

Potransfuzyjna ostra niewydolność oddechowa

Gabriela Smoleńska-Sym, Krystyna Maślanka

Zakład Immunologii Hematologicznej i Transfuzjologicznej
Instytutu Hematologii i Transfuzjologii

Potransfuzyjna ostra niewydolność oddechowa (TRALI, *transfusion related acute lung injury*) jest obecnie uważana za bardzo ważną przyczynę zachorowalności i śmiertelności spowodowanej przetoczeniem krwi, szczególnie u chorych w stanie krytycznym (infekcje, stany pooperacyjne, sepsa). W programie XXXI Kongresu ISBT nie znalazł się jednak referat plenarny omawiający aktualne dane na temat etiologii, patogenezy, diagnozowania czy częstości występowania TRALI. Natomiast w 2 sesjach plakatowych przedstawiono 16 doniesień, które były poświęcone diagnostyce oraz nowym aspektom patogenezy TRALI. Bardziej interesujące, zdaniem autorek, plakaty zostaną przedstawione w dalszej części sprawozdania.

Tytułem wprowadzenia czytelnika w tę tematykę warto przypomnieć, że TRALI charakteryzuje się nagłym wystąpieniem duszności podczas przetoczenia lub w przebiegu 6 godzin po transfuzji krwi. Opiswane są również przypadki występowania TRALI nawet po 40 i 72 godzinach od momentu przetoczenia krwi. Podstawowym objawem jest obrzęk płuc z niedotlenieniem ($\text{PaO}_2/\text{FIO}_2 < 300 \text{ mm Hg}$, wysycenie tlenem $< 90\%$). W obrazie rentgenowskim obserwuje się w płucach obustronne nacieki śródmiąższowe, które ustępują po 5–7 dniach. Niekiedy występuje obniżenie ciśnienia tętniczego i gorączka. Około 70% chorych wymaga za-intubowania i podania tlenu. Nie jest wskazane podawanie leków diuretycznych, a zastosowanie kortykosteroidów — kontrowersyjne, ponieważ brakuje ewidentnych dowodów na to, że poprawiają stan chorego. Nielezione TRALI prowadzi u około 25% chorych do śmierci. U pozostałych chorych objawy kliniczne ustępują po 48–96 godzinach. Częstość występowania TRALI nie jest dokładnie znana, ale w piśmiennictwie podaje się występowanie

tego zespołu na około 1/1500–5000 transfuzji. U chorych w stanie krytycznym TRALI występuje nawet u 6–8% osób.

Zespół TRALI obserwowano po przetoczeniu osocza, pełnej krwi, koncentratów krwinek czerwonych i płytek krwi, granulocytów, krioprecypitatu i immunoglobulin podawanych drogą dożylną.

Patogeneza zespołu TRALI jest skomplikowana i nie do końca wyjaśniona. W większości przypadków w przebiegu TRALI wykrywa się przeciwciała leukocytarne, głównie w przetoczonej krwi od dawcy, ale czasami także u chorego.

Najczęściej są to przeciwciała anty-HLA (*human leukocyte antigen*) klasy I i II lub swoiste przeciwciała antygranulocytarne (HNA, *human neutrophil antigens*) (anty-HNA-1a, 1b, 2a, 3a). Ten rodzaj TRALI nosi nazwę „immunologicznego zespołu TRALI”.

W sesji pt. „Diagnozowanie zespołu TRALI” zaprezentowano kilka doniesień i plakatów skupiających się na przedstawieniu metod i wyników badań przeciwciał anty-HLA/HNA u dawców krwi. Zgodnie z postanowieniami Grupy Roboczej do diagnostyki TRALI, powołanej przez ISBT, do wykrywania przeciwciał antyleukocytarnych obligatoryjnie powinno się wykonywać test GAT (*granulocyte agglutination test*), test GIFT (*granulocyte immunofluorescence test*) oraz jeden z wielu testów stosowanych do wykrywania przeciwciał anty-HLA, na przykład test ELISA [1].

Na uwagę zasługuje doniesienie Nguyen i wsp., którzy rekomendują do wykrywania wymienionych przeciwciał zautomatyzowany GIFT [2]. Autorzy przebadali tym testem 4349 surowic dawców krwi, w tym 57% kobiet. Przeciwciała antyleukocytarne wykryto u 28,3% kobiet podających w wywiadzie ciążę (anty-HLA klasy I — 10,2%, HLA klasy II

— 7%, anty-HNA — 1,3%), a także u 4,1% kobiet bez przebytych ciąż (anty-HLA klasy I — 2,5%, HLA klasy II — 0,8%, anty-HNA — 0,8%). Zaskakujące są wyniki badań wymienionych przeciwciał u mężczyzn, u których w 2,2% surowic wykryto przeciwciała antyleukocytarne (anty-HLA klasy I — 1,6% i anty-HNA — 0,6%). Autorzy cytowanych wcześniej badań wysuwają wniosek, że niezbędne są rutynowe badania przeciwciał antyleukocytarnych u dawców krwi, co ułatwi opracowana przez nich zautomatyzowana metoda badania tych przeciwciał. Wprowadzenie takiego postępowania może wpłynąć na zmniejszenie odczynów poprzetoczeniowych, w tym TRALI.

Jednym z bardziej interesujących doniesień okazał się plakat Sachsa i wsp. o mechanizmie TRALI, w kontekście obecności we krwi dawcy przeciwciał anty-HLA klasy II [3]. Ten problem był szeroko dyskutowany w literaturze, ponieważ wiadomo, że antygeny HLA klasy II nie są wyrażone na neutrofilach i w endotelium naczyń płuc, czyli w głównych komórkach uczestniczących w patogenezie TRALI. Wyniki badań Sachsa i wsp. wykazały, że przeciwciała anty-HLA klasy II obecne w osoczu dawcy mogą indukować TRALI u biorców takiej krwi, poprzez aktywację monocytów. Zaktywowane monocyty stymulują neutrofile do produkcji reaktywnych form tlenu, które prowadzą do wzrostu przepuszczalności endotelium, czego następstwem jest obrzęk płuc. Te badania mają także ważny aspekt praktyczny, ponieważ zwracają uwagę na konieczność wykluczenia z krwiodawstwa dawców nawet z przeciwciałami anty-HLA klasy II, jakkolwiek antygeny HLA klasy II nie są wyrażone ani na krwinkach czerwonych, ani na płytkach krwi.

Istnieje nadal ważny a nierozwiązany dotychczas problem kobiet — dawców krwi, z przeciwciałami anty-HLA klasy I, jak i HLA klasy II oraz swoistymi przeciwciałami antygranulocytarnymi. Doświadczenia autorów holenderskich wykazały zmniejszenie o około 40% występowania TRALI po stosowaniu transfuzji FFP (*fresh frozen plasma*) tylko od mężczyzn [4, 5]. Zmniejszenie liczby odczynów typu TRALI po przetoczeniach KKP tylko od mężczyzn zaobserwowali także badacze ze Szwajcarii [6].

Wiadomo, że w wielu przypadkach klinicznie udokumentowanego zespołu TRALI nie wykrywa się przeciwciał antyleukocytarnych. Za czynnik patogenetyczny uważane są cytokiny lub biologicznie aktywne lipidy. Taki rodzaj TRALI nosi nazwę „nie-immunologicznego zespołu TRALI”.

Od 2006 roku utrzymuje się wyjaśnienie patogeny TRALI zaproponowane przez Sillimana

i MaLaughlina, którzy zakładają, że do jego wystąpienia dochodzi w wyniku dwóch kolejno następujących etapów (*two hits* lub *two events*) [7]. W pierwszym etapie, w wyniku prozapalnego stanu płuc czy to w wyniku samego zapalenia płuc, sepsy lub takiej niewydolności płuc, która powoduje aktywację śródbłonna naczyń włosowatych płuc, następuje sekwestracja i preaktywacja wielojądrowych granulocytów (neutrofilów). W drugim etapie, w wyniku transfuzji krwi dochodzi do aktywacji wcześniej już preaktywowanych neutrofilów, a następnie do degranulacji i wydzielania aktywnych form tlenu z pobudzonych neutrofilów, czego następstwem jest obrzęk płuc.

W przetaczanych składnikach krwi czynnikami aktywującymi neutrofile mogą być nie tylko przeciwciała antyleukocytarne, ale także biologicznie aktywne lipidy, na przykład lizofosfatydylocholina (L-PC) lub cytokiny, które mogłyby gromadzić się w czasie przechowywania składników krwi. Już w 1998 roku Silliman i wsp. [8] wykazali, że zespół TRALI występuje najczęściej po przetoczeniu długo przechowywanych składników krwi. Jego dwuetapowy przebieg usiłowano potwierdzić zarówno w doświadczeniach przeprowadzonych *in vitro* (supernatant z długo przechowywanych KKP aktywował granulocyty), jak i w doświadczeniach *ex vivo* na szczurach. Zwierzętom podawano bakteryjny LPS (lipopolisacharyd) w celu odtworzenia pierwszego etapu polegającego na preaktywacji neutrofilów, a następnie supernatant z długo przechowywanych składników krwi, który powodował, że w badaniach histopatologicznych płuc obserwowano nagromadzenie agregatów granulocytów, co potwierdzało wystąpienie zespołu TRALI.

Udział bioaktywnego lipidu L-PC w patogenezie TRALI był tematem tylko dwóch plakatów. Ich autorami byli badacze z Niemiec, Sachs i wsp. [9], oraz między innymi autorki niniejszego sprawozdania [10]. Główny temat tych prac stanowiła odpowiedź na pytanie, czy w trakcie przechowywania składników krwi dochodzi do powstawania L-PC w środowisku, w którym znajdują się komórki krwi przeznaczone do transfuzji. Z przeprowadzonych przez autorki tej pracy badań jednoznacznie wynikało, że w trakcie przechowywania koncentratów płytkowych po 6 dniach obserwuje się 2-krotny wzrost ilości L-PC. A zatem w trakcie transfuzji pacjent otrzymuje dodatkową ilość tego lipidu, co może przyczynić się do wystąpienia TRALI. Takie składniki krwi, jak KKCZ lub UKKCZ, ze względu na sposób ich preparatyki są ubogie w osocze i tym samym charakteryzują się bardzo niską zawartością L-PC. W trakcie przechowywania tych składników

nie zaobserwowano akumulacji wspomnianego lipidu. Badania z tego zakresu są prowadzone od 2 lat w Zakładzie Immunologii Hematologicznej i Transfuzjologicznej IHiT, w ramach Grantu MNiSW nr NN 401 215734.

Przedmiotem badań Sachsa i wsp. były właśnie supernatanty z ubogoleukocytarnych koncentratów krwinek czerwonych, po 45 dniach przechowywania [9]. Autorzy stwierdzili obecność L-PC w środowisku erytrocytów, ale nie podali, czy dochodzi do istotnych zmian ilościowych L-PC po 45 dniach. Badając supernatant z przechowywanych przez 45 dni UKKCz w eksperymencie *ex vivo* na szczurach, nie wykazali powstania zespołu TRALI u badanych zwierząt. Natomiast w takich samych warunkach w doświadczeniu *ex vivo* podanie szczirom swoistych przeciwciał granulocytarnych anty-HNA-2a indukowało zespół TRALI. Wyniki tych doświadczeń wydają się w pierwszej chwili niezgodne z wcześniejszymi badaniami Sillimana, ale biorąc pod uwagę obserwacje autorek niniejszej pracy, że w preparatach UKKCz L-PC występuje w ilościach śladowych lub go brak, wydaje się oczywiste, że nie należy spodziewać się wystąpienia TRALI u szczurów w doświadczeniach *ex vivo* pod wpływem supernatantów z długo przechowywanych preparatów UKKCz [8].

Problematyka bioaktywnych lipidów, aczkolwiek znalazła odbicie tylko w dwóch plakatach, została zauważona i uznana przez organizatorów Kongresu za bardzo istotną. Oba plakaty zostały wyróżnione i znalazły się w grupie 10% najlepszych spośród wszystkich 1160 przedstawionych plakatów. Ponadto zaprezentowany przez autorki plakat został wyłoniony z tej grupy jako jeden z 12 najlepszych i nagrodzony.

Piśmiennictwo

1. Bierling P., Bux J., Curtis B. i wsp. Recommendations of the ISBT Working Party on Granulocyte Immunobiology for leukocyte antibody screening in the investigation and prevention TRALI. *Vox Sanguinis* 2009; 96: 266–269.
2. Nguyen D., Dengler T., Gobel M., Kluter H. Detection of granulocyte-specific antibodies in blood donors using automated high throughput screening methods: flow-GIFT. *Vox Sanguinis* 2010; 99 (supl. 1): 3B-S04-05, 8.
3. Sachs U., Wasel W., Reil A i wsp. Mechanism of transfusion-related acute lung injury induced by HLA class II antibodies. *Vox Sanguinis* 2010; 99 (supl. 1): P-1013, 459.
4. Beckers E.A., van Stein D., Porcelijn I. i wsp. TRALI reports in the Netherlands: evaluation before and after the introduction of male-only plasma. *Vox Sanguinis* 2010; 99 (supl. 1): P-1997, 453.
5. Wiersum-Osselton J.K., Middelburg R.A., van dem Bom J.G. Effect of using male-only fresh frozen plasma from TRALI prevention in the Netherlands. *Vox Sanguinis* 2010; 99 (supl. 1): P-1008, 457.
6. Fontana S., Thierbach J., Muriset M. i wsp. TRALI-safe platelets: an evaluation of preventive measures to reduce the risk of TRALI after transfusion of single donor apheresis platelets in Switzerland. *Vox Sanguinis* 2010; 99 (supl. 1): P-099, 454.
7. Silliman C., MaLaughlin N.J. Transfusion-related acute lung injury. *Blood Reviews* 2006; 20: 139–159.
8. Silliman C., Voelkel N., Allard J. i wsp. Plasma and lipids from stored red blood cells cause acute lung injury in an animal model. *Journal of Clinical Investigation* 1998; 101: 1458–1467.
9. Sachs U., Weissmann N., Wasel W. i wsp. Supernatants from stored leukodepleted packed red blood cells do not regularly exhibit changes in their (Lyso)-phosphatidylcholine composition and do not cause TRALI in an *ex vivo* rat lung model. *Vox Sanguinis* 2010; 99 (supl. 1): P-1004, 456.
10. Smoleńska-Sym G., Maślanka K., Michur H., Lachert E., Łopacz P., Brojer E. Bioactive lipids: is lysophosphatidylcholine generated during storage of blood components? *Vox Sanguinis* 2010; 99 (supl. 1): P-0995, 452.

Wyjazd na XXXI Kongres ISBT autorek sprawozdania finansowany z GRANTU MNiSW nr NN 401215734