

Transfúziou navodená imunomodulácia a infekčné komplikácie

M. Bucová¹, M. Mistrík²

¹Imunologický ústav Lekárskej fakulty UK, Bratislava, Slovenská republika, prednosta prof. MUDr. Milan Buc, DrSc.

²Klinika hematológie a transfúziológie NsP sv. Cyrila a Metoda, Petržalka, Bratislava, Slovenská republika, prednosta doc. MUDr. Martin Mistrík, CSc.

Súhrn: Transfúzie nie sú bez rizika. Jednou z nežiaducich účinkov transfúzií je transfúziou navodená imunomodulácia (TRIM) – prevažne imunosupresia, ale aj silný prozápalový efekt. Dôsledkom môže byť akútne poškodenie pľúc (TRALI), multiorgánové zlyhanie, akútna reakcia štep proti hostiteľovi (TR AGvHD) ako aj rozvoj sekundárnych nozokomiálnych infekcií, hlavne infekcií pľúc, rán a sepsy a zvýšený výskyt relapsov u nádorových pacientov. Príčinou rozvoja TRIM je indukcia mikrochimérizmu, rôzne bunkové a solubilné faktory – zložky komplementu, napr. C3a, solubilné HLA-I a HLA-II molekuly (HLA – human leukocyte antigen), solubilný Fas ligand (sFasL) a ďalšie. Imunosupresívny potenciál krvných prípravkov stúpa s dobou ich uchovávaní a najvýraznejší je v neleukoredukovaných vzorkách. Vzhľadom na možné závažné nežiaduce účinky transfúzií by mal byť možný očakávaný účinok transfúzie krvi vyvážený proti vzniku možného rizika.

Kľúčové slová: imunomodulácia – imunosupresia – infekcia – mikrochimérizmus – transfúzia – TRALI – TRIM

Transfusion-induced immunomodulation and infectious complications

Summary: Transfusions are not without risk. One of the side effects of transfusions is the development of transfusion-induced immunomodulation (TRIM) – primarily immunosuppression, but also a strong proinflammatory effect. This may be the cause of acute lung injury (TRALI), multiorgan failure (MOF), transfusion related acute-graft-versus-host-disease (TR AGvHD), as well as of the development of secondary nosocomial infections, mostly pulmonary infections, sepsis and wound infections, and also of elevated number of tumour relapses in oncological patients. The causes of TRIM development are the induction of microchimerism, different cells and also soluble factors – complement components, such as C3a, soluble HLA-I and HLA-II molecules (HLA – human leukocyte antigen), soluble Fas ligand (sFasL), and others. The immunosuppressive potential of blood products grows with the time of their storage and becomes highest in non-leukoreduced blood products stored for a long time. In view of possible adverse effects of a transfusion, the expected benefit should be balanced against possible risks.

Key words: immunomodulation – immunosuppression – infection – microchimerism – transfusion – TRALI – TRIM

Úvod

História transfúzie sa datuje do polovice 17. storočia. V 20. storočí sa transfúzie stali rutinou v klinickej praxi. Problém nastal v 40. rokoch 20. storočia, kedy sa opísal výskyt potransfúznej hepatitídy. Neskôr sa zistilo, že pôvodcom je vírus hepatitídy B. Zavedením diagnostiky na dôkaz prítomnosti vírusu v krvi darcu sa situácia ukludnila. Doslova šokom boli roky 1982 a 1983, kedy sa opísali prvé prípady prenosu infekcie HIV (human immunodeficiency virus) krvou a krvnými derivátmi [1,2].

Došlo k prudkej zmene názorov na bezpečnosť transfúzií. Napriek tomu však transfúzie krvi ostávajú súčasťou bežnej praxe hlavne na oddeleniach anestéziológie a intenzívnej medicíny a na chirurgických oddeleniach. Napriek všeobecnému trendu znižovať počet transfúzií sa totiž operácie u starších a polymorbídnych pacientov a pacientov s polytraumou zväčša neobídu bez transfúzií.

Transfúzie a infekčné komplikácie

Infekčné komplikácie súvisiace s transfúziou možno rozdeliť do troch sku-

pín: 1. infekčné komplikácie, ktoré nastanú prenesením infekcie z infikovaného darcu krvi, 2. baktériovou kontamináciou krvi a 3. v dôsledku imunosupresie navodenej transfúziou (TRIM – transfusion related immunomodulation).

Transfúziou prenosné infekčné choroby (TTIDs – transfusion transmitted infectious diseases)

Transfúziou sa v prvom rade prenášajú infekčné choroby, ktorých patogény sú v krvi dlhodobo prítomné (HIV, vírusy hepatitídy B a C – HBV

Tab. 1. Riziká transfúzií.

- hemolytické reakcie a nehemolytické reakcie (pyretické reakcie, cytokínová búrka, alergické reakcie (IgE, protilátky proti IgA)
- kontaminovaná krvná konzerva
- prenos infekcie z darcu (imunologické okno)

TRIM (Transfusion related immunomodulation – imunosupresia, prozápalový vplyv) – klinické prejavy:

- **TRALI** (transfusion related acute lung injury)
- **TR AGvHD** (transfusion related acute graft versus host disease)
- **MOF** (multiorgan failure)
- **nádory**
- **pooperačné infekcie rán**

a HCV), ale tiež infekčné choroby, ktoré sa bežne prenášajú inou než hematogénnou cestou, napríklad orálnou, fekálno-orálnou alebo vzdušnou cestou, ale v štádiu virémie je možný prenos aj krvou [3]. Napriek rýchlemu rozvoju nových a kvalitných diagnostických setov však ani najlepšia diagnostika nedokáže zabezpečiť 100% istotu, že sa transfúziou neprenesie infekcia. Nemožno totiž vylúčiť, či sa darca nenachádza v štádiu tzv. „imunologického okna“, kedy sa v jeho krvi nedokáže ani prítomnosť infekčného agens ani prítomnosť protilátok proti nim [1]. V prípade autológneho darcu by príčinou prenesenej infekcie mohla byť aj nespoznávaná bakteriémia darcu. K vírusom prenosným krvou alebo krvnými derivátmi patria predovšetkým HBV, HCV a HIV [4–7]. Transfúziou sa môže preniesť aj vírus hepatitídy A (HAV), vírus hepatitídy E (HEV), vírus hepatitídy D (HDV), vírus hepatitídy G (HGV), retrovírusy HTLV-I, HTLV-II (vírus T lymfocytovej leukémie), ľudské herpesvírusy (HHV) ako CMV (cytomegalovírus, HHV-5) a HHV-8, ďalej parvovírus B19, West Nile vírus a iné arbovírusy, pôvodca nvCJD (nová varianta Creutzfeldt-Jakobovej choroby) ako aj ďalšie, ako TT-vírus a SEN-vírus. Transfúziou krvi sa môže preniesť aj syfilis, brucelóza, borelióza, malária, babesióza, Chagasova choroba a toxoplazmóza [1,6,8–11].

Baktériová kontaminácia

I keď najčastejšími pôvodcami kontaminácie krvi sú grampozitívne mikroorganizmy, príčinou fatálnych komplikácií býva hlavne kontaminácia gramnegatívnymi mikroorganizmami [3,12]. Jednotlivé krvné preparáty sa líšia frekvenciou baktériovej kontaminácie ako aj výskytom fatálnych komplikácií. U 75 % pacientov sa do 4 hodín objavil rigor, vysoká teplota alebo tachykardia [12]. Dodatočne sa zistil zákal a zmena farby kontaminovanej krvnej jednotky. Najvyšší výskyt baktériovej kontaminácie a fatálnych komplikácií sa zaznamenal v prípade trombocytových koncentrátov, ktoré sa uchovávaly pri izbovej teplote (1 : 3 000 transfúzných jednotiek, 1 : 500 000 transfúzných jednotiek). V prípade erytrocytovej masy, ktorá sa uchováva v chlade, je tento výskyt nižší (1 : 30 000 transfúzných jednotiek, 1 : 10 000 000 transfúzných jednotiek). Krvné prípravky sa líšia aj typom mikroorganizmov ako pôvodcov kontaminácie. Doštičkové koncentráty sú najčastejšie kontaminované kožnými saprofytmami a gramnegatívnymi mikroorganizmami, ktoré môžu byť súčasťou latentnej bakteriémie. *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Serratia marcescens* a druhy rodov *Streptococcus*, *Klebsiella* a *Bacillus* sú zodpovedné za 85 % fatálnych reakcií. K mikroorganizmom, ktoré kontaminujú erytrocytové masy, patria

Serratia liquefaciens, *Yersinia enterocolitica* a druhy rodu *Pseudomonas*. Yersínie, pseudomonády a serácie sa môžu množiť totiž aj pri chladničkej teplote (1–6 °C) [3,12].

Infekcie, ktoré vznikajú následkom imunosupresie navodenej transfúziou (TRIM)

Po podaní transfúzie môže dôjsť k rozvoju imunosupresie, v dôsledku čoho sa môžu sekundárne rozvinúť nozokomiálne infekcie, hlavne infekcie pľúc, sepsy a infekcie rán. Terapia uvedených komplikácií je finančne náročná, navyše predlžuje sa pobyt pacientov v nemocnici a zvyšuje sa ich mortalita.

Transfúzie očami imunológa

Ešte donedávna bolo podanie plnej krvi alebo jej bunkových alebo humorálnych zložiek považované z imunologického hľadiska za indiferentné, ba dokonca prospešné. Darcovia sa testovali na prítomnosť vybraných patogénov, ktorých prenos by pri transfúzii prichádzal do úvahy, zisťovala sa zhoda v A, B, O a Rh-systéme medzi darcom a príjemcom, avšak kompatibilita v HLA (human leukocyte antigen/ľudské leukocytové antigény) sa netestovala.

Je jasné, že transfúzie nie sú bez rizika. Ako komplikácie po transfúziách sa uvádzajú rôzne hemolytické a nehemolytické reakcie (pyretické reakcie, cytokínová búrka, alergické reakcie), prenos infekcie z darcu („imunologické okno“) alebo kontaminovanou krvnou konzervou a v poslednom rade je to rozvoj nádorov alebo infekčných komplikácií, v súvislosti s imunosupresiou navodenou transfúziou, poprípade s prozápalovou aktivitou transfúzných prípravkov [2,3,13]. Dôsledkom imunologických abnormalít môže byť aj akútne poškodenie pľúc v súvislosti s podanou transfúziou (TRALI – transfusion related acute lung injury), multiorgánové zlyhanie (MOF – multiorgan failure) a rozvoj reakcie štetu proti hostiteľovi (TR AGvHD –

transfusion related acute graft versus host disease), tab. 1, [2,3,13].

Z uvedeného vyplýva, že okrem prenosu infekcií a náhodných zámien krvných konzerv a laboratórnych chýb môžu pacienta na živote ohrozovať aj imunologické abnormality navodené podaním transfúzie.

TR AGvHD alebo TA GvHD (transfusion associated graft versus host disease)

TR AGvHD a TA GvHD sú pomenovania pre reakciu štepú proti hostiteľovi súvisiacu s transfúziou alogénnej krvi. Dnes sa už vie, že transfúzia alogénnej krvi je vlastne určitou formou transplantácie, s tým rozdielom, že pri transplantáciách sa dáva pozor na to, aby sa darca a príjemca zhodovali v HLA antigénoch, kým pri transfúziách sa na zhodu v HLA antigénoch medzi darcom a príjemcom dôraz nekladol a ani sa tieto antigény v transfúzijských prípravkoch nevyšetrujú. A tak dôsledkom transfúzie alogénnej krvi je možnosť aloimunitizácie [13]. Typické sú hlavne dve krajné možnosti, ku ktorým môže dôjsť po podaní alogénnej transfúzie. V prípade, že príjemcom je imunokompetentný jedinec s dobrou imunitou, výsledkom je rozpoznanie HLA molekúl darcu, aktivácia T_H1 -lymfocytov príjemcu a cytotoxická reakcia voči leukocytom (lymfocytom) darcu. V prípade, že transfúziu alogénnej krvi dostáva imunokompromitovaný jedinec, čo býva často u pacientov s malignitami, pacientov s imunosupresívnou liečbou, pacientov na myeloablatívnom režime a ďalších, je situácia opačná. Pre pacienta s nedostatočnou imunitou sú lymfocyty darcu veľmi nebezpečné. Nebráni sa príjemca, ale po rozpoznaní cudzích HLA molekúl na povrchu buniek príjemcu, darcove lymfocyty pôsobia cytotoxicky na bunky príjemcu a rozvíja sa TR AGvHD. Keďže hlavnými účastníkmi rozvoja tejto reakcie sú bunky, zábrana rozvoja TR AGvHD sa rieši ožiareními krvi alebo leukodepleciou [13].

Tab. 2. Dôkazy TRIM (transfúziou mediovanej imunomodulácie) u ľudí.

Úspechy v transplantológii

- (Opelz et al; 1973): Transfúzia alogénnej krvi pred transplantáciou $\Rightarrow$ lepšie prežívanie transplantovanej obličky
- po nástupe cyklosporínu: lepšie prežívanie transplantátu u pacientov s cyklosporínom a transfúziou než u pacientov len s cyklosporínom
- 1989 – pokles počtu relapsov u pacientov s m. Crohn (T_H1)
- 1992 – opakované transfúzie krvi znižujú výskyt spontánnych abortov
- 1993 – perioperačné transfúzie zvyšujú výskyt relapsov u pacientov s kolorektálnym karcinómom
- 1992, 1993 – transfúzia ako nezávislý faktor zvýšeného výskytu pooperačných infekcií

Tab. 3. Mechanizmy dlhodobého pôsobenia TRIM.

1. TR AGvHD (transfusion related acute graft versus host disease)
2. anergia
3. narušenie T_H1/T_H2 rovnováhy, $> T_H2$ (pokles tvorby IL-12, zvýšená tvorba IL-4, IL-10, TGF- β)
4. pokles T_H1 imunity - porucha bunkami sprostredkovanej imunity (nešpecifickej – makrofágy, NK bunky, a špecifickej – T-lymfocyty)
5. zvýšená aktivita regulačných T buniek

Dôkazy TRIM u ľudí

Prvým dôkazom imunomodulačného účinku transfúzií boli úspechy v transplantológii (tab. 2). Opelz et al v roku 1973 zistili, že podanie alogénnej krvi pred transplantáciou zlepšilo prežívanie transplantovanej obličky [14]. Dokonca aj neskôr pri používaní cyklosporínu ako imunosupresíva sa zaznamenalo lepšie prežívanie transplantátu u pacientov s cyklosporínom a transfúziou než u pacientov len s cyklosporínom [15]. V roku 1989 sa zistilo, že transfúzie alogénnej krvi znižujú relaps u pacientov s morbus Crohn, čo je T_H1 mediovaná choroba [16]. Neskôr, v roku 1992, sa zaznamenal znížený výskyt spontánnych abortov u pacientok s opakovanými transfúziami krvi [17] a v roku 1993 sa zaznamenal zvýšený výskyt relapsov u pacientov s kolorektálnym karcinómom, ktorí dostali perioperačne transfúzie [18]. V rokoch 1992 a 1993 sa poukázalo na transfúziu ako nezávislý faktor zvýšeného výskytu pooperačných infekcií (tab. 2) [2].

Transfúzie alogénnej krvi pôsobia imunomodulačne, hlavne imunosupresívne, dôsledkom čoho sú následné infekčné komplikácie. Spočiatku sa myslelo, že imunomodulačný vplyv sa prejavuje len po opakovaných transfúziách. Neskôr sa ukázalo, že aj podanie jedinej transfúzie môže viesť k imunomodulácii [19].

Mechanizmus dlhodobého imunomodulačného pôsobenia TRIM (imunosupresie).

Faktory vyvolávajúce TRIM

Existuje viacero mechanizmov, ktorými podanie alogénnej transfúzie vedie k imunomodulácii (tab. 3): 1. TR AGvHD, 2. rozvoj anergie, 3. narušenie T_H1/T_H2 rovnováhy, z čoho vyplýva zvýšená tvorba interleukínu 4 (IL-4), IL-10 a TGF- β (transforming growth factor β), polarizácia smerom k T_H2 , 4. pokles T_H1 imunity, a to porucha bunkami sprostredkovanej imunity špecifickej (T-lymfocyty) aj nešpecifickej (monocyty, makrofágy, NK-bunky), 5. zvýšená aktivita regulačných T-buniek. Dôsledok môže

Tab. 4. Faktory vyvolávajúce TRIM (transfúziou mediovanej imunomodulácii).**Bunkové**

- monocyty
- makrofágy
- neutrofily
- T_H-lymfocyty
- Tc-lymfocyty
- Treg
- B-ly
- NK-bunky

Humorálne

- sHLA-I, sHLA-II
- sFasL, sFas
- regulačné cytokíny IL-10, TGF- β
- prozápalové cytokíny TNF- α , IL-6
- zložky komplementu (C3a, ...)

Vysvetlenie v texte

byť pozitívny, napríklad tlmenie reakcie po alogénnej transplantácii, alebo negatívny – pokles antiinfekčnej a protinádorovej imunity [20].

K faktorom, ktoré vyvolávajú TRIM, patria bunky (monocyty, makrofágy, neutrofily, pomocné T-lymfocyty, cytotoxické T-lymfocyty, regulačné T-bunky, B-lymfocyty a NK bunky) a solubilné produkty (solubilné molekuly HLA-I a HLA-II – sHLA-I, sHLA-II), solubilný Fas ligand (sFasL) a solubilný Fas (sFas), regulačné cytokíny IL-10, TGF- β , prozápalové cytokíny TNF- α , IL-6 ako aj zložky komplementu, napr. C3a (tab. 4) [13,20].

TRIM a bunky imunitného systému**Leukocyty a apoptóza**

Leukocyty predstavujú zložku čerstvej krvi a môžu sa podieľať na silnom imunosupresívnom účinku podanej transfúzie. Gianotti et al v roku 1993 vo svojich experimentoch zistili zvýšenú mortalitu myší, ktorým 5 dní pred injikovaním *Escherichia coli* podali infúziu leukocytov, erytrocytov alebo plazmy bohatej na trombocyty, pričom najvyššia mortalita bola v prípade transfúzie alogénnych leukocytov [21]. Zistilo sa tiež, že uchovávaná neleukoredukovaná krv s vysokým počtom apoptotických neutrofilov a lymfocytov môže mať okrem imunosupresívnej aktivity aj systémový zápalový vplyv. Apoptotické neutrofily exprimujúce FasL

môžu priamo interagovať s bunkami srdca, pľúc, pečene, ktoré exprimujú Fas a viesť k MOF, ktorý býva pomerne častý u tráum po masívnych transfúziách [22–24]. Mohlo by to byť aj jedno z vysvetlení pre rozvoj TRALI a post bypassovej pneumónie, kedy pacienti dostávajú transfúziu dlhšie skladovaných erytrocytov [25,26].

Najviac apoptotických buniek je v uchovávaných neleukoredukovaných krvných prípravkoch alebo v doštičkových koncentrátoch. K najmasívnejšej apoptóze dochádza počas prvých 7 dní uchovávania erytrocytov, stúpa do 14 dní, potom až 70 % podľahne apoptóze, alebo sa bunky stávajú anergickými na in vitro stimuláciu [27,28]. Doštičkové koncentráty obsahujú už na 4. deň 60 % apoptotických buniek [29]. Apoptotické bunky pôsobia imunosupresívne na makrofágy, v ktorých znižujú tvorbu TNF- α (tumor necrosis factor/faktor nekrotizujúci nádory), IL-1, IL-12 a zvyšujú tvorbu IL-10 [20]. Keďže cytokíny IL-12 a IL-10 rozhodujú o polarizácii imunitnej odpovede, výsledkom je pokles bunkami sprostredkovanej imunity v dôsledku potlačenia T_H1 imunity. Dôsledkom nedostatočnej funkcie makrofágov je porucha fagocytózy, mikrobicídne a tumoricídne makrofágy a následne aj porucha funkcie T-lymfocytov [30,31].

Bunky monocytovo-makrofágového systému – monocyty a makrofágy

Imunomodulačný vplyv monocytov a makrofágov sa prejavuje minimálne na 3 úrovniach:

1. Polarizácia imunitnej odpovede smerom k T_H2 vedie nepriamo k potlačeniu T_H1 imunitnej odpovede, súčasťou čoho sú aj monocyty a makrofágy. Znižuje sa nielen ich fagocytová a mikrobicídna schopnosť, ale aj schopnosť makrofágov prezentovať antigén, s čím súvisí následná znížená schopnosť indukovať špecifickú imunitu, či už bunkami sprostredkovanú alebo protilátkovú. Výsledkom je narušenie funkcie T_H a Tc-lymfocytov a čiastočne aj B-lymfocytov (narušená je ich odpoveď na tzv. T-dependentné antigény), čo sa prejaví predovšetkým poklesom imunity proti intracelulárne parazitujúcim mikroorganizmom, vírusom, plesniam a nádorom [31].
2. Fagocytóza apoptotických buniek, ktorých počet môže byť hlavne v neleukoredukovaných transfúzných prípravkoch veľmi vysoký, má za následok narušenie fagocytózy ako aj tumoricídne makrofágov. V makrofágoch sa znižuje tvorba prozápalových cytokínov TNF- α , IL-1 a cytokínu IL-12, naopak zvyšuje sa tvorba IL-10 [20]. Pokles tvorby IL-12, a naopak zvýšená tvorba IL-10 predisponujú k tzv. T_H2 smeru polarizácie.
3. Podobné dôsledky má aj indukcia mikrochimérizmu navodená podaním alogénnej transfúzie, kedy dlhodobá expozícia malým dávkam antigénu navodí tvorbu IL-4, cytokínu, ktorý sa zúčastňuje T_H2 polarizácie imunitnej odpovede [13,31].

Mikrochimérizmus

K indukcii mikrochimérizmu dochádza najčastejšie u transplantovaných pacientov a pacientov s početnými transfúziami. Pojem *chiméra* pochádza z gréckej mytológie, ktorá

Tab. 5. Vplyv uchovávaní plazmy na hladinu C3a zložky komplementu.

Koncentrácia C3a v čerstvej plazme	Koncentrácia C3a počas uchovávaní plazmy
0,2 $\mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$	$\uparrow$ 10–40krát

takto označovala monštrum s hlavou leva, telom kozy a chvostom hada [32]. Odtiaľ pochádza pojem *chimerizmus*, ktorým sa označuje jav, kedy bunky alebo časti molekúl z geneticky rozdielných jedincov existujú spolu v jednom tele alebo jednej molekule. Mikrochimerizmus znamená potom zmiešanú bunkovú populáciu, v prípade transfúzie je to pretrvávajúce živých darcovských buniek a antigénov (napr. HLA-I, HLA-II) u transfundovaných pacientov. Dlhodobá expozícia nízkym dávkam antigénu môže modifikovať imunitnú odpoveď v zmysle navodenia tolerancie (imunosupresie), čoho dôsledkom sú infekčné komplikácie a rozvoj nádorov [20]. Dôsledkom mikrochimerizmu u imunosuprimovaných pacientov môže byť aj rozvoj TR AGvHD, polymorfných erupcií u gravidných žien a rôznych autoimunitných chorôb spojiva, napr. sklerodermie [33].

TRIM a solubilné faktory

Zložky komplementu (C) – C3a

Prudká aktivácia komplementu vedie k tvorbe veľkého množstva zložiek komplementu, napríklad C3a, C4a, ktoré sú zodpovedné za rozvoj anafylaktoidných reakcií po podaní transfúzných prípravkov. Môžu tiež navodiť imunopresiu, a to tým, že inhibujú reakciu ADCC (antibody dependent cell cytotoxicity), aktivitu NK buniek, tvorbu imunoglobulínov a prozápalových cytokínov TNF- α a IL-6. V plazme bohatej na C sa jej uchovávaním koncentrácia C3a zvyšuje. Kým koncentrácia C3a v čerstvej plazme je v priemere 0,2 $\mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$,

Tab. 6. Vplyv doby uchovávaní krvi a leukoredukcie na koncentráciu sFasL.

Koncentrácia 50 $\text{ng} \times \text{ml}^{-1}$ s FasL – indukcia apoptózy u 50 % buniek
S dobou uchovávaní krvi $\uparrow$ koncentrácia sFasL

Koncentrácia sFasL v neleukoredukovaných erytrocytových masách:	
po 5 dňoch uchovávaní	468 $\text{ng} \times \text{ml}^{-1}$
na 30. deň uchovávaní	1,9 $\mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$

Zdroje sFasL: hlavne apoptotické leukocyty

Leukoredukované krvné produkty pripravené počas 3 hodín po odbere:
na 30. deň $< 1 \text{ ng} \times \text{ml}^{-1}$

Nie sú údaje o hladinách sFasL v krvných produktoch, ktoré boli leukoredukované v dobe od 3–10 hodín po odbere (bežne v Európe)

Blížšie vysvetlenie v texte

počas uchovávaní plazmy môže stúpnuť 10–40násobne (tab. 5) [20].

Imunosupresia navodená vysokou koncentráciou C3a sa dá očakávať v prípade transfúzie dlhšiu dobu uchovávaných prípravkov, ktoré obsahujú veľa plazmy, akými sú plazma a krvné doštičky. Treba podotknúť, že aferetické prístroje neovplyvňujú hladinu C3a a filtre nepôsobia na komplement rovnako – niektoré hladinu C3a znižujú, naopak, iné ju zvyšujú [20].

Solubilný Fas ligand (sFasL)

K ďalším solubilným faktorom so silným imunopresívnym účinkom, ktorého koncentrácia v krvi a v krvných preparátoch s dobou uchovávaní rapídne stúpa, je sFasL. Jeho vysoké koncentrácie možno nájsť dokonca aj v intravenózných imunoglobulínových preparátoch [34]. Koncentrácia 50 $\text{ng} \times \text{ml}^{-1}$ sFasL indukuje apoptózu u 50 % buniek [35]. S dobou uchovávaní krvi koncentrácia sFasL v krvných prípravkoch stúpa (tab. 6). V neleukoredukovaných erytrocytových masách je koncentrácia sFasL po 5 dňoch uchovávaní až 468 $\text{ng} \times \text{ml}^{-1}$, na 30. deň dosahuje koncentráciu 1,9 $\mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$ [35]. Zdrojom sFasL sú hlavne apoptotické leukocyty [29]. Zvýšený rozpad buniek imunitného systému vedie k rozvoju imunopresie [20].

Leukoredukované krvné produkty pripravené počas 3 hodín po odbere krvi majú koncentráciu sFasL oveľa prijateľnejšiu. Na 30. deň dosahuje hladinu menej ako 1 $\text{ng} \times \text{ml}^{-1}$. V teste MLC (mixed lymphocyte culture) sa ukázalo, že skrátenie času od odberu krvi po leukoredukciu na 3 hodiny značne znižuje imunopresívny vplyv transfundovanej erymasy [20,35]. Nie sú údaje o hladinách sFasL v krvných produktoch, ktoré boli leukoredukované v dobe od 3–10 hodín po odbere, čo je postup bežný v Európe. S predĺžením časového intervalu od odberu po leukoredukciu sa zvyšuje rozpad buniek, následne uvoľnenie sFasL, a tým aj imunopresívna aktivita krvného prípravku [36].

Solubilné HLA molekuly (sHLA)

Ľudské leukocytové antigény – HLA (human leucocyte antigen) možno rozdeliť do 2 tried. Líšia sa výskytom, biochemickou štruktúrou a funkciou. Kým trieda I HLA antigénov (HLA-I) sa vyskytuje na povrchu všetkých jadrových buniek, aj trombocytov (megakaryocyt, z ktorého trombocyt pochádza, má jadro), trieda II HLA antigénov (HLA-II) sa nachádza len na povrchu imunokompetentných buniek, akými sú makrofágy, dendritové bunky, B-lymfocyty. Môže sa vyskytovať aj na aktivovaných T-lym-

focytoch ako aj na iných bunkách, a to nielen imunitného systému, avšak len za patologických okolností [37]. Koncentrácia solubilných HLA (sHLA) molekúl stúpa u pacientov, u ktorých dochádza k zvýšenej deštrukcii buniek ako je to napríklad v prípade autoimunitných chorôb, vírusových infekcií, akútnej GvHD a rejekcii alotransplantátu [20,39,40].

Najväčšie koncentrácie sHLA-I, sHLA-II molekúl sa našli v supernatantoch transfúzných vzoriek s veľkým obsahom leukocytov ($1-3 \times 10^9$ buniek v jednej jednotke), ktoré boli uchovávané 30 dní. Jednou z príčin je rozpad týchto buniek. Uvoľnené sHLA molekuly následne indukujú apoptózu buniek (Fas dependentný mechanizmus) [40]. Už 5 dní staré erytrocytové koncentráty obsahujú hladinu s HLA-I 10-krát vyššiu než je za fyziologických okolností v sére. Koncentrácia $2,5 \mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$ s HLA-I indukuje apoptózu 50 % CD8^+ buniek (lymfocyty Tc). Takáto koncentrácia sa zistila v neleukoredukovaných erymasách uchovávaných 30 dní [35,41,42].

Úloha HLA molekúl – prezentácia antigénu a rozvoj imunitnej odpovede

Jednou z úloh HLA molekúl je prezentácia cudzorodého antigénu, či už exogénnou alebo endogénnou cestou [37]. Pri exogénnej prezentácii antigénu bunky prezentujúce antigén, napríklad makrofágy, zachytia exogénny antigén, pohltnú ho, rozložia a časť vyložia na svoj povrch do žliabku HLA molekuly triedy II a prezentujú ho T_H -lymfocytom. Tieto prostredníctvom svojho T-bunkového receptora (TCR) rozpoznávajú prezentovaný antigén aj HLA molekulu triedy II, ktorá ho prezentuje, čím sa splní prvá požiadavka na rozvoj imunitnej odpovede, ktorá je iniciovaná T_H -lymfocytmi. Druhou požiadavkou je vytvorenie rôznych adhezívnych a kostimulačných interakcií (medzi inými aj väzba CD4 molekuly na povrchu T_H -lymfocytov

s HLA molekulou triedy II na povrchu makrofágov). Treťou požiadavkou je tvorba cytokínov, pomocou ktorých dochádza k aktivácii príslušných buniek imunitného systému. Pri prezentácii endogénneho antigénu (napr. pri bunkách pľúc infikovaných vírusmi) sa takýto endogénny antigén prezentuje pomocou HLA molekúl triedy I na povrchu infikovaných buniek pľúc Tc-lymfocytu. Na to, aby sa Tc-lymfocyt aktivoval, musí tiež splniť tri podmienky: rozpoznať antigén pomocou svojho TCR, uskutočniť adhezívne a kostimulačné interakcie medzi infikovanou bunkou a Tc-lymfocytom (jednou z nich je interakcia CD8 antigénu na povrchu Tc-lymfocytu s HLA molekulou triedy I na povrchu infikovanej bunky). Nakoniec musí dôjsť k indukcií tvorby cytokínov [37].

Imunomodulačný vplyv sHLA molekúl, rozvoj anergie

Solubilné HLA molekuly blokujú rozvoj imunitnej odpovede tým, že inhibujú druhý krok, t.j. väzbu príslušnej HLA molekuly prezentujúcej antigén na koreceptor na povrchu T_H alebo Tc-lymfocytu. Napríklad sHLA-II molekula sa nadviaže na CD4 antigén na povrchu T_H -lymfocytov, čím tento, keďže je už obsadený, nemôže interagovať s molekulou HLA-II, ktorá prezentuje T_H -lymfocytu antigén [37,43,44]. Tento lymfocyt síce rozpozna antigén, ale bez rozpoznania HLA molekuly triedy II imunitná odpoveď nevznikne. Okrem toho väzba sHLA-II molekuly na T_H -lymfocyt má za následok zvýšenú tvorbu IL-4, hlavného cytokínu, ktorý rozhoduje o polarizácii imunitnej odpovede smerom k $\text{T}_\text{H}2$ línii, čoho výsledkom je pokles $\text{T}_\text{H}1$ imunity a zosilnenie $\text{T}_\text{H}2$ imunity. Výsledkom je znížená špecifická bunkami sprostredkovaná imunita a čiastočne aj protilátková, v prípade, že ide o odpoveď na tzv. T-závislé antigény, t.j. také, ktoré na to, aby sa voči nim vytvorili protilátky, potrebujú pomoc T_H -lymfocytov [31].

Podobne blokuje sHLA-I molekula aktivitu Tc-lymfocytov ako aj aktivitu CD8^+ NK buniek [45]. Väzbou na CD8 antigén na povrchu týchto buniek bráni následnej interakcii CD8 antigénu s HLA molekulou triedy I, ktorá prezentuje endogénny antigén (napr. na povrchu vírusmi infikovaných buniek). Tc-lymfocyt síce prostredníctvom svojho TCR antigén rozpozná, ale bez interakcie s HLA-I molekulou, ktorá ho prezentuje, imunitná odpoveď nevzniká [20,43,45]. Výsledkom je pokles antivírusovej a tiež antitumoróznej aktivity mediovanej Tc-lymfocytmi a NK-bunkami.

$\text{T}_\text{H}1/\text{T}_\text{H}2$ polarizácia imunitnej odpovede

Výsledkom imunomodulačného pôsobenia buniek ako aj solubilných faktorov obsiahnutých v alogénných transfúziách je aj polarizácia imunitnej odpovede smerom k $\text{T}_\text{H}2$ a pokles $\text{T}_\text{H}1$ imunity [27]. Výsledkom je znížená aktivita makrofágov (fagocytóza, mikrobicídia aj ich antigén prezentačná funkcia a tumoricídna schopnosť aktivovaných makrofágov) ako aj znížená aktivita NK-buniek. Narušená je aj aktivita T_H a Tc-lymfocytov, z čoho rezultuje narušenie rozvoja špecifickej bunkami sprostredkovanej imunity voči intracelulárne parazitujúcim mikroorganizmom, pokles imunity voči vírusom, plesniam, parazitom, nádorom. $\text{T}_\text{H}2$ polarizáciu imunitnej odpovede môže potencovať aj zvýšená tvorba $\text{CD25}^+ \text{CD4}^+$ regulačných T-buniek, ktorá je ďalším prejavom potransfúzných zmien v imunitnom systéme [46,47]. Prevaha $\text{T}_\text{H}2$ línie smerovania imunitnej odpovede by mohla byť spoluzodpovedná aj za rôzne polyvalentné typy alergií, poprípade možné autoimunitné procesy, ktoré by sa takýmto spôsobom mohli spustiť u geneticky predisponovaných jedincov.

Záver

Dnes sa už vie, že transfúzie okrem rizika prenosu infekcií môžu viesť aj

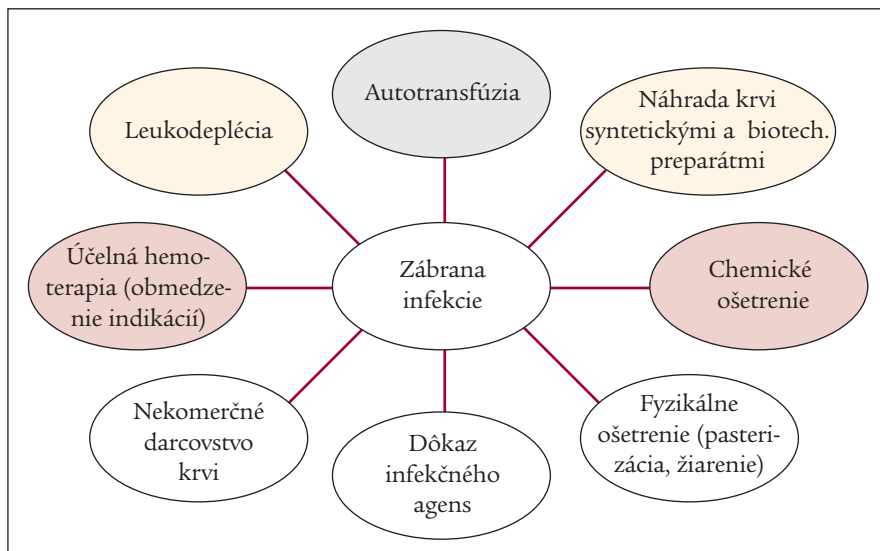


Schéma. Zábrana rozvoja infekcie u transfundovaných pacientov [13].

k určitým imunologickým abnormitám, hlavne k rozvoju imunosupresie, alebo naopak môžu mať silný prozápalový efekt. Čoraz častejšie sa zdôrazňuje, že transfúzie nie sú bez rizika. Objavujú sa dokonca extrémne názory, ku ktorým patrí aj ten, že najlepšia transfúzia je tá, ktorá nebola nikdy podaná. Pravda bude, ako vždy, asi niekde uprostred. V každom prípade vzhľadom na možné závažné nežiaduce účinky transfúzií by lekár, ktorý transfúziu indikuje, mal situáciu zvážiť tak, aby možný očakávaný účinok transfúzie krvi bol vyvážený proti vzniku možného rizika. Postupne sa možno naučíme využívať aj dnes hrozivo vyzerajúce negatívne účinky transfúzií v prospech pacienta. Zistilo sa napríklad, že podanie apoptotických buniek predlžuje prežívanie transplantovanej kostnej drene u HLA inkompatibilných myši. Robia sa tiež experimenty s použitím apoptotických buniek v hyperinflamačnom štádiu sepsy, zatiaľ však tiež len na zvieracích modeloch.

Množstvo a kvalita buniek ako aj hladina solubilných faktorov v krvných preparátoch a ich imunosupresívny potenciál nie je vždy rovnaký. Líši sa v rôznych typoch krvných

produktov, súvisí so spôsobom ich prípravy, podmienkami úschovy, dobou uchovávaní, množstvom transfundovaného objemu a charakteristikami darcu. Množstvo faktorov, ktoré ovplyvňujú imunosupresívny potenciál transfúzie a ktoré sa v klinických štúdiách neuvádzajú, spôsobuje sťaženie na vytvorenie určitého konsenzu ohľadne názoru na význam transfúzie ako aj benefit leukoredukcie. Dokázalo sa, že počas uchovávaní krvi a krvných zložiek dochádza k poškodeniu buniek, ich aktivácii, apoptóze, uvoľneniu biologicky aktívnych látok, čo môže viesť k rozvoju potransfúzných reakcií. Chemické látky z obalov ako aj filtre môžu tiež viesť k aktivácii buniek [2,48].

Rozvoj infekcie závisí od množstva a virulencie mikroorganizmov a odolnosti makroorganizmu. Preto boj proti infekčným komplikáciám by mal spočívať nielen v boji proti mikroorganizmom ale aj v zábrane rozvoja imunosupresie u pacienta (schéma).

Literatúra

1. Fiebig EW, Busch MP. Emerging infections in transfusion medicine. Clin Lab Med 2004; 24: 797-823.
2. Offner PJ. Age of blood: does it make a difference? Crit Care 2004; 8: 24-26.

3. Dellinger EP, Anaya DA. Infectious and immunologic consequences of blood transfusion. Crit Care 2004; 8: 18-23.
4. Alter HJ. Transfusion transmitted hepatitis C and non-A, non-B, non-C virus infections. In: Simon T, Dzik W, Snyder E et al. Rossi's principles of transfusion medicine. Philadelphia: Lippincott, Williams and Wilkins 2002: 718-732.
5. Bručkova M. Two decades of HIV/AIDS laboratory diagnosis in the Czech Republic. Epidemiol Microbiol Immunol 2004; 53: 162-164.
6. Dodd RY. Hepatitis A, hepatitis B, and non-A, non-B, non-C-viruses. In: Hillyer CD, Silberstein LE, Ness PM et al. Blood banking and transfusion medicine. Philadelphia: Churchill Livingstone 2003: 431-437.
7. Stanekova D. Aktuálne problémy základnej a nadstavbovej diagnostiky infekcie HIV. Slovenský lekár 2002; 3: 89-91.
8. Chiavetta JA, Escobar M, Newman A et al. Incidence and estimated rates of residual risk for HIV, hepatitis C, hepatitis B and human T-cell lymphotropic viruses in blood donors in Canada, 1990-2000. CMAJ 2003; 169: 767-773.
9. Goodnough LT. Risks of blood transfusion. Anaesth Clin North America 2005; 23: 241-252.
10. Regan FAM, Hewitt P, Barbara JAJ et al. Prospective investigation of transfusion transmitted infection in recipients of over 20 000 units of blood. BMJ 2005; 320: 403-406.
11. Suchankova A, Stankova M, Roubalova K et al. Seroprevalence of HHV8 antibodies among the general population and HIV positive persons in the Czech Republic. J Clin Virol 2003; 28: 70-76.
12. Kuehnert MJ, Roth VR, Haley NR et al. Transfusion transmitted bacterial infection in the United States, 1998 through 2000. Transfusion 2001; 41: 1493-1499.
13. Krejsek J, Kopecký O. Klinická imunologie. Nucleus, Hradec Králové 2004; 941.
14. Opelz G, Sengar DP, Mickey MR et al. Effect of blood transfusions on subsequent kidney transplants. Transplant Proc 1973; 5: 2353-259.
15. Opelz G, Vanrenterghem Y, Kirste G et al. Prospective evaluation of pre-transplant blood transfusions in cadaver kidney recipients. Transplantation 1997; 63: 964-967.

16. Peters WR, Fry RD, Fleshman JW et al. Multiple blood transfusions reduce the recurrence rate of Crohn's disease. *Dis Colon Rectum* 1989; 32: 749–753.
17. Unander AM. The role of immunization treatment in preventing recurrent abortion. *Transfus Med Rev* 1992; 6: 1–16.
18. Vamvakas E, Moore SB. Perioperative blood transfusion and colorectal cancer recurrence: a qualitative statistical overview and meta-analysis. *Transfusion* 1993; 33: 754–765.
19. Vignali A, Braga M, Gianotti L et al. A single unit of transfused allogeneic blood increases postoperative infections. *Vox Sang* 1996; 71: 170–175.
20. Ortolano AG, Russell R, Capetandes A et al. Transfusion associated immunosuppression – heuristic model or clinical concern. *Mod Asp Immunobiol* 2002; 2: 159–165.
21. Gianotti L, Pyles T, Alexander JW et al. Identification of the blood component responsible for increased susceptibility to gut-derived infection. *Transfusion* 1993; 33: 458–465.
22. Moore FA, Moore EE, Sauaia A. Blood transfusion. An independent risk factor for postinjury multiple organ failure. *Arch Surg* 1997; 132: 620–624.
23. Nagata S, Goldstein P. The Fas death factor. *Science* 1995; 267: 1449–1456.
24. Sauaia A, Moore FA, Moore EE et al. Early predictors of postinjury multiple organ failure. *Arch Surg* 1994; 129: 39–45.
25. Vamvakas EC, Carven JH. Transfusion and postoperative pneumonia in coronary artery bypass graft surgery: effect of the length of storage of transfused red cells. *Transfusion* 1999; 39: 701–710.
26. Vamvakas EC, Carven JH. RBC transfusion and postoperative length of stay in the hospital or the intensive care unit among patients undergoing coronary artery bypass graft surgery: the effects of confounding factors. *Transfusion* 2000; 40: 832–839.
27. Mincheff M. Changes in donor leukocytes during blood storage. Implications on post-transfusion immunomodulation and transfusion-associated GVHD. *Vox Sang* 1998; 74: 189–200.
28. Mincheff M, Loukinov D, Zoubak S et al. Fas and Fas ligand expression on human peripheral blood leukocytes. *Vox Sang* 1998; 74: 113–121.
29. Frabetti F, Tazzari PL, Mussiani D et al. White cell apoptosis in platelet concentrates. *Transfusion* 2000; 40: 160–168.
30. Bucová M. Sepsa – etiopatogenéza. *Interná Med* 2006; 6: 204–211.
31. Bucová M. Polarizácia lymfocytov T a úloha cytokínov v iničiálnom procese rozvoja autoimunity. *Rheumatologia* 2002; 16: 117–124.
32. Artlett CM. Pathophysiology of fetal microchimeric cells. *Clin Chim Acta* 2005; 360: 1–8.
33. Raghavan M, Marik PE. Anemia, allogenic blood transfusion, and immunomodulation in the critically ill. *Chest* 2005; 127: 295–307.
34. Ghio M, Contini P, Puppo F et al. The immunomodulatory effect of blood transfusions and intravenous immunoglobulins: the role of the soluble molecules of the Class-I major histocompatibility complex and of the Fas ligand. *Ann Ital Med Int* 2000; 15: 70–74.
35. Ghio M, Contini P, Mayyei C et al. In vitro immunosuppressive activity of soluble HLA class I and Fas ligand molecules: do they play a role in autologous blood transfusion? *Transfusion* 2001; 41: 988–996.
36. Puppo F, Ghio M, Contini P et al. Fas, Fas ligand, and transfusion immunomodulation. *Transfusion* 2001; 41: 416–418.
37. Goldsby RA, Kindt TJ, Osborne BA. *Kuby Immunology*. 4th ed. New York: Freeman WH and Company 2000: 351–370.
38. Adamashvili I, McVie R, Gelder F et al. Soluble HLA class I antigens in patients with type I Diabetes and their family members. *Human Immunol* 1997; 55: 176–183.
39. Matalliotakis IM, Athanassakis AG, Goumenou AG et al. The possible antiinflammatory role of circulating human leukocyte antigen levels in women with endometriosis after treatment with danazol and leuprozalin acetate depot. *Mediators of Inflammation* 2001; 10: 75–80.
40. Contini P, Ghio M, Merlo A et al. Apoptosis of antigen-specific T lymphocytes upon the engagement of CD8 by soluble HLA class I molecules is Fas ligand/Fas mediated: evidence for the involvement of p56lck, calcium calmodulin kinase II, and Calcium-independent protein kinase C signaling pathways and for NF-kappaB and NF-AT nuclear translocation. *J Immunol* 2005; 1: 7244–7254.
41. Puppo F, Contini P, Ghio M et al. Soluble human MHC class I molecules induce soluble Fas ligand secretion and trigger apoptosis in activated CD8(+) Fas (CD95)(+) T lymphocytes. *Int Immunol* 2000; 12: 195–203.
42. Puppo F, Contini P, Ghio M et al. Soluble HLA class I molecules/CD8 ligation trigger apoptosis of CD8+ cells by Fas/Fas-ligand interaction. *Scient World J* 2002; 12: 421–423.
43. Kirkley SA. Proposed mechanisms of transfusion – induced immunomodulation. *Clin Diag Lab Immunol* 1999; 6: 652–657.
44. Mincheff MS, Meryman HT, Kapoor V et al. Blood transfusion and immunomodulation: a possible mechanism. *Vox Sang* 1993; 65: 18–24.
45. Contini P, Ghio M, Poggi A et al. Soluble HLA-A, -B, -C and -G molecules induce apoptosis in T and NK CD8+ cells and inhibit cytotoxic T cell activity through CD8 ligation. *Eur J Immunol* 2003; 33: 125–134.
46. Bucová M. Regulačné T-bunky a autoimunita. *Rheumatologia* 2002; 16: 189–193.
47. Bushell A, Karim M, Kingsley CI et al. Pretransplant blood transfusion without additional immunotherapy generates CD25+ CD4+ regulatory T cells: A potential explanation for the blood transfusion effect. *Transplantation* 2003; 76: 449–455.
48. Procházková R. Multikomponentné automatizované odbery – nový trend v dárcovství krve. *Vnitř Lék* 2005; 51: 320–326.

MUDr. Mária Bucová, CSc.

www.fmed.uniba.sk

e-mail: maria.bucova@fmed.uniba.sk

Doručeno do redakce: 29. 5. 2006

Přijato po recenzii: 21. 7. 2006