

Anticuerpos, antígenos leucocitarios humanos y biomoduladores en los efectos adversos agudos de las transfusiones

Julio César Martínez Álvarez

Departamento de HLA y Trasplante del Banco Central de Sangre Centro Médico Nacional (CMN) Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), México, D.F.

Resumen

Con la aparición de la epidemia del síndrome de deficiencia inmunoadquirida (SIDA), los cambios principales se dieron en los bancos de sangre y en la medicina transfusional. Estos cambios se dieron principalmente en la selección del donador y en las pruebas de escrutinio de enfermedades infecciosas; los bancos de sangre tuvieron que modificar su filosofía organizacional respecto a la calidad. La transfusión de componentes sanguíneos son procedimientos que nos permiten corregir las deficiencias hematológicas para las cuales fue indicada. Sin embargo, en la actualidad, a pesar de los estrictos controles que anteceden a la transfusión, los receptores pueden presentar efectos no deseables, los que se conocen como efectos adversos o reacciones adversas de la transfusión. Los anticuerpos y antígenos leucocitarios humanos (HLA) desempeñan un papel muy importante en una serie de eventos relacionados con la transfusión, como: refractariedad plaquetaria mediada por reacción inmune; reacciones transfusionales febriles no hemolíticas; lesión pulmonar aguda por transfusiones (TRALI); enfermedad injerto contra hospedero. La determinación de anticuerpos anti-HLA es una prueba que en los países más desarrollados se utiliza de manera cotidiana en la evaluación periódica de los pacientes multitransfundidos o inscritos en listas de espera de órganos provenientes de donadores fallecidos. Los biomoduladores son capaces de modificar respuestas biológicas, los cuales al actuar en forma secuencial conducen a la diferenciación de los linfocitos T. Estos agentes pueden subcategorizarse en aquellos que facilitan una respuesta inmune normal, los que estimulan la respuesta inmune, los que son capaces de inducir inmunosupresión no citotóxica, y los que incrementan la capacidad del hospedero de tolerar el daño por modalidades citotóxicas del tratamiento (transfusión o trasplante).

PALABRAS CLAVE: HLA. Biomoduladores. Transfusión. Complejo principal de histocompatibilidad. Anticuerpos anti-HLA.

Abstract

With the onset of the AIDS epidemic, major changes occurred in blood banking and transfusion medicine. These changes occurred mainly in donor selection and screening tests for infectious diseases, blood centers modified their organizational philosophy regarding quality. Transfusion of blood products are procedures that allow us to correct the haematology deficiencies for which was indicated. But today, despite the strict controls that precede transfusion, recipients may have undesirable effects, which are known as adverse effects or adverse reactions to transfusion. Antibodies and antigens of the HLA system plays a role in a series of events related to transfusion, such as immunological platelet refractoriness, febrile non-haemolytic transfusion reactions, transfusion related acute lung injury (TRALI) and transfusion-associated graft-versus-host disease. The determination of anti-HLA antibodies is evidence that in most developed countries is used on a daily basis in the regular assessment of patients multitransfused or waiting lists for organs from deceased donors. The biomodulators are able to modify biological responses which act in sequence to

Correspondencia:

*Julio César Martínez Álvarez

Bolívar, 714-202

Col. Álamos, Del. Benito Juárez, C.P. 03400, México, D.F.

E-mail: juliocesar_ma@yahoo.com.mx

Fecha de recepción en versión modificada: 13-09-2012

Fecha de aceptación: 20-09-2012

lead to the differentiation of T lymphocytes. These agents may subcategorizes those which facilitate a normal immune response, those stimulates the immune response, those are capable of inducing immunosuppression not cytotoxic, and those enhancing the ability of the host to tolerate damage by cytotoxic treatment (transfusion or transplant).

KEY WORDS: HLA. Biomodulators. Transfusion. Major histocompatibility complex. Antibodies anti-HLA.

Introducción

Con la aparición de la epidemia del SIDA, los cambios principales se dieron en los bancos de sangre y en la medicina transfusional. Estos cambios se dieron principalmente en la selección del donador y en las pruebas de escrutinio de enfermedades infecciosas; los bancos de sangre tuvieron que modificar su filosofía organizacional respecto a la calidad. Los modelos anteriores de los bancos de sangre fueron reemplazados por modelos más rígidos en el control del proceso para garantizar calidad y seguridad del producto sanguíneo. Todos los conceptos de calidad fueron implementados, dando como resultado cambios sustanciales en la filosofía, cultura organizacional y estructura de los bancos de sangre (Fig. 1)¹.

El uso apropiado de la sangre y componentes sanguíneos se define como la transfusión de productos de la sangre seguros, para tratar aquellas condiciones que pueden llevar a morbilidad significativa y/o mortalidad y que no pueden ser prevenidas o manejadas efectivamente por ningún otro medio.

De ahí que los bancos de sangre y servicios de transfusión desempeñan un papel importante en la calidad de los diferentes componente sanguíneos y están obligados al cumplimiento de las normativas relacionadas con las buenas prácticas de banco de sangre y medicina transfusional. Por otra parte, dado que los procesos de recolección, procesamiento, disponibilidad y uso de los componentes sanguíneos tienen un alto costo social y financiero, estos deben ser optimizados.

La transfusión sanguínea puede ser una intervención que salva la vida o mejora rápidamente una condición grave, sin embargo, como todo tratamiento puede conllevar a complicaciones agudas o tardías, además incluye riesgos infecciosos que pueden tener consecuencias graves o mortales a pesar de los estrictos controles que anteceden a la transfusión.

Por esta razón, antes de cualquier decisión terapéutica transfusional se debe realizar un riguroso análisis de los beneficios y los riesgos que se pueden esperar

en cada caso, así como el establecimiento de lineamientos sobre los estudios rutinarios en materia de análisis de anticuerpos que pudiesen provocar reacciones agudas al paciente, aunado a las indicaciones adecuadas de los diferentes productos sanguíneos disponibles en los bancos de sangre tomando en cuenta la necesidad de cada receptor. Además, todos los hospitales deben tener procedimientos estándar para cada etapa del proceso clínico de la transfusión y todo el personal involucrado debe estar capacitado para seguirlos. En este sentido, el fortalecimiento de la hemovigilancia y la creación de estudios de rutina, que garanticen el grado de aloinmunización de cada receptor y que aseguren la inocuidad de los productos sanguíneos a nivel nacional, regional y hospitalario, contribuirán a estandarizar la calidad terapéutica de la sangre y sus componentes²⁻⁴.

Efectos adversos de la transfusión⁵

La transfusión de componentes sanguíneos es un procedimiento que nos permite corregir las deficiencias hematológicas para la cual fue indicada. Sin embargo, en la actualidad, a pesar de los estrictos controles que anteceden a la transfusión, los receptores pueden presentar efectos no deseables, los que se conocen como efectos adversos o reacciones adversas de la transfusión, las cuales pueden ser:

- Agudas: aparecen durante el acto transfusional o poco tiempo después (hasta 24 h).
 - De origen inmunológico:
 - Reacción hemolítica aguda.
 - Reacción febril no hemolítica.
 - Reacción alérgica.
 - Lesión pulmonar aguda por transfusiones.
 - Aloinmunización con destrucción plaquetaria inmediata.
 - De origen no inmunológico:
 - Contaminación bacteriana.
 - Sobrecarga circulatoria.
 - Hipotensión.
- Tardías: tienen lugar más allá de las 24 h después del inicio de la transfusión.

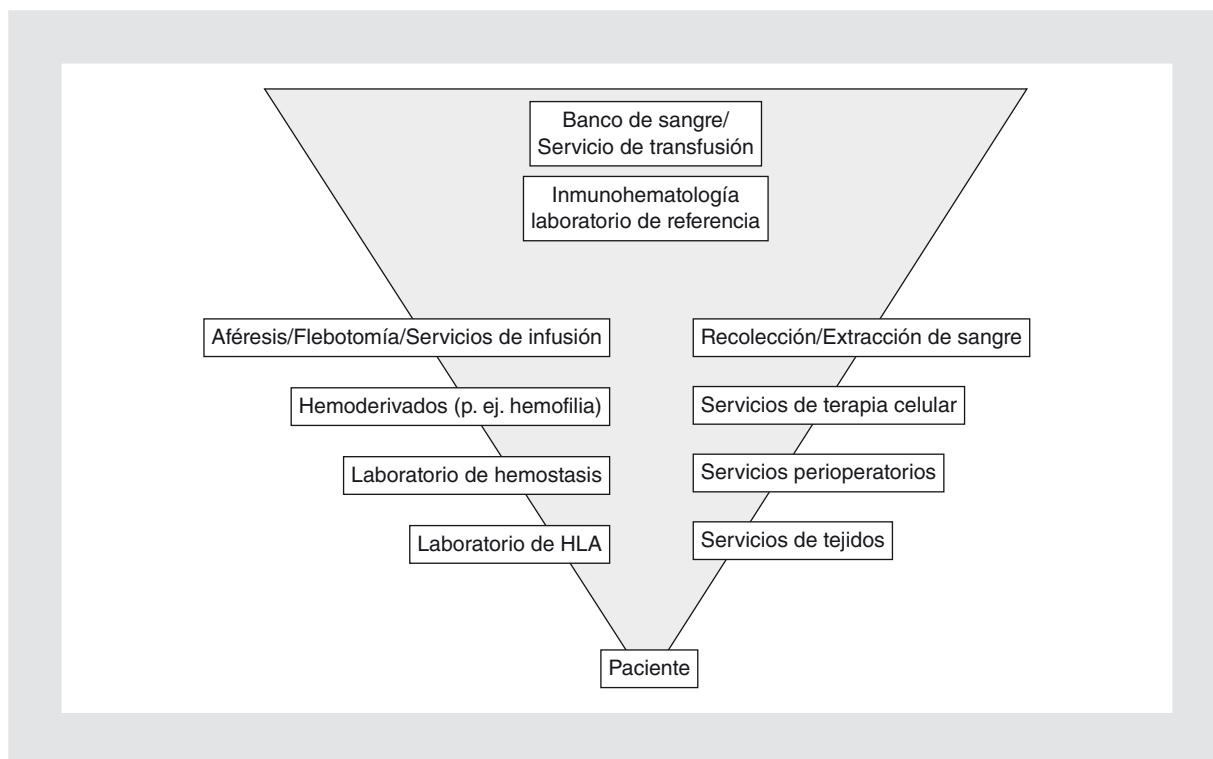


Figura 1. Filosofía organizacional de los bancos de sangre (adaptado de *Transfusion.* 2006;46(5)).

- De origen inmunológico:
 - Reacción hemolítica retardada.
 - Aloinmunización frente a antígenos eritrocitarios, plaquetarios, leucocitarios o proteínas plasmáticas.
 - Púrpura postransfusional.
 - Enfermedad del injerto contra el huésped postransfusional.
 - Inmunomodulación.
- De origen no inmunológico:
 - Transmisión de agentes infecciosos.
 - Hemosiderosis postransfusional.
 - Transfusiones masivas.

Antígenos leucocitarios humanos de leucocitos y plaquetas

Los HLA forman un sistema complejo organizado bajo determinaciones de bases genéticas (genes) de donde resultan productos moleculares que son de vital importancia en la regulación inmune, las transfusiones y los trasplantes de órganos y tejidos. Existen varios antígenos en la superficie celular de las plaquetas, algunos de los cuales son compartidos con otro tipo de células. Los anticuerpos significativos que reaccionan con plaquetas caen dentro de tres grupos: anticuerpos

anti-ABO, anticuerpos anti-HLA y anticuerpos a antígenos específicos plaquetarios⁶.

Los genes de los antígenos del sistema HLA están localizados en el complejo principal de histocompatibilidad (MHC), en el brazo corto del cromosoma 6 que se hereda en bloque como un haplotipo, distribuidos en diferentes *locus* estrechamente ligados y denominados como clase I = A, B y C, y clase II = DR, DQ y DP. Estos genes contribuyen al reconocimiento de los antígenos propios y no propios ante la respuesta inmune a un estímulo antigénico, coordinando así la respuesta de inmunidad celular y humoral. Los productos del gen *HLA* son moléculas de glucoproteínas que se encuentran expresadas con intensidades variables sobre la membrana de la mayoría de las células del cuerpo humano, incluyendo: linfocitos, granulocitos y monocitos, además de plaquetas. Los eritrocitos maduros pierden la expresión de antígenos HLA, aunque como normoblastos nucleados sí lo expresan. Después del sistema de antígenos ABO (que es el más importante), sigue el sistema HLA, y está directamente relacionado con:

- El éxito en el trasplante de médula ósea y en la selección del «donante ideal» para un trasplante.
- Generación de anticuerpos anti-HLA relacionados con la presentación de reacciones adversas a la transfusión como:

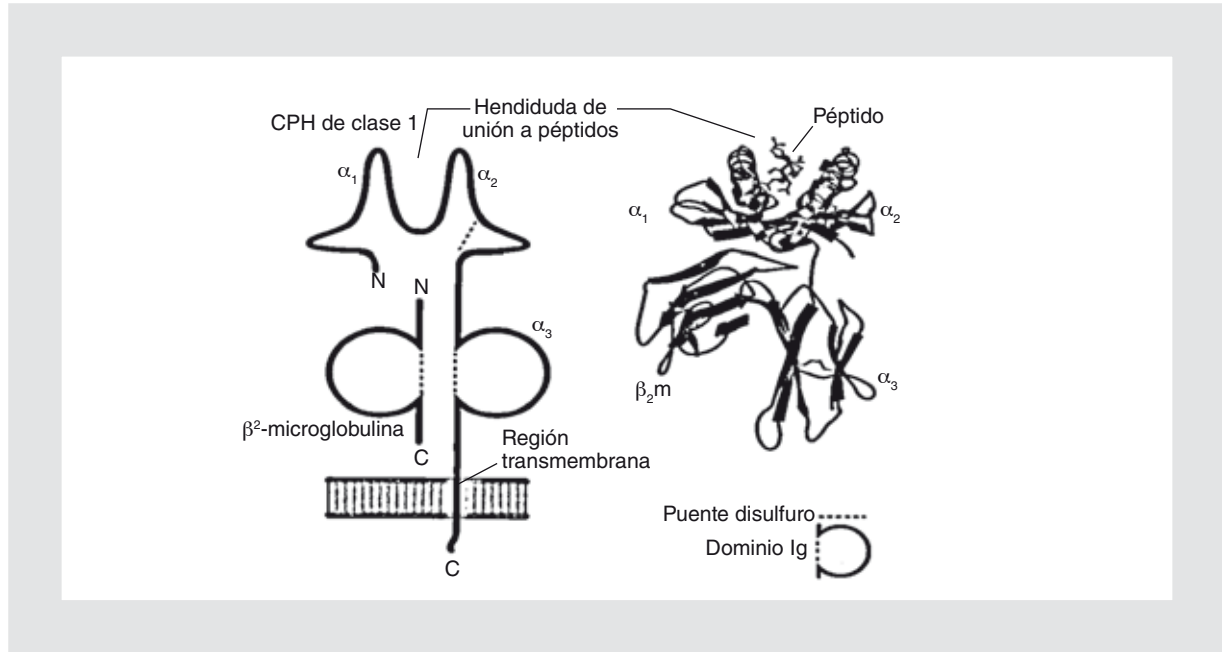


Figura 2. Estructura de las moléculas de clase I.

- Refractoriedad plaquetaria mediada por reacción inmune.
- Reacciones febriles no hemolíticas.
- Lesión pulmonar aguda por transfusiones.
- Enfermedad injerto *versus* hospedero postransfusión (EIVH).

Antígenos leucocitarios humanos clase I

La presencia y expresión de estos antígenos está codificada genéticamente y localizada en los *locus* A, B y C. Son antígenos formados por dos cadenas: una de glucoproteínas pesadas (α) y una ligera (β , muy similar a la β_2 -microglobulina). La función biológica de este grupo de antígenos HLA clase I es intervenir en el brazo eferente de la inmunidad, destruir células con antígenos extraños a la propia constitución corporal del individuo e interactuar con linfocitos T citotóxicos (linfocitos T CD8+) (Fig. 2).

Antígenos leucocitarios humanos clase II

La presencia y expresión de estos antígenos está codificada por estos genes ubicados en los *locus* DR, DQ y DP; están constituidos por dos cadenas glucoproteicas α y β e intervienen en el brazo aferente de la inmunidad, diseñada para conocer nuevos antígenos mediante interacción con los linfocitos T facilitadores (T CD4+) (Fig. 3)⁷.

Anticuerpos del sistema antígeno leucocitario humano

La aloinmunización o presencia de anticuerpos anti-HLA se presenta generalmente en personas que han recibido transfusiones o en las que han tenido un trasplante, por lo que han sido estimulados por los antígenos del MHC del donante o en las mujeres que han estado embarazadas y que han sido aloinmunizadas por leucocitos fetales que han pasado transplacentariamente a la madre. Estos anticuerpos son, por ello, de origen inmune del tipo inmunoglobulina G (IgG) con propiedades citotóxicas y leucoaglutinantes.

La existencia de estos anticuerpos «preformados», en el paciente que está sujeto a recibir un órgano o transfusión de otro individuo, puede favorecer que el rechazo del órgano o reacción adversa de la transfusión ocurra en el plazo inmediato o mediano, por lo que el detectarlos de manera previa al acto quirúrgico del trasplante o a la transfusión en pacientes altamente aloinmunizados coadyuva al éxito del mismo.

De igual manera, la determinación de anticuerpos anti-HLA es una prueba que en los países más desarrollados se utiliza de manera cotidiana en la evaluación periódica de los pacientes multitransfundidos o inscritos en listas de espera de órganos provenientes de donadores fallecidos, y su importancia es tal, que dicha prueba es considerada como un parámetro importante en la asignación de los órganos, ya que

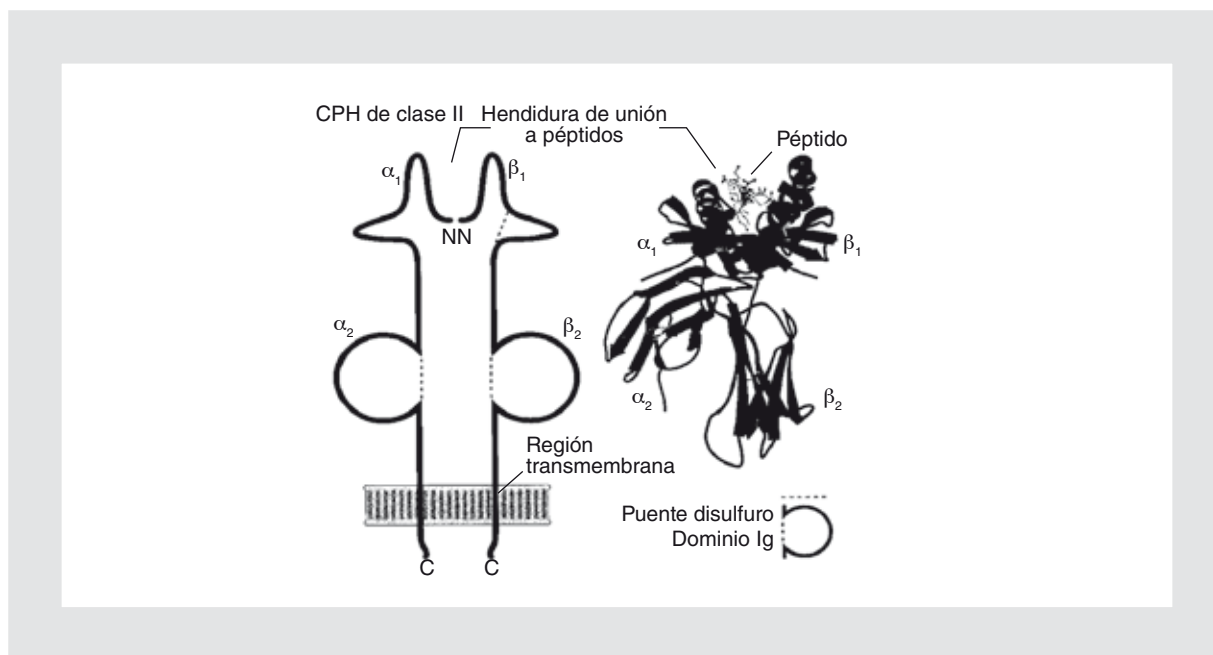


Figura 3. Estructura de las moléculas de clase II.

permite establecer criterios de idoneidad con respecto a las posibilidades de éxito del trasplante basadas en conocer si el paciente presenta en su suero anticuerpos que favorezcan el rechazo.

Igualmente importante es el uso de las pruebas como marcadores del estado inmunológico del paciente transfundido o trasplantado, ya que permite evaluar, de manera clara, la eficacia de la terapia inmunosupresora aplicada, ayudando así a la prevención del evento de rechazo o reacción transfusional y, por ende, incrementando la vida media del injerto o inocuidad del evento transfusional con la consecuente disminución de días de hospitalización y empleo de inmunosupresores⁸.

Pruebas a nuestro alcance para la determinación de anticuerpos antígeno leucocitario humano

Escrutinio de anticuerpos antígeno leucocitario humano (screening)

Esta prueba permite, en una sola determinación, detectar la presencia de anticuerpos contra los antígenos de compatibilidad HLA, tanto clase I como clase II; de igual manera, permite detectar la presencia de los anticuerpos dirigidos contra antígenos denominados cadena A relacionada a MHC clase I (MIC-A), que han sido ampliamente descritos en la literatura por su participación en casos de rechazo de injertos.

Determinación del porcentaje del panel reactivo de anticuerpos específico

Esta prueba permite al médico conocer el grado de sensibilización de un paciente y, por ende, anticipar el tipo de terapia inmunosupresora o de otro tipo que requerirá el paciente tanto en la etapa previa al trasplante como en el postoperatorio.

Asimismo, esta prueba nos permite conocer si los anticuerpos presentes en el paciente están dirigidos contra antígenos del donador de clase I o clase II (anticuerpos donador específico), así como realizar una caracterización respecto a la especificidad de dichos anticuerpos. Es esta característica la que nos permite establecer uno de los criterios más importantes en cuanto a la compatibilidad donador-receptor y, por lo tanto, tomar las acciones necesarias para disminuir sustancialmente las posibilidades de un rechazo.

La determinación del porcentaje del panel reactivo de anticuerpos específico (% PRA) es utilizada como marcador en pacientes con un alto grado de aloinmunización o trasplantados, ya que idóneamente se espera un resultado de cero, pero cuando el paciente reacciona al injerto o presenta un efecto agudo a la transfusión, el % PRA inicia su evolución, haciendo obligado el cambio en la terapia.

Es importante señalar que el % PRA con un valor mayor al 30% de sensibilización obliga al médico a someter al paciente a un protocolo de desensibilización

para realizar una remoción de dichos anticuerpos, y así disminuir el % PRA del paciente a un valor menor al 30%, con lo cual resulta de mucha utilidad la determinación del % PRA como valor predictivo del estado inmunológico del paciente (receptor).

Esta prueba es utilizada, igualmente, en pacientes que son candidatos a trasplante de células progenitoras hematopoyéticas, ya que la presencia de anticuerpos preformados anti-HLA en el paciente y que pudieran estar dirigidos contra alguna de las especificidades antigénicas presentes en las células a trasplantar harían fallar el trasplante, y dado que en este tipo de procedimientos terapéuticos el paciente se encuentra inmunológicamente comprometido y, por tanto, en alto riesgo de infecciones, resulta de la mayor trascendencia estudiar a profundidad todas las posibles causas de rechazo o «no injerto» a fin de evitarlo.

Determinación single antigen

La caracterización precisa de anticuerpos contra un antígeno es particular, es denominada *single antigen*, y es utilizada cuando el paciente va a ser o ha sido trasplantado con un órgano o células que no presentan un mosaico de antígenos HLA igual al propio, permitiendo dicha prueba, hacer la búsqueda, solo de aquellos anticuerpos dirigidos contra los antígenos no compartidos.

En todos los casos, la metodología utilizada es la inmunofluorometría múltiple, ya que ha demostrado ser el método más sensible al ser equiparado y superar a la citometría de flujo, y no obstante que el principio de medición es el mismo, la reproducibilidad de los ensayos demuestra la alta estandarización de los mismos, lo que facilita la operación rutinaria de los equipos y reactivos así como la interpretación de resultados.

Asimismo, la inmunofluorometría múltiple permite una gran sensibilidad al detectar cantidades mínimas de anticuerpos presentes en las muestras, situación tal que no ocurre con los métodos antiguos para detección de anticuerpos como el ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) o el panel de linfocitos congelados, que, si bien son útiles, su sensibilidad es inferior y la estabilidad de los reactivos en el caso del panel de linfocitos es mínima, lo que dificulta su uso y, en algunos casos, favorece la obtención de resultados confusos.

De igual manera, el ensayo basado en inmunofluorometría múltiple permite la detección y caracterización de anticuerpos relacionados con el rechazo del injerto o grado de aloinmunización en pacientes

multitransfundidos y la posibilidad de monitorear anticuerpos específicos en el tiempo^{8,9}.

El sistema antígeno leucocitario humano y la medicina transfusional

Los anticuerpos y antígenos del sistema HLA desempeñan un papel muy importante en una serie de eventos relacionados con la transfusión, como:

- Refractoriedad plaquetaria mediada por reacción inmune. Se reporta en un 60% de los receptores que han sido multitransfundidos. La aloinmunización HLA se genera contra antígenos clase I que ha sido provocada por los leucocitos residuales presentes en los hemocomponentes celulares (concentrados plaquetarios, paquetes globulares y/o sangre total). Estudios clínicos han demostrado que niveles de leucocitos de 5×10^6 puede ser una dosis de inmunización. Los receptores con este tipo de aloinmunización y refractoriedad a plaquetas deben ser transfundidos con unidades de concentrados plaquetarios obtenidas por aféresis de un donante HLA compatible. Se produce en receptores con anticuerpos anti-HLA o antiantígenos plaquetarios específicos por transfusiones o embarazos previos. Estos anticuerpos producen la destrucción de las plaquetas que contengan el antígeno correspondiente, manifestándose generalmente en un mínimo incremento en el recuento plaquetario inmediatamente después de la transfusión de plaquetas y una pobre respuesta terapéutica. Debe diferenciarse de aquellos casos de supervivencia acortada de las plaquetas por razones no inmunológicas (coagulación intravascular diseminada [CID], sepsis, esplenomegalia, etc.). La refractoriedad plaquetaria es una complicación relativamente frecuente en receptores que reciben soporte crónico con concentrados plaquetarios (30-50%)¹⁰⁻¹².
- Reacciones transfusionales febriles no hemolíticas. Las reacciones de este tipo están relacionadas con anticuerpos anti-HLA específicos, tanto de granulocitos como de plaquetas. Los anticuerpos reaccionan con los antígenos del donador provocando la liberación de citocinas que causan fiebre¹³⁻¹⁵.
- Lesión pulmonar aguda por transfusiones. La incidencia real de TRALI es desconocida. Muchos expertos coinciden en que, probablemente, el TRALI es una complicación transfusional subdiagnosticada. Es observado como un edema pulmonar no cardiogénico agudo, esto es, por anticuerpos anti-HLA en la sangre del donador

Tabla 1. Papel principal de las citocinas en la inmunomodulación de la transfusión y el trasplante

Citocina	Tolerancia	Rechazo
IL-12	+	+
IFN- γ	+	+
IL-10	+	-
TGF- β	+	-
IL-15	-	+
IL-2	+	+
IL-4	+	+

IFN: interferón.

que reaccionan con la fijación de complemento a antígenos tisulares del receptor, ocasionando daño capilar y edema pulmonar. No existe certeza en relación con la patogénesis del TRALI, aunque en todos los supuestos desempeña un papel preponderante la infusión pasiva de anticuerpos del donante, que reaccionan directamente con los correspondientes antígenos presentes en los leucocitos del receptor. Una de las hipótesis más aceptadas es la denominada «teoría de los dos eventos», en la que se postula que el TRALI estaría ocasionado por dos eventos independientes: el primero respondería a circunstancias clínicas propias del receptor que provocarían daño endotelial pulmonar, y el segundo vendría ocasionado por la infusión pasiva de anticuerpos o modificadores de la respuesta biológica, incluyendo lípidos activos procedentes del donante¹⁶⁻¹⁸.

- Enfermedad injerto contra hospedero. Aquí se ven involucrados varios factores relacionados con la inmunidad del receptor y la viabilidad de los linfocitos del componente transfundido y el grado de compatibilidad HLA entre el donador y el receptor. Se trata de una complicación casi siempre fatal originada por la transfusión de linfocitos T viables a receptores con una inmunodepresión intensa (receptores de progenitores hematopoyéticos, transfusión intrauterina, enfermedad de Hodgkin, SIDA, entre otros) o receptores inmunocompetentes que comparten algún haplotipo con el donante (familiares en primer o segundo grado, o receptores transfundidos con productos HLA compatibles seleccionados). Los linfocitos injertan y proliferan atacando diversos órganos y tejidos del receptor^{19,20}.

Inmunomodulación: biomoduladores

La transfusión de componentes sanguíneos puede originar una desregulación de la inmunidad celular, y ello está asociado, en parte, con la infusión de leucocitos y sus productos (interleucina 4 [IL-4], interleucina 10 [IL-10], factor de transformación de crecimiento [TGF-1]), provocando tolerancia o rechazo del injerto (Tabla 1)²¹.

Los biomoduladores son capaces de modificar respuestas biológicas, los cuales, al actuar en forma secuencial, conducen a la diferenciación de los linfocitos T. Se pueden ejemplificar en patologías tales como: enfermedades infecciosas, inmunodeficiencias primarias, SIDA, enfermedades autoinmunes, cáncer y otras asociadas al proceso de envejecimiento. Dada su extraordinaria importancia en la modificación de respuestas biológicas, son capaces de inducir efectos específicos y/o inespecíficos sobre la respuesta inmune, lo que produce al final una mejoría en la salud del paciente. Estos agentes pueden subcategorizarse en aquellos que facilitan una respuesta inmune normal, los que estimulan la respuesta inmune, los que son capaces de inducir inmunosupresión no citotóxica, y los que incrementan la capacidad del hospedero de tolerar el daño por modalidades citotóxicas del tratamiento (transfusión o trasplante) (Fig. 4)^{22,23}.

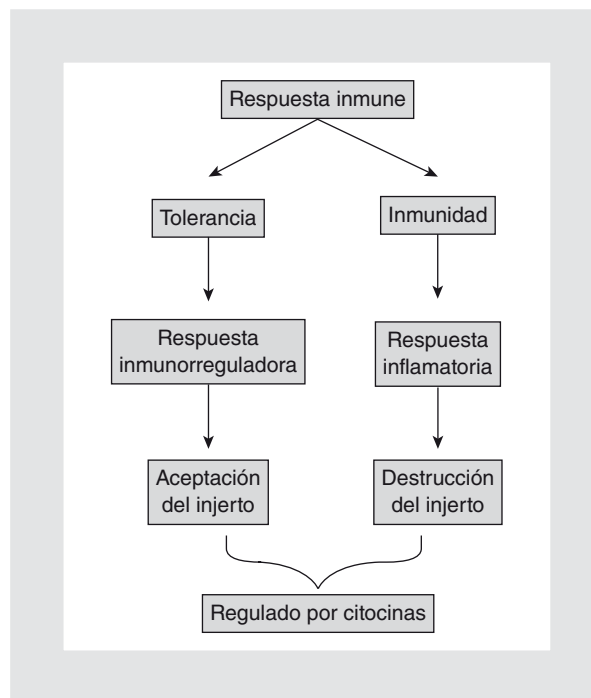


Figura 4. Acción biomoduladora de la respuesta inmune regulada por citocinas.

Bibliografía

1. McCullough J. The role of physicians in blood centers. *Transfusion*. 2006;46:854-9.
2. Asociación Americana de Bancos de Sangre. Manual técnico. 13.ª Ed. AABB, Maryland USA. 2001. p. 593.
3. Ralf K, Rodeina D, Paul A, et al. Guidelines for use of RFID technology in transfusion medicine. *Vox Sang*. 2010;98:1-24.
4. Resink H, Panzer S, Gonzalez C, et al. Haemovigilance for the optimal use of blood products in the hospital. *Vox Sang*. 2010;99:278-93.
5. World Health Organization. Blood transfusion safety, Handbook The Clinical use of Blood. Geneva, Switzerland. Ed. WHO 2001.
6. Charron D. HLA, immunogenetics, pharmacogenetics and personalized medicine. *Vox Sang*. 2011;100:163-6.
7. Martínez AJC. Importancia del CMH en el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas de cordón umbilical y seguimiento del injerto. *Gac Méd Méx*. 2004;140 Suppl 3:64-7.
8. Gilson CR. MHC II on transfused murine blood is not required for alloimmunization against MHC I. *Vox Sang*. 2010;99:369-74.
9. Brown CJ. Clinical relevance of the HLA system in blood transfusion. *Vox Sang*. 2011;101:93-105.
10. Kiefel V, Köning C, Kroll H, et al. Platelet alloantibodies in transfused patients. *Transfusion*. 2001;41:766-70.
11. Sanz C, Freire C, Alcorta I, et al. Platelet-specific antibodies in HLA-immunized patients receiving chronic platelet support. *Transfusion*. 2001;41:762-5.
12. Brand A. Alloimmune platelet refractoriness: incidence declines, unsolved problems persist. *Transfusion*. 2001;41:724-6.
13. Brubaker DB. Clinical significance of white cell antibodies in febrile non-hemolytic transfusion reactions. *Transfusion*. 1990;30:733-7.
14. Tazzari PL, Bontadini A, Zamagni C, et al. Febrile non-hemolytic transfusion reaction caused by antibodies against human platelet antigen 5a. *Transfus Med*. 2005;15:443-4.
15. Fedeyi EA, Adams S, Sheldon S, et al. A preliminary comparison of the prevalence of transfusion reactions in recipients of platelet components from donors with and without human leukocyte antigen antibodies. *Vox Sang*. 2008;94:324-8.
16. Skeate RC, Eastlund T. Distinguishing between transfusion related acute lung injury and transfusion associated circulatory overload. *Curr Opin Hematol*. 2007;14:682-7.
17. Kleinman S, Caulfield T, Chan P, et al. Toward an understanding of transfusion related acute lung injury: statement of a consensus panel. *Transfusion*. 2004;44:1774-89.
18. Davis A, Mandal R, Johnson M, et al. A touch of TRALI. *Transfusion*. 2008;48:541-5.
19. Agbaht K, Altintas ND, Topeli A, et al. Transfusion-associated graft-versus-host disease in immunocompetent patients: case series and review of the literature. *Transfusion*. 2007;47:1405-11.
20. Wisecarver JL, Catral MS, Langnas A, et al. Transfusion-induced graft-versus-host disease after liver transplantation. *Transplantation*. 1994;58:269-71.
21. Blajchman MA, Dzik S, Vamvakas EC, et al. Clinical and molecular basis of transfusion-induced immunomodulation: summary of the proceedings of a state-of-the art conference. *Transfus Med Rev*. 2001;15:108-35.
22. Opelz G, Sengar DP, Mickey MR. Effect of blood transfusions on subsequent kidney transplants. *Transpl Proc*. 1973;5:253-9.
23. Gharesi-Fard B, Zolghadri J, Foroughinia L, et al. Effectiveness of leukocyte immunotherapy in primary recurrent spontaneous abortion (RSA). *Iran J Immunol*. 2007;4:173-8.