

Transfüzyonla İlişkili İmmünmodülasyon

Transfusion-Related Immunomodulation

Salih Haldun Bal,¹ Haluk Barbaros Oral²

¹Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dr. Raşit Durusoy Kan Merkezi, Bursa, Türkiye

²Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

İletişim adresi:

Dr. Haluk Barbaros Oral
Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi
İmmünoloji Anabilim Dalı, 16059 Görükle,
Bursa, Türkiye
Tel: +90 224 - 295 41 14
e-posta: oralb@uludag.edu.tr

©2016 Turkish Journal of Immunology.
All rights reserved.

doi: 10.5606/tji.2016.525

Geliş tarihi: 18 Kasım 2016
Kabul tarihi: 04 Ocak 2017

ÖZ

Allojeneik kan transfüzyonu (AKT) değerli bir tıbbi uygulama olsa da bazı kritik komplikasyonları vardır. Bu komplikasyonlardan biri de transfüzyonla ilişkili immünmodülasyondur (TRİM). Transfüzyonla ilişkili immünmodülasyon, AKT sonrası alıcı immün sisteminde meydana gelen değişiklikleri ve bunun sonuçlarını tanımlar. Allojeneik kan transfüzyonu sonrası alıcıda greft ömrünün uzaması, Crohn hastalığı nükslerinin ve tekrarlayan spontan abortusların azalması, ameliyat sonrası bakteriyel enfeksiyonların, kanser nükslerinin ve mortalitenin artması, sitomegalovirüs ve insan immün yetmezlik virüsü gibi latent enfeksiyonların alevlenmesi gibi sonuçlarla karşılaşılabilir. Transfüzyonla ilişkili immünmodülasyonun ürün içindeki lökositlerden, plazmada biriken biyolojik yanıt düzenleyiciler-immün mediyatörler (BYD-İM) veya allojeneik plazmadaki çözünür insan lökosit antijeni sınıf I moleküllerinden kaynaklanabildiği ifade edilmiştir. Ayrıca, eritrositlere ait bazı özellikler, kan bileşenlerinin depolanma süresi ve transfüze edilen ürün sayısı da TRİM gelişiminde suçlanmaktadır. Ancak TRİM gelişiminden sorumlu tutulan başlıca etkenler allojeneik lökositler ve bunlarla ilişkili BYD-İM'lerdir. Alıcı immün sisteminde klonal delesyon, immünosüpresyon, anerji, mikrokimerizm, immün yanıtın yardımcı T hücre l'den (T hepler 1; Th1) Th2'ye kayması ve apoptoz gibi mekanizmaların TRİM'e yol açtığı düşünülmektedir. Tablonun engellenmesi için kan bileşeni içinde lökoredüksiyon önerilmektedir. Ancak lökosit dışı nedenler lökoredüksiyonu sınırlandırdığından, bu uygulama da etkin olmayabilir.

Anahtar sözcükler: İmmünmodülasyon; lökoredüksiyon; transfüzyon; transfüzyonla ilişkili immünmodülasyon.

ABSTRACT

Although allogeneic blood transfusion (ABT) is a valuable medical practice, it has some critical complications. One of these complications is transfusion-related immunomodulation (TRIM). Transfusion-related immunomodulation describes the changes and its results in recipient's immune system after ABT. After ABT, some outcomes may be observed in the recipient including increased graft survival, decreased Crohn's disease recurrences and recurrent spontaneous abortuses, increased postoperative bacterial infections, cancer recurrences and mortality, and reactivation of latent infections such as cytomegalovirus and human immunodeficiency virus. It has been postulated that TRIM may originate from leukocytes within the product, biologic response modifiers-immunologic mediators (BRM-İM) that accumulate within the plasma or soluble human leukocyte antigen-class I molecules within the allogeneic plasma. Also, some properties of erythrocytes, storage time of blood components, and the number of transfused products are accused of TRIM development. However, main factors held responsible for TRIM development are allogeneic leukocytes and related BRM-İMs. It is thought that mechanisms such as clonal deletion, immunosuppression, anergy, microchimerism, the polarization of the immune response from T helper 1 (Th1) to Th2 and, apoptosis in the recipient immune system may cause TRIM. For this reason, leukoreduction is suggested for prevention. However, this application may not be efficient since reasons other than leukocytes may limit leukoreduction.

Keywords: Immunomodulation; leukoreduction; transfusion; transfusion-related immunomodulation.

Transfüzyon genellikle hayat kurtarıcı bir uygulama olsa da ciddi ve hayatı tehdit edici komplikasyonları da vardır. Bu komplikasyonlar enfeksiyöz, immünolojik ve immünolojik olmayan reaksiyonlar şeklinde sınıflandırılmaktadır. İmmünolojik bir komplikasyon olan transfü-

yonla ilişkili immünmodülasyon (TRİM), allojeneik kan transfüzyonu (AKT) sonrasında alıcıda gelişen immün değişiklikleri ve bunların alıcıdaki etkilerini tanımlar. Nedeni ve oluş mekanizmaları tam olarak aydınlatılamamış olan TRİM, AKT sonrası transfüzyon alıcılarında;

- Greft ömrünü uzatmak,
- Crohn hastalığı nüks hızını azaltmak,
- Tekrarlayan spontan abortus sıklığını azaltmak,
- Kanser nükslerini artırmak,
- Ameliyat sonrası bakteriyel enfeksiyon sıklığını artırmak,
- Kısa dönem mortalite olasılığını artırmak ve
- Latent bazı enfeksiyonların yeniden aktivite kazanması gibi durumlara yol açabilmektedir.^[1,2]

Transfüzyonla ilişkili immünmodülasyon ilk kez 1973 yılında, böbrek nakli bekleyen hastalara yapılan transfüzyonların greft ömrü üzerindeki olumlu etkilerinin gözlemlenmesiyle tanımlanmıştır.^[3] Hayvan deneyleri, gözlemsel klinik çalışmalar ve deneyimlerle desteklenen bu tablo, AKT'nin -AIDS pandemisi ortaya çıkana kadarki dönemde- böbrek nakli öncesi standart bir yaklaşım halini almasına neden olmuştur. Ancak bahsedilen bu olumlu etki randomize kontrollü çalışmalarla henüz desteklenememiştir. Küratif cerrahi yapılacak hastalardan cerrahi öncesi AKT alanlarda tümör büyümesinin ve metastaz gelişiminin hızlandırıldığının bildirilmesi ve AKT ile kanser nüksü arasında bir ilişki olduğunun öne sürülmesi sonucunda TRIM'in diğer etkileri de belirlenmeye başlanmıştır.^[4] Ardından bu durum başka çalışmalar ile de desteklenmiştir.^[5-7] Allojeneik kan transfüzyonunun kanser nüksü üzerine bu olumsuz etkisinin ortaya atılmasından sonra transfüzyonun alıcı immün sistemi üzerindeki etkileri ilgi çekici bir alan olmuş ve bu konuda çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda AKT'nin kanser nüksleri, ameliyat sonrası bakteriyel enfeksiyonlar, otoimmün hastalıklar ve latent enfeksiyonların reaktivasyonu gibi çok sayıda klinik tablo ile ilişkisi değerlendirilmiştir. Mowbray ve ark.^[8] spontan abortusları olan kadınlara gebelik öncesi eşlerinden alınmış lenfositlerin verilmesi ile abortus olasılığının azaldığını saptamıştır. Peters ve ark.^[9] Crohn hastalığı nedeni ile ameliyat edilen ve ameliyat sırasında AKT alan hastalarda nüks sıklığının almayanlara kıyasla çok daha az olduğunu belirlemişlerdir. Allojeneik kan transfüzyonunun ameliyat sonrası bakteriyel enfeksiyonlar açısından bağımsız bir risk faktörü olduğu çeşitli çalışmalar ile desteklenmiş; sitomegalovirüs (CMV), insan immün yetmezlik virüsü (HIV) gibi latent bazı enfeksiyonların reaktivasyon olasılığını artırdığı ve AKT sonrası tüm nedenlere bağlı mortalite artışı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir.^[10-14] Bu birkaç örnek dışında da TRIM fenomenine odaklanmış çok sayıda araştırma bulunmaktadır. Ancak bu çalışmalardan elde edilen veriler TRIM fenomeninin varlığını veya şiddetini doğrulamak, altta yatan ana mekanizmayı çözmek için henüz yeterli olamamıştır.^[15]

Transfüzyonla ilişkili immünmodülasyonun Olası Mekanizmaları

Transfüzyonla ilişkili immünmodülasyonun etkisinin kökenine inmek isteyen çok sayıda araştırmacı, sınıf II insan lökosit antijeni (HLA) molekülü taşıyan allojeneik lökositleri, yardımcı T hücre (Th) alt gruplarını, allojeneik dendritik hücrelerini, mikrokimerizmi, histamin, eozinofil katyonik protein, eozinofil protein X, miyeloperoksidaz, plazminojen aktivatör inhibitörü-1 gibi biyolojik yanıt düzenleyicilerini, sitokinleri, biyoaktif lipitleri, eritrosit süspansiyonu (ES) süpernatantını, kan bileşenlerinin stok süresini, çözünür Fas ligandı (çFasL), çözünür HLA sınıf I (çHLA-1) moleküllerini ve benzeri birçok olası etkeni konu alan araştırmalar yapmıştır.^[16-34] Yapılan bu çalışmalarla TRIM fenomeninin gerçek mekanizmasını çözülemese de AKT'nin alıcıda yol açtığı immün değişikliklerin bazıları gösterilebilmiştir. Bunlara göre alıcıda; Th yanıtında ve sayısında, doğal öldürücü hücre (NK) fonksiyonunda, CD4/CD8 oranında, monosit/makrofaj fagositik fonksiyonunda, sitokin [interlökin-2 (IL-2), interferon-gamma (IFN- γ) vb.] üretiminde ve geç tip aşırı duyarlılık reaksiyonlarında azalma, antijen sunumunda yetersizlik, lenfosit blastogenezinde baskılanma, anti-idiotipik ve anti-klonotipik antikör (Ab) üretiminde artış meydana gelebilmektedir.^[35,36] Meydana gelen immün değişikliklere bakılarak TRIM etkisinin, kan bileşeni içerisinde bulunan allojeneik mononükleer hücreler (MNH), depolanma sürecinde bileşen içerisinde biriken biyolojik yanıt düzenleyiciler ve immünolojik mediyatörler (BYD-İM) veya allojeneik plazmada bulunan çHLA'lar aracılığıyla oluşabileceği öne görülmüştür.^[1]

Allojeneik MNH'lerin özel yöntemler kullanılarak kan bileşeni içinden uzaklaştırılmadıkları sürece transfüzyon ile alıcıya geçerek TRIM etkisinin oluşumuna katıldıklarını gösteren çalışmalar bu öngörüye desteklemektedir.^[16,37] Benzer şekilde BYD-İM'lerin depolanma süresine bağlı olarak süpernatant içerisinde birikerek TRIM gelişimine katıldıklarını ve ES süpernatantında biriken çHLA-1'lerin immünsüpresyona yol açtığını gösteren çalışmalar da bu öngörüye destek sağlayan çalışmalara örnekler olarak verilebilir.^[21,28,38]

Bugüne değin yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar ayrıca TRIM fizyopatolojisine yönelik hipotezlerin de ortaya konulmasına neden olmuştur. Çoğunluğu "klonal delesyon", "immünsüpresyon" ve "aneri"ye dayandırılan bu hipotezlerden bazıları şu şekilde özetlenebilir:^[1,39]

Klonal Delesyon Hipotezi

Antijen spesifik immünsüpresyonun mekanizmalarına yönelik erken teori klonal delesyon görüşüdür. Bu bağlamda hem MNH'lerin hem de çHLA-I moleküllerinin klonal delesyonda rolü olabileceği düşünülmektedir.

- *Kan bileşeni içindeki MNH'ler ile ilgili olanlar:* Allojeneik lökositler yani kan bağışçısına ait lökositlerin taşıdığı HLA'lar ile uyarılan ve proliferen alan alıcı lenfosit klonlarının, bu sırada organ nakli gibi durumlarda kullanılan sitotoksik immünsüpresif ilaçların etkisi ile yok olabileceği savunulmaktadır.^[40] Ancak sitotoksik ilaçlardan ziyade allojeneik HLA'lara karşı daha önceden aktive olmuş alıcı T lenfosit klonlarının, transfüzyon aracılığıyla yüksek doz aynı antijenler ile karşılaşması durumunda artan Fas ligand (FasL) aktivasyonunun Th apoptozuna ve ilgili klonun delesyonuna yol açabileceği de unutulmamalıdır.
- *Depolanma sürecinde biriken BYD-İM veya çözünür moleküller ile ilgili olanlar:* Allojeneik plazmadaki çHLA-1 antijenlerinin klonal delesyon mekanizması ile TRIM'e yol açabileceği ifade edilmektedir. T lenfosit klonlarının timusdaki gelişimi sırasında T hücre reseptör (THR)'lerinin güçlü biçimde antijen tanınmasının sonuçlarından biri de bu klonların yok olmasıdır. Allojeneik plazmada bulunan çHLA-1 peptitlerin alıcı timik dolaşımına ulaşmasının bu antijenlere spesifik Th klonlarının delesyonuna yol açabileceği belirtilmiştir.^[41]

İmmünsüpresyon Hipotezi

- *Kan bileşeni içindeki MNH'ler ile ilgili olanlar:* *İn vitro* koşullarda allojeneik ES ile karşılaşmayla Treg düzeyinin yükseldiğinin gösterilmiş olması transfüzyon sonrası Treg aracılı bir immünsüpresyon gerçekleşebileceğini düşündürmektedir.^[28] Öte yandan bir çalışmada CD200 eksprese eden dendritik hücrelerin immünsüpresif etkilerinin monoklonal antikorlar ile bloke edilerek tümör büyütücü etkilerinin baskılanması bu hücrelerin AKT sonrası gelişen immünsüpresyonda rolleri olabileceğini göstermiştir.^[18] Aynı çalışmada AKT sonrası alıcı dalağında transforme edici büyüme faktörü-beta (TGF- β) üretimi yapan hücrelerin sayısının arttığının gösterilmesi, immünsüpresif etkide bu sitokinin de rolü olabileceğini düşündürmüştür.
- *Depolanma sürecinde biriken BYD-İM veya çözünür moleküller ile ilgili olanlar:* Çözünür moleküllerle ilgili hipotezler allojeneik kan bileşeni süpernatanda bulunabilen çHLA-1 ve çFasL ile ilgilidir.^[38] Allojeneik plazmadaki çHLA-1 moleküllerinin, CD8 molekülleri ile bağlanarak allojeneik veya otolog HLA peptitlerinin tanınmasını engelleyebileceği; çFasL sekresyonunu artırarak aktive olmuş allojeneik ve otolog CD8 hücreleri ile Fas pozitif hücrelerin apoptozunu destekle-

yebileceği düşünülmektedir.^[42] Süpernatandaki çFasL moleküllerinin alıcıya nakli sonrası bu moleküllerin NK ve sitotoksik T (Tc) hücre yüzeyinde bulunan Fas molekülleri ile birleşerek bu hücrelerin, yüzeyinde FasL eksprese eden virüsle enfekte hücreler ile etkileşimini bozabileceği ve virüsle enfekte hücrelerin apoptozunu engelleyebileceği bildirilmiştir.^[43]

- *Anti-idiotip antikorlar:* Transfüzyon sonrası alıcıya geçen bağışçı THR ve antikorları alıcı açısından antijenik epitoplara olurlar. Bu yeni antijenlere karşı sentezlenen anti-idiotip antikorların transfüzyon sayısı ile paralel olarak çeşitliliği de artar. Bu antikorların, bir organ nakli sonrasında nakledilen THR ve MHC kompleksleri ile interferans yaratarak rejeksiyon mekanizmasını durdurabileceği bildirilmiş ve anti-idiotip antikorları bulunan böbrek nakli hastalarında greft ömrünün daha uzun olduğu gösterilmiştir.^[44]

Anerji Hipotezi

- *Kan bileşeni içindeki MNH'ler ile ilgili olanlar:* AKT alıcısında bağışçı HLA'lara spesifik klonlar aktive olurlar. Alıcı immün sistemi, yabancı gördüğü bu HLA'lara spesifik yanıt verebilmek için bu yabancı HLA'ların kendi antijen sunan hücreleri (ASH) tarafından kendi T lenfositlerine sunulmasını ister. Bu sunum sırasında Th'lerin aktivite kazanabilmesi için hem ASH yüzeyindeki MHC sınıf 2 ile sunulan antijenin THR'leri tarafından spesifik olarak tanınması hem de ASH yüzeyindeki B7-1 ve B7-2 eş uyaran molekülü ile Th yüzeyindeki CD28 eş uyaran molekülünün etkileşmesi gerekir. Eş uyaranın yokluğunda ilgili Th klonunda immün yanıtızsızlık (Anerji) gelişir. Ayrıca B7-1 ve B7-2 ekspresyonunda azalma durumunda Th yüzeyinde eksprese olan CTLA-4'ler de, B7-1 ve B7-2'ye CD28'den daha güçlü afinite ile bağlanarak Th'ye sağladıkları inhibitör sinyaller ile anerjiye yol açabilmektedir. Anerjik klonlar spesifik antijen ile tekrar karşılaştıklarında immün yanıt oluşturamazlar. Nakil nedeniyle kullanılan siklosporin ve takrolimus gibi immünsüpresif ilaçlar hücrelerin eş uyaran ekspresyonunu baskılayan moleküllerdir. Bu ilaçların kullanıldığı dönemde AKT yapılan hastaların yetersiz eş uyaran nedeniyle bağışçı HLA'lara spesifik klonlarının anerjiye yöneleceği; bu anerjik klonların da spesifik antijenleri taşıyan greftin sağ kalımına destek olacağı düşünülmektedir.^[39] Bu konuda diğer bir görüş ise anerjiyi AKT'nin damar yolu ile yapılan bir uygulama olmasıyla bağlamıştır. Buna göre damar içi yolla alıcı

dolaşımına geçen bağışçı antijenleri dalak veya karaciğer makrofajları, monositler ya da B hücreler gibi profesyonel olmayan ASH'ler tarafından yakalanıp Th'lere sunulmaktadır. Dolayısıyla B7-1 ve B7-2 eş uyaran eksprese etmede dendritik hücreler kadar yetkin olmayan bu hücrelerin antijen sunumunun, spesifik klonları anerjiye yönlendireceği düşünülmektedir.^[45] Bir diğer olası anerji mekanizmasının ise bağışçı lökositlerinin, kendi antijenlerini alıcı lenfositlerine sunma becerisiyle ilişkili olabileceği ifade edilmiştir. Bir self antijenin yabancı bir kişiye sunulabilmesi için MHC-peptit kompleksinin yabancı Th reseptörü tarafından tanınacak şekilde yabancı MHC-peptit kompleksi formunu taklit etmesi gerekir. Eğer AKT alıcısı ile kan bağışçısı arasında böyle bir paylaşım var ise bağışçı lökositleri alıcıya antijen sunumu yapabilir. Ancak kan ürünü içerisinde transfüzyon gününü beklerken eş uyaran eksprese etme özelliklerini önemli ölçüde yitirdiklerinden bu sunum biçiminin ilgili Th klonunun anerjisi ile sonuçlanabileceği bildirilmiştir.^[45]

Yukarıda bahsedilen ve geçmişten beri üzerinde en sık durulan mekanizmalara mikrokimerizm, Th1 tip immün yanıtın Th2 tip yanıtıya dönmesi, immün yanıt gösteren hücrelerin apoptozunun uyarılması gibi çeşitli mekanizmaları eklemek mümkündür.

Mikrokimerizm Hipotezi

Kan bağışçısı ve alıcısı arasındaki HLA uyumu, alıcıda allojeneik lökositlerin uzun yıllar yaşayabilmesine neden olabilmektedir. Küçük miktarda bağışçı lökositlerinin alıcıda uzun zamanlı engraftmanına mikrokimerizm denmektedir.^[19,20] Kan alıcıları dışında travma hastalarında, karaciğer nakli alıcılarında, yenidoğan döneminde takas yöntemi ile transfüzyon alanlarda ve gebelik öyküsü olanlarda uzun yıllar sonra bağışçıya veya fötüse ait lökositlere rastlanmıştır. Mikrokimerizm, alıcı immün yanıtının baskılanmasına, bağışçı lökositlerine tolerans gelişimine ve allogreft sağkalımına neden olabilmektedir. Bunu da Th1 sitokinlerinin üretimini ve Tc hücre aktivasyonunu baskılayıp Th2 sitokinlerinin salınımını artırarak yaptığı gösterilmiştir.^[46,47] Allojeneik kan transfüzyonunun da benzer şekilde etki edebileceği; Th1 sitokinlerinin üretimini baskılayarak antijen işleme, makrofaj aktivasyonu, sitotoksik aktivite gibi çeşitli hücrel immün işlevlerin bozulmasına yol açabileceği düşünülmektedir.

Th1 Tip İmmün Yanıtın Th2 Tip İmmün Yanıtıya Dönüşümü Hipotezi

Bu dönüşümün nasıl ve hangi mekanizma ile olduğu tam olarak bilinmemektedir. Ancak AKT sonrası alıcılarda Th2 tipi sitokin (IL-4, IL-5 veya IL-10) düzeyleri

yükselirken, Th1 tipi sitokin (IFN- γ , IL-2) düzeylerinin düştüğünün çok sayıda çalışma ile gösterilmesi; TRIM etkisinden sorumlu mekanizmalardan birinin Th1 \rightarrow Th2 dönüşümü olduğunu düşündürmektedir.^[39,46,48-54] Transfüzyonla ilişkili immünmodülasyon greft ömrünü uzatmak, Crohn hastalığı nüks hızını azaltmak, kanser nükslerini artırmak, ameliyat sonrası bakteriyel enfeksiyon sıklığını artırmak gibi etkileri düşünüldüğünde bu hipotez güç kazanmaktadır. Bu dönüşümden sorumlu tutulan mekanizmalar çok iyi bilinmese de öne sürülen mekanizmalardan bir tanesi kanın damar içi yolla verilmiş olmasıdır. Daha önce de bahsettiğimiz gibi damar içi verilen antijenler yetersiz eş uyaran ekspresyonu nedeniyle anerjiye yol açabilmektedir.^[45] Bu eş uyaran yetersizliğinin Th2 yanıtının güçlenmesi nedeniyle olabileceği de ifade edilmiştir.^[48,55] Th1 tip yanıtın Th2 tip yanıtıya dönüşümünden sorumlu tutulan bir diğer etken ise depolanma sürecinde kan bileşeni süpernatantında biriken moleküllerdir. Bu süreçte biriken ubiquitin Th2 yanıtını güçlendirdiği gösterilmiştir.^[50] Ayrıca AKT sonrası alıcı makrofajlarından artan TGF- β ve prostoglandin E2 (PGE2) salınımı olduğu ve PGE2'nin ise Th1 yanıtını baskıladığı gösterilmiştir.^[46,55,56]

Apoptoz Hipotezi

Transfüzyonla ilişkili immünmodülasyonun etkisinin olası diğer bir nedeni de depolanma sürecindeki kan bileşeninde apoptoz sonucu ölen hücrelerin alıcıya nakline bağlanmıştır. Buna göre nakledilen apoptotik hücrelerin TGF- β aktivasyonu alıcıda immünoşüpresyona yol açtığı varsayılmaktadır.^[57] Bu görüşü destekler nitelikli bir çalışmada bağışçı apoptotik lenfositlerinin transfüzyonuyla allogreft kabulünün güçlendiği ve kanda CD4⁺ CD25⁺ CD127⁻ Treg düzeyinin arttığı belirlenmiştir.^[58] Benzeri bir diğer çalışmada ise karaciğer naklinden yedi gün önce organ bağışçısı sıçandan alınan apoptotik lenfositlerin organ alıcısı sıçana nakledilmesi ile greft sağkalımında anlamlı bir artış saptanmış ve Th2 sitokin düzeylerinde (IL-4, IL-10) saptanan artışın bu toleransın oluşmasında rolü olabileceği düşünülmüştür.^[59]

TARTIŞMA

Yukarıdaki tüm hipotezlerde TRIM'in ana kaynağının daha önce ifade edilen öngörüye uygun olarak allojeneik MNH'ler ve genellikle bunlarla ilişkili yapılar olduğunu işaret etmektedir. Bu nedenle kan bileşeni içindeki lökositlerin bileşen içinden uzaklaştırılmasıyla TRIM etkisinin ortadan kaldırılabilirliği var sayılabilir. Kan bileşeni içindeki lökositlerin miktar olarak azaltılması işlemine lökosit azaltımı veya lökoredüksiyon adı verilir. Bu işlemin en etkin ve yaygın olarak kullanılan lökosit filtreleri aracılığıyla yapılan filtrasyon işlemidir. Filtrasyon işleminde kan bileşeni lökosit filtresinden geçirilerek ürün içindeki lökositlerin %99.99 oranında

azalması sağlanır ve işlem iki şekilde yapılmaktadır. Depolama öncesi lökosit azaltımı (DÖ-LA), kan bileşeni hazırlanırken yapılır. Bu yolla lökositlerin depolanma süreci boyunca zararlı birtakım mediyatörleri salgılaması ve bu mediyatörlerin ürün içinde birikimi engellenmiş olur. Depolama öncesi lökosit azaltımının ürün içindeki sitokin düzeyini azalttığı, zarar verici ve immünomodülatör etkileri engellediği gösterilmiştir.^[60-62] Depolama sonrası lökosit azaltımı (DS-LA) ise, kan bileşeni transfüzyon amacıyla alıcıya gönderilmeden hemen önce veya hasta başında lökosit filtreleri aracılığıyla yapılır. Bu yolla transfüzyon sırasında alıcıya geçen lökositler azaltılabilir ama depolanma süreci boyunca ürün içinde bulunan lökositlerden salınarak biriken mediyatörler işlem etkinliğini azaltır. Depolama sonrası lökosit azaltımı ES supernatanının MNH kültüründe TGF- β aktivitesini artırdığı gösterilmiştir.^[62] Dolayısıyla ideal olan lökosit filtreleri kullanılarak yapılan DÖ-LA işlemidir. Ancak lökoredüksiyonun febril non-hemolitik transfüzyon reaksiyonları, CMV gibi bazı enfeksiyöz ajanların geçişi ve HLA alloimmünizasyonu dışındaki transfüzyon komplikasyonları üzerindeki etkinliğine yönelik kanıtlar çeşitli ve çelişkilidir. Lökoredüksiyon ile immünmodülatuar bazı etkilerin engellenebildiğini gösteren çalışmaların^[14,63-66] yanı sıra engellenemediğini gösteren çalışmalar^[1,67-69] da bulunmaktadır. Transfüzyonla ilişkili immünmodülasyonun etkileri ile lökositlerin ve lökoredüksiyonun etkilerini değerlendiren çalışmalar incelendiğinde de benzer şekilde çelişkili sonuçlarla karşılaşmaktadır. Allojenik kan transfüzyonunun, özellikle de lökosit azaltılmamış (normal; N) ES'lerin kanser nüksünü artırdığı görüşünü değerlendirmek için planlanmış randomize kontrollü bir çalışmada, kolorektal kanser cerrahisi sırasında veya sonrasında N-ES transfüzyonu yapılmış kişilerde LA-ES transfüzyonu yapılanlara kıyasla kanser nüksünde istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunmamıştır.^[70] Kanser cerrahisi sırasında yapılan N-ES transfüzyonunun kanser nüksünü artırmadığını gösteren başka çalışmaların da bulunması nükslerin sadece bağışçı lökositlerine bağlanmaması gerektiğini düşündürmektedir.^[71,72] Öte yandan kanser cerrahisi sırasında güçlenen Th2 yanıtı, ameliyat sonrası nütrisyon, anemi gibi çok sayıda faktörün tabloya katkı yapabileceği; üstelik bazı anesteziğin immünsüpresif etkilerinin ameliyat sonrası AKT aracılığıyla daha da güçlenerek bu tabloya yol açabileceği ileri sürülmektedir.^[73] Ameliyat sonrası bakteriyel enfeksiyonların değerlendirildiği bazı çalışmalarda allojenik lökositler ile ameliyat sonrası enfeksiyon sıklığı arasında ilişki olmadığı bildirilmiştir.^[74,75] Ama lökositlerin uzaklaştırılmasıyla ameliyat sonrası bakteriyel enfeksiyon riskinin azaltılabileceğini belirten çalışmalar da bulunmaktadır.^[64] Kardiyak cerrahi hastalarında LA-ES kullanımının kısa dönem mortalite olasılığını azalttığı bildirilmiştir.^[14,63,76] Buna karşın büyük cerrahi geçiren

hastaları kapsayan randomize kontrollü bir çalışmada lökoredüksiyon ile kısa dönem mortalitenin azaltılamadığı da bildirilmiştir.^[77] Ancak, bu çalışmada yararlanan N-ES'lerin buffy-coat tabakası uzaklaştırıldığı için bu grubu N-ES olarak kabul etmemek gerekir.^[77] Allojenik lökositlerin greft ömrünü uzattığını ya da uzatmadığını ortaya koyan çalışmaların yanı sıra bilinenin aksine HIV ve CMV gibi latent enfeksiyonlara tekrar aktivasyon kazandırmadığını ve viral yükü değiştirmediğini gösteren çalışmalar da bulunmaktadır.^[78-80] Görüldüğü gibi çalışmaların yöndeş ve karşıt bu sonuçları TRIM etkisinde lökositlerin rolü ve lökoredüksiyonun etkinliği konusunda soru işareti oluşturmaktadır. Diğer bir ifade ile TRIM'in tek kaynağının kan bileşeni içindeki MNH'ler ve bunlarla ilişkili BYD-İM'ler olmayabileceğini düşündürmektedir. Bu çelişkili tablonun nedeni alıcı ve bağışçı arasındaki HLA-DR çeşitliliği olabilir. Çünkü AKT sonrası bağışçı ile alıcı arasındaki HLA-DR antijenlerinin paylaşım durumuna göre alloimmünizasyon veya immünosüpresyon gelişebileceği bildirilmiştir.^[81] En azından bir antijenin paylaşımı durumunda toleransın uyarıldığı, paylaşımın olmadığı durumlarda ise alloimmünizasyon gerçekleştiği öne sürülmüştür.^[16] Zaten kan bağışçısına ait MNH'lerin doğrudan TRIM'e neden olabilmesi için bir çeşit mikrokimerizm oluşturup alıcı dolaşımında kalıcı olmaları gerekmektedir. Belki de mikrokimerizmin ve TRIM tablosunun sık görülmemesinin nedeni alıcı ve bağışçı arasındaki HLA-DR paylaşımıdır. Öte yandan yukarıda bahsedilen çelişkili sonuçlar, lökositleri azaltma yolları, transfüze edilen ES'lerin raf ömürleri, transfüze edilen ES miktarı, hastaların tanıları, klinik gidişatları gibi değişkenler nedeniyle oluşmuş olabilir ya da MNH'lerle ilişkili olmayan BYD-İM'ler ve hücreler bu heterojeniteye katkı yapmış olabilir. Çünkü, depolanma sürecinde biriken BYD-İM çok çeşitlidir. Bunlar genellikle kan bileşenlerinin kan bankası stoğunda bekletildiği süreçte MNH'lerden salınsa da (sitokinler, histamin, eozinofil katyonik protein gibi), diğer kan hücreleri (serbest Hb, serbest demir, çözünür CD40L, lipid mediyatörler, kan bileşeni hazırlanırken kullanılan solüsyonlar vb.) tarafından da açığa çıkarılabilirler. Örneğin, plazma serbest demirinin potansiyel immün düzenleyici etkileri olduğu, düşük demir düzeyinin immün yanıtın Th1, artan düzeyinin ise Th2 yönünde gelişmesine yol açtığı bilinmektedir.^[82,83] Bir ünite ES içerisindeki demir düzeyi belki bu duruma neden olacak kadar yükselmeyebilir. Ancak, yoğun ve görece olarak uzun süre depolanmış ES transfüzyonu alan hastalarda kümülatif olarak yükselen demir düzeyi bu tabloya yol açıyor olabilir. Bununla birlikte makrofajların demir yüklenmesinin, immün yanıtın Th2 yönünde kaymasına aracılık ettikleri ve proenflamatuar (M1) formdan antienflamatuar (M2) forma dönüştükleri öne sürülmüştür.^[83,84] Depolanma sürecinde biriken demirin AKT sonrası alıcı makrofajlarında da

benzer etkiler göstererek immün yanıtı Th2 yönünde değiştirmesi de mümkündür. Bu nedenle, yoğun ve uzun süre depolanmış ES transfüzyonu alan hasta immün sisteminde, ES süpernatandaki serbest demir nedeniyle meydana gelebilecek M2 ve Th2 aktivitesindeki artış, TRIM mekanizmasında önemli bir etki oluşturuyor olabilir. Süpernatandaki BYD-İM'lere bir diğer örnek olarak lipopolisakkaritler (LPS) verilebilir. Ürün içinde biriken LPS'lerin hücre kültüründe Treg aktivitesini artırdığı gösterilmiştir.^[85,86] Lipopolisakkaritler AKT alıcısında Treg aktivasyonuna neden olarak immünsüpresif bir etkinin görülmesine aracılık ediyor veya bu etkiyi güçlendiriyor olabilir. Serbest demir ve LPS'ler ES süpernatandında depolanma sürecinde biriken çok sayıda molekül ve mediyatörden sadece iki tanesidir. Lökosit kökenli olmayan BYD-İM'ler lökoredüksiyon ile azaltılmayacakları için lökoredüksiyon etkinliğinin sınırlı kalmasına yol açıyor olabilirler. Transfüzyonun immün düzenleyici etkisinin nedenlerini anlamak için süpernatandaki diğer molekül ve mediyatörlerin değerlendirildiği kapsamlı çalışmalara gerek vardır.

Transfüzyonla ilişkili immünmodülasyonun etkisinde lökositler ve süpernatanın dışında eritrositlerle ilgili birtakım özelliklerin de rolü olabileceği bildirilmiştir. Yapılan çeşitli çalışmalar eritrositlerin de kanser gelişimi ve progresyonu üzerine olumsuz etkileri olduğunu, sepsis riskini, hatta mortaliteyi artırabildiğini, makrofaj plastisitesini (M1-M2) etkilediğini, hem oksijenaz-1 (HO-1) aracılığıyla Treg indüksiyonuna aracılık ettiğini ve Th yanıtını baskıladığını göstermiştir.^[84,87-92] Öte yandan eritrosit depolanma lezyonlarının da transfüzyonun immün düzenleyici rolüne sağladıkları katkılar tartışılmaktadır. Özellikle eritrosit kökenli MP'lerin AKT ile alıcıya geçtiklerinde immünsüpresif bir etkiye neden olabilecekleri bildirilmiştir.^[93,94] Eğer eritrositler gerçekten TRIM gelişiminde rolleri olan hücreler ise, lökoredüksiyonun etkisini azaltan etkenlerden biri olabilirler. Çünkü, filtrasyon sırasında eritrosit ve trombositler doğal olarak lökosit filtrelerinden geçmektedirler. Ancak, eritrositlerin TRIM ile ilişkisinden daha kesin bahsedebilmek için eklenecek yeni bilgiler ve çalışmalar yararlı olacaktır.

Allojenik kan transfüzyonunun immün düzenleyici etkilerinin ürünün depolanma süresi ve transfüze edilen ürün sayısı ile ilişkili olabileceği de iddia edilmektedir.^[14,63,88,95-101] Bu nedenle ES'lerin depolanma süresiyle TRIM ilişkisini değerlendiren çok sayıda çalışma yapılmıştır. On dört günden uzun süre depolanan ES'lerin bir yıllık mortaliteyi ve enfeksiyöz komplikasyonları artırdığının, ortalama altı gün daha uzun süreyle depolanmış ES'lerin multiorgan yetmezliğine ve ortalama sekiz gün uzun depolananların sepsise bağlı ölümlere yol açtığına gösterilmesi bu çalışmalara örnek olarak verilebilir.^[95-98]

Öte yandan TRIM etkisinin transfüze edilen ürün sayısı ile ilişkili olduğunu ön görmek de mantıksız olmayacaktır. Eğer TRIM tamamen hastaya ait değişkenlerden kaynaklanmıyor ve ürün ile ilişkili olarak ortaya çıkıyor ise, transfüze edilen ürün sayısı arttıkça alıcıda meydana gelecek olumsuz etkiler de buna paralel olarak artacaktır. Zaten üç üniteden fazla ES transfüzyonunun mortaliteyi artırdığı gösterilmiştir.^[14,63]

Özetle, TRIM'in AKT sonrası alıcı immün sisteminde başlıca klonal delesyon, immünsüpresyon, anerji, mikrokimerizm, immün yanıtın Th1'den Th2'ye kayması ve apoptoz gibi mekanizmaların etkisiyle meydana geldiği düşünülmektedir. Alıcıda bu etkinin ortaya çıkmasına neden olarak öncelikle ürün içerisindeki MNH'ler, BYD-İM'ler ve çHLA-1 molekülleri suçlanmaktadır. En çok suçlanan etkenlerden olan kan bağışçısına ait MNH'lerin doğrudan TRIM'e neden olma potansiyeli, muhtemelen alıcıyla bağışçı arasındaki HLA-DR çeşitliliği nedeniyle değişiklik göstermektedir. Depolanma süresi boyunca kan bileşeni içinde birikim gösteren BYD-İM'ler ve çHLA-1 molekülleri de alıcıdaki immün modülasyonun etkenlerinden olabilirler. çHLA-1 ve lökosit kaynaklı BYD-İM'lerin olası etkileri DÖ-LA işlemi ile engellenebilir iken, lökosit kaynaklı olmayan BYD-İM'lerin etkileri için bunu söylemek kolay değildir. Bunların dışında eritrositlerin kendilerinin de TRIM gelişiminde rol alabileceğinden şüphelenilmektedir. Eğer eritrositlerin böyle bir etkileri var ise bu etki de lökoredüksiyon ile ortadan kaldırılamayacaktır. Transfüzyonla ilişkili immünmodülasyonun etkeni olarak AKT ile nakledilen ürün sayısının ve raf ömrünün de önemli olduğuna dikkat çekilmektedir. Yoğun ve depolanma süresi uzun ES transfüzyonlarının immünmodülatuar etkileri gösterilmiştir. Öte yandan, TRIM etkileri her transfüzyon sonucunda karşılaşılan durumlar değildir ve etkilerin her birinin temelinde muhtemelen farklı mekanizmalar yatmaktadır. Belki de tüm bu etkilere ürüne ve hastaya bağlı farklı değişkenler yol açmaktadır. Her bir TRIM etkisinin nedeni ürün içindeki farklı bir yapının ilgili hasta grubunda gösterdiği fonksiyona bağlı olabilir. Örneğin, transfüzyon her hastada bakteriyel enfeksiyon yapmaktan ziyade ameliyat sonrası durumlarda bu tabloya yol açmaktadır. Bu hasta grubu içinde de lökoredüksiyon kardiyak cerrahi hastalarında bakteriyel kontaminasyonu engeller iken, diğer ameliyatlardan sonra etkisi olmamaktadır. Büyük olasılıkla her hasta grubu ürün içindeki farklı etkenlerden etkilenip TRIM'in klinik sonuçlarını göstermektedir.

Sonuç olarak, TRIM'e neden olduğundan şüphelenilen lökositler ile ilişkili ya da ilişkisiz çok sayıda etken bulunmaktadır. Ancak lökositler ve ilişkili yapılar halen en önemli kaynak durumdadır. Bu nedenle

lökoreduksiyonun TRIM etkisini azaltabileceği düşüncesi önemini korumaktadır.

Çıkar çakışması beyanı

Yazarlar bu yazının hazırlanması ve yayınlanması aşamasında herhangi bir çıkar çakışması olmadığını beyan etmişlerdir.

Finansman

Yazarlar bu yazının araştırma ve yazarlık sürecinde herhangi bir finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

KAYNAKLAR

- Vamvakas EC, Blajchman MA. Transfusion-related immunomodulation (TRIM): an update. *Blood Rev* 2007;21:327-48.
- Bilgin YM, Brand A. Transfusion-related immunomodulation: a second hit in an inflammatory cascade? *Vox Sang* 2008;95:261-71.
- Opelz G, Sengar DP, Mickey MR, Terasaki PI. Effect of blood transfusions on subsequent kidney transplants. *Transplant Proc* 1973;5:253-9.
- Gantt CL. Red blood cells for cancer patients. *Lancet* 1981;2:363.
- Amato A, Pescatori M. Perioperative blood transfusions for the recurrence of colorectal cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2006;1:005033.
- Blumberg N, Heal JM. Effects of transfusion on immune function. Cancer recurrence and infection. *Arch Pathol Lab Med* 1994;118:371-9.
- Heiss MM, Mempel W, Delanoff C, Jauch KW, Gabka C, Mempel M, et al. Blood transfusion-modulated tumor recurrence: first results of a randomized study of autologous versus allogeneic blood transfusion in colorectal cancer surgery. *J Clin Oncol* 1994;12:1859-67.
- Mowbray JF, Gibbins C, Liddell H, Reginald PW, Underwood JL, Beard RW. Controlled trial of treatment of recurrent spontaneous abortion by immunisation with paternal cells. *Lancet* 1985;1:941-3.
- Peters WR, Fry RD, Fleshman JW, Kodner IJ. Multiple blood transfusions reduce the recurrence rate of Crohn's disease. *Dis Colon Rectum* 1989;32:749-53.
- Blumberg N, Heal JM. Effects of transfusion on immune function. Cancer recurrence and infection. *Arch Pathol Lab Med* 1994;118:371-9.
- Chang H, Hall GA, Geerts WH, Greenwood C, McLeod RS, Sher GD. Allogeneic red blood cell transfusion is an independent risk factor for the development of postoperative bacterial infection. *Vox Sang* 2000;78:13-8.
- Houbiers JG, van de Velde CJ, van de Wattering LM, Hermans J, Schreuder S, Bijnen AB, et al. Transfusion of red cells is associated with increased incidence of bacterial infection after colorectal surgery: a prospective study. *Transfusion* 1997;37:126-34.
- Sloand E, Kumar P, Klein HG, Merritt S, Sacher R. Transfusion of blood components to persons infected with human immunodeficiency virus type 1: relationship to opportunistic infection. *Transfusion* 1994;34:48-53.
- van de Wattering LM, Hermans J, Houbiers JG, van den Broek PJ, Bouter H, Boer F, et al. Beneficial effects of leukocyte depletion of transfused blood on postoperative complications in patients undergoing cardiac surgery: a randomized clinical trial. *Circulation* 1998;97:562-8.
- Vamvakas EC, Blajchman MA. Deleterious clinical effects of transfusion-associated immunomodulation: fact or fiction? *Blood* 2001;97:1180-95.
- Bordin JO, Heddle NM, Blajchman MA. Biologic effects of leukocytes present in transfused cellular blood products. *Blood* 1994;84:1703-21.
- Bal SH, Heper Y, Kumaş LT, Güvenç F, Budak F, Göral G, et al. Effect of storage period of red blood cell suspensions on helper t cell subpopulation. *Blood Transfusion* 2017 [in press].
- Clark DA, Gorczynski RM, Blajchman MA. Transfusion-related immunomodulation due to peripheral blood dendritic cells expressing the CD200 tolerance signaling molecule and alloantigen. *Transfusion* 2008;48:814-21.
- Beko KR, Tran HO, Hewitt CW, Black KS, Patel MP, Ramsamooj R, et al. Mechanisms of prior blood transfusion-cyclosporine-induced tolerance: a potential role for immunocellular chimerism. *Transplant Proc* 1991;23:147-8.
- Dzik WH. Mononuclear cell microchimerism and the immunomodulatory effect of transfusion. *Transfusion* 1994;34:1007-12.
- Nielsen HJ, Reimert CM, Pedersen AN, Brünner N, Edvardsen L, Dybkjaer E, et al. Time-dependent, spontaneous release of white cell- and platelet-derived bioactive substances from stored human blood. *Transfusion* 1996;36:960-5.
- Ghio M, Ottonello L, Contini P, Amelotti M, Mazzei C, Indiveri F, et al. Transforming growth factor-beta1 in supernatants from stored red blood cells inhibits neutrophil locomotion. *Blood* 2003;102:1100-7.
- Hodge G, Markus C, Nairn J, Hodge S. Effect of blood storage conditions on leucocyte intracellular cytokine production. *Cytokine* 2005;32:7-11.
- Kristiansson M, Soop M, Shanwell A, Sundqvist KG. Prestorage versus bedside white blood cell filtration of red blood cell concentrates: effects on the content of cytokines and soluble tumor necrosis factor receptors. *J Trauma* 1996;40:379-83.
- Ghio M, Contini P, Negrini S, Mazzei C, Zocchi MR, Poggi A. Down regulation of human natural killer cell-mediated cytotoxicity induced by blood transfusion: role of transforming growth factor-beta(1), soluble Fas ligand, and soluble Class I human leukocyte antigen. *Transfusion* 2011;51:1567-73.
- Silliman CC, Voelkel NF, Allard JD, Elzi DJ, Tuder RM, Johnson JL, et al. Plasma and lipids from stored packed red blood cells cause acute lung injury in an animal model. *J Clin Invest* 1998;101:1458-67.
- Silliman CC, Moore EE, Kelher MR, Khan SY, Gellar L, Elzi DJ. Identification of lipids that accumulate during the routine storage of prestorage leukoreduced red blood cells and cause acute lung injury. *Transfusion* 2011;51:2549-54.
- Baumgartner JM, Silliman CC, Moore EE, Banerjee A, McCarter MD. Stored red blood cell transfusion induces regulatory T cells. *J Am Coll Surg* 2009;208:110-9.
- Grimshaw K, Sahler J, Spinelli SL, Phipps RP, Blumberg N. New frontiers in transfusion biology: identification and significance of mediators of morbidity and mortality in stored red blood cells. *Transfusion* 2011;51:874-80.

30. Mynster T, Dybkjoer E, Kronborg G, Nielsen HJ. Immunomodulating effect of blood transfusion: is storage time important? *Vox Sang* 1998;74:176-81.
31. Adamson JW. New blood, old blood, or no blood? *N Engl J Med* 2008;358:1295-6.
32. Puppo F, Contini P, Ghio M, Brenci S, Scudeletti M, Filaci G, 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.
33. Magee CC, Sayegh MH. Peptide-mediated immunosuppression. *Curr Opin Immunol* 1997;9:669-75.
34. Ghio M, Contini P, Ubezio G, Ansaldi F, Setti M, Tripodi G. Blood transfusions with high levels of contaminating soluble HLA-I correlate with levels of soluble CD8 in recipients' plasma; a new control factor in soluble HLA-I-mediated transfusion-modulated immunomodulation? *Blood Transfus* 2014;12:105-8.
35. Blajchman MA, Bordin JO. Mechanisms of transfusion-associated immunosuppression. *Curr Opin Hematol* 1994;1:457-61.
36. Brunson ME, Alexander JW. Mechanisms of transfusion-induced immunosuppression. *Transfusion* 1990;30:651-8.
37. Blajchman MA, Bardossy L, Carmen R, Sastry A, Singal DP. Allogeneic blood transfusion-induced enhancement of tumor growth: two animal models showing amelioration by leukodepletion and passive transfer using spleen cells. *Blood* 1993;81:1880-2.
38. Ghio M, Contini P, Mazzei C, Brenci S, Barberis G, Filaci G, et al. Soluble HLA class I, HLA class II, and Fas ligand in blood components: a possible key to explain the immunomodulatory effects of allogeneic blood transfusions. *Blood* 1999;93:1770-7.
39. Kirkley SA. Proposed mechanisms of transfusion-induced immunomodulation. *Clin Diagn Lab Immunol* 1999;6:652-7.
40. Terasaki PI. *Transplantation* 1984;37:119-25.
41. Naji A. Induction of tolerance by intrathymic inoculation of alloantigen. *Curr Opin Immunol* 1996;8:704-9.
42. Puppo F, Ghio M, Contini P, Mazzei C, Indiveri F. Fas, Fas ligand, and transfusion immunomodulation. *Transfusion* 2001;41:416-8.
43. Ashkenazi A, Dixit VM. Death receptors: signaling and modulation. *Science* 1998;281:1305-8.
44. Singal DP, Leber B, Harnish DG, Frame B, Joseph S, Blajchman MA. Molecular genetic basis for the antiidiotypic antibody response associated with successful renal allograft survival in humans. *Transplant Proc* 1991;23:1059-61.
45. Mincheff MS, Meryman HT, Kapoor V, Alsop P, Wötzel M. Blood transfusion and immunomodulation: a possible mechanism. *Vox Sang* 1993;65:18-24.
46. Gafter U, Kalechman Y, Sredni B. Blood transfusion enhances production of T-helper-2 cytokines and transforming growth factor beta in humans. *Clin Sci (Lond)* 1996;91:519-23.
47. Hu A, Li Q, Shi H, Tai Q, Wu L, Xiong J, et al. Donor-derived bone marrow transfusion produces mixed chimerism and promotes a Th2 shift in Th1/Th2 balance in rat heterotopic small bowel transplantation. *Dig Liver Dis* 2012;44:988-94.
48. Babcock GF, Alexander JW. The effects of blood transfusion on cytokine production by TH1 and TH2 lymphocytes in the mouse. *Transplantation* 1996;61:465-8.
49. Guo JR, Xu F, Jin XJ, Shen HC, Liu Y, Zhang YW, et al. Impact of allogenic and autologous transfusion on immune function in patients with tumors. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014;15:467-74.
50. Zhu X, Yu B, You P, Wu Y, Fang Y, Yang L, et al. Ubiquitin released in the plasma of whole blood during storage promotes mRNA expression of Th2 cytokines and Th2-inducing transcription factors. *Transfus Apher Sci* 2012;47:305-11.
51. Pandey P, Chaudhary R, Aggarwal A, Kumar R, Khetan D, Verma A. Transfusion-associated immunomodulation: Quantitative changes in cytokines as a measure of immune responsiveness after one time blood transfusion in neurosurgery patients. *Asian J Transfus Sci* 2010;4:78-85.
52. Wood ML, Gottschalk R, Monaco AP. Effect of blood transfusion on IL-2 production. *Transplantation* 1988;45:930-5.
53. Lannan KL, Sahler J, Spinelli SL, Phipps RP, Blumberg N. Transfusion immunomodulation--the case for leukoreduced and (perhaps) washed transfusions. *Blood Cells Mol Dis* 2013;50:61-8.
54. Blumberg N, Heal JM. The transfusion immunomodulation theory: the Th1/Th2 paradigm and an analogy with pregnancy as a unifying mechanism. *Semin Hematol* 1996;33:329-40.
55. Perez RV, Swanson C, Morgan M, Erickson K, Hubbard NE, German JB. Portal venous transfusion up-regulates Kupffer cell cyclooxygenase activity: a mechanism of immunosuppression in organ transplantation. *Transplantation* 1997;64:135-9.
56. Betz M, Fox BS. Prostaglandin E2 inhibits production of Th1 lymphokines but not of Th2 lymphokines. *J Immunol* 1991;146:108-13.
57. Dzik WH. Apoptosis, TGF beta and transfusion-related immunosuppression: Biologic versus clinical effects. *Transfus Apher Sci* 2003;29:127-9.
58. Cheng J, Zhou L, Qin YS, Wang Y, Xie HY, Feng XW, et al. Donor apoptotic lymphocyte transfusion-induced liver allograft tolerance by up-regulation of CD4(+)CD25(+) regulatory T cells in peripheral blood. *Transplant Proc* 2009;41:3893-7.
59. Feng JF, Chen F, Liu H, Liu J. Induction of immune tolerance by pre-infusion of apoptotic lymphocytes derived from peripheral blood of donor rats before liver transplantation. *Minerva Chir* 2013;68:183-9.
60. Shanwell A, Kristiansson M, Remberger M, Ringdén O. Generation of cytokines in red cell concentrates during storage is prevented by prestorage white cell reduction. *Transfusion* 1997;37:678-84.
61. Phelan HA, Eastman AL, Aldy K, Carroll EA, Nakonezny PA, Jan T, et al. Prestorage leukoreduction abrogates the detrimental effect of aging on packed red cells transfused after trauma: a prospective cohort study. *Am J Surg* 2012;203:198-204.
62. Hodge GL, Hodge SJ, Nairn J, Tippett E, Holmes M, Reynolds PN. Poststorage leuko-depleted plasma inhibits T-cell proliferation and Th1 response in vitro: characterization of TGFbeta-1 as an important immunomodulatory component in stored blood. *Transplantation* 2005;80:95-101.
63. Bilgin YM, van de Watering LM, Eijsman L, Versteegh MI, Brand R, van Oers MH, et al. Double-blind, randomized controlled trial on the effect of leukocyte-depleted erythrocyte transfusions in cardiac valve surgery. *Circulation* 2004;109:2755-60.
64. Blumberg N, Zhao H, Wang H, Messing S, Heal JM, Lyman GH. The intention-to-treat principle in clinical trials and meta-analyses of leukoreduced blood transfusions in surgical patients. *Transfusion* 2007;47:573-81.

65. Hébert PC, Fergusson D, Blajchman MA, Wells GA, Kmetic A, Coyle D, et al. Clinical outcomes following institution of the Canadian universal leukoreduction program for red blood cell transfusions. *JAMA* 2003;289:1941-9.
66. Friese RS, Sperry JL, Phelan HA, Gentilello LM. The use of leukoreduced red blood cell products is associated with fewer infectious complications in trauma patients. *Am J Surg* 2008;196:56-61.
67. Phelan HA, Sperry JL, Friese RS. Leukoreduction before red blood cell transfusion has no impact on mortality in trauma patients. *J Surg Res* 2007;138:32-6
68. Vamvakas EC, Blajchman MA. Prestorage versus poststorage white cell reduction for the prevention of the deleterious immunomodulatory effects of allogeneic blood transfusion. *Transfus Med Rev* 2000;14:23-33.
69. Vamvakas EC. Meta-analysis of randomized controlled trials investigating the risk of postoperative infection in association with white blood cell-containing allogeneic blood transfusion: the effects of the type of transfused red blood cell product and surgical setting. *Transfus Med Rev* 2002;16:304-14.
70. Skånberg J, Lundholm K, Haglind E. Effects of blood transfusion with leucocyte depletion on length of hospital stay, respiratory assistance and survival after curative surgery for colorectal cancer. *Acta Oncol* 2007;46:1123-30.
71. van de Watering LM, Brand A, Houbiers JG, Klein Kranenbarg WM, Hermans J, van de Velde C. Perioperative blood transfusions, with or without allogeneic leucocytes, relate to survival, not to cancer recurrence. *Br J Surg* 2001;88:267-72.
72. Lange MM, van Hilten JA, van de Watering LM, Bijnen BA, Roumen RM, Putter H, et al. Leucocyte depletion of perioperative blood transfusion does not affect long-term survival and recurrence in patients with gastrointestinal cancer. *Br J Surg* 2009;96:734-40.
73. Cata JP, Wang H, Gottumukkala V, Reuben J, Sessler DI. Inflammatory response, immunosuppression, and cancer recurrence after perioperative blood transfusions. *Br J Anaesth* 2013;110:690-701.
74. Vamvakas EC. White-blood-cell-containing allogeneic blood transfusion and postoperative infection or mortality: an updated meta-analysis. *Vox Sang* 2007;92:224-32.
75. Nathens AB, Nester TA, Rubenfeld GD, Nirula R, Gernsheimer TB. The effects of leukoreduced blood transfusion on infection risk following injury: a randomized controlled trial. *Shock* 2006;26:342-7.
76. Wallis JP, Chapman CE, Orr KE, Clark SC, Forty JR. Effect of WBC reduction of transfused RBCs on postoperative infection rates in cardiac surgery. *Transfusion* 2002;42:1127-34.
77. van Hilten JA, van de Watering LM, van Bockel JH, van de Velde CJ, Kievit J, Brand R, et al. Effects of transfusion with red cells filtered to remove leucocytes: randomised controlled trial in patients undergoing major surgery. *BMJ* 2004;328:1281.
78. Opelz G, Vanrenterghem Y, Kirste G, Gray DW, Horsburgh T, Lachance JG, et al. Prospective evaluation of pretransplant blood transfusions in cadaver kidney recipients. *Transplantation* 1997;63:964-7.
79. Hiesse C, Busson M, Buisson C, Farahmand H, Bierling P, Benbunan M, et al. Multicenter trial of one HLA-DR-matched or mismatched blood transfusion prior to cadaveric renal transplantation. *Kidney Int* 2001;60:341-9.
80. Collier AC, Kalish LA, Busch MP, Gernsheimer T, Assmann SF, Lane TA, et al. Leukocyte-reduced red blood cell transfusions in patients with anemia and human immunodeficiency virus infection: the Viral Activation Transfusion Study: a randomized controlled trial. *JAMA* 2001;285:1592-601.
81. Lagaaij EL, Ruigrok MB, van Rood JJ, Hendriks GF, van der Woude F, Weimar W, et al. Blood transfusion induced changes in cell-mediated lympholysis: to immunize or not to immunize. *J Immunol* 1991;147:3348-52.
82. Walker EM Jr, Walker SM. Effects of iron overload on the immune system. *Ann Clin Lab Sci* 2000;30:354-65.
83. Theurl I, Fritsche G, Ludwiczek S, Garimorth K, Bellmann-Weiler R, Weiss G. The macrophage: a cellular factory at the interphase between iron and immunity for the control of infections. *Biometals* 2005;18:359-67.
84. Cairo G, Pietrangelo A. Iron regulatory proteins in pathobiology. *Biochem J* 2000;352:241-50.
85. Baumgartner JM, Nydam TL, Clarke JH, Banerjee A, Silliman CC, McCarter MD. Red blood cell supernatant potentiates LPS-induced proinflammatory cytokine response from peripheral blood mononuclear cells. *J Interferon Cytokine Res* 2009;29:333-8.
86. Caramalho I, Lopes-Carvalho T, Ostler D, Zelenay S, Haury M, Demengeot J. Regulatory T cells selectively express toll-like receptors and are activated by lipopolysaccharide. *J Exp Med* 2003;197:403-11.
87. Atzil S, Arad M, Glasner A, Abiri N, Avraham R, Greenfeld K, et al. Blood transfusion promotes cancer progression: a critical role for aged erythrocytes. *Anesthesiology* 2008;109:989-97.
88. Hod EA, Zhang N, Sokol SA, Wojczyk BS, Francis RO, Ansaldi D, et al. Transfusion of red blood cells after prolonged storage produces harmful effects that are mediated by iron and inflammation. *Blood* 2010;115:4284-92.
89. Brusko TM, Wasserfall CH, Agarwal A, Kapturczak MH, Atkinson MA. An integral role for heme oxygenase-1 and carbon monoxide in maintaining peripheral tolerance by CD4+CD25+ regulatory T cells. *J Immunol* 2005;174:5181-6.
90. Sakaguchi S, Miyara M, Costantino CM, Hafler DA. FOXP3+ regulatory T cells in the human immune system. *Nat Rev Immunol* 2010;10:490-500.
91. Yazdanbakhsh K, Bao W, Zhong H. Immunoregulatory effects of stored red blood cells. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2011;2011:466-9.
92. Long K, Meier C, Bernard A, Williams D, Davenport D, Woodward J. T-cell suppression by red blood cells is dependent on intact cells and is a consequence of blood bank processing. *Transfusion* 2014;54:1340-7.
93. Sadallah S, Eken C, Schifferli JA. Erythrocyte-derived ectosomes have immunosuppressive properties. *J Leukoc Biol* 2008;84:1316-25.
94. Kriebardis A, Antonelou M, Stamoulis K, Papassideri I. Cell-derived microparticles in stored blood products: innocent-bystanders or effective mediators of post-transfusion reactions? *Blood Transfus* 2012;10:25-38.
95. Zallen G, Offner PJ, Moore EE, Blackwell J, Ciesla DJ, Gabriel J, et al. Age of transfused blood is an independent risk factor for postinjury multiple organ failure. *Am J Surg* 1999;178:570-2.
96. Offner PJ, Moore EE, Biffl WL, Johnson JL, Silliman CC. Increased rate of infection associated with transfusion of old blood after severe injury. *Arch Surg* 2002;137:711-6.

97. Purdy FR, Tweeddale MG, Merrick PM. Association of mortality with age of blood transfused in septic ICU patients. *Can J Anaesth* 1997;44:1256-61.
98. Koch CG, Li L, Sessler DI, Figueroa P, Hoeltge GA, Mihaljevic T, et al. Duration of red-cell storage and complications after cardiac surgery. *N Engl J Med* 2008;358:1229-39.
99. Cholette JM, Pietropaoli AP, Henrichs KF, Alfieri GM, Powers KS, Phipps R, et al. Longer RBC storage duration is associated with increased postoperative infections in pediatric cardiac surgery. *Pediatr Crit Care Med* 2015;16:227-35.
100. Salpeter SR, Buckley JS, Chatterjee S. Impact of more restrictive blood transfusion strategies on clinical outcomes: a meta-analysis and systematic review. *Am J Med* 2014;127:124-131.
101. Holst LB, Petersen MW, Haase N, Perner A, Wetterslev J. Restrictive versus liberal transfusion strategy for red blood cell transfusion: systematic review of randomised trials with meta-analysis and trial sequential analysis. *BMJ* 2015;350:1354.