

CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO

Curso de Biomedicina

Luiz Gustavo Barqueta de Souza

**MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS DA LESÃO PULMONAR
AGUDA RELACIONADA À TRANSFUSÃO**

São Paulo

2019

Luiz Gustavo Barqueta de Souza

**MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS DA LESÃO PULMONAR
AGUDA RELACIONADA À TRANSFUSÃO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Curso de Biomedicina do Centro
Universitário São Camilo, orientado pela Profa
Dra Juliana Vieira dos Santos Bianchi, como
requisito parcial para obtenção do título de
Bacharel em Biomedicina.

São Paulo

2019

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Padre Inocente Radrizzani

Souza, Luiz Gustavo Barqueta de
Mecanismo fisiopatológicos da lesão pulmonar aguda relacionada à transfusão / Luiz Gustavo Barqueta de Souza. -- São Paulo: Centro Universitário São Camilo, 2019.
55 p.

Orientação de Juliana Vieira dos Santos Bianchi.

Trabalho de Conclusão de Curso de Biomedicina (Graduação), Centro Universitário São Camilo, 2019.

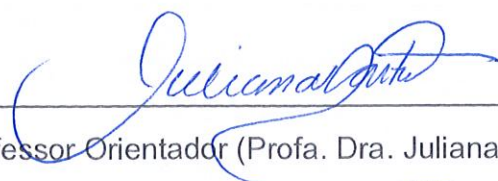
1. Armadilhas extracelulares 2. Eritrócitos 3. Lesão pulmonar aguda relacionada à transfusão 4. Ligante de CD40 5. Neutrófilos 6. Plaquetas I. Bianchi, Juliana Vieira dos Santos II. Centro Universitário São Camilo III. Título

CDD: 616.07

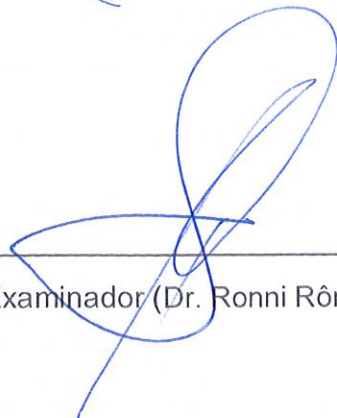
Luiz Gustavo Barqueta de Souza

**MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS E MEDIDAS PREVENTIVAS DA
LESÃO PULMONAR AGUDA RELACIONADA À TRANSFUSÃO**

São Paulo, 20 de Maio de 2019.



Professor Orientador (Profa. Dra. Juliana Vieira dos Santos Bianchi).



Professor Examinador (Dr. Ronni Rômulo Novaes e Brito)

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço aos meus pais Tania Cristina e Luiz Carlos, as minhas tias Maria Aparecida e Marilda Teresa "*in memoriam*", e a minha avó Celina, que, com carinho e apoio, não mediram esforços para que eu chegasse até essa etapa de minha vida. Obrigado por acreditarem em meu potencial.

Ao curso de biomedicina, e as pessoas que convivi ao longo desses anos, as experiências compartilhadas de aprendizado com amigos, foram os melhores momentos da minha formação acadêmica.

Agradeço à equipe de professores, gestores e coordenadora do curso. À professora e orientadora Juliana Vieira dos Santos Bianchi, agradeço por toda a sua dedicação dentro das atividades acadêmicas, que, sempre com organização e excelência, me transmitiu inspiração e amor por sua área de atuação. Obrigado por toda a sua atenção no desenvolvimento desse trabalho.

SOUZA, L. G. B. **Mecanismos fisiopatológicos e medidas preventivas da lesão pulmonar aguda relacionada à transfusão**. 2019. 53 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Centro Universitário São Camilo, 2019.

A lesão pulmonar aguda relacionada à transfusão (TRALI) é uma reação que ocorre até seis horas após a transfusão alogênica de hemocomponentes que possuem leucoaglutininas ou mediadores pró-inflamatórios, que são transferidos para pacientes que apresentam condições clínicas predisponentes. É caracterizada por angústia respiratória aguda, dispnéia, hipoxemia, hipotensão, febre e edema pulmonar bilateral não-cardiogênico. A TRALI é classificada de acordo com a natureza química do seu fator causal presente no hemocomponente, sendo mediada por anticorpo ou não mediada por anticorpo. Quando imunoglobulinas para os sistemas antígeno leucocitário humano (HLA) de classe I e/ou II ou antígeno neutrofílico humano (HNA) estão presentes, a TRALI é classificada como mediada por anticorpo. Quando lipídios pró-inflamatórios, como as lisofosfatidilcolinas e ceramidas, CD40L, citocinas e micropartículas de membrana das hemácias e plaquetas estão presentes, a TRALI é não mediada por anticorpo. Na transfusão sanguínea, o contato do receptor com imunoglobulinas ou outros mediadores pró-inflamatórios, possibilita a ativação de neutrófilos, células endoteliais da capilar pulmonar e plaquetas, desencadeando a lesão pulmonar pelo aumento da permeabilidade vascular aos fluidos plasmáticos, degranulação de neutrófilos e formação de armadilhas extracelulares de neutrófilos (NET). Independente do fator causal, o neutrófilo é postulado como célula efetora de lesão na TRALI. Como profilaxia, é realizada a exclusão, durante o processamento de hemocomponentes, do concentrado de plaquetas e plasma fresco congelado de doadoras múltiplas, com o intuito de minimizar o risco ao paciente de exposição à uma transfusão que contenha alto volume plasmático de leucoaglutininas, a leucorredução do concentrado de hemácias e plaquetas é utilizada para reduzir a formação de lipídios pró-inflamatórios, a liberação de CD40L, citocinas e micropartículas de membrana ao longo do tempo de armazenamento, possibilitando que a transfusão disponha de um caráter mais seguro. Apesar das medidas aplicadas, indivíduos cronicamente transfundidos são mais suscetíveis ao desenvolvimento de reações transfusionais. Estudos em modelos animais, e análises de lâminas histológicas do tecido pulmonar de indivíduos *post mortem*, buscam elucidar os mecanismos fisiopatológicos da TRALI para desenvolver novos parâmetros de diagnóstico, medidas profiláticas e estratégias de intervenções terapêuticas.

Palavras-chave: Lesão pulmonar aguda relacionada à transfusão, antígeno leucocitário humano, antígeno neutrofílico humano, fisiopatogenia, ligante de CD40, lisofosfatidilcolina, micropartículas, eritrócitos, plaquetas, neutrófilo e armadilhas extracelulares.

SOUZA, L. G. B. **Pathophysiological mechanisms and preventive actions to transfusion related acute lung injury.** 2019.53 f. Course completion assignment (Bachelor of Biomedicine) – São Camilo University Center, 2019.

Transfusion related acute lung injury (TRALI) is an acute reaction that occurs within 6 hours after allogeneic transfusion of blood components that have leucoagglutinins or pro-inflammatory mediators that are transferred to patients that have predisposing clinical conditions. It is characterized by acute respiratory distress, dyspnea, hypoxemia, hypotension, fever and non-cardiogenic bilateral lung edema. TRALI is classified according to the chemical nature of its causal factor present in blood components, being mediated by antibody or not mediated by antibody. When immunoglobulins for the systems human leukocyte antigen (HLA) class I and/or class II or human neutrophil antigen are present, TRALI is classified as antibody mediated. When pro-inflammatory lipids, like lysophosphatidylcholine and ceramides, CD40L and membrane microparticles of red blood cells are present, TRALI is non-mediated by antibody. In blood transfusion, the interaction between receptor and immunoglobulins or other pro-inflammatory mediators, results in neutrophil activation, increase in vascular permeability and lung injury by production and liberation of oxygen reactive species, NETs and neutrophil degranulation. Independent of your causal factor, neutrophil is postulated by cellular effector of lung injury in TRALI. As prophylaxis, the exclusion, during the processing of blood components, of platelet concentrate and fresh frozen plasma from multiparous donors is carried out, in order to minimize the risk to the patient of exposure to a transfusion containing a high plasma volume of leucoagglutinins, the leucoreduction of the packed red blood cells and platelets is used to reduce the formation of pro-inflammatory lipids, the release of CD40L, cytokines and membrane microparticles throughout the time of storage, making transfusion safer. Despite the measures applied, chronically transfused individuals are more susceptible to the development of transfusion reactions. Animal models experiments and analyses of histological lung sections try to elucidate the pathogenic mechanisms of TRALI for making new diagnostic parameters and new therapeutic strategies.

Keywords: transfusion-related acute lung injury, human leukocyte antigen, human neutrophil antigen, pathophysiology, CD40L, lysophosphatidylcholine, microparticles, red blood cell, platelet, neutrophil and NET.

Lista de figuras

Figura 1 – Proliferação e diferenciação de linfócitos B.....	23
Figura 2 – Composição estrutural dos anticorpos.....	24
Figura3– Apresentação das condições clínicas do primeiro insulto e dos fatores causais do segundo insulto presentes em cada hemocomponente.....	28
Figura4– Representação da ordem dos processos fisiopatogênicos a TRALI mediada por anticorpo.....	29
Figura5– Fluxograma dos eventos do primeiro e segundo insulto na TRALI mediada por anticorpo.....	30
Figura6– Estrutura do HLA de classe I na membrana plasmática.....	31
Figura7– Estrutura do HLA de classe II na membrana plasmática.....	34
Figura8– Distribuição dos antígenos neutrofílicos humano 1, 2 e 3 na membrana do neutrófilo.....	36
Figura 9 – Coloração imunocitoquímica da Actina e VE-Caderina em células endoteliais tratadas com anti-HNA-3a, anti-HNA-3b e trombina..	41
Figura 10 –Efeitos da interação do sCD40L com CD40 em células endoteliais e neutrófilos.....	45

Lista de tabelas

- Tabela1– Frequência absoluta de reações transfusionais notificadas, segundo o tipo de reação, o diagnóstico e o ano de ocorrência. Brasil 2010 a 2013..... 20
- Tabela2– Frequência de aloimunização para HLA de classe I e II em mulheres por numero de gestações e homens por transfusão..... 21
- Tabela3– Notificação de casos de TRALI e sua respectiva % de anticorpos envolvidos..... 22

Lista de quadros

- Quadro1- Variantes alélicas, gene, exon e sequencia nucleotídica dos polimorfismos do HNA-1.....37
- Quadro2- Variantes alélicas, gene e exon do HNA-238
- Quadro3- Variantes alélicas, gene, exon e sequencia nucleotídica dos polimorfismos HNA-3.....39
- Quadro4- Eventos acumulativos relacionados ao tempo de armazenamento do concentrado de hemácias.....43

Lista de siglas

CD40L	Ligante de CD40
CTL2	(<i>Choline transporter like 2</i> - Transportador de colina-like 2)
EROs	Espécies reativas de oxigênio
FDA	Administração de alimentos e drogas
HLA	Antígeno leucocitário humano
HNA	Antígeno neutrofílico humano
ICAM	(<i>Intracellular adhesion molecule</i> - Molécula intracelular de adesão)
NET	(<i>Neutrophil extracellular traps</i> - armadilhas extracelulares de neutrófilos)
NF-κB	Fator nuclear κ B
PCR	Proteína C reativa
PSGL	(<i>P selectin glycoprotein ligand</i> - Ligante de glicoproteína P-selectina 1)
SARA	Síndrome da angustia respiratória aguda
sCD40L	Ligante de CD40 solúvel
TLR	(<i>Toll-like receptor</i> – receptor semelhante a toll)
TRALI	(Transfusion Related Acute Lung Injury – lesão pulmonar aguda relacionada à transfusão)

Lista de abreviaturas

Hb	Hemoglobina
Liso-PCs	Lisofosfatidilcolinas
Treg	Linfócitos T reguladores
IL	Interleucina
Ig	Imunoglobulina/anticorpo
LPS	Lipopolissacarideo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVO	17
3	METODOLOGIA	18
4	DESENVOLVIMENTO	18
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	47
	REFERÊNCIAS	47

1 INTRODUÇÃO

A transfusão sanguínea consiste em transferir os componentes sanguíneos de um doador para um receptor, sendo classificada como autóloga quando o doador e receptor são a mesma pessoa, ou alogênica, quando o receptor recebe hemocomponentes provenientes de um doador desconhecido (CAVALCANTI; CANTINHO; ASSAD, 2006). Com finalidade hemoterápica, a transfusão sanguínea é indicada para diversas condições clínicas, como pacientes oncológicos que apresentam a medula óssea hipocelular devido ao tratamento quimioterápico, hepatopatias, perda aguda de sangue ou anemia sintomática (Brasil, 2004).

O processo transfusional se inicia com a solicitação médica dos hemocomponentes, e compreendem várias etapas que vão desde a seleção do doador, os testes sorológicos, fracionamento e estocagem, transporte, até as indicações, conferências e assistência pré e pós-transfusional (SILVA; SOARES; IWAMOTO, 2009). Sabe-se que indivíduos cronicamente transfundidos são mais susceptíveis às reações transfusionais, pois são continuamente expostos aos componentes sanguíneos de doadores, aumentando o risco de ocorrer reações transfusionais (ALVES et al., 2012). As reações transfusionais são agravos ocorridos durante ou após a transfusão sanguínea e que estão a ela relacionados. Esses incidentes podem ser classificados em: Reação transfusional imediata (RTI), a qual ocorre durante a transfusão ou em até 24 horas após. Nele são diagnosticados: reação hemolítica aguda, reação febril não hemolítica, reações alérgicas, as quais podem ser consideradas leve ou moderada, sobrecarga volêmica, contaminação bacteriana, TRALI (*transfusion related acute lung injury* - edema pulmonar agudo relacionado à transfusão), reação hipotensiva, hemólise não imune, anafilática, hipocalcemia, embolia aérea e hipotermia; ou reação transfusional tardia (RTT) quando ocorre após 24 horas da transfusão, sendo diagnosticados: reação hemolítica tardia, transmissão de doenças por meio da transfusão (hepatite B, hepatite C, HIV/AIDS, doença de chagas, sífilis, malária, HTLV I/II), doença do enxerto contra hospedeiro (DECH), aparecimento de anticorpos irregulares/aloimunização, púrpura pós-transfusional e sobrecarga de ferro (Brasil, 2007).

A ALI (*Acute Lung Injury* - lesão pulmonar aguda), também conhecida como síndrome da angústia respiratória aguda (SARA), pode ser secundária à transfusão, trauma, aspiração de conteúdo gástrico, isquemia, e infecção por vírus epidêmicos, como H1N1 e SARS. A ALI acomete o alvéolo e o endotélio pulmonar, resultando em morte celular e aumento da permeabilidade aos fluidos plasmáticos, provocando edema pulmonar e troca gasosa ineficiente. Quando a ALI é secundária à transfusão ela é denominada TRALI. A TRALI foi descrita pela primeira vez por Barnard em 1951 e caracterizada clinicamente por Popovsky e colaboradores em 1985. Em 2003, a NHLBI (*National Heart Lung and Blood Institute* - Instituto Nacional do coração, pulmão e sangue) desenvolveu os critérios de diagnóstico clínico para a TRALI, onde foi padronizado que indivíduos com reação transfusional em seis horas após a transfusão alogênica de hemocomponentes e apresentassem insuficiência pulmonar aguda, taquipnéia, cianose, dispnéia com hipoxemia aguda, $PaO_2/FiO_2 < 300$ mmHg, e exame radiográfico revelando edema pulmonar bilateral com ausência de hipertensão atrial esquerda (não cardiogênico), são classificados com TRALI.

2 OBJETIVO

Apresentar uma revisão bibliográfica a respeito dos mecanismos mediados por anticorpos e não mediado por anticorpos envolvidos na fisiopatogeniada TRALI.

3 METODOLOGIA

Para a confecção desse trabalho foi realizado um levantamento bibliográfico, onde foram utilizados 50 artigos científicos pesquisados nas bases de dados PubMed e em revistas eletrônicas. Também foram utilizados relatórios de notificação do *Food and Drug Administration*, *German hemovigilance systems*, e ANVISA.

Os descritores utilizados foram: lesão pulmonar aguda relacionada à transfusão, antígeno leucocitário humano, antígeno neutrófilico humano, fisiopatogênia, CD40L, lisofosfatidilcolina, micropartículas, hemácia, plaqueta, neutrófilo e NET.

4 DESENVOLVIMENTO

4.1 Histórico e epidemiologia da TRALI

A TRALI foi relatada pela primeira vez em 1951 e os achados clínicos iniciais foram publicados em 1966. Em 1970 e 1971, foi postulado que leucoaglutininas para HLA e antígenos não-HLA eram os fatores causais da TRALI. No entanto, em 1985, foi com o relato de 36 casos que a TRALI foi reconhecida como uma complicação clínica distinta das demais reações transfusionais. Com o maior reconhecimento desta síndrome, a TRALI tornou-se a principal causa de mortalidade relacionada a procedimentos hemoterápicos nos Estados Unidos da América (EUA), Reino Unido e Alemanha (MUSCHTER, 2017; TOY et al., 2011).

No ano de 2000, o Brasil implementou uma rede nacional de hemovigilância, inserida nas ações de vigilância em saúde da ANVISA, cujo o principal objetivo é o direcionamento de ações estratégicas para aumentar a segurança nas transfusões sanguíneas. Por meio da ficha de notificação de reações transfusionais, padronizada em nível nacional, realizado pelo NOTIVISA – Sistema Nacional de Notificação em Vigilância Sanitária, as reações transfusionais imediatas, ocorrendo em até 24 horas após a transfusão, e tardias, excedendo as primeiras 24 horas, devem ser notificadas para a ANVISA. Segundo os dados da tabela 1, extraídos do relatório de hemovigilância da ANVISA, a TRALI, diferente dos demais países, ocupa a quinta colocação dentro das reações transfusionais imediatas que mais ocorrem (BRASIL, 2015).

No EUA todos os casos de TRALI devem ser notificados para o FDA (*Food and drug administration* – Administração de alimentos e medicamentos). Todos os hemocomponentes podem estar envolvidos em casos de TRALI. No entanto, os hemocomponentes com maior quantidade de plasma, como o plasma fresco congelado e o concentrado de plaquetas, apresentam maior risco por possuírem uma maior proporção de volume de anticorpos anti-leucocitários (Van Stein et al., 2010). De acordo com o relatório emitido pelo FDA em 2011, a TRALI foi a principal causa de mortalidade relacionada a procedimentos hemoterápicos nos EUA, representando 38% dos óbitos de todas as reações transfusionais (TOY et al., 2011). A maioria dos casos de TRALI apresenta mecanismo imunológico mediado por anticorpos para antígenos HLA de classe I e/ou II ou HNA, compreendendo

aproximadamente de 50% a 80% dos casos. No entanto, aproximadamente de 20% a 50% dos casos, nenhum anticorpo é identificado, levando à investigação e descoberta de mecanismos alternativos para a TRALI não mediada por anticorpo. (MAŚLANKA et al., 2011).

Tabela 1 – Frequência absoluta de reações transfusionais notificadas, segundo o tipo de reação, o diagnóstico e o ano de ocorrência. Brasil 2010 a 2013

Diagnóstico da reação		2010	2011	2012	2013
Imediatas	Reação febril não hemolítica	2.470	3.397	3.772	3.906
	Alérgica	1.770	2.512	3.255	3.219
	Outras reações imediatas	408	524	624	474
	Sobrecarga volêmica	136	254	325	359
	TRALI	30	50	70	47
	Reação hemolítica aguda	16	35	27	23
	Contaminação bacteriana	10	10	14	9
	Subtotal	4.840	6.782	8.087	8.037
Tardias	Aloimunização eritrocitária	56	49	75	67
	Outras reações tardias	15	17	19	14
	Doenças infecciosas	10	8	16	4
	Reação hemolítica tardia	7	1	5	10
	Reação enxerto x hospedeiro	0	0	0	0
	Subtotal	88	75	115	95
TOTAL		4.928	6.857	8.202	8.213

Fonte: adaptado de (BRASIL, 2015).

Como podemos observar na tabela 2, a exposição antigênica na gestação e transfusão sanguínea pode provocar aloimunização HLA, sendo sua frequência aumentada pelo número de gestações (PETERS, 2015). Devido à alta incidência encontrada de anticorpos leucocitários em determinados grupos de doadores, os bancos de sangue realizam a exclusão do plasma fresco congelado de mulheres múltiparas, por apresentar maior probabilidade de presença de anticorpos anti-HLA. A incidência de TRALI que era encontrada nos EUA em cada hemocomponente é de 2,8 casos em 100.000 para concentrado de plaquetas, 0,5 casos em 100.000 para concentrado de hemácias e 3,6 casos em 100.000 para plasma fresco congelado. Realizando a exclusão do plasma fresco congelado e do concentrado de

plaquetas de múltiparas, a incidência atual é de 0,4 casos em 100.000 para plasma fresco congelado e 1 caso para 100.000 para concentrado de plaquetas (SHAZ, 2012).

Tabela 2 - Frequência de aloimunização para HLA de classe I e II em mulheres por número de gestações e homens por transfusão.

Estudo	Anticorpo para HLA de classe I e II						
	Mulheres					Homens	
	% de aloimunização HLA vs número de gestações					% de aloimunização HLA vs transfusão	
	Nenhum	1	2	3	≥ 4	Não	Sim
Powers et al 2008	5,9%	24,2	41,3	48,5	58,3		12%
Triulzi et al 2009	1,7%	11,2	22,3	27,5	32,3	1%	1,7%

Fonte: adaptado de (PETERS, 2015).

Podemos observar também na tabela 2 que existe um porcentual de aloimunização em mulheres nulíparas e homens sem histórico transfusional. A explicação mais provável para esse fenômeno é que bactérias, proteínas ingeridas e alérgenos compartilhem epítomos com o antígeno HLA, onde os anticorpos produzidos em resposta realizam reação cruzada com o HLA por mimetismo molecular. Esta hipótese é corroborada por achados anteriores, onde a reatividade cruzada de HLA com proteínas M1 estreptocócicas foi mostrada pela primeira vez em 1970 (MORALES-BUENROSTRO et al., 2008).

De acordo com as notificações aos serviços de hemovigilância de seus países, pesquisadores verificaram os anticorpos envolvidos em cada caso de TRALI. Os resultados obtidos se encontram na tabela 3. Lembrando que a aloimunização ocorre devido à gestação ou transfusão sanguínea e é decorrente a variação antigênica encontrada em cada população. Sendo assim, a especificidade antigênica dos anticorpos, bem como o número de casos de TRALI, serem diferentes de cada região devido ao grau de heterogeneidade da população diferir em cada nacionalidade (BUX, 2011).

Tabela 3 - Notificação de casos de TRALI e sua respectiva % de anticorpos envolvidos.

	Sistema de hemovigilância alemão	Sistema de hemovigilância do reino unido
Número de notificações	28	73
HLA classe I	4%	23%
HLA classe II	47%	34%
HLA classe I e II	21%	18%
HNA	28%	8%

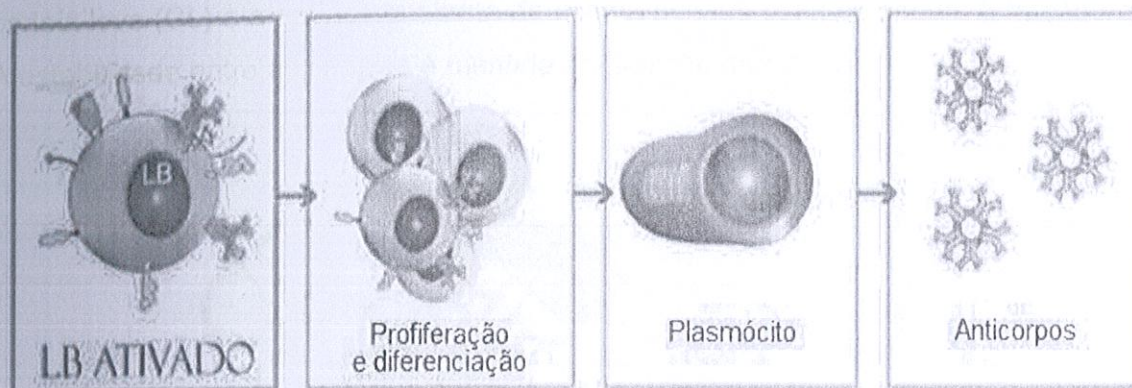
Fonte: adaptado de (BUX, 2011).

4.2 Aloimunização

O reconhecimento de aloantígenos é definido como aloimunização, resultando na formação de anticorpos irregulares (aloanticorpos). A resposta humoral, desencadeada pelo reconhecimento de antígenos, é consequência da capacidade do antígeno em induzir a formação de anticorpos e da competência de reagir com os mesmos, ou seja, da imunogenicidade e da antigenicidade dos antígenos, respectivamente (ABBAS; LITCHMAN; PILLAI; 2014).

A aloimunização abrange diversos eventos imunológicos, incluindo o reconhecimento, processamento e apresentação dos antígenos alogênicos pelo Complexo Principal de Histocompatibilidade (*Major Histocompatibility Complex - MHC*) de classe II, expresso na membrana de Células Apresentadoras de Antígenos (*Antigen Presenting Cells - APC*). Quando o epítipo do antígeno ligado à fenda da molécula de MHC de classe II é apresentado aos linfócitos T auxiliares (CD4+), interagindo com os receptores de Linfócitos T (*T cell receptor - TCR*), ocorre à transdução de sinal que resulta na expansão clonal dos linfócitos T auxiliares, com consequente produção de citocinas que estimulam a proliferação e diferenciação dos linfócitos B em plasmócitos, havendo a secreção dos anticorpos produzidos, conforme ilustrado na figura 1. (CATELAN et al., 2008).

Figura 1 – Proliferação e diferenciação de linfócitos B: Linfócitos B (LB) ativados sofrem expansão clonal e se diferenciam em plasmócitos produtores de anticorpos.



Fonte: adaptado de (CATELAN et al., 2008).

As imunoglobulinas (Ig) são compostas por uma região variável, responsável pelo reconhecimento dos antígenos, e uma região constante, responsável pela função efetora, e são formados estruturalmente por duas cadeias leves e duas cadeias pesadas. A ligação entre as cadeias leves e pesadas ocorre por ligação dissulfeto, sendo que as cadeias leves apresentam uma região constante e uma região variável, assim como as cadeias pesadas, conforme ilustrado na figura 2. A classificação das imunoglobulinas ocorre com base nas diferenças em sequências de aminoácidos na região constante das cadeias pesadas, sendo classificadas em IgG, IgA, IgM, IgD ou IgE (OLIVEIRA; RIBEIRO; VIZZONI, 2013; CATELAN et al., 2008).

Ocorrido a aloimunização, na fase efetora da imunidade humoral os anticorpos irregulares irão se ligar aos antígenos que estimularam a sua síntese por meio de ligações não-covalentes reversíveis (MALE et al., 2013). Essa interação resulta na ativação de mecanismos efetores como a ativação da via clássica do sistema complemento, opsonização para fagocitose e a Citotoxicidade Celular Dependente de Anticorpo (*Antibody Dependent Cell mediated Cytotoxicity* - ADCC). Essas ações desencadeadas pelo sistema imune, que normalmente atuam como proteção, são as mesmas que resultam em reações transfusionais (ABBAS; LITCHMAN; PILLAI; 2014; STEPHENS et al., 2013).

Figura 2 – Composição estrutural dos anticorpos: Representação da estrutura do anticorpo, onde a região variável da cadeia leve (VL) e a região variável da cadeia pesada (VH) compõem o sítio de ligação de antígenos. A região constante da

cadeia leve (CL) e a região constante da cadeia pesada (CH) compõem a fração Fc. A estabilidade entre as cadeias é mantida por ligação dissulfeto.



Fonte: adaptado de (CATELAN et al., 2008).

4.3 Neutrófilos: Fisiologia celular e mecanismos de lesão tecidual.

Os neutrófilos são células que pertencem à imunidade inata, representando a primeira linha de defesa para micro-organismos patogênicos. O processo de formação de neutrófilos é denominado granulopoiese, sendo gerado a partir da linhagem mielóide. O processo de granulopoiese é controlado pelo G-CSF (*granulocyte colony stimulating factor* - fator estimulador de colônias de granulócitos), que é produzido em resposta à interleucina-17A (IL-17A) sintetizada pelos linfócitos T que regulam os neutrófilos. A liberação de IL-17A é controlada pela interleucina-23 (IL-23), que é produzida por macrófagos e células dendríticas residentes em tecidos (KOLACZKOWSKA; KUBES, 2013). As células-tronco hematopoiéticas localizam-se em locais da medula óssea que apresentam células perivasculares que expressam a quimiocina CXCL12 (SDF-1), ligante para a quimiocina CXCR4. O CXCR4 libera sinais de retenção e desaparece gradualmente à medida que as células mielóides amadurecem, enquanto que a expressão de CXCL2, receptor para as quimiocinas CXCL1, CXCL5, CXCL6 e CXCL8, aumenta progressivamente ao longo da diferenciação celular, retransmitindo sinais para a liberação dos neutrófilos para a circulação (NAUSEEF; BORREGAARD, 2014). Os neutrófilos na circulação representam de 40% a 60% dos leucócitos, estes possuem

mecanismos efetores que são responsáveis pela destruição de patógenos e, em condições inflamatórias exacerbadas, lesão tecidual. Os mecanismos efetores responsáveis pela lesão tecidual na TRALI são: produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), formação de NETs (*neutrophil extracellular traps* - armadilhas extracelulares de neutrófilos) e degranulação de enzimas proteolíticas.

As NETs são constituídas por uma rede de DNA complexada à histonas e grânulos neutrofilicos primários, constituídos por mieloperoxidase, elastase neutrofilica, catepsina G, pentraxina 3 e proteinase 3; secundários, constituídos por lactoferrina e lisozima; terciários, constituídos por gelatinase. O processo de formação de NETs se inicia com a descondensação da cromatina, mediada pela enzima peptidil arginina deaminase, que converte a arginina presente nas histonas em citrulina, conferindo uma fraca interação eletrostática entre as histonas e o DNA, desestabilizando o núcleossomo. A elastase neutrofilica cliva as histonas durante a formação das NETs, liberando a rede de DNA. Ocorre a ruptura do núcleo e a liberação da rede de DNA complexada a histonas e grânulos neutrofilicos para o meio extracelular (MUSCHTER, 2017).

4.3 Predisposição fisiológica do pulmão para o processo inflamatório na TRALI.

Em condições fisiológicas os neutrófilos se concentram na medula óssea, baço, fígado e pulmão. A função primária dos pulmões é permitir a oxigenação do sangue venoso e eliminação do dióxido de carbono para o ambiente externo. Este processo é sustentado pela diferença de pressão parcial dos gases. Segundo a lei de Fick, a quantidade de gás que se move pela lâmina de um tecido é proporcional à área dessa lâmina, mas inversa à sua espessura. A membrana alvéolo-capilar possui uma área entre 50m²-100m² e uma espessura de aproximadamente 0,3 µm, possuindo as condições anatômicas perfeitas para a hematose. A barreira alvéolo-capilar é continuamente exposta a patógenos inalados e estímulos inflamatórios, por realizar essa comunicação com o meio externo, representando também um importante local de defesa do organismo. O tráfico de leucócitos para locais de inflamação é essencial para a manutenção da homeostase pulmonar; entretanto, o recrutamento desregulado de leucócitos pode promover lesão pulmonar e insuficiência respiratória. Mais de 60% da microcirculação pulmonar é composta de

capilares pulmonares de 7,5 μ m de diâmetro, sendo menores que o diâmetro de 8 μ m dos neutrófilos. Como resultado, os neutrófilos são obrigados a se deformar em formas alongadas ao entrar nos capilares pulmonares, retardando o seu trânsito e levando à sua concentração no pulmão (WEST, 2010).

Sendo assim, a anatomia da microcirculação pulmonar promove a homeostase no pulmão não inflamado concentrando os neutrófilos nos capilares pulmonares na forma de um "pool" que pode ser prontamente recrutado em resposta a um estímulo inflamatório. Após um estímulo inflamatório, os neutrófilos são sequestrados nos capilares pulmonares, infiltrando no espaço alveolar e contribuindo para a ruptura da barreira alvéolo-capilar e progressão da lesão pulmonar (WEST, 2010).

4.4 Plaquetas: Relação com os processos inflamatórios na TRALI.

As plaquetas são células sanguíneas anucleadas exclusivas dos mamíferos, sendo liberadas da medula óssea pelos megacariócitos no processo de trombopoiese. As plaquetas são especializadas em processos de hemostasia e inflamação. Assim como todas as células do sangue, as plaquetas têm uma relação íntima com os pulmões. As plaquetas transitam pelos vasos pulmonares e estão presentes nos capilares alveolares, juntamente com os eritrócitos e leucócitos. Há também evidências de que as plaquetas regulam a permeabilidade vascular pulmonar e influenciam sua vasorreatividade (CHAKRABARTI et al., 2005).

Recentemente as plaquetas estão sendo estudadas com o intuito de avaliar a sua importância nos processos inflamatórios e lesão pulmonar. Eichhorn e colaboradores utilizaram uma abordagem de plaquetas marcadas *ex vivo* com rodamina 6G, estas foram ativadas com trombina antes da injeção intravenosa para visualizá-las diretamente na microcirculação pulmonar de coelhos. O estudo demonstrou que a velocidade das plaquetas marcadas foi semelhante à das hemácias na circulação pulmonar. No entanto, a velocidade das plaquetas ativadas pela trombina diminuiu e as plaquetas aderiram às arteríolas, capilares e vênulas (EICHHORN, M. et al., 2002)

Em condições homeostáticas *in vivo*, as plaquetas associam-se fisicamente a neutrófilos pelo acoplamento da PSGL-1 a P-selectina para promover

satelitismo. Durante estados inflamatórios como sepse, aumenta o satelitismo de plaquetas nos neutrófilos (LOONEY; BHATTACHARYA, 2014). Estudos utilizando modelo murinho de TRALI mediada por anticorpo para MHC de classe I, observaram que as plaquetas interagem com os neutrófilos por meio dos agregados de Neutrófilos-plaquetas, favorecendo a interação do CD40L das plaquetas com o CD40 dos neutrófilos, estes por sua vez são ativados e liberam espécies reativas de oxigênio e NETs (REBETZ; SEMPLE; KAPUR, 2018).

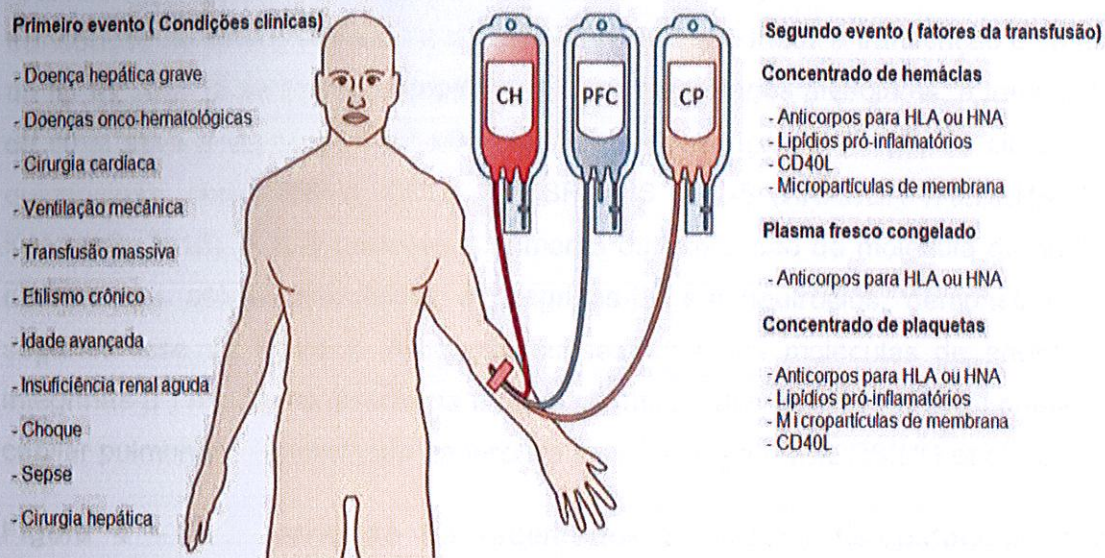
4.5 Hipóteses da fisiopatogênia da TRALI

A patogênese da TRALI ainda é pouco compreendida, necessitando de mais pesquisas para elucidar os seus mecanismos fisiopatogênicos. No entanto, com estudos em modelos animais, foram desenvolvidas duas hipóteses. A hipótese dos dois insultos, onde para o indivíduo desenvolver TRALI é necessário o primeiro insulto que corresponde às condições clínicas predisponentes que o paciente apresenta citadas na figura 3. O segundo insulto corresponde aos elementos presentes no hemocomponente que são capazes de ativar os neutrófilos citadas na figura 3 (SHAZ, 2012). De acordo com os fatores causais do segundo insulto, a TRALI pode ser classificada em mediada por anticorpo e não mediada por anticorpo. Tanto na TRALI mediada por anticorpo, como na TRALI não mediada por anticorpo, o neutrófilo é postulado como célula efetora da lesão pulmonar. A literatura aponta que a TRALI é o resultado do dano pulmonar causado por espécies reativas de oxigênio liberadas por neutrófilos. No entanto, vários modelos animais de TRALI contestaram essa convicção, mostrando que monócitos, linfócitos e endotélio capilar também podem apresentar uma importante relação no desenvolvimento da TRALI (MORSING et al., 2018).

A hipótese do limiar propõe que os fatores no sangue do doador e do receptor precisam atingir um limiar inflamatório em conjunto, o que significa que um paciente mais crítico já desenvolve TRALI na presença de menor concentração de fatores do sangue do doador em comparação com paciente relativamente mais "saudável" (MORSING et al., 2018).

Figura 3 – Apresentação das condições clínicas do primeiro insulto e dos fatores causais do segundo insulto presentes em cada hemocomponente: O

primeiro insulto corresponde às condições inflamatórias presentes na doença hepática grave, doença onco-hematológica, cirurgia cardíaca, ventilação mecânica, transfusão massiva, etilismo crônico, idade avançada, insuficiência renal aguda, choque, sepse e cirurgia hepática. O segundo insulto compreende a transferência, por meio da transfusão, de elementos que ativam neutrófilos, como anticorpos para HLA ou HNA, lipídios pró-inflamatórios, CD40L e micropartículas de membrana.



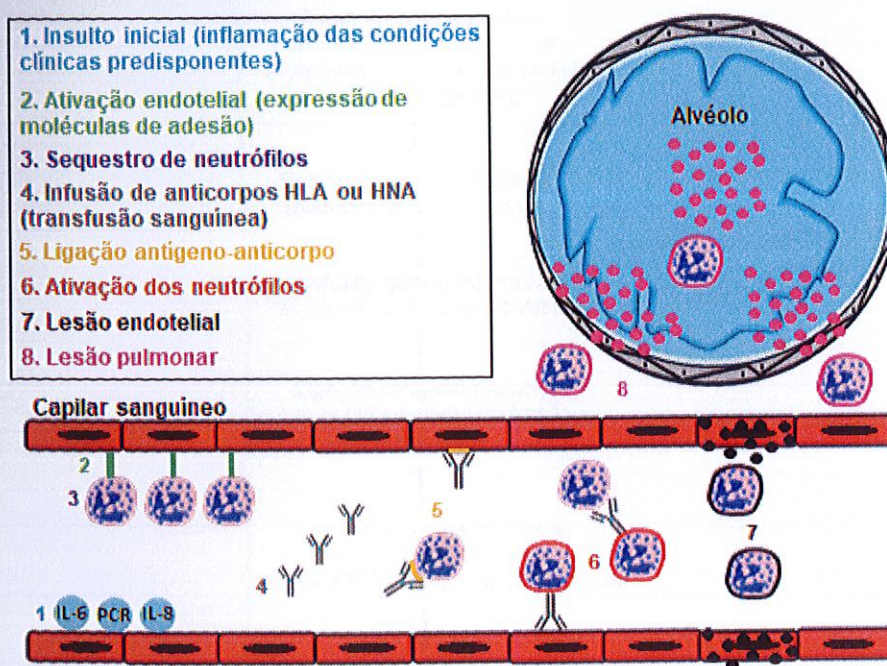
Fonte: adaptado de (VLAAR; JUFFERMANS, 2013)

4.6 Fisiopatogênica do primeiro insulto da TRALI.

As condições clínicas predisponentes a TRALI são responsáveis pelo primeiro insulto, onde há aumento da proteína C reativa (PCR) e citocinas pró-inflamatórias como IL-1 β , IL-6 e IL-8, demonstrado na primeira fase da figura 4. A PCR é uma proteína pentamérica de fase aguda com peso molecular de 115 KDa pertencente a família das pentraxinas. A PCR é sintetizada no fígado em resposta a citocinas pró-inflamatórias, IL-6 e IL-1 β (DU CLOS, 2013). A PCR exibe atividade de ligação cálcio-dependente à diferentes moléculas, como as fosfolipinas encontradas nos ácidos teicóicos e lipoteicóicos da parede celular das bactérias, as lisofosfatidilcolinas externalizadas na membrana plasmática de células lesionadas e a antígenos nucleares como as ribonucleoproteínas (CHOW, 2005). Esses PAMPs (*Pathogen associated molecular patterns* - padrões moleculares associados a patógenos) e DAMPs (*Damage associated molecular patterns* - padrões moleculares associados a dano) são complexados à PCR e reconhecidos por

macrófagos residentes nos tecidos pelos receptores TLR2 e TLR4 (ARANDA-VALDERRAMA; KAYNAR, 2018). A proteína C reativa foi identificada como marcador de primeiro insulto na TRALI (YAZDANBAKHSI, 2015). O início do primeiro insulto ocorre quando DAMPs e/ou PAMPs estão na circulação sistêmica. Os pulmões recebem todo o débito cardíaco, logo quando os DAMPs e PAMPs complexados a PCR circulam na barreira alvéolo-capilar, estas moléculas são reconhecidas pelos receptores TLR2 e TLR4 nos pneumócitos, ocorrendo à transdução de sinal e ativando a via MyD88-NF- κ B que induz a transcrição e síntese da IL-1 β . A IL-1 β se liga ao receptor IL-1R nos macrófagos alveolares, a transdução de sinal ativa a via MyD88-NF- κ B induzindo a transcrição e síntese de citocinas e quimiocinas, como TNF- α , CCL2, G-CSF, IL-6 e IL-8 (ARANDA-VALDERRAMA; KAYNAR, 2018). A IL-8 promove o aumento da expressão da molécula de adesão ICAM-1 nas células endoteliais e integrinas- β_2 em neutrófilos, demonstrado na segunda fase da figura 4. A ligação subsequente das moléculas de adesão às integrinas- β_2 resulta na aderência firme e sequestro dos neutrófilos no endotélio do capilar pulmonar, demonstrado na terceira fase da figura 4 (MORSING et al., 2018).

Figura 4 – Representação da ordem dos processos fisiopatogênicos da TRALI mediada por anticorpo:

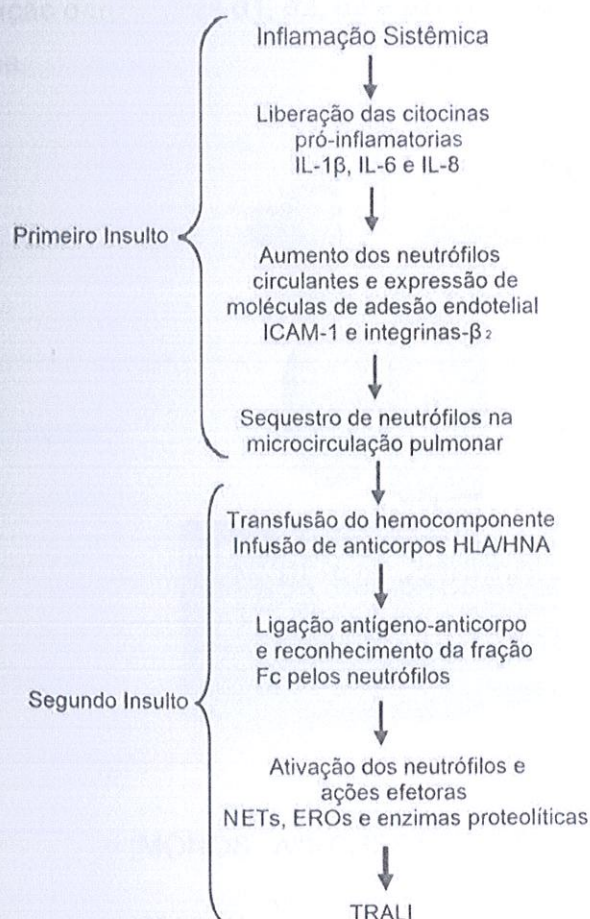


Fonte: Própria

4.7 Fisiopatogênia do segundo insulto da TRALI.

Após o primeiro insulto, os neutrófilos se encontram aderidos às células endoteliais da capilar pulmonar. O segundo insulto compreende a transferência de mediadores inflamatórios por meio da transfusão (fase 4 da figura 4), podendo ser imunoglobulinas ou substâncias de natureza química variada capazes de ativar os neutrófilos sequestrados na circulação pulmonar. A ligação ao antígeno cognato e o reconhecimento do anticorpo pelo neutrófilo (fase 5 da figura 4), provoca a ativação dos neutrófilos (fase 6 da figura 4), e o rompimento da barreira alvéolo-capilar (fase 7 da figura 4) e, conseqüentemente, a infiltração plasmática no pulmão (fase 8 da figura 4) (TARIKET et al., 2018). O fluxograma da figura 5 organiza a seqüência de eventos do primeiro e segundo insulto da TRALI.

Figura 5 - Fluxograma dos eventos do primeiro e segundo insulto na TRALI mediada por anticorpo.

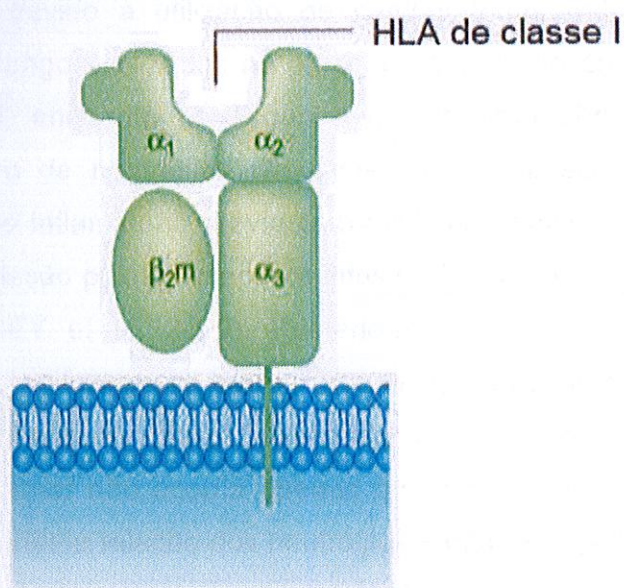


Fonte: Própria

4.8 Estudos dos modelos fisiopatogênicos do segundo insulto da TRALI mediada por anticorpo para HLA de classe I

Os HLA de classe I são expressos em todas as células nucleadas do organismo. Sua principal função é a apresentação de peptídeos endógenos, processados no meio intracelular, a linfócitos T citotóxicos CD8+. Os casos de TRALI causados por transfusão de anticorpos HLA de classe I são relativamente raros, embora a incidência aumente dentro da população de mulheres multíparas. As moléculas de HLA de classe I são representadas pelos HLA-A, HLA-B e HLA-C, sua molécula é formada por três cadeias α (1, 2 e 3) e uma cadeia β_2m como mostra a figura 6. Os anticorpos anti-HLA-A2 são os únicos anticorpos para HLA de classe I descritos em casos de TRALI e ativação dos neutrófilos (MUSCHTER, 2017).

Figura6 – Estrutura do HLA de classe I na membrana plasmática: Representação das cadeias α_1 , α_2 , α_3 e β_2m da molécula de HLA de classe I ligada a membrana.



Fonte: adaptado de (MONOS; WINCHESTER, 2019).

Dykes et al. (2000) descreve, em seu relatório, um paciente de transplante pulmonar que desenvolveu TRALI após infusão de hemocomponentes com

anticorpos que apenas possuíam o seu antígeno cognato do sistema HLA de classe I expresso nas células endoteliais do pulmão transplantado. Isso implica que imunoglobulinas G (IgG) são capazes de passar pela barreira alvéolo-capilar e interagir com endotélio pulmonar expressando antígenos HLA correspondentes, onde o neutrófilo reconhece a fração Fc do anticorpo pelo receptor Fcγ1a, ativando seus mecanismos de degranulação e formação de NETs, responsáveis pela lesão tecidual. O primeiro estudo *in vivo* de TRALI em modelo murino foi utilizando camundongos Balb/c infundidos com H2K^d, um anticorpo para MHC de classe I murino capaz de desenvolver lesão pulmonar. No estudo, os camundongos que foram infundidos com vimblastina, para depleção de neutrófilos, ou não expressavam FcγR não desenvolveram TRALI, implicando uma importante relação dos neutrófilos e do FcγR no desenvolvimento da TRALI mediada por anticorpo para HLA de classe I. (LOONEY et al, 2006). Após 3 anos, os pesquisadores que coordenaram esse estudo não conseguiram replicar os resultados encontrados utilizando o mesmo método de infusão de H2K^d. A lesão pulmonar só foi provocada quando o camundongo era primeiramente infundido com LPS e posteriormente com H2K^d. Os pesquisadores relataram que a diferença entre os métodos e resultados dos dois estudos foi devido à utilização de camundongos Balb/c de biotérios diferentes. Os camundongos utilizados no primeiro estudo não eram provenientes de um biotério estéril, enquanto no segundo estudo eram. Essa diferença foi relacionada ao número de neutrófilos circulantes, onde no segundo estudo foi necessário um estímulo inflamatório prévio com LPS para aumentar os neutrófilos circulantes e provocar lesão pulmonar após a infusão de H2K^d nos camundongos de biotério estéril (LOONEY et al, 2009). Posteriormente, esse modelo de lesão pulmonar com H2K^d foi utilizado por outros grupos que estudaram a relação dos neutrófilos com o endotélio na TRALI. Utilizando inibidores de P-selectina e E-selectina, a lesão pulmonar não ocorria apenas quando a E-selectina era inibida, evidenciando uma importante relação dos neutrófilos e endotélio pela interação com a E-selectina na migração para o compartimento pulmonar. (HIDALGO et al, 2009). Outro grupo estudando a relação dos neutrófilos e plaquetas na prevenção da lesão pulmonar provocada pela infusão de LPS e H2K^d, descobriram que a TRALI provocada por anticorpo para HLA de classe I é complemento dependente utilizando camundongos deficientes na fração C5 do complemento. Estes camundongos não desenvolvem TRALI após a infusão de LPS e H2K^d. Os autores desse mesmo

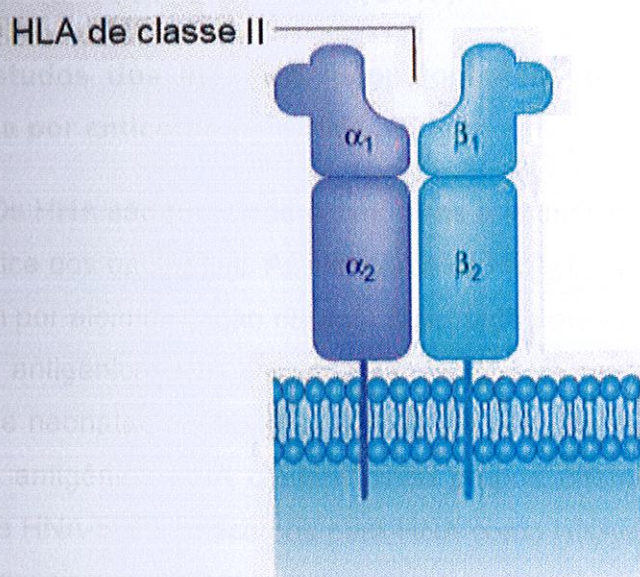
estudo também descobriram que a depleção de monócitos e macrófagos pelo gadolínio ou clonodrato evitava a lesão pulmonar (STRAIT et al, 2011). Um estudo conduzido por McKenzie et al (2014) utilizando as frações Fab e Fc e anticorpos íntegros do H2K α , concluíram que a TRALI é causada apenas por anticorpos íntegros e que a fração Fc é necessária para a ativação dos mecanismos efetores de neutrófilos e a fração Fab para a ativação de macrófagos e monócitos que secretam IL-1 β , IL-6, IL-8 e TNF- α , promovendo recrutamento e sequestro de neutrófilos na microcirculação pulmonar. Os anticorpos HLA classe I se ligam as moléculas HLA classe I em células endoteliais dos capilares pulmonares, sendo reconhecidas por neutrófilos pelos receptores Fc γ 1a que consequentemente provocam a ativação de suas ações efetoras.

Nos estudos de TRALI notou-se que os linfócitos exercem atividade protetora na lesão pulmonar, limitando o processo inflamatório. No estudo em modelo murino de TRALI dirigido por Kapur et al. (2017), para determinar qual o tipo de linfócito exerce atividade protetora na TRALI mediada por anticorpo para HLA de classe I, foi realizada uma primeira injeção para a depleção in vivo de células T CD4 $^{+}$ e/ou CD8 $^{+}$ ou linfócitos B utilizando anticorpos direcionados para estes tipos celulares em camundongos BALB/c que foram divididos de acordo com os componentes da injeção que receberam. Após a depleção dos respectivos tipos celulares, foi realizada uma segunda injeção contendo o anticorpo para MHC de classe I (34-1-2s) indutor de TRALI. Após 90 minutos da infusão do anticorpo 34-1-2s, apenas os camundongos com depleção de células T CD4 $^{+}$ demonstraram um aumento significativo nas razões de peso/diâmetro, indicativo de edema pulmonar. Para determinar qual subtipo de células T CD4 $^{+}$ eram responsáveis pela ação protetora na TRALI, os linfócitos T reguladores (Tregs) foram depletados in vivo pela injeção do anticorpo anti-CD25. Os pulmões foram colhidos para observação macroscópica, determinação das relações de peso/diâmetro, análise histológica e atividade da mieloperoxidase (MPO). A depleção de Treg permitiu que o anticorpo indutor de TRALI (34-1-2s) provocasse lesão pulmonar aguda. A deficiência de células T reguladoras (CD4 $^{+}$ CD25 $^{+}$ FoxP3) tem sido sugerida como fator predisponente da TRALI, em modelo murino de TRALI mediada por anticorpos, devido sua correlação com os níveis plasmáticos baixos de IL-10 (REBETZ; SEMPLE; KAPUR, 2018).

4.9 Estudos dos modelos fisiopatogênicos do segundo insulto da TRALI mediada por anticorpo para HLA de classe II

Os HLA de classe II são codificados por pares de genes designados por HLA-DR, HLA-DP e HLA-DQ, dando origem às cadeias α ou β da respectiva molécula (MUSCHTER, 2017), como demonstrado na figura 7. A expressão de moléculas de HLA de classe II nas células sanguíneas é limitada a linfócitos B, células dendríticas, monócitos e macrófagos. Enquanto as moléculas de HLA de classe II estão ausentes na superfície dos neutrófilos em repouso, sua expressão na membrana pode ser induzida por citocinas como INF- γ , IL-3 e GM-CSF (SACHS et al., 2010). Moléculas de HLA de classe II diferem das moléculas de HLA de classe I por apresentarem peptídeos antigênicos exógenos para linfócitos T CD4+, desempenhando sua função na imunidade celular e humoral.

Figura 7 – Estrutura do HLA de classe 2 na membrana plasmática: Representação das cadeias α_1 e α_2 da molécula de HLA de classe II ligada a membrana.



Fonte: adaptado de (MONOS; WINCHESTER, 2019).

A crescente relevância dos anticorpos HLA de classe II nos casos de TRALI não era esperada, pois os antígenos HLA de classe II não são expressos nos

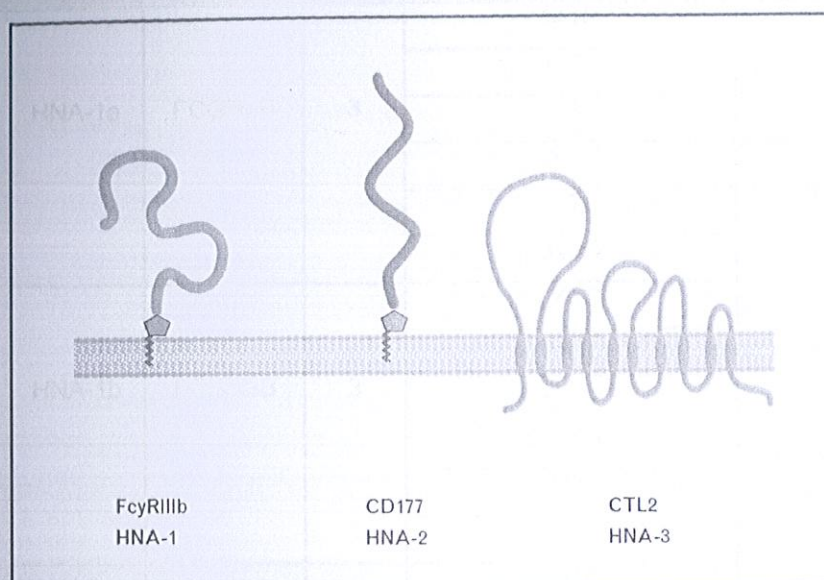
neutrófilos em repouso. Entretanto, assim como os neutrófilos, os monócitos se acumulam na microvasculatura pulmonar e há evidências de que os mediadores pró-inflamatórios, como IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8 são liberados dos monócitos após a ligação do anticorpo para HLA de classe II. Essas citocinas aumentam a permeabilidade endotelial e medeia a ativação dos neutrófilos no leito do capilar alveolar (MUSCHTER, 2017). Em modelo experimental, os monócitos podem apenas provocar TRALI na presença de neutrófilos. A liberação de IL-8, GRO- α e LTB4 pelos monócitos recrutam e ativam os neutrófilos para a liberação de grânulos secundários e produção de EROS (SACHS et al., 2010). Os anticorpos anti-HLA-DR52, encontrados nos hemocomponentes de doadores, aparentam estar frequentemente implicados nos casos de TRALI (MUSCHTER, 2017). O primeiro estudo a relatar a associação de anti-HLA de classe II a TRALI foi realizado por Kopko et al (2003). Vários relatos de casos foram publicados posteriormente, revelando que o anti-HLA DR se mostrou estar relacionado a vários casos de TRALI. Atualmente vários relatórios de hemovigilância publicados indicam que os anticorpos para HLA de classe II estão presentes em 50% de todos os casos de TRALI e, sendo assim, representam os anticorpos mais frequentemente implicados em casos de TRALI (SACHS et al., 2010).

4.10 Estudos dos modelos fisiopatogênicos do segundo insulto da TRALI mediada por anticorpo para HNA

Os HNA são proteínas polimórficas e imunogênicas expressas na membrana plasmática dos neutrófilos. Assim, como os HLA, os anticorpos dirigidos para o HNA ocorrem por aloimunização durante a gestação ou transfusão. Os anticorpos para o sistema antigênico HNA podem estar envolvidos em casos de TRALI, neutropênia aloimune neonatal, neutropênia autoimune neonatal e reação transfusional febril. O sistema antigênico HNA contém cinco grupos diferentes, HNA-1, HNA-2, HNA-3, HNA-4 e HNA-5. Os anticorpos para HNA como HNA-1a, HNA-1b, HNA-2 e HNA-3a foram associados à TRALI, enquanto que anticorpos para HNA-4a e HNA-5a ainda não foram detectados em casos de TRALI. Entre os antígenos do sistema HNA, os anticorpos para o HNA-3a são os que possuem maior relevância, pois são relacionados a casos de pior prognóstico de TRALI devido a sua capacidade de induzir a produção de espécies reativas de oxigênio, degranulação, NETs e provocar agregação de neutrófilos no leito capilar. Os mecanismos de sinalização e

transdução de sinal que resultam na ativação do neutrófilo pela interação dos anticorpos aos antígenos neutrofilicos ainda são desconhecidos (BUX, 2010; DANIELS, 2011).

Figura 8 – Distribuição dos antígenos neutrofilicos humano 1, 2 e 3 na membrana do neutrófilo: Representação dos antígenos HNA-1, presente no receptor FcγRIIIb, HNA-2, presente na proteína CD177, HNA-3, presente na proteína CTL2, na membrana do neutrófilo.



Fonte: adaptado de(MUSCHTER, 2017).

O HNA-1, codificado pelo gene FCGR3B no cromossomo 1q23-24, é uma proteína de 29-33 kDa com alto grau de glicosilação (FLESCHE; REIL, 2018). Localizado no receptor FcγRIIIb, um receptor de 50 kDa – 80 kDa ancorado à membrana de neutrófilos por glicofosfatidilinositol como mostra a figura 4, este receptor possui uma baixa afinidade por moléculas de IgG, estando implicado na remoção de imunocomplexos circulantes e fagocitose de patógenos opsonizados. As variações antigênicas são resultado de SNP (*single nucleotide polymorphism* - polimorfismo de único nucleotídeo) no exon 3, que formam os alelos HNA-1a, HNA-1b, HNA-1c ou HNA-1d. Os SNP de cada variante alélica está demonstrado no quadro 1. As frequências alélicas são características dentro de grupos étnicos. O recém-descoberto HNA-1d não foi investigado quanto a sua frequência alélica até o momento (DANIELS, 2011). Cerca de 58% dos caucasianos e até 91% dos

taiwaneses expressam HNA-1a, o fenótipo HNA-1b é detectado em 88% dos caucasianos e 54% dos taiwaneses, cerca de 5% dos alemães possuem o antígeno HNA-1c, sendo mais frequente em populações africanas com 22-38% e indetectadas em chineses (FLESCHE; REIL, 2018).

Quadro1 -Variantes alélicas, gene, exon e sequencia nucleotídica dos polimorfismos do HNA-1.

Sistema	Antígeno	Gene	Exon	Nucleotídeo	Proteína
HNA-1	HNA-1a	FCGR3B	3	141G	Receptor FcγIIIb
				147C	
				227A	
				266C	
				277G	
	349G				
	HNA-1b	FCGR3B	3	141C	
				147T	
				227G	
				266A/C	
				277A	
	349A				
	HNA-1c	FCGR3B	3	141C	
				147T	
				227G	
				266A	
				277A	
	349A				
	HNA-1d	FCGR3B	3	141C	
147T					
227G					
266C					
277A					
349A					

Fonte: modificado de (CHU et al., 2013; VELDHUISENet al., 2014).

O HNA-2 é uma glicoproteína de 56-64 kDa com 3 sítios de glicosilação (FLESCHE; REIL, 2018). Codificado pelo exon 11 no cromossomo 19q13.31. O HNA-

2 constitui o CD177 exclusiva de neutrófilos e ligada à membrana pelo glicofosfatidilinositol como demonstrado na figura 4. O gene e exon do HNA-2 se encontram no quadro 2 para consulta. A frequência antigênica encontrada foi entre 87% e 99% dos caucasianos, asiáticos e africanos. O CD177 participa na transmigração de neutrófilos devido à sua interação com a PECAM-1 (*platelet endothelial cell adhesion molecule 1*- molécula de adesão endotelial plaquetária 1), sendo que a expressão de CD177 na membrana plasmática aumenta quando o neutrófilo é ativado. Os anticorpos contra HNA-2 estão envolvidos em casos de neutropênia e TRALI (DANIELS, 2011). Na maioria dos indivíduos, o grau de expressão de HNA-2 é muito variável. Estudos em modelo murino *ex vivo* de lesão pulmonar, mostraram que a combinação entre o anticorpo e o antígeno cognato expresso nos neutrófilos provoca o aumento da permeabilidade vascular pulmonar e edema pulmonar. O grau de expressão de CD177 foi relacionado à intensidade da reação, uma vez que a lesão foi mais grave quando foram utilizados neutrófilos com expressão de $\geq 70\%$ de CD177 do que quando foram utilizados neutrófilos com expressão de 30% de CD177. Em contraste com modelos murino *ex vivo* de lesão pulmonar para anti-HNA-3a, o complemento não foi necessário para o desenvolvimento de lesão pulmonar (FUNG; TUNG, 2018).

Quadro 2 -Variantes alélicas, gene e exondo HNA-2.

Sistema	Antígeno	Gene	Exon	Nucleotídeo	Proteína
HNA-2	HNA-2	HNA-2	11	-	CD177

Fonte: modificado de (CHU et al., 2013; VELDHUISEN et al., 2014).

O HNA-3 está presente na proteína transportadora de colina-*like* 2 (CTL2). O CTL2 é uma glicoproteína de 68-72kDa com 10 domínios transmembrana e 5 alças extracelulares como mostra a figura 4, sendo codificada pelo gene SLC44A2 localizado no cromossomo 19p13.1. O CTL2 possui duas isorformas (CTL2-P1 e CTL2-P2) que diferem na sequência do *exon* 1, grau de glicosilação, distribuição tecidual e atividade de transporte de colina detectável. O CTL2-P1 é a isoforma que não apresenta atividade transportadora de colina detectável e ampla expressão nos neutrófilos, monócitos e plaquetas. O CTL2-P2 é a isoforma que apresenta atividade transportadora de colina detectável e ampla expressão no endotélio do capilar pulmonar. Anticorpos para HNA-3 foram descritos no início de 1964, mas apenas

em 2010 o antígeno foi localizado a CTL2 (FLESCH; REIL, 2018). O sistema antigênico bialélico HNA-3 (3a e 3b) é localizado na primeira alça extracelular da proteína CTL2. As variantes alélicas de HNA-3a e HNA-3b são determinadas pelo polimorfismo de nucleotídeo único G461A no gene SLC44A2. A substituição por uma guanina ou adenina na posição 461 da sequência nucleotídica, codifica, respectivamente, um resíduo de arginina ou glutamina na posição 154 da estrutura primária de aminoácidos, correspondendo à fração antigênica HNA-3a e HNA-3b da proteína CTL-2, respectivamente. Os SNP das variantes alélicas do HNA-3 estão demonstradas no quadro 3. O HNA-3a é um antígeno de alta frequência, sendo seu fenótipo negativo raro em todas as etnias. Foi encontrada uma frequência antigênica de 95% para HNA-3a entre doadores de sangue brasileiros (MORITZ et al., 2009). Anticorpos anti-granulócitos têm sido detectados no soro de pacientes politransfundidos, múltiparas, pacientes com neutropênia, pacientes com reação transfusional febril e no sangue de doadores que provocaram TRALI (BUX, 2008; MORITZ et al., 2009).

Quadro 3 -Variantes alélicas, gene, exon e sequência nucleotídica dos polimorfismos HNA-3.

Sistema	Antígeno	Gene	Exon	Nucleotídeo	Proteína
HNA-3	HNA-3a	SLC44A2	7	461G	CTL2
	HNA-3b	SLC44A2	7	461A	

Fonte: modificado de (CHU et al., 2013; VELDHUISENet al., 2014)

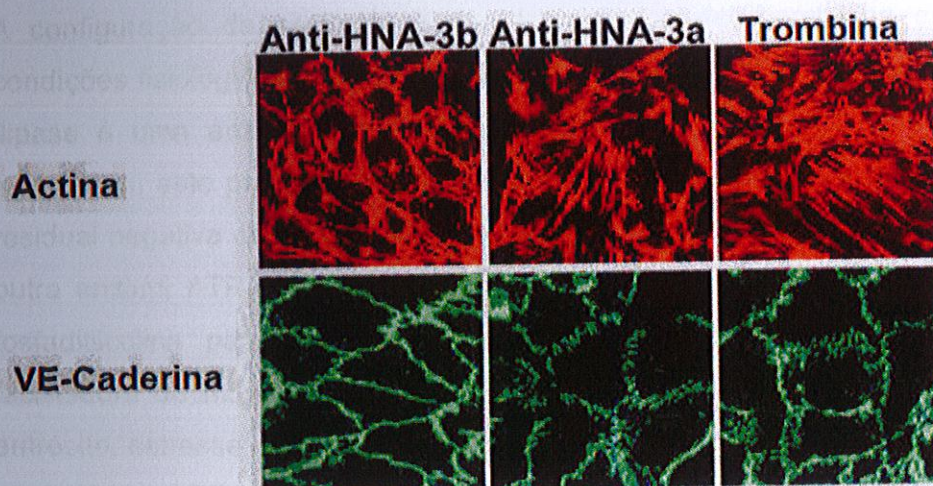
A capacidade do anti-HNA-3a e anti-HNA-3b de alterar a permeabilidade vascular foi avaliada por coloração de imunofluorescência para VE-caderina e actina e detecção por imunoblot da VE-caderina fosforilada no estudo conduzido por Bayat e colaboradores. O citoesqueleto de actina nas células do endotélio capilar pulmonar é importante na regulação da permeabilidade endotelial paracelular. A via paracelular corresponde ao espaço intercelular do endotélio, cuja função primária é restringir o trânsito de macromoléculas em uma faixa de 3 nm, permitindo a difusão de moléculas com diâmetro inferior a 3 nm. No entanto, as junções de adesão são estruturas dinâmicas, respondendo a substâncias e regulando a permeabilidade vascular. As junções de adesão são compostas por caderina endotelial vascular

(VE) que se associa homotipicamente à VE-caderina da célula adjacente. O domínio justamembrana da VE-caderina liga-se à p120-catenina (p120), enquanto o domínio C-terminal liga-se às β -cateninas e α -cateninas, que, por sua vez, ligam-se ao citoesqueleto de actina. A ligação da p120 às caderinas é o fator mais importante da estabilidade juncional, pois regula as interações das caderinas com quinases, fosfatases e RhoGTPases, que, por sua vez, controlam o estado de fosforilação e a estabilidade das junções das caderinas entre si. Estudos mostraram que a fosforilação da VE-caderina leva ao desacoplamento da p120 à cauda citoplasmática e, conseqüentemente, à ruptura das junções célula-célula, levando ao aumento da permeabilidade endotelial paracelular. Interações dinâmicas entre as cateninas e o citoesqueleto de actina são cruciais na regulação da permeabilidade juncional. Enquanto as bandas corticais de actina estabilizam as junções, a reorganização da actina em fibras de tensão contráteis perturba as junções (VANDENBROUCKE et al., 2008).

Foi demonstrado na figura 7 que apenas os anticorpos anti-HNA-3a induziram extensa formação de filamentos de tensão de actina, comparáveis com a estrutura do filamento de actina obtida com a estimulação do controle positivo de trombina. A imunomarcação da VE-caderina mostrou afrouxamento da VE-caderina após o tratamento com anti-HNA-3a em comparação ao controle positivo com trombina, enquanto o anticorpo anti-HNA-3b não provocou alterações nas junções endoteliais como mostra a figura 9 (MUSCHTER, 2017).

Os neutrófilos apenas expressam a isoforma P1 da CTL2, enquanto as células endoteliais expressam ambas as isoformas, P1 e P2, implicando em um maior número de sítios de ligação em comparação ao neutrófilo. Em um estudo de modelo murino *in vivo* neutropênico, o tratamento com anti-HNA-3a induziu produção significativa de espécies reativas de oxigênio (ROS) oriundas das células endoteliais, evidenciando que os neutrófilos são apenas um fator agravante por não serem as células efetoras da lesão pulmonar, pois não são a principal fonte de EROs na TRALI (FUNG; TUNG, 2018). Foi descoberto recentemente que os neutrófilos interagem com o fator de Von Willebrand via CTL-2, que permite que o anticorpo induza a transdução de sinal via CD11b/CD18. Este mecanismo pode agravar o dano endotelial mediada por anticorpo anti-HNA-3a (REBETZ; SEMPLE; KAPUR, 2018).

Figura 9 – Coloração imunocitoquímica da Actina e VE-Caderina em células endoteliais tratadas com anti-HNA-3a, anti-HNA-3b e trombina: As figuras em vermelho mostram a actina corada por imunocitoquímica, onde se pode visualizar a formação de filamentos de tensão nas células tratadas com o controle positivo de trombina e anti-HNA-3a, as células tratadas com anti-HNA-3b não formaram filamentos de tensão. As figuras em verde mostram a VE-caderina corada por imunocitoquímica, onde se pode visualizar o afrouxamento das junções de adesão endotelial nas células tratadas com o controle positivo de trombina e anti-HNA-3a, as células tratadas com anti-HNA-3b não demonstraram afrouxamento nas junções de adesão.



Fonte: adaptado de (MUSCHTER, 2017).

4.11 Estudos dos modelos fisiopatogênicos do segundo insulto na TRALI não mediada por anticorpo.

A maioria dos casos de TRALI apresenta um mecanismo imunológico mediado por anticorpos para antígenos HLA ou HNA, no entanto em alguns casos, cerca de 20% a 50%, nenhum anticorpo é identificado, o que levou à investigação de um mecanismo alternativo para a TRALI. (MAŠLANKA et al., 2011). Estudos mostraram que o segundo insulto pode ser provocado por substâncias ditas como modificadores de resposta biológica, dentre elas foram descritas micropartículas de membrana de hemácias e plaquetas, lipídios pró-inflamatórios e ligante de CD40 (CD40L) (PETERS et al., 2015).

Durante o armazenamento do concentrado de hemácias podem ocorrer vários tipos de eventos relacionados ao tempo de armazenamento, incluindo diminuição nos níveis de adenosina 5'-trifosfato (ATP) e 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG). A formação de micropartículas de membrana das hemácias aumenta com o tempo de armazenamento, sendo associada a mudanças bioquímicas no hemocomponente, como: aumento do cálcio citosólico, depleção de ATP e, conseqüentemente, diminuição dos processos dependentes de energia metabólica como a bomba de Na/K e enzimas que garantem assimetria lipídica da membrana, provocando, respectivamente, a contínua perda de potássio e diminuição da atividade enzimática. As alterações relacionadas ao tempo de armazenamento se encontram no quadro 4. O rearranjo de fosfolípidos de membrana é crucial na formação das micropartículas. A configuração da assimétrica dos fosfolípidos de membrana da hemácia em condições fisiológicas é garantida por três enzimas: flipase, flopase e scramblase. A flipase é uma enzima que realiza o movimento de flip-flop dos fosfolípidos de membrana, este processo é dependente de ATP e promove a orientação da carga residual negativa dos fosfolípidos de membrana para o interior da célula. A Flopase, outra enzima ATP-dependente responsável pelo flip-flop, mantém a orientação da fosfatidilcolina para o exterior da membrana. A scramblase é uma enzima facilitadora do movimento bidirecional dos fosfolípidos de membrana. A lesão do eritrócito, estresse metabólico, senescência e tempo de armazenamento provocam a depleção de ATP e potássio, diminuindo a atividade da flipase e, conseqüentemente, perdendo a assimetria fisiológica dos lípidos de membrana, o que resulta na exposição da fosfatidilcolina e promovendo a liberação das micropartículas. Soluções de armazenamento hipotônicas e alcalinas estão associadas ao aumento da produção de micropartículas, mas geralmente no armazenamento de hemácias ocorre depleção de recursos energéticos e defesas antioxidantes, permitindo acúmulo de modificações oxidativas nas proteínas e lípidos, particularmente envolvendo o citoesqueleto e banda 3. A leucoredução foi reconhecida por diminuir a produção de micropartículas de hemácias em até 40-50% (SAID; ROGERS; DOCTOR, 2018).

As micropartículas são cercadas por uma bicamada lipídica que contém fosfolípidos de membrana, proteínas associadas à membrana, enzimas e quimiocinas (CXCL8). Um estudo de Maslanka e colaboradores investigou 464

hemocomponentes (CH, PFC e CP) transfundidos em 271 pacientes notificados com reações pós-transfusional e revelaram que as micropartículas liberadas de glóbulos vermelhos armazenados são um fator potencial que contribui para a TRALI não mediada por anticorpos. De acordo com o modelo TRALI de dois insultos, a ativação excessiva de neutrófilos desempenha um papel central na patogênese da TRALI. As micropartículas exibem atividades de adesão endotelial e pró-coagulantes, provocando respectivamente a adesão de leucócitos e ativação plaquetária (MAŚLANKA et al., 2017).

Quadro 4 - Eventos acumulativos relacionados ao tempo de armazenamento do concentrado de hemácias.

↓ ATP	↑ K extracelular	↑ Agregação eritrocitária	↑ Apoptose
↓ pH	↓ Atividade da bomba de Na ⁺ /K ⁺	Oxidação de lipídios e proteínas da membrana	↑ Geração de produtos finais de glicação avançada
↓ Glutathiona	↑ Fragilidade osmótica	↑ Lisofosfatidilcolina na superfície da membrana	↓ Expressão de CD47 na superfície dos eritrócitos
↓ NADH/NADPH	↑ Fragilidade mecânica	↑ Lisofosfatidilserina na superfície da membrana	↑ Adesão vascular
↑ Hb/heme/Fe ²⁺ livres	↑ Microvesiculação de membrana	↑ Ativação de neutrófilos e produção de EROs	↑ Alteração no metabolismo de óxido nítrico

Fonte: Adaptado de (NEAL et al., 2013).

As lisofosfatidilcolinas (Liso-PCs) são lipídeos que se acumulam nos concentrados de hemácias e plaquetas ao longo do tempo de armazenamento e provocam lesão pulmonar aguda pelos efeitos de citotoxicidade nos estudos *in vivo* e *in vitro* de modelos experimentais de ativação de neutrófilos e lesão endotelial

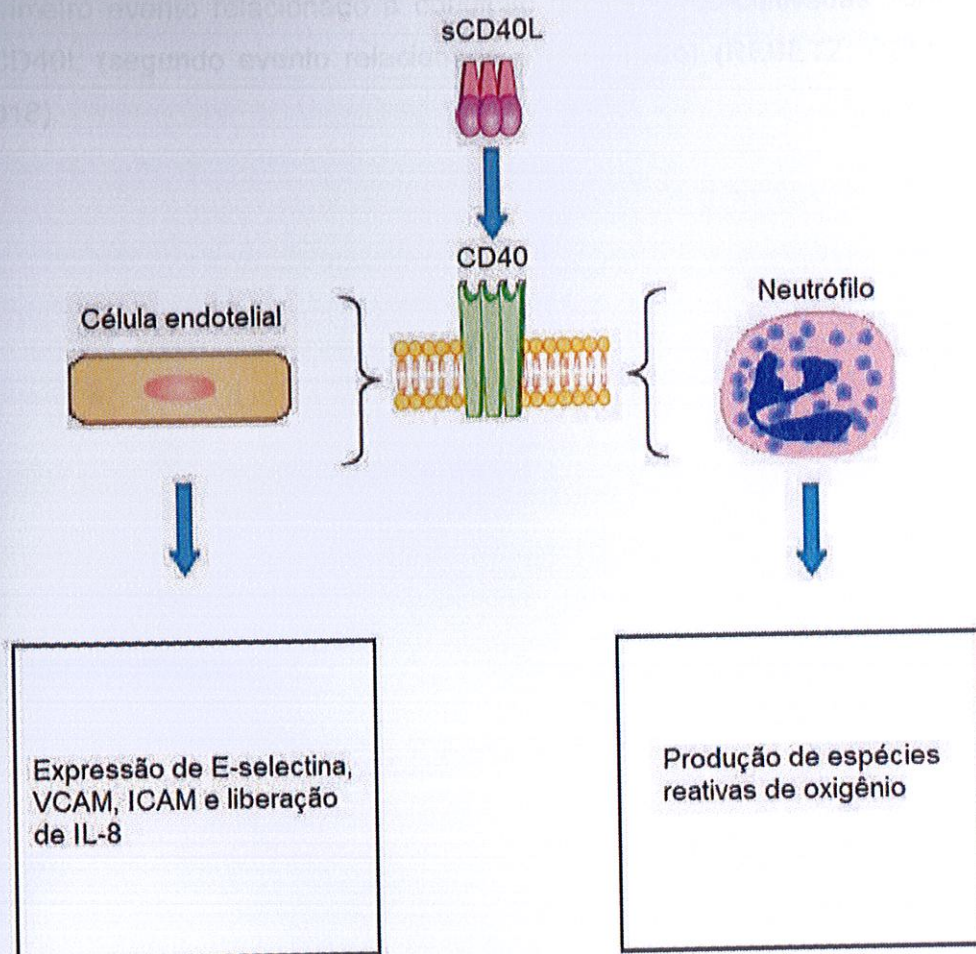
respectivamente. As Lyso-PCs se ligam ao receptor G2A nos neutrófilos, promovendo quimiotaxia e liberação do seu conteúdo granular. A ligação das Liso-PCs ao G2A, um receptor acoplado as proteínas G_i e $G_{q/11}$, provoca a liberação da subunidade α , esta interage com canais iônicos de Ca^{2+} provocando sua abertura e, conseqüentemente, aumentando a concentração de Ca^{2+} citosólico proveniente de compartimento plasmático e celular. O aumento de Ca^{2+} citosólico em neutrófila esta relacionado a processos de quimiotaxia e degranulação (KHAN et al., 2010). Um estudo *in vitro* de TRALI não mediada por anticorpos, lipídios como as liso-PCs acumuladas no armazenamento do hemocomponente, mostraram capazes de causar dano endotelial mediado por neutrófilo. A cultura de células endoteliais da microcirculação pulmonar humana foram ativadas com LPS (primeiro evento relacionado à condição clínica) e co-cultivadas com neutrófilos e liso-PCs (segundo evento relacionado à transfusão) (REBETZ; SEMPLE; KAPUR, 2018).

Estudos também relacionaram o antígeno Duffy a TRALI. Devido às mudanças bioquímicas que ocorrem durante o tempo de armazenamento do concentrado de hemácias citadas no quadro 4, à expressão do antígeno Duffy na superfície da membrana das hemácias é reduzida. Pesquisadores notaram que a transfusão de hemácias, cuja expressão do antígeno Duffy foi diminuída, provoca um aumento de citocinas pró-inflamatórias na circulação do paciente devido a capacidade desse antígeno de se ligar as classes CXC e CC de citocinas, como a IL-8(CXCL8), impedindo que estas se liguem aos seus receptores e desencadeiem a resposta pró-inflamatória. Sendo assim, doadores com o fenótipo Duffy negativo (Fya-b-) também provocariam o aumento da citocina IL-8, predispondo o paciente à TRALI. (PETERS et al., 2015).

O CD40L é uma proteína transmembrana de única passagem pertencente à família do fator de necrose tumoral (TNF). O gene do CD40L (CD40LG) localizado no cromossomo Xq26.3, possui 5 exons que codificam a sequência de 261 aminoácidos (aa) da proteína, sendo 22 aa com domínio citoplasmático, 24 aa com domínio transmembrana e 215 aa com domínio extracelular. O CD40L é constitutivamente expresso por células apresentadoras de antígeno, células endoteliais e plaquetas, sendo sua interação com seu clássico receptor CD40 essencial no funcionamento da imunidade inata e adaptativa. O CD40L pode ser encontrado na sua forma ligada à membrana ou a proteína pode ser clivada pela

metaloproteinase MMP-2 na metionina da posição 113 da sequência primária de aa, liberando parte do domínio extracelular que corresponde ao CD40L na sua forma solúvel no plasma (sCD40L). Ambas as formas, ligada à membrana e solúvel no plasma, possuem a estrutura heterotrimérica conservada, sendo esta essencial para a ligação ao receptor e a consequente transdução de sinal (VANICHAKARN et al., 2008).

Figura 10 - Efeitos da interação do sCD40L com CD40 em células endoteliais e neutrófilos: A ligação do sCD40L ao CD40 resulta na produção de moléculas de adesão e espécies reativas de oxigênio respectivamente no endotélio e neutrófilo.



Fonte: Adaptado de (LIEVENS et al., 2009).

Além de se ligar ao seu clássico receptor CD40, o sCD40L também se liga às integrinas $\alpha 2\beta 3$, $\alpha 5\beta 1$ e $\alpha 2\beta 2$ (MAC-1), induzindo diferentes respostas biológicas frente à estimulação. Os efeitos da interação do sCD40L com o CD40 em

determinados tipos celulares se encontram no figura10. Por estar circulante no plasma, exerce sinalização autócrina, parácrina e endócrina. Em plaquetas promove ativação e agregação plaquetária, além de promover satelitismo com neutrófilos relacionado com a produção de NETs (VANICHAKARN et al., 2008).Khan (2006) demonstrou que o sCD40L se acumula no armazenamento de hemocomponentes e possui a capacidade de provocar a aderência e ativação de neutrófilos na microcirculação pulmonar, provocando lesão endotelial e TRALI.Outro estudo *in vitro* de TRALI não mediada por anticorpos utilizando o sCD40L, mostrou que este composto é capaz de causar dano endotelial mediado por neutrófilo. A cultura de células endoteliais da microcirculação pulmonar humana foram ativadas com LPS (primeiro evento relacionado à condição clínica) e co-cultivadas com neutrófilos e sCD40L (segundo evento relacionado à transfusão) (REBETZ; SEMPLE; KAPUR, 2018).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A TRALI é uma reação transfusional aguda diagnosticada de acordo com critérios clínicos, como insuficiência respiratória aguda dentro de 6h após o procedimento hemoterápico e edema pulmonar bilateral com pressão arterial normal ou baixa (não-cardiogênico)(TUNG, 2019).

Pesquisas em modelo animal nos dizem que para ocorrer TRALI é necessário um estímulo inflamatório prévio (primeiro insulto), correspondendo a determinadas condições clínicas, como sepse e hepatopatias, onde citocinas como IL-1 β , IL-6 e IL-8 aumentam o recrutamento de neutrófilos para a circulação e a expressão de moléculas de adesão endotelial (E-selectina e ICAM-1). Os neutrófilos são sequestrados na circulação pulmonar e quando receberem o estímulo inflamatório (segundo insulto) proveniente da transfusão, eles ativam suas funções efetoras (EROs, NETs e degranulação) ,ocasionando lesão endotelial que, conseqüentemente, aumenta a permeabilidade vascular aos fluidos plasmáticos e provoca o edema pulmonar(SHAZ, 2012).

Apesar de diversas pesquisas em modelo animal e relato de casos terem identificado os fatores predisponentes do primeiro insulto e os fatores causais do segundo insulto, os mecanismos moleculares de transdução de sinal, relacionados à fisiopatogênia da TRALI, ainda não estão elucidados (TUNG, 2019). Ainda assim muitos dados de diferentes pesquisas se mostram conflitantes, evidenciando uma necessidade de estudos para melhor definir seus processos fisiopatogênicos (PETERS et al., 2015).

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Cellular and Molecular Immunology**. 8. ed. Canada: Elsevier, 2015. 535 p.
- ALVES, V. M. et al. Pesquisa de aloimunização após transfusão de concentrados de hemácias em um estudo prospectivo. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, v. 34, n. 3, p. 206-211, abr. 2012.
- ARANDA-VALDERRAMA, P.; KAYNAR, A. M. The Basic Science and Molecular Mechanisms of Lung Injury and Acute Respiratory Distress Syndrome. **International Anesthesiology Clinics**, [s.l.], v. 56, n. 1, p.1-25, 2018. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/aia.000000000000177>.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Hemovigilância: manual técnico para investigação das reações transfusionais imediatas e tardias não infecciosas**. Brasília: Anvisa, 2007.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Relatório de Hemovigilância: Dados consolidados 2007-2014**. Brasília: Anvisa, 2015.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 10. de 23 de janeiro de 2004. Diretrizes para uso de Plasma Fresco Congelado - PFC e de Plasma Vírus Inativo. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, DF, 26 jan. 2004.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 129, de 24 de maio de 2004. Diretrizes para transfusão de plaquetas. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, DF, 25 maio 2004.
- BUX, J. Antibody-mediated (immune) transfusion-related acute lung injury. **VoxSanguinis**, [s.l.], v. 100, n. 1, p.122-128, 22 dez. 2010. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1423-0410.2010.01392.x>.

CATELAN, T. T. T. et al. Linfócitos B: da imunobiologia aos imunobiológicos. **Revista Sinopse de Reumatologia**, São Paulo, v. 2, p. 35-57, 2008.

CAVALCANTI, I. L.; CANTINHO, F. A. F.; ASSAD, A. **Medicina Perioperatória**. Rio de Janeiro: Sociedade de Anestesiologia do Estado do Rio de Janeiro, 2006. 1356 p.

CHAKRABARTI, S. et al. CD40 Ligand Influences Platelet Release of Reactive Oxygen Intermediates. **Arteriosclerosis, Thrombosis, And Vascular Biology**, [s.l.], v. 25, n. 11, p.2428-2434, nov. 2005. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1161/01.atv.0000184765.59207.f3>.

CHOW, D. A. Natural Immune Activation: Stimulators/Receptors. **Natural Immunity**, [s.l.], p.123-150, 2005. Elsevier. [http://dx.doi.org/10.1016/s1567-7443\(05\)80013-4](http://dx.doi.org/10.1016/s1567-7443(05)80013-4).

DANIELS, G. Blood groups on red cells, platelets and neutrophils. **Blood And Bone Marrow Pathology**, [s.l.], p.599-617, 2011. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-7020-3147-2.00037-7>

DYKES, A. et al. Transfusion-Related Acute Lung Injury (TrALI) In A Patient With A Single Lung Transplant. **British Journal Of Haematology**, [s.l.], v. 109, n. 3, p.674-676, jun. 2000. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2141.2000.01999.x>

DUCLOS, T. W. Pentraxins: Structure, Function, and Role in Inflammation. **Isrn Inflammation**, [s.l.], v. 2013, p.1-22, 2013. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/379040>.

EICHHORN, M. et al. Platelet Kinetics in the Pulmonary Microcirculation in vivo Assessed by Intravital Microscopy. **Journal Of Vascular Research**, [s.l.], v. 39, n. 4, p.330-339, 2002. S. Karger AG. <http://dx.doi.org/10.1159/000065545>.

FLESCH, B.K.; REIL, A. Molecular Genetics of the Human Neutrophil Antigens. **Transfusion Medicine And Hemotherapy**, [s.l.], v. 45, n. 5, p.300-309, 2018. S. Karger AG. <http://dx.doi.org/10.1159/000491031>.

FUNG, Y. L.; TUNG, J. How different animal models help us understand TRALI. **Isbt**

Science Series, [s.l.], v. 13, n. 3, p.197-205, 6 mar. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/voxs.12423>

HIDALGO, A. et al. Heterotypic interactions enabled by polarized neutrophil microdomains mediate thromboinflammatory injury. **Nature Medicine**, [s.l.], v. 15, n. 4, p.384-391, 22 mar. 2009. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/nm.1939>.

KAPUR, R. et al. Elevation of C-reactive protein levels in patients with transfusion-related acute lung injury. **Oncotarget**, [s.l.], v. 7, n. 47, p.78048-78054, 25 out. 2016. Impact Journals, LLC. <http://dx.doi.org/10.18632/oncotarget.12872>.

KAPUR, R. et al. T regulatory cells and dendritic cells protect against transfusion-related acute lung injury via IL-10. **Blood**, [s.l.], v. 129, n. 18, p.2557-2569, 15 fev. 2017. American Society of Hematology. <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2016-12-758185>.

KHAN, S. Y. Soluble CD40 ligand accumulates in stored blood components, primes neutrophils through CD40, and is a potential cofactor in the development of transfusion-related acute lung injury. **Blood**, [s.l.], v. 108, n. 7, p.2455-2462, 1 out. 2006. American Society of Hematology. <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2006-04-017251>.

KHAN, S. Y. et al. Lysophosphatidylcholines activate G2A inducing Gai-1/Gaq/11-Ca²⁺flux, Gβγ-Hck activation and clathrin/β-arrestin-1/GRK6 recruitment in PMNs. **Biochemical Journal**, [s.l.], v. 432, n. 1, p.35-45, 15 nov. 2010. Portland Press Ltd. <http://dx.doi.org/10.1042/bj20091087>.

KOLACZKOWSKA, E.; KUBES, P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. **Nature Reviews Immunology**, [s.l.], v. 13, n. 3, p.159-175, mar. 2013. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/nri3399>.

KUMAR, R. et al. Transfusion Related Acute Lung Injury (TRALI): A Single Institution Experience of 15 Years. **Indian Journal Of Hematology And Blood Transfusion**, v. 32, n. 3, p.320-327, 29 set. 2015. Springer Nature. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s12288-015-0604-4>. Acesso em: 19NOV. 2017.

MORSING, K.S.H. et al. The role of endothelium in the onset of antibody-mediated TRALI. **Blood Reviews**, Sanquin (amsterdã), v. 32, n. 1, p.1-7, jan. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.blre.2017.08.003>

MORITZ, E. et al. Human neutrophil alloantigen systems. **Anais Da Academia Brasileira De Ciencias**, v. 81, n. 3, p. 559-569, Sep 2009.

MUSCHTER, S. CHARACTERIZATION OF PATHOLOGIC NEUTROPHIL RESPONSES AND IDENTIFICATION OF SIGNALING PATHWAYS IN HNA-3A ANTIBODY-MEDIATED TRANSFUSION-RELATED ACUTE LUNG INJURY. 2017. 187 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Naturais, Faculdade de Ciência Natural-matemática, Universität Greifswald, Greifswald, 2017.

NAUSEEF, W.M.; BORREGAARD, N. Neutrophils at work. **Nature Immunology**, [s.l.], v. 15, n. 7, p.602-611, 18 jun. 2014. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/ni.2921>.

NEAL, M. D. et al. Innate Immune Activation After Transfusion of Stored Red Blood Cells. **Transfusion Medicine Reviews**, [s.l.], v. 27, n. 2, p.113-118, abr. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tmr.2013.01.001>.

OLIVEIRA, M. B. S. C.; RIBEIRO, F. C.; VIZZONI, A. G. **Conceitos básicos e aplicados em imuno-hematologia**. 1. ed. Rio de Janeiro: EPSJV, 2013. 156 p.

PETERS, A.L.; VAN STEIN, D.; VLAAR, A. P. J.. Antibody-mediated transfusion-related acute lung injury; from discovery to prevention. **British Journal Of Haematology**, [s.l.], v. 170, n. 5, p.597-614, 28 abr. 2015. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/bjh.13459>.

PETERS, A. L. et al. Pathogenesis of non-antibody mediated transfusion-related acute lung injury from bench to bedside. **Blood Reviews**, [s.l.], v. 29, n. 1, p.51-61, jan. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.blre.2014.09.007>.

REBETZ, J.; SEMPLE, J.W.; KAPUR, R. The Pathogenic Involvement of Neutrophils in Acute Respiratory Distress Syndrome and Transfusion-Related Acute Lung

Injury. **Transfusion Medicine And Hemotherapy**, [s.l.], v. 45, n. 5, p.290-298, 2018. S. Karger AG. <http://dx.doi.org/10.1159/000492950>

SACHS, U. J. H. et al. Mechanism of transfusion-related acute lung injury induced by HLA class II antibodies. **Blood**, [s.l.], v. 117, n. 2, p.669-677, 28 out. 2010. American Society of Hematology. <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2010-05-286146>.

SAID, A. S.; ROGERS, S.C.; DOCTOR, A. Physiologic Impact of Circulating RBC Microparticles upon Blood-Vascular Interactions. **Frontiers In Physiology**, [s.l.], v. 8, p.1-13, 12 jan. 2018. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fphys.2017.01120>

STEPHENS, P. R. S. et al. Hematologia e imunologia aplicadas em imuno-hematologia. In: OLIVEIRA, M. B. S. C.; RIBEIRO, F. C.; VIZZONI, A. G. (Org.).

Conceitos básicos e aplicados em imuno-hematologia. Rio de Janeiro: EPSJV, 2013. p. 35-63. Disponível em: https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/13401/2/Conceitos%20B%C3%A1sicos%20e%20Aplicados%20em%20ImunoHematologia_Hematologia%20e%20Imunologia.pdf.

STRONCEK, D F.; FADEYI, E.; ADAMS, S. Leukocyte Antigen and Antibody Detection Assays: Tools for Assessing and Preventing Pulmonary Transfusion Reactions. **Transfusion Medicine Reviews**, v. 21, n. 4, p.273-286, out. 2007. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tmr.2007.05.003>. Acesso em: 25NOV. 2017.

SHAZ, B. H.. Giving TRALI the one-two punch. **Blood**, v. 119, n. 7, p.1620-1621, 16 fev. 2012. American Society of Hematology. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2011-12-395897>. Acesso em: 28Nov. 2017.

SILLIMAN, C. C. et al. Transfusion-related acute lung injury (TRALI): Current concepts and misconceptions. **Blood Reviews**, v. 23, n. 6, p.245-255, nov. 2009. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.blre.2009.07.005>. Acesso em: 3 Dez. 2017.

SILVA, K. F. N.; SOARES, S.; IWAMOTO, H. H. A prática transfusional e a formação dos profissionais de saúde. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, São Paulo , v. 31, n. 6, p. 421-426, 2009 .

Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842009000600009&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 23 Mar. 2018. Epub Dec 18, 2009. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-84842009005000092>

STRAIT, R. T. et al. MHC class I-specific antibody binding to nonhematopoietic cells drives complement activation to induce transfusion-related acute lung injury in mice. **The Journal Of Experimental Medicine**, [s.l.], v. 208, n. 12, p.2525-2544, 24 out. 2011. Rockefeller University Press. <http://dx.doi.org/10.1084/jem.20110159>.

TARIKET, S. et al. Platelet and TRALI: From blood component to organism. **Transfusion Clinique Et Biologique**, [s.l.], v. 25, n. 3, p.204-209, set. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tracli.2018.03.006>.

TOY, P. et al. Transfusion-related acute lung injury: incidence and risk factors. **Blood**, v. 119, n. 7, p.1757-1767, 23 nov. 2011. American Society of Hematology. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1182/blood-2011-08-370932>>. Acesso em: 6 Dez. 2017.

TUNG, J. Transfusion-Related Acute Lung Injury (Trali): Pathogenesis And Diagnosis. **Pathology**, [s.l.], v. 51, p.44-44, fev. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pathol.2018.12.103>.

U.S. Food and Drug Administration. Fatalities Reported to FDA Following Blood

Collection and Transfusion: Annual Summary for Fiscal Year 2013. Disponível em: <<https://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/SafetyAvailability/ReportaProblem/TransfusionDonationFatalities/ucm391574.html>>. Acesso em: 9 Dez. 2017.

VANICHAKARN, P. et al. Neutrophil CD40 enhances platelet-mediated

inflammation. **Thrombosis Research**, [s.l.], v. 122, n. 3, p.346-358, jan. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.thromres.2007.12.019>.

VLAAR, A.P.; JUFFERMANS, N. P. Transfusion-related acute lung injury: a clinical review. **The Lancet**, [s.l.], v. 382, n. 9896, p.984-994, set. 2013. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(12\)62197-7](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(12)62197-7).

WEST, John B. Fisiologia Respiratória: Principios básicos. 8.ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

YAZDANBAKHSI, K. TRALI: hit by CRP. **Blood**, [s.l.], v. 126, n. 25, p.2661-2662, 17 dez. 2015. American Society of Hematology. <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2015-10-675496>.