

# Obravnava primerov suma na TRALI v letih 2006–2011

Investigation of suspected TRALI cases in 2006–2011

Marjeta Maček Kvanka, Marjeta Potočnik

Zavod RS za transfuzijsko medicino, Štajmerjeva 6, 1000 Ljubljana

## Korespondenca/ Correspondence:

mag. Marjeta Maček Kvanka, dr. med., specialist transfuzijske medicine  
Zavod RS za transfuzijsko medicino, Štajmerjeva 6, 1000 Ljubljana  
e-mail: marjeta.macek@ztrm.si

## Ključne besede:

TRALI, nekardiogeni pljučni edem, akutna poškodba pljuč, levkocitna protitelesa, aktivacija nevtrofilcev

## Key words:

TRALI, non-cardiogenic pulmonary oedema, acute lung injury, leucocyte antibodies, neutrophil activation

## Citirajte kot/Cite as:

Zdrav Vestn 2012; 81 supl 2: II-343–52

Prispelo: 10. mar. 2012,  
Sprejeto: 17. okt. 2012

## Izvelek

**Uvod:** Sindrom s transfuzijo povezane akutne poškodbe pljuč (*Transfusion-related acute lung injury*-TRALI) je postal samostojna klinična entiteta pred skoraj tremi desetletji. Sledilo je prepoznavanje sindroma med najpogostejšimi vzroki hude obolevnosti in smrtnosti zaradi transfuzije. Preventivni ukrepi iz zadnjih let so prispevali k preprečevanju najhujših oblik imunskega, tj. s protitelesi posredovanega TRALI. Od prvih raziskav ga povezujejo s prisotnostjo levkocitnih protiteles v plazemskih komponentah, ki povzročijo aktivacijo nevtrofilcev prejemnika in zato akutno poškodbo pljuč. Pri že prizadetih bolnikih lahko aktivacijo nevtrofilcev povzročijo topne substance, sproščene med hranjenjem celičnih komponent.

**Metode:** V letih 2006–2011 smo na Zavodu RS za transfuzijsko medicino obravnavali osem prijav suma na TRALI, pri katerih je klinični potek ustrezal konsenzualnim merilom in so imeli opravljen rentgenogram prsnih organov. Pri prejemnikih in darovalcih krvnih komponent, transfundiranih v 6 urah pred pojavom akutne dihalne stiske, smo ugotavljali prisotnost levkocitnih protiteles, usmerjenih proti antigenom HLA I. in II. razreda ter nevtrofilnim antigenom HNA. Preverili smo značilnosti bolnikov, darovalcev in transfundiranih krvnih komponent.

**Rezultati:** Pretestirali smo 8 prejemnikov in 73 darovalcev. Levkocitna protitelesa smo ugotovili pri dveh prejemnicah ter pri dveh darovalkah koncentriranih eritrocitov. Pri petih bolnikih so sočasno obstajali drugi možni vzroki akutne dihalne stiske, pet bolnikov je umrlo. Dva primera smo zaključili z diagnozo TRALI, tri kot možen TRALI, pri ostalih treh TRALI ni bil verjeten.

**Zaključki:** Med osmimi primeri ni bilo značilne oblike imunskega TRALI, ki je posledica transfundiranja levkocitnih protiteles darovalca

s plazemskimi komponentami. Ugotovitev potrjuje uspešnost leta 2006 sprejetega ukrepa, da se za klinično uporabo nameni le sveža zmrznjena plazma moških darovalcev. Ker so vsi obravnavani bolniki potrebovali mehansko predihavanje, ocenjujemo, da primeri TRALI z lažjim potekom ostajajo neprepoznani.

## Abstract

**Introduction:** Three decades ago, transfusion-related acute lung injury (TRALI) became an independent clinical entity. In the following years it was recognized among the most common transfusion-related major morbidity and mortality causes. Consequently, preventive measures were introduced that reduced severe immune (antibody-mediated) TRALI cases. Since the first publications, immune (antibody-mediated) TRALI was associated with leukocyte antibodies of predominantly donor origin, which cause activation of recipient neutrophils in the lung and consequently an acute lung injury. In predisposed, severely ill patients soluble neutrophil-priming substances that accumulate in stored cellular blood components can trigger non-immune (antibody-independent) TRALI.

**Methods:** In 2006–2011, eight suspected TRALI cases that met consensus clinical criteria and had chest radiograph were investigated in the Blood Transfusion Center of Slovenia. Patients and all donors of blood components transfused within 6 hours before the onset of acute respiratory distress were investigated for leukocyte antibodies against HLA class I and II antigens, and antibodies against neutrophil antigens HNA. All cases were investigated for patient, donor and blood component characteristics. In cooperation with clinicians, chest radiographs and alternative risk factors for acute lung injury (ALI) were evaluated.

**Results:** In total, 8 patients and 73 donors were tested. Leukocyte antibodies were detected in two female patients and in two female donors of RBC. In 5 of 8 patients, alternative risk factors for acute respiratory distress were present; five of these patients died. Two cases were diagnosed TRALI, three possible TRALI and three TRALI unlikely.

**Conclusions:** None among eight cases was a typical immune TRALI, which develops after the transfusion of leukocyte antibodies in plasma blood components. This proves the success of the preventive measure introduced in 2006, when the decision for the use of male only fresh frozen plasma for patients was made. Since all the investigated patients required mechanical ventilation,

milder forms of TRALI remain unrecognized and underreported.

## Izhodišča

S transfuzijo povezana akutna poškodba pljuč (*Transfusion-related acute lung injury*-TRALI) je hud zaplet transfuzijskega zdravljenja in spada med najpogostejše vzroke hude obolevnosti in smrtnosti zaradi transfuzije.<sup>1,2</sup> TRALI je klinični sindrom, za katerega je značilen nov začetek akutne dihalne stiske znotraj šestih ur po začetku transfuzije, nekardiogeni pljučni edem ob izključitvi volumske preobremenitve in hipoksemija. Diagnoza temelji na značilnem kliničnem poteku in rentgenogramu prsnih organov (rtg pc). Enotna klinična merila za opredelitev diagnoze TRALI kot tudi možen TRALI so bila sprejeta leta 2004 na Kanadski konsenzualni konferenci.<sup>3</sup> Natančna etiopatogeneza TRALI še vedno ni popolnoma razjasnjena. Za nastanek TRALI obstajata dve hipotezi. Prva pojasnjuje imunski (s protitelesi posredovan) TRALI, ki ima prevladujoče hud potek in pri katerem igrajo odločilno vlogo levkocitna protitelesa darovalcev, pasivno prenešana s transfuzijo predvsem plazemskih krvnih komponent.<sup>4</sup> Druga je hipoteza o dveh dogodkih in razlaga neimunski (protitelesa odsotna) TRALI, ki ima običajno blažji potek. Prvi dogodek je bolnikovo že pred transfuzijo resno klinično stanje, drugi pa transfundiranje biološko aktivnih lipidov in topnega vezalca CD 40, ki se sproščajo med hranjenjem celičnih komponent in povzročijo aktiviranje bolnikovih nevtrofilcev.<sup>5</sup> Kljub opaznemu napredku pri odkrivanju primerov TRALI v zadnjih letih ta še vedno pogosto ni prepoznana in se na-

pačno diagnosticira. V okviru ukrepov za preprečevanje pojava TRALI se v Sloveniji že od leta 2006 za klinično uporabo nameni le plazma moških darovalcev, ki v primerjavi s plazmo žensk mnogorodk znatno redkeje vsebuje levkocitna protitelesa.

Namen prispevka je prikazati analizo 8 primerov, ki so bili v letih 2006–2011 prijavljeni kot sum na TRALI. Predstavljamo njihovo transfuzijsko obravnavo, rezultate preiskovanja in zaključna mnenja, ki smo jih posredovali klinikom.

## Klinične značilnosti in patogeneza sindroma TRALI

Ime TRALI je skoval Popovsky leta 1983 iz TR (*transfusion-related* – v povezavi s transfuzijo) in ALI (*acute lung injury* – akutna poškodba pljuč), kar naj bi poudarjalo podobnost v patofiziologiji s sindromom akutne poškodbe pljuč pri kritično bolnih.<sup>4</sup> Kljub zgodnejšim opisom nekardiogenega pljučnega edema po transfuziji je sindrom TRALI postal samostojna klinična entiteta v letu 1985 po objavi izsledkov obširne študije 36 primerov, ki so aktualni še danes.<sup>6</sup> Pri bolnikih so značilno ugotovili pojav generaliziranega pljučnega edema (bela pljuča) brez znakov levostranskega srčnega popuščanja. Potek transfuzijske reakcije je bil običajno dramatičen, dihalna stiska s hipoksemijo, vročino in hipotenzijo se je pojavila v nekaj minutah do urah (večinoma 2 do 4) po transfuziji predvsem plazemskih komponent (polna kri, sveža zmrznjena plazma in koncentrat trombocitov). Pri bolnikih so na rtg pc ugotavljali obojestranske intersticijske in alveolne zgostitve. Vsi bolniki so potrebovali eno od oblik dihalne podpore, 72 % pa

mehansko predihavanje. Stanje se je večini klinično in radiološko izboljšalo v 4 dneh, pri 17 % v enem tednu. Smrtnost bolnikov je bila 6 %. V 89 % primerov so ugotovili levkocitna protitelesa v serumu vsaj enega darovalca transfundiranih komponent, pri 6 % so bila levkocitna protitelesa prisotna v serumu prejemnikov pred transfuzijo. V 56 % so bila protitelesa neskladna. Številne kasnejše študije kot tudi poročila nacionalnih shem hemovigilance so potrdila prisotnost levkocitnih protiteles v serumih v primeru TRALI vpletenih darovalcev plazemskih komponent, ki vsebujejo več kot 60 ml plazme. Večinoma so bile darovalke ženske, ki so večkrat rodile.<sup>1,7-9</sup> Najpogosteje so ugotovili protitelesa, usmerjena proti antigenom HLA I, HLA II ali kombinaciji obojih, pa tudi nevtrofilna protitelesa, usmerjena proti antigenom HNA, samostojna ali skupaj s protitelesi anti-HLA. Najhujše oblike, z možnim smrtnim izidom, tudi že po transfuziji koncentriranih eritrocitov, so povzročili predvsem levkoaglutinini specifičnosti anti-HNA-3a pa tudi protitelesa anti-HLA A2 in anti-HLA II.<sup>9</sup> Slednja lahko povzročijo aktiviranje nevtrofilcev posredno preko aktiviranja monocitov, ki zato sprostitjo citokine.

Dodatna patofiziološka hipoteza za TRALI je model dveh dogodkov, ki ga je predstavil Silliman s sodelavci.<sup>5</sup> Ugotovili so, da lahko pri določenih predisponiranih bolnikih TRALI povzročijo tudi druge substance, ne le levkocitna protitelesa, ki vzbudijo nevtrofilce (neutrophil-priming agents). Te se lahko pojavijo med hranjenem v celičnih komponentah, kot so trombocitni in eritrocitni koncentracije, hranjeni več kot 14 dni; ni pa jih v svežih celičnih komponentah ali plazmi. Sposobnost vzbujanja nevtrofilcev so pripisali biološko aktivnim lipidom, predvsem lizofosfatidilholinom, interlevkinu-8 in sproščenim proteinom, kot je vezalec CD 40. V nasprotju z levkocitnimi protitelesi, ki lahko povzročijo imunski TRALI tudi pri zdravih prejemnikih transfuzije z neposredno aktivacijo nevtrofilcev, pa je za razvoj neimunskega TRALI potrebna nagnjenost bolnika že pred transfuzijo, ki je posledica bolnikovega osnovnega kliničnega stanja. Med dejavniki tveganja so opisani hematološki malignomi, srčne bolezni,

kirurški posegi, poškodbe, okužbe, sepsa in končna jetrna odpoved. V študiji 90 primerov neimunskega TRALI so ugotovili hematološke malignome in srčne bolezni kot najpogostejši dejavnik tveganja. Razen enega primera so bili vsi posledica transfuzije koncentratov trombocitov ali eritrocitov. Nekardiogeni pljučni edem ni bil dokumentiran na rtg pc vseh bolnikov. Zaradi blažjega poteka neimunskega TRALI so bolniki le v 3 % potrebovali mehansko predihavanje. Umrl je en bolnik.<sup>5</sup> V že omenjeni hipotezi dveh dogodkov je prvi dogodek povezan z bolnikovim dosedanjim kliničnim stanjem (npr. okužbe, operacija, malignom), ki povzroči aktivacijo pljučnega endotela, kar vodi do predaktivacije nevtrofilcev, ki postanejo togi, nesposobni spreminjati obliko in se pospešeno zadržujejo v mikrožilju pljuč. Drugi dogodek pa je transfuzija. Pri tem gre lahko za prenos ali levkocitnih protiteles ali biološko aktivnih lipidov in/ali drugih substanc, npr. topnega vezalca CD 40, ki aktivirajo bolnikove vzbujene nevtrofilce. Oboji lahko aktivirajo nevtrofilce, nekatera protitelesa, tudi če nevtrofilci niso že prej predaktivirani, kar vodi v aktivacijo mikrocidnega arzenala in degranulacijo nevtrofilcev. Sproščeni toksični encimi in superoksidni radikali poškodujejo endotel in povzročijo prepuščanje kapilar, kar privede do vdora beljakovinsko bogate tekočine in nevtrofilcev v intersticij in alveole. Zato se razvije nekardiogeni pljučni edem in akutna dihalna stiska.

Nvtrofilci in endotelne celice pljučnih kapilar so središče patogeneze TRALI. Le-ta se razvije, kadar je presežen določen prag vzbujanja in aktivacije obojnih celic. Uveljavil se je model praga za razvoj TRALI.<sup>10</sup> V odvisnosti od bolnikove dovzetnosti za TRALI zaradi osnovnih bolezni in kliničnega stanja (poškodbe, sepsa), ki privedejo do predaktivacije in hipereaktivnosti nevtrofilcev in endotelnih celic, lahko transfundiranje levkocitnih protiteles ali biološko aktivnih lipidov povzroči blage do resne oblike sindroma TRALI. Pri blažjih je potrebno le zdravljenje s kisikom, hude oblike pa zahtevajo mehansko predihavanje. Čimbolj je bolnik že prej prizadet, tem hitreje lahko že šibka protitelesa ali biološko aktivni lipidi povzročijo TRALI. Na drugi strani spektra

pa so določena levkocitna protitelesa, ki tako učinkovito aktivirajo nevtrofilce, da se lahko razvije pljučni edem tudi pri prej zdravem bolniku.

Diagnoza TRALI temelji na značilnem kliničnem poteku in rentgenogramu prsnih organov. Patognomoničnega testa za TRALI ni. Ugotovitev levkocitnih protiteles v serumu darovalcev oz. redkeje prejemnikov in morebitna potrditev njihove neskladnosti pomenita potrditev diagnoze imunskega (od protiteles odvisnega) TRALI in omogočata izključitev senzibiliziranih darovalcev z nevarnimi levkocitnimi protitelesi.

Razlike pri obravnavanju primerov TRALI v različnih nacionalnih shemah hemovigilance so pripeljale do sprejetja konsenzualnih meril, kateri so simptomi *sine qua non* za diagnozo TRALI. Evropska mreža za hemovigilanco je predlagala: a) pojav dihalne stiske v 6 urah po začetku transfuzije, b) odsotnost znakov obtočilne preobremenitve in c) rtg dokazi novih obojestranskih pljučnih infiltratov. Na Kanadski konsenzualni konferenci so tem merilom dodali še č) hipoksemijo ( $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 300$  mm Hg ali zasičenost  $< 90\%$  na sobnem zraku) in d) odsotnost drugih dejavnikov tveganja za nastanek ALI. Kadar obstaja drugi dejavnik tveganja za ALI, se priporoča diagnoza možni TRALI. Med druge dejavnike tveganja za ALI uvrščajo: sepsa, aspiriranje, pljučnico, toksično inhaliranje, obtolčenino pljuč, utopitev, politravmo, kritično opekline, akutni pankreatitis, srčnopljučni obvod in predoziranje zdravil.<sup>3</sup>

## Metode

### Obravnava prijav suma na TRALI

Na Zavodu RS za transfuzijsko medicino (ZTM) centralizirano za vso Slovenijo izvajamo laboratorijske teste za ugotavljanje levkocitnih protiteles. Zato se vsi prijavljeni primeri suma na TRALI iz centrov za transfuzijsko medicino oz. dejavnost pri bolnišnicah usmerijo na ZTM. Po prijavi suma na TRALI specialist transfuziolog na ZTM kontaktira napotnega zdravnika, da se pogovori o bolnikovem kliničnem stanju in ostalih diagnozah, da se klinik dodatno

opredeli oziroma izključi možnost volumske preobremenitve ali srčnega popuščanja in da podrobneje opiše čas začetka in potek reakcije s simptomi in znaki, opiše način zdravljenja dihalne stiske (podporno s kisikom oz. mehansko predihavanje), uporabljena zdravila ter številke transfundiranih komponent, ki jih je bolnik prejel v 6 urah pred pojavom dihalne stiske. Transfuziolog po možnosti skupaj s klinikom pregleda razpoložljive rentgenogramе prsnih organov in preveri druge možne dejavnike tveganja za ALI. Pregleda bolnikov transfuzijski list in si zabeleži številke, vrstni red ter čas transfundiranja krvnih komponent.

### Testirani bolniki in krvodajalci

V letih 2006–2011 smo prejeli 11 prijav suma na TRALI, 9 iz ljubljanskih bolnišnic in po eno iz Ortopedske bolnišnice Valdoltra ter iz Splošne bolnišnice Slovenj Gradec. Med njimi smo nadalje obravnavali 8 primerov, ki so ustrezali kliničnim merilom Kanadske konsenzualne konference<sup>3</sup> in so imeli rtg pc posnet v času pojava oz. trajanja novonastale akutne dihalne stiske. Dveh prijavljenih primerov nismo mogli obravnavati zaradi odsotnosti rtg pc, v enem primeru pa je napotni zdravnik preklical prijavo. Pri vsaki prijavi smo obravnavali in testirali bolnike prejemnike transfuzij in vse krvodajalce, ki so darovali krvne komponente, ki so jih bolniki prejeli v 6 urah pred pojavom dihalne stiske. Značilnosti obravnavanih bolnikov so prikazane v Tabeli 1, značilnosti obravnavanih darovalcev in njihovih komponent pa v Tabeli 2.

Darovalce krvnih komponent, transfundiranih bolniku s TRALI, pri katerih ugotovimo levkocitna protitelesa, ki so neskladna z levkociti bolnika ali so usmerjena proti levkocitnim antigenom bolnika (določenim z genotipizacijo), označimo kot »darovalec nedvomno povezan s TRALI«. Kadar so levkocitna protitelesa darovalcev skladna z levkociti bolnika s TRALI, jih označimo kot »darovalec povezan s TRALI«. Vsakič, ko se pri darovalcu ugotovi levkocitna protitelesa, se presodi o varnosti nadaljnjega darovanja krvi. Po odkritju specifičnosti protiteles, ki povzročajo težak potek z možnim smrtnim



izidom, se darovalcem odsvetuje nadaljnje darovanje plazemskih oz. vseh krvnih komponent.

### Transfundirane krvne komponente

V obdobju 2006–2011 se je kakovost krvnih komponent, izdanih na ZTM, izboljševala, saj so vsi obravnavani bolniki od leta 2010 dalje prejeli le celične komponente z odstranjenimi levkociti (filtrirane). V nadaljevanju so našteje vse vrste krvnih komponent, ki so jih obravnavani bolniki prejeli in so pripravljene v skladu s Priporočilom o pripravi, uporabi in zagotavljanju kakovosti krvnih komponent.<sup>6</sup>

#### Koncentrirani eritrociti (KE):

- KES-nefiltrirani KE – levkociti niso odstranjeni, vsebujejo 13 ml plazme darovalca;
- KEL-filtrirani KE – levkociti odstranjeni pred izdajo, vsebujejo 13 ml plazme in  $L < 1 \times 10^6/l$  darovalca;
- KEF-filtrirani KE – levkociti, odstranjeni pred predelavo, vsebujejo 11–16 ml plazme in  $L < 1 \times 10^6/l$  darovalca .

**Sveža zmrznjena plazma (SZP)** – volumen plazme moškega darovalca 176–232 ml, vsebuje  $L < 1 \times 10^8/l$  darovalca.

#### Koncentrirani trombociti (KT):

- TFB-zlitje “buffy coat” (BC) petih darovalcev; filtrirani, resuspendirani v ohranitveni raztopini PAS, inaktivirani po metodi Intercept, povprečni celokupni volumen je 380 ml, vsebujejo 25 ml plazme vsakega darovalca in  $L < 1 \times 10^6/l$ ;
- KTF-trombociti enega darovalca, pridobljeni z aferezo, filtrirani, dodana ohranitvena raztopina PAS, inaktivirani po metodi Intercept, povprečni celokupni volumen je 300 ml, vsebujejo 93 ml plazme darovalca in  $L < 1 \times 10^6/l$ .

### Laboratorijske preiskave

Pri bolnikih in vseh darovalcih krvnih komponent, transfundiranih v 6 urah pred pojavom dihalne stiske, smo ugotavljali prisotnost levkocitnih protiteles, usmerjenih proti antigenom HLA I. in II. razreda ter antigenom HNA (angl. *Human leucocyte antigen*-HLA; *Human neutrophil antigen*-HNA). Serološke teste za bolnike smo izvedli iz sve-

žih potransfuzijskih in/ali predtransfuzijskih vzorcev, za vpletene darovalce pa smo uporabili vzorce iz Arhiva zamrznjenih vzorcev krvodajalcev.

Protitelesa anti-HLA I in anti-HLA II določajo v Centru za tipizacijo tkiv ZTM. Njihovo prisotnost ugotavljajo s komercialnim testom po metodi ELISA (OneLambda-LAT 1240). Pri pozitivnih rezultatih določijo specifičnost protiteles anti-HLA I in anti-HLA II po metodi Luminex (OneLambda-LabScreen SA). Nevtrofilna protitelesa anti-HNA ugotavljamo v Centru za imunohematologijo ZTM. Pri vseh preiskovancih izvedemo kombinacijo seroloških testov, granulocitnega imunofluorescenčnega testa (GIFT)<sup>12</sup> in granulocitnega aglutinacijskega testa (GAT)<sup>13</sup> ter limfocitnega imunofluorescenčnega testa (LIFT). Za oba granulocitna testa osamimo granulocite darovalcev, tipiziranih v antigenih HNA-1abc, HNA-2a in HNA-3ab, rezultate pa vrednotimo z imunofluorescenčnim oz. faznokontrastnim mikroskopom. Za LIFT uporabimo limfocite istih darovalcev, ki jih osamimo iz vzorcev sveže krvi v istem postopku kot testne granulocite. Rezultate vrednotimo s pretočnim citometrom. Kadar so rezultati testa GIFT pozitivni, lahko specifičnost nevtrofilnih protiteles (anti-HNA-1a,b,c, anti-HNA-2a, anti-HNA-4a in anti-HNA-5a) potrdimo s testom MAIGA (*Monoclonal antibody-specific immobilization of granulocyte antigens*).<sup>14</sup>

Kadar koli se ugotovi prisotnost levkocitnih protiteles anti-HLA I, anti-HLA II ali anti-HNA pri darovalcu oz. prejemniku, je potrebno preveriti neskladnost protiteles s serološkim navzkrižnim preizkusom z GIFT/GAT ali LIFT ali pa preveriti prisotnost ustreznih antigenov HLA I, II ali HNA z genotipizacijo iz genomske DNK.<sup>15</sup> Opisani postopek preiskovanja upošteva priporočila Delovne skupine za granulocitno imunobiologijo pri Mednarodnem združenju za transfuzijsko medicino (*International Society of Blood Transfusion-ISBT*).<sup>16</sup>

### Zaključna mnenja

Pri pripravi zaključnega mnenja upoštevamo bolnikove diagnoze pred dogodkom in klinično stanje, značilnosti nastanka in

poteka novonastale akutne dihalne stiske, stopnjo dihalne stiske, značilnosti in dinamiko sprememb na rentgenogramu prsnih organov ter dinamiko izboljšanja oziroma končni izid dihalne stiske. Volumsko preobremenitev in srčno popuščanje oceni lečeči zdravnik. Prav tako se v sodelovanju z lečečim klinikom oblikuje zaključno mnenje.

Diagnozo TRALI potrdimo, kadar pri bolniku ugotovimo značilen klinični potek in spremembe na rentgenogramu prsnih organov. Če ob tem ugotovimo prisotnost levkocitnih protiteles pri darovalcih krvnih komponent ali prejemniku, gre za imunski TRALI. Kadar levkocitnih protiteles ne ugotovimo, gre za neimunski TRALI. Razvrstitev možnih zaključnih mnenj:

- **Imunski TRALI:** poleg značilne klinične slike in rtg pc pri darovalcu/darovalcih ali prejemniku ugotovimo levkocitna

protitelesa, ki so neskladna z antigeni prejemnika ali darovalca.

- **Verjeten imunski TRALI:** manj značilen klinični potek in rtg pc ter prepričljiva neskladnost protiteles ali značilna klinična slika in prisotnost levkocitnih protiteles, katerih neskladnost ni potrjena.
- **Možni imunski/neimunski TRALI:** značilen klinični potek in rtg pc, prisotnost/odsotnost levkocitnih protiteles, sočasno prisoten drugi možni vzrok akutne poškodbe pljuč.
- **Neimunski TRALI:** značilen klinični potek in rtg pc, odsotna levkocitna protitelesa.
- **TRALI ni verjeten:** neznačilna klinična slika in rtg pc ter odsotnost levkocitnih protiteles.

**Tabela 1:** Značilnosti bolnikov s sumom na TRALI.

Število obravnavanih bolnikov	8 (%)
Moški : ženske	6 : 2
Starost (leta)	
povprečje	47,9
mediana (razpon)	53,5 (1–75)
Osnovna diagnoza	
internistična	3 (37,5 %)
kirurška	1 (12,5 %)
onkološka	3 (37,5 %)
hemato-onkološka	1 (12,5 %)
Poveza dihalne stiske z operacijo	
da (med/po operaciji)	4 (50 %)
ne	4 (50 %)
Prisotni drugi vzroki akutne dihalne stiske	
da	5 (62,5 %)
ne	3 (37,5 %)
Pred transfuzijo na respiratorju	1 (12,5 %)
Zdravljenje akutne dihalne stiske na respiratorju	8 (100 %)
Izid	
ozdravitev	3 (37,5 %)
smrt	5 (62,5 %)

## Rezultati

V sklopu obravnave smo preučili značilnosti bolnikov, njihovih osnovnih bolezni, kliničnega poteka akutne dihalne stiske, zdravljenja in izida zdravljenja. Zbrane podatke o vseh osmih bolnikih prikazuje Tabela 1.

Pri vsakem primeru suma na TRALI smo preverili darovalce krvnih komponent (spol in število), vrste vseh transfundiranih komponent in starost celičnih krvnih komponent. Skupni podatki za vse obravnavane darovalce in transfundirane komponente so prikazani v Tabeli 2.

Pomemben del obravnave na ZTM so laboratorijski testi za ugotavljanje prisotnosti levkocitnih protiteles anti-HLA I in

anti-HLA II ter nevtrofilnih protiteles anti-HNA. Skupno smo v obdobju 2006–2011 zaradi suma na TRALI pretestirali 8 bolnikov in 73 darovalcev transfundiranih krvnih komponent. Levkocitna protitelesa smo ugotovili pri štirih preučevanih primerih suma na TRALI, pri ostalih štirih jih ni bilo. V dveh primerih smo protitelesa ugotovili v serumu bolnic, pri eni panreaktivna nevtrofilna protitelesa nerazvidne specifičnosti,<sup>17</sup> pri drugi pa protitelesa anti-HLA I, v dveh primerih pa smo protitelesa ugotovili pri darovalkah koncentriranih eritrocitov, enkrat protitelesa anti-HLA I ter enkrat anti-HLA II. Darovalkina protitelesa anti-HLA-A1, A23 so bila neskladna z antigeni HLA I prejemnika določenimi z genotipizacijo. V primeru druge darovalke s protitelesi anti-HLA

**Tabela 2:** Obravnavani darovalci in značilnosti transfundiranih komponent.

Obravnavani darovalci	Število 73
moški : ženske	55 : 18
povprečno število na bolnika	9,1
Število transfundiranih komponent	61
povprečje na bolnika	7,6
mediana (razpon)	6 (2–17)
Vrste transfundiranih komponent	Število bolnikov 8(%)
KE	2 (25 %)
KE+SZP	3 (37,5 %)
KE+KTF	1 (12,5 %)
SZP+TFB	1 (12,5 %)
KE+SZP+TFB	1 (12,5 %)
Število darovalcev komponent ( $\Sigma$ 73)	Spol dajalcev
32 KE (13 KES, 2 KEL, 17 KEF)	21 M : 11 Ž
25 SZP	23 M : 2 Ž
15 TFB	10 M : 5 Ž
1 KTF	1 M
Starost izdanih celičnih komponent	Dnevi
KE	
povprečje	12,5
mediana (razpon)	14 (1–29)
TFB	4
KTF	2

II pa neskladnosti protiteles nismo mogli preveriti zaradi smrti bolnika. V Tabeli 3 so prikazani rezultati ugotavljanja levkocitnih protiteles pri bolnikih in vseh darovalcih transfundiranih krvnih komponent.

V Tabeli 4 so za vse obravnavane bolnike prikazane njihove osnovne bolezni, ozdravitve oz. smrtni izid in vloga TRALI pri tem ter zaključna mnenja.

## Razpravljanje

Med 11 primeri suma na TRALI prijavljenimi v letih 2006–2011, smo v celoti obravnavali tistih 8 primerov, pri katerih je bil v času dihalne stiske posnet rtg pc in so ustrezali TRALI po kliničnih merilih. Večinoma je šlo za že prej prizadete bolnike, kar 5 od 8 vpletenih bolnikov je imelo dodatne vzroke za akutno dihalno stisko (pljučnica in plevrodeza, pljučnica in sepsa, stanje po pljučni emboliji s karcinomom pljuč ter plevralnim in perikardialnim izlivom, kardiomegalija s subsegmentno pljučno embolijo in hipervolemijo), eden pa je že imel kronično dihalno stisko (stanje po avtologni PKMC na respiratorju). Dva bolnika sta prejela masivno transfuzijo. Le pri dveh bolnikih je bila transfuzija edini možni razlog nastanka dihalne stiske. Vsi bolniki so potrebovali mehansko predihavanje na 100-odstotnem

kisiku. Pri samo treh (37 %) med njimi je prišlo do ozdravitve v 4–10 dneh. Gledano v celoti so imeli obravnavani bolniki težji potek dihalne stiske, počasnejše okrevanje in večjo smrtnost v primerjavi s podatki iz literature.<sup>4</sup> Tudi je bilo pri večini zaradi drugih vzrokov za zmanjšano dihalno funkcijo in akutno poškodbo pljuč težko izključiti oz. potrditi diagnozo TRALI. Iz navedenega izhaja, da smo dobili v obravnavo le bolnike z najhujšimi oblikami dihalne stiske, ne pa tudi blažjih, ki prevladujejo še posebno pri primerih neimunskega TRALI. V treh primerih smo zaključili, da je šlo v osnovi za druge vzroke dihalne odpovedi in TRALI ni bil verjeten. Dva primera smo zaključili kot TRALI, tri primere kot možni TRALI. Kar dar smo ugotovili levkocitna protitelesa pri darovalcih/prejemniku, smo pojav opredelili kot imunski TRALI, v primerih odsotnosti levkocitnih protiteles kot neimunski TRALI. Umrla sta dva bolnika z diagnozo možni TRALI, kar kaže na 40-odstotno smrtnost bolnikov s TRALI. V obeh primerih se je razvila sepsa z zapleti. Ocenili smo, da je bil možni TRALI le eden od dejavnikov, ki so prispevali k smrtnemu izidu. Odstotek smrti je v primerjavi z nekaterimi podatki iz literature (6 %, 18 %, 21 %) visok,<sup>6,18,19</sup> vendar gre pri tako majhnem številu primerov TRALI zgolj za orientacijski podatek.

**Tabela 3:** Rezultati laboratorijskih testov bolnikov in obravnavanih darovalcev.

Primeri	Levkocitna protitelesa HLA I, HLA II, HNA			Skladnost protiteles	Komponenta senzibiliziranih darovalcev (spol)
	Bolniki	Število darovalcev		plazma darovalca z antigeni bolnika	
		odsotna	prisotna		
1 Ž	HNA	3	0	Skladen	-
2 Ž	HLA I	3	0	-	-
3 M	odsotna	22	1 (HLA II)	*Nt	KE (Ž)
4 M	odsotna	10	0	-	-
5 M	odsotna	2	0	-	-
6 M	odsotna	7	1 (HLA I)	HLA I neskladen	KEF (Ž)
7 M	odsotna	8	0	-	-
8 M	odsotna	16	0	Skladen	-

Ž – ženska; M – moški; HNA – protitelesa anti-HNA; HLA I – protitelesa anti-HLA I; HLA II – protitelesa anti-HLA II; \*Nt – ni testirano



Levkocitna protitelesa smo ugotovili pri dveh prejemnicah in dveh darovalkah koncentriranih eritrocitov. Ker levkocitna protitelesa ugotavljajo v populacijskih študijah pri 9–33 % žensk (v odvisnosti od števila prejšnjih nosečnosti in transfuzij),<sup>7,9</sup> je pomen najdbe ob sočasnih drugih dejavnikih tveganja za dihalno stisko težko vrednotiti, saj gre lahko predvsem pri prejemnikih večih komponent za naključno odkritje. Tudi majhen volumen (11–16 ml) preostanka plazme darovalca v komponentah koncentriranih eritrocitov pušča odprto vprašanje o dejanskem pomenu te laboratorijske najdbe. Še posebej je vprašljiv pomen odkritih protiteles proti antigenom HLA I. razreda, saj so ti antigeni prevladujoče izraženi na trombocitih in so prisotni tudi kot topne substance v plazmi. Z vezavo nase lahko nevtralizirajo učinek transfundiranih protiteles.

Obe senzibilizirani prejemnici sta prejeli enote koncentriranih nefiltriranih eritrocitov, v katerih vsebnost levkocitov ni bila zmanjšana. Ne ve se sicer natančno, kolikšno število transfundiranih nevtrofilcev je potrebno za razvoj TRALI. Zaključili smo, da se je imunski TRALI zelo verjetno razvil pri prejemnici s panreaktivnimi nevtrofilnimi protitelesi, ki so navzkrižno reagirala z vsemi testnimi nevtrofilci in zato najverjetneje tudi z nevtrofilci darovalcev, prenešenimi s transfuzijo koncentriranih eritrocitov. Nasprotno pa imunski TRALI pri prejemnici z ugotovljenimi protitelesi anti-HLA I zaradi

velikega polimorfizma antigenov HLA I in zato majhne verjetnosti navzkrižne reaktivnosti z nevtrofilci iz transfundiranih enot, kljub odkritju protiteles ni bil verjeten.

Slovenska transfuzijska dejavnost je v zadnjih letih uvedla več novosti, ki so prispevale k preprečevanju TRALI. Najpomembnejši ukrep smo po zgledu razvitih transfuzijskih služb sprejeli v letu 2006, da se za klinično uporabo nameni zgolj plazma moških darovalcev. V koncentratih trombocitov smo zmanjšali delež plazme darovalcev in ga nadomestili z ohranitveno raztopino PAS. Postopoma se je do leta 2010 uvedla 100-odstotno filtriranje krvi pred predelavo za pripravo koncentriranih eritrocitov (KEF). V zadnjem letu imamo na voljo tudi aparat za pranje eritrocitov, ki ima pomen predvsem za preprečevanje neimunskega TRALI. Izziv za prihodnost pa ostaja presejalno testiranje na levkocitna protitelesa pri darovalcih trombocitov.

V šestih letih smo prejeli eno do dve prijavi suma na TRALI letno, kar zrcali enakomerno pozornost na to reakcijo. Vseh pet bolnikov s TRALI je prejelo transfuzije koncentriranih eritrocitov, dva med njimi sta prejela vsak po eno enoto od senzibiliziranih darovalk. V nobenem primeru ni šlo za prenos darovalčevih levkocitnih protiteles s plazemskimi komponentami. To kaže na uspešnost odločitve, da se za klinično uporabo nameni zgolj SZP moških darovalcev. Glede na podatke iz angleške in nemške

**Tabela 4:** Zaključna mnenja obravnavanih osmih primerov suma na TRALI.

Primeri	Drugi dejavniki tveganja za dihalno stisko	Smrt bolnika /vzrok TRALI	Zaključno mnenje
1 Ž <sup>17</sup>	odsotni	ne	imunski TRALI
2 Ž	pljučnica, ARDS	da /ne	TRALI ni verjeten
3 M	pljučnica, sepsa, masivna transfuzija	da / TRALI prispeval	možen imunski TRALI
4 M	odsotni	da /TRALI prispeval	neimunski TRALI
5 M	predhodno na respiratorju, St. po PKMC	da /ne	TRALI ni verjeten
6 M	kardiomegalija, subsegmentna pljučna embolija, hipervolemija	ne	možen imunski TRALI
7 M	karcinom pljuč, stanje po pljučni emboliji	da / ne	TRALI ni verjeten
8 M	masivna transfuzija	ne	možen neimunski TRALI

ARDS – akutni respiratorni distresni sindrom; PKMC – presaditev krvotvornih matičnih celic.

sheme za hemovigilanco, so pred uvedbo takšnega ukrepa ugotavljali incidenco TRALI pri 1:65.000 oziroma 1:66.000 transfundiranih enot SZP.<sup>18,19</sup> V letih 2006–2011 se je v Sloveniji izdalo bolnikom okrog 183.000 enot SZP brez ugotovljenega primera TRALI.

## Zaključki

V šestih letih smo pri osmih prijavljenih primerih pet primerov zaključili z diagnozo TRALI. Med njimi sta bila en imunski in en neimunski TRALI ter trije primeri kot možni TRALI, dva možni imunski in eden možni neimunski TRALI. V vseh primerih TRALI so bolniki prejeli koncentrirane eritrocite. V nobenem primeru ni bil TRALI posledica prenosa levkocitnih protiteles senzibiliziranega darovalca s transfuzijo plazme, kar ocenjujemo kot potrditev uspešnosti v letu 2006 sprejete odločitve, da se za klinično uporabo nameni zgolj plazma možnih darovalcev. Ker je imela večina obravnavanih bolnikov poleg suma na TRALI prisoten še drug vzrok za dihalno stisko in se je pri vseh razvila huda oblika dihalne stiske menimo, da na TRALI posumijo le pri najtežjih bolnikih, zato ostajajo bolj blage oblike TRALI neprepoznane.

## Literatura

1. Stainsby D, Jones H, Milkins C, Ginson B, Norfolk DR, Revill J, et al. Serious hazards of transfusion (SHOT). Annual report 2003. Dosegljivo na: <http://www.shotuk.org>
2. FDA. Fatalities reported to FDA following blood collection and transfusion. Silver Spring (MD): U.S. Food and Drug Administration; 2008. Dosegljivo na <http://www.fda.gov/downloads/>
3. Kleinman S, Caulfield T, Chan P, Davenport R, McFarland J, McPhedran S, et al. Toward an understanding of transfusion-related acute lung injury: statement of a consensus panel. *Transfusion* 2004; 44: 1774–89.
4. Popovsky MA, Abel MD, Moore SB. Transfusion-related acute lung injury associated with passive transfer of antileucocyte antibodies. *Am Rev Respir Dis* 1983; 128: 185–9.
5. Silliman CC, Boshkov LK, Mehdizadehkashi Z, Elzi DJ, Dickey WO, Podlosky L et al. Transfusion-related acute lung injury: epidemiology and a prospective analysis of etiologic factors. *Blood* 2003; 101: 454–62.
6. Popovsky MA, Moore SB. Diagnostic and pathogenetic considerations in transfusion-related acute lung injury. *Transfusion* 1985; 25: 573–7.
7. van Stein D, Beckers EA, Sintnicolaas K, Porcelijn L, Danovic F, Wollersheim JA. Transfusion-related acute lung injury reports in the Netherlands: an observational study. *Transfusion* 2010; 50: 213–220.
8. Holness L, Knippen M, Simmons L, Lachenbruch P. Fatalities caused by TRALI. *Transfus Med Rev*, 2004; 184–8.
9. Reil A, Keller-Stanislawski B, Günay S, Bux J. Specificities of leucocyte alloantibodies in transfusion-related acute lung injury and result of leucocyte antibody screening of blood donors. *Vox Sang* 2008; 95: 313–317.
10. Bux J, Sachs UJH. The pathogenesis of transfusion-related acute lung injury (TRALI). *Br J Haematol* 2007; 136 788–99.
11. Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components. 16th ed. Chapter 5, Component monographs. Part B-D, Strassbourg: Council of Europe. EDQM; 2011. 236–316.
12. Verheugt FWA, von dem Borne AEGK, Decary F, Engelfriet CP. The detection of granulocyte alloantibodies with an indirect immunofluorescence test. *Br J Haematol* 1977; 36: 533–44.
13. Jiang AF, Lalezari P. A micro-technique for detection of leucocyte agglutinins. *J Immunol Methods* 1975; 7: 103–8.
14. Bux J, Kober B, Kiefel V, Mueller-Eckhardt C. Analysis of granulocyte-reactive antibodies using an immunoassay based upon monoclonal antibody-specific immobilization of granulocyte antigens. *Transfus Med* 1993; 3: 157.
15. Bux J, Stein EL, Santoso S, Mueller-Eckhardt C. NA gene frequencies in the German population, determined by polymerase chain reaction with sequence-specific primers. *Transfusion* 1995; 35: 54–7.
16. Bierling P, Bux J, Curtis B, Flesch B, Fung I, Lucas G, et al. Recommendations of the ISBT Working Party on Granulocyte Immunobiology for leucocyte antibody screening in the investigation and prevention of antibody-mediated transfusion-related acute lung injury. *Vox Sang* 2009; 96: 266–9.
17. Galvani V, Maver S, Soldatović G, Kramar I. Prvi primer s transfuzijo povezane akutne poškodbe pljuč (TRALI) v Sloveniji. *Zdrav Vestn* 2008; 77: 323–9.
18. Chapman CE, Stainsby D, Jones H, Love E, Massey E, Win N et al. Ten years of hemovigilance reports of transfusion-related acute lung injury in the United Kingdom and the impact of preferential use of male donor plasma. *Transfusion* 2009; 49: 440–52.
19. Keller-Stanislawski B, Reil A, Günay S, Funk MB. Frequency and severity of transfusion-related acute lung injury-German haemovigilance data (2006–2007). *Vox Sang* 2010; 98: 70–77.