin Hematol* 1992;29:18-25.
24. **Oksenhendler E, Bierling P, Chevret S, Defraissy JF, Laurian Y, Clauvel JP.** Splenectomy is safe and effective in human immunodeficiency virus-related immune thrombocytopenia. *Blood* 1993;82:29-32.
25. **Aster RH, George JN.** Thrombocytopenia due to enhanced platelet destruction by immunologic mechanisms. In: Williams Hematology. Williams J, Beutier E, Lichtman, Collier (Eds) McGraw-Hill Inc. 5a. Edición New York PP 1995, Pp 1370-1384.
26. **George JN.** Platelet IgG: measurement, interpretation and clinical significance. In: Progress in Hemostasis and Thrombosis. Collier BS (Ed) Saunders WB. Edición Philadelphia 1991 PP 97-126.
27. **Karparkin S.** Autoimmune (idiopathic) thrombocytopenic purpura. *Lancet* 1997;349:1531-1536.
28. **George JN, Woolf SH, Raskob GE, Wasser JS Medort LM, Ballem PJ, et al.** Idiopathic thrombocytopenic purpura: a practice guideline developed by explicit methods for the American Society of Hematology. *Blood* 1996;88:340.
29. **Lichtin A.** The ITP practice guideline: what, why and for whom? *Blood* 1996;88:1-2.
30. **Andersen JC.** Response of resistant idiopathic thrombocytopenic purpura to pulsed high-dose dexamethasone therapy. *N Engl J Med* 1994;330:1560-1564.
31. **Giovanni E, Messori C, Longo G, Bertesi M.** Long-term salvage treatment by cyclosporin in refractory autoimmune haematological disorders. *Br J Haematol* 1996;93:341-344.
32. **Ambríz R, Muñoz R, Pizzuto J, Quintanar E, Morales M, Avilés A.** Low-dose autologous *in vitro* opsonized erythrocytes. *Arch Intern Med* 1987;147:105-108.
33. **Letsky EA, Greaves M.** Guidelines on the investigation and management of thrombocytopenia in pregnancy and neonatal autoimmune thrombocytopenia. *Br J Haematol* 1996;95:21-26.
34. **Bussel JB.** Splenectomy-sparing strategies for the treatment and long-term maintenance of chronic idiopathic immune thrombocytopenic purpura. *Semin Hematol* 2000;37(suppl 1):1-4.
35. **Bennett CL, Weinberg PD, Goloub RM, Bussel JB.** The potential for treatment of idiopathic thrombocytopenic purpura with anti-D to prevent splenectomy: a predictive cost analysis. *Semin Hematol* 2000;37(suppl 1):26-30.
36. **George JN.** Treatment options for chronic idiopathic (immune) thrombocytopenic purpura. *Semin Hematol* 2000;37(suppl 1):31-34.
37. **Tarantino MD.** Treatment options for chronic immune (idiopathic) thrombocytopenic purpura in children. *Semin Hematol* 2000;37(suppl 1):35-41.
38. **Scaradavou A.** Splenectomy-sparing, long-term maintenance with anti-D for chronic immune (idiopathic) thrombocytopenic purpura: the New York Hospital experience. *Semin Hematol* 2000;37(suppl 1):42-44.
39. **Waintraub SE, Brody JI.** Use of anti-D in immune thrombocytopenic purpura as a means to prevent splenectomy: case reports from two university hospital medical centers. *Semin Hematol* 2000;37(suppl 1):45-49.
40. **Ishihara T, Akizuki S, Yamamani S, Yamashita Y, Yokota T, Okusono Y, Takahashi M, Kamei T, Uchino F, Matsumoto N.** Foamy cells in spleens and in granulomas induced by murine platelets, commercialized phospholipids, and erythrocyte membrane. Histological and ultrastructural studies. *Acta Pathol Jpn* 1983;33:943-958.
41. **Ishihara T, Akizuki S, Yokota T, Takahashi M, Uchino F, Matsumoto N.** Foamy cells associated with platelet phagocytosis. *Am J Pathol* 1984;114:104-111.
42. **Corash L, Chen H.Y, Levin J, Baker G, Lu H, Mok Y.** Regulation of thrombopoiesis: effects of the degree of thrombocytopenia on megakaryocyte ploidy and platelet volume. *Blood* 1987; 70:177-185.
43. **Stenberg PE, Levin J.** Ultrastructural analysis of acute immune thrombocytopenia in mice: dissociation between alterations in megakaryocytes and platelets. *J Cell Physiol* 1989; 141:160-169.
44. **Oyaizu N, Yasumizu R, Miyama-Inaba M, Nomura S, Yoshida H, Miyawaki S, Shibata Y, Mitsuoka S, Yasunaga K, Moni S, Good R, Ikehara S.** (NZW x BXSb) F1 Mouse: a new animal model for idiopathic thrombocytopenic purpura. *J Exp Med* 1988; 167: 2017-2022.
45. **Hang L, Izui MS, Dixon FJ.** (NZW x BXSb) F1 hybrid: a model of acute lupus and coronary vascular disease with myocardial infarction. *J Exp Med* 1981;154:216-221.
46. **Mizutani H, Furubayashi T, Kuriu A, Take II, Tmiyama Y, Yoshida H, Nakamura Y, Inaba M, Kurata Y, Yonezawa T, Tarui S, Ikehara S.** Analyses of thrombocytopenia in idiopathic thrombocytopenic purpura-prone mice by platelet transfer experiments between (NZW x BXSb)F1 and normal mice. *Blood* 1990;75:109-1812.
47. **Nizutani H, Furubayashi T, Kashiwagi II, Honda S, Kurata Y, Yonezawa T, Tarui S, Ikehara S.** Effects of splenectomy on immune thrombocytopenic purpura in (NZW x BXSb) F1 mice: analyses of platelet kinetics and anti-platelet antibody production. *Thromb Haemost* 1992; 67:563-566.
48. **Mizutani H, Furubayashi T, Imai Y, Kashiwagi H, Honda S, Kurata Y, Yonezawa T, Tarui S, Ikehara S.** Mechanisms of corticosteroid action in immune thrombocytopenic purpura (ITP) experimental studies using ITP-prone mice, (NZW x BXSb) F1. *Blood* 1992;79:942-947.
49. **Nemoto K, Mae T, Saiga K, Matsumura E, Koike T.** Autoimmune-prone (NZW x BXSb) F1 mice escape severe thrombocytopenia after treatment with deoxispermualin, an immunosuppressant. *Br J Haematol* 1995;91:691-696.
50. **Mizutani H, Engelman RW, Kurata Y, Ikehara S, Good RA.** Energy restriction prevents and reverses immune thrombocytopenic purpura (ITP) and increases life span of ITP-prone (NZW x BXSb) F1 mice. *J Nutr* 1994;124:2016-2023.
51. **Adachi Y, Inaba M, Inaba K, Nagata N, Kobayashi Y, Ikehara S.** Functional analyses of B cells in (NZW x BXSb) F1 mice. *Blood* 1993;82:837-844.
52. **McKenzie SE, Taylor SM, Reilly MP, Surrey S, Schwartz E.** Immune-mediated thrombocytopenia is more severe in human FegRila transgenic mice than in wild type mice. *Blood* 1997;90(suppl 1):465.
53. **Campbell D, Beardsley DS, Tang C, Ertem M, Rockwell S, Kelley M.** The "Harrington mouse": an animal model

- for human immune thrombocytopenia. *Blood* 1997;90 (suppl 1):460.
54. **Louwes H, Zeinali Lathori OA, Vellenga E, de Wolf JT.** Platelet kinetic studies in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Am J Med* 1999;106:430-434.
55. **Semple JW, Lazarus AH, Freedman J.** The cellular immunology associated with autoimmune thrombocytopenic purpura: an update. *Transfus Sci* 1998;19:245-251.
56. **Semple JW, Freedman J.** Increased antiplatelet T helper lymphocyte reactivity in patients with autoimmune thrombocytopenia. *Blood* 1991;78:2619-2625.
57. **Semple JW, Freedman J.** Cellular immune mechanisms in chronic autoimmune thrombocytopenic purpura (ATP). *Autoimmunity* 1992;13:311-319.
58. **Furubayashi T, Mizutani H, Take H, Honda S, Torniayama Y, Katagiri S, Tamaid T, Tsubakio T, Kurata Y, Yonezawa T.** Impaired suppressor function of T cells induced by autologous mixed lymphocyte reaction in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Acta Haematol.* 1992;87:32.3-6.
59. **Ware RE, Howard TA.** Phenotypic and clonal analysis of T lymphocytes in childhood immune thrombocytopenic purpura. *Blood* 1993;82:2137-2142.
60. **Koyanagi H, Kishida K, Shimoinura K, Kurokawa M, Deguchi T, Shimoda Y.** Immunological study of childhood acute ITP at onset. *Pediatr Hematol Oncol* 1992;9:11-19.
61. **García-Suárez J, Prieto A, Manzano L, Reyes E, Molto L, Alvarez-Mon M.** T lymphocytes from autoimmune thrombocytopenic purpura show a defective activation and proliferation after cytoplasmic membrane and intracytoplasmic mitogenic signals. *Am J Hematol* 1993;44:1-8.
62. **García-Suárez J, Prieto A, Reyes E, Manzano L, Merino JL, Alvarez-Mon M.** The clinical outcome of autoimmune thrombocytopenic purpura patients is related to their T cell immunodeficiency. *Br J Haematol* 1993;84:464-470.
63. **Ware RE, Howard TA.** Elevated numbers of gamma-delta ($\gamma\delta$ +) T lymphocytes in children with immune thrombocytopenic purpura. *J Clin Immunol* 1994;14:237-247.
64. **Silirmomura T, Fujimura K, Takafuta T, Fujil T, Katsutani S, Noda M, Fujimoto T, Kuramoto A.** Oligoclonal accumulation of T cells in peripheral blood from patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 1996;95:732-737.
65. **Hedlund-Treutiger I, Wahlstrom J, Elinder G.** Role of the T cell receptor in idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP). *Acta Paediatr Suppl* 1998;424:46-50.
66. **Kuwana M, Kaburaki J, Ikeda Y.** Autoreactive T cells to platelet GPIIb-IIIa in immune thrombocytopenic purpura. Role in production of antiplatelet autoantibody. *J Clin Invest* 1998;102:1393-1402.
67. **Semple JW, Milev Y, Cosgrave D, Mody M, Hornstein A, Blanchette V, Freedman J.** Differences in serum cytokine levels in acute and chronic autoimmune thrombocytopenic purpura: relationship to platelet phenotype and antiplatelet T-cell reactivity. *Blood* 1996;87:4245-4254.
68. **Semple JW.** Immunobiology of T helper cells and antigen-presenting cells in autoimmune thrombocytopenic purpura (ITP). *Acta Paediatr Suppl* 1998;424:41-45.
69. **Lazarus AH, Joy T, Crow AR.** Analysis of transmembrane signalling and T cell defects associated with idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP). *Acta Paediatr Suppl* 1998;424:21-25.
70. **Ikehara S, Kawamura M, Takao F, Inaba M, Yasurnizu R, Than S, Hisha H, Sugiura K, Koide Y, Yoshida TO.** Organ-specific and systemic autoimmune diseases originate from defects in hematopoietic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:8341-8344.
71. **Hymes KB, Karparkin S.** *In vitro* suppressor T lymphocyte dysfunction in autoimmune thrombocytopenic purpura associated with a complement-fixing antibody. *Br J Haematol* 1990;74:330-335.
72. **Pogliani EM, Della Volpe A, Casaroli Y, Maffe PF, Corneo G.** Lymphocyte subsets in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura during high-dose gamma globulin therapy. *Allergol Immunopathol (Madr)* 1991;19:113-116.
73. **Imbach PA.** Harmful and beneficial antibodies in immune thrombocytopenic purpura. *Clin Exp. Immunol.* 1994;97(Suppl1):25-30.
74. **Nomura S, Yanabu M, Soga T, Kido H, Fukuroi T, Yamaguchi K, Nagata H, Kokawa T, Yasunaga K.** Analysis of idiopathic thrombocytopenic purpura patients with anti-glycoprotein IIb/IIIa or Ib autoantibodies. 1991;86:25-30.
75. **Iyon H, Fujisawa K, Akatsuka J.** Autoantibodies and CD4+ B cells in childhood immune thrombocytopenic purpura. *Acta Paediatr Jpn* 1995;37:325-330.
76. **Mizutani K, Azuma E, Komada Y, Ito M, Sakurai M, Hironaka T, Hirai K.** An infantile case of cytomegalovirus induced idiopathic thrombocytopenic purpura with predominant proliferation of CD10 positive lymphoblast in bone marrow. *Acta Paediatr Jpn* 1995;37:71-74.
77. **Callea V, Cornis M, Iaria G, Sculli G, Morabito F, Lombardo VT.** Clinical significance of HLA-DR+, CD 19+, CD 10+ immature B-cell phenotype and CD34+ cell detection in bone marrow lymphocytes from children affected with Immune thrombocytopenic purpura. *Haematologica* 82:471-473.
78. **Denomme GA, Mahmoudi M, Cairns E, Bell DA.** Immunoglobulin V region sequences of two human antiplatelet monoclonal autoantibodies derived from B cells of normal origin. *J Autoimmun* 1994; 7: 521-535.
79. **van Dijk-Hard Y, Feld S, Holmberg D, Lundkvist Y.** Increased utilization of the VH6 gene family in patients with autoimmune idiopathic thrombocytopenic purpura. *J Autoimmun* 1999, 12: 57-63.
80. **Yang YY, Fischer P, Leu SJ, Zhu M, Woods VL, Chen PP.** Possible presence of enhancing antibodies in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 1999; 104: 69-80.
81. **Crossley AR, Dickinson AM, Proctor SJ, Calvert JE.** Effects of interferon-alpha therapy on immune parameters in immune thrombocytopenic purpura. *Autoimmunity* 1996; 24: 81-100.
82. **Garcia-Suarez J, Prieto A, Reyes E, Manzano L, Arribalzaga K, Alvarez-Mon M.** Abnormal gamma IFN and alpha TNF secretion in purified CD2+ cells from autoimmune thrombocytopenic purpura (ATP) patients: their implication in the clinical course of the disease. *Am J Hematol* 1995; 49: 271-276.
83. **Garcia-Suarez J, Prieto A, Reyes E, Manzano L, Arribalzaga K, Perez-Machado MA, Lopez-Rubio M, Manzano L, Alvarez-Mon M.** Persistent lymphocytosis of natural killer cells in autoimmune thrombocytopenic purpura (ATP) patients after splenectomy. *Br J Haematol* 1995; 89: 653-655.
84. **Garcia-Suarez J, Prieto A, Reyes E, Manzano L, Merino JL, Alvarez-Mon M.** Severe chronic autoimmune thrombocytopenic purpura is associated with an expansion of CD56+ CD3- natural killer cells subset. *Blood* 1993; 82: 1538-1545.
85. **Otawa M, Kuriyama Y, Iwase O, Kawanishi Y, Miyazawa K, Aizawa S, Nehashi Y, Nakano M, Toyama K.** Possible role of immunocompetent cells on periodic exacerbation of

- idiopathic thrombocytopenic purpura. *Rinsko Ketsueki* 1997; 38: 331-335.
86. **Zeigler ZR, Rosenfeld CS, Nemunaitis JJ, Besa EC, Shadduck RK.** Increased macrophage colony-stimulating factor levels in immune thrombocytopenic purpura. *Blood* 1993; 81: 1251-1254.
87. **Nomura S, Yasunaga K, Fujimura K, Kuramoto A, Okuma M, Nomura T.** High-doses intravenous gamma globulin reduces macrophage colony-stimulating factor levels in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Int J Hematol* 1996; 63: 227-234.
88. **Kosar A., Haznedaroglu I.C., Buyukasik Y., Ozcebe O., Kirazli S., Dundar S.** Circulating thrombopoietin and interleukin-6 in newly diagnosed autoimmune *versus* aplastic thrombocytopenia. *Haematologica* 1998; 83: 1055-1056.
89. **Haznedaroglu IC, B uyukasik Y, Kosar A, Kirazh S, Dundar SV.** Thrombopoietin, interleukin-6 and P-selectin at diagnosis and during post-steroid recovery period of patients with autoimmune thrombocytopenic purpura. *Am Haematol* 1998;77:165-170.
90. **Anderson J.** Cytokines in idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP). *Acta Paediatr* 1998;424 (suppl 1):61-64.
91. **Imbach P, Kuhne T.** Immune thrombocytopenic purpura ffP. *Vox Sang* 1998;74(suppl 2):309-314.
92. **Erduran E, Asian Y, Miyazicioglu Y, Mocan H, Gedik Y.** Plasma soluble interleukin-2 receptor levels in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Am J Hematol* 1998;57:119-123.
93. **Zirninerman SA, Malinoski FJ, Ware RE.** Immunologic effects of anti-D (WinRho-SD) in children with Immune thrombocytopenic purpura. *Am J Hematol* 1998;57:131-138.
94. **Cremer M, Schulze H, Linthorst G, Folman CC, Wehnert S, Strauss G, von dem Borne AE, Welte K, Bailmajer M.** Serum levels of thrombopoietin, IL-11, and IL-6 in pediatric thrombocytopenias. *Am Hematol* 1999;78:401-407.
95. **Haznedaroglu IC, Buyukasik Y, Kosar A, Ozcebe OI, Kirazli S, Dundar S.** Selectins and IL-6 during the clinical course of idiopathic thrombocytopenic purpura. *Acta Haematol* 1999;101:16-2.
96. **Grabar P.** Autoantibodies and the physiological role of immunoglobulins. *Immunol Today* 1983;4:337.
97. **Moller E.** Mechanisms for induction of autoimmunity in humans. *Acta Paediatr Suppl* 1998;424:16-20.
98. **Hohmann AW, Booth K, Peters V, Gordon DL, Comacchio RM.** Common epitope on HW p24 and human platelets. *Lancet* 1993;342:127-1275.
99. **Bettaieb A, Fromont P, Louache F.** Presence of cross-reactive antibody between human immunodeficiency virus (HIV) and platelet glycoproteins in HW-related Immune thrombocytopenic purpura. *Blood* 1992;80:162-169.
100. **Bettaieb A, Oksenhendler E, Duedan N, Bierling P.** Cross reactive antibodies between Hw-gp 120 and platelet gpIIla (CD61) in Hw-related immune thrombocytopenic purpura. *Clin Exp Immunol.* 1996;103:19-23.
101. **Dominguez V, Gevorkian G, Govezensky T, Rodriguez II, Viveros M, Cocho G, Macotela Y, Masso F, Pacheco M, Estrada JL, Lavallo C, Larralde C.** Antigenic homology of HIV-1 gp41 and human platelet glycoprotein gpIIla (integrin β 3). *J Acq Inun Def Syn Hum Retrovir* 1998;17:385-390.
102. **Marti M, Feliu E, Campo E, Palacin A, Berga L, Casals FJ, Urbano Ispizua A, Cardesa A, Rozman C.** Comparative study of spleen pathology in drug abusers with thrombocytopenia related to human immunodeficiency virus in infection and in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. A morphometric, immunohistochemical, and ultrastructural study. *Am J Clin Pathol* 1993;100:633-642.
103. **Kodaira M, Hanai H, Kajimura M, Futami H, Maruyama Y, Sato Y, Arai H, Kaneko E.** Further evidence that exacerbation of ulcerative colitis causes the onset of immune thrombocytopenic: a clinical case. *Am J Gastroenterol* 1999;94: 1408-1410.
104. **Macey MG, Newland AC.** CD4 and CD8 subpopulation changes during high dose intravenous immunoglobulin treatment. *Br J Haematol* 1990;76: 513-520.
105. **Liszewsky K.** The complement system. In: *Fundamental Immunology*, Third edition (Paul WE ed) 1993 pp34 Raven Press, New York.
106. **Engelfrieth CP, Reesink HW.** The treatment of patients with autoimmune thrombocytopenia with WlgG anti-D. *Vox Sanguinis* 1999;76:250-255.
107. **Hohan-Kessary HS, Gershon H.** Isoantibodies in immunoglobulin for intravenous treatment may causes erythrocyte sequestration. *Vox Sanguinis* 1999;77:33-39.
108. **Turner CE, Thorpe SJ, Brasher MDR, Thorpe IL, Ami Rh D.** activity of commercial intravenous immunoglobulin preparations. *Vox Sanguinis* 1999;76: 55-58.
109. **Jendreyko N, Uttenreuther-Fischer MM, Lerch II, Gae-dicke G, Fischer P.** Genetic origin of IgG anti-antibodies cloned by phage display and anti-idiotypic panning from three patients with autoimmune thrombocytopenia. *Eur J Immunol* 1998;28:4236-4237.
110. **Ericson SG, Coleman KD, Wardwell K, Baker S, Fanger MW, Guyre PM, Ely P.** Monoclonal antibody 197 (anti-Fc gamma RI) infusion in a patient with immune thrombocytopenia purpura (IIP) results in down-modulation of Fc gamma RI on circulating monocytes. *Br J Haematol* 1996;92:718-724.
111. **Soubrane C, Tourani JM, Andrieu JM, Visonneau S, Beldjord K, Israel-Biet D, Mouawad IL, Busset J, Weil M, Khayat D.** Biologic response to anti-CD 16 monoclonal antibody therapy in a human immunodeficiency virus-related immune thrombocytopenic purpura patient. *Blood* 1993;81:15-19.
112. **Zauli G, Re MC, Gugliotta L, Visani G, Vianelli N, Furlini G, La Placa M.** Lack of compensatory megakaryocytopoiesis in HIV- 1 -seropositive thrombocytopenic purpura patients. *AIDS* 1991; 5:1345-1350.
113. **Jshji H, Oh H, Uchida Y, Nakamura H, Endo N, Asai T, Yoshida S.** Effect of interferon (IFN) on refractory idiopathic thrombocytopenic purpura: administration of a 6 million units of recombinant IFN alpha-2b. *Intern Med* 1992; 31:1343-1347.
114. **Steliini R, Rossi G, Parainfo G.** Interferon therapy in intravenous users with HIV-associated idiopathic thrombocytopenic purpura. *Haematologica* 1992;77:418-420.
115. **Kumakura S, Ishikura H, Tsumura H, Endo J, Tsunematsu T.** A favourable effect of long-term alpha-interferon therapy in refractory idiopathic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 1993;85:805-807.
116. **Cohn RJ, Schwyzer IL, Hesseling PB, Poole JE, Naidoo J, van Heerden C.** Alpha-Interferon therapy for severe chronic idiopathic thrombocytopenic purpura in children. *Am J Hematol* 1993;43:246-250.
117. **Vianelli N, Catani L, Gugliotta L, Belmonte MM, Cascione L, Colangeli V, Ricchi E, Mazza P, Mazzucconi MG, Chistolini A.** Recombinant alpha-interferon 2b in the treatment of HW-related thrombocytopenia. *ADS* 1993;7:823-827.

118. **Fabris F, Sgarabotto D, Zanon E, Francavilla F, Zaggia F, Cadrobbi P, Girolami A.** The effect of a single course of alpha-2B-interferon in patients with HIV-related and chronic idiopathic immune thrombocytopenia. *Autoimmunity* 1993;14:175-179.
119. **Dubbeld P, Hillen HF, Schouten HC.** Interferon treatment of refractory idiopathic thrombocytopenic purpura. *Eur J Haematol* 1994;52:233-235.
120. **Northfelt DW, Kaplan LD, Abrams DI.** Continuous, low-dose therapy with interferon alpha for human immunodeficiency virus (HIV)-related immune thrombocytopenic purpura. *Am J Hematol* 1991;38:238-239.
121. **Fujimura K, Takafuta T, Kuriya S, Abe T, Akatsuka J, Yasunaga K, Uchida T, Kawakita M, Kitamura K, Nomura T, Kuramoto A.** Recombinant human interferon alpha2b (rIFN alpha-2b) therapy. *Am J Hematol* 1996;51:37-44.
122. **Vianelli N, Tazzari PL, Baravelli, Ricci F, Valdre L, Tura S.** Interferon-alpha 2b is not effective in the treatment of refractory immune thrombocytopenic purpura. *Haematologica* 1998;83:761-763.
123. **Shrestha R, Mckinley C, Buir B.M, Everson GT.** Possible idiopathic thrombocytopenic purpura associated with natural alpha interferon therapy for chronic hepatitis C infection. *Am JGastroenterol* 1995;90:1146-1147.