

IMUNOLOŠKI UČINCI TRANSFUZIJE KRVI

BRANKA GOLUBIĆ-ĆEPULIĆ¹, INES BOJANIĆ¹, IVO RADMAN²

Transfuzija krvi uzrokuje mnoge promjene u imunološkom sustavu primatelja. Ona može uzrokovati aktivaciju imunološkog sustava ili njegovu supresiju. Aktivacija imunološkog ustava uzrokuje proizvodnju aloprotutijela i aktivaciju T stanica. Imunosupresija je povezana s dužim preživljenjem transplantata, većom učestalosti peripertivnih bakterijskih infekcija i možda s kraćim preživljenjem bolesnika sa zloćudnom bolesti. Imunološki mehanizmi za ove kliničke učinke nisu u cijelosti poznati ali se čini da su alogenični leukociti glavni sastojak krvi koji uzrokuje imunomodulaciju. U ovom radu prikazani su neki od učinaka alogeničnih leukocita.

Deskriptori: TRANSFUZIJA KRVI, IMUNOLOŠKI SUSTAV

Transfuzijom krvi se u cirkulaciju bolesnika unosi velika količina krvnih stanica, bjelančevina, masti i otopina koje konzerviraju krvne pripravke. Ukupna količina antigena koja se unese u organizam jednog transfuzijom je veća od jednog grama. Stoga ne čudi da svaka transfuzija krvi interferira s imunološkim sustavom primatelja. Neke imunološke reakcije, npr. akutna hemolitička transfuzijska reakcija, lako se klinički prepoznaju i mogu se jednostavno imunološki objasniti. Međutim, mehanizam nastanka transfuzijom uzrokovane imunomodulacije (prema engl. transfusion related immunomodulation - TRIM) još se u potpunosti ne razumije, iako su se na istraživanjima na životinjama dokazale mnogobrojne promjene aktivnosti imunološkog sustava uzrokovane transfuzijom krvi (tablica 1.).

U kliničkim uvjetima teško je ispitati mehanizme i učinak TRIM-a zbog toga jer promjene imunološkog sustava u

bolesnika nisu samo vezane uz transfuzijsko liječenje. Transfundirani bolesnici često su liječeni i dugim lijekovima koji mogu imati utjecaj na ishod liječenja. Nadalje, poznato je da stres, kao što su ozljeda, kirurški zahvat ili anestezija, mogu mijenjati funkciju imunološkog sustava, pa se teško može razlučiti koja promjena je uzrokovana stresom, a koja transfuzijom.

Učinak transfuzije krvi na transplantaciju solidnih organa

Pozitivan imunološki učinak transfuzije krvi na preživljenje transplantata bubrega opažen je još prije 30 godina. Preživljenje transplantata bubrega u bolesnika koji su liječeni transfuzijama krvi povećano je na 70% dok je u bolesnika koji nisu bili liječeni transfuzijom ostalo na 40% (1). Kako su ovi rezultati potvrđeni u više studija, transfuzija jedne ili više doza krvi postala je standardna metoda indukcije imunosupresije, iako mehanizmi tog učinka nisu bili poznati. Imunosupresivni lijekovi razvijeni prije 20-ak godina učinkovitiji su od transfuzije krvi tako da se danas ona više ne koristi za indukciju imunosupresije. Međutim, učinci transfuzije krvi na preživljenje transplantata bubrega upozorili su da transfuzija krvi mijenja imu-

nološki sustav primatelja što je otvorilo potpuno novo razdoblje u transfuzijskoj medicini.

Transfuzija krvi i maligna bolest

Povezanost transfuzijskog liječenja s lošijim ishodom liječenja zloćudnih bolesti razmatra se od 80-ih godina prošlog stoljeća. Istraživanja na životinjama su dokazala da transfuzija krvi potiskuje stanični imunološki odgovor. U životinja kojima je ubrizgano tumorsko tkivo fibrosarkoma uz transfuziju alogenične krvi, tumorska masa je rasla znatno brže nego u skupini životinja koje nisu primile transfuziju (2). Meta-analiza retrospektivnih i prospektivnih istraživanja ishoda liječenja bolesnika s tumorom kolona, bolesnika s tumorima glave i vrata, dojke, želuca, pluća i prostate, pokazala je da skupine bolesnika liječenih s transfuzijom krvi imaju kraće preživljenje bez znakova bolesti (3-6). Niti jedna studija nije dokazala utjecaj transfuzije na ishod liječenja tumora grla maternice (tablica 2).

U analizi samo prospektivnih studija, kojih je svega nekoliko, nije sa sigurnošću dokazana povezanost lošijeg ishoda liječenja i transfuzije (6, 7). Imunološka disfunkcija može doprinijeti razvoju ne-Hodginovog limfoma (NHL). Kako tran-

¹Zavod za kliničku transfuziologiju

²Zavod za hematologiju

Klinički bolnički centar Zagreb

Adresa za dopisivanje:

mr. sc. Branka Golubić Ćepulić
Klinički bolnički centar Zagreb
10000 Zagreb, Kišpatičeva 12
E-mail: bgolubi@kbc-zagreb.hr

Tablica 1.

Učinci alogenične transfuzije na imunološki sustav primatelja (12)

Table 1

Effects of blood transfusion on immunologic system of recipient (12)

Smanjenje Th1 i povećanje Th2 proizvodnje citokina in vitro
Smanjeni odgovor u miješanoj kulturi limfocita
Smanjena proliferativna sposobnost nakon stimulacije mitogenima i topivim antigenima in vitro
Povećanje broja CD8 T stanica ili smanjenje funkcije in vitro
Smanjenje broja i aktivnosti stanica prirodnih ubojica in vitro
Smanjenje broja CD4 T stanica pomagača
Smanjenje funkcije monocita i makrofaga in vitro i in vivo
Povećanje proizvodnje anti-idiotipskih protutijela koja suprimiraju odgovor u miješanoj kulturi limfocita in vitro
Smanjenje stanično posredovane citotoksičnosti in vitro
Humoralna aloimunizacija na stanične i topive antigene

sfuzija krvi uzrokuje imunomodulaciju, pokušala se istražiti povezanost transfuzijskog liječenja i pojave NHL. Iako su prvi rezultati ukazivali na povećani rizik obolijevanja od NHL u transfundiranih bolesnika, velike epidemiološke studije to nisu potvrdile (8, 9).

Transfuzija krvi i bakterijska infekcija

Učinak transfuzije krvi na pojavu infekcija u perioperativnom razdoblju ispitan je u mnogim studijama. Većina retrospektivnih istraživanja je pokazala da je učestalost postoperativnih infekcija veća u slučajevima kada je bolesnik transfundiran s alogeničnim krvnim pripravcima (10). Što je broj transfundiranih doza veći, to je učestalost infekcija veća. Očekivalo se da će randomizirana klinička ispitivanja, najčešće provedena u skupinama bolesnika s abdominalnim, kardiokirurškim i ortopedskim operacijama, potvrditi rezultate retrospektivnih ispitivanja. Međutim, kako su neke studije pokazale negativan utjecaja transfuzije krvi na učestalost perioperativnih infekcija, a druge to nisu dokazale, još se ne može donijeti konačan sud o ulozi transfuzije u nastanku perioperativnih bakterijskih infekcija.

Ostali učinci TRIM-a

Pozitivni učinak TRIM-a na tijek bolesti uočen je u nekih autoimunih bolesti. Radi se o tek nekoliko studija, zbog toga

imati učinak na napredovanje HIV infekcije, ali nema učinka na reaktivaciju virusa kao se prije smatralo (13).

Kada se ocjenjuju rezultati studija koje su istraživale utjecaj TRIM-a na maligne bolesti ili perioperativne infekcije, ne smije se zanemariti činjenica da se krvni pripravci u različitim dijelovima svijeta proizvode na različite načine. Različito proizvedeni krvni pripravci, sadrže različitu količinu leukocita i plazme koji imaju značajno mjesto u promjenama funkcije imunološkog sustava nakon transfuzije. U Europi se tijekom proizvodnje iz koncentrata eritrocita izdvoji trombocitno-leukocitni međusloj tako da ti pripravci sadrže 1×10^9 leukocita. Osim toga, ako se eritrociti čuvaju u umjetnim hranjivim otopinama, što je standardna praksa u zapadnim zemljama, moguće je odstraniti iz eritrocitnog koncentrata znatno više plazme. U filtriranim krvnih pripravcima ostane manje od 1×10^6 leukocita. Koncentrati eritrocita koji se koriste u većini hrvatskih bolnica proizvedeni su centrifugiranjem nakon čega se odvoji plazma. Takvi koncentrati sadrže 2×10^9 do 5×10^9 leukocita i 7-10% plazme više nego koncentrati u hranjivim otopinama. Kako se smatra da je TRIM uzrokovan transfuzijom leukocita i topivih antigena sadržanih u plazmi, proizlazi da se u Hrvatskoj još uvijek koriste pripravci koji mogu uzrokovati veću modifikaciju imunološkog odgovora.

što se ti bolesnici rijetko transfundiraju. U randomiziranom ispitivanju učinka transfuzije jednog leukocitno-trombocitnog međusloja bolesnicima s tipom I dijabetesa postignute su tri kratkotrajne remisije bolesti (11). U bolesnika s Chronovom bolesti koji su liječeni transfuzijom tijekom resekcije crijeva, smanjen je broj akutnih pogoršanja bolesti u odnosu na grupu bolesnika koja nije liječena transfuzijom tijekom operacije (12). Pozitivan učinak primjene mononuklearnih stanica u bolesnika s reumatoidnim artritisom dokazan je u jedinom ispitivanju provedenom u toj grupi bolesnika. Transfuzija očevih leukocita može spriječiti spontani abortus u 10% slučajeva (17). Transfuzija krvnih pripravaka može

Tablica 2.

Povezanost transfuzije i ishoda liječenja zloćudnih tumora (11)

Table 2

Link between transfusion and results of therapy of neoplasus (11)

Sijelo tumora	Značajna povezanost N studija (bolesnici)	Nema povezanosti N studija (bolesnici)	Ukupno N studija (bolesnici)
Kolorektalni	5 (1546)	13 (6985)	18 (8531)
Glava i vrat	4 (511)	6 (920)	10 (1431)
Dojka	3 (1662)	7 (3742)	10 (5404)
Želudac	2 (329)	4 (2198)	6 (2527)
Pluća	5 (898)	2 (447)	7 (1345)
Grlo maternice	-	1 (302)	1 (302)
Prostata	2 (335)	3 (2203)	5 (2538)
Ukupno	21 (5281)	25 (16797)	56 (22078)

Mehanizmi nastanka TRIM-a

U vrijeme kada se o imunologiji malo znalo, imunološki učinci krvi povezivani su s preopterećenjem retikuloendotelnog sustava željezom ili raspadnutim dijelovima eritrocita. Danas se smatra su glavni uzrok TRIM-a leukociti iz transfundirane doze krvi. To je potvrđeno u više kliničkih studija koje se pokazale povezanost broja leukocita u dozi sa stupnjem imunomodulacije. Promjene u aktivnosti imunološkog sustava mogu uzrokovati i tvari nastale tijekom čuvanja konzerviranih krvnih pripravaka zbog metaboličkih, biokemijskih i molekularnih promjena, ali i tvari otopljene u plazmi porijeklom iz krvi davatelja.

Učinak transfuzije krvi davatelja organa

Prva istraživanja pozitivnog učinka transfuzije na preživljenje transplantata nisu posebno istraživala učinak HLA podudarnosti davatelja krvi i primatelja. Kasnije je uočeno da je preživljenje transplantata bubrega i srca znatno bolje ako su davatelj i primatelj podudarni u jednom HLA-DR antigenu (15, 16). Moguće je da identičnost jednog HLA-DR antigena između davatelja krvi i bolesnika potiskuje specifični imunološki odgovor ili inducira toleranciju na davateljeve antigene.

Promjena u Th1/Th2 stanicama nakon transfuzije

Imunološki sustav na antigeni podražaj može odgovoriti na dva načina. Ako T stanice pomagači na antigeni podražaj proizvode citokine IL-2, INF- γ i TNF, aktiviraju se makrofagi i NK stanice (Th-1 odgovor). Ako T stanice pomagači na antigeni podražaj proizvode citokine IL-4 i IL-10, dolazi do humoralnog odgovora (Th-2 odgovor). Nekoliko radova je pokazalo da transfuzija krvi potiče imunološki odgovor po tipu Th-2. U drugom tjednu nakon transfuzije, razina IL-2 i TNF padaju za 30-ak%, a TNF-a za 70% (17). Istovremeno raste razina IL-4, IL-10 i TGF- β . Viša razina PGE2 može se izmjeriti između 7. i 14. dana nakon transfuzije. Nakon filtriranih i opranih eritrocita nije zabilježen porast citokina u primatelja transfuzije. Nakon primjene

autologe krvi raste razina samo IL-10. Ove promjene slabe stanični imunološki odgovor čime se pokušavaju objasniti učinci transfuzije na bolje preživljenje transplantata, sklonost bakterijskim infekcijama, brži povrat tumora, kliničko poboljšanje bolesnika s Crohnovom bolešću i sprječavanje spontanog abortusa.

Mikrokimerizam

Mnogo godina nakon trudnoće, transplantacije i eksangvino-transfuzije u novorođenačkoj dobi mogu se u cirkulaciji dokazati leukociti majke ili djeteta, odnosno davatelja organa ili krvi. PCR metodom su dokazani davateljevi leukociti u cirkulaciji 27 godina nakon eksangvino-transfuzije (18). Nakon transfuzije jedne doze krvi davateljevi leukociti se nalaze u cirkulaciji od 1 do 8 tjedana. Kvantitativnim metodama je dokazano da nakon početnog odstranjenja davateljevih leukocita iz cirkulacije, njihov broj ponovo raste peti dan nakon transfuzije. U odraslih bolesnika liječenih s mnogo doza krvnih pripravaka leukociti davatelja su dokazani u cirkulaciji bolesnika više od jedne godine nakon transfuzije (19). Količina leukocita koja se obnavlja ovisi o podudarnosti u HLA antigenima klase II. Ako postoji veći stupanj HLA podudarnosti, leukociti ostaju duže u cirkulaciji bolesnika. Klinički značaj dugotrajnog preživljenja limfocita u cirkulaciji primatelja nije poznat. Limfociti u ozračenim pripravcima nemaju sposobnost dobe, pa nakon transfuzije ne dolazi do očekivanog drugog porasta broja limfocita.

Mikrokimerizam može biti značajan u autoimunim bolestima. Više studija je dokazalo postojanje mikrokimerizma u bolesnika sa sklerodermijom. Tijekom trudnoće dolazi do krvarenja između majke i djeteta, stoga male količine majčinih leukocita mogu ostati u cirkulaciji djeteta, odnosno djetetovih leukocita u cirkulaciji majke. Dugotrajni mikrokimerizam za koji se pretpostavlja da je uzrok poremećaja imunosti, omogućen je podudarnošću HLA antigena klase II domaćina i limfocita majke ili djeteta, tako da ne dolazi do aktivacije leukocita i njihovog uklanjanja iz cirkulacije. I u bolesnika liječenih transplantacijom

matičnim stanicama u kojih je u cirkulaciji dokazan mikrokimerizam češće se javljaju autoimuna zbivanja.

Reakcija između davatelja i bolesnika

Pretpostavlja se da nakon transfuzije krvi od davatelja koji nema niti jedan zajednički HLA antigen s bolesnikom, antigen prezentirajuće stanice (APC prema engl. antigen presenting cell) primatelja davateljeve HLA antigene prepoznaju kao strane što uzrokuje imunost usmjerenu prema davateljevim stanicama. Imunosupresivni učinak u bolesnika nakon transfuzije krvi slučajno odabranog davatelja ovisi o: stupnju HLA nepodudarnosti, dužini boravka davateljevih leukocita u cirkulaciji primatelja i o proizvodnji citokina koji potiču Th2 odgovor. Ako imaju jedan zajednički HLA-DR antigen tada davateljeve APC stanice prezentiraju primateljeve HLA antigene što može uzrokovati imunotoleranciju.

Topivi čimbenici u krvnom pripravku i TRIM

Nedavno je objavljeno više radova koji pokazuju da transfuzija raznih tvari sadržanih u plazmi može uzrokovati promjene u imunološkom odgovoru primatelja. To mogu biti tvari porijeklom iz krvi davatelja, konzervansi i antikoagulantne otopine, tvari nastale tijekom čuvanja krvi ili apoptotične stanice. Na imunološki sustav mogu djelovati direktno ili stvaranjem imunih kompleksa nakon transfuzije. Apoptotoza započinje tijekom skladištenja krvi. Transfundirane apoptotične krvne stanice fagocitiraju makrofagi primatelja. Fagocitirane stanice inhibiraju proizvodnju upalnih citokina IL-1 β , TNF α , IL-8 i IL-10, a potiču izlučivanje TGF β .

Ove promjene u funkciji makrofaga uzrokuju smanjenje aktivnosti imunološkog sustava (14). Fas/Fas ligand inhibira T staničnu citotoksičnost i inducira apoptozu. Koncentracija topivih Fas liganada je veća u starijim dozama krvi, a mala je u dozama iz kojih su uklonjeni leukociti odmah nakon uzimanja krvi (20). Topivi HLA antigeni klase I i II ili njihovi dijelovi koji se nalaze u dozi krvi mogu uzrokovati TRIM smanjenjem

specifične i nespecifične T stanične imunosti. Nakon transfuzije krvi stvaraju se topivi imuni kompleksi koji inhibiraju citotoksičnost makrofaga i inhibiraju sekreciju IL-12 (12). Trombociti proizvode placentarni protein 14 (PP14) koji inhibira proliferaciju T limfocita (18).

Mehanizam i klinički značaj TRIM-a još treba istražiti radi podizanja sigurnosti transfuzijskog liječenja i izbora najdjelotvornijeg krvnog pripravaka. Ali i promjene u postupcima proizvodnje krvnih pripravaka (npr. uklanjanje leukocita iz svih krvnih pripravaka), promjene u kliničkoj praksi (npr. niži transfuzijski prag, eritropoetin) i razvoj novih lijekova koji će zamijeniti ljudsku krv, mogli bi smanjiti ili ukloniti učinke transfuzije na imunološki sustav primatelja.

LITERATURA

- Opelz G, Terasaki PI. Prolongation effect of blood transfusions on kidney graft survival. *Transplantation* 1976; 22: 380-4.
- Francis DM, Shenton BK. Blood transfusion and tumor growth: Evidence from laboratory animals. *Lancet* 1982; 2: 871-3.
- Burrows L, Tartter P. Effect of blood transfusion on colonic malignancy recurrent rate *Lancet* 1982; 2: 662.
- Blumberg N, Agarwal MM, Chuang C. Relation between recurrence of cancer of the colon and blood transfusion *BMJ* 1985; 290: 1037-9.
- Blumberg N, Heal J, Chuang C i sur. Further evidence supporting a cause and effect relationship between blood transfusion and earlier cancer recurrence. *Ann Surg* 1988; 207: 410-5.
- Brand A, Houbiers JGA. Clinical studies of blood transfusion and cancer. U: Vamvakas EC, Blajchman MA, ur. *Immunomodulatory effects of blood transfusion*. AABB Press, 1999; 145-90.
- Vamvakas EC. Perioperativ blood transfusion and cancer recurrence: meta-analysis for explanation. *Transfusion* 1995; 35: 760.
- Brandt L, Brandt J, Olsson H i sur. Blood transfusion as a risk factor for non-Hodgkin lymphoma. *Br J Cancer*. 1996; 73: 1148-51.
- Adami J, Nyren O, Bergstrom R i sur. Blood transfusion and non-Hodgkin lymphoma. *Ann Intern Med* 1997; 127: 365-71.
- Vamvakas EC. Transfusion-associated cancer recurrence and postoperative infection: Meta-analysis of randomized, controlled clinical trials. *Transfusion* 1996; 36: 175-86.
- Cavanaugh J, Chopek M, Binimelis J. Buffy coat transfusions in early type I diabetes. *Diabetes* 1987; 36: 1089.
- Scott ADN, Ritchie JK, Phillips RKS. Blood transfusion and recurrent Crohn's disease. *Br J Surg* 1991; 78: 455.
- Smith JB, Fort JG. Treatment of rheumatoid arthritis by immunization white blood cells: results of a preliminary trial. *J Rheumatol* 1996; 23: 220.
- Dzik WH. Apoptosis, TGF β and transfusion related immunosuppression: Biologic versus clinical effects. *Transf Apheresis Science* 2003; 29: 127-9.
- Lagajj EL, Hennemann IP, Ruigrok M i sur. Effect of one-HLA-DR-antigen matched and completely HLA-Dr-mismatched blood transfusions on survival of heart and kidney allografts. *N Engl J Med* 1989; 321: 701-5.
- van der Mast BJ, Balk AH: Effect of HLA-DR-shared blood transfusion on the clinical outcome of heart transplantation. *Transplantation* 1997; 63: 1514-9.
- Gourley IS, Silberstein LE. Immunomodulation. U: *Blood banking and transfusion medicine*. Hillyer CD, Silberstein LE, Ness PM, Anderson KS, ur. Churchill Livingstone, 2003; 413-20.
- Vorvoordeltonk SF, Doumaid K, Remmerswaal EBM, i sur. Long-term detection of microchimerism in peripheral blood after pretransplantation blood transfusion. *Br J Haematol* 1998; 102: 1004-9.
- Lee TH, Paglieroni T, Ohto H, Busch M. Survival of donor leukocyte subpopulations in immunocompetent transfusion recipients: frequent long-term micro-chimerism in severe trauma patients. *Blood* 1999; 93: 3127-39.
- Buelow R, Burlingham WJ, Clayberger C. Immunomodulation by soluble HLA class I. *Transplantation* 1995; 59: 649.
- Puppo F, Ghio M, Contini P, i sur. Fas, Fas ligand, and transfusion immunomodulation. *Transfusion* 2001; 41: 416-8.

Summary

IMUNOLOGICAL ASPECTS OF BLOOD TRANSFUSION

B. Golubić-Ćepulić, I. Bojanić, I. Radman

Blood transfusion cause many changes in immune function in patients. It can induce immune activation or suppression. The immune activation is expressed by the production of the alloantibodies and T cell activation. The immunosuppression is accompanied by enhanced renal graft survival, higher rate of postoperative infection and possibly decreased recurrence-free survival in cancer patients. The immunological basis for these clinical events is incompletely understood but it appears that allergenic leukocytes are the major component of blood mediating these effects. Some of influence of allogenic leukocytes on clinical outcomes will be discussed in this article.

Descriptors: BLOOD TRANSFUSION, IMMUNOLOGIC SYSTEM