

# ΑΝΟΣΟΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΕΤΑΙ ΜΕ ΤΗ ΜΕΤΑΓΓΙΣΗ ΑΙΜΑΤΟΣ & ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ

Αθανασία Μουζάκη,  
Καθηγήτρια Εργαστηριακής Αιματολογίας-Αιμοδοσίας

Η χορήγηση αίματος ή συστατικών αίματος μπορεί να προκαλέσει αρνητικές επιδράσεις στο ανοσοποιητικό σύστημα, μια κατάσταση που ονομάζεται

"ανοσοτροποποίηση που σχετίζεται με τη μετάγγιση" (transfusion-related immunomodulation, **TRIM**).

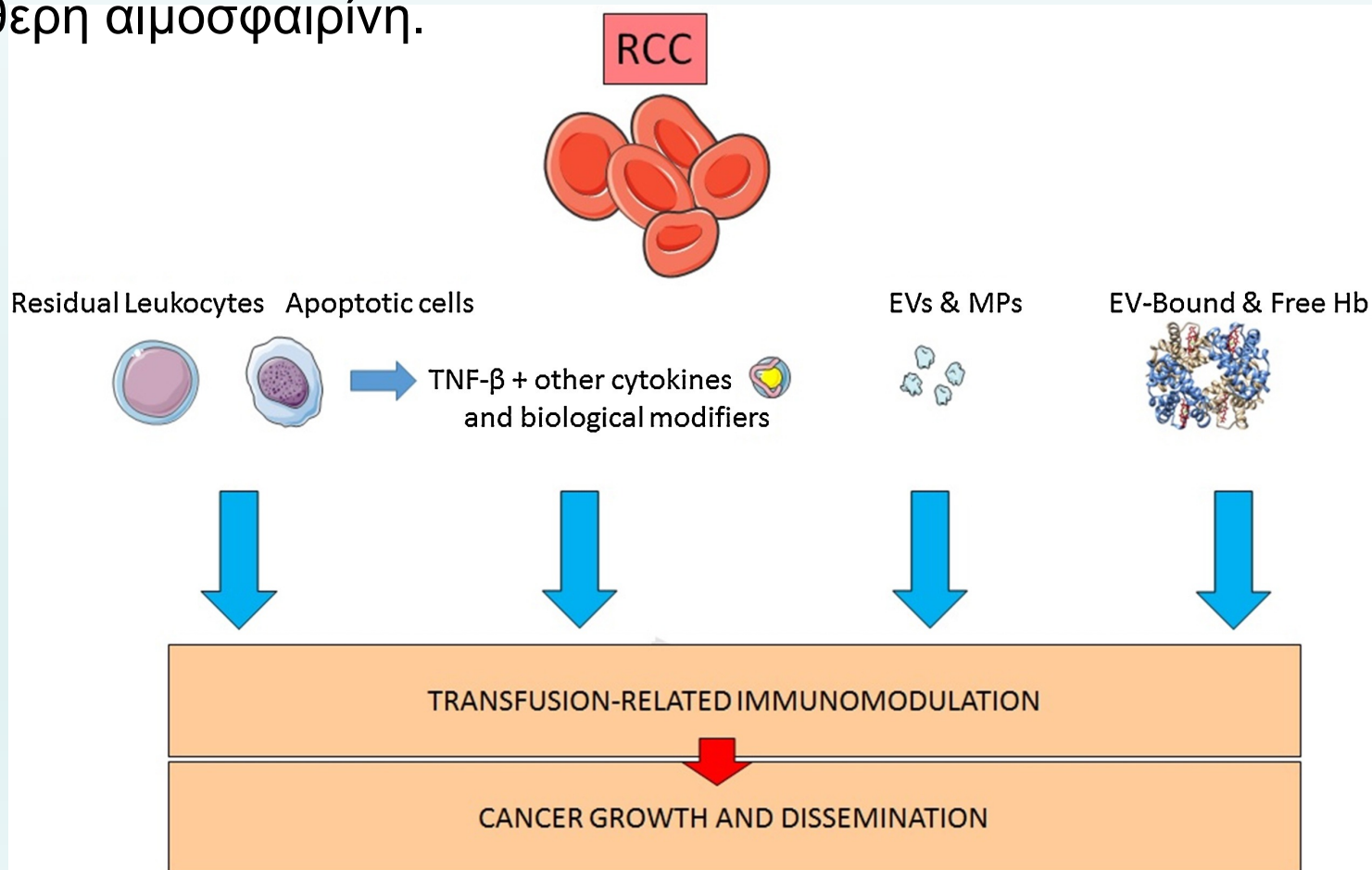
Οι πρώτες αναφορές της TRIM στη δεκαετία του 1970 προήλθαν από την παρατήρηση ότι η μετάγγιση ερυθρών αιμοσφαιρίων (RBC) σχετιζόταν με λιγότερα επεισόδια απόρριψης οργάνων σε λήπτες νεφρικών μοσχευμάτων, υποδηλώνοντας μια ανοσοκατασταλτική επίδραση των αλλογενών μεταγγίσεων.

Το φαινόμενο αυτό αξιοποιήθηκε θεραπευτικά πριν από τη διάθεση αποτελεσματικών ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων, για τη μείωση της απόρριψης του νεφρικού αλλομοσχεύματος.

Οι μηχανισμοί της TRIM περιλαμβάνουν:

- (1) καταστολή της δραστηριότητας των κυτταροτοξικών CD8+ T κυττάρων και CD4+ T κυττάρων, NK κυττάρων και μονοκυττάρων,
- (2) απελευθέρωση ανοσοκατασταλτικών προσταγλανδινών,
- (3) απελευθέρωση ανοσοκατασταλτικών κυτταροκινών,
- (4) αναστολή της παραγωγής IL-2,
- (5) αύξηση της δραστηριότητας των ρυθμιστικών T κυττάρων (Tregs) και άλλων κατασταλτικών T-κυττάρων.

Η TRIM αντιπροσωπεύει σύνολο φυσιολογικών αποκρίσεων που περιλαμβάνουν τόσο ανοσοκατασταλτικές όσο και προφλεγμονώδεις επιδράσεις που διαμεσολαβούνται από τα υπολειπόμενα λευκοκύτταρα, τα αποπτωτικά κύτταρα και τροποποιητές της βιολογικής απόκρισης, όπως κυτταροκίνες, διαλυτούς μεσολαβητές και διαλυτά HLA πεπτίδια, καθώς και μικροσωματίδια (microparticles, MPs) που προέρχονται από κύτταρα, εξωκυτταρικά μικροκυψελίδια (extracellular vesicles, EVs), EV-δεσμευμένη και ελεύθερη αιμοσφαιρίνη.



- Ακόμα και αν χρησιμοποιείται λευκαφαιρεμένο αίμα, τα λίγα βιώσιμα λευκοκύτταρα και τα EVs που παραμένουν μπορεί να διαμορφώνουν την ανοσολογική απόκριση στον λήπτη .
- Οι συγκεντρώσεις κυτταροκινών, κυρίως IL-6, IL-10 και TNF-α, καθώς και LPS, παραμένουν ιδιαίτερα ψηλές σε γερασμένες μονάδες αίματος, λευκαφαιρεμένου ή μη.
- Τα προφλεγμονώδη συστατικά που μεταφέρονται μέσω της μετάγγισης στον λήπτη, επάγουν την ενεργοποίηση των Tregs.

- Στον άνθρωπο, τα CD4+ Tregs αποτελούν ~1-2% των κυκλοφορούντων CD4+ T-βοηθητικών κυττάρων και εκφράζουν σε πολύ υψηλή πυκνότητα τον υποδοχέα IL-2-α (CD25<sup>hi</sup>).
- Αναστέλλουν την παραγωγή IL-2 ή/και την καταναλώνουν, και καταστέλλουν τις λειτουργίες των Th1 ή Th1-τύπου αποκρίσεων από τα CD4+ και CD8+ T κύτταρα.
- Η ενεργοποίηση των Tregs στη μετάγγιση είναι μη ειδική για το αντιγόνο, καθώς μπορεί να συμβεί λόγω του LPS και μέσω του μονοπατιού του TLR4 και οδηγεί σε γενική ανοσοκαταστολή.

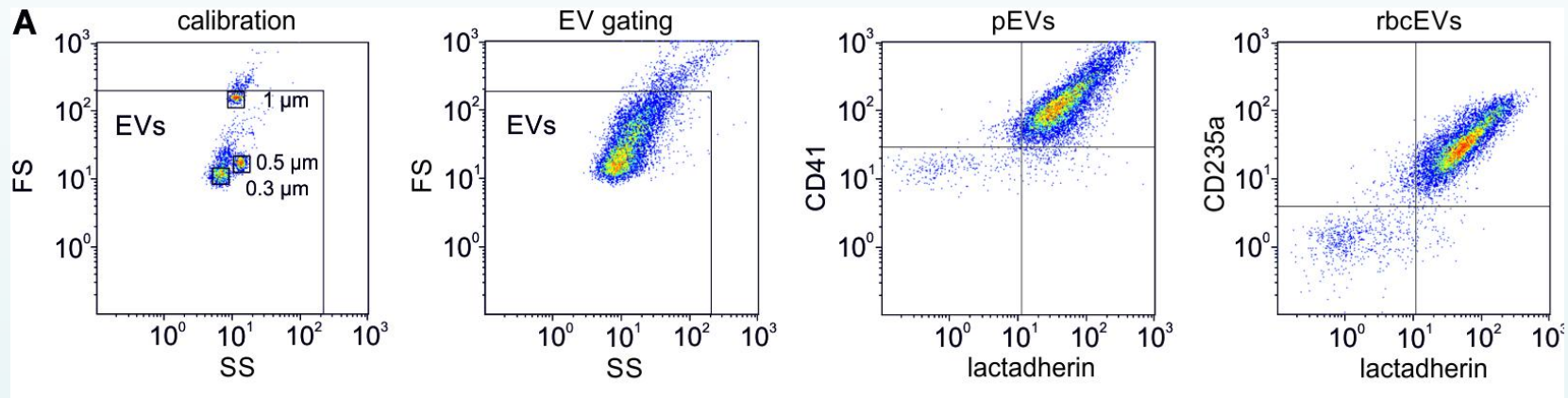
- Η αποθήκευση των RBCs συνεπάγεται υποβάθμιση της ποιότητας του αίματος γιατί συμβάλλει στην TRIM.
- Κατά την αποθήκευση, προκύπτει αύξηση των αποπτωτικών κυττάρων που οδηγεί σε ανασοκαταστολή του λήπτη και σχετίζεται άμεσα με την απελευθέρωση του TGF- $\beta$ , που βρίσκεται κανονικά στον μιτοχονδριακό χώρο των λευκών αιμοσφαιρίων και στα  $\alpha$ -κοκκία των αιμοπεταλίων και απελευθερώνεται κατά τη διάσπαση των κυτταρικών μεμβρανών.

- Ίσως πιο σημαντικό από τον εγχυόμενο TGF-β, είναι η αποδόμηση των αποπτωτικών κυττάρων.
- Τα αποπτωτικά κύτταρα εκφράζουν φωσφατιδυλοσερίνη (PS) στην επιφάνειά τους.
- Η έκφραση της PS από τα αποπτωτικά κύτταρα ευνοεί την πρόσληψή τους από φαγοκύτταρα, όπως τα μακροφάγα ή δενδριτικά κύτταρα, προκαλώντας την έκκριση αντιφλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως IL-10 ή/και TGF-β, καθώς και την αναστολή της έκκρισης φλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως IL-12, IL-1β, IL-6, TNF-α.

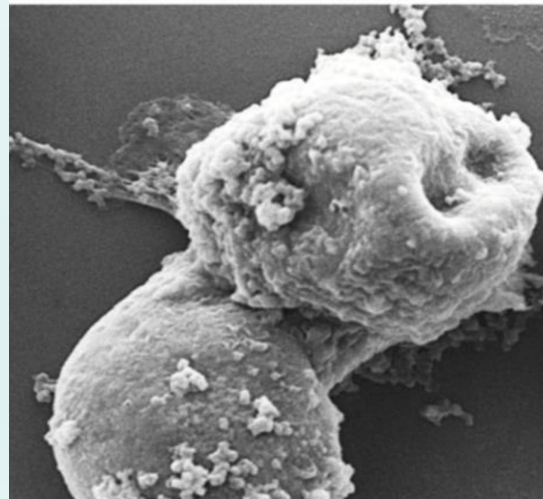


- Τα RBCs περιέχουν επίσης μη πολικά λιπίδια και ένα μείγμα προφλεγμονωδών λυσο-φωσφατιδυλοχολινών (λυσο-PCs).
- Οι λυσο-PCs ρυθμίζουν τη δραστηριότητα των T και NK1 κυττάρων, δρουν ως χημειοελκυστικό των NK κυττάρων, επάγουν την ωρίμανση των δενδριτικών κυττάρων, και διεγείρουν την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών.
- Τα οικοσανοειδή (προσταγλανδίνες, θρομβοξάνες και λευκοτριένια) μπορούν επίσης να συσσωρεύονται στα RBC, και να προκαλέσουν αλλεργικού τύπου αντιδράσεις στον λήπτη.
- Το συνολικό αποτέλεσμα της νέας ισορροπίας κυττάρων και βιολογικών ουσιών που δημιουργείται είναι η ανοσοκαταστολή.

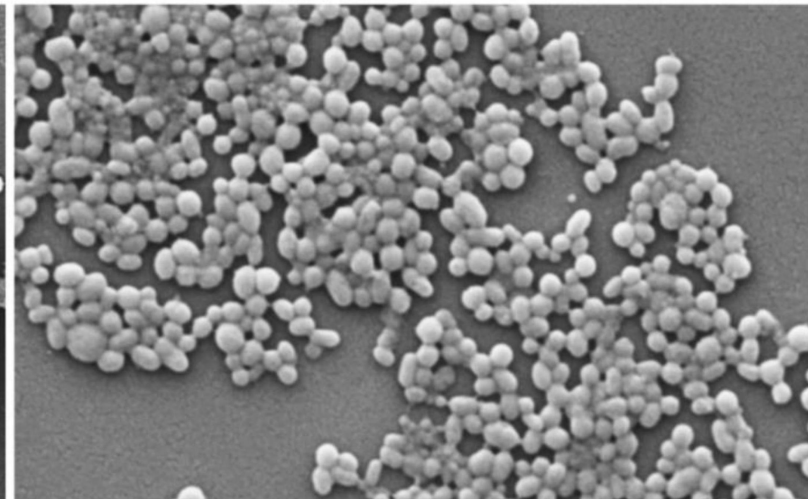
- Τα EVs είναι κυστίδια καλυμμένα από λιπίδια που εκκρίνονται από τα κύτταρα στον εξωκυτταρικό χώρο.
- Το περιεχόμενο ή φορτίο των EVs αποτελείται από λιπίδια, νουκλεϊκά οξέα και πρωτεΐνες - ειδικά πρωτεΐνες που σχετίζονται με τη πλασματική μεμβράνη, το κυτταρόπλασμα και εκείνες που εμπλέκονται στο μεταβολισμό των λιπιδίων.
- Τα EVs φέρουν markers των κυττάρων προελεύσεώς τους και παίζουν σημαντικό ρόλο στην κυτταρική επικοινωνία.
- Τα EVs μπορεί να συμβάλλουν στην ενεργοποίηση των ουδετερόφιλων και στην πρόκληση φλεγμονής σε ασθενείς που μεταγγίζονται με παλαιότερο αίμα.



pEVs: EVs από αιμοπετάλια (CD41+)  
 rbcEVs: EVs από ερυθρά (CD235α+)



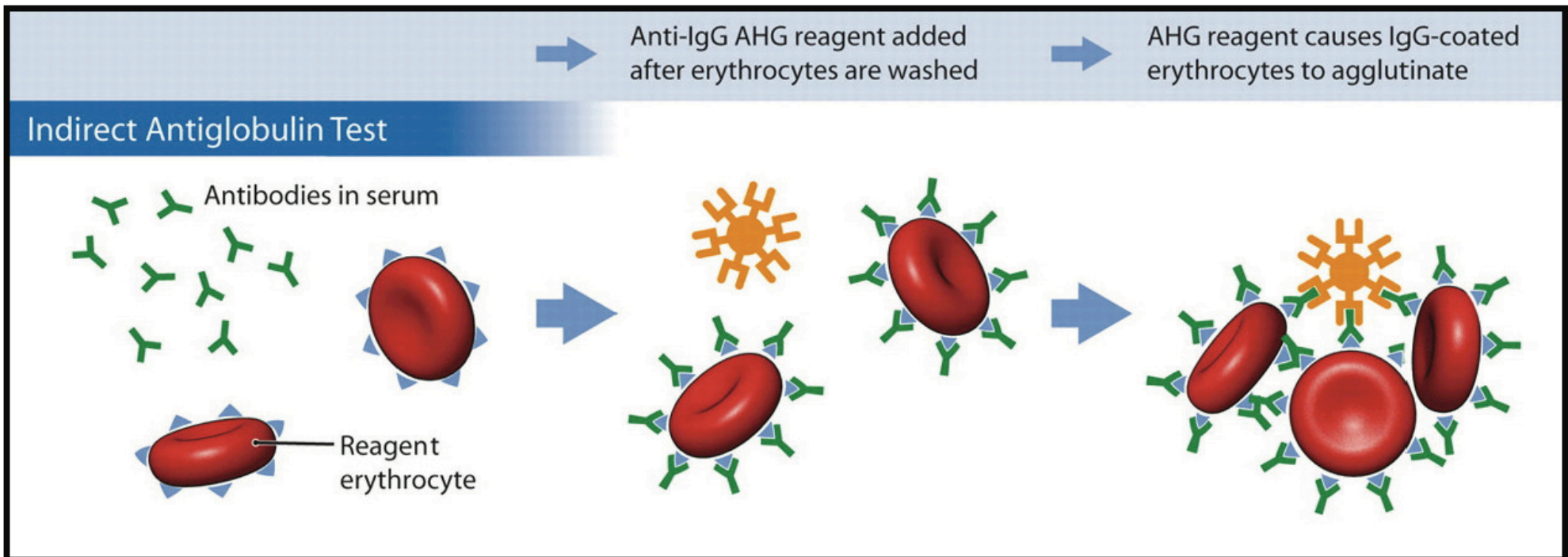
RBCs



EVs from RBCs

- Έχει επίσης δειχθεί ότι τα MPs που προέρχονται από αιμοπετάλια εκφράζουν CD40L και μπορούν να μεταφέρουν σήματα στα B κύτταρα προσομοιάζοντας έτσι την δημιουργία ανοσολογικής σύναψης με CD4+ T βοηθητικά κύτταρα και οδηγώντας στην παραγωγή IgG αντισωμάτων έναντι οποιουδήποτε αντιγόνου που υπάρχει στο αίμα.

# Ταυτοποίηση IgG αντισωμάτων γίνεται στην αιμοδοσία μόνο έναντι αντιγόνων των ερυθρών με τη μέθοδο Coombs



- IgG αντισώματα έναντι αντιγόνων των ερυθρών δημιουργούνται σε άτομα που έχουν ανοσοποιηθεί από έκθεση σε ερυθροκυτταρικό αντιγόνο από μία ή περισσότερες μεταγγίσεις ή κυήσεις, η ποσότητα όμως του αντισώματος στον ορό, είναι πολύ μικρή για να προκαλέσει άμεση καταστροφή των ερυθρών.
- Όταν ξαναγίνει μετάγγιση ερυθρών που φέρουν το ερυθροκυτταρικό αντιγόνο, προκαλείται αναμνηστική ανοσιακή απάντηση, ώστε μερικές μέρες μετά τη μετάγγιση, αυξάνεται γρήγορα ο τίτλος του αντισώματος στον ορό.
- Τα αντισώματα προσδένονται στην επιφάνεια των ερυθροκυττάρων και ενεργοποιούν το συμπλήρωμα C3b.

- Ερυθρά επικακαλυμένα με IgG αντισώματα προσδένονται στους Fc υποδοχείς των μακροφάγων και καταστρέφονται με φαγοκυττάρωση (εξωκυττάρια αιμόλυση).
- Περίπου το 0.1-2% των ασθενών που μεταγγίζονται, θα αναπτύξουν αντισώματα έναντι των ερυθρών.
- Σε πολυμεταγγιζόμενους ασθενείς το ποσοστό μπορεί να φτάσει το 10-38%.
- Τα πιο συχνά κλινικά σημαντικά αντιγόνα των ερυθρών καθώς και η ισχύς τους παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα.

Αντιγόνο	Σύστημα	Συχνότητα ανεύρεσης ανάμεσα στα διάφορα αλλοαντιγόνα	Συχνότητα του αντιγόνου (σε λευκούς)	Ισχύς (ανάπτυξη IgG αντισωμάτων)
E	Rh	16-40%	30%	4%
Kell (KI)	Kell	5-40%	9%	9%
<b>D</b>	<b>Rh</b>	<b>8-33%</b>	<b>85%</b>	<b>70%</b>
C	Rh	4-15%	80%	4%
Jk(a)	Kidd	2-13%	77%	0.14%
Fy(a)	Duffy	4-12%	63%	0.46%
C	Rh	2-10%	70%	0.22%
e	Rh	2-3%	98%	1%
Jk(b)	Kidd	2%	72%	0.06%
S	MNSs	1-2%	55%	0.08%
s	MNSs	<1%	89%	0.06

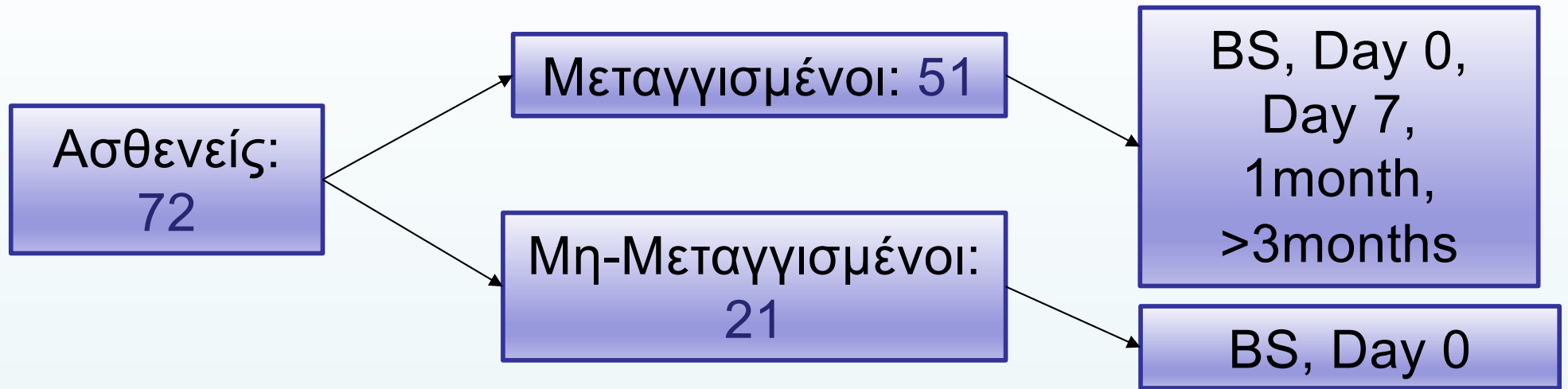


- **Αντίδραση μοσχεύματος κατά ξενιστού μετά από μετάγγιση (TA-GVHD, Transfusion associated graft versus host disease).**
- Είναι μια σπάνια αλλά σοβαρή επιπλοκή της μετάγγισης.
- Προκαλείται από τα λεμφοκύτταρα που περιέχονται στα παράγωγα.
- Εμφανίζεται συνήθως σε ανοσοκατασταλμένους ασθενείς (λόγω χημειοθεραπείας ή μεταμόσχευσης).
- Απαραίτητη προϋπόθεση είναι να υπάρχει κάποια ομοιότητα HLA μεταξύ δέκτη και δότη.
- Τα λεμφοκύτταρα του δότη, τα οποία λόγω ανοσοανεπάρκειας δεν απορρίπτει ο δέκτης, αντιδρούν και στρέφονται εναντίον ιστών του δέκτη (δέρμα, ήπαρ, έντερο, μυελό των οστών).

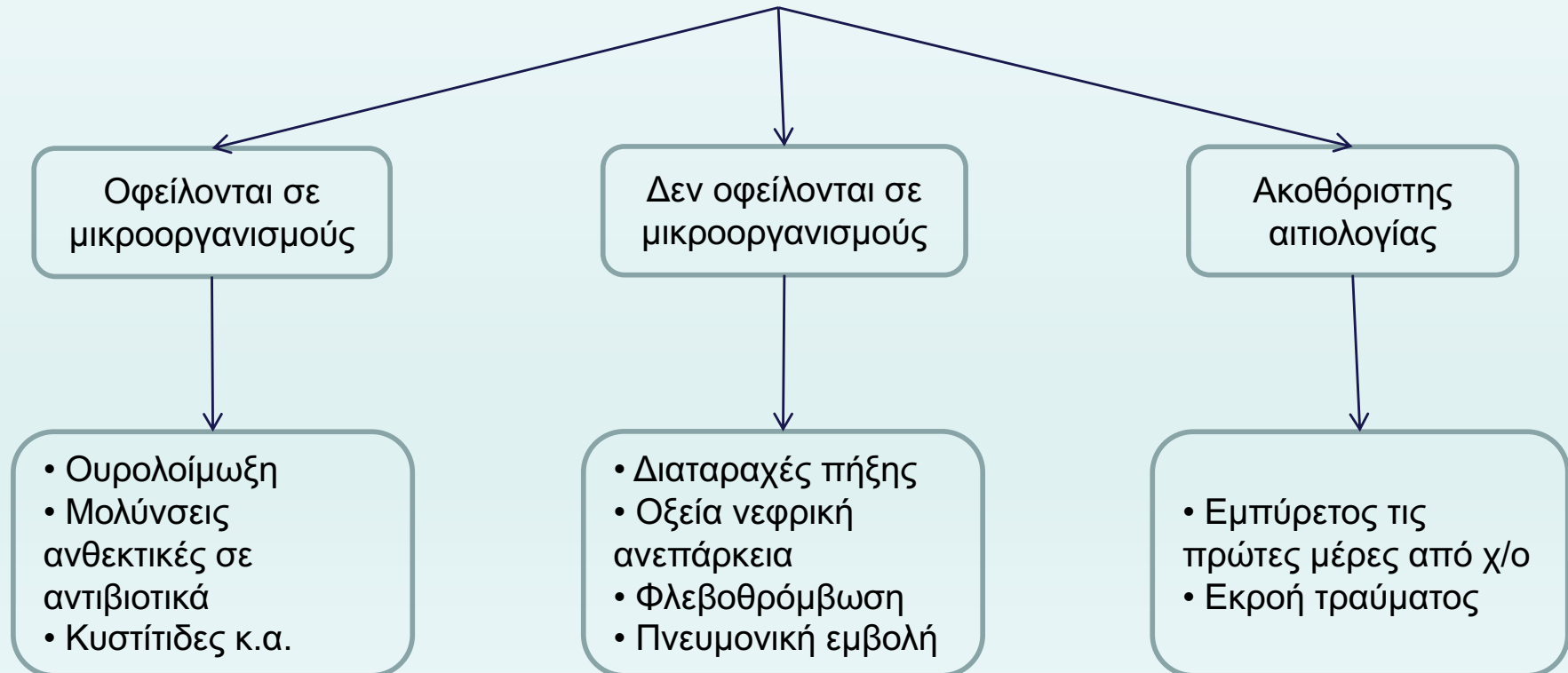
- Τα συμπτώματα (δερματική προσβολή, διάρροια, ίκτερος, πανκυτταροπενία) εμφανίζονται συνήθως 3-30 μέρες μετά τη μετάγγιση.
- Για την πρόληψη του TA-GVHD συνιστάται η προφυλακτική ακτινοβολή των παραγώγων που περιέχουν λευκοκύτταρα στα 25 Gy (προκαλεί βλάβη στο DNA των λεμφοκυττάρων χωρίς να επηρεάζει τα άλλα συστατικά).

## Δική μας μελέτη:

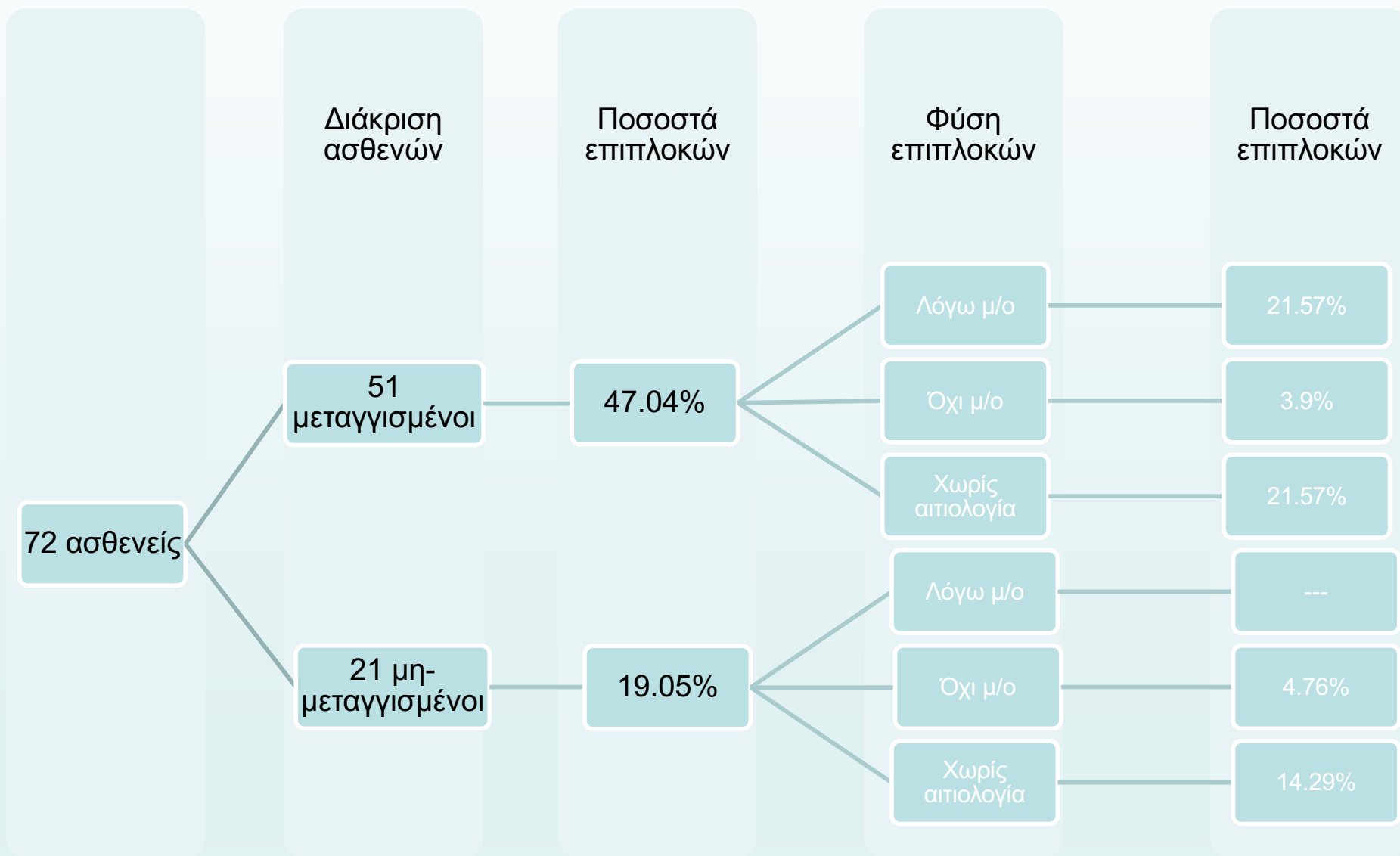
- Μελέτη της επίδρασης της αλλογενούς μετάγγισης σε ανοσολογικές παραμέτρους.
- Κριτήρια εισαγωγής ασθενών στην μελέτη:
  - ❖ Υποβάλλονται σε ολική ή μερική αρθροπλαστική γόνατος ή ισχίου
  - ❖ Προγραμματισμένο χειρουργείο
  - ❖ Χωρίς άλλες ανοσοτροποποιητικές παθήσεις
- Συλλογή υλικού: Δείγμα Περιφερικού αίματος



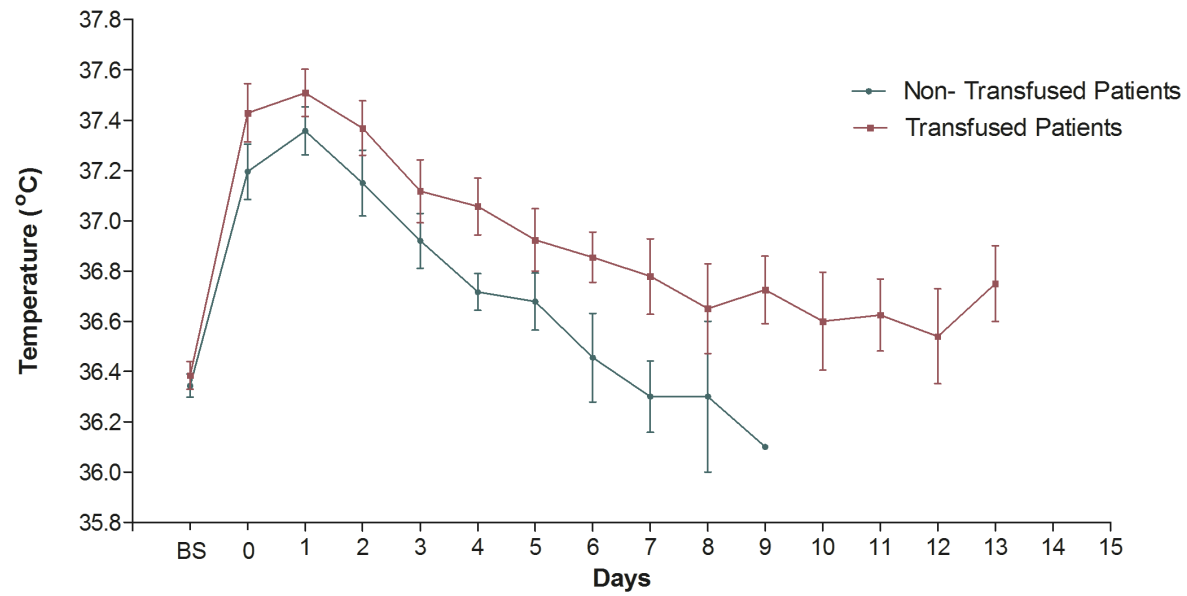
### Διάκριση μετεγχειρητικών επιπλοκών



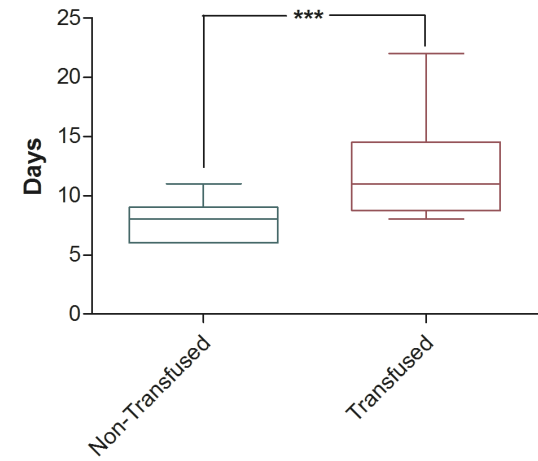
# Μετεγχειρητικές επιπλοκές



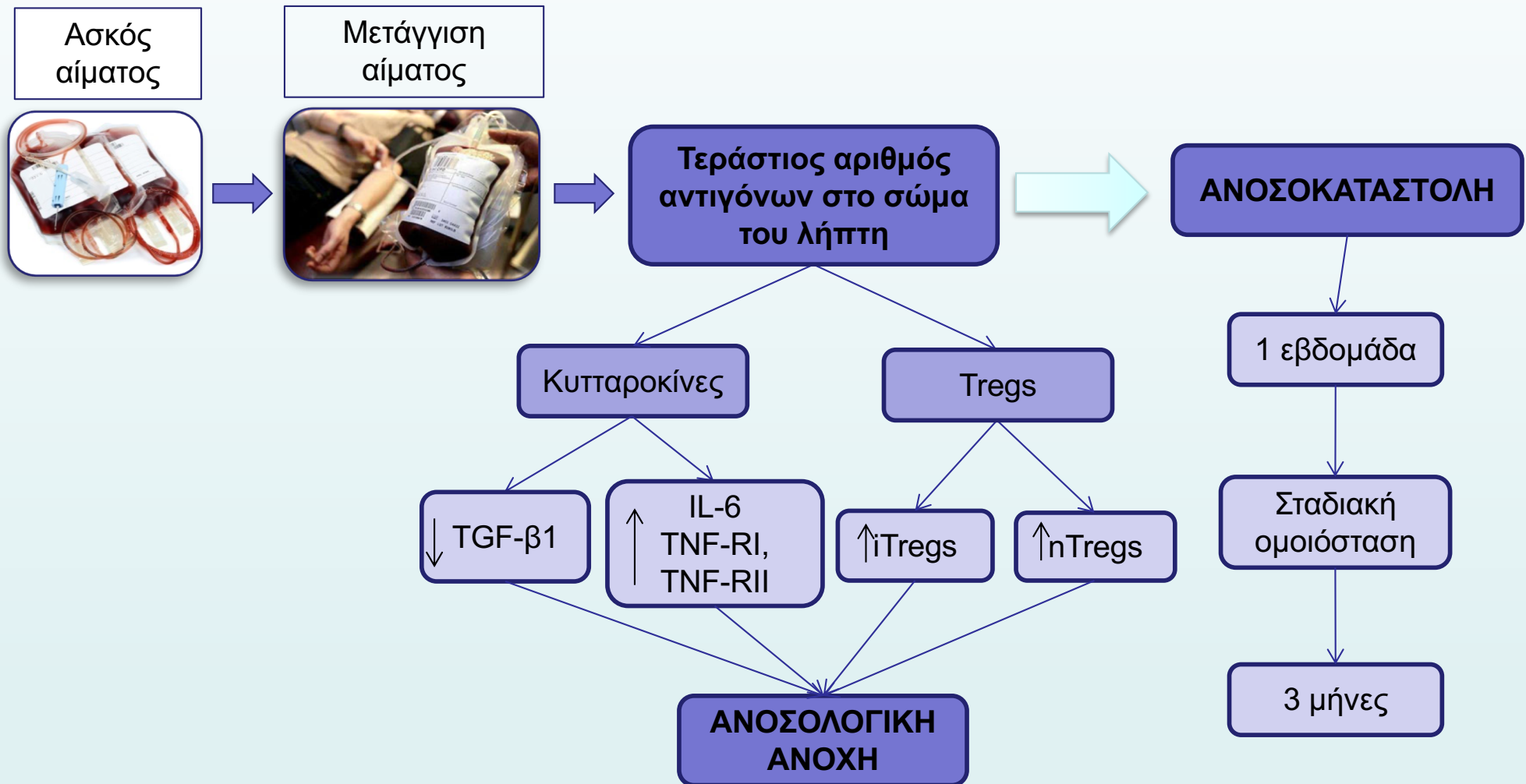
**Temperature Chart**



**Hospitalization**



# Συμπεράσματα



# Αποτελέσματα – Μεταγγισμένοι ασθενείς

- ❖ Η μετάγγιση και όχι το χειρουργείο είναι υπεύθυνη για ανάπτυξη ανοσοκαταστολής.
- ❖ Αύξηση των nTregs και των iTregs, τα οποία καταστέλλουν την Th1 απόκριση μετά το χειρουργείο μέχρι την ισορροπία.
- ❖ Η αύξηση των IL-6, TNF-RI(p55/p60) και TNF-RII(p75/p80) αποτελεί απόκριση του οργανισμού στην αντίδραση graft against host's antigen λόγω της ABT .
- ❖ Τα Tregs είναι λειτουργικά και ικανά να ασκούν κατασταλτική δράση ανάλογη με τον λόγο των Tregs:Teff.
- ❖ Τα Tregs των μεταγγισμένων ασθενών καταστέλλουν τον πολλαπλασιασμό των Teff ισχυρότερα και σε μικρότερες συγκεντρώσεις



## Αποτελέσματα – Μη Μεταγγισμένοι ασθενείς

- ❖ Δεν παρατηρείται μεταβολή στους Treg πληθυσμούς, ούτε στις κυτταροκίνες.
- ❖ Τα  $CD4^+CD25^+FoxP3^+$  και  $CD4^+CD25^+CD127^-$  έμειναν στα BS επίπεδα μετά το χειρουργείο.
- ❖ Καμία στατιστικώς σημαντική διαφορά δεν παρατηρήθηκε στην συγκέντρωση των κυτταροκινών πριν και μετά το χειρουργείο.

# Συμπεράσματα – take home message

## Ασθενείς που υπόκεινται σε μετάγγιση:

- ❖ Είναι πιο επιρρεπείς σε μετεγχειρητικές επιπλοκές.
- ❖ Χρηζουν παρατεταμένης νοσηλείας
- ❖ Εμφανίζουν υψηλότερα ποσοστά επιπλοκών
- ❖ Εμφανίζουν σοβαρότερες επιπλοκές συγκριτικά με τους μη-μεταγγισμένους.