

EFFECTO DE LOS ANTICUERPOS ANTI-ANTÍGENO PLAQUETARIO HUMANO 1 EN LA MEGACARIOCITOPOIESIS NEONATAL

L. Zhi-Jian¹, F. Ferrer-Marín^{1,2}, J. Bussel³, C. Chavda¹, M. Sola-Visner¹

¹Division of Newborn Medicine. Children's Hospital Boston and Harvard Medical School. Boston. MA. ²Unidad de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia. Centro Regional de Hemodonación. Universidad de Murcia. ³Weill Cornell Medical College/NY-Presbyterian Hospital. New York. USA.

La trombocitopenia aloinmune neonatal (NAIT) es la causa más frecuente de trombocitopenia severa y hemorragia intraventricular en neonatos a término. NAIT está causada por la generación de alo-anticuerpos (Ac) en la madre dirigidos contra antígenos específicos plaquetarios (HPAs) presentes en las plaquetas del feto de los que la madre carece. El antígeno más frecuentemente implicado es el HPA-1. Se acepta que el mecanismo más importante es la destrucción de plaquetas mediada por Ac. Sin embargo, recientes estudios han mostrado que en la Púrpura Trombocitopénica Autoinmune, los Ac antiplaqueta suprimen la maduración y diferenciación de los megacariocitos (MKs), contribuyendo así a la trombocitopenia.

Objetivo: Testar la hipótesis de que los Ac anti-HPA-1 suprimirían la producción y maduración de los MKs.

Métodos: Obtuvimos muestras de suero de mujeres embarazadas con Ac anti-HPA1 e historia de NAIT (n = 10) y de embarazadas sanas sin Ac (n=4). Cultivamos progenitores hematopoyéticos (CD34+) de muestras de cordón umbilical (CU) (pureza>90%), HPA-1a/1a y grupo O procedentes de neonatos en un medio líquido con trombopoyetina (Tpo) y 10% de suero NAIT o control. Cuantificamos el número de células los días (D) 7, 11 y 14 del cultivo. En el D14, evaluamos el porcentaje de MKs (CD41+) y su maduración por Citometría de Flujo con CD42b (GPIb α) y CD42a (GPIX).

Resultados: Encontramos una reducción significativa en el no de células generadas con suero NAIT vs control los D 7, 11, 14. El grado de supresión de proliferación MK se correlacionaba con los contajes de plaquetas de los RN al nacer. Observamos un incremento significativo en el porcentaje de células muertas (trypan blue +) en los cultivos NAIT vs control, en los D7 y 11. En el D14, el % de Mks que expresaban CD41, CD42a, CD42b y el nivel de ploidía fue similar en ambos grupos. Dado que el principal efecto del suero NAIT fué la reducción de MKs generados y el alto % de células muertas entre los D 7-11, cultivamos células CD34+ derivadas de CU con Tpo por 7 días (cuando el 40-50% de las células son progenitores MKs comprometidos) y extendimos el cultivo otros 3 días en presencia de Tpo+10% suero NAIT o control. A las 24, 48 y 72h evaluamos diferenciación (CD41), rango de proliferación (Ki67) y apoptosis (TUNEL). No hubo diferencias en la expresión de CD41 ni Ki67+ entre ambos grupos. Sin embargo, a las 24 y 48h, el % de MKs apoptóticos fué doble en muestras NAIT que control (p<0.05).

Conclusión: Suero humano con Ac anti-HPA-1a reduce el no de MKs neonatales generados in vitro al incrementar la apoptosis de los progenitores MKs sin afectar su proliferación, maduración o diferenciación.