

- } ALERGOLOŠKA IN  
IMUNOLOŠKA SEKCIJA  
SZD
- } Sekcijo za internistično  
onkologijo
- } Slovensko imunološko  
društvo

Zbornik sestanka:

## **Takojšnje reakcije med aplikacijo onkoloških in bioloških zdravil**

Ljubljana, Medicinska fakulteta  
6-7. april 2018

Izdajatelj  
Alergološka in imunološka sekcija  
SZD

Urednik zbornika  
Mitja Košnik

Strokovni odbor srečanja  
Peter Kopač, Janja Ocvirk, Erika  
Matos, Branko Zakotnik, Mitja Košnik,  
Vladka Čurin Šerbec

Organizacija srečanja  
Robert Marčun, Mitja Košnik, Erika  
Matos

Izvedbo sestanka so omogočili:

## **Glaxo SmithKline**

Ewopharma

Eli Lilly

IRIS

Mylan

Novartis

Pliva Teva

Roche

# Program

Petek 6 april 2018

## Takojšnje reakcije med aplikacijo onkoloških in bioloških zdravil

- 15:00 **Mitja Košnik** Patogeneza preobčutljivostnih reakcij po zdravilih  
15:20 **Vladka Čurin Šerbec** Monoklonska protitelesa kot zdravilo  
15:40 – 16:10 **Janja Ocvirk** Probčutljivostne reakcije ob aplikaciji protitumornih zdravil: citostatiki, MoAb, male molekule  
16:10 -16:40 **Erika Matos** Predstavitev ESMO smernic: Obravnava infuzijskih reakcij ob sistemskem zdravljenju s protitumornimi zdravili  
16:40 **Tina Vesel Tajnšek** Neželeni učinki bioloških zdravil pri otrocih  
17:00 Satelitski simpozij GSK  
17:20 ODMOR  
18:00 **Irena Bricl, Ivica Marić** Sistem hemovigilance v Sloveniji  
18:20 **Peter Korošec, Ana Koren** Diagnostika *in vitro* (dostopni testi in testi v preskušanju)  
19:00 **Peter Kopač** Desenzibilizacija za zdravila (indikacije, potek, uspeh, klinična pot).  
19:30 Plenarna razprava: kako naprej?

Sobota 7 april 2018

8:30 Občni zbor alergosekcije

## Kaj je novega v alergologiji in klinični imunologiji

- 9:00 **Mojca Bizjak** Kasna preobčutljivost po zobozdravstvenih alergenih  
9:20 **Maja Jošt** Epikutani testi pri diagnostiki preobčutljivosti za zdravila  
9:40 **Gašper Markelj** Preobčutljivostne bolezni pri bolnikih z prirojenimi okvarami imunskega sistema  
10:10 **Uroš Rajčević** Razvoj naprednih celičnih terapij na osnovi spremenjenih limfocitov T  
10:40 **Anton Lopert, Andreja Kofol Seliger** Nova merilna postaja za pelod v Lendavi in problem ambrozije  
11:10 ODMOR  
11:40 **Tina Vesel Tajnšek** Anafilaksija v šolah in dostopnost avtoinjektorjev adrenalina: do kje smo prišli?  
12:00 **Matija Rijavec** Genomska analiza mehanizmov anafilaksije  
12:20 **Tea Močnik** kakovost življenja pri bolnikih alergičnih za pike žuželk  
12:40 **Renato Eržen** Ali je bolnik z anafilaksijo po piku sršena ogrožen, če ga piči osa?

## PATOGENEZA PREOČUTLJIVOSTNIH REAKCIJ PO ZDRAVILIH

Mitja Košnik. Klinika za pljučne bolezni in alergijo Golnik, Medicinska fakulteta Ljubljana.

Preobčutljivostne reakcije po zdravilih so tiste neugodne reakcije, ki nastanejo pri majhnem številu bolnikov in so posledica neustrezne reakcije bolnika proti zdravilu, ki je bilo dano ob pravilni indikaciji in v pravilnem odmerku.

**Epidemiologija.** Do 20 odstotkov hospitaliziranih bolnikov ima zaplete zaradi zdravljenja. Nekateri zapleti se lahko pojavijo pri vseh ljudeh: toksične reakcije zaradi prevelikega odmerka zdravil, predvidljivi stranski učinki zdravila, zapleti zaradi medsebojnega vpliva zdravil (interakcije). Drugi zapleti se pojavijo le pri nekaterih ljudeh, kljub temu da prejemajo pravilen odmerek zdravila: neprenašanje zdravila zaradi znižanega praga za normalno farmakološko aktivnost zdravila, idiosinkrazija zaradi metabolne ali encimske pomanjkljivosti ter alergija. Med zapleti zaradi zdravil je 5 do 10 odstotkov alergijskih reakcij.

Pri bolnikih, ki so atopiki, ni alergija za zdravila nič pogostejša kot v splošni populaciji. Po drugi strani pa so nekatere osebe nagnjene k alergijskim reakcijam po zdravilih. Verjeten razlog je motena encimska aktivnost, zaradi katere se pojavi večja koncentracija reaktivnih metabolitov, ki nato s kovalentno vezavo na beljakovine tvorijo antigen.

**Patogeneza.** Pestrost alergijskih in nealergijskih preobčutljivostnih zapletov je posledica različnih imunskih in neimunskih mehanizmov, od katerih vsak povzroči svojstveno klinično sliko.

Če je mehanizem preobčutljivosti imunološki (npr. posredovan s protitelesi IgE ali limfociti T), se te reakcije imenujejo alergija. Preobčutljivostne reakcije po zdravilih potekajo po vseh štirih tipih po Gellu in Coombsu (tabela 9.18).

Za nastanek imunskega odziva proti majhnim molekulam je potrebno, da se te kovalentno vežejo na beljakovine in postanejo alergeni. Alergen morajo prepoznati tako limfociti B in limfociti T, sicer se protitelesni imunski odziv ne more razviti. Pogosto je za kovalentno vezavo potrebno, da se zdrailo metabolizira v reaktiven intermediat, kar se zgodi pri genetsko predisponiranih osebah, ki imajo motnje v encimih za detoksifikacijo.

Nekatere majhne molekule se dovolj močno nekovalentno vežejo neposredno na nekatere vrste receptorjev T ali nekatere molekule HLA in sprožijo samo celično posredovan preobčutljivostni odziv (temu rečemo p-i koncept).

Za razliko od večine zdravil so monoklonska protitelesa (mAbs) proteini, zato so imunogeni, ker lahko zmanjša njihovo učinkovitost (zaradi nevtralizirajočih protiteles) in / ali varnost (preobčutljivostne reakcije). Tudi povsem humanizirani proteini lahko povzročijo neželen imunski odziv.

**Tabela 9.18** Imunsko posredovane preobčutljivostne reakcije po zdravilih

Tip preobčutljivosti po Coombsu in Gellu	Primeri reakcij
I – takojšnja preobčutljivost	Anafilaksija, urtikarija, angioedem
II – citotoksična protitelesa	Imunske citopenije po zdravilih, transfuzijske reakcije
III – imunski kompleksi	Serumska bolezen, vaskulitis, vročica po zdravilih
IV – pozna preobčutljivost	Kontaktna preobčutljivost, makulopapulozni izpuščaj, intersticijski nefritis, preobčutljivostni hepatitis, Stevens-Johnsonov sindrom in toksična epidermalna nekroliza

Nekatera zdravila povzročijo simptome prek mehanizmov nealergijske preobčutljivosti (tabela 9.19). Ker teh reakcij ne posredujejo specifična protitelesa ali senzibilizirani limfociti T, lahko nastanejo že pri prvem jemanju zdravila.

**Tabela 9.19** Neimunsko posredovane preobčutljivostne reakcije po zdravilih

Mehanizem preobčutljivosti	Primeri zdravil
Neposredne aktivacije mastocitov	Rentgenska kontrastna sredstva, opiat
Aktivacije komplementa	Nadomestki plazme, intravenski pripravki železa
Motene sinteze prostaglandinov	Nesteroidni antirevmatiki in pirazolonski analgetiki
Zaviranje razgradnje bradikina in neuropeptidov	Zaviralci angiotenzinove konvertaze

**Preobčutljivostne reakcije po bioloških zdravilih.** Med ta zdravila sodijo citokini, protitelesa (himerna, humanizirana in človeška) in fuzijski citokinski receptorji ter celični ligandi. Klasifikacijo neugodnih učinkov teh zdravil prikazuje tabela 9.20. Neugodni učinki so lahko posledica njihovega normalnega delovanja, in sicer velika koncentracija citokina, ali posledica masovnega sproščanja citokinov iz celic. Alergijske reakcije so redke, ker so te molekule zelo podobne človeškim in torej malo imunogene, vendar so vseeno opisani tudi primeri anafilaksije.

Zaradi protiteles IgG se lahko nekaj ur do dni po aplikaciji zdravila pojavijo simptomi serumske bolezni. Najpogostejši zaplet posredovan s protitelesi IgG je inaktivacija zdravila, torej zmanjšanje ali izguba terapevtskega učinka. Avtoimunski fenomeni se lahko pojavijo, ker anti-TNF-alfa zavira apoptozo oz. odstranjevanje apoptotičnih celic. Zato se poveča koncentracija lastnih antigenov, proti katerim imunski sistem lahko usmeri reakcijo.

Avtovnetne bolezni so posledica porušenega razmerja med limfociti Th1 in Th2.

<b>Tabela 9.20</b> Mehanizmi neugodnih reakcij po bioloških zdravilih			
Tip reakcije	Mehanizem	Primer zdravila	Simptomi
Alfa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Normalen sistemski učinek</li> <li>• Sproščanje citokinov iz napadenih limfocitov</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• IFN-alfa</li> <li>• Rituximab (anti CD20)</li> </ul>	Gripozni simptomi
Beta	Preobčutljivost <ul style="list-style-type: none"> <li>• IgE</li> <li>• IgG</li> </ul> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Limfociti T</li> </ul>	Večina zdravil	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Anafilaksija</li> <li>• Serumska bolezen; inaktivacija zdravila</li> <li>• Ekcem na mestu aplikacije; hepatitis</li> </ul>
Gama	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Imunska pomanjkljivost</li> <li>• Avtoimunost</li> <li>• Avtovnetne bolezni</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Anti-TNF</li> <li>• Anti-TNF, IFN-alfa</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reaktivacija tuberkuloze</li> <li>• Avtoprotitelesa; izpuščaji</li> <li>• Eozinofilno vnetje</li> </ul>
Delta	Navzkrižna reaktivnost (delovanje tudi na netarčne celice, ki izražajo isti receptor)	Anti-EGFR	Akneiformni izpuščaji

### **Klasifikacija preobčutljivostnih reakcij glede na klinično sliko, patogeneto in genetiko.**

Preobčutljivostne reakcije lahko klasificiramo glede na klinično sliko – **fenotipi**; glede na mehanizem nastanka – **endotipi**; ter glede na genetsko predispozicijo. Genetsko predispozicijo so precej čvrsto pokazali za preobčutljivostne reakcije po antiepileptikih, alopurinolu, sulfonamidih in abakavirju. Fenotip in endotip reakcije se pogosto ne prekrivata (slika 1).

Klinično preobčutljivostne reakcije razvrstimo v takojšnje (če se pojavijo v eni uri (oziroma do 6 ur) po dajanju) ali kasne (če se pojavijo kasneje). Takojšnje preobčutljivostne reakcije nastanejo po več mehanizmi: sindrom sproščanja citokinov, z IgE posredovane reakcije, z IgG posredovane reakcije ter psevdotalergijske reakcije.

Reakcije zaradi sindroma sproščanja citokinov se običajno pojavijo pri prvem dajanju zdravila in so manj izražene pri naslednjih aplikacijah. Nastanejo zaradi hitrega uničenja celic, ki jih usmerja mAb. Ob tem se sproščajo proinflatorni citokini, kot so TNF $\alpha$  in IL-6. Klinične značilnosti obsegajo nespecifične simptome (zardevanje, dispneja, stiskanje v grlu, omotica / hipotenzija, gastrointestinalni simptomi), glavobol, zvišan krvni tlak, bolečine v prsni in hrbtu, zvišana telesna temperatura, mrzlica in drgetanje. Te reakcije ublažimo ali preprečimo s premedikacijo z glukokortikoidi, paracetamolom in počasno infuzijo. Reakcije, posredovane s sIgE se navadno pojavijo po tem, ko je bolnik nekaj aplikacij prenesel brez zapletov, kajti potrebna je alergijska senzibilizacija. Pri prvi aplikaciji lahko nastanejo z IgE posredovane reakcije, kadar ima bolnik že od prej prisotna navzkrižno reagirajoča protitelesa. Značilen primer je galaktoza-alfa-1,3- galaktoza (alfa-gal), ki je navzkrižna s cetuksimabom. Pri preobčutljivosti, ki jo posredujejo sIgE, so ponavadi pozitivni takojšnji kožni testi alergije.

Protitelesa IgG lahko zmanjšajo učinkovitost zdravil (blokirajoča protitelesa). Kompleksi IgG in monoklonska protitelesa tudi lahko aktivirajo komplement, s čimer nastanejo anafilatoksin (C3a in

C5a), ki aktivirajo mastocite in povzročijo anafilaksijo. Tudi reakcije posredovane s protitelesi IgG se ne pojavijo pri prvem dajanju zdravila. Kožni vbodni testi so negativni.

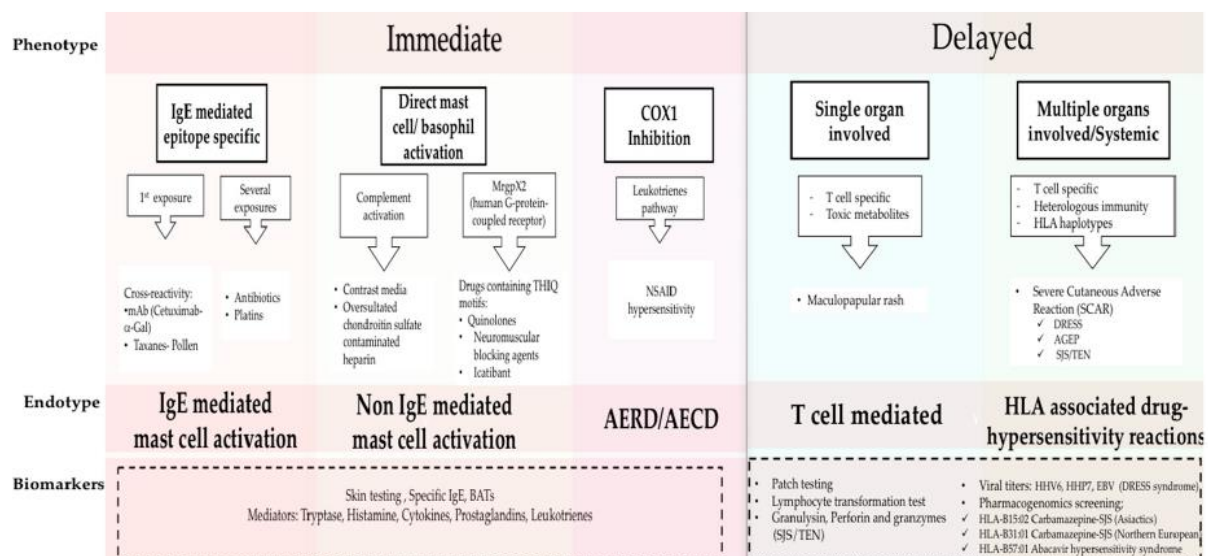
Psevdoalergijske reakcije so lahko posledica aktivacije mastocitov preko receptorjev MRGPRX2 (Mas-related G-protein-coupled receptor member X2). Te receptorje aktivirajo polikationi, med drugim nekatere endogeni proinflammatory peptidi, od zdravil pa fluorokinoloni in mišični relaksanti (potrebna je velika koncentracija agonista).

Nekatere preobčutljivostne reakcije s kliničnimi značilnostmi takojšnjih reakcij se razvijejo nekaj ur po dajanju zdravila, zlasti kadar se zdravilo daje subkutano. Te reakcije je treba šteti za takojšnje preobčutljivostne reakcije.

Včasih preobčutljivostne reakcije ne povzročijo zdravilo, ampak dodatek zdravila. Nekatere anafilaktične reakcije po omalizumabu so posledica senzibilizacije s polisorbatom. Tudi pri taksanih, kjer se preobčutljivostne reakcije značilno pojavijo pri prvi aplikaciji in izzvenijo po ustavitvi infuzije izgleda, da je razlog dodan kremofor oioroma polisorbata 80, ki sta sposobna aktivirati komplement.

Kasne reakcije ponavadi povzročijo IV tip preobčutljivosti po Coombsu in Gellu, ali pa protitelesa IgG (serumska bolezen zaradi imunskih kompleksov).

Po IV tipu preobčutljivosti potekajo egzantem brez sistemske prizadetosti, kontaktni dermatitis, drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms (DRESS), sindrom Stevens-Johnson (SJS), toksična epidermalna nekroliza (TEN), akutna generalizirana egzantematozna pustuloza, fiksni kožni izpuščaji, prizadetost parenhimskih organov. Pri DRESS in SJS ponavadi pride tudi do reaktivacije herpesvirusa, kar naj bi bilo pomembno v patogenezi. S tem se razloži dejstvo, da se te reakcije pojavijo samo pri osebah z določenimi HLA haplotipi, vendar le pri majhnem delu izpostavljenih oseb s haplotipom, ki dopušča preobčutljivost.



Slika 1. Fenotipi, endotipi in biomerkerji preobčutljivostnih reakcij. Povzeto po Muraro A, et al. Precision Medicine in Allergic Disease—Food Allergy, Drug Allergy, and Anaphylaxis-PRACTALL document of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology and the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology. *Allergy* 2017, 72, 1006–1021.

## Literatura

- Demoly P, Adkinson NF, Brockow K, Castells M, Chiriac AM, Greenberger PA, et al. International Consensus on drug allergy. *Allergy* 2014;69:420-37.
- Wen-Lang Fan et al. HLA Association with Drug-Induced Adverse Reactions *Journal of Immunology Research* 2017, Article ID 3186328, <https://doi.org/10.1155/2017/3186328>.
- Leticia de las Vecillas Sánchez, Leila A. Alenazy, Marlene Garcia-Neuer, Mariana C. Castells. Drug Hypersensitivity and Desensitizations: Mechanisms and New Approaches *Int. J. Mol. Sci.* 2017, 18, 1316; doi:10.3390/ijms18061316.
- Benjamin D. McNeil, et al. Identification of a mast cell specific receptor crucial for pseudo-allergic drug reactions. *Nature*. 2015 March 12; 519(7542): 237–241. doi:10.1038/nature14022.

## MONOKLONSKA PROTITELESA KOT ZDRAVILO

Vladka Čurin Šerbec, Zavod Republike Slovenije za transfuzijsko medicino, Šlajmerjeva 6, 1000 Ljubljana

Georges Köhler in Cesar Milstein sta leta 1975 v reviji Nature prvič opisala možnost priprave mišjih monoklonskih protiteles (mAbs) in za odkritje leta 1984 prejela Nobelovo nagrado za medicino. Njuno delo nedvomno predstavlja enega najpomembnejših dosežkov v medicini, saj je bilo osnova za mnoga znanstvena odkritja ter za izjemen razvoj sodobnih diagnostičnih metod in bioloških zdravil.

mAbs sta pripravila s celično fuzijo mišjih mielomskih celic in vraničnih limfocitov B imuniziranih miši BALB/c. Celice, ki so nastale po celični fuziji, sta poimenovala hibridomi. Mnoge raziskovalne skupine so začele iskati optimalne pogoje za pridobitev kakovostnih mAbs. V desetletjih, ki so sledila, so metode optimirali in izboljšali do takšne mere, da je bilo možno pripraviti mAbs s tako odličnimi lastnostmi, da so bila primerna za uporabo ne le v raziskovalne, temveč tudi za diagnostične in terapevtske namene.

mAbs so vsa enaka po specifičnosti in afiniteti ter so istega razreda, saj jih proizvaja en klon celic - hibridomov. V postopku njihove priprave je zelo pomembna pravilna izbira tistih hibridomov, ki proizvajajo željena protitelesa. Ker jih pripravljamo na biotehnološki način, so njihove količine teoretično neomejene.

S pomočjo mAbs in njihove uporabe v osnovnih raziskavah smo bili v preteklih treh desetletjih priča velikemu razvoju imunologije. Poleg novih znanj je človeštvo pridobilo tudi kakovostnejša in zanesljivejša orodja, uporabna predvsem na področju medicine. Za uveljavitev na diagnostičnem področju so bile namreč pomembne lastnosti mAbs (vedno enaka specifičnost in afiniteta, enostavna standardizacija ter možnost dokaj preproste in poceni proizvodnje velikih količin mAbs). Zaradi svojih lastnosti so monoklonska protitelesa v sodobnih diagnostičnih laboratorijih nepogrešljiva in so kmalu zamenjala poliklonska protitelesa, saj je mAbs mnogo enostavneje standardizirati. Uporabljamo jih v seroloških testih, v encimsko-immunskih testih (ELISA), v imunohistokemiji, v imunocitokemiji in v pretočni citometriji.

Prenos znanja v industrijo je bil zelo hiter in učinkovit, izziv pa so predstavljala predvsem mAbs, ki bi jih bilo možno uporabljati v terapevtske namene, torej kot biološka zdravila za zdravljenje različnih bolezni. Mišja mAbs namreč povzročajo nastanek protiteles, če jih uporabimo za zdravljenje (HAMA - angl. human anti-mouse antibodies), čeprav je bilo nekaj mišjih monoklonskih protiteles nekoč registriranih za imunosupresijo pri presajanju organov.

Humanih monoklonskih protiteles, ki bi bila uporabna za zdravljenje, s postopkom celične fuzije niso uspeli pripraviti zaradi več razlogov: število razpoložljivih celičnih linij humanih mielomskih celic je bilo zelo omejeno, prav tako je bil omejen nabor antigenov na tiste, proti katerim so ljudje proizvedli protitelesa zaradi naravnih infekcij, cepljenja ali pa zaradi transfuzije krvi. Omejitve so tedaj predstavljale tudi metode, ki so jih imeli na voljo.

Zaradi razvoja tehnologije rekombinantne DNA so iz mišjih mAbs najprej uspeli pripraviti himerna protitelesa, pri katerih je del variabilnega zaporedja molekule protitelesa ostal mišji, ostali del pa so zamenjali s človeškim zaporedjem. V naslednji stopnji so delež mišjih zaporedij še zmanjšali, takšna protitelesa so poimenovali humanizirana. V začetku devetdesetih let pa so s tehnologijo izražanja na fagu uspeli pripraviti popolnoma humana protitelesa iz DNA neimuniziranih oseb.

Znanstveniki so namreč razvili in patentirali metodo za izražanje humanih mAbs na površini bakteriofagov (Cambridge Antibody Technology, CAT), saj so pri določenem odstotku bolnikov nastala protitelesa (inhibitorji) proti mišjim zaporedjem in so zato morali zdravljenje prekiniti oz. zamenjati zdravilo. Za izražanje mAbs na fagu ne potrebujemo imuniziranega posameznika, vendar protitelesa, ki jih pripravimo na ta način, nikoli nimajo takšnih afinitet kot tedaj, ko uporabljamo imunske celice imuniziranih živali oz. ljudi, saj ni mogoče zorenje afinitete. Eno od mAbs (adalimumab), pripravljenih na ta način, se že nekaj let uporablja v klinični praksi. Odlikuje ga enostavnejši način aplikacije (subkutano in ne v obliki infuzije), vendar so tudi v tem primeru zabeležili nastanek protiteles. Aminokislinski preostanki, ki so jih zamenjali v variabilnem delu, da bi izboljšali lastnosti mAb, namreč pri nekaterih bolnikih povzročijo imunski odziv.

Z vsemi naštetimi tehnologijami so pripravili protitelesa, ki predstavljajo sodobna biološka zdravila. Največ jih je registriranih za zdravljenje različnih vrst raka in revmatskih bolezni. Ker je in še bo



poteklo veliko patentov, ki ščitijo originalna zdravila, se na tržišču vedno pogosteje pojavljajo biološka podobna zdravila.

V zadnjih letih je veliko naporov usmerjenih tudi v razvoj ADC (antibody-drug conjugates) in pripravo humanih monoklonskih protiteles iz B celic okuženih oseb (npr. proti virusom HIV, Ebola, ZIKA). Tako pripravljena protitelesa proti virusu HIV so že v kliničnih poskusih. Ne smemo pa spregledati nanoteles, ki zaradi svojih lastnosti (majhne neimunogene molekule) predstavljajo kandidate za nova biološka zdravila.

# OBRAVNAVA INFUZIJSKIH REAKCIJ OB SISTEMSKEM ZDRAVLJENJU S PROTITUMORNIMI ZDRAVILI: PREDSTAVITEV ESMO SMERNIC

Erika Matos, Onkološki inštitut Ljubljana

## *Uvod*

V zadnjih desetih letih se je pojavnost preobčutljivostnih reakcij na protitumorna zdravila močno povečala. Vzrok za to je njihova vse širša uporaba in dejstvo, da so zlasti nekatera novejša protitumorna zdravila bolj imunogena. V primeru pojava preobčutljivostne reakcije je najbolj varno, da pri konkretnem bolniku opustimo nadaljnje zdravljenje s tem zdravilom. Največkrat žal ni na voljo enakovredne zamenjave, zato prekinitev zdravljenja lahko vodi v slabšo kakovost življenja in pogosto tudi krajše preživetje.

V literaturi, ki obravnava infuzijske reakcije ob sistemskem zdravljenju s protitumornimi zdravili, je v preteklosti nastala precejšnja zmeda, kar gre verjetno na račun slabega poznavanja patofiziologije infuzijskih reakcij. Zato je Evropsko združenje za internistično onkologijo podalo pobudo za izdelavo priporočil za vsakodnevno klinično obravnavo bolnikov, pri katerih se ob zdravljenju razvije infuzijska reakcija. Potreba po standardizirani obravnavi teh bolnikov je postala nujna, saj so bili sočasno razviti tudi protokoli desenzibilizacije za številna protitumorna zdravila in s tem mnogim bolnikom omogočeno, da kljub pojavu infuzijske reakcije lahko ob ustrezni predpripravi nadaljujejo zdravljenje z zdravilom, ki je infuzijsko reakcijo izzvalo.

## *Splošno o infuzijskih reakcijah pri zdravljenju s protitumornimi zdravili*

Ko govorimo o infuzijskih reakcijah imamo v mislih reakcije tipa B. Pojavijo se pri občutljivi podskupini bolnikov, ki razvijejo nepričakovane znake in simptome, ki niso povezani s farmakološkim delovanjem zdravila, so nepredvidljivi in običajno izzvenijo po opustitvi zdravila. Po mehanizmu nastanka ločimo imunsko posredovane in ne-immunsko posredovane. Pri imunsko posredovanih gre največkrat za takojšnjo preobčutljivost tipa I z vključenostjo IgE in/ali mastocitov oz. bazofilcev, redkeje kasno, celično posredovano, tipa IV. Najpogostejša ne-immunska, to je ne-alergična infuzijska reakcija je posledica sproščanja provnetnih citokinov kot so TNF $\alpha$ , IL1, IL6 iz aktiviranih makrofagov, kot pri citokinski nevihti. Tako imunsko posredovana kot ne-immunsko posredovana infuzijska reakcija se v skrajni obliki lahko izrazita kot anafilaktična reakcija. Diagnoza anafilaksije vedno sloni na kliničnih znakih in simptomih in opisuje generalizirano, resno in življenje ogrožajočo preobčutljivostno reakcijo. Imunsko posredovane infuzijske reakcije se največkrat kažejo s prizadetostjo kože, z občutkom stiskanja v grlu, dispneo, lahko tudi kardiovaskularnimi, gastrointestinalnimi ali drugimi simptomi in znaki. Pri sindromu sproščanja citokinov je prav tako lahko prisotna urtika, izrazitejša so mrzlica, povišana temperatura, glavobol, bolečine po mišicah, vendar lahko tudi prizadetost kardiovaskularnega, respiratornega sistema in drugih organov. Mehaniizma infuzijske reakcije zgolj na podlagi klinične slike pogosto ni mogoče razbrati.

Poznani so nekateri dejavniki, ki napovedujejo večje tveganje za razvoj infuzijske reakcije pri posameznem bolniku. Bolj so izpostavljene ženske, starejši, tisti s pridruženimi avtoimunimi obolenji, atopiki, bolniki, ki prejemajo antagonist  $\beta$  adrenergičnih receptorjev ali zaviralce ACE. Pri nekaterih protitumornih zdravilih se tveganje poveča z večanjem števila prejetih odmerkov zdravila, zlasti pri hematoblastozah je pomembno tudi breme bolezni.

Večinoma se razvijejo hitro, to je že v prvih minutah po začetku prejemanja zdravila, vendar ni izjema tudi kasneje. Mnogi bolniki prejmejo premedikacijo z glukokortikoidi in antihistaminiki, ki lahko zamaskirajo in zmanjšajo začetek infuzijske reakcije. Velja pravilo, da hitreje kot se simptomi in znaki pojavijo, resnejši utegne biti potek.

Laboratorijski testi, kot je določanje histamina v plazmi, njegovega metabolita, metilhistamina v urinu in triptaze v serumu so nam lahko v pomoč pri opredeljevanju mehanizma nastanka infuzijske reakcije. Imajo pozitivno napovedno vrednost, vendar tudi normalna vrednost ne izključuje preobčutljivostne reakcije. Podobno velja tudi za kožne teste alergije.

Avtorji priporočil v sklopu obravnave bolnikov, ki ob zdravljenju s protitumornimi zdravili razvijejo infuzijsko reakcijo opozarjajo, na pravilno in standardizirano gradiranje teže infuzijske reakcije. Priporočajo uporabo lestvice Common Terminology Criteria for Adverse Events v 4.03 (CTCAE v

4.03) (Tabela 1). V primeru suma na anafilaktično reakcijo je potrebno ukrepati kot pri anafilaktični reakciji katerega koli vzroka: adrenalin, H1/2 antagonist, vzdrževanje vitalnih funkcij. Glukokortikoidi so zaradi počasnega začetka delovanja drugotnega pomena, njihova vloga je predvsem v preprečevanju dvo-faznega poteka reakcije. Infuzijo zdravil, ki je reakcijo izzvalo, je potrebno nemudoma prekiniti. Kadar pa gre za sindrom sproščanja citokinov, prekinitve infuzije ni nujno potrebna. Pogosto zadošče že upočasnitev infuzije ali le prehodna prekinitve in nadaljnje zdravljenje po infuziji H1/2 antagonista in antipiretika z ali brez glukokortikoida. Svetuje se nadaljnje zdravljenje z zmanjšano hitrostjo infuzije. Kljub vsemu pa tudi pri tem tipu infuzijske reakcije opozarjajo na previdnost pri ponovnem infundiranju zdravila, zlasti, kadar je potek infuzijske reakcije težji (stopnje 3 ali 4). Enako velja tudi, kadar se infuzijska reakcija ponovi kljub ustrezni premedikaciji. Za takšne bolnike so za določena protitumorna zdravila že razviti protokoli desenzibilizacije, ki morajo biti izvedni v specializiranem alergološkem centru. S postopkom desenzibilizacije lahko dosežemo začasno toleranco za zdravilo. Ko se zdravilo iz telesa izčisti, toleranca preneha in postopek je potrebno ponoviti pred vsako naslednjo infuzijo zdravila. Vsekakor pa je pri odločitvi o ponovni uvedbi zdravila pomembno upoštevati, kakšen je namen zdravljenja, to je kurativno ali paliativno in kakšne so druge možnosti zdravljenja.

Tabela 1: Izsek iz Common Terminology Criteria for Adverse Events v 4.03 (CTCAE v 4.03)

	Stopnje				
	1	2	3	4	5
Alergijska reakcija	Prekinitve infuzije ni potrebna.	Potrebna prekinitve infuzije.	Potrebna prekinitve infuzije.	Življenjsko ogrožajoče stanje.	Smrt
Sindrom sproščanja citokinov	Blagi/prehodni simptomi. Dodatni ukrepi niso potrebni.	Hiter odziv na simptomatske ukrepe.	Počasen odziv na simptomatske ukrepe. Ponovitev težav po prehodnem izboljšanju. Potrebna hospitalizacija.	Potrebna prekinitve infuzije. Simptomatsko ukrepanje. Oskrba v enoti za intenzivno zdravljenje.	
Anafilaksija	-	-	Bronhospazem, urtika, angioedem, hipotenzija. Potrebna prekinitve infuzije. Simptomatski ukrepi.		

#### *Infuzijske reakcije pri različnih oblikah protitumornih zdravil*

Vse oblike protitumornih zdravil lahko izzovejo infuzijske reakcije: klasični citostatiki, monoklonska protitelesa in imunoterapija. Na splošno lahko rečemo, da je pojavnost infuzijskih reakcij ob zdravljenju s klasičnimi citostatiki redka, potek blag. Ker pri zdravljenju malignih bolezni največkrat uporabljamo kombinacije citostatikov, je pogosto težko ugotoviti, katero je tisto zdravilo, ki je izzvalo infuzijsko reakcijo.

Pri nekaterih citostatikih, kot so derivati platine in citostatiki iz skupine taksanov, so infuzijske reakcije bolj pogoste.

Derivati platine (cisplatin, karboplatin, oksaliplatin) so skupina protitumornih zdravil, ki se široko uporabljajo za zdravljenje nekaterih oblik solidnih rakov (rak jajčnika, pljuč, rak danke in črevesa, rak trebušne slinavke) v prvi ali kasnejših linijah zdravljenja. Infuzijska reakcija se običajno razvije po več

ciklih prejetega zdravila, pogosto ob zdravljenju ponovitve bolezni. Daljši ko je presledek med prvim in ponovnim zdravljenjem, večje je tveganje za razvoj infuzijske reakcije. Večinoma gre za takojšnje preobčutljivostne reakcije tipa I, ki se klinično izrazijo že med infuzijo zdravila, največkrat kot rdečica obraza, občutek tesnobe, piskanje nad pljuči, padec krvnega tlaka, možna je tudi anafilaktična reakcija. Bolniki, nosilci BRCA mutacije, so bolj ogroženi za razvoj infuzijske reakcije na karboplatin, pojavi se pri nižjem kumulativnem odmerku prejetega zdravila. Znana je visoka pojavnost navzkrižnih reakcij med derivati platine. Predvsem bolniki, ki razvijejo infuzijsko reakcijo na oksaliplatin, so bolj ogroženi za razvoj IgE posredovanega imunskega odziva na cisplatin in karboplatin. Razen navedenega ne poznamo kliničnih ali laboratorijskih napovednih dejavnikov, s katerimi bi prepoznali ogrožene bolnike. Premedikacija ni rutinsko priporočena, svetuje se pri bolnikih z visokim tveganjem. Postopki desenzibilizacije so razviti, učinkoviti in varni. Akutna laringealna dizesteziya, ki se pojavlja ob zdravljenju z oksaliplatinom, ni imunološko pogojena, je idiosinkratična reakcija, oblika akutne nevropatije in je odziv na hladno. Pomembno je, da jo prepoznamo in predvsem preprečujemo z ustreznim izobraževanjem bolnikov. Ob pojavu je potrebno odstraniti vse vire hladnega zraka, vse hladne predmete in težava izzeni sama, z infuzijo zdravila praviloma lahko nadaljujemo.

Druga pomembna skupina citostatikov, pri katerih se pogosteje pojavljajo infuzijske reakcije, so taksani (paklitaksel, docetaksel, nab-paklitaksel). So prav tako pogosto predpisani citostatiki za zdravljenje številnih solidnih rakov, kot so rak dojke, pljuč, jajčnikov, prostate in drugih malignomov. Ni znano ali infuzijsko reakcijo povzročajo taksani ali topilo. V paklitakselu je to kolifor EL, v docetakselu polisorbata 80. Večinoma se klinično izrazijo v prvih minutah. V večini primerov potekajo kot tip I preobčutljivostne reakcije z rdečico obraza, bolečinami v hrbtu, urtiko, tiščanjem v prsnem košu, razvije se lahko tudi bronhospazem, padec krvnega tlaka in prava anafilaksija. Opisani so tudi primeri kasne preobčutljivosti tipa IV v obliki pneumonitisa. Premedikacija z glukokortikoidi oziroma s glukokortikoidi in H1 in H2 antagonisti je predvidena za docetaksel oziroma za paklitaksel. Za nab-paklitaksel, to je oblika taksana, ki je vključena v albumine, premedikacija ni predvidena, saj je pojavnost infuzijskih reakcij pri tej obliki taksana redka. Ob priporočeni premedikaciji je večina reakcij blagih, v manj kot 5% stopnje 3 ali 4. Postopki desenzibilizacije so razviti, učinkoviti in varni. Antraciklini redko povzročajo infuzijske reakcije. Večinoma so blage in se pojavijo ob prvi infuziji. Pojavnost je nekoliko višja pri pegiliranih oblikah (7-11%). Premedikacija rutinsko ni predvidena. Razviti so postopki desenzibilizacije.

Asparaginaza ima visoko pojavnost infuzijskih reakcij (do 60%), od tega 10% resnih. Običajno se pojavijo po več predhodnih infuzijah zdravila, zato se svetuje posebna previdnost pri ponovnem zdravljenju. Priporoča se premedikacija z glukokortikoidi in antihistaminiki. V primeru pojava hude infuzijske reakcije se svetuje prehod na pegilirano obliko zdravila, ki je manj imunogena.

Etopozid povzroča infuzijske reakcije pri 1-3% bolnikov. Opisane so tudi anafilaktične reakcije, ponavadi ob prvem odmerku zdravila. Razviti so postopki desenzibilizacije.

Monoklonska protitelesa so ne-endogeni proteini, ki lahko izzovejo vse 4 tipe preobčutljivostnih reakcij. Za zdravljenje malignih bolezni uporabljamo večinoma himerna, humanizirana ali humana protitelesa. Večji ko je nehumani del, večja je imunogenost zdravila. Himerna protitelesa vsebujejo delno humani, delno mišji del, pri humaniziranih protitelesih več kot 90% predstavlja humani del. Prejemnik lahko razvije antihimerna pa tudi antihumana protitelesa.

Pojavnost infuzijskih reakcij je različna: 77% pri rituksimabu, 40% pri trastuzumabu, 15% pri cetuksimabu. Ponavadi se pojavijo ob prvem stiku z zdravilom. Verjetnost, da se bo infuzijska reakcija razvila, se manjša z vsako naslednjo infuzijo zdravila.

Infuzijske reakcije pri monoklonskih protitelesih so pogosto ne-alergijske, so posledica sproščanja citokinov iz makrofagov in drugih imunskih celic. Klinično se kažejo od blagih (temperatura, mrzlica, bolečine v mišicah) do življenjsko ogrožajoče anafilaktoidne reakcije z bronhospazmom in hipotenzijo. Največkrat se pokažejo v prvih minutah infuzije, med prvo ali drugo infuzijo zdravila. Simptomi so lahko podobni kot pri tipu I preobčutljivostne reakcije, vendar v nasprotju s tipom I reakcije izzvenijo ob naslednjih infuzijah zdravila. Prave alergijske reakcije ob uporabi monoklonskih protiteles so redke (5% rituximab, 3% infliximab, do 5% trastuzumab). Postopki desenzibilizacije so razviti in potek infuzijske reakcije lahko omilijo. Za večino monoklonskih protiteles je svetovana počasna prva infuzija in postopno višanje hitrosti ter premedikacija z antihistaminikom, antipiretikom z ali brez kortikosteroida vsaj ob prvi infuziji. V primeru pojava infuzijske reakcije je, odvisno od teže simptomov in znakov, potrebna upočasnitev ali prehodna prekinitve infuzije ter simptomatsko

ukrepanje. Po izzvenetju simptomov v večini primerov z infuzijo lahko nadaljujemo, vednar z znižano hitrostjo.

Imunoterapevtiki oziroma imunoterapija je najnovejša oblika protitumornega zdravljenja, ki pa zavzema vse pomembnejše mesto. Strukturno so humanizirana ali humana protitelesa. Z zdravili, kot so atezolizumab, ipilimumab, nivolumab, pembrolizumab, danes uspešno zdravimo nekatere nekoč usodne rake, kot so rak pljuč, urotelni raki, hipernefrom, maligni melanom, pa tudi nekatere hematološke rake. Pojavnost infuzijskih reakcij ob zdravljenju s temi zdravili je redka, večinoma potekajo blago (stopnje 3 ali več v manj kot 2%). Vzrok naj bi bila nespecifična aktivacija imunskega sistema ali sindrom sproščanja citokinov. Klinično se kaže z rdečico obraza, urtiko, srbežem kože, mrzlico, bolečinami v mišicah, lahko tudi težkim dihanjem. Premedikacija večinoma ni rutinsko priporočena, pri nekaterih, kot na primer ipilimumab pa je svetovan antipiretik in antihistaminik. V primeru pojava infuzijske reakcije se svetuje prehodna prekinitve infuzije, simptomatsko ukrepanje in ponoven poiskus zdravljenja z nižjo hitrostjo infuzije po izzvenetju simptomov in znakov infuzijske reakcije.

#### *Zaključek*

Infuzijske reakcije v onkologiji niso redke, na srečo pa je resnih malo. Najpogosteje se pojavljajo ob zdravljenju z derivati platine, taksani in monoklonskimi protitelesi. S podpornim zdravljenjem, ki vključuje H1 in H2 antihistaminike, antipiretike in kortikosteroide, so večinoma obvladljive. Za nekatere od protitumorih zdravil so razviti postpki desenzibilizacije, ki bolnikom omogočajo, da kljub pojavi infuzijske reakcije lahko prejmejo predvideno, zanje optimano zdravljenje maligne bolezni.

#### **Literatura**

Roselló S, Blasco I, García Fabregat L et al. Management of Infusion Reactions to Systemic Anticancer Therapy: ESMO Clinical Practice Guidelines. *Ann Oncol* 2017; 28(suppl 4): iv100–iv118.  
Castells Guitart MC . Rapid drug desensitization for hypersensitivity reactions to chemotherapy and monoclonal antibodies in the 21st century. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2014; 24:72-9.  
Bonamichi-Santos R, Castells M. Desensitization for Drug Hypersensitivity to Chemotherapy and Monoclonal Antibodies. *Curr Pharm Des* 2016; 22:6870-6880.  
Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE). Pridobljeno 15.3.2018 s spletne strani: <https://www.eortc.be/services/doc/ctc/>

## NEŽELENI UČINKI BIOLOŠKIH ZDRAVIL PRI OTROCIH

Tina Vesel Tajnšek<sup>1</sup>, Nataša Toplak<sup>1,2</sup>, Gašper Markelj<sup>1</sup>, Rina Rus<sup>2,3</sup>, Štefan Blazina<sup>1</sup>, Mojca Zajc Avramovič<sup>1</sup>, Anja Koren Jeverica<sup>1</sup>, Tadej Avčin<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Služba za alergologijo, revmatologijo in klinično imunologijo, Pediatrična klinika Ljubljana, Univerzitetni klinični center Ljubljana

<sup>2</sup>Katedra za pediatrijo, Medicinska fakulteta v Ljubljani, Univerza v Ljubljani

<sup>3</sup>Klinični oddelek za nefrologijo, Univerzitetna pediatrična klinika, Ljubljana, Bohoričeva 20, Ljubljana

Preobčutljivostne reakcije in disregulacije imunskega sistema pri zdravljenju z biološkimi zdravili niso redke (1). V prispevku smo opisali neželene učinke bioloških zdravil in strategije za njihovo obvladovanje. Vključili smo tudi primere otrok z neželenimi učinki ob zdravljenju z biološkimi zdravili, ki so bili obravnavani na Pediatrični kliniki v Ljubljani.

Razlika med biološkimi in drugimi zdravili glede na način delovanja, kemično strukturo, metabolizem in imunogenost narekuje drugačno obravnavo neželenih učinkov. Biološka zdravila so proteinske molekule, v glavnem monoklonska protitelesa in jih je potrebno aplicirati parenteralno v izogib razgradnje v prebavnem traktu. Pri bioloških zdravilih je smiselno neželene učinke razdeliti glede na njihovo strukturo in mehanizem delovanja. V Tabeli 1 povzemamo klasifikacijo neželenih učinkov bioloških zdravil (2). Ta klasifikacija se uporablja tudi v praktičnih navodilih o vodenju bolnikov z biološkimi zdravili (1).

Tabela 1. Neželeni učinki bioloških zdravil (1, 2)

Vrsta neželenega učinka	Klinični primer	Primeri bioloških zdravil
Visoki citokini (tip $\alpha$ )	Citokinska nevihta	Protitelesa proti CD3, rituksimab
Preobčutljivost (tip $\beta$ )	Takojšnje (anafilaksija) in kasne reakcije, akutne infuzijske reakcije, zmanjšanje učinkovitosti	Rituksimab, etanercept, Infliksimab
Sekundarna (tip $\gamma$ ) imunska pomanjkljivost	Tuberkuloza in tudi druge okužbe: bakterijske, virusne in gljivične okužbe	Infliksimab, etanercept, rituksimab
Avtoimunost (tip $\gamma$ )	SLE	Interferon-alfa
Atopijske bolezni (tip $\gamma$ )	Atopijske bolezni	Infliximab
Navzkrižna reaktivnost (tip $\delta$ )	Akne zaradi podobnosti z receptorjem epidermalnega ravnega faktorja	Gefitinib
Neimunološki učinki (tip $\theta$ )	Depresija zaradi interferonov	Interferon- alfa

Kratice: SLE- sistemski lupus eritematosus, TNF- tumor nekrotizirajoči faktor, AD- atopijski dermatitis

Neželeni učinki bioloških zdravil tipa  $\alpha$  so neželeni učinki povezani s sproščanjem nekaterih citokinov v relativno visokih dozah (npr. tumor nekrotizirajoči faktor (TNF) $\alpha$ , interferon (IFN) $\gamma$ , interleukin (IL)-2, IL-6, IL-10) in se klinično odražajo z artralgijami, encefalopatijo, pljučnim edemom, aseptičnim meningitisom, gastrointestinalnimi simptomi, vročino (primer je npr. uporaba protiteles proti CD3) (2).

Neželeni učinki bioloških zdravil tip beta oziroma preobčutljivost je posredovana preko specifičnih (s) protiteles (sIgE ali sIgG) ali preko T-celic. Na imunogenost bioloških zdravil vplivajo stopnja humanizacije zdravila ter tudi kofaktorji kot so adjuvantni, način aplikacije in dodatno imunosupresivno zdravljenje. Zato je priporočeno, da se zdravljenju z infliksimabom priključi tudi npr. metotreksat ali leflunomid, kar zmanjša možnost nastanka protiteles proti infliximabu (3). Med preobčutljivostne reakcije na biološka zdravila uvrščamo tudi IgE posredovane reakcije npr. urtike ali eritem na mestu injiciranja, opisane pa so tudi anafilaksije. Primer anafilaksije ob aplikaciji rituksimaba opisujemo tudi v primeru 1.

Primer 1: Pri 10 letnemu fantu s kombinirano imunsko pomanjkljivostjo z hipogamaglobulinemijo je bila zaradi avtoimunske hemolitične anemije predvidena prva aplikacija rituksimaba (300 mg iv). V redni terapiji je prejemal tudi imunoglobuline (20 ml subkutano enkrat tedensko) in metilprednizolon 2 mg dnevno. Eno uro po

začetku aplikacije rituksimaba (prejel je 60 mg zdravila) je fant postal bolj umirjen, hripav, pojavile so se otekline submandibularno, avskultatorni izvid nad pljuči je bil tišji. Prekinili smo aplikacijo, prejel je inhalacijo salbutamola. Porasta nivoja triptaze v serumu ni bilo, višji pa je bil nivo serumskega IL 6. Preostanek odmerka rituksimaba je prejel čez dva dni po premedikaciji (klemastin 0,5 mg i.v., metilprednizolon 20 mg iv) po desenzibilizacijski shemi (4) (pripravile so se tri raztopine rituksimaba (5mg v 250ml FR , 50 mg v 250ml FR in 150mg v 150ml FR; na 15 minut se je podvojevala hitrost infuzije; pri prvi in drugi steklenici po 4 korake, pri zadnji pa so bili trije koraki). Čez dva tedna je ponovno prejel rituksimab po desenzibilizacijski shemi.

Tudi v primeru 2 smo se odločili za uporabo varnejše, desenzibilizacijske sheme za aplikacijo rituksimaba ob sumu na anafilaksijo ter ob prejetanju zdravil, ki potencialno pripomorejo k možnosti lažno negativnih alergoloških testiranj in tudi k manjši možnosti obvladovanja anafilaksije:

Primer 2. Zaradi znakov nefrotsko nefritičnega sindroma in hitrega slabšanja ledvične funkcije v sklopu C3 glomerulonefritisa z difuznimi glomerulnimi vnetnimi spremembami je bilo pri 8-letnemu dekletu indicirano zdravljenje z rituksimabom. Ob prvi aplikaciji rituksimaba je po izteku tretjine predvidenega odmerka imela občutek vročine v glavi ter dispnoe s padcem saturacije pod 92%. Klinično piskov nad pljuči ni bilo slišati. Potrebovala je dodatek kisika v vdihanem zraku. Dekle je med drugim redno prejemale tudi carvediol in piramil ter metilprednizolon, slednje 18 mg/ vsak 2.dan. Rituksimab je bil nato dvakrat apliciran po desenzibilizacijski shemi (naveden v Tabeli 1), prvič je navajala blage težave (občutek neprijetnega dihanja), drugič pa ni bilo težav ob aplikaciji rituksimaba po desenzibilizacijski shemi.

Tabela 1. Uporabljena desenzibilizacijska shema za aplikacijo rituksimaba v primeru 2:

Korak	Raztopina	Hitrost infuzije ( ml/h)	Prejme(mg)	Skupen odmerek (mg)
1	1	2	0.008	0.008
2	1	5	0.02	0.028
3	1	10	0.04	0.068
4	1	20	0.08	0.148
5	2	5	0.2	0.348
6	2	10	0.4	0.748
7	2	20	0.8	1.548
8	2	40	1.6	3.148
9	3	10	4	7.148
10	3	20	8	15.148
11	3	40	16	31.148
12	3	80	368	399.148

Koraki na 15 minut, zadnji 173 minut.

Raztopina 1: koncentracija 0.016 mg/ml, koncentracija 2 0.16 mg/ml, koncentracija 3 1.6 mg/ml

Med tip<sup>β</sup> neželenih učinkov sodijo tudi akutne infuzijske reakcije. V opis klinične slike akutnih infuzijskih reakcij sodijo vročina, okorelost, bolečina v hrbtu, bolečina v trebuhu, glavobol, slabost, bruhanje, driska, dispnoa, rdečica, srbenje in spremembe srčne frekvence ali krvnega pritiska. Mehanizem nastanka infuzijskih reakcij ni jasen, glede na pogostost pa bi bila možna tudi ne-imunsko posredovana reakcija. Vendar je opisana večja pojavnost povezana z nastankom IgG protiteles proti biološkemu zdravilu, npr. proti infliksimabu, sproščanje vnetnih citokinov TNF $\alpha$  in IL-6 pa naj bi imelo vlogo pri infuzijskih reakcijah na rituksimab. Z upočasnitvijo infuzije se pojavnost akutnih infuzijskih reakcij zmanjša (1, 2). Klinično jih ni vedno lahko ločiti od alergijskih reakcij- izpuščaj, vročina, mrznenje in bolečina so lahko del tudi alergijskih reakcij povezanih z biološkimi zdravili (5). Opisujemo primer ukrepanja ob akutni infuzijski reakciji ob prejetanju infliksimaba:

Primer 3: Zaradi juvenilnega idiopatskega artritisa (JIA)- poliartikularne obilke s pozitivnim revmatoidnim faktorjem s prizadetostjo vratne hrbtenice je bil 8 letni deklici uveden infliksimab. V terapiji je prejemale tudi metilprednizolon 12 mg na dan, metotreksat 12,5 mg 1x na teden in ibuprofen 200 mg 3x na dan. Prva aplikacija infliksimaba 2,5 mg/TT (100 mg) je potekala brez težav. Ob drugi aplikaciji infliksimaba (14 dni po prvi) je 15 minut po začetku aplikacije oteženo dihala, saturacije se je znižala do 94%, bila je bolj bleda, prestrašena. Zdravljena je bila z antihistaminikom in glukokortikoidom, težave so v 30 minutah izzvenele. Nato

*smo nadaljevali z aplikacijo zdravila z zmanjšano hitrostjo, ki je potekala brez težav. Naslednje aplikacije infliksimaba so potekale ob premedikaciji (klemastin 0,5 mg iv. in metilprednizolon 25 mg iv) v počasnejši infuziji; prvo 1h 10ml/h, naslednjo 1h 20 ml/h, naslednjo 1h 40 ml/h, nato 75 ml/h)- ob tem dekle ni imelo težav. Dve leti kasneje smo postopoma najprej opustili premedikacijo, infliksimaba pa smo tudi hitreje aplicirali.*

Kasne preobčutljivostne reakcije (več kot 6 ur po aplikaciji) delimo na posredovane preko IgG ali T celično posredovane in so tudi del tipa<sup>b</sup> neželenih učinkov. Pri bioloških zdravilih, ki so telesu tuji proteini pričakujemo imunski odgovor posredovan preko protiteles. Proti infliksimabu se npr. pri 43% otrok z JIA razvijejo protitelesa, ki niso nujno povezana s simptomi, najpogostejša posledica pa je inaktivacija biološkega zdravila, pogostejši pa je pojav akutnih infuzijskih reakcij (6-8). Višji odmerek infliksimaba se zdi pri tudi pri otrocih povezan z manjšo možnostjo razvoja protiteles. Spremljanje nivoja infliksimaba v serumu in nastanka protiteles proti infliksimabu lahko pojasni izgubo terapevtske učinkovitosti na infliksimab in pomaga k odločitvi npr. ali za dvig odmerka infliksimaba ali za uporabo drugega anti TNF biološkega zdravila (6-8). Nastanek protiteles proti biološkemu zdravilu pa lahko vodi tudi v aktivacijo komplementne kaskade. Lahko pride do boleznih imunskih kompleksov (serumska bolezen, vaskulitis, nefritis), ali pa trombocitopenije (če se imunski kompleksi vežejo na Fc-IgG receptorje na trombocitih). V te kasne preobčutljivostne reakcije so kot regulatorji verjetno vpletene T celice. Za razliko od preobčutljivostnih reakcij na nizko molekularne molekule, se zdijo T celično posredovane reakcije pri bioloških zdravilih redkejše (2).

V naslednjem primeru smo potrdili kasno preobčutljivost na etanercept in etanercept aplicirali po desenzibilizacijski shemi:

Primer 4. 17- letno dekle je zaradi razširjene oligoartikularne oblike JIA prejemale etanercept 50 mg se enkrat tedensko, po letu in pol pa so dan po aplikaciji trikrat zapored nastale lokalne rdečine in otekline. Na mestu intradermalnega kožnega testa z etanercept razredčine 1:10 je bila po 24 urah oteklina in rdečina. Po premedikaciji z antihistaminikom je bila opravljena desenzibilizacijska shema z etanercept (odmerki na 30 minut; prvi dan 0.5 mg, 1 mg, 2 mg, 4 mg, 8 mg, 9 mg, drugi dan 0.5 mg, 1 mg, 2 mg, 4 mg, 8 mg, 16 mg, 18,5 mg; skupno 50 mg). Ob naslednjih enkratnih s.c. aplikacijah je imela manjše lokalne rdečine in otekline.

V naslednjem primeru smo tudi sumili na kasno preobčutljivost na etanercept, vendar je šlo le za prehodno lokalno reakcijo ob injiciranju:

Primer 5. Zaradi oligoartikularne oblike JIA je bil 17- letnemu dekletu uveden poleg leflunomida 20 mg/dan etanercept 50 mg 1 x na teden s.c.. Prve tri aplikacije so potekale brez težav, po naslednjih štirih pa se je po vedno pol dneva po vbodu pojavila močno srbeča rdečina in oteklina velikosti 5 krat 6 cm, trajala je 3-4 dni, in je bila srbeča. Izvidi hemograma, hepatograma, dušičnih retentov so bili v mejah normale. Naslednjo aplikacijo smo nadaljevali ponovno pod nadzorom oddelka, vendar se težave niso ponovile, enako je veljalo za naslednje aplikacije.

Med neželene učinki bioloških zdravil tipa  $\gamma$  ali disregulacije imunskega sistema uvrščamo nastanek imunske pomanjkljivosti, avtoimunosti, avtoinflamatorne bolezni ali alergijske bolezni.

Glede na delovanje biološkega zdravila se je potrebno zavedati, kakšno imunsko pomanjkljivost bo povzročilo- npr. rituksimab zmanjšuje celično in humoralno imunost, TNF $\alpha$  je mediator vnetnega procesa in vpliva na celični imunski odziv itd. Z usmerjenimi preiskavami (npr. določanjem limfocitnih subpopulacij, IgG, IgA, IgM) preverjamo obseg imunske pomanjkljivosti in določamo podporno zdravljenje (npr. protimikrobno in protiglivično zaščito, aplikacijo IVIG). V primeru nastanka okužbe pri otroku z biološkim zdravilom je potrebno okužbo mikrobiološko opredeliti. Zaradi pričakovano nastale sekundarne imunske pomanjkljivosti se otroka, če je možno, dodatno cepi 4 tedne pred uvedbo bioloških zdravil (npr. proti noricam, ošpicam, mumpsu, rdečkam). Cepljenje z živimi oslavljenimi cepivi je ob prejemanju bioloških zdravil praviloma odsvetovano. Upoštevati je potrebno, da biološka zdravila zmanjšujejo imunogenost tudi inaktiviranih cepiv (npr. rituksimab cepljenja proti gripi in proti pnevmokokoku) (9).

Nevtralizacijo TNF $\alpha$  kar pogosto spremljajo avtoimunski fenomeni, redkeje pa avtoimunske bolezni. Primer pojava avtoinflamatorne bolezni ob zdravljenju z biološkimi zdravili je psoriza. Kožne bolezni, povezane z



anti TNF $\alpha$  zdravljenjem, imajo lahko klinične značilnosti atopijskega dermatitisa, morda zaradi prevlade Th2 odgovora (2, 10, 11)

Neželeni učinki bioloških zdravil tipa  $\delta$  (navzkrižna reaktivnost) nastanejo, ker protitelesa proti antigenom na tumorskih celicah navzkrižno reagirajo z normalnimi celicami (npr. posledica zdravljenja z protitelesi proti receptorju za epidermalnemu rastnemu faktorju, ki se uporabljajo pri zdravljenju tumorjev, je lahko akneiformni izpuščaj) (12).

*Opisujemo še primer, kjer se prepletajo opisi neželenih učinkov v smislu kasne celično posredovane preobčutljivosti avtoimunost in navzkrižna reaktivnost (13).*

*Primer 6. 17-letni fant s perzistentnim psoriatičnim poliartritisom je imel uvedeno zdravljenje z infliximabom v obliki infuzij 5 mg/kg na 4 tedne, kar je privedlo do kliničnega izboljšanja z remisijo artritisa in luskavice. Tri mesece po uvedbi infliximaba je prenehal z jemanjem metotreksata zaradi slabosti in bruhanja, namesto tega je bil uveden leflunomid. Po devetih mesecih zdravljenja z mesečnimi infuzijami infliximaba in prejemanjem leflunomida per os se mu je v enem tednu na novo pojavil srbeč lividno rdeč izpuščaj na dlaneh in stopalih. Izrazitejšje so bile tudi psoriatične spremembe po ekstenzornih straneh zgornjih in spodnjih okončin, po obrazu in za ušesi. Zdravljenje z leflunomidom in infliximabom je bilo ukinjeno. V osnovnih laboratorijskih izvidih so izstopali število levkocitov  $3.4 \times 10^9$  /l, število trombocitov  $133 \times 10^9$  /l, blago povišane so bile vrednosti jetrnih transaminaz (AST 0,96, ALT 0,78). V imunoseroloških preiskavah je bila vidna hiperegamaglobulinemija, povečana vrednost komponente komplemента C3, zvišan ANA titer (1:320 s homogeno in veliko lisasto imunofluorescenco ter prisotnimi antimitohondrijskimi protitelesi) in nizko pozitivna IgG antikardiolipinska protitelesa. Histološko je bil viden siringotropen mononuklearni celični infiltrat predvsem okrog intraepidermalnih delov izvodil znojnic, medtem ko znojnice in izvodila znojnic v spodnji polovici dermisa niso bili spremenjeni. V povrhnjem dermisu je bil prisoten tudi nežen limfocitni in redek eozinofilni infiltrat perivaskularno in v intersticiju. Histoloških sprememb značilnih za vaskulitis ni bilo videti. Z imunohistokemičnimi preiskavami smo ugotovili, da mononuklearni infiltrat sestavljajo predvsem limfociti CD3+, CD4+ in CD8-, torej celice T pomagalk. V infiltratu so bili le redki CD 20+ B limfociti. Dva meseca po ukinitvi infliximaba in leflunomida je lividen izpuščaj dlani in stopal popolnoma izzvenel, vrednosti števila levkocitov, trombocitov in jetrnih encimov so se normalizirale. Ob ukinitvi zdravljenja z infliximabom in leflunomidom pa je prišlo do ponovnega resnega zagona poliartritisa in luskavice, zato je imel uvedeno zdravljenje z drugim biološkim zdravilom etanercept v odmerku 0,4 mg/kg dvakrat tedensko subkutano skupaj z metotreksatom v odmerku 10 mg/m<sup>2</sup>/teden ter prehodno sistemski kortikosteroid per os. Po treh mesecih zdravljenja z etanerceptom je prišlo do pomembnega kliničnega izboljšanja z remisijo poliartritisa in luskavice. Ob zdravljenju z etanerceptom nismo opazili ponovnega pojava lividnih kožnih izpuščajev.*

Neželeni učinki bioloških zdravil tipa  $\varphi$  pomenijo neimunske neželene reakcije. Pri pri srčnem popuščanju je bil ugotovljen visok nivo TNF $\alpha$ , nevtralizacija TNF $\alpha$  pa je privedla do poslabšanja srčnega popuščanja, zdravljenje z interferonom pa je bilo povezano z nastankom depresije (2, 14).

Zaključek: Neželeni učinki bioloških zdravil so raznoliki. Ni vedno lahko ločiti med akutno infuzijsko reakcijo, anafilaksijo ali celo citokinsko reakcijo. Možen je tudi pojav nenavadnih, še neopisanih kliničnih slik. Po opredelitvi neželenega učinka se je potrebno odločiti ali o prekinitvi zdravljenja z biološkim zdravilom (npr. ob kompleksnih kasnih reakcijah), povišanju odmerka biološkega zdravila (npr. nastanku protiteles, ki so povezana z manjšo učinkovitostjo biološkega zdravila), upočasnitvijo aplikacije (ob akutni infuzijski reakciji) ali za uporabo desenzibilizacijske sheme (ob sumu na IgE posredovano preobčutljivosti). Otroci ob aplikaciji bioloških zdravil velikokrat prejema zdravila, ki ali lahko vplivajo na zmanjšanje možnosti pojava izpuščaja in na večjo možnost negativnih alergoloških testiranj (npr. glukokortikoide, ...) ali zmanjšujejo možnost obvladovanja morebitne anafilaksije (npr. betablokatorje, ACE inhibitorje) kar tudi lahko vpliva na odločitev o načinu aplikacije po takojšnji reakciji. V takšnem primeru je biološko zdravilo priporočljivo aplicirati po varnejši, desenzibilizacijski shemi.

Pri zdravljenju z biološkimi zdravili je potrebna pozornost na potencialne neželene reakcije. Potrebno je hitro ukrepanje v primeru življenje ogrožujočih reakcij. V primeru prehodnih, blažjih reakcij pa je, še posebno v

primeru, ko je biološko zdravilo za zdravljenje osnovne bolezni uspešno, potrebno najti način za varno nadaljnjo uporabo, če je to le mogoče.

### Literatura

1. Khan DA. Hypersensitivity and immunologic reactions to biologics: opportunities for the allergist. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2016;117(2):115-20.
2. Picler WJ. Adverse side effects to biological agents. *Allergy* 2006; 61:912-20.
3. Perdriger A, Mariette X, Kuntz JL et al. Safety of infliximab used in combination with leflunomide or azathioprine in daily clinical practice. *J Rheumatol* 2006; 33: 865-9.
4. Hong DI, Bankova L, Cahill KN, Kyin T, Castells MC. Allergy to monoclonal antibodies: cutting-edge desensitization methods for cutting-edge therapies. *Expert Rev Clin Immunol* 2012;8(1):43-52.
5. Brennan P.J., Bouza T.R., Hsu F.I., Sloane D.E., Castells M.C. Hypersensitivity reactions to mAbs: 105 desensitizations in 23 patients, from evaluation to treatment. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2009;124:1259–1266.
6. Kosmač M, Avčin T, Toplak N, Simonini G, Cimaz R, Curin Šerbec V. Exploring the binding sites of anti-infliximab antibodies in pediatric patients with rheumatic diseases treated with infliximab. *Pediatr Res.* 2011 Mar;69(3):243-8.
7. Baert F, Noman M, Vermeire S, Van Assche G, D' Haens G, Carbonez A, Rutgeerts P 2003 Influence of immunogenicity on the long-term efficacy of infliximab in Crohn's disease. *N Engl J Med* 348:601– 8.
8. Maini RN, Breedveld FC, Kalden JR, Smolen JS, Davis D, Macfarlane JD, Antoni C, Leeb B, Elliott MJ, Woody JN, Schaible TF, Feldmann M 1998 Therapeutic efficacy of multiple intravenous infusions of anti-tumor-necrosis-factor-alpha monoclonal antibody combined with low-dose weekly methotrexate in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 41:1552–63.
9. Friedman MA, Winthrop KL. Vaccines and Disease-Modifying Antirheumatic Drugs: Practical Implications for the Rheumatologist. *Rheum Dis Clin North Am.* 2017;43(1):1-13.
10. Ramos-Casals M, Brito-Zerón P, Muñoz S et al. Autoimmune Diseases Induced by TNF-Targeted Therapies. *Medicine* 2007; 86: 242-50.
11. Lebas D, Staumont-Sallé D, Solau-Gervais E et al. Cutaneous manifestations during treatment with TNF-alpha blockers: 11 cases. *Ann Dermatol Venereol.* 2007; 134: 337-42.
12. Perez-Soler R, Saltz L. Cutaneous adverse effects with HER1/EGFR-targeted agents: is there a silver lining? *J Clin Oncol.* 2005;23:523.
13. Vesel T, Luzar B, Calonje E, Avcin T. Syringotropic hypersensitivity reaction associated with infliximab and leflunomide combination therapy in a child with psoriatic arthritis. *J Cutan Pathol* 2009;36(9):991-4.
14. Lucaciu LA, Dumitrascu DL. Depression and suicide ideation in chronic hepatitis C patients untreated and treated with interferon: prevalence, prevention and treatment. *Ann Gastroenterol.* 2015;28:440.

## HEMOVIGILANCA

Irena Bricl, Ivica Marić. Zavod za transfuzijo krvi, Ljubljana.

Vigilanca je organiziran sistem nadzora, ki obsega hemovigilanco, farmakovigilanco ter histovigilanco. Hemovigilanca (HV) je poseben del transfuzijske službe in zajema vse postopke, ki zagotavljajo varno transfuzijo. Namen je izboljšanje obstoječih postopkov, večja varnost darovalcev in prejemnikov krvnih komponent. Osnova HV je sledljivost podatkov. Prilagojen informacijski sistem in način dela nam omogoča sledenje krvni komponenti od vene darovalca do vene prejemnika. HV delimo na tri področja, in sicer na neželene reakcije pri krvodajalcih, neželene reakcije pri prejemnikih krvnih komponent in neželene dogodke, povezane z ravnanjem s krvjo.

### Organiziranost HV v RS

Služba za HV je zakonsko opredeljena s Pravilnikom o HV, je del transfuzijske službe in je organizirana na isti način. Slovenska transfuzija je organizirana v obliki treh centrov (Zavod RS za transfuzijsko medicino, Center za transfuzijsko medicino Maribor in Transfuzijski center Celje) in v njihov sestavi deluje 12 enot (Ljubljana, Novo mesto, Izola, Nova Gorica, Jesenice, Slovenj Gradec, Trbovlje, Brežice, Maribor, Ptuj, Murska Sobota in Celje), ki preskrbujejo s krvjo 26 slovenskih bolnišnic.

Sistem poročanja o neželenih reakcijah pri prejemnikih krvnih komponent je tak, da lečeči zdravnik izpolni prijavo neželene transfuzijske reakcije (»rumeni obrazec«) ter ga z vzorcem bolnikove krvi pošlje v transfuzijsko ustanovo, ki je kri izdala. Zdravnik transfuziolog reakcijo razišče in zaključi ter spiše poročilo o neželeni reakciji o transfuziji krvi in mnenje, katerega posreduje lečečemu zdravniku. Transfuzijska ustanova, ki je reakcijo obravnavala, posreduje kopijo prijave in poročila službi za HV, ki v primeru hudih reakcij obvesti Javno agencijo za promet z zdravili in medicinskimi pripomočki (JAZMP).



### Definicije

**(HUDI) NEŽELENI DOGODKI:** kakršenkoli neželen dogodek v zvezi z zbiranjem, testiranjem, predelavo, shranjevanjem in razdeljevanjem krvi in komponent krvi, ki bi utegnil povzročiti smrt ali ogroziti življenje ter povzročiti stanje invalidnosti ali nezmožnosti za delo, ali ima za posledico hospitalizacijo ali zbolewnost ali podaljšanje hospitalizacije oziroma zbolewnosti.

**(HUDA) NEŽELJENA REAKCIJA:** z odvzemom ali transfuzijo krvi oziroma komponent krvi povezan nehoten odziv pri krvodajalcu ali bolniku, ki je lahko smrten, smrtno nevaren, ki povzroča stanje invalidnosti ali nezmožnosti za delo, ali ima za posledico hospitalizacijo ali zbolewnost ali podaljšanje hospitalizacije ali zbolewnosti.

### Neželene reakcije pri krvodajalcih

Darovanje krvi je varno. Zapleti med/po darovanju krvi so redki, saj s strogimi pravili kdo je lahko krvodajalec, vprašalnikom, ki ga krvodajalec

izpolni pred darovanjem krvi, in pregledom pri medicinski sestri ter zdravniku, izločimo krvodajalce, katerim bi darovanje krvi lahko škodilo. Kljub opisanim ukrepom pa vseeno občasno pride do neželenih reakcij pri krvodajalcih. V večini primerov gre za blage vazovagalne reakcije, kar predstavlja več kot 90% vseh reakcij pri krvodajalcih. Za blage vazovagalne reakcije smatramo vrtočlavo med odvzemom ali po odvzemu krvi oz. ko krvodajalec še malo »odleži« na odzemnem stolu po darovanju. Na drugem mestu po pogostosti so hematomi, ostalo pa so posamezni primeri draženje živca po odvzemu in nabod arterije. Hude neželene reakcije, kot so hude vazovagalne reakcije z nezavestjo in krči ali padci s poškodbami, so redke in predstavljajo manj kot 1% vseh zapletov darovanja krvi.

Leto	2014	2015	2016	2017
število odvzemov	88.700	88.200	90.450	89.316
število reakcij	1030	1230	1127	988
št. reakcij/1000 odvzemov	<b>11,61</b>	<b>13,95</b>	<b>12,46</b>	<b>11,06</b>

Tabela 1: število reakcij pri krvodajalcih ter število reakcij preračunano na 1000 odvzemov

### Neželene transfuzijske reakcije pri bolnikih (NTR)

Kljub številnim preventivnim ukrepom za bolj varno transfuzijo (način darovanja krvi, presejalno testiranje donacij, predtransfuzijsko testiranje, način izdaje krvnih komponent, filtracija krvi, odstranjevanje levkocitov, obsevanje, inaktivacija patogenov in številni drugi), se še vedno lahko razvije NTR pri prejemniku krvne komponente. Ključnega pomena je zgodnje prepoznavanje NTR in pravočasno ukrepanje, zato je treba bolniku izmeriti vitalne znake (telesno temperaturo, krvni pritisk in pulz, lahko pa tudi frekvenco dihanja ter zasičenost venske krvi s kisikom) pred, med in po transfuziji ter ga ves čas transfuzije in nekaj časa po njej opazovati. Ko opazimo NTR oz. postavimo sum nanjo, je vedno prvi ukrep zaustavitev transfuzije, vendar ne odstranjujemo transfuzijskega sistema, pokličemo leččega zdravnika in v primeru, da nima že vzpostavljene venske poti, nastavimo venski kanal. Sledi ukrepanje glede na izraženo simptomatiko oz. za katero NTR gre.

Glede na čas nastanka, NTR razdelimo v dve skupini, in sicer na akutne ter odložene. Akutne reakcije so vse tiste, ki se zgodijo znotraj 24 ur od transfuzije, odložene pa vse tiste, ki se zgodijo po 24 urah. Glede na stopnjo ogroženosti bolnika, razdelimo NTR v 4 skupine, in sicer blage, življenjska ogroženost, dolgotrajne posledice in smrt. Večina reakcij je blagih, kar pomeni, da življenje bolnika ni bilo ogroženo in brez ukrepanja bi večina NTR izzvenela samo po sebi. Pri življenjski ogroženosti, kot že samo ime pove, gre za hudo reakcijo, ki, če se ne bi pravilno in pravočasno ukrepalo, vodi v trajne posledice in smrt. Takšnih reakcij je le nekaj na leto. Dolgotrajne posledice so takrat, ko so spremembe v bolnikovem zdravju trajne oz. zahtevajo zelo dolgo zdravljenje. Dolgotrajne posledice so pri nas zelo redke, v večini primerov je to prenos hepatitisa B virusa, kar se zgodi približno enkrat na leto ali dve. Primera smrti zaradi transfuzije nimamo zabeleženega.

Daleč najpogostejši NTR sta alergijska reakcija in nehemolitična fibrilna transfuzijska reakcija (NHFTR), ki skupaj predstavljata več kot 90% vseh reakcij. Sledi volumska preobremenitev kardiovaskularnega sistema s transfuzijo (TACO). Preostalo so posamezni primeri TRALI, prenosa HBV, TAD in drugo.

Tabela 2: najpogostejše NTR

NTR	Incidenca	etiologija	znaki/simptomi	diferencialna diagnoza	ukrepanje
alergijska reakcija	1:100 do 1:33	protitelesa proti beljakovinam v darovalčevi plazmi	blaga reakcija, večinoma urtika, srbenje in rdečica, le redko ostali simptomi in znaki alergije	večinoma zelo očitna reakcija, hemoliza se lahko začne z enako simptomatiko	antihistaminik (in kortikosteroid)
nehemolitična fibrilna transfuzijska reakcija (NHFTR)	1:1000 do 1:100	citokini v pripravku, protitelesa proti darovalčevimi levkociti	blaga reakcija, vročina, mrzlica, glavobol, bruhanje, slabo počutje	hemoliza, prenos bakterijske okužbe s transfuzijo (sepsa)	antipiretik (vsa kri v RS je filtrirana - znižano število levkocitov)
akutna hemoliza	1:100.000 (smrtni primeri 1:1,8 milijona)	protitelesa proti eritrocitnim antigenom, v večini primerov gre za ABO neskladje	zelo burna reakcija, hiter pojav simptomov, mrzlica, vročina, hemoglobinurija, hipotenzija, ledvična odpoved, oligourija, DIK, bolečina v hrbtu	sepsa, TRALI	dopamin, vzdrževanje diureze na več kot 1ml/kg/h, analgezija, vzpostavitev normalne hemostaze
odložena hemoliza	1:2500 do 1:10.000	protitelesa proti eritrocitnim antigenom izven ABO sistema	znaki so odvisni od obsega hemolize, vročina, nenaden padec hemoglobina, laboratorijski znaki hemolize, blaga zlatenica	NHFTR	treba je identificirati protitelesa in bolniku zagotavljati antigensko primerno kri
volumska preobremenitev (TACO)	< 1%	volumska preobremenitev kardiovaskularnega sistema	dispneja, ortopneja, kašelj, tahikardija, hipertenzija, glavobol	TRALI	polsedeči položaj bolnika, dovajanje kisika, diuretik
akutna okvara pljuč povzročena s transfuzijo (TRALI)	1:200.000	levkocitna protitelesa darovalca, ki aktivirajo levkocite bolnika, zelo redko obratno	hipoksemija, dihalna stiska, hipotenzija, vročina, bilateralni pljučni edem, znaki ARDS-a	TACO, hemoliza, sepsa	dovajanje kisika, številne bolnike je treba mehansko predihavati, podporno zdravljenje, smrtnost je visoka
anafilaksija	1:20.000 do 1:50.000	protitelesa proti plazemskim proteinom darovalca (vključno z IgA, haptoglobinom, C4, citokinom)	hipotenzija, urtika, rdečica, bronhospazem, težko dihanje, edem	hemoliza, TRALI, TACO	adrenalin, antihistaminik, kortikosteroid V primeru pt. anti-IgA oprani eritrociti oz. enote darovalcev z IgA pomanjkanjem
sepsa	odvisno od komponente trombociti: 1:10.000 eritrociti: 1:250.000	bakterijska kontaminacija krvne komponente	vročina, mrzlica, hipotenzija, težko dihanje	hemoliza, TRALI, TACO	široko spektralni antibiotik do izvida antibiograma, v primeru šoka podporno zdravljenje
hipotenzija	1:1000	razvije se pri bolnikih, ki imajo v redni terapiji inhibitorje ACE,	večinoma blaga reakcija, rdečica obraza, hipotenzija,	hemoliza, sepsa	posebnih ukrepov ni, v primeru dolgotrajnega

		inhibicija metabolizma bradikinina + transfuzija enote bogate z bradikininom	slabo počutje		transfuzijskega zdravljenja, je treba premisliti o zamenjavi inhibitorja ACE z drugim zdravilom
prenos virusnih okužb	HBV: 1:250.000 HCV: 1:1.000.000 HIV: 1:1.500.000	prenos virusne okužbe s krvjo	/	/	relativno visoka incidenca prenosa HBV je na račun okultne oblike HBV, ki jo testi težko zaznajo. V RS nismo zaznali prenosa HCV ali HIV

### Podatki za Slovenijo

Tabela 3: število prijavljenih neželenih transfuzijskih reakcij med leti 2014-2017.

NTR	2014	2015	2016	2017
Hemoliza	1	2	0	0
TRALI	1	0	0	0
TACO	8	5	11	5
Alergija	58	53	51	34
Anafilaksija	3	0	4	0
NHFTR	38	53	60	38
Virusna ok.	2	1	2	1
Bakterijska ok.	1	0	0	0
TAD	1	1	1	1
Hipotenzija	1	3	0	0
Drugo	5	1	0	2
Skupaj	<b>118</b>	<b>119</b>	<b>129</b>	<b>81</b>
R/1000 izdanih E	<b>1,14</b>	<b>1,22</b>	<b>1,03</b>	<b>0,56</b>

### Neželeni dogodki

Neželeni dogodki so vse napake, ki se dogajajo v zvezi z ravnanjem s krvjo od odvzema krvi do transfuzije krvne komponente bolniku. Prave napake so redke, večinoma gre za skorajšnje napake, ki jih pravočasno ugotovimo in preprečimo.

Tabela 4: neželeni dogodki med leti 2015-2017

Neželen dogodek	2015	2016	2017
Transfundirana napačna komponenta	0	3	1
Transfundirana komponenta ne ustreza zahtevam	2	1	3
Napačno ravnanje s krvjo na oddelku	21	7	10
Skorajšnje napake	792	1.056	1.114

Tabela 5: skorajšnje napake med leti 2015-2017. Z letom 2015 smo pričeli z novo klasifikacijo neželenih dogodkov in jo nadgradili v letu 2016 in 2017. Tam kjer je »/«, tega takrat nismo beležili.

Skorajšnja napaka	2015	2016	2017
Pomanjkljiva naročilnica, vzorec, administrativna napaka	555	518	683
Napačno orientacijska določitev KS na oddelku	67	224	256
Napačna kri v epruveti	30	23	16
Napaka v laboratoriju	140	229	110
Izdaja napačne komponente/izvida	/	39	20
Oprema	/	/	11
Napaka v informacijskem sistemu	/	23	18
<b>Skupaj</b>	<b>792</b>	<b>1.056</b>	<b>1.114</b>

## NOVI LABORATORIJSKI TESTI ZA UGOTAVLJANE SPROŽILCA ANAFILAKSIJE IN SPREMLJANE DESENZIBILIZACIJE

Ana Koren. Laboratorij za klinično imunologijo in molekularno genetiko, Univerzitetna klinika za pljučne bolezni in alergijo Golnik

Zdravila so poleg hrane in pikov žuželk poglavitni vzrok anafilaksije, še posebej pri odraslih. Anafilaksija je lahko vezana na imunološki mehanizem IgE (preko FcεRI) ali pa na ne-IgE (npr. direktna celična aktivacija ali preko komplementa). Laboratorijska diagnostika sprožilca anafilaksije temelji na proučevanju IgE mehanizma poteka alergijske reakcije. Detekcijo specifičnih protiteles IgE v serumu bolnikov dopolnjuje uvedba rekombinantnih alergenov in mikromrežni pristop, ki sta še posebej uporabna pri prehranskih alergenih. V primeru anafilaktičnih reakcij na zdravila in pike kožekrilcev pa imajo trenutno največjo uporabnost celični testi. Razvoj diagnostičnih testov za preobčutljivost na zdravila predstavlja izziv, saj večina zdravil deluje kot hapteni, ki se ireverzibilno vežejo na proteine in tako tvorijo antigene, ki vzbujajo imunski odgovor.

Glavne efektorske celice pri takojšnjih IgE-posredovanih preobčutljivostnih reakcijah so mastociti in bazofilci. Njuna skupna značilnost je alergen-specifični IgE, ki je vezan na visokoafinitetni receptor IgE (FcεRI), ki se nahaja na površini celic. Ko pride do stika z alergenom se le-ta ujame na IgE na površini, kar povzroči premreženje FcεRI in sproščanje mediatorjev vnetja v tkivo in/ali kri. Mastociti se nahajajo v tkivu, bazofilci pa v krvi in so enostavno dostopni z odvzgom krvi, zaradi česar so še posebej primerni za uporabo v *in vitro* diagnostiki alergijskih reakcij [1].

Detekcija specifičnih IgE (sIgE) protiteles v serumu bolnikov se običajno določa z encimskimi imunotesti na standardiziranih napravah (ImmunoCAP, Immulite). Glavno omejitev pri detekciji sIgE proti zdravilom predstavljata dejstva, da je zdravilo zelo težko vezati na trdni nosilec ter da mnoga zdravila *in vivo* delujejo kot hapteni. Posledično je senzitivnost teh testov nizka, komercialno dostopni testi pa so na voljo le za določene betalaktamske antibiotike. Test aktivacije bazofilcev (angl. Basophil Activation Test, BAT) je *in vitro* celični test za ugotavljanje alergogene reaktivnosti na specifični alergen. Aktivacijo bazofilcev diagnostično merimo s pretočno citometrijo, kjer bazofilce označimo s fluorescenčno označenimi protitelesi. V našem laboratoriju za detekcijo bazofilcev uporabljamo kombinacijo označevalcev CD123<sup>pos</sup> in HLA-DR<sup>neg</sup>, pogosto pa se uporablja tudi označevalca bazofilcev CCR3 in CD203c. Za ugotavljanje degranulacije (aktivacije) bazofilcev se najpogosteje uporablja lizosomski membranski glikoprotein CD63, v rabi pa je tudi povečano izražanje CD203c. Degranulacija pomeni fuzijo specifičnih znotrajceličnih veziklov, ki vsebujejo mediatorje vnetja, z zunajcelično membrano in posledično izpostavitvev označevalca CD63. BAT predstavlja uporabno orodje za detekcijo takojšnjih preobčutljivostnih reakcij, vključno z alergijami na zdravila. Dodatna prednost metode je, da lahko testiramo več alergenov hkrati, v poštev za uporabo pri testu pa pride praktično katerikoli alergen v tekoči obliki, zato je zelo primerna metoda tudi za eksperimentalna testiranja. V nasprotju s določanjem sIgE, kjer določamo senzibilizacijo z alergenom, pri testu BAT dejansko simuliramo alergijsko reakcijo *in vitro* ter dobimo podatek o klinični pomembnosti senzibilizacije.

Alergijo za zdravila povzročajo različne skupine učinkovin: antibiotiki, radiokontrastna sredstva, mišične relaksante, nesteroidna protivnetna zdravila, kemoterapevtike in biološka zdravila. V tem prispevku so podrobneje predstavljeni obstoječi in preizkušani diagnostični testi za ugotavljanje sprožilcev anafilaksije, ki so specifični za onkološke bolnike, t.j. kemoterapevtiki in biološka zdravila.

Takojšnje preobčutljivostne reakcije na kemoterapevtike so najpogostejše pri aplikaciji spojin platine karboplatin, cisplatin in oksaliplatin. Značilno je, da navadno do reakcije ne pride takoj, ampak šele po nekaj prejetih dozah, kar nakazuje na to, da je mehanizem reakcije posredovan s protitelesi IgE. Komercialni testi za sIgE proti spojinam platine še niso na voljo, preliminarne raziskave pa kažejo na potencial določanja sIgE v diagnostiki preobčutljivosti na kemoterapijo na osnovi platine[2]. Tudi BAT se je izkazal kot uporaben pristop za diagnostiko alergije na platino [3–5]. Znano je tudi, da je izražanje receptorja FcεRI na površini bazofilcev bolnikov s preobčutljivostnimi reakcijami na karboplatin povečano v primerjavi z bolniki ki nimajo težav pri prejemanju tega kemoterapevtika. V drugi raziskavi so ugotovili da je odstotek aktiviranih bazofilcev po stimulaciji s karboplatinom povezan s stopnjo anafilaksije[5]. Zanimiv podatek je tudi, da terapija anti-IgE (omalizumab) zavre



aktivacijo bazofilcev *in vitro* po stimulaciji s karboplatinom pri bolnikih, kar dodatno potrjuje da je mehanizem anafilaksije na karboplatin posredovan z IgE [6]

Monoklonska protitelesa so hitro rastoča skupina tarčnih bioloških protiteles. V nasprotju z ostalimi skupinami zdravil je večina monoklonskih protiteles proteinov. Cetuksimab je proti receptorju za epidermalni rastni faktor usmerjeno monoklonsko protitelo, odobreno za zdravljenje kolorektalnega raka. Težke anafilaktične reakcije na cetuksimab se pojavijo pri 3% bolnikov, zanje pa je značilno da se pojavijo že ob prvi aplikaciji zdravila. Pri večini bolnikov s preobčutljivostno reakcijo na cetuksimab so v serumu pred pričetkom terapije prisotna protitelesa IgE proti cetuksimabu. Ta protitelesa so navzkrižno reaktivna z galaktozo-1,3-galaktozo (alpha-gal), ki predstavlja del težke verige cetuksimaba. Preobčutljivostne reakcije ob prvi aplikaciji so tako posledica preobstojećih protiteles proti alpha-gal, ki jih lahko detektiramo pri večini bolnikov s preobčutljivostno reakcijo na cetuksimab [7]. V praksi smo v Kliniki Golnik pri bolnici s težko sistemsko reakcijo na cetuksimab ugotovili prisotnost protiteles IgE proti alpha-gal ter s testom BAT potrdili pozitiven odgovor bazofilcev na cetuksimab in alpha-gal ter negativni odgovor na panitumumab. Bolnica je tako prejela alternativno zdravljenje s panitumumabom, ki je potekalo brez zapletov. V prihodnosti želimo raziskati ali lahko s testom BAT razlikujemo med alpha-gal sIgE-pozitivnimi bolniki, ki so klinično tolerantni in tistimi pri katerih obstaja tveganje za anafilaksijo po aplikaciji cetuksimaba. Rituksimab je himerno monoklonsko protitelo proti CD20, uporablja se pri zdravljenju B-celičnih malignosti in sistemskih avtoimunskih boleznih. Rezultati testa BAT z rituksimabom so podobno pokazali, da je delež aktiviranih bazofilcev pri bolnikih s preobčutljivostno reakcijo v primerjavi s kontrolami statistično značilno višji [8]. S testom BAT so uspešno potrdili tudi predhodno anafilaktično reakcijo na pertuzumab pri bolnici s HER2-pozitivnim razsejanim rakom dojke, ki je po desenzibilizaciji nato uspešno prejela polno dozo zdravila [9].

BAT je uporaben biomarker tudi pri napovedovanju odziva pri desenzibilizaciji za kemoterapevtike na osnovi platine. V raziskavi je sodelovalo 15 bolnikov, pri katerih so pred pričetkom desenzibilizacije izvedli BAT. Test je bil pozitiven pri 11/15 bolnikov, višje izražanje aktivacijskega označevalca je bilo povezano s težjimi reakcijami, negativni BAT pred pričetkom desenzibilizacije pa je imel prediktivni pomen za potek desenzibilizacije brez stranskih učinkov [10].

V zaključek, test aktivacije bazofilcev je uporabna metoda za ugotavljanje sprožilca anafilaktične reakcije in spremljanje desenzibilizacije pri bolnikih z onkološkimi obolenji. Glavne prednosti metode predstavljajo možnost hkratnega testiranja več različnih zdravil, varnost in specifičnost. Primeren je tudi za testiranje novih učinkovin, pri katerih standardne diagnostične metode niso na voljo ali pa predstavljajo previsoko tveganje za bolnika.

#### Literatura

1. Macglashan DW (2013) Basophil activation testing. *J Allergy Clin Immunol* 132:777–787.
2. Giavina-Bianchi P, Patil SU, Banerji A (2017) Immediate Hypersensitivity Reaction to Chemotherapeutic Agents. *J Allergy Clin Immunol Pract* 5:593–599.
3. Viardot-Helmer A, Ott H, Sauer I, Merk HF (2008) Basophil activation test as *in vitro* assay for cisplatin allergy. *Hautarzt* 59:883–4.
4. Song W-J, Chang Y-S (2013) Recent applications of basophil activation tests in the diagnosis of drug hypersensitivity. *Asia Pac Allergy* 3:266–80.
5. Iwamoto T, Hirai H, Yamaguchi N, et al (2017) Basophil Activation Test is a Relevant Biomarker of the Outcome of Rapid Desensitization in Platinum Compounds-Allergy. *J Allergy Clin Immunol Pract* 5:1487–95.
6. Iwamoto T, Hirai H, Yamaguchi N, et al (2014) Carboplatin-induced severe hypersensitivity reaction: Role of IgE-dependent basophil activation and FcεRI. *Cancer Sci* 105:1472–1479.
7. Chung CH, Mirakhor B, Chan E, et al (2008) Cetuximab-Induced Anaphylaxis and IgE Specific for Galactose-α-1,3-Galactose. *N Engl J Med* 358:1109–1117.
8. Piva E, Chieco-Bianchi F, Krajcar V, et al (2012) Adverse reactions in patients with B-cell lymphomas during combined treatment with rituximab: *In vitro* evaluation of rituximab hypersensitivity by basophil activation test. *Am J Hematol* 87:E130-1.
9. González-de-Olano D, Morgado JM, Juárez-Guerrero R, et al Positive basophil activation test following anaphylaxis to pertuzumab and successful treatment with rapid desensitization. *J Allergy Clin Immunol Pract* 4:338–40.
10. Giavina-Bianchi P, Galvão VR, Picard M, et al (2017) Basophil Activation Test is a Relevant Biomarker of the Outcome of Rapid Desensitization in Platinum Compounds-Allergy. *J Allergy Clin Immunol Pract* 5:728–736.

## NOVI LABORATORIJSKI TESTI ZA POTRDITEV KLINIČNE DIAGNOZE ANAFILAKSIJE IN NAPOVED TEŽE REAKCIJE

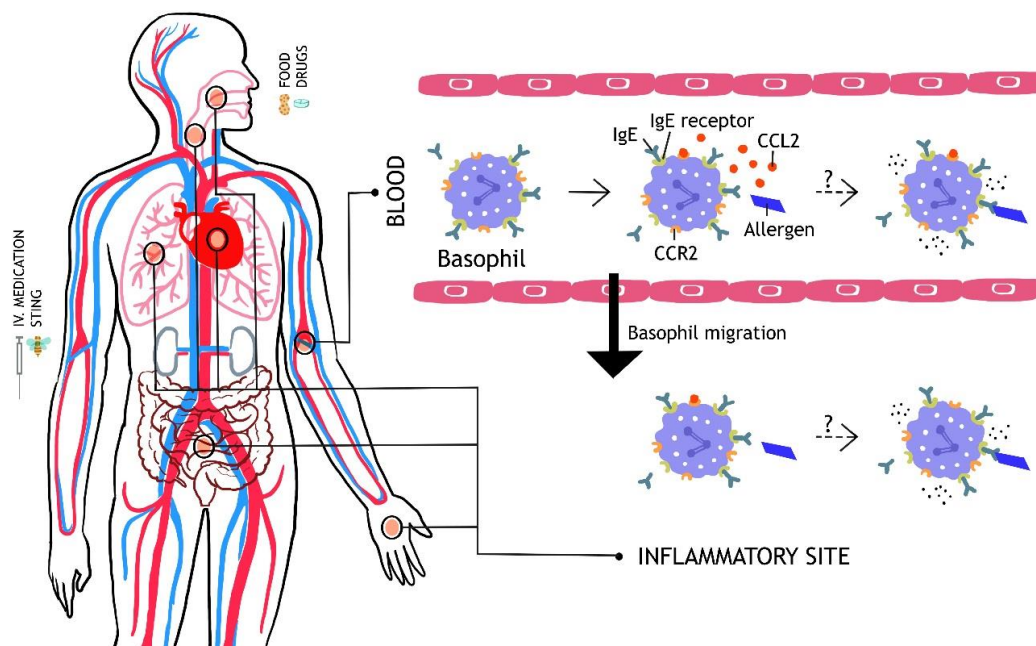
Peter Korošec. Laboratorij za klinično imunologijo in molekularno genetiko, Univerzitetna klinika za pljučne bolezni in alergijo Golnik peter.korosec@klinika-golnik.si

Anafilaksija je sistemska alergijska reakcija, ki se v primeru dihalne ali kardiovaskularne prizadetosti lahko konča s smrtjo. Simptomi se pojavijo le nekaj minut po stiku z alergenom (najpogosteje pik ose ali čebele, hrana ali zdravila). Aktivacija mastocitov preko protiteles IgE vezanih na receptor velike afinitete za IgE (FcεRI) na teh celicah, naj bi imela ključno vlogo pri anafilaksiji in merjenje serumske triptaze, ki jo ob aktivaciji izločajo mastociti, je poglavitni diagnostični test za potrditev anafilaktične reakcije. Vendar se pri bolnikih triptaza med reakcijo pogosto ne poviša (30%), kljub povišanju plazemskega histamina, zato imajo zelo verjetno pomembno vlogo tudi bazofilci (Slika 1)<sup>1,2</sup>. Še posebej nizka je senzitivnost merjenje serumske triptaze v primeru sistemskih reakcij za hrano in za določena zdravila (50%).

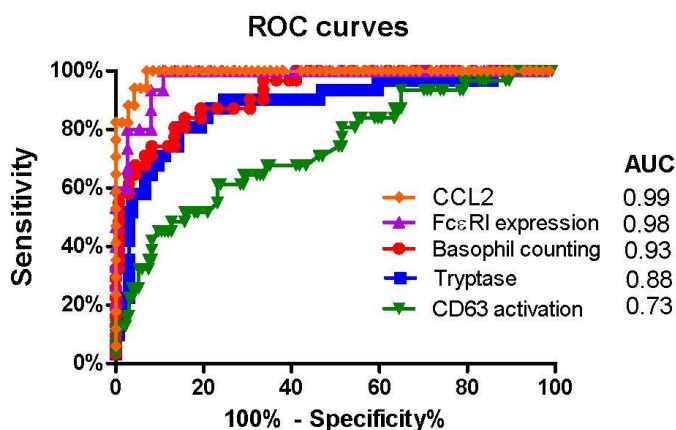
Bazofilci so krvni granulociti, ki predstavljajo <1% vseh belih krvničk. Za razliko od mastocitov, ki dozoriijo ob vstopu v tarčno tkivo (npr. kožo), bazofilci dozoriijo že v hemopoetskem okolju, nato pa vstopijo v krvni obtok, kjer imajo biološki razpolovni čas manj kot en teden. Če z alergenom lokalno provociramo različne organske sisteme (npr. kožo ali dihala), pride do migracije bazofilcev na mesto provokacije.

Tako mastociti kot bazofilci ob aktivaciji preko IgE in receptorja FcεRI izločajo histamin in določene primerljive, a ne popolnoma enake mediatorje vnetja (npr. triptazo izločajo samo mastociti). Obsežne študije na mišjih modelih so pokazale, da imajo bazofilci pri živalskih modelih ključno vlogo pri IgG, ne pa pri IgE posredovani anafilaksiji. Človeški bazofilci se ne morejo aktivirati preko IgG receptorja, v bistvu se njihova funkcija preko IgG in FcγRIIb receptorja celo inhibira, prav tako pa nimajo antigen predstavitvene funkcije oziroma proteaznih receptorjev, značilnih za mišje bazofilce. Še več, pri človeku ni nikakršnih dokazov o IgG posredovani anafilaksiji<sup>1</sup>. Zato se znanje iz mišjih, pa tudi drugih živalskih modelov, ne more prenesti na človeško anafilaksijo. Posledica tega je, da so mehanicistične študije o vlogi bazofilcev pri anafilaksiji zelo omejene. Lahko pa se izvajajo obsežne študije biomarkerjev, povezanih z bazofilci in anafilaksijo, kjer so bili izpostavljeni tudi PAF in PAF acetilhidrolaza<sup>3</sup> ter različni citokini<sup>4</sup>.

Pred kratkim smo ugotovili, da med anafilaksijo pride do transendotelne migracije bazofilcev, in da med anafilaksijo migrira približno 80% bazofilcev<sup>2</sup>. To migracijo, ugotovljeno s spremljanjem absolutnega števila bazofilcev v krvi, smo jasno potrdili z močno znižano gensko ekspresijo bazofilnih markerjev v celotni krvi, torej FcεRI receptorja, kaboksiptidazo A3 (CPA3) in L-histidin dekarboksilazo (HDC). Še več, preučili smo tudi vlogo poglavitnih kemotaktičnih faktorjev za bazofilce, to so CCR3 ligand CCL11 in CCL5 in CCR2 ligand CCL2. Ugotovili smo, da je za migracijo ključen le kemokin CCL2 (slika 1), ki se med anafilaksijo izrazito poviša<sup>2</sup>. CCL2 je tudi najbolj bazofilno specifičen, saj za razliko od CCL5 in CCL11 ne vpliva na migracijo eozinofilcev. Ko smo primerjali diagnostično vrednost teh biomarkerjev, smo ugotovili, da ima merjenje serumskega CCL2 in genske ekspresije FcεRI (ROC=0,99 in 0,98) najvišjo specifičnost in senzitivnost za potrditev anafilaksije. Zelo pomembna je bila tudi ugotovitev, da na vrednosti CCL2 ne vpliva terapija, ki se izvaja ob anafilaksiji. Sedaj se izvaja velika mednarodna multicentrična študija, kjer želimo ugotoviti klinično in laboratorijsko vrednost rutinskega merjenja CCL2 za diagnostiko anafilaksije. Preliminarni rezultati jasno kažejo tudi na povezavo med težo reakcije in nivojem povišanja CCL2. Velik potencial za napoved teže reakcije ima tudi na novo razvit test aktivacije mastocitov (MAT), ki smo ga pred kratkim razvili skupaj s partnerji iz Velike Britanije<sup>5</sup>.



Slika 1 Hipotetični model vloge bazofilcev pri anafilaksiji. Ključna je migracija bazofilcev iz periferne krvi v tarčna tkiva. Ta migracija je povezana s kemotaktičnim faktorjem za bazofilce CCL2. V tarčnih tkivih verjetno pride do aktivacije in degranulacije bazofilcev.



Slika 2. Primerjava različnih novih laboratorijskih testov za potrditev klinične diagnoze anafilaksije<sup>2</sup>. Najvišjo specifičnost in senzitivnost (ROC=0,99) ima merjenje serumskega bazofilnega biomarkerja kemokina CCL2.

#### LITERATURA

1. Korošec P, Gibbs BF, Rijavec M, Custovic A, Turner PJ. Important and specific role for basophils in acute allergic reactions. *Clin Exp Allergy*. 2018 Feb 12. doi: 10.1111/cea.13117. [Epub ahead of print] Review.
2. Korosec P, Turner PJ, Silar M, Kopac P, Kosnik M, Gibbs BF, Shamji MH, Custovic A, Rijavec M. Basophils, high-affinity IgE receptors, and CCL2 in human anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol*. 2017 Sep;140(3):750-758
3. Vadas P, Gold M, Perelman B, et al. Platelet-activating factor, PAF acetylhydrolase, and severe anaphylaxis. *N Engl J Med*. 2008;358(1):28-35.
4. Stone SF, Cotterell C, Isbister GK, Holdgate A, Brown SGA. Elevated serum cytokines during human anaphylaxis: Identification of potential mediators of acute allergic reactions. *J Allergy Clin Immunol*. 2009;124(4):786-92.
5. Bahri R, Custovic A, Korosec P, Tsoumani M, Barron M, Wu J, Sayers R, Weimann A, Ruiz-Garcia M, Patel N, Robb A, Shamji MH, Fontanella S, Silar M, Mills ENC, Simpson A, Turner PJ, Bulfone-Paus S. Mast cell activation test in the diagnosis of allergic disease and anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol*. 2018 Mar 5. doi: 10.1016/j.jaci.2018.01.043. [Epub ahead of print]

## RESULTS OF LATE PATCH TEST READINGS WITH DENTAL SCREENING MATERIALS IN 75 ADULT PATIENTS

Bizjak M., Zidarn M., Bajrovič N., Eržen R., Kopač P., Lalek N., Košnik M. University Clinic of Respiratory and Allergic Diseases Golnik, Slovenia

*Background:* Studies on dermatitis patients have shown that additional positive patch test reactions can be found after day 3.

*Objective:* To analyse the frequency of positive patch test reactions on day 7 in patients tested with our dental patch test screening series.

*Methods:* We retrospectively analysed medical records of 75 patients who were patch-tested with our dental screening series of 23 substances often used in dentistry (Table 1) between October 2016 and September 2017. The substances were purchased from AllergEAZE. Adverse reactions to dental materials were suspected based on subjective complaints such as burning and pain in the oral cavity and/or objective conditions of the oral mucosa such as stomatitis and lichenoid reactions. Square plastic chambers on hypoallergenic tape were used. Patch tests were prepared at our department and applied to the upper back. The strips were removed by the patient after 48 hours. Readings were performed 3 and 7 days after application (D3 and D7) by a dermatologist or clinical allergologists of our department. Results were evaluated according to the International Contact Dermatitis Research Group (ICDRG) guidelines. Positive patch test reactions fulfilled the criteria of at least a one plus (+) reaction on D3 and/or D7. The term »contact allergy« is usually used for such reactions. We prefer the term »contact sensitization«. Clinical relevance of positive reactions to dental materials was not systematically assessed in this analysis.

*Results:* Sixty-five (86.7%) of 75 tested patients were females. A total of 53 sensitizations were confirmed in 25 (33.3%) out of 75 tested patients. The substances identified are represented in the Table 1. The highest frequency of sensitization was found with nickel and balsam of Peru. All patients who reacted to palladium (n = 6) also had positive reactions to nickel which is probably due to cross-reactivity.

Fifteen (28.3%) out of 53 positive reactions (confirmed sensitizations) to substances in our dental series were demonstrated on D7 only and they were found in 12 (48%) out of 25 patients with positive reactions. The number of positive reactions on D7 only was the highest for nickel (n = 4) and balsam of Peru (n = 3), followed by the substances represented in the Table 2. Three patients had two concomitant positive reactions on D7 only (EGDMA and 2-HEMA, cobalt and nickel, nickel and balsam of Peru). Fourteen (93.3%) of these 15 reactions were negative and one (3.7%) was doubtful on D3. Eight (53.3%) of these 15 reactions were weak positive, 5 (33.3%) were strong positive and 2 (13.3%) were extreme positive.

In the present study there are statistically significant differences between patch test results on D3 vs D7 for nickel ( $p < 0.001$ ), balsam of Peru ( $p < 0.001$ ), palladium ( $p = 0.002$ ) and amalgam ( $p = 0.001$ ) based on Fisher's exact test with applied correction for multiple testing. However, there are no statistically significant differences between patch test results for EGDMA ( $p = 0.270$ ) and cobalt ( $p = 0.270$ ) on D3 vs D7. There were no such statistics computed for other test substances with positive reactions on D7 (listed in the table 1) because only negative reactions on D3 were seen.

*Conclusion:* We report a high frequency of positive reactions on D7 that were not seen on D3. This finding demonstrates the importance of an additional late patch test reading in patients with suspected contact allergy to dental materials.

Table 1: Proportions of positive reactions to a certain test substance on D3 and/or D7.

Test substance	Concentration [petrolatum (pet.), water (w.)]	Number of patients with positive reactions on D3 and/or D7
Nickel sulfate hexahydrate	5% pet.	11/75 (14.7%)
Balsam of Peru	25% pet.	11/75 (14.7%)
Palladium chloride	1% pet.	6/75 (8%)
Amalgam	5% pet.	5/75 (6.7%)
Carvone	5% pet.	3/75 (4%)
Methyl methacrylate (MMA)	2% pet.	2/75 (2.7%)
Ethyleneglycol dimethacrylate (EGDMA)	2% pet.	2/75 (2.7%)
Gold sodium thiosulfate (GSTS)	0,5% pet.	2/75 (2.7%)
Cobalt (II) chloride hexahydrate	1% pet.	2/75 (2.7%)
Ammonium heptamolybdate	1% w.	1/75 (1.3%)
2-hydroxypropyl-methacrylate (2-HPMA)	2% pet.	1/75 (1.3%)
Potassium dichromate	0.5% pet.	1/75 (1.3%)
Colophony	20% pet.	1/75 (1.3%)
Triethyleneglycol dimethacrylate (TEGDMA)	2% pet.	1/75 (1.3%)
2-hydroxyethyl methacrylate (2-HEMA)	2% pet.	1/75 (1.3%)
Tetrahydrofurfuryl methacrylate	2% pet.	1/75 (1.3%)
1,4-butandiol-dimethacrylate (BUDMA)	2% pet.	1/75 (1.3%)
Ammoniated mercury	1% pet.	1/75 (1.3%)
Eugenol	1% pet.	0
Bisphenol A-glycidyl methacrylate (bis- GMA)	2% pet.	0
Amalgam alloying metals	20% pet.	0
Copper sulfate pentahydrate	1% pet.	0
Bisphenol A epoxy resin	1% pet.	0

Table 2: Readings on D3 and D7 to 10 substances with 15 positive reactions on D7 only (reading criteria of the ICDRG).

Test substance	Number of positive reactions on D7 only	D3	D7
Nickel sulfate hexahydrate	4	0	+++
		0	++
		0	++
		0	+
Balsam of Peru	3	0	++
		0	++
		0	+
Ethyleneglycol dimethacrylate (EGDMA)	1	0	+
2-hydroxyethyl methacrylate (2-HEMA)	1	0	+
Ammoniated mercury	1	0	+
Palladium chloride	1	0	+
Amalgam	1	?+	+
2-hydroxypropyl-methacrylate (2-HPMA)	1	0	++
Cobalt (II) chloride hexahydrate	1	0	+++
Colophony	1	0	+

?+ doubtful reaction, + weak positive reaction, ++ strong positive reaction, +++ extreme positive reaction

## Epikutani testi pri diagnostiki preobčutljivosti za zdravila

Maja Jošt, Mihaela Zidarn, Mitja Košnik. Klinika za pljučne bolezni in alergijo Golnik

**Uvod.** Epikutani testi (ET) po več kot 100 letih od prve uporabe v diagnostiki zaradi svoje varnosti in učinkovitosti še vedno predstavljajo zlati standard v diagnostiki kontaktnega alergijskega dermatitisa. V zadnjih dveh desetletjih se je njihova uporaba razširila tudi na področje diagnostike kasnih preobčutljivostnih reakcij (PR) za zdravila s kožno manifestacijo. Njihova občutljivost je sicer zelo variabilna glede na posamezno ZU, kljub temu pa zaradi večje varnosti v primerjavi s sistemsko apliciranimi zdravili, ET predstavljajo pomemben začetni test v diagnostiki kasnih PR za zdravila.

**Ozadje uporabe ET.** Za kasne PR za zdravila se predvidevamo, da potekajo po imunskem mehanizmu, pri katerem pride do aktivacije T celic. Tudi osnova za uporabo ET v diagnostiki kasnih PR je aktivacija spominskih T celic, ki se nahajajo v koži. Pri ET zdravilno učinkovino (ZU), raztopljeno v nosilnem mediju, ki je najpogosteje vazelin, naneseemo na kožo. Zaradi okluzije, ki jo povzročimo z namestitvijo obliža na kožo, se odprejo pore v koži, preko katerih raztopljena učinkovina prodira v globlje plasti kože. V spodnjih plasteh kože je velika gostota dendritičnih celic, ki omogočajo predstavitev antigena zdravilne učinkovine spominskim T- celicam. Do sistemske absorpcije zdravilne učinkovine preko kože sicer lahko pride, vendar običajno v zanemarljivih količinah, zato so tudi sistemske reakcije po aplikaciji ET redke.

**Izvedba ET.** ET izvedemo tako, da pripravimo 10% razredčitev čiste ZU ali 30% razredčitev zdrobljenega komercialnega pripravka (npr. kapsule, tablete) najpogosteje v vazelinu, lahko pa tudi v vodi ali alkoholu. Morebitnih oblog ne odstranjujemo. Pripravek naneseemo na standardizirano komoro, ki jo namestimo z obližem na kožo hrbta, kjer ostane 48 ur. ET ne izvajamo ob povišanih temperaturah, saj bi znojenje lahko skrajšalo primerni kontaktni čas. Prav tako mora bolnik zaščititi testirano mesto pred tuširanjem. Test po 48 urah odčitamo, nato odčitek ponovimo po 72 urah, nekateri viri pa priporočajo tudi odčitek po tednu dni.

**Mesto ET v diagnostiki kasnih PR.** ET je smiselno izbrati, kadar z visoko verjetnostjo sumimo, da je ZU ali ena izmed zdravilnih učinkovin povzročila kasno PR s kožno manifestacijo. Če za bolnika obstaja druga, farmakološko enakovredna, strukturno različna alternativa, izvedemo ET z alternativno ZU. Možnost, da bolnika s to alternativno učinkovino senzibiliziramo z izvedenim ET, je zelo majhna. Če je ZU, ki naj bi povzročila kasno PR, za bolnika neobhodno potrebna in na voljo ni ustrezne alternative, izvedemo ET s to ZU. V primeru negativnega ET, moramo le te-ga potrditi s provokacijskim testom z isto učinkovino. V primeru pozitivnega testa, še zlasti ob veliki verjetnosti, da je ZU povzročila kasno PR oziroma je bil potek PR hujši, nadaljnjih testiranj s to učinkovino ne izvajamo.

Občutljivost ET se med posameznimi zdravilnimi učinkovinami precej razlikuje. Pri ZU (npr. karbamazepin) je občutljivost do 60%, medtem ko je pri drugih ZU (npr. klindamicin) občutljivost do 30%. Različne raziskave navajajo različno občutljivost, kar je predvsem posledica števila izvedenih ET in metodoloških razlik.

Priporočila pa so si dokaj enotna glede visoke specifičnosti ET.

**Lažno pozitivni ET.** Lažno pozitivni ET so predvsem posledica odčitavanja morebitnih iritativnih reakcij kot pozitivni rezultat. Temu se izognemo s standardizacijo ET, ki jih izvajamo z ustreznim vehiklom in v koncentracijah, ki ne povzročajo draženja. V raziskavi Brajon s sodelavci so za 89 pogosto testiranih ZU potrdili, da so ET s temi ZU neiritativni, v kolikor jih pripravljamo po zgoraj omenjenih priporočilih. V primeru ZU, za katero v literaturi ne najdemo podatkov o neiritativni koncentraciji, izključimo lažno pozitivne ET zaradi draženja tako, da ET s to ZU testiramo še na vsaj 10 prostovoljcih.

**Lažno negativni ET.** Do lažno negativnega ET pride lahko zaradi različnih dejavnikov, ki vplivajo na izvedbo testa. Tako lahko npr. prekratek časovni interval med prenehanjem jemanja sistemskih kortikosteroidov, imunosupresivnih zdravil in izvedbo ET, povzroči lažno negativni test. Lažno negativni ET je lahko tudi posledica neprimerne izvedbe samega testa (npr. znojenje), prenizke

koncentracije testirane ZU ter neprimerne izbire vehikla, iz katerega se ZU ne sprost v zadostni meri. Poleg tega testirana ZU lahko ne aktivira imunskega odziva lokalno, ker je za to odgovoren njen metabolit, ki se tvori šele po sistemski presnovi. ZU je lahko tudi enostavno prevelika, da bi prehajala kožno bariero.

Watson s sodelavci (2008) pri študiji negativne napovedne vrednosti ET ugotavlja, da pri približno 10% negativnih ET sledijo pozitivni provokacijski testi, iz česar sledi okrog 90% negativna napovedna vrednost ET. Avtorji, podobno kot ostale raziskave zaključujejo, da negativni ET zato ne izključijo kasne PR za zdravljenje in da mora negativnemu ET ob nizki do zmerni verjetnosti za PR slediti tudi provokacijsko testiranje.

V študiji Brajon s sodelavci so tudi ugotovili, da je, če ET pripravljamo po priporočilih, končna vsebnost ZU v pripravku zelo variabilna, in sicer od 0,05% do 27,08%, mediana pa 8,3%.

Podobno kot v zgoraj omenjenih raziskavah smo potrdili tudi z retrospektivno analizo ET v izbranem obdobju na Kliniki Golnik. Delež lažno negativnih testov je bil v naši raziskavi še večji (21,9%), predvsem zaradi manjšega števila izvedenih nadaljnjih provokacijskih testov. Tudi v naši raziskavi je bilo število testiranih učinkovin veliko (več kot 100), razpon končne vsebnosti ZU v pripravku pa prav tako velik, in sicer od 0,005% do 30,0%.

Pri ET, kjer je vsebnost ZU zelo majhna, obstaja večja verjetnost, da bo ET lažno negativen, še zlasti, če se ZU tudi slabše sprošča iz vehikla in je njena velikost molekule prevelika za prehod kožne bariere.

### **Zaključek**

ET so varni testi v diagnostiki kasnih PR za zdravljenja s kožno manifestacijo. Pred izvedbo testiranja je ključna ocena verjetnosti PR in iskanje možnih terapevtskih alternativ.

Za posamezne ZU najdemo v literaturi podatke o neiirirativnih koncentracijah. Zaradi slabe občutljivosti oziroma nizke napovedne vrednosti ET se moramo zavedati, da negativni ET ne izključuje preobčutljivosti in da moramo v teh primerih predvsem ob nizki do zmerni verjetnosti za PR izvesti še nadaljnje provokacijsko testiranje.

Kadar za učinkovino, ki jo želimo testirati z ET, nimamo na voljo podatkov o neiirirativni koncentraciji, moramo ta test validirati na priporočenem številu prostovoljcev oziroma se zavedati možnosti lažno pozitivnega rezultata.

Pri učinkovinah, ki jih pripravljamo po priporočilih iz komercialnih pripravkov, moramo natančno poznati končno vsebnost zdravilne učinkovine v ET. V primeru izjemno nizkih vsebnosti je verjetnost za lažno negativni test večja.

### **Literatura**

Brajon, D., Menetre, S., Watson, J., Poreaux, C., & Barbaud, A. (2014). Non-irritant concentrations and amounts of active ingredient in drug patch tests. *Contact Dermatitis*, 71(3), 170–175. <https://doi.org/10.1111/cod.12269>

Johansen, J. D., Aalto-Korte, K., Agner, T., Andersen, K. E., Bircher, A., Bruze, M., ... Uter, W. (2015). European Society of Contact Dermatitis guideline for diagnostic patch testing - Recommendations on best practice. *Contact Dermatitis*, 73(4), 195–221. <https://doi.org/10.1111/cod.12432>

Mirakian, R., Ewan, P. W., Durham, S. R., Youlten, L. J. F., Dugu??, P., Friedmann, P. S., ... Nasser, S. M. (2009). BSACI guidelines for the management of drug allergy. *Clinical and Experimental Allergy*, 39(1), 43–61. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2008.03155.x>

Watson, J., Tréchet, P., Loss-Ayav, C., Schmutz, J. L., & Barbaud, A. (2009). Negative predictive value of drug skin tests in investigating cutaneous adverse drug reactions. *British Journal of Dermatology*, 160(4), 786–794. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2008.08975.x>

Wolf, R., Orion, E., Ruocco, V., Baroni, A., & Ruocco, E. (2013). Patch testing: Facts and controversies. *Clinics in Dermatology*, 31(4), 479–486. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2013.01.015>

Prodanovič T., Ovrednotenje skladnosti med predtestno oceno vrste preobčutljivostne reakcije na zdravljenja in uporabo epikutanih testov na Univerzitetni kliniki za pljučne bolezni in alergijo Golnik. Magistrska naloga. 2017.

## RAZVOJ NAPREDNIH CELIČNIH TERAPIJ NA OSNOVI SPREMENJENIH LIMFOCITOV T

Uroš Rajčević. Zavod RS za transfuzijsko medicino, Ljubljana Šlajmerjeva 6, uros.rajcevic@ztm.si

### **Limfociti T, gensko spremenjeni s himernimi antigenskimi receptorji – CAR-T**

V zadnjih letih razvoj imunoterapij raka doživlja izjemen napredek. Rezultat tega napredka je najbolj očiten v registraciji prvih genskih, celičnih terapevtikov na osnovi limfocitov T spremenjenih s himernimi antigenskimi receptorji (CAR-T) v ZDA leta 2017, namenjenih zdravljenju B-limfocitnih levkemij in limfomov. Veliko število kliničnih poskusov v sklepnih fazah na različnih novotvorbah kaže, da se bo z začetkom trženja prvih terapevtikov te vrste, razvoj še stopnjeval in širil na različna področja terapije.

Himerni antigeni receptorji (CAR) so le ena od oblik sintetskih proteinov s katero se gensko spreminja avtologne ali alogenske limfocite T (ali druge imunske celice) z namenom, da se jih preusmeri proti specifičnemu antigenu na celicah proti katerim želimo usmeriti T-limfocitni odziv. Običajno so sestavljeni iz skrajšane oblike specifičnega protitelesa, transmembranske domene ter znotrajcelične domene, ki omogoča efektorske funkcije ter razmnoževanje celic CAR-T. Z vezavo protitelesa na specifični antigen ciljnih celic se sproži T-celični odziv, ki praviloma vodi v aplazijo ciljnih celic. V nasprotju s T-celičnimi receptorji (TCR) CAR-T prepoznajo specifični antigen neodvisno od HLA. Limfociti T, ki so gensko spremenjeni s CAR se v bolniku lahko tudi množijo. Začetki razvoja himernih antigenskih receptorjev segajo v osemdeseta leta prejšnjega stoletja. Klinično uporabnost pa je tehnologija dosegla pred približno desetimi leti, na Univerzi v Pensilvaniji v ZDA, ko je znanje o sintetski biologiji, genski terapiji, imunologiji in imunoterapiji doseglo ustrezno raven. Prvi terapevtiki CAR-T usmerjeni proti antigenu CD19, namenjeni zdravljenju B-celičnih levkemij in limfomov, služijo kot model za razvoj drugih terapij na osnovi gensko spremenjenih limfocitov T, ki so uporabne za različne oblike novotvorb vključno s čvrstimi tumorji.

### **Načrtovanje CAR-T in njihove oblike**

Molekulski konstrukti CAR so sestavljeni iz ključnih komponent, ki so v fizioloških pogojih del (1) imunoglobulinskih genov (npr. težka in lahka veriga protitelesa ( $V_H$  in  $V_L$ ), ki tvorita antigen-vezavno domeno enoverižnega fragmenta specifičnega protitelesa (scFv)), (2) kompleksa TCR-CD3 (npr. veriga  $\zeta$  koreceptorja CD3) in (3) enega ali več kostimulatornih receptorjev (npr. CD28). Na ta način CAR umetno združujejo učinke humoralne in celične imunosti. T.i. CAR-T prve generacije so vključevali zgolj scFv in CD3 $\zeta$ . Najbolj preučevane CAR-T, ki so tudi podlaga za prve terapevtike registrirane pri FDA so CAR-T 'druge generacije'. Te, poleg scFv in CD3 $\zeta$  vključujejo še kostimulatorne domene, bodisi CD28 ali 4-1BB, ki omogočajo boljšo efektorsko funkcijo, metabolizem ter vztrajnost celic v organizmu bolnika. Moderni pristopi v sintetski biologiji nam omogočajo oblikovanje molekulskega konstrukta CAR 'po meri'. Ti pristopi dodatno zmanjšujejo omejitve preteklih generacij CAR-T in jih pomembno izboljšujejo. Omogočajo ciljanje večih antigenov hkrati (različna protitelesa, bispecifična protitelesa, itd.), izboljšane efektorske funkcije (izražanje ko-stimulatornih ligandov, citokinov, sekrecijskih scFv, itd.), ki jih želimo doseči v limfocitu T. Varnost spremenjenih celic in njihovo sistemsko toksičnost lahko izboljšujemo s pogojno izraženimi CAR, ki omogočajo titrabilno, reverzibilno ali časovno uravnavano izražanje CAR.

### **Genski inženiring in proizvodnja CAR-T**

Molekulski konstrukti CAR je lahko v celico vnesen z vektorji, ki se naključno vključijo v genom gostitelja: Lentivirusni (LV), gamaretrovirusni (gRV), DNA transpozoni in drugi. Virusni vektorji omogočajo biološko vključevanje konstrukta v genom in so pri tem izredno učinkoviti. Naključna integracija pa predstavlja, posebno pri virusnih vektorjih, varnostno težavo saj imajo lahko afiniteto do vključevanja v določene onkogene ali promotorske regije genoma. S tem predstavlja tak genski prenos potencialno nevarnost za onkogenezo ali pa (de)aktivacijo delovanja določenih genov, kar pa se v praksi, pri več sto kliničnih primerih uporabe celic CAR-T še ni zgodilo (1). Obenem virusni vektorji s seboj nosijo tudi zapise za človeku tuje proteine, ki pri prenosu preidejo v človeški genom. Bistveno manj varnostnih zadržkov predstavlja t.i. ciljni genski prenos, kjer lahko molekularni



konstrukt vnesemo na natančno določeno mesto v genomu. Sem med drugim sodijo: meganukleaze, nukleaze cinkovih prstov, TALEN ali CRISPR/Cas9. Če je ciljni genski prenos posredovan še z metodo elektroporacije, so varnostni zadržki, ki so posledica genskega prenosa, minimalni. Genski inženiring, selekcija, ekspanzija in diferenciacija gensko spremenjenih limfocitov T se morajo vključiti v proizvodne procese, ki ustrezajo biološkim in regulatornim zahtevam. Proizvodnja terapevtskih limfocitov T je zapleten proces, ki združuje optimalne biološke pogoje proizvodnje z učinkovitostjo, varnostjo, ponovljivostjo, sledljivostjo ter regulatornimi in ekonomskimi zahtevami. Proizvodnja terapevtskih limfocitov T je regulirana s standardi dobre proizvodne prakse (cGMP) in zahteva objekte in proizvodne procese, ki ustrezajo smernicam regulatornih organov (npr. EMA, FDA). Da bi zmanjšali odvisnost od stroškovno zahtevnih postopkov cGMP ter omejili ročne postopke, kjer lahko prihaja tudi do napak, se razvijajo zaprti sistemi, ki združujejo naprave za selekcijo celic, mikročipe in bioreaktorje povezane z biosenzorji, ki omogočajo nadzor proizvodnje *in situ*.

### Terapija s CAR-T, varnost in učinkovitost

Bolniki s ponovljenimi in refraktornimi malignimi boleznimi imajo slabo prognozo. Imunoterapija s celicami CAR-T preusmeri bolnikove imunske celice proti tumorskemu antigenu. Terapija s celicami CAR-T se je izkazala kot učinkovito pri zdravljenju bolnikov s številnimi hematološkimi malignostmi, vključno z akutno limfoblastično levkemijo in B-celičnimi limfomi. Terapija z aCD19CAR-T, služi kot model za razvoj, proizvodnjo in terapijo s CAR-T usmerjenimi proti drugim antigenom.

Možnost terapije s CAR-T se preučuje tudi pri bolnikih s čvrstimi tumorji (2).

Varnost je pri terapiji s CAR-T pomembna zaradi potenciala za resne neželene stranske učinke, vključno s smrtjo. Med najpogostejšimi in najnevarnejšimi komplikacijami so: sindrom lize tumorja, sindrom aktivacije makrofagov (dvig feritina) ter sindrom izločanja citokinov. Med nepojasnjenimi posledicami je tudi pojav možganskih edemov. Zaradi smrti povezanih s stranskimi učinki, so bila vodilna podjetja že prisiljena začasno ali trajno ustaviti klinične študije. Trenutno je v teku prva študija s sistemskim pregledom in meta-analizo učinkovitosti in varnosti terapije s CAR-T pri bolnikih s hematološkimi in čvrstimi malignostmi (3).

V obdobju po registraciji prvih terapevtikov CAR-T se veliko aktivnosti odvija v smeri izboljšanja CAR-T, ki vključujejo tudi: izključevanje gena TET2, uporaba transfekcije limfocitov T z RNA CAR, popravljanje terapevtskih CAR-T s tehnologijo CRISPR/Cas9, izključevanje genov za TCR in PD1, uporaba varnostnih stikal idr.

Preglednica 1: Raven kliničnega odziva na celično terapijo z aCD19CAR-T

Bolezen	CAR	Vektor	n	T limfociti	Kondicioniranje*	CR %
<b>ALL odrasli</b>	CD28	gRV	16	avtologni	CY	88
<b>ALL pediatrični</b>	4-1BB	LV	25	avtologni	CF	90
<b>ALL pediatrični</b>	CD28	gRV	21	avtologni	CY	68
<b>ALL odrasli</b>	CD28	gRV	53	avtologni	CY	83
<b>ALL pediatrični</b>	4-1BB	LV	2	alogenski	Post-T	100
<b>NHL in CLL</b>	CD28	gRV	15	avtologni	CF	53
<b>B mešani</b>	CD28	gRV	20	alogenski	Post-T	30
<b>NHL</b>	4-1BB	LV	32	avtologni 1:1 CD <sup>4+</sup> /CD <sup>8+</sup>	CY ali CF	79

\*Kondicioniranje/kemodeplecija: CY-ciklofosamid, CF-ciklofosamid, fludarabin, Post-T – intenzivno kondicioniranje (1)

### Razvoj naprednih celičnih terapij na osnovi spremenjenih limfocitov T v Sloveniji

Na ZTM RS vzpostavljamo bioproces, s ciljem GMP ustrezne proizvodnje naprednih celičnih terapevtikov na osnovi gensko spremenjenih limfocitov T v Sloveniji. Na ta način želimo tudi

izboljšati dostopnost naprednih terapij bolnikom v Sloveniji. V sodelovanju z domačimi (KI in UKC LJ) in mednarodnimi partnerji razvijamo originalne molekulske konstrukte za himerne antigenske receptorje ter jih s pomočjo metod varne transgeneze (npr. elektrogenski prenos transpozonskih vektorjev CAR, elektrogenski prenos plazmidov CAR in Cas9 insercija, idr) uvajamo v limfocite T. Originalni molekulske konstrukti sodijo v tretjo generacijo CAR, limfociti T pa imajo poleg CAR vgrajeno tudi originalno molekulske varnostno stikalo, ki omogoča varno delovanje in uporabo CAR-T. Trenutno največji zalogaj pri razvoju predstavlja translacijski prepad med zgodnjimi fazami razvoja celičnega terapevtika in prenosom v farmacevtsko proizvodnjo, za kar so potrebni obsežni finančni vložki. V translacijski fazi razvoja se delovanje tako pripravljenih terapevtikov preverja v pogojih dobre laboratorijske prakse (GLP) *in vitro* in *in vivo* ter proizvaja v pogojih trenutne dobre proizvodne prakse (cGMP).

### **Literatura**

- 1 Sadelain M in sod., 2017, Nature
- 2 Razpotnik R in sod., 2017, Frontiers in immunology
- 3 Grigor EJM in sod, 2018, BMJ

## **NOVA MERILNA POSTAJA ZA PELODE V LENDAVI IN PROBLEM AMBROZIJE**

Anton Lopert<sup>1</sup>, Andreja Kofol Seliger<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Eupnea, ambulanta za pljučne bolezni in alergijo, Murska Sobota

<sup>2</sup> NLZOH Ljubljana

Vzorčenje peloda v Sloveniji poteka od leta 1996. Na merilnih postajah v Ljubljani, Mariboru in Izoli merijo koncentracijo peloda skozi vso sezono cvetenja, v Čatežu pa le v sezoni ambrozije. Predvsem zaradi številnih alergijskih bolnikov s preobčutljivostjo za ambrozijo v Pomurju je bila v začetku leta 2017 postavljena nova merilna postaja v Lendavi. V prispevku predstavlja razloge zanjo in rezultate prve sezone meritev.

### **Preobčutljivost za pelod ambrozije pri alergijskih bolnikih**

V pulmološki in alergološki ambulanti EUPNEA v Murski Soboti v petih letih odkrijemo povprečno 314 novih bolnikov z alergijskim rinitisom z območja celotnega Pomurja. Od teh 238 z alergijskim rinitisom zaradi peloda, med njimi pa kar 172 s preobčutljivostjo za pelod ambrozije, kar je 72% vseh novoodkritih alergijskih rinitisov zaradi pelodov.

### **Preobčutljivost za ambrozijo v Prekmurju pri mlajši populaciji brez simptomov**

V obdobju od januarja 2013 do oktobra 2017 smo alergološko testirali 375 mladih ljudi v sklopu pregleda pred zaposlitvijo, 215 moških in 160 žensk, ki niso opisovali simptomov alergijske bolezni. Povprečna starost je bila 27 let, enaka pri obeh spolih. Ugotovili smo 108 pozitivnih izvidov alergološkega testiranja (29% vseh testiranih, od tega 78 (72%) preobčutljivih za pelode in 30 (28%) za druge alergene (pršica, mačji epitel, alternaria). 42 jih je bilo preobčutljivih za ambrozijo (11% vseh testiranih in 54% vseh preobčutljivih za pelode). Glede na kraj stalnega bivališča je znašala senzibilizacija za ambrozijo na območju Lendave 13% (26/215), na območju Murske Sobote 16% (14/78), drugo (Hrvaška, Ormož, Maribor) 10%. Od pozitivnih za pelode pa je bilo v UE Lendava 57%, v UE Murska Sobota pa 54% testiranih pozitivnih za ambrozijo.

S pobudo za novo merilno postajo v Lendavi smo začeli v juniju 2016. Sklep o Sporazumu o poslovnem sodelovanju med NLZOH in Občino Lendava o postavitvi merilne postaje in monitoringu cvetnega prahu v Lendavi je bil sprejet 8.11.2016, podpisan pa 29.11.2016. Merilna postaja je bil postavljena v začetku leta 2017, z vzorčenjem peloda smo pričeli 12. januarja 2017. Lokalni mediji so dogajanje okrog nove merilne postaje ves čas pozorno spremljali in o njej poročali.

### **Poročilo za leto 2017 o obremenjenosti zraka s cvetnim prahom za Lendavo**

Poročilo sta pripravili Andreja Kofol Seliger in Anja Simčič (1). Letni indeks cvetnega prahu (LI) je v Lendavi znašal 65.508 zrn, kar je za 30 % več kot v Mariboru in za 44 % več kot v Ljubljani.

V letu 2017 je bil na vseh merilnih mestih v Sloveniji najbolj obremenjen mesec marec. V Lendavi so bile obremenitve visoke tudi aprila, zaradi večjih količin hrasta, oreha in vrb. Obremenitev v juliju je presegala ostale merilne postaje zaradi velikih količin cvetnega prahu kopriv, v avgustu na račun ambrozije in kopriv in v septembru zaradi ambrozije. Po količini izstopajo ambrozija (18,2 % LI), koprive (19,1% LI) in iglavci (10,0 % LI), pomemben delež imajo še trave (5,9 % LI), breza (4,7 % LI) in brezi sorodni rodovi (leska, jelša, bukev, hrast, gaber, pravi kostanj; 16,5 % LI).

### **Dinamika pojavljanja cvetnega prahu preko leta**

Cvetni prah se v zraku pojavlja v štirih časovnih valovih (2). Prvi val se je začel 20. februarja s pojavom zrn cvetnega prahu leske in jelše (6,7 % LI). V februarju in marcu je bil v zraku tudi cvetni prah cipresovk in tisovk (4,8 % LI).

Drugi val je nastopil v marcu in aprilu s pojavom cvetnega prahu breze in brezi sorodnih dreves ter jesena. To obdobje zaznamuje visoka obremenitev zraka, velika pestrost vrst cvetnega prahu in glavni del pomladanske polinoze. Sezona pojavljanja cvetnega prahu breze se je začela 22. marca in zaključila 25. aprila, skupaj je trajala 34 dni.

V tretjem valu je najpomembnejši alergeni cvetni prah trav, sezona se je začela 13. aprila in zaključila v septembru, delež je znašal 5,9 % LI. Dnevne obremenitve so se konec junija znižale, do izteka sezone ni bilo bistvenega porasta.

#### Četrty val: sezona ambrozije in pelina

Obremenitve zraka s svetnim prahom pelina so bile nizke. Delež je znašal 0,4 % LI. Glavna sezona cvetnega prahu ambrozije se je začela 29. julija in je trajala do 2. oktobra, skupaj 65 dni. Poleg dolge sezone v Lendavi zabeležili tudi največji letni indeks v Sloveniji 11.954 zrn, v Mariboru je bilo cvetnega prahu ambrozije 10-krat manj, v Ljubljani pa smo v celi sezoni našli le 512 zrn. Na podlagi letnega indeksa lahko Lendavo uvrstimo med visoko obremenjena področja z ambrozijo v Evropi. Lendava leži na obrobju Panonske nižine, ki je obsežen vir cvetnega prahu v zraku. Za močno zaraščena območja je značilno, da so alergiki daljše obdobje izpostavljeni visokim dnevnim obremenitvam, kar se je potrdilo tudi za merilno postajo v Lendavi. Pri večini oseb, preobčutljivih za cvetni prah ambrozije, vrednost 20 zrn/m<sup>3</sup> zraka izzove simptome bolezni. V Lendavi smo zabeležili 49 takih dni, vse dni v avgustu in v prvi polovici septembra, v Mariboru je bilo 18 dni, v Ljubljani le 5 (Preglednica 1).

Preglednica 1. Število dni z obremenitvijo z ambrozijo nad 20 zrn/m<sup>3</sup> zraka, julij-september 2017

	julij	avgust	september	skupaj
LENDAVA	2	31	16	49
MARIBOR	0	13	5	18
LJUBLJANA	0	5	0	5

#### Dnevni hod ambrozije

Metoda dela omogoča vpogled v dnevno dinamiko sproščanja cvetnega prahu, izmerjene so dvourne obremenitve (3). Na merilni postaji Lendava se je količina cvetnega prahu ambrozije običajno začela povečevati po 6. uri zjutraj, najvišje obremenitve so bile dosežene v dopoldanskem času, nato je obremenitev postopoma padala. Tovrstna dnevna porazdelitev kaže na bližino vira cvetnega prahu. V posebnih meteoroloških pogojih lahko cvetni prah potuje tudi na večje razdalje, takrat zaznamo večje obremenitve v večernih in nočnih urah. V Lendavi smo tak dogodek zaznali le 30. avgusta 2017, ko je bila izmerjena največja dnevna obremenitev 1.285 zrn/m<sup>3</sup> zraka. Ta dan so povišane obremenitve vztrajale tudi ponoči, kar nakazuje, da so vetrovi prinesli cvetni prah tudi iz bolj oddaljenih virov.

#### Zaključki

Koncentracije peloda ambrozije so v Lendavi bistveno višje kot v ostalih delih Slovenije, tudi v primerjavi z Brežiško kotlino. Meritve koncentracije cvetnega prahu ambrozije preko dneva potrjujejo bližnji - lokalni vir cvetnega prahu.

Načrtujemo boljše informiranje in spodbujanje alergijskih bolnikov, preobčutljivih za pelode, k uporabi spletnega dnevnika simptomov alergijske bolezni (<https://www.pollendiary.com>) (4,5). S tem bomo dobili dejanske podatke o indeksu simptomov, ki jih bomo lahko primerjali s podatki o gibanju količine pelodov v regiji. Podatki o prvih zrnih peloda v zraku z nove merilne postaje bodo bolnike s sezonskim alergijskim rinitisom pravočasno opomnili na začetek zdravljenja z nazalnimi glukokortikoidi.

Rezultati prve sezone meritev cvetnega prahu dokazujejo upravičenost postavitve merilne postaje v Lendavi kot četrte po vrsti med slovenskimi postajami, ki merijo koncentracijo peloda skozi vso sezono cvetenja.

#### Reference:

1. Andreja Kofol Seliger, Anja Simčič: Letno poročilo o obremenjenosti zraka s cvetnim prahom za merilno postajo Lendava. NLZOH, 2017.
2. Bastl K., Berger U. 2015. Pollen und Allergie: Pollenallergie erkennen und lindern. UEMANZ Verlag Wien.
3. NLZOH, Zbirka dvournih koncentracij cvetnega prahu, 2017.
4. Bastl K, Kmenta M, Jaeger S et al. Development of a symptom load index: enabling temporal and regional pollen season comparisons and pointing out the need for personalized pollen information. *Aerobiologia* (2014) 30:269–280.
5. Bastl K, Kmenta M, Geller-Bernstein C et al. Can we improve pollen season definitions by using the symptom load index in addition to pollen counts? *Environmental Pollution* 204 (2015): 109-116.

## ANAFILAKSIJA V ŠOLAH IN DOSTOPNOST SAMOINJEKTORJEV ADRENALINA: DO KJE SMO PRIŠLI?

Tina Vesel Tajnšek. Služba za alergologijo, revmatologijo in klinično imunologijo, Univerzitetna pediatrična klinika Ljubljana

### Uvod

Anafilaksija je potencialno življenjsko nevarna alergijska reakcija, nevarna zaradi dihalne stiske in/ali prizadetosti srčno-žilnega sistema (1). Incidenca anafilaksije pri otrocih se ocenjuje na 0,19 do 50 na 100000 otrok letno ter v zadnjih letih narašča, predvsem na račun alergije na hrano. Hrana (arašidi, mleko, jajca, drevesni oreščki, pšenica, raki, ribe in soja), piki kožekrilcev (ose, sršeni in čebele) ter zdravila (betalaktamski antibiotiki, mišični relaksanti, nesteroidni antirevmatiki– NSAR) so najpogostejši vzroki anafilaksije pri otrocih. Sprejemi zaradi anafilaksije so v zadnjih 20 letih 4-krat narasli, pojavnost zaradi hrane povzročene anafilaksije pa se je v zadnjih desetih letih podvojila (2-4).

Adrenalin je temeljno zdravilo v zdravljenju anafilaksije in otroci z anafilaksijo (po hrani, kožekrilcih in drugimi) imajo pri sebi samoinjektor adrenalina kot zdravilo samopomoči (5-7). V Sloveniji smo na podlagi analize predpisovanja samoinjektorjev adrenalina zgolj na Univerzitetni pediatrični kliniki v Ljubljani ocenili leta 2013, da je vsaj 260 otrok ogroženih zaradi anafilaksije (najpogosteje zaradi zaužite hrane in pika kožekrilcev), naslednje leto pa smo potrdili, da je teh otrok še več (cca 25%), saj so podatke prispevali tudi pediatri drugod po Sloveniji. V zadnjih letih predpišemo samoinjektorje adrenalina na novo od 80 do 120 otrokom. Na podlagi teh podatkov smo tudi ocenili, da se v povprečju v Sloveniji vsake tri do štiri dni enemu otroku dogodi anafilaksija (4). Iz istih pa tudi drugih raziskav se da dodatno razbrati, da je anafilaksija premalo intenzivno prepoznana in premalo intenzivno zdravljena, tako pri otrocih, kot tudi pri odraslih (2-5).

Ocenjeno je tudi, da ima dve tretjini šol po Evropi vsaj enega otroka, pri katerem se lahko zgodi anafilaksija. Prav v šoli je nastopila anafilaksija med 10% in 18% otrok z anafilaksijo. Vrtci in šole, pa tudi starši in otroci so večinoma pomanjkljivo pripravljene za skrb nad alergijsko boleznijo otroka. V šolo niti ne pride informacija o alergijah, kar otroka pušča izpostavljenega tveganju, ki bi se mu dalo izogniti. Načrti za ukrepanje niso vključeni v šolske aktivnosti, posebej ne med izleti ali kolonijami. Urgentna zdravila velikokrat niso dostopna in učitelji so slabo izobraženi kako prepoznati ali ukrepati ob alergijski reakciji pri otroku. Alergeni na hrano so lahko prisotni pri skoraj vseh situacijah v šoli npr. pri pouku, znanstvenih projektih, med obroki, med odmori in pri praznovanjih. Raziskave tudi pokažejo, da se znanja o alergijskih boleznih pri otroku po izobraževanju zaposlenih v šolah in vrtcih pomembno dvignejo in da je potrebno taka izobraževanja ponavljati (8-15).

Podporo izvajanja preventivnih ukrepov v zvezi z alergijo na hrano po vrtcih in šolah in ureditev večje dostopnosti samoinjektorjev adrenalina v vzgojno izobraževalnih ustanovah smo v zadnjih mesecih obravnavali na več sestankih v Službi za alergologijo, revmatologijo in klinično imunologijo, na Nacionalnem inštitutu za javno zdravje -NIJZ (z Ireno Veninšek-Perpar, dr.med.), s pravniki (Sonja Štramec Nemeč) in na strokovnem srečanju Združenja za pediatrijo 2.2. 2018, kjer so bili prisotni tudi predstavniki Ministrstva za zdravje ter Ministrstva za izobraževanje, znanost in šport. Ob tem smo ponudili pisna dokumenta 1. «Predpis medicinsko predpisane diete za otroka v vrtcu ali v šoli» in 2. »Predlog klinične poti za dostopnost samoinjektorjev adrenalina po vrtcih, šolah in fakultetah« kjer smo izhajali iz predhodnih tekstov kot so »Priporočila za ukrepanje v osnovnih šolah ob nujnih stanjih in nenadno nastalih bolezenskih znakih« (ki so dostopna na spletni strani NIJZ <http://www.nijz.si/sl/publikacije/priporocila-za-ukrepanje-v-osnovnih-solah-ob-nujnih-stanjih-in-nenadno-nastalih>), »Strategija za varnost otrok z alergijskimi boleznimi v organiziranem varstvu 2016-2020« in teksta Otrok z anafilaksijo v vrtcu ali v šoli (oba slednja dostopna na <http://www.imuno.si/si/alergijske-bolezni/anafilaksija.html>) ter modelov iz tujine (16-19). Strokovne in organizacijske vsebine smo usklajevali tudi s “Sekcijo za primarno pediatrijo” in z “Delovno skupino pediatrov alergologov”. V nadaljevanju prispevka navajamo povzetka obeh.

## 1. Povzetek teksta “Predpisa medicinsko predpisane diete za otroka v vrtcu ali v šoli”

### 1.1. Splošni vidiki

V Sloveniji je trenutno raznolika praksa sprejetja in uresničitve naročila za medicinsko predpisano dieto (MPD) v vrtcih in šolah. Predvsem v vrtcih, kjer je na razpolago diplomirani živilski tehnolog, otrokom večkrat uspejo zagotoviti MPD. Nekatere šole uspejo otrokom zagotoviti zahtevnejša naročila za MPD (npr. ob alergiji na več prehranskih alergenov), druge šole pa ne uspejo zagotoviti naročil za »enostavnejše« MPD (npr. ob alergiji na eno živilo). V zadnjem času zaznavamo problem povečanega števila otrok z različnimi dietami, ki niso medicinsko utemeljene. Starši teh otrok pogosto zahtevajo uveljavitev neustreznih diet tudi v vrtcu oz. šoli. Slednje predstavlja veliko in nepotrebno breme za vrtce/šole in ima lahko tudi škodljive učinke za otroke (20-22).

Vrtci/šole niso dolžni zagotavljati ne-medicinsko utemeljenih diet, kot so npr. diete na podlagi priporočil alternativnih zdravilcev (bioresonanca, homeopatija...), določanja specifičnih IgG, verskih in drugih osebnih prepričanj staršev (vegetarijanska, veganska dieta...) ter diet kot npr. »dieta brez konzervansov« in podobno. Vsaka medicinsko predpisana dieta mora biti opredeljena v skladu s katalogom diet, kot ga opredeljujeta Pediatrična klinika v Ljubljani ali Klinični oddelek za pediatrijo UKC Maribor.

Medicinsko predpisano dieto za otroka predpiše pediater specialist, usmerjen v področje, npr.:

- alergija na hrano – pediater alergolog
- celiakija, glutenska intoleranca – pediater gastroenterolog
- dieta pri metabolnih motnjah – pediater endokrinolog

Pri enostavnih stanjih (npr. laktozna intoleranca, alergijski proktokolitis) lahko dieto predpiše tudi izbrani zdravnik (specialist pediater ali specialist šolske medicine).

Potrdilo o medicinsko predpisani dieti za otroka (poenoten obrazec za potrebe vzgojno-izobraževalnih zavodov) izda specialist pediater z dodatnim znanjem iz ustreznega področja ali izbrani zdravnik (priporočamo specialist pediater ali specialist šolske medicine) na podlagi izvida pediatra specialista, usmerjenega v področje, če je to potrebno. Izbrani zdravnik na podlagi anamneze in klinične slike izda začasno potrdilo o dieti, ki velja največ 6 mesecev oz. do pregleda pri specialistu pediatru z dodatnimi znanji iz ustreznega področja.

Potrdilo o medicinsko predpisani dieti za otroka se izda staršu ali skrbniku, ki ga predloži vrtcu/šoli ob ugotovljeni bolezni in vsakokratni spremembi ali prenehanju diete.

Potrdilo lahko velja:

1. trajno (npr. pri boleznih kot je celiakija) – potrdila ni potrebno obnavljati
2. začasno (npr. pri alergiji na mleko ali jajce) – potrdilo je potrebno obnavljati vsaj enkrat letno
3. do pregleda pri specialistu z dodatnimi znanji iz ustreznega področja – potrdilo velja 6 mesecev

Pisna navodila za medicinsko predpisano dieto pripravljajo klinični dietetiki in specialisti pediatri, usmerjeni v področje (npr. alergologi, gastroenterologi, endokrinologi,...). Izdajo jih ob obravnavi otroka otrokovim staršem. Redno posodobljena pisna navodila za dieto so na voljo tudi v obstoječih medicinskih računalniških sistemih zdravstvenih ustanov. Navodila za najbolj pogoste diete pri otrocih so na voljo na spletnem portalu »Šolski lonec« (<http://solskilonec.si>), ki jih prav tako redno posodablja.

Če otrok potrebuje multidisciplinarno obravnavo specialistov pediatrov usmerjenih v različna področja ter kliničnih dietetikov, le-ti med seboj sodelujejo. Specialist pediater z dodatnimi znanji predpiše dieto, vezano na njegovo področje (npr. alergija – alergolog, celiakija – gastroenterolog), izbrani zdravnik pa nato izda potrdilo o dieti na enotnem obrazcu. Navodila za dieto otroka z alergijo na hrano poda pediater z dodatnimi znanji iz alergologije – trenutno so to člani Delovne skupine pediatrov alergologov.

Strokovni sodelavci (organizatorji prehrane) in kuharsko osebje v vrtcih in šolah potrebujejo ustrezna znanja za varno pripravo diet. Zaželeno je, da so organizatorji prehrane diplomirani živilski tehnologi. Klinični dietetiki in specialisti pediatri, ki sodelujejo pri vzpostavljanju diete otroka in izdaji potrdila, se trudijo povezovati z organizatorji prehrane ter kuharji po vrtcih in šolah. Pri strokovnem svetovanju ter usposabljanju organizatorjev prehrane in kuharjev v vrtcih in šolah sodeluje NIJZ.

Zaposleni v vrtcu in šoli, ki skrbijo za otroke z medicinsko predpisano dieto se dodatno usposablajo iz vsebin varnega izvajanja diet. Usposabljanje vključuje teoretične in praktične vidike.

V okviru strokovnega spremljanja vrtcev in šol NIJZ pridobiva tudi informacije o izvajanju medicinsko predpisanih diet.

## Priloga 1. Potrdilo o medicinsko predpisani dieti za otroka

### POTRDILO O MEDICINSKO PREDPISANI DIETI ZA OTROKA

Datum izdaje potrdila: \_\_\_\_\_

Zdravstveni zavod/enota, ki izdaja potrdilo: \_\_\_\_\_

### IZBRANI ZDRAVNIK/SPECIALIST PEDIATER USMERJEN V PODROČJE:

\_\_\_\_\_

IME IN PRIIMEK OTROKA: \_\_\_\_\_

rojen/a: \_\_\_\_\_

NAVEDBA DIETE (obkrožiti iz kataloga diet): \_\_\_\_\_

TRAJANJE DIETE (obkrožiti): \_\_\_\_\_

#### TRAJNA

*ZAČASNA (potrdilo je potrebno obnavljati vsaj enkrat letno)*

*DO PREGLEDA PRI SPECIALISTU PEDIATRU, USMERJENEMU V PODROČJE (potrdilo velja največ 6 mesecev)*

IZDANA PISNA NAVODILA ZA IZVAJANJE DIETE s strani zdravnika ali kliničnega dietetika:

DA

NE

\_\_\_\_\_  
(podpis izbranega zdravnika)

*Izpolnijo starši:*

#### KONTAKTNI PODATKI STARŠEV:

Ime in priimek mame: \_\_\_\_\_

telefon/email: \_\_\_\_\_

Ime in priimek očeta: \_\_\_\_\_

telefon/email: \_\_\_\_\_

#### KONTAKTNI PODATKI KLINIČNEGA DIETETIKA (če so starši bili v obravnavi):

Ime in priimek: \_\_\_\_\_

Zaposlen/a v: \_\_\_\_\_

telefon/email: \_\_\_\_\_

#### KONTAKTNI PODATKI SPECIALISTA PEDIATRA, USMERJENEGA V PODROČJE, KI JE PREDPISAL DIETO:

Ime in priimek: \_\_\_\_\_

Zaposlen/a v: \_\_\_\_\_

telefon/email: \_\_\_\_\_

#### KATALOG PREHRANE/DIET

1. DIETA PRI LAKTOZNI INTOLERANCI
2. HIPOHISTAMINSKA PRI KOPRIVNICI (novo - prej urtika III dieta)
3. ALERGIJSKA BREZ MLEKA
4. ALERGIJSKA BREZ JAJC
5. ALERGIJSKA BREZ PŠENICE
6. ALERGIJSKA BREZ ARAŠIDOV, ALERGIJSKA BREZ DREVESNIH OREŠČKOV
7. ALERGIJSKA INDIVIDUALNA \_\_\_\_\_
8. SLADKORNA DIETA (zdravljenje klasično s peni)
9. SLADKORNA DIETA – ŠTETJE OH (zdravljenje z inzulinsko črpalko ali FIT terapija)
10. REDUKCIJSKA DIETA \_\_\_\_\_ kcal/dan (opredeljena omejitev energij)
11. DIETA PRI CELIAKIJ – BREZGLUTENSKA
12. BALASTNA DIETA (pri obstipacijah)
12. DIETA PRI INTOLERANCI NA FRUKTOZO
13. DIETA PRI CISTIČNI FIBROZI
14. DIETA PRI MOTNJAH PRESNOVE \_\_\_\_\_
15. LEDVIČNA DIETA 1: do 400mg P/dan (stopnja omejitve fosfata)
16. LEDVIČNA DIETA 2: do 600mg P/dan (stopnja omejitve fosfata)



17. LEDVIČNA DIETA 3: do 800mg P/dan (stopnja omejitve fosfata)

## 1.2. Poudarki iz pediatrične alergologije

Približno 5% otrok ima alergijo za hrano (5). V Sloveniji so v letu 2008 poročali iz vrtcev in šol (osnovnih in srednjih), da v 80% skrbijo za vsaj 1 do 5% otrok z alergijo na hrano (v 20% vrtcev in 10% osnovnih šol tudi za več- 5 do 15% otrok (23). Osnova zdravljenja alergije na hrano je izključitev za otroka alergene živila oziroma živil. Dieta se predpiše na podlagi klinične slike in opravljenih preiskav, kot so kožni vbodni testi (KVT), specifični IgE (sIgE) in provokacijski testi s hrano, po predpisanih protokolih. Spodbuja se izvajanje provokacijskih testov kot zanesljiv standard za odločitev o dieti. Če so pri otroku zaznane nizko pozitivne vrednosti KVT ali sIgE in se dvomi v klinično pomembnost rezultata, se ga napoti v regionalno bolnišnico na provokacijski test s hrano. Ko se pomisli na uvajanje diete na podlagi najpogostejših možnih alergenov in klinične slike svetujemo 1. postopnost (npr. ob klinični sliki atopijskega dermatitisa pri dojenčku se npr. upošteva tudi anamnezo staršev in se poskusi najprej morda le z dieto brez kravjega mleka in se ne svetuje naenkrat dieto brez več alergenov) in 2. izvedbo dodatnih možnih ukrepov 2. (npr. ob klinični sliki atopijskega dermatitisa je potrebno izvesti optimalno zdravljenje kože po priporočilih). Vzorec alergij na hrano pri otroku se lahko s časom spreminja- npr. pri večini otrok izzveni alergija na kravje mleko ali na jajce. (5, 24-28).

Obseg izključitve živila se lahko razlikuje od otroka do otroka in je odvisno predvsem od vrste alergije na hrano in od beljakovinske sestave alergena. Otroci nagnjeni k anafilaksiji ali urtikariji po zaužitju hrane se morajo popolnoma izogibati alergenu živilu, tudi majhnim količinam, npr. sledovom. Možno pa je, da nekateri otroci (npr. z blažjimi prebavnimi težavami ali blažjim atopijskim dermatitisom) tolerirajo majhne količine alergena (npr. dobro termično obdelano jajce ali mleko v biskvitu ali v piškotu, čeprav reagirajo na druge oblike teh živil npr. na surovo jajce ali pasterizirano mleko). Odločitev, če se dovoli manjše količine alergena otroku, naj bo individualna in v dogovoru z alergologom. Na nivo izločitve živila vpliva tudi značilnosti beljakovin hrane - tako se je pri alergiji na drevesne oreščke ali arašide potrebno izogibati drevesnim oreščkom oziroma arašidom v vseh oblikah (npr. surovim, praženim, pečenim,...), nekateri otroci alergični na jajce pa lahko uživajo manjše količine dobro prekuhanega jajca. V vrtcih in šolah zaradi lažje izvedljivosti diete brez alergena priporočamo, da se otrokom nudi dieta brez alergena, dokler je potrebna. Če otrok tolerira majhno količino termično obdelanega alergena, naj prejme to živilo v domačem okolju (24-28).

Ne priporočamo vzpostavitve diete pri otroku in mladostniku znotraj ponujenih širših, obstoječih diet npr. otrok z alergijo na jajce naj ne prejme diete brez več alergenov ampak zgolj dieto brez jajc. Manjše izjeme tega priporočile so lahko občasna nudenja priboljškov za otroke (npr. ko se otroku z alergijo na jajce npr. ponudi pecivo brez jajc in mlekom brez laktoze in podobno).

Otroci so lahko alergični tudi na hrano, ki ni zajeta v seznamu diet- v tem primeru dodatna navodila za dieto dodajo alergologi in klinični dietetiki (nekateri primeri so npr. alergija na druga žita, krompir, določeno meso, določeno sadje ali določeno zelenjavo).

»Hipohistaminska dieta« je sicer v praksi prevečkrat uporabljena in je v večini primerov nepotrebna. Odsvetujemo široko uporabo »Hipohistaminske diete« pri otrocih z drugimi opredeljenimi alergijami, saj lahko pripomore k osiromašeni prehrani otroka.

V vrtcih in šolah se po priporočilih že svetuje in uresničuje ponudba zdrave prehrane, ki vsebuje čim manj dodatnih snovi. Prehrana z odsotnostjo aditivov, konzervansov in barvil je težko uresničljiva. Dejanske alergije na barvila, konzervanse in aditive so v praksi težko dokazljive in so zelo redke. Možna je npr. opredelitev alergije na barvilo karmin rdeče (29). Dodatne opombe na potrdilih za prehrano otroka, da na bo npr. brez aditivov, konzervansov in barvil običajno niso ne uresničljive, ne potrebne.

Otroci z alergijo na hrano oziroma njihovi skrbniki potrebujejo praktične nasvete (za npr. primerne malice, torte) za v vrtec, šole, za praznovanja in podobno. Otroka z alergijo na hrano potrebno naučiti tudi to, da si ne izmenjuje hrane z ostalimi otroci. Splošne nasvete za preventivne ukrepe pri skrbi nad otrokom z alergijo na hrano pokažemo tudi v Prilogi 2.

### **Priloga 2. Priporočeni preventivni ukrepi pri otroku z alergijo na hrano**

- Steklenice oz. bidoni, posoda za prehrano, prehrana za otroka z alergijo na hrano naj bodo jasno označeni, da so namenjeni temu otroku.
- Če se hrana kupi pri ponudniku hrane ali v šolski restavraciji za otroka z alergijo na hrano, je potrebno preveriti primernost hrane, tudi po pogovoru z vodjo kuhinje. Od ponudnika hrane je potrebno zahtevati, da so vsaki spremembi sestavin ali živil o tem obvesti vodjo prehrane.
- Zaposleni v vrtcu/šoli morajo biti izobraženi, kako se prebira deklaracije in o ukrepih o preprečevanju navzkrižne kontaminacije med rokovanjem s hrano. Npr. najprej se pripravi hrano za otroka z alergijo na hrano, skrbi se za čiščenje površin in pripomočkov v kuhinji s toplo vodo in milom.
- Ne sme se dati hrane otrokom alergičnim na hrano, brez dovoljenja staršev (npr. na šolskih dejavnostih, praznovanjih, dogodkih) ter hrane, ki nima jasno označenih sestavin.
- Otroci naj si ne izmenjujejo oz. delijo hrane, enako velja za pripomočke pri hranjenju.
- Neoznačena hrana predstavlja večje tveganje za prisotnost alergena kot pakirana.
- Potrebno je pretehtati uporabo hrane in oceniti tveganje pri pouku gospodinjstva, ustvarjanju (npr. uporaba plastelina pri alergiji na pšenico), znanstvenih poskusih, kulturnih dogodkih glede na otrokove alergije na hrano (natančneje tudi v Prilogi 2)
- Pri načrtovanju šolskih aktivnosti izven vrtca/šole, npr. na izletih, taborih, je potrebno poskrbeti za preventivne ukrepe, varno prehrano tudi za otroke z alergijami na hrano.

Pri načrtovanju aktivnosti otroka z alergijo na hrano v vrtcu ali v šoli pomislimo na možnost stika z alergenom ne le ob hranjenju ampak tudi v okviru likovne vzgoje, gospodinjstva, izvajanju eksperimentov, ob naravoslovnih dnevih, ... Nekateri otroci lahko odreažirajo z dotikom ali vdihavanjem manjše količine alergena z alergijsko reakcijo, npr. s poslabšanjem atopijskega dermatitisa, koprivnico, poslabšanjem astme ali celo z anafilaksijo. Tovrstne reakcije na prehranski alergen so sicer redkejše kot npr. po zaužitju alergena in večina otrok s prehransko alergijo nima tovrstnih težav. Nasvete za vrtce in šole za preventivne ukrepe v zvezi s tem pokažemo v Prilogi 3.

### **Priloga 3. Možni stiki s prehranskimi alergeni ne le pri hranjenju ampak pri drugih aktivnosti v vrtcih in šolah.**

- Pred ustvarjanjem preverite označbe alergenov na barvah, lepilih, modeliranih masah, npr. na plastelinah je označeno, če vsebujejo moko. Večina materialov za ustvarjanje vendarle ne vsebuje prehranskih alergenov.
- Če ustvarja v skupini otrok s prehransko alergijo, naj otroci ustvarjajo s »čistimi« materialami, ne npr. s prehranskimi embalažami (kot so npr. oprane embalaže mleka, prazne škatlami Muslijev, piškotov in podobno).
- Poiščite barve, ki se dajo lepo oprati z rok. Nekatere prstne barve lahko vsebujejo pšenico, mleko, koruzo ali oves, doma pripravljene tempere tudi jajce ali mleko.
- Če želite uporabiti npr. makarone za ustvarjanje, lahko nadomestite običajne, ki vsebujejo pšenico in jajce npr. s koruznimi ali riževimi.
- Nagrade za otroka ali skupino otrok lahko nadomestite namesto npr. s sladkarijami, ki lahko vsebujejo alergene z npr. bolj zdravo in manj pogosto alergeno zdravo hrano (jabolka, ...) ali pa z listi pobarvank, nalepkami, svinčniki, radirkami, milnimi mehurčki, znamkami, zabavnimi papirnatimi izdelki (npr. očal, mask...), s učenjem pesmic in podobno.
- Pri peki ali kuhanju z otrokom bodite pozorni na recepture in sestavine, ki ste jih predvideli oziroma kupili za peko.
- Pri glasbenih dejavnostih naj se otroci ne izmenjujejo glasbila z istim ustnikom, da ne pride do prenosa alergena preko sline oz. pihanja v instrument.
- Če boste sadili oziroma urejevali vrt z otrokom, pomislite na možnost stika s semenjem stročnic, žit in gnojil oziroma zemlje, kjer le lahko soja, jajca, lupine oreščkov in podobno.
- Če otrok alergičen na hrano pomaga skrbeti za žival ali obišče živali drugod, preverite sestavo prehrane za žival. Otrok lahko pride v kontakt s hrano živali npr. če žival polize otroka ali če se sam dotika živalske hrane. Prehrana živali lahko vsebuje kravje mleko, pšenico (npr. hrana za ribe), arašide in drevesne oreščke (npr. hrana za ptice), sojo, sezam (npr. hrana za ptice, živino), jajca in ribe (oboje

je npr. v mačjih briketih, ribe pa so lahko hranjene tudi z mesom rib), rake (hrana za ribe). Arašidovo maslo je lahko tudi znotraj pasjih igračk za žvečenje. Veliko hrane za ptice vsebuje poleg semen, arašidov, oreščkov, tudi pšenico in mleko.

Po umivanju rok v vrtcih, šolah oz. po ustvarjanju drugod raje uporabljajte papirnate brisače, ne pa skupnih iz blaga, ker se s tem zmanjša možnost prenosa alergenov.

Opomnik glede na posamezne alergene:

Nekateri otroci alergični na jajce utegnejo imeti reakcijo npr. ob barvanju jajc, dotikanju jajčne lupine, dotikanju embalaž, v katerih so bila jajca pa so npr. počila. Nekateri materiali za ustvarjanje, npr. jajčne barve, tempere, lahko vsebujejo jajca. Rešitve npr. so: pridobitev npr. jajčnih embalaž, ki so nerabljene, uporaba umetnih materialov (jajca iz stiroporja, plastike).

Pri otrocih alergičnih na kravje mleko bodite pozorni na kozmetiko za nego telesa in preverite, da ne vsebuje mleka. Mleko oz. kazein se kot vezivo lahko uporabi tudi pri izdelavi temper. Zaznana je bila tudi prisotnost kazeina v nekaterih lateksnih rokavicah (kazein so uporabili kot stabilizator lateksa).

Če otrok močno alergičen na pšenico ustvarja, preverite, da plastelini ne vsebujejo le te, možna je vsebnost pšenice tudi v lepilih. Pšenica je lahko tudi del sredstev za odganjanje žuželk, npr. pripomočki za odganjanje komarjev, ki se aplicirajo v vtičnico in razpršijo vsebino pripravka po prostoru.

Arašidi so lahko prisotni v pasteh za mravlje in miši, pa tudi v hrani za živali in igračkah za živali. Če ustvarja otrok alergičen na arašide naj ne ustvarja z njimi ali z lupinami arašidov. Arašidi ali lupine arašidov so lahko tudi del otroških igračk, npr. kot polnjenje. Arašidove lupine se nahajajo npr. v bio razgradljivem WC za mačke/pse, pa tudi v zemlji za rože (kot gnojilo). Praženje arašidov in drevesnih oreščkov ob eksperimentu v šoli je bilo preko vdihavanja zraka že vzrok anafilaksije pri otroku.

Drevesni oreščki so tudi lahko del kozmetike, sestavina hrane za živali, pa tudi v npr. v vrečah ki služijo npr. kot vreče za obtežitev, boksanje.

Tudi soja je lahko del kozmetike, npr. mil, pa tudi preparatih vitaminov oz. rastlinskih nadomestil. Soja je redko lahko prisotna v materialih za ustvarjanje kot so npr. barve, svinčniki, črnilo, pa tudi v svečah in hrani za živali.

Sezam je lahko del hrane za živali (ptice, živina), fungicidov, insekticidov, pa tudi kozmetike (preparati za nego las, parfumi, mila, kreme za sončenje) in obližev.

Ribe so lahko prisotne tudi v kozmetiki (mazila oz šminke za ustnice), živalski hrani (tudi za ribe) in gnojilih.

Zahvala: pri izdelavi teksta iz Priloge 3 so sodelovale tudi: Jasna Volfand, Sonja Štramec Nemeč, Tina Klajder, Vesna Glavnik

V vrtcu ali šoli se spodbuja pogovor o mestu oz. pomembnosti diete tako med zaposlenimi, med vrstniki otroka in na roditeljskih sestankih zaradi 1. večje uspešnosti zagotavljanja diete in 2. preprečitve zapostavljanja otroka z dieto. Otroci z alergijami na hrano so lahko deležni različnih vrst zapostavljanja s strani vrstnikov (izključitve iz druženja, neprijetnih poimenovanj, groženj npr. s stikom z alergeno hrano, ...) (30). Zapostavljanje otroka poskuša vrtec/šola preprečevati oziroma opazovati. O otrocih diete se vodi pogovor tudi v okviru učnih ur (npr. ob zdravstveni vzgoji in podobno). Razlago o dieti otrokom lahko pripravijo 1. medicinske sestre, pediatri ali diplomirani živilski tehnologji, ki so pooblaščen za šolo, 2. zaposleni v šoli, ki so se udeležili dodatnih izobraževanj o dieti 3. otroci z dieto ali 4. starši otroka z dieto. Primeri možnega gradiva za pomoč k pogovoru o temi alergije na hrano za starejše otroke in za odrasle so na spletni strani <http://www.imuno.si/si/alerijske-bolezni/anafilaksija.html>, za mlajše otroke pa je primeren pogovor npr. ob starosti primerni knjigi o alergijah in dodatnih ustvarjalnih delavnicah in igrah (v nastajanju je temu namenjeno dodatno gradivo).

## **2. Povzetek »Predloga klinične poti za dostopnost samoinjektorjev adrenalina po vrtcih, šolah in fakultetah«.**

Otroku, ki je že doživel anafilaksijo ali ima povečano tveganje za nastanek anafilaksije, je potrebno posvetiti dodatno pozornost tudi v vrtcih in šolah (5, 8, 19).

Povzetek načrta za ukrepanje ob anafilaksiji v vrtcih ali šolah je:

1. Čim prej pokličite na številko 112 za nujno medicinsko pomoč.
2. Otroka namestite v ležeč položaj z dvignjenimi nogami. Če otrok bruha, ga namestite na bok v ležečem položaju. Če otrok težko diha, ga namestite v polsedec položaj.
3. Otroku aplicirajte adrenalin s pomočjo samoinjektorja adrenalina.
4. Pokličite otrokove starše

Otrok, nagnjen k anafilaksiji, naj ima pri sebi samoinjektor adrenalina kot zdravilo samopomoči. Samoinjektor adrenalina mora biti ob otroku, nagnjenemu k anafilaksiji tudi v vrtcu oziroma v šoli. Samoinjektor adrenalina mora otroka prejeti takoj ob pojavu anafilaksije, še pred prihodom zdravniške ekipe. Večji otrok ali mladostnik si morda lahko aplicira samoinjektor adrenalina tudi sam, če to zna, in če mu zdravstveno stanje ob anafilaksiji to dopušča, najpogosteje pa mora samoinjektor adrenalina aplicirati odrasla oseba, ki je ob otroku, in sicer čim hitreje po začetku anafilaksije, še pred prihodom ekipe zdravniške pomoči. Takoj, ko ugotovimo, da gre pri otroku za anafilaksijo, samoinjektor apliciramo v mišico zunanje zgornje stani stegna. Adrenalin zveča upor žilja in krvni tlak, izboljša prekrvavitev in krčljivost srca, zviša srčno frekvenco, širi dihalne poti in preprečuje sproščanje histamina. Adrenalin apliciramo vedno, kadar so prisotni simptomi in znaki prizadetosti dihal ali srčno-žilnega sistema, in sicer: hripavost, lajajoč kašelj, težko požiranje, težko dihanje, piskanje, pomodrelost, prenehanje dihanja, nizek krvni pritisk, izguba zavesti ali odpoved srca (5, 6, 8, 19).

Kako otroku apliciramo samoinjektor adrenalina (Epipen)?

1. Samoinjektor adrenalina najprej odstranite iz prozornega plastičnega ovitka, ki ga ščiti.
2. Nato odstranite modro zapiralo (ta predstavlja varovalo, da se samoinjektor adrenalina sicer ne sproži) in samoinjektor adrenalina trdno primate v svojo dlan.
3. Otrok mora ležati ali sedeti (če težko diha)! Nato zamahnite s samoinjektorjem adrenalina v mišice zunanjega zgornjega dela stegna otroka. Ob uspešni aplikaciji boste tudi slišali zvok sprožitve. Samoinjektor adrenalina je treba 10 sekund trdno tiščati ob mišico.
4. Nato samoinjektor adrenalina odmaknite in pomasirajte predel aplikacije na stegnu.

Opozarjamo, da se ne dotikajte oranžnega dela samoinjektorja adrenalina, pod katerim se skriva igla. Po uspešni aplikaciji se bo pokazal oranžni del in prekril iglo, zato da Vas zaščiti pred vbodom. Po prihodu zdravniške pomoči pokažite, kakšen samoinjektor adrenalina ste otroku aplicirali. Če anafilaksija še traja, čez 5 do 10 minut v drugo stegno na enak način aplicirajte drug samoinjektor adrenalina. Po aplikaciji adrenalina boste lahko pri otroku opazili pričakovane, prehodne in za otroka nenevarne stranske učinke, kot so npr. tresenje mišic, hitrejše bitje srca, glavobol in bledico. Če se slučajno pri aplikaciji zbodete v prst in si aplicirate adrenalin, bo prst postal bled in hladnejši. V tem primeru svetujemo, da prst masirate in ga segrevate v topli vodi, kar običajno zadošča, da težave preidejo, svetujemo pa tudi pregled pri zdravniku.

Nekateri otroci imajo pri sebi tudi set zdravil za samopomoč, ki vsebuje tableto antihistaminika in glukokortikoida. Vendar opozarjamo, da se mora ob simptomih in znakih prizadetosti dihal ali srčno-žilnega sistema otroku najprej aplicirati adrenalin! Otrok zaužije vsebino seta le ob prvih znakih blažje alergijske reakcije. Marsikateri otrok ob anafilaksiji ne bo niti sposoben zaužiti tablet, saj bo zaradi anafilaksije oteženo požiral, bruhal ali ne bo pri zavesti.

Vsakega otroka z anafilaksijo je treba sprejeti v bolnišnico in opazovati, pa čeprav je prejel adrenalin, ali se zdi, da nima več znakov anafilaksije. Možni so namreč ponovni zagoni anafilaksije v naslednjih urah.

Priporočamo izobraževanje o prepoznavi in ukrepanju ob anafilaksiji zaposlenih v vrtcu/na šoli, ki so v neposrednem stiku z otroci, v čim večjem številu in tudi tam, kjer trenutno ni otrok z znano nagnjenostjo k anafilaksiji. Izobraževanja naj potekajo po utečenem modelu regionalno s strani pediatrov in medicinskih sester z dodatnimi znanji iz pediatrične alergologije, v referenčnih ambulantah zdravstvenih domov, s strani Nacionalnega inštituta za javno zdravje (NIJZ) in Rdečega križa Slovenije (12-15).

Smiselna je dodatno vzpostavitev širše dostopnosti samoinjektorjev adrenalina npr. v vrtcih, šolah in fakultetah zaradi možnosti pojava anafilaksije na novo ali ko otrok z anafilaksijo nima pri sebi samoinjektorja adrenalina in si ni sam sposoben pomagati (19).

*V nadaljevanju je naveden teoretičen predlog izvedbe vzpostavitve širše dostopnosti samoinjektorjev adrenalina po vrtcih in šolah v Sloveniji, obravnavan že s strani pediatrov alergologov in NIJZ, ki pa ga bo potrebno obravnavati tudi na pristojnih ministrstvih pred praktično izvedbo:*

*Vrtec/šola lahko omogoči širšo dostopnost samoinjektorjev adrenalina po predhodnem izobraževanju zaposlenih o prepoznavi in ukrepanju ob anafilaksiji. Vrtec/šola lahko nato na varnem mestu hrani samoinjektorje adrenalina, predpisane za potrebe vrtca/šole ter eno ali več oseb pooblasti za njihovo hranjenje in uporabo. Osebe, ki so odgovorne za hranjenje in uporabo samoinjektorjev adrenalina v vrtcu/šoli, morajo uspešno opraviti program izobraževanja prepoznave in ukrepanja ob anafilaksiji.*

*Samoinjektor adrenalina, predpisan za vrtec/šolo, je možno aplicirati otrokom, kjer je pridobljeno predhodno pisno soglasje staršev za aplikacijo adrenalina s samoinjektorjem. V primeru anafilaksije lahko zaposleni v vrtcu/šoli, usposobljen za ukrepanje ob anafilaksiji, uporabi samoinjektor adrenalina, predpisan za potrebe vrtca/šole. Usposobljenost za ukrepanje ob anafilaksiji je treba zagotoviti tudi na izletih oziroma letovanjih, ki jih organizira vrtec/šola.*

*Predpis samoinjektorjev adrenalina za šolo ali vrtec predvidoma opravi pooblaščen zdravnik šole, glede predpisa samoinjektorjev izobraženi zdravnik NIJZ ali regionalni pediater z dodatnimi znanji s področja alergologije. Ob predpisu samoinjektorja adrenalina vrtcu/šoli/fakulteti je potrebno obnoviti znanja o uporabi samoinjektorja adrenalina- pri tem je lahko v pomoč gradivo na spletni strani Društva za pomoč otrokom z imunskimi boleznimi [www.imuno.si/si/alergijske-bolezni/anafilaksija.htm](http://www.imuno.si/si/alergijske-bolezni/anafilaksija.htm) in na spletnih straneh NIJZ objavljena Priporočila za ukrepanje v osnovnih šolah ob nujnih stanjih in nenadno nastalih bolezenskih znakih (opomba: slednja bodo v kratkem dostopna na spletni strani NIJZ). Na samoinjektorjih adrenalina ali v njihovi bližini mora biti jasno označeno, kateri samoinjektor adrenalina je primeren za otroke z različno težo. Otrokom, s težo med 10 in 25 kg, se ob anafilaksiji aplicira 150 mcg adrenalina, otrokom, težjim od 25 kg, pa 300 mcg adrenalina. Če se za dostopnost samoinjektorjev adrenalina odločijo v osnovni šoli, se šoli predpišeta dva samoinjektorja adrenalina: en po 150 mcg in en po 300 mcg. Če želi šola hraniti več odmerkov adrenalina (npr. za potrebe dostopnosti tudi na izletih), se lahko predpišeta dodatna samoinjektorja adrenalina. Samoinjektor adrenalina moramo hraniti na vidnem in stalnem mestu v bližini otroka z možnostjo anafilaksije (jedilnica/zbornica/telovadnica) in ne npr. v garderobnih omaricah, kjer je dostopen vsem. Medicinske sestre in zdravniki, ki so zadolženi za oskrbo šole s samoinjektorji adrenalina, vodijo evidenco predpisanih samoinjektorjev adrenalina za regijo in podatke posredujejo na NIJZ. Vrtci/šole poročajo v primeru uporabe samoinjektorjev adrenalina NIJZ.*

## Literatura:

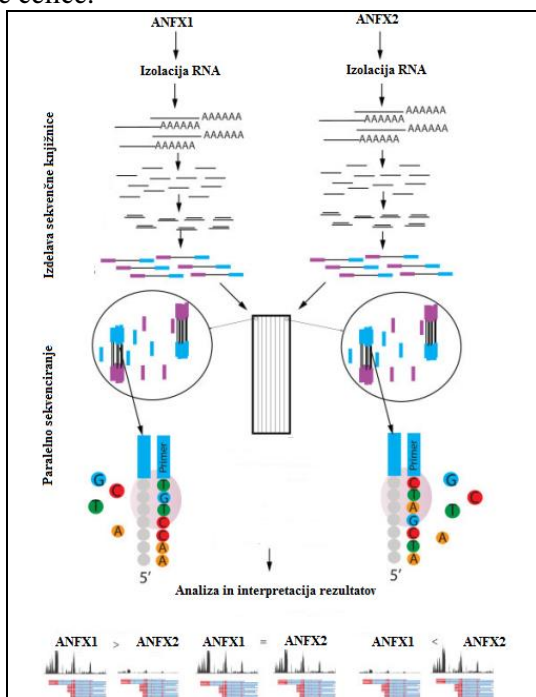
1. Johansson SGO, Bieber T, Dahl R, Friedmann PS, Lanier B, Lockey R, et al. A revised nomenclature for allergy for global use: Report of the Nomenclature Review Committee of World Allergy Organization. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113: 832–6.
2. Bohlke K, Davis RL, De Stefano F, Mary SM, Braun MM, Thompson RS. Epidemiology of anaphylaxis among children and adolescents enrolled in a health maintenance organization. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113: 536–42.
3. Braganza SC, Acworth JP, Mckinnon DR, Peake JE, Brown AF. Paediatric emergency department anaphylaxis: different patterns from adults. *Arch Dis Child* 2006; 91: 159–63.
4. Vesel T, Delovna skupina pediatrov alergologov, Košnik M. Adrenalin v zdravljenju anafilaksije. Srečanje timov družinskih zdravnikov 2015. Zbornik.
5. Muraro A, Roberts G, Worm M, Bilò MB, et al. EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines Group Anaphylaxis: guidelines from the European Academy of Allergy and Clinical Immunology. *Allergy*. 2014 Aug;69(8):1026-45.
6. Vesel T, Koren Jevrica A, Emeršič N, Accetto M, Bizjak R, Obermayer Temlin A, et al. Smernice za obravnavo otroka in mladostnika z anafilaksijo. *Zdrav Vestn* 2014; 83: 425-35.
7. Košnik M. Dogovor o obravnavi anafilaksije, Golnik: Alergološka in imunološka sekcija SZD, 2015.
8. Muraro A, Clark A, Beyer K, et al. The management of the allergic child at school: EAACI/GA2LEN Task Force on the allergic child at school. *Allergy* 2010; 65: 681–9.
9. McIntyre CL, Sheetz AH, Carroll CR, Young MC. Administration of epinephrine for life threatening allergic reactions in school settings. *Pediatrics* 2005;116:1134–40.
10. Bansal PJ, Marsh R, Patel B, Tobin MC. Management of anaphylaxis in child care centers: evaluation 6 and 12 months after an intervention program *Ann Allergy Asthma Immunol* 2006; 97(6):813-5.
11. Patel BM, Bansal PJ, Tobin MC. Recognition, evaluation, and treatment of anaphylaxis in the child care setting. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2005; 94(1):55-9.
12. Posega Devetak S, Devetak I, Vesel T. Pre-service teachers' opinion and knowledge on management of an allergic child. *Abstarct. EAACI* 2016.
13. Posega Devetak S, Devetak I, Vesel T. Evaluation of the Anaphylaxis Post-graduate Teacher Intervention programme. *Abstarct. EAACI* 2017.
14. Vesel T, Nahtigal M. Evaluation of courses adopted to children on prevention, recognition and management of anaphylaxis. *Abstract. PAAM* 2015.
15. Kržišnik Šoster E, Deisinger L, Vesel T. Teachers' opinion and knowledge on management of an allergic child. *Abstarct. FAAM* 2014.
16. ZAKONODAJA KANADA: Sabrina's Law, 2005 S.o. 2005, chapter 7
17. ZAKONODAJA ZDA: Amending the act of March 10, 1949 (P.L.30, No.14), entitled "An act relating to the public school system, including certain provisions applicable as well to private and parochial schools; amending, revising, consolidating and changing the laws relating thereto," in school health services, providing for school access to emergency epinephrine.
18. Priporočila Velika Britanija, 2014: Supporting pupils at school with medical conditions Statutory guidance for governing bodies of maintained schools and proprietors of academies in England
19. Priporočila Velika Britanija 2017: Guidance on the use of adrenaline auto-injectors in schools, dostopno na <https://www.gov.uk/government/publications/using-emergency-adrenaline-auto-injectors-in-schools>
20. Kershaw R. Nutritional consequences of avoidance and practical approaches to nutritional management. In *Food Hypersensitivity: Diagnosing and Managing Food Allergies and Intolerance*. I Skypala and C Venter, editors. Oxford: Blackwell Publishing Ltd, 2009. pp. 243–64.
21. Erkkola M, Saloheimo T, Hauta-Alus H, et al. Burden of allergy diets in Finnish day care reduced by change in practices. *Allergy* 2016;71(10):1453-60.
22. Sicherer SH, Noone SA & Munoz-Furlong A. The impact of childhood food allergy on quality of life. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2001; 87, 461–4.
23. Glavnik V et al. Slovenski projekt- anafilaksija. Varnost otrok z alergijo v vrtcih in šolah, 2008.
24. Flinterman AE, Knulst A, Meijer Y et al. Acute allergic reactions in children with AEDS after prolonged cow's milk elimination diets. *Allergy* 2006; 61: 370–4.
25. Nowak-Węgrzyn A, Bloom KA, Sicherer SH et al. Tolerance to extensively heated milk in children with cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 122: 342–7.
26. Venter C. Classification and prevalence of food hypersensitivity. In *Food Hypersensitivity: Diagnosing and Managing Food Allergies and Intolerances*. I Skypala and C Venter, editors. Oxford: Blackwell Publishing Ltd. 2009. pp. 3–21.
27. Towell R. Peanuts, legumes, seeds and tree nuts. In *Food Hypersensitivity: Diagnosing and Managing Food Allergies and Intolerances*, I Skypala and C Venter, editors. Oxford: Blackwell Publishing Ltd. 2009. pp. 166–182.
28. Venter C, Pereira B, Voigt K et al. Prevalence and cumulative incidence of food hypersensitivity in the first 3 years of life. *Allergy* 2008; 63: 354–9.
29. Vojdani A, Vojdani C. Immune reactivity to food colouring. *Alternative therapies* 2013; 21: 52-62.
30. Muraro A, Polloni L, Lazzarotto F. Comparison of bullying of food-allergic versus healthy schoolchildren in Italy- *JACI* 2014;134(3):749-51.

## GENOMSKA ANALIZA MEHANIZMOV ANAFILAKSIJE

Matija Rijavec. Laboratorij za klinično imunologijo in molekularno genetiko, Klinika za pljučne bolezni in alergijo Golnik

Anafilaksija je sistemska, življenje ogrožajoča alergijska reakcija z akutnim potekom, ki vključuje aktivacijo mastocitov in bazofilcev, njen mehanizem poteka pa ni dobro raziskan [1,2]. Za boljše razumevanje mehanizmov, ki vodijo k potencialno smrtnim dogodkom, smo s pomočjo sekvenciranja nove generacije (angl. Next Generation Sequencing, NGS) izvedli sekvenciranje RNA (angl. RNA sequencing, RNA-seq). S pomočjo sekvenciranja RNA smo analizirali celotni transkriptom na vzorcih RNA izoliranih iz periferne krvi pri bolnikih, ki so doživeli anafilaksijo in pri miših z različnimi stopnjami anafilaksije [3].

V ta namen smo odvzeli parne vzorce bolnikom, ki so anafilaksijo doživeli »na terenu« in bili zaradi tega obravnavani v urgentni ambulanti, in sicer neposredno po samem anafilaktičnem dogodku (v povprečju manj kot 2 uri po anafilaksiji) ter 7 dni in 1 mesec po sami anafilaksiji. Parne vzorce periferne krvi za analizo RNA-seq smo odvzeli tudi bolnikom, ki so doživeli anafilaksijo po provokaciji z arašidi (s placebom kontrolirana, dvojno slepa provokacija, angl. double-blind, placebo-controlled food challenge, DBPCFC), in sicer pred začetkom provokacije, neposredno ob anafilaksiji in po anafilaksiji (v povprečju dobri 2 uri po anafilaksiji). Analizo transkriptoma s pomočjo RNA-seq smo izvedli tudi na RNA izolirani iz periferne krvi miši z različnimi stopnjama IgE-posredovane anafilaksije (blaga in huda oblika), ter pri senzibiliziranih miših brez anafilaksije. Po izolaciji RNA periferne krvi bolnikov in miši smo pripravili sekvenčno knjižnico s pomočjo kompleta TruSeq stranded total RNA sample preparation kit (Illumina) ter nato izvedli paralelno sekvenciranje RNA na aparatu HiSeq 2000 Sequencing System (Illumina). Pridobljene rezultate smo nato analizirali in interpretirali, in sicer najprej smo rezultate mapirali na referenčni genom, združili, filtrirali in izračunali stopnjo izražanja za posamezen vzorec (Slika 1). Nato smo izvedli obsežno karakterizacijo diferencialno izraženih genov, v nadaljevanju pa smo analizirali tudi glavne molekularne poti in tako izvedli funkcionalno karakterizacijo zaznanih sprememb v genskem izražanju. Temu je sledila še analiza celično specifičnega izražanja, s čimer smo ovrednotili transkripcijske spremembe vezane na imunske celice.

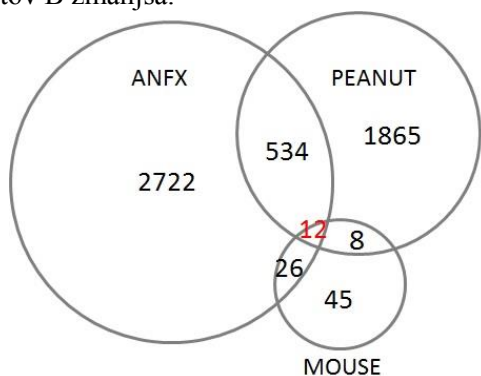


Slika 1. Shematski prikaz poteka sekvenciranja RNA.

Analiza celotnega transkriptoma nam je razkrila številne spremembe v izražanju genov med anafilaksijo. Odkrili smo prekrivajoče spremembe v izražanju genov med anafilaksijo skupne ljudem



in mišim, po drugi strani pa smo določili tudi vrstno specifične spremembe, ki so značilne samo za anafilaksijo pri ljudeh ali za anafilaksijo pri miših (Slika 2). S pomočjo funkcionalne karakterizacije diferencialno izraženih genov smo odkrili, da so najpomembnejši dogodki med anafilaksijo migracija, razvoj, signalizacija in interakcija med imunskimi celicami, mehanizmi povezani z apoptozo in preživetjem celic, ter vnetni odgovor. S primerjalno analizo z ekspresijskimi podpisi imunskih celic smo med anafilaksijo ugotovili spremembe v podpisih za nevtrofilce, bazofilce, dendritske celice, eozinofilce in limfocite B. Tako so se med akutno alergijsko reakcijo ekspresijski podpisi značilni za nevtrofilce in eozinofilce povečali, medtem ko so se ekspresijski podpisi značilni za bazofilce, dendritske celice in limfocite B znižali. Iz tega predvidevamo, da se med anafilaksijo število nevtrofilcev in eozinofilcev v krvi poveča, medtem ko se število bazofilcev, dendritskih celic in limfocitov B zmanjša.



Slika 2. Prikaz števila diferencialno izraženih genov (adj.P < 0,05) med anafilaksijo pri vseh treh preiskovanih skupinah (ANFX: anafilaksija »na terenu«, PEANUT: anafilaksija po provokaciji z arašidi; MOUSE: miši z anafilaksijo).

Ugotovitve pridobljene z genomsko analizo s pomočjo sekvenciranja RNA celotnega transkriptoma izboljšujejo naše razumevanje bioloških mehanizmov anafilaksije. Določili smo glavne gene, »anafilaktični genski podpis«, ter podobnosti in razlike pri ljudeh in miših. Naši rezultati kažejo, da so v sam potek anafilaksije vključene različne imunske celice, potekajo pa zapletene signalne spremembe, ki odražajo predvsem migracijo in interakcijo med celicami.

### Literatura

1. Korošec P, Gibbs BF, Rijavec M, Custovic A, Turner PJ. Important and specific role for basophils in acute allergic reactions. *Clin Exp Allergy*. 2018;00:1–11. <https://doi.org/10.1111/cea.13117>.
2. Korosec P, Turner PJ, Silar M, Kopac P, Kosnik M, Gibbs BF, Shamji MH, Custovic A, Rijavec M. Basophils, high-affinity IgE receptors, and CCL2 in human anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol*. 2017;140(3):750–758.
3. Rijavec M, Maver A, Hočevar K, Šilar M, Košnik M, Peterlin B, Korošec P. Transcriptome profiling during anaphylactic reaction reveals movement and interaction of distinct immune cells and complex signaling networks. V: *European Academy of Allergy and Clinical Immunology Congress*, 11-15 June, Vienna. Vienna: [s. n.]. 2016

# KAKOVOST ŽIVLJENJA PACIENTOV S PREOBČUTLJIVOSTJO ZA STRUP KOŽEKRIŁCA

Tea Močnik, Julij Šelb, Mitja Košnik. Univerzitetna klinika za pljučne bolezni in alergijo Golnik

Visok odstotek odraslega prebivalstva vsaj enkrat v življenju doživi pik kožekrilca, ki običajno povzroči začasno lokalno reakcijo, kar se kaže z oteklino, bolečino in srbežom, koža na prizadetem mestu je pordela, spremembe pa so običajno prisotne do nekaj ur po piku kožekrilca. Za veliko lokalno preobčutljivostno reakcijo (angl. *large local reaction*) je značilna oteklina premera >10 centimetrov, ki se dokončno razvije v 48 urah in vztraja več dni (7). Lokalne reakcije izvenijo spontano in ne zahtevajo posebnega zdravljenja.

Kot navajajo v epidemioloških raziskavah pa lahko piki pri 0,3 – 7,5% populacije povzročijo sistemsko preobčutljivostno reakcijo oziroma anafilaksijo. Pri prvem piku kožekrilca sistemska preobčutljivostna reakcija ni mogoča (3).

Podatki iz Evropskega registra anafilaksije (NORA) kažejo, da so kar v 48,2% za nastanek vseh zbranih sistemskih preobčutljivostnih reakcij pri odraslih odgovorni piki kožekrilcev. Pri otroški populaciji je prevalenca nekoliko nižja in znaša 20,2%. V Evropi so za nastanek sistemskih reakcij zaradi pika najpogostejši vzrok ose (*Vespa vulgaris*, *Polistes*), nato sledijo čebele (*Apis mellifera*) ter na zadnjem mestu sršeni (*Vespa crabro*) (9).

Večina pacientov, ki doživijo sistemsko preobčutljivostno reakcijo, se sooča s hudim strahom pred ponovnim pikom kožekrilca ter občutki splošnega nelagodja in negotovosti pri izvajanju aktivnostih na prostem, delom v naravi ter podobno, kar omejuje kakovost življenja. Poklici, pri katerih obstaja precejšnja izpostavljenost pikom (čebelarstvo, sadjarstvo in vrtnarstvo, gozdarstvo, zidarstvo ter razna ostala dela na prostem), posledično predstavljajo tudi večjo nevarnost za nastanek preobčutljivostne reakcije, kar lahko močno vpliva na delavno zmožnost posameznika, ki je v preteklosti že doživel anafilaksijo (4,6).

Zdravljenje s specifično imunoterapijo s strupom kožekrilca je indicirano pri pacientih, ki so doživeli III. in IV. stopnjo sistemske reakcije po Mullerju in pri pacientih, kjer preobčutljivost za strup močno zmanjšuje kakovost življenja (1,5,8). Glavni cilj edinega vzročnega načina zdravljenja pa je predvsem zmanjšati možnost življenjsko ogrožajočih sistemskih reakcij ob morebitnem ponovnem piku, zmanjšati strah pred ponovnim stikom s kožekrilcem ter v splošnem izboljšati kakovost življenja pacientov.

## Metodologija

Na Univerzitetni kliniki za pljučne bolezni in alergijo je bila v letu 2017 izvedena presečna študija, v katero je bilo vključenih 288 pacientov s preobčutljivostjo za strup kožekrilca.

Pacienti so bili razdeljeni v tri preiskovalne skupine: (a) pred uvedbo VIT, (b) zdravljeni z VIT od 6 do 12 mesecev in (c) zdravljeni z VIT od 3 do 5 let. Znotraj dveh skupin (b, c) so bili pacienti razdeljeni še v dve podskupini in sicer na tiste, ki jih je kožekrilac med zdravljenjem z VIT že pičil in na tiste, ki jih ni.

Kakovost življenja je bila ocenjena s pomočjo slovenske verzije standardiziranega vprašalnika Vespil allergy Quality of Life Questionnaire – VQLQ (2). Rezultati VQLQ so bili primerjani med posameznimi skupinami in so prikazani z vrednostjo mediane (Mdn), kjer ocena 1 pomeni dobro in 7 slabo kakovost življenja. Osnovni merski instrument smo dopolnili še z enim kontrolnim vprašanjem 11-stopenjske Likertove lestvice (0-10) »Koliko vam dejstvo, da ste alergični za pik kožekrilca, manjša kakovost življenja?«

## Rezultati

Od 288 sodelujočih pacientov jih je 49,3% dokazano preobčutljivih za strup ose, 35,8% za strup čebele ter 14,9% za strup sršena. Med vsemi vključenimi jih je 58,7% doživelo IV. stopnjo preobčutljivostne reakcije po Mullerju, 30,6% III. stopnjo, 8,7% II. stopnjo in 2% pacientov I. stopnjo preobčutljivostne reakcije.

Rezultati raziskave kažejo na statistično pomembne razlike ( $p < 0,001$ ) v kakovosti življenja med tistimi pacienti, ki so z VIT zdravljeni od 6 do 12 mesecev ( $n=81$ ,  $Mdn=3.18$ ) v primerjavi s tistimi, ki na zdravljenje še čakajo ( $n=100$ ,  $Mdn=4.2$ ). Rezultati pri pacientih, ki so zdravljeni od 3 do 5 let ( $n=107$ ,  $Mdn=2.47$ ) pa odražajo še večje izboljšanje na področju kakovost življenja.

Z raziskavo smo dokazali tudi zmanjšano stopnjo občutka omejenosti pacientov pri izvajanju aktivnosti na prostem ( $Mdn=2.5$ ) v primerjavi z nezdravljenimi ( $Mdn=4.08$ ).

Potrdili smo tudi visoko signifikantne korelacije med vsoto vprašanj VQLQ 1-14 in kontrolnim vprašanjem, tako za paciente, ki so preobčutljivi za strup ose ( $r=0.82$ ), kot tiste, ki so preobčutljivi za strup čebele ( $r=0.79$ ).

Med pacienti, ki so v času zdravljenja doživeli pik kožekrilca ( $n=65$ ) in tistimi, ki jih kožekrilec še ni pičil ( $n=123$ ), so rezultati pokazali le manjše razlike ( $Mdn=2.35$ ,  $Mdn=2.93$ ;  $p=0.061$ ).

Pomembnih razlik med vrsto kožekrilca ter stopnjo reakcije nismo ugotovili.

## Zaključek

Ključne ugotovitve potrjujejo, da zdravljenje s specifično imunoterapijo učinkovito izboljšuje kakovost življenja pacientov. Dokazano je tudi, da je slovenska verzija vprašalnika VQLQ primerna za merjenje kakovosti življenja pri pacientih s preobčutljivostjo za strup tako ose kot čebele.

## Literatura

1. Cichočka-Jarosz, E. (2012). Hymenoptera venom allergy in humans. *Folia medica Cracoviensia*, 52(3-4), 43 – 60.
2. Elberink, J. N. O., de Monchy, J. G., Golden, D. B., Brouwer, J. L. P., Guyatt, G. H., in Dubois, A. E. (2002). Development and validation of a health-related quality-of-life questionnaire in patients with yellow jacket allergy. *Journal of allergy and clinical immunology*, 109(1), 162 – 170.
3. Gelincik, A., İşsever, H., Unal, D., İşik, E., Demirturk, M., Gül, H., ... & Çolakoğlu, B. (2015). The prevalence of Hymenoptera venom allergy in adults: the results of a very crowded city in Euroasia. *Allergology international*, 64(1), 35 – 40.
4. Niedożytko, M., Majkiewicz, M., Chelminska, M., Buss, T., Gruchala-Niedożytko, M., in Jassem, E. (2012). Quality of life, anxiety, depression and satisfaction with life in patients treated with insect venom immunotherapy. *Postepy Dermatologii i Alergologii*, 29(2), 74 – 79.
5. Nittner-Marszalska, M. in Cichočka-Jarosz, E. (2015). Insect sting allergy in adults: key messages for clinicians. *Pol Arch Med Wewn*, 125(12), 929 – 937.
6. Paolucci, G., Folletti, I., Torén, K., Muzi, G., & Murgia, N. (2014). Hymenoptera venom allergy: work disability and occupational impact of venom immunotherapy. *BMJ open*, 4(8), e005593.
7. Severino, M., Bonadonna, P., in Passalacqua, G. (2009). Large local reactions from stinging insects: from epidemiology to management. *Current opinion in allergy and clinical immunology*, 9(4), 334 – 337.
8. Sin, B. A., Öztuna, D., Gelincik, A., Gürlek, F., Baysan, A., Sin, A. Z., ... in Mısırlıgil, Z. (2016). Quality-of-life in insect venom allergy: validation of the Turkish version of the “Vespid Allergy Quality of Life Questionnaire”(VQLQ-T). *SpringerPlus*, 5(1), 583.
9. Worm, M., Moneret- Vautrin, A., Scherer, K., Lang, R., Fernandez- Rivas, M., Cardona, V., ... in Beyer, K. (2014). First European data from the network of severe allergic reactions (NORA). *Allergy*, 69(10), 1397 – 1404.

# ALI JE BOLNIK Z ANAFILAKSIJO PO PIKU SRŠENA OGROŽEN, ČE GA PIČI OSA

Renato Eržen. Univerzitetna klinika za pljučne bolezni in alergijo Golnik

## UVOD

Osa (*Vespula germanica*) in sršen (*Vespa crabro*) sta sorodni žuželki, ki spadata v isto družino Vespidae v redu kožekrilcev (Hymenoptera).

Obe žuželki sta precej razširjeni v našem geografskem okolju. Ose so številčnejše, tudi piki os so bolj pogosti kot piki sršenov. Osa pri piku sprosti 5-10 mcg strupa, sršen pa lahko celo 200 mcg.

Poglavitni alergeni v strupih ose in sršena so fosfolipaza 1, antigen 5 in hialuronidaza. Med alergeni v strupih obeh žuželk so strukturne in imunološke razlike minimalne, zato je med strupoma znatna navzkrižna reaktivnost.

Ker so piki os v našem geografskem okolju bistveno bolj pogosti velja, da se bolniki primarno senzibilizirajo s strupom ose, anafilaksija po piku sršena pa je posledica navzkrižne reaktivnosti. Primarna senzibilizacija s strupom sršena je zelo redka. Bolnike, ki so utrpeli anafilaksijo po piku sršena tako zdravimo s specifično imunoterapijo s strupom ose.

Bolniki z anafilaksijo po piku sršena se glede prenašanja pika ose razlikujejo: ena skupina pike os prenaša, druga ima anafilaksijo tudi po piku ose.

Z opravljeno raziskavo smo želeli ugotoviti, ali med tema dvema skupinama bolnikov obstajajo tudi imunološke razlike.

## MATERIAL IN METODE

Raziskava je bila prospektivna. Vključili smo bolnike z anafilaksijo po piku sršena. V prvo podskupino smo vključili bolnike, ki so pik ose tolerirali, v drugo pa tiste, ki so doživeli anafilaksijo tudi po piku ose.

Pri vseh bolnikih smo opravili kožne teste alergije, določili sIgE in rekombinantne sIgE, opravili inhibicijske teste in test aktivacije bazofilcev.

## REZULTATI

Vključili smo 30 bolnikov, 17 je bilo moških, stari so bili od 23 do 77 let, povprečna starost je bila 51 let.

Vsi bolniki so imeli anafilaksijo po piku sršena: 4 bolniki stopnje II (13.3%), 7 bolnikov stopnje III (23.3%) in 19 bolnikov stopnje IV po Muellerju (63.4%).

20 bolnikov (66.7%) je pik ose toleriralo. 10 bolnikov je imelo anafilaksijo tudi po piku ose: 2 bolnika stopnje I, 2 bolnika stopnje II, 5 bolnikov stopnje III in en bolnik stopnje IV.

Kožni testi s strupom ose so bili pozitivni pri 22 bolnikih (73.3%) in negativni pri 5 bolnikih (16.7%). Pri 3 bolnikih kožnih testov nismo opravljali.

Serološki testi (merjenje koncentracije sIgE proti strupu ose, sršena in rVes v5) so bili opravljeni pri vseh bolnikih. Vsi bolniki so imeli povečano koncentracijo sIgE. Med obema podskupinama bolnikov ni bilo razlik v koncentraciji sIgE.

Z inhibicijskimi testi smo dokazali primarno senzibilizacijo s strupom ose pri 29 bolnikih, pri enem bolniku hkratio senzibilizacijo z obema strupoma. Noben bolnik ni bil primarno senzibiliziran s strupom sršena.

Test aktivacije bazofilcev s strupom ose: v podskupini, ki je tolerirala pik ose, je bil odziv bazofilcev po stimulaciji s strupom ose statistično signifikantno nižji.

Test aktivacije bazofilcev s strupom sršena:

- odziv bazofilcev po stimulaciji z 0.1 µg/ml je bil v obeh podskupinah primerljiv
- odziv bazofilcev po stimulaciji z 1 µg/ml je bil statistično signifikantno večji v podskupini bolnikov z anafilaksijo po piku ose in piku sršena.

Provokacijski test s pikom ose

Pri izbranih 4 bolnikih z anafilaksijo po piku sršena in anamnezo prenašanja osjih pikov smo najprej opravili imunološko analizo (sIgE proti strupu ose, sršena, rVes v1, rVes v5, BAT s strupom ose in sršena) in nato provokacijski test s pikom ose.

Vsi bolniki so utrpeli anafilaksijo stopnje IV po piku sršena, pike os so prenašali. Trije bolniki so imeli povečano koncentracijo sIgE proti strupu ose, 2 bolnika tudi povečano koncentracijo sIgE proti strupu sršena. Dva bolnika sta imela nizko občutljiv BAT osa. BAT sršen je bil negativen pri treh bolnikih. Provokacijski test s pikom ose je pri vseh 4 bolnikih minil brez simptomov preobčutljivostne reakcije.

#### ZAKLJUČEK

Test aktivacije bazofilcev s strupom ose (BAT osa) se je izkazal za edino metodo, s katero lahko razlikujemo bolnike z anafilaksijo po piku sršena.

Bolniki, ki imajo nizko občutljiv BAT osa bodo najverjetneje doživeli anafilaksijo samo po piku sršena. Zdi se, da je pri nizko občutljivem BATu velika količina strupa (alergena) tista, ki sproži preobčutljivostno reakcijo.

Bolniki z visoko občutljivim BAT osa so ogroženi tudi za anafilaksijo po piku ose, zato je pri njih indicirano zdravljenje s specifično imunoterapijo s strupom ose.

Bolniki z anafilaksijo po piku sršena, ki imajo nizko občutljiv BAT osa, niso idealni kandidati za zdravljenje s specifično imunoterapijo s strupom ose, če seveda predpostavimo, da je ogroženost za ponoven pik sršena minimalna. Za to skupino bolnikov zadošča, da se izogibajo situacijam, v katerih je velika verjetnost ponovnega pika in so opremljeni z adrenalinom v avtoinjektorju.

#### LITERATURA

1. King TP, Spangfort MD. Structure and Biology of Stinging Insect Venom Allergens. *Int Arch Allergy Immunol* 2000;123:99-106.
2. King TP, Gang L, Gonzalez M, Qian N, Soldatova L. Yellow jacket venom allergens, hyaluronidase and phospholipase: Sequence similarity and antigenic cross-reactivity with their hornet and wasp homologs and possible implications for clinical allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1996;98:588-600.
3. Košnik M, Korošec P, Šilar M, Mušič E, Eržen R. Wasp venom is appropriate for immunotherapy of patients with allergic reaction to the European hornet sting. *Croat Med J* 2002;43:25-27.

## DESENZIBILIZACIJA ZA ZDRAVILA

Peter Kopač. Univerzitetna klinika za pljučne bolezni in alergijo Golnik. [peter.kopac@klinika-golnik.si](mailto:peter.kopac@klinika-golnik.si)

### Uvod

Desenzibilizacija pri preobčutljivosti za zdravila je postopek, pri katerem vzpostavimo začasno toleranco za izbrano zdravilo. Po posebnem protokolu začnemo z aplikacijo nizkih odmerkov zdravila v nizki koncentraciji, ki jih podvajamo v določenem časovnem intervalu, dokler ne dosežemo ciljnega odmerka. Postopek je lahko potencialno nevaren ter kadrovsko in časovno zelo zahteven, zato je primeren za izbrane paciente, pri katerih nimamo druge enakovredne alternative. Uporablja se lahko pri pravi preobčutljivosti, povzročeni s protitelesi IgE (npr. anafilaksiji po antibiotikih, monoklonskih protitelesih ali kemoterapevtikih), pri ne-imunsko posredovani preobčutljivosti (npr. angioedemu po Aspirinu) ali pri infuzijskih reakcijah (npr. pri kemoterapiji ali monoklonskih protitelesih). Možna je tudi desenzibilizacija pri alergijskih reakcijah, ki potekajo preko celičnih mehanizmov in se praviloma pojavijo z zamikom (npr. makulopapulozni izpuščaj po antibiotikih).

### Mehanizem

Natančen mehanizem delovanja desenzibilizacije še ni dokončno razjasnjen. Rezultati študij *in vitro* so pokazali, da pride do začasne neodzivnosti tako bazofilcev kot mastocitov na desenzibiliziran antigen, medtem ko se te celice na drug antigen še vedno lahko odzovejo. Nizke doze antigena lahko povzročijo, da se specifična protitelesa IgE, ki so vezana na Fc $\epsilon$ RI, umaknejo v notranjost celice. Nasprotno se celica ob večji izpostavitvi alergenu aktivira, kar se zgodi s povezavo dveh protiteles IgE. Stanje anergije za antigen je začasno, celice se ponovno odzovejo po približno dveh razpolovnih dobah zdravila.

### Indikacije

Desenzibilizacija se lahko izvaja pri vseh pacientih s takojšnjo preobčutljivostjo za zdravila, ki nimajo enakovredne alternativne izbire. Teoretično se lahko izvaja za katero koli zdravilo. Opravimo jo lahko pri vseh starostnih skupinah, tudi nosečnicah (npr. sifilis v nosečnosti in alergija na penicilin).

Takojšnje reakcije: največ izkušenj in uspehov imamo z desenzibilizacijo anafilaktičnih reakcij (povzročene s protitelesi IgE), pri katerih smo med reakcijo dokazali povišano triptazo, senzibilizacijo pa smo dokazali s kožnimi testi, sIgE in BAT. Desenzibilizacija je večinoma uspešna tudi pri drugih takojšnjih reakcijah, ki niso posredovane z IgE (npr. angioedemu ali poslabšanju astme po Aspirinu), ostalih infuzijskih reakcijah.

Kasne reakcije: reakcije, ki potekajo z enostavnim makulopapuloznim izpuščajem, je mogoče desenzibilizirati, vendar je desenzibilizacija manj uspešna. Težjih kasnih reakcij ne smemo desenzibilizirati.

### Kontraindikacije

Relativne kontraindikacije so nestabilnost bolnika, neurejena astma, poslabšanje srčnega popuščanja in nosečnost. V teh primerih je treba pretehtati koristi in možne zaplete. Desenzibilizacije tudi ni priporočljivo izvajati, kadar ni mogoče zagotoviti ustreznega nadzora in varnosti pacienta.

Desenzibilizacija je absolutno kontraindicirana pri reakcijah, ki potekajo po tipu II (npr. hemolitična anemija), tipu III (serumska bolezen) in pri vseh težjih kasnih reakcijah, ki potekajo s sistemskimi znaki, luščenjem kože, prizadetostjo sluznic (DRESS, Stevens-Johnsonov sindrom, toksična epidermalna nekroliza, AGEP ...), hepatitisom in nefritisom po zdravljenju. V teh primerih lahko namreč že majhna količina zdravila izzove težjo reakcijo, ki jo je težko prekiniti.

### Postopek desenzibilizacije

Pred postopkom je zelo pomembna priprava pacienta. Če je le mogoče, vsaj tri dni pred tem prekinemo zdravljenje z beta blokatorji. Pri pacientih z astmo in KOPB morajo biti bolezni urejene, da se zmanjša možnost poslabšanja respiratorne simptomatike. Pacienti morajo biti seznanjeni z namenom in postopkom desenzibilizacije. To je potrebno, da se zmanjšata anksioznost in verjetnost reakcij druge etiologije (hiperventilacija, slabost, vrtoglavica ...)

Sam postopek je zapleten in dolgotrajen. Po premedikaciji (antihistaminik, steroid, antilevkotrien, po potrebi anksiolitik) začnemo z aplikacijo zdravila, ki poteka v več korakih. Zdravilo lahko apliciramo peroralno ali intravensko. Pomembno je, da začnemo z nizkim odmerkom v nizki koncentraciji. Prvi odmerek je običajno 1/10.000 končnega odmerka v koncentraciji 1/1000 ali 1/100. Apliciran odmerek nato podvajamo vsakih 15 minut, dokler ne dosežemo končnega odmerka. Sam postopek desenzibilizacije zato traja več ur, lahko ga tudi razdelimo na več dni.

Desenzibilizacija je potencialno življenjsko nevaren postopek. Med njim pričakujemo zaplete pri približno 20–30 % pacientov (Tabela 1). Med postopkom mora biti pacient monitoriziran in imeti vstavljen intravenski kanal. Ob njem mora biti ves čas prisotna izurjena medicinska sestra, ki zna prepoznati prve znake preobčutljivostne reakcije, specialist pa mora biti dosegljiv v nekaj minutah. Ob postelji morajo biti pripravljena zdravila, adrenalin za intramuskularno uporabo, intravenski antihistaminik, tekočina, kisik in inhalacijski beta agonist.

Tabela 1: Delež in stopnja zapletov med desenzibilizacijo z najpogostejšimi zdravili.

	Rituksimab	Paklitaksel	Karboplatin	<b>Skupaj</b>
<b>Brez reakcije</b>	72 %	85 %	68 %	<b>74 %</b>
<b>1. stopnja</b>	19 %	11 %	24 %	<b>19 %</b>
<b>2. stopnja</b>	5 %	2 %	4 %	<b>3 %</b>
<b>3. stopnja</b>	4 %	2 %	4 %	<b>4 %</b>

Reakcije med desenzibilizacijo so podobne tistim ob prvotni reakciji. Po naših izkušnjah se reakcija sprva začne z rinitisom, pokašljevanjem, generaliziranim srbenjem, nato pa se hitro stopnjuje do generalizirane urtikarije, angioedema, bronhoobstrukcije in padca tlaka. Zato že ob prvih znakih reakcije takoj prekinemo z aplikacijo zdravila in zdravimo anafilaksijo po protokolu – adrenalin intramuskularno in intravenski antihistaminik. Adrenalin apliciramo tudi ob še normalnem krvnem tlaku, saj deluje kot stabilizator bazofilcev. Ker ga apliciramo samo intramuskularno, ne pričakujemo motenj srčnega ritma. Ko je reakcija obvladana, večinoma lahko nadaljujemo z desenzibilizacijo. Zelo je pomembno, da pacientu razložimo potek reakcije in nadaljnje postopke, da ima občutek varnosti, prav tako pa nas lahko opozori na prve znake anafilaksije (zamašen nos, pokašljevanje), še preden jih lahko objektivno opazimo.

Po opravljeni desenzibilizaciji je treba aplicirati zdravilo vsak dan (npr. antibiotik, Aspirin ...). Pri kemoterapiji, kjer je naslednja aplikacija potrebna v nekaj tednih, pa je potrebna ponovna desenzibilizacija.

### **Timsko delo**

Desenzibilizacija za zdravila je timsko delo, za uspeh postopka je pomembno sodelovanje napotnega zdravnika, alergologa, imunološkega laboratorija, medicinske sestre, kliničnega farmacevta in ne nazadnje tudi pacienta.

Informacije, ki jih potrebujemo od napotnega zdravnika, so opis in teža reakcije, triptaza med reakcijo, morebitna možnost alternativnega zdravila in čas naslednjega odmerka zdravila.

Alergolog se s pomočjo testov *in vitro* in *in vivo* opredeli do mehanizma reakcije, pripravi protokol in vodi desenzibilizacijo.

Ob pacientu mora biti ves čas prisotna izurjena alergološka medicinska sestra, ki pozna hitrost aplikacije. Prepoznati mora prve znake preobčutljivostne reakcije. V tem primeru takoj prekine infuzijo in aplicira zdravila. Prav tako mora znati rokovati s kemoterapevtiki in infuzijskimi sistemi.

Klinični farmacevt pripravi ustrezne raztopine za testiranje in desenzibilizacijo, poznati mora stabilnost pripravkov, načine redčenja, zaščito pred svetlobo in pripravo ustreznega infuzijskega sistema. Pomembna je tudi logistika, saj določenih zdravil nimamo na zalogi.

Ne nazadnje mora tudi pacient poznati namen in zaplete desenzibilizacije, se strinjati s postopkom in opozoriti osebe ob prvih znakih anafilaksije.

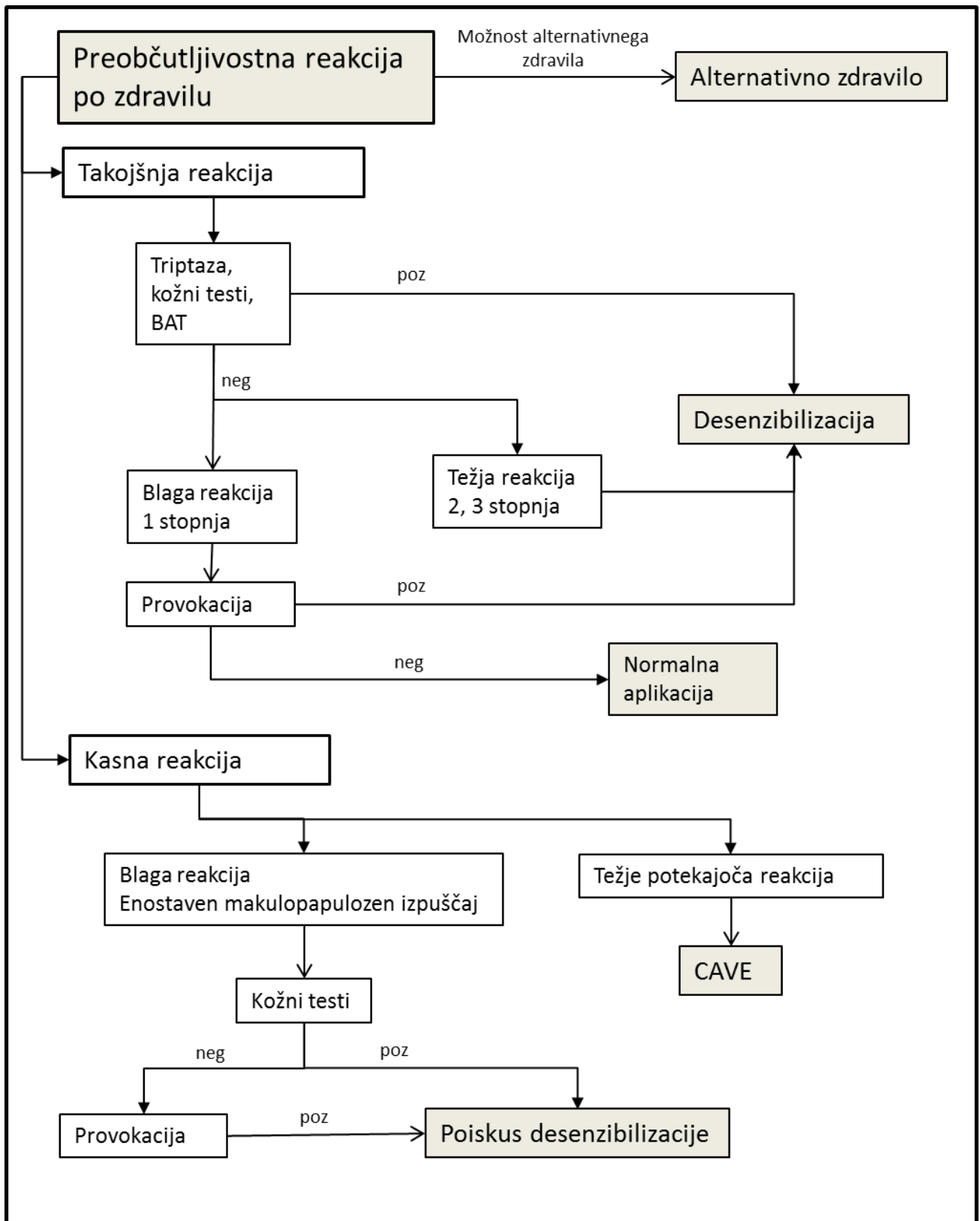
## **Zaključek**

Po naših izkušnjah je desenzibilizacija učinkovito zdravljenje preobčutljivosti za zdravila pri izbranih pacientih, vendar je postopek lahko potencialno nevaren ter kadrovske in časovno zelo zahteven. Klinična pot je predstavljena na sliki 1.

## **Priporočena literatura:**

1. Castells M. Drug Hypersensitivity and Anaphylaxis in Cancer and Chronic Inflammatory Diseases : The Role of Desensitizations. 2017;8:1–11.
2. Otani IM. Platinum Chemotherapy Hypersensitivity Prevalence and Management. *Immunol Allergy Clin NA* [Internet] 2017;37:663–77. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.iac.2017.06.003>
3. Santos RB, Galvão VR. Monoclonal Antibodies Hypersensitivity Prevalence and Management. *Immunol Allergy Clin NA* [Internet] 2017;37:695–711. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.iac.2017.07.003>
4. Picard M. Management of Hypersensitivity Reactions to Taxanes. *Immunol Allergy Clin NA* [Internet] 2017;37:679–93. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.iac.2017.07.004>
5. Aun MV, Kalil J. Drug-Induced Anaphylaxis. *Immunol Allergy Clin NA* [Internet] 2017;37:629–41. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.iac.2017.06.002>





Slika 1: Klinična pot desenzibilizacije za zdravila