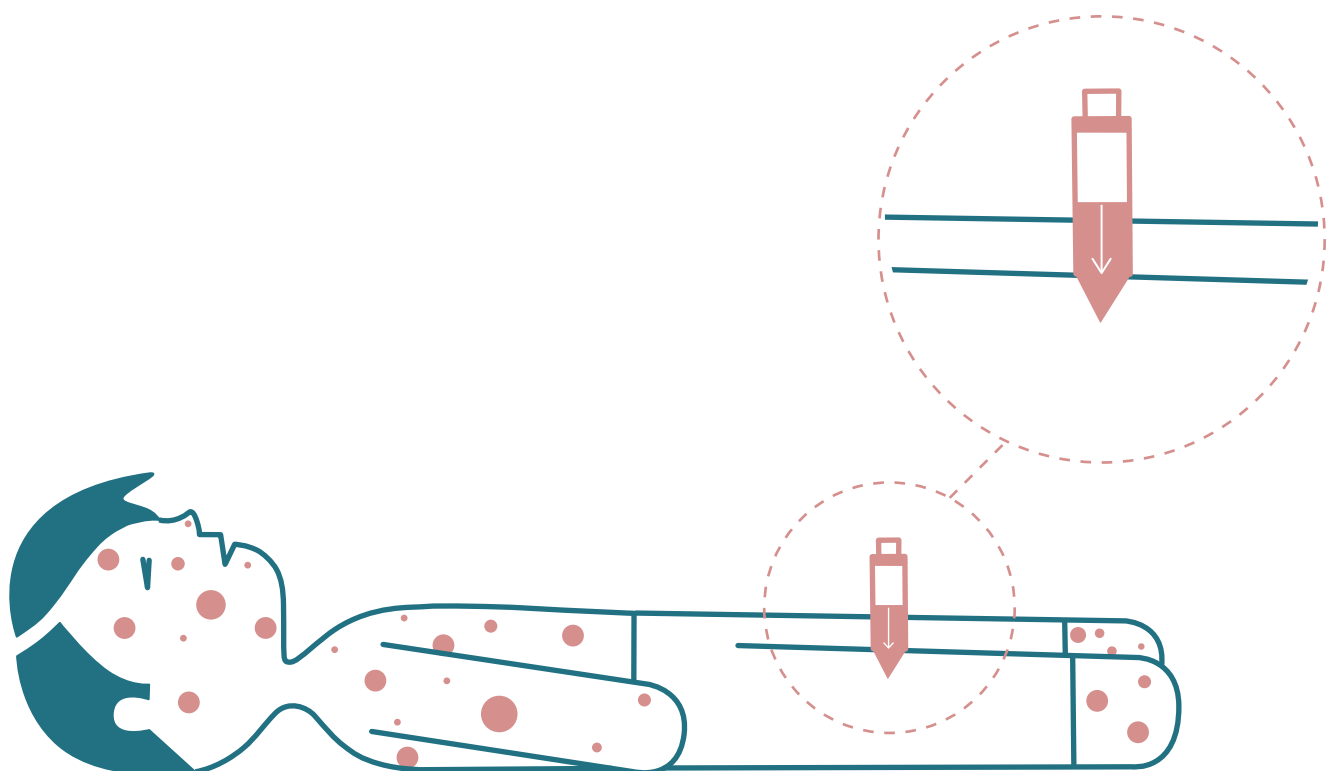


SPOMLADANSKI SESTANEK ALERGOLOŠKE IN IMUNOLOŠKE SEKCIJE SZD



ALERGOLOŠKA IN
IMUNOLOŠKA
SEKCIJA
SZD

SPOMLADANSKI SESTANEK ALERGOSEKCIJE



ALERGOLOŠKA IN
MUNICIJSKA
SEKCIJA
SZD

Sestanek Alergološke sekcije SZD 11. Maja 2022 v hotelu Mons v Ljubljani so omogočili:

Swixx Biopharma
Ewopharma
Takeda



Datum: 6 april 2023 od 14 do 20:30 ure

Lokacija: Domus Medica

Kotizacija: je ni

Organizacija: Alergološka in imunološka sekcija SZD

Kreditne točke CME: V postopku

WWW: <https://www.szd.si/sekcije-in-zdruzenja/klinicna-mikrobiologija-in-imunologija/alergoloska-in-imunoloska-sekcija/>

Prijava: irena.dolhar@siol.net

Samo prijavljenim bomo lahko zagotovili zbornik prispevkov in okrepčila

Program

14:00	REGISTRACIJA, prigrizek	
	Novosti na področju angioedema	
	Moderator	Mihaela Zidarn
14:30	Nova metoda za določanje komponent komplemента	Monika Šohar
14:45	Genetska analiza bolnikov s sumom na HAE- novost	Jerneja Debeljak
15:00	Posodobljene smernice za laboratorijsko potrjevanje HAE	Matija Rijavec
15:15	Satelitski simpozij Takeda: Spremljanje bolnika s HAE na daljavo - izzivi in prednosti	Tea Močnik
15:35	RAZPRAVA	
	Novosti na področju klinične imunologije	
	Moderator	Tadej Avčin
15:45	Regulatorne celice T za zdravljenje avtoimunskih bolezni	Jelka Pohar
16:05	Izražanje inducibilnih faktorjev reprogramira celice CAR-T ter izboljša delovanje in varnost	Anže Smole
16:25	Nethertonov sindrom	Gašper Markelj
16:45	ODMOR, kava	
	Novosti na področju kožnih bolezni	
	Moderator	Olga Točkova
17:00	Srbež: klinični pristop	Aleksandra Bergant Suhodolčan
17:30	Kaj je novega pri krpičnih testih	Mojca Bizjak
17:50	RAZPRAVA	
17:55	Satelitski simpozij Swixx: Korak naprej v imunoterapiji pri alergiji za strupe čebel in os	Renato Eržen
18:15	Satelitski simpozij EWO Pharma: EfficAPSI: RWE raziskava o vplivu SLIT na razvoj in poslabšanje astme	Natalija Edelbaher
	Novosti na področju anafilaksije	
	Moderator	Peter Kopač
18:30	Primerjava skal za oceno teže anafilaksije	Mark Kačar
18:50	Interpretacija smernic za alergijo po pikih žuželk	Mitja Košnik
19:10	Pridobivanje in vzdrževanje veščin za uporabo samoinjektorja adrenalina	Tea Močnik
19:30	Napovedni dejavniki za anafilaksijo pri alergiji na arašide pri otrocih	Vojko Berce
19:50	Kaj je za spremeniti v priporočilih za anafilaksijo (pogled pediatra)	Tina Vesel Tajnšek
20:10	RAZPRAVA	
20:30	Zaključek sestanka	

NOVA METODA ZA DOLOČANJE KOMPONENT KOMPLEMENTA

Monika Šohar. Laboratorij za klinično imunologijo in molekularno genetiko, Univerzitetna klinika za pljučne bolezni in alergijo Golnik

Sistem komplementa je serija biokemijskih reakcij, ki sodeluje pri obrambi organizma pred patogeni. Je del imunskega sistema, ki se tekom posameznikovega življenja ne spreminja oz. prilagaja, zato govorimo o njem v okviru naravne (prirojene) imunosti. Sistem komplementa je sestavni del nespecifične antigenske imunske obrambe. Poznamo tri poti aktivacije komplementa: klasično, alternativno in lektinsko, ki se razlikujejo le v začetnih korakih, vsem pa je skupen del od beljakovine C3 do končnega produkta (1,2). Bistveni dogodek pri aktivaciji sistema komplementa je nastanek terminalnega ali litičnega kompleksa, ki tako poškoduje tujo celico, da ta umre. Ubijanje, ki ga izvaja sistem komplementa je zanesljivo. Poškodovane celice navadno ne morejo preprečiti ali popraviti nastalih smrtnih poškodb. Zaradi nevarnosti, da bi na enak način prišlo tudi do poškodb lastnega organizma, obstajajo učinkoviti regulatorji delovanja sistema, ki lahko v določenih fazah odziv ustavijo. Regulatorni mehanizmi so intrinzični in ekstrinzični in obsegajo navzočnost določenih humoralnih molekul, kot npr. C1 inhibitor, C4bp, C8bp, CD59, serumsko karboksipeptidazo, določenih receptorjev, kot so komplementni receptorji in lastnosti samih molekul, da zaradi oddaljenosti tarče ali dolžine delovanja samodejno prenehajo delovati (3).

Znižane serumske koncentracije C3 in C4 opazimo predvsem pri aktivnem sistemskem lupusu eritematozusu (SLE), pri oblikah membranskega proliferativnega glomerulonefritisa in pri imunskih kompleksnih boleznih. Znižan C4 se pojavi pri hereditarnem angioedemu (HAE) in avtoimunski hemolitični anemiji (1,2).

C1-inhibitor (C1-INH) spada v družino serpinov in zavira serinske proteaze iz komplementnega in koagulacijskega sistema, kot so C1, faktor XIIa in kalikrein. Gensko pogojena pomanjkljivost C1-INH lahko vodi do HAE (4).

Testiranje komplementa C4 omogoča morebitno identifikacijo HAE zaradi pomanjkanja C1-INH (C1-INH-HAE) pri posameznem bolniku. Skupaj z vrednostmi komplementa C4 je smiselno pridobiti tudi vrednosti C1-INH. Če sta vrednosti C4 in C1-INH znižani in je aktivnost C1-INH znižana je to značilno za C1-INH-HAE tipa I. Če je vrednost C4 znižana in vrednost C1-INH normalna, vendar je močan klinični sum na HAE, se priporoča izvedba testa aktivnosti C1-INH. Za C1-INH-HAE tip II sta značilni znižana vrednost C4, normalna vrednost C1-INH ter nizka vrednost aktivnosti C1-INH. Normalne vrednosti C4, C1-INH in aktivnosti C1-INH lahko nakazujejo na HAE normalnim C1-INH (nC1-INH-HAE) (vzrok so predvsem patogene različice v genih za koagulacijski faktor XII (*F12*) in plazminogen (*PLG*), redkeje tudi različice v genih *ANGPT1*, *KNG1*, *MYOF* in *HS3ST6* ali druge neznane okvare) (5,6).

	C4	C1-INH	C1-INH aktivnost	C1q
C1-INH-HAE				
TIP I	znižan	znižan	znižan	normalen
TIP II	znižan	normalen oz. zvišan	znižan	normalen
nC1-INH-HAE	normalen	normalen	normalen	normalen
Pridobljeno pomanjkanje C1-INH	znižan	znižan	znižan	znižan
ACE-I angioedem	normalen	normalen	normalen	normalen
Idiopatski angioedem	normalen	normalen	normalen	normalen

Tabela 1: ACE-I označuje zaviralec angiotenzinske konvertaze; C1-INH, C1 esterazni inhibitor; C1q, podenota kompleksa C1; C4, komponenta komplementa 4; HAE, heredetni angioedem. Povzeto po Zuraw BL, Bernstein JA, Lang DM, et al; American Academy of Allergy, Asthma & Immunology; American College of Allergy, Asthma & Immunology. Posodobitev parametrov: Maurer M, Magerl M, Betschel S, Aberer W, Ansotegui IJ, Aygören-Pürsün E, Banerji A, Bara NA, Boccon-Gibod I, Bork K, Bouillet L, Boysen HB, Brodzki N, Busse PJ, Bygum A, Caballero T, Cancian M, Castaldo A, Cohn DM, Csuka D, Farkas H, Gompels M, Gower R, Grumach AS, Guidos-Fogelbach G, Hide M, Kang HR, Kaplan AP, Katelaris C, Kiani-Alikhan S, Lei WT, Lockey R, Longhurst H, Lumry WR, MacGinnitie A, Malbran A, Martinez Saguer I, Matta JJ, Nast A, Nguyen D, Nieto-Martinez SA, Pawankar R, Peter J, Porebski G, Prior N, Reshef A, Riedl M, Ritchie B, Rafique Sheikh F, Smith WB, Spaeth PJ, Stobiecki M, Toubi E, Varga LA, Weller K, Zanichelli A, Zhi Y, Zuraw B, Craig T. The international WAO/EAACI guideline for the management of hereditary angioedema-The 2021 revision and update. Allergy. 2022 Jul;77(7):1961-1990. doi: 10.1111/all.15214. Epub 2022 Feb 3. PMID: 35006617.

Poleg testiranja komponent komplementa C3, C4 ter C1-INH v laboratoriju za klinično imunologijo in molekularno genetiko klinike Golnik določamo tudi, aktivnost C1-INH, CH50 – klasična pot aktivacije komplementa, količino komponente komplementa C1q ter protitelesa proti komponenti komplementa C1q (anti-C1q avtoprotitelesa), ki jih je smiselno izmeriti kadar so zmanjšane količine C4 in C1-INH komplementnega sistema.

Revmatoidni faktor (RF) lateks test na ploščici se uporablja za dokazovanje revmatoidnega faktorja v serumu in s tem klinični potrditvi revmatoidnega artritisa in drugih avtoimunskih bolezni (npr. sistemski lupus eritematosus). Pozitiven RF se pojavlja pri 75 % bolnikov z revmatoidnim artritidom. Višji titri RF nakazujejo slabšo prognozo bolezni. Revmatoidni faktor so protitelesa usmerjena proti regiji Fc na imunoglobulinih G (IgG), so heterogena in največkrat skupine IgM (7).

Metode določanja komponent komplementa in revmatoidnega faktorja

Radialna imunodifuzija – NOR Partigen Siemens

Radialna imunodifuzija je kvantitativna tehnika, ki temelji na osnovni imunski reakciji med protitelesi in topnimi antigeni. Ob vezavi protiteles z antigenom v optimalnem koncentracijskem razmerju se v gelu tvori precipitat. Nastanejo veliki, netopni in s prostim očesom vidni imunski kompleksi. Odnos med premerom (oz. površino) precipitacijskega obroča in koncentracijo analita je premosorazmerna.

Vzorci nanašamo v vdolbinice na plošči. Proteini iz vzorca reagirajo s specifičnimi protitelesi proti komponentam komplementa, ki so bila predhodno primešana agaroznemu gelu. Med inkubacijo poteka difuzija iz vdolbinic v gel, kjer se nato tvori precipitat. Glede na premer obroča se iz tabele referenčnih vrednosti priloženih testu odčita koncentracija komponente komplementa v vzorcu (1,2,4).

Pasivna aglutinacija – RF latex test

Aglutinacija je zlepljanje delcev (antigenov), ki imajo na svoji površini antigenske determinante, s specifičnimi protitelesi. Pri pasivni aglutinaciji, so antigeni kemijsko vezani na eritrocite ali inertne delce (npr. lateks). Običajno se reakcije aglutinacije uporabljajo za določanje prisotnosti protiteles iz vzorca proti specifičnemu antigenu. RF, v kolikor je prisoten v serumu, reagira z lateks delci, ki so senzibilizirani s humanimi imunoglobulini, in tvori vidne aglomerate (7).

Nefelometrija - nefelometer Siemens Atellica 630

Nefelometrija je najpogosteje uporabljen princip metode za imunokemično določanje beljakovin v serumu, urinu in drugih telesnih tekočinah. Pri tej metodi se meri svetloba, ki jo razpršijo kompleksi antigen-protitelo. Če damo v kiveto vzorec, ki vsebuje antigen ter ustrezen antiserum, nastanejo kompleksi antigen-protitelo. Ko je protitelo v presežku, je intenziteta izmerjenega razprševanja svetlobe sorazmerna s količino kompleksa antigen-protitelo v vzorcu. Pri konstantni koncentraciji protiteles je signal sorazmeren s koncentracijo antigena. Referenčna krivulja je oblikovana s standardom z znano vsebnostjo antigena, razpršena svetloba signala vzorca pa je preračunana kot koncentracija antigena.

Pri nefelometriji merimo intenziteto le tistih svetlobnih žarkov, ki se odbijejo pod določenim kotom ($13^\circ - 24^\circ$) na izbranih delcih v raztopini. Kot pod katerim se svetloba odbija je odvisen od velikosti delcev in valovne dolžine svetlobe. Ta tehnika zamenjuje radialno imunodifuzijo, ker je preprostejša in hitrejša (8).

Ukinitev reagentov za določanje komponent komplemента z metodo radialne imunodifuzije nas je primorala v odločitev zamenjave načina za določanje omenjenih preiskav. Posledično smo se odločili za sistem, kjer z imunokemično metodo lahko določamo beljakovine v serumu, urinu in drugih telesnih tekočinah. Januarja 2023 smo v laboratoriju za klinično imunologijo in molekularno genetiko Klinike Golnik v ta namen dobili nov aparat nefelometer Atellica 630, proizvajalca Siemens, ki bo nadomestil določanje komponent komplemента C3c, C4, C1-INH v agaroznem gelu na plošči (agarozne plošče Dade Behring NOR-Partigen C3c, C4 in C1-INH), RF lateks test na ploščici (RF latex kit REF 6002, FAR Diagnostika) ter določanje komplemента C1q v agaroznem gelu na plošči (Human Complement C1q Bindarid Radial Immunodifusion kit). S pomočjo validacije in primerjalnih analiz rezultatov za komponente komplemента C3c, C4, C1-INH, C1q ter RF smo novo metodologijo implementirali v vsakodnevno rutinsko delo.

V okviru našega dela smo ovrednotili novo analizo metodo na nefelometru Atellica 630, proizvajalca Siemens. Primerjali smo jo z v laboratoriju že obstoječima metodama, testom radialne imunodifuzije in z metodo pasivne aglutinacije. Analizirali smo klinične vzorce bolnikov in zdravih kontrol. Dobljeni rezultati so bili primerljivi s tistimi izmerjenimi s trenutno uporabljenima metodama in primerni za diagnostiko. Imunokemično določanje komponent komplemента in revmatoidnega faktorja se lahko uporabi za odkrivanje pridobljenih stanj in spremljanje poteka stanja ter razjasnitev prirojenih pomanjkljivosti.

Ob vpeljavi nove metode smo ugotovili, da na meritve komponent komplemента vpliva predanalitična faza. Predanalitična faza vključuje vrsto postopkov, ki jih je težko opredeliti, saj poteka na različnih krajih in ob različnih časovnih intervalih. Splošno je predanalitična faza definirana kot faza, v katero spadajo vsi postopki, od same zahteve zdravnika po laboratorijskem testu, do končne priprave vzorca na testiranje. Laboratorijski testi so zelo občutljiv indikator, ki odražajo zdravstveno stanje pacienta. Klinične odločitve zdravnikov, ki temeljijo na laboratorijskih izvidih, so lahko pravilne le, če so vzorci odvzeti pravilno in ob upoštevanju vseh predanalitskih faktorjev, ki bi lahko vplivali na rezultat analize (9).

Vpliv lipemije (motnosti)

Motnost seruma različnih intenzivnosti je predvsem posledica visoke koncentracije trigliceridov in drugih lipoproteinskih delcev (hilomikroni, lipoproteini z zelo majhno gostoto – VLDL). Pri zdravi populaciji normalno serum ni lipemičen, razen po zelo mastnem obroku. Lipemični serumi interferirajo s posameznimi analitičnimi metodami, kajti fotometrične metode so občutljive na motnost pri vseh valovnih dolžinah. Vzorci, ki so lipemični niso primerni za meritev komponent komplekta na nefelometru Atellica 630, proizvajalca Siemens, saj lipemičnost vpliva na rezultate merjenja, zato bomo v laboratoriju morali zavrniti vse motne vzorce, ki bi lahko privedli do napačnih rezultatov (9).

Shranjevanje vzorcev

Kadar je potrebno vzorec krvi shraniti v hladilnik ali zamrzniti, je potrebno najprej ločiti krvne celice od seruma ali plazme. Polne krvi ne zamrzujemo. Serum za serološke teste lahko hranimo nekaj dni pred testiranjem pri temperaturi od 2°C do 8°C. Za daljše shranjevanje seruma je potrebno serum preliti v primerno epruveto za shranjevanje vzorca in shraniti pri temperaturi -20°C ali nižje. Potrebno se je izogibati ponavljajočemu se zamrzovanju in odtajanju. Ob dolgotrajnem shranjevanju in procesu zmrzovanja – taljenja se pojavi agregacija, zato vzorec postane moten in ni primeren za analizo na nefelometru, saj lahko privede do napačnih rezultatov (9).

Literatura:

1. Siemens NOR-Partigen® C3c. *Navodila za uporabo*. GmbH: Siemens Healthcare Diagnostics Products, 2013-05. 1-2
2. Siemens NOR-Partigen® C4. *Navodila za uporabo*. GmbH: Siemens Healthcare Diagnostics Products, 2018-05. 1-2
3. Zbornik sestanka: *Redkejšje preobčutljivostne bolezni. Alergološka in imunološka sekcija SZD*. Bolnišnica Golnik – klinični oddelek za pljučne bolezni in alergijo. Ljubljana, Medicinska fakulteta, 2007. 16-18
4. Siemens NOR-Partigen® C1-inhibitor. *Navodila za uporabo*. GmbH: Siemens Healthcare Diagnostics Products, 2013-03. 1-2
5. Bernstein JA. Severity of hereditary angioedema, prevalence, and diagnostic considerations. *Am J Manag Care*. 2018 Aug;24(14 Suppl):S292-S298. PMID: 30132643.
6. Maurer M, Magerl M, Betschel S, Aberer W, Ansotegui IJ, Aygören-Pürsün E, Banerji A, Bara NA, Boccon-Gibod I, Bork K, Bouillet L, Boysen HB, Brodzski N, Busse PJ, Bygum A, Caballero T, Cancian M, Castaldo A, Cohn DM, Csuka D, Farkas H, Gompels M, Gower R, Grumach AS, Guidos-Fogelbach G, Hide M, Kang HR, Kaplan AP, Katelaris C, Kiani-Alikhan S, Lei WT, Lockey R, Longhurst H, Lumry WR, MacGinnitie A, Malbran A, Martinez Saguer I, Matta JJ, Nast A, Nguyen D, Nieto-Martinez SA, Pawankar R, Peter J, Porebski G, Prior N, Reshef A, Riedl M, Ritchie B, Rafique Sheikh F, Smith WB, Spaeth PJ, Stobiecki M, Toubi E, Varga LA, Weller K, Zanichelli A, Zhi Y, Zuraw B, Craig T. The international WAO/EAACI guideline for the management of hereditary angioedema-The 2021 revision and update. *Allergy*. 2022 Jul;77(7):1961-1990. doi: 10.1111/all.15214. Epub 2022 Feb 3. PMID: 35006617.
7. RF latex kit. *Instruction for use*. FAR Diagnostics, 2015.
8. Atellica NEPH 630 System. *Appendix to the Instruction Manual*. GmbH: Siemens Healthcare Diagnostics Products, 2021-10. 320-322
9. *Pravilen odvzem in priprava vzorcev venozne krvi za laboratorijski diagnostiko*. Strokovna monografija. Univerza v Novem mestu, Fakulteta za zdravstvene vede, 2020. 3-13

GENETSKA ANALIZA BOLNIKOV S SUMOM NA HAE- NOVOST

Jerneja Debeljak, Nina Rupar, Julij Šelb, Peter Korošec, Matija Rijavec. University Clinic of Respiratory and Allergic Diseases Golnik, Golnik, Slovenia

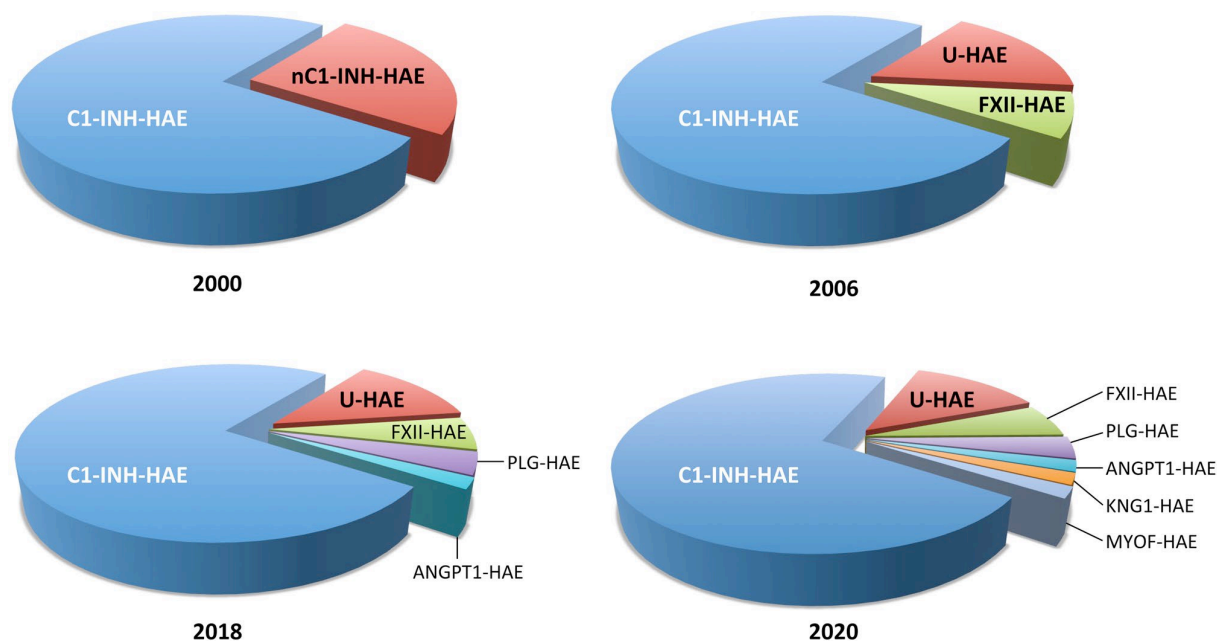
Hereditarni angioedem (HAE) je avtosomno dominantna genetska bolezen, za katero so značilne lokalizirane otekline podkožja ali sluznice, ki najpogosteje prizadane kožo, predel trebuha in zgornji del respiratornega trakta. Simptomi se pojavijo kot posledica lokaliziranega zvišanja bradikinina in povečane propustnosti krvnih žil. Bradikinin nastaja v dveh ločenih sistemih – plazemski kontaktni sistem in tkivni kalikreinski sistem, do njegove nenadzorovane produkcije pa pride zaradi nedelovanja encima C1-inhibitor (C1-INH).

Z biokemijskega vidika, lahko HAE nastane zaradi pomankanja C1-inhibitorja (C1-INH-HAE) ali pa se pojavi ob normalnem C1-INH (nC1-INH-HAE). Klinično, sta obe obliki nerazločljivi.

Ločimo dva tipa C1-INH-HAE; za tip I je značilna nizka koncentracija C1-INH (nezmožnosti sintetiziranja proteina), za tip II pa znižana aktivnost C1-INH (disfunkcionalen protein).

C1-INH je lociran na kromosomu 11, sintetizirajo pa ga predvsem hepatociti, ter delno tudi monociti v krvi. C1-INH-HAE je najboljše in najdlje poznana podvrsta HAE. Bolezen je posledica patogenih različic v genu *SERPING1*, ki kodira protein C1-INH. Gen ima 8 eksonov in 7 intronov, zaznanih pa ima že več kot 800 patogenih različic. Trenutno je 85 % poznanih različic odgovornih za C1-INH tipa I in 15 % za tip II. Pojavljajo pa se tudi *de novo* patogene različice, ki predstavljajo približno 25 % primerov C1-INH-HAE. Patogene različice se ne pojavljajo zgolj v kodirajoči regiji proteina (eksoni), pač pa tudi v nekodirajočih regijah (introni, 5'- 3'- neprevedena regija).

V zadnjih letih so bili opisani številni primeri boleznih (dominantno dedovanje), s podobno klinično sliko kot C1-INH-HAE, vendar z normalnim C1-INH koncentracijo in aktivnostjo. Ta tip HAE nima vzročnih različic v genu *SERPING1* in ga klasificiramo kot nC1-INH-HAE. Z uporabo novih tehnologij, predvsem eksomskim sekvenciranjem (WES, ang. *whole-exome sequencing*) so bile odkrite nove patogene različice v genih *F12*, *PLG*, *ANGPT1*, *KNG1*, *MYOF* in *HS3ST6*, povezane s HAE.



Vir: Germenis et al., 2021

Za genetsko potrditev HAE je priporočljivo testiranje celotnega *SERPING1* gena, kar vključuje vse eksone, 5'-in 3'- neprevedeno regijo, ter intronske regije. Genotipizacija se predominantno opravlja s pomočjo sekvenciranja po Sangerju in metode MLPA (ang. *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*). Pomankljivost omenjenih metod je časovna potratnost, prav tako pa ne zagotavljajo detekcije globokih intronskih različic.

V Laboratoriju za klinično imunologijo in molekularno genetiko, Klinike Golnik, s pomočjo sekvenciranja naslednje generacije (ang. *next-generation sequencing*, NGS) rutinsko opravljamo sekvenciranje celotnega gena *SERPING1*, ter kodirajočih regij genov *F12*, *PLG*, *ANGPT1*, *KNG1*. Uporabljamo QIAseq Targeted DNA Custom Panel, s čimer omogočamo 100 % pokritost celotnega gena *SERPING1*, vključno s 5'-, 3'-neprevedeno regijo, ter celotnim intronskim območjem. Sekvenciranje izvajamo na sekvenatorju Illumina MiSeq, sledi bioinformatična analiza, ki je bila osnovana na protokolu standardnega GATK klicanja različic zarodnih linij (ang. *standard GATK germline variant calling pipeline*), s čimer zaznamo različice posameznih nukleotidov (SNV) in krajše insercije/delecije (indel). Temu sledi analiza z orodji Atlas-CNV ali DELLY, za identifikacijo različic v številu kopij (CNV).

Nedavno, smo v panel (nabor genov za sekvenciranje), poleg genov, katere že pokrivamo, vključili še dva dodatna novoodkrita gena, katerih različice vplivajo na pojav HAE, in sicer *MYOF* in *HS3ST6*. Različica MYOF Arg217Ser, povzroči povečano lokalizacijo proteina VEGFR-2 v plazmemski membrani. Različica c.430A > T (Thr144Ser) v genu *HS3ST6* pa rezultira v nepopolni biosintezi heparan sulfata, kar posledično vpliva na medsebojne interakcije ključnih molekul vpletenih v nastanek angioedema.

Z novimi NGS tehnologijami, predvsem WGS (ang. *whole-genome sequencing*) in WES je omogočena identifikacija patogenih globokih intronskih regij, ter dodatnih genov, vpletenih v HAE, ki do sedaj niso bili prepoznani v povezavi z nC1-INH-HAE. Zato ni zanemarljiva možnost, da poleg omenjenih genov, ki jih povezujemo s HAE, obstajajo še drugi kandidatni geni, kateri za enkrat ostajajo neidentificirani, ter jih bomo v prihodnjih letih, z dodatnimi raziskavami, začeli povezovati z nC1-INH-HAE.

Literatura:

1. Maurer M, Magerl M, Betschel S, Aberer W, Ansotegui IJ, Aygören-Pürsün E, et al. The international WAO/EAACI guideline for the management of hereditary angioedema—The 2021 revision and update. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol.* 2022;77(7):1961–90.
2. U. C. Nzeako, E. Frigas WJT. Hereditary Angioedema: a broad review for clinicians. *Arch Intern Med.* 2001;161(20):2417–29.
3. Cicardi M, Aberer W, Banerji A, Bas M, Bernstein JA, Bork K, et al. Classification, diagnosis, and approach to treatment for angioedema: Consensus report from the Hereditary Angioedema International Working Group. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol.* 2014;69(5):602–16.
4. Cicardi M, Zuraw BL. Angioedema Due to Bradykinin Dysregulation. *J Allergy Clin Immunol Pract [Internet].* 2018;6(4):1132–41. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2018.04.022>
5. Germenis AE, Rijavec M, Veronez CL. Leveraging Genetics for Hereditary Angioedema: A Road Map to Precision Medicine. *Clin Rev Allergy Immunol [Internet].* 2021;60(3):416–28. Available from: <https://doi.org/10.1007/s12016-021-08836-7>
6. Germenis AE, Margaglione M, Pesquero JB, Farkas H, Cichon S, Csuka D, et al. International Consensus on the Use of Genetics in the Management of Hereditary Angioedema. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2020;8(3):901–11.
7. Germenis AE, Speletas M. Genetics of Hereditary Angioedema Revisited. *Clin Rev Allergy Immunol [Internet].* 2016;51(2):170–82. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s12016-016-8543-x>
8. Ponard D, Gaboriaud C, Chaignon D, Ghannam A, Wagenaar-Bos IGA, Roem D, et al. *SERPING1* mutation update: Mutation spectrum and C1 Inhibitor phenotypes. *Hum Mutat.* 2020;41(1):38–57.
9. Germenis AE, Cicardi M. Driving towards Precision Medicine for angioedema without wheals. *J Autoimmun [Internet].* 2019;104(July):102312. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2019.102312>
10. Loules G, Zamanakou M, Parsopoulou F, Vatsiou S, Psarros F, Csuka D, et al. Targeted next-generation sequencing for the molecular diagnosis of hereditary angioedema due to C1-inhibitor deficiency. *Gene.* 2018;667(May):76–82.
11. Santacrose R, D'andrea G, Maffione AB, Margaglione M, D'Apolito M. The genetics of hereditary angioedema: A review. *J Clin Med.* 2021;10(9):1–9.

POSODOBLJENE SMERNICE ZA LABORATORIJSKO POTRJEVANJE HAE

Matija Rijavec. Klinika za pljučne bolezni in alergijo Golnik

Za hereditarni angioedem (HAE) so značilne ponavljajoče se epizode otekanj okončin, glave, trebuha ali zgornjih dihal, bolniki pa ob otekanju nimajo urtik. Glede na novejšo razumevanje mehanizmov otekanja delimo HAE v dve večji skupini, in sicer HAE zaradi pomanjkanja C1-inhibitorja (C1-INH-HAE) in HAE ob normalnem C1-INH (nC1-INH-HAE).

Glavna klinična značilnost bolnikov s HAE so ponavljajoče epizode angioedemov; verjetnost za HAE še dodatno povečajo: (1) pozitivna družinska anamneza (čeprav ta ni prisotna pri do 25 % bolnikov), (2) nastop simptomov v otroštvu/adolescenci, (3) ponavljajoči in boleči trebušni simptomi, (4) pojav edema zgornjih dihalnih poti, (5) neodzivnost na antihistaminike, kortikosteroide ali epinefrin, (6) prisotnosti prodromalnih znakov ali simptomov pred otekljami in/ali (7) odsotnosti urtikarije (koprivnice). Ob značilnih kliničnih znakih so potrebne specifične laboratorijske preiskave za potrditev HAE.

HAE zaradi pomanjkanja C1-inhibitorja

Laboratorijska diagnostika HAE se začne z določitvijo koncentracije komponente komplemента C4, ter koncentracije in aktivnosti C1-INH v serumu. Pri C1-INH-HAE tip I je znižana koncentracija C4 ter koncentracija in aktivnost C1-INH, medtem ko je za C1-INH-HAE tip II značilna normalna koncentracija nefunkcionalnega C1-INH (znižana je aktivnost C1-INH). Ugotovljene znižane vrednosti C4 in C1-INH je potrebno potrditi ob ponovnem odvzemu. Vrednosti C3 in CH50 so pri bolnikih s HAE običajno normalne. Podobne simptome kot C1-INH-HAE imajo tudi bolniki z pridobljenim angioedemom zaradi pomanjkanja C1-INH (C1-INH-AAE). C1-INH-AAE se običajno razvije kasneje v življenju in je lahko povezan z osnovnimi boleznimi, kot sta limfom ali benigna monoklonska gamopatija (MGUS). Tudi bolniki z C1-INH-AAE imajo znižane vrednosti C4 in C1-INH, pogosto pa je znižana tudi koncentracija C1q, kar je v pomoč pri razlikovanju med C1-INH-AAE in C1-INH-HAE.

Laboratorijsko diagnostika C1-INH-HAE tako običajno poteka z določanjem prej omenjenih komponent komplemента (predvsem zaradi lažje dostopnosti in cene), medtem ko je genetska analiza, ki vključuje iskanje patogenih različic v genu *SERPING1* (gen, ki nosi zapis za C1-INH), potrebna za dokončno potrditev C1-INH-HAE, ter v primerih nejasnih meritev C4 in/ali C1-INH. Genetsko testiranje je pomembno v posameznih primerih, kot diagnoza bolezni pri novorojenčkih in otrocih ali asimptomatskih sorodnikih, tudi zaradi možnosti ustreznega genetskega svetovanja.

Pri vseh bolnikih s sumom na HAE je priporočeno določanje koncentracije komponente komplemента C4, ter koncentracije in aktivnosti C1-INH v serumu. V primeru znižanih vrednosti je za potrditev C1-INH-HAE meritve potrebno ponoviti.

Genetsko testiranje za potrditev C1-INH-HAE naj vključuje genotipizacijo vseh eksonov gena *SERPING1*, 5'-in 3'- neprevedene regije, ter eksonsko-intronske meje, priporočljivo pa je preverjanje celotne intronske regije, za ugotavljanje različic posameznih nukleotidov in krajše insercije/delecije (indel), ter tudi večjih delecij/insercij.

HAE ob normalnem C1-INH

Bolniki s HAE ob normalnem C1-INH (nC1-INH-HAE), pa imajo ob podobnih kliničnih znakih prej omenjene komponente sistema komplemента kot tudi druge biokemijske parametre normalne, tako da je za laboratorijsko potrditev nujno potrebna genetska analiza, ki vključuje določitev patogenih različic v genih

F12 (F12-HAE), *PLG* (PLG-HAE), *ANGPT1* (ANGPT1-HAE), *KNG1* (KNG1-HAE), *MYOF* (MYOF-HAE) in *HS3ST6* (HS3ST6-HAE). Med bolniki z nC1-INH-HAE ima približno 20-25 % bolnikov F12-HAE, okrog 20 % PLG-HAE, pri velikem deležu bolnikov s HAE genetsko ozadje in patofiziologija bolezni ostajata neznana (U-HAE). U-HAE še vedno predstavlja največjo skupino bolnikov med nC1-INH-HAE, saj v več kot 50 % družin z nC1-INH-HAE genetskega vzroka še vedno ni mogoče pojasniti.

Genetsko testiranje je potrebno za potrditev diagnoze nC1-INH-HAE. Z genetskim testiranjem genov oz. posameznih regij genov, in sicer *F12*, *PLG*, *ANGPT1*, *KNG1*, *MYOF* in *HS3ST6*, je mogoče razlikovati med različnimi vrstami HAE, in sicer F12-HAE, PLG-HAE, ANGPT1-HAE, KNG1-HAE, MYOF-HAE in HS3ST6-HAE.

Genetsko testiranje in klasifikacija različic

Zaradi velikega števila ugotovljenih različic v genu *SERPING1* in ostalih genih povezanih z HAE je potrebno standardizirati in poenotiti postopke: (1) nujno je potrebno uporabljati enotno nomenklaturo HGVS (angl. Human Genome Variation Society); (2) ugotovljene različice, vključno s kliničnimi in drugimi informacijami uporabljenimi za klasifikacijo različic, je potrebno oddati v prosto dostopne baze podatkov (kot sta ClinVar ali LOVD); (3) laboratoriji, ki izvajajo genetsko testiranje naj uporabljajo prilagojene smernice ACMG-AMP (angl. American College of Medical Genetics and Genomics-Association for Molecular Pathology); za klasifikacijo patogenosti ugotovljenih različic naj vsi laboratoriji uporabljajo za HAE prilagojena pravila, ki sledijo smernicam ACMG-AMP; za pripravo in implementacijo teh pravil je bila znotraj organizacije ClinGen ustanovljena posebna delovna skupina HAE VCEP (angl. HAE Variant Curation Expert Panel); (4) naključne najdbe se poročajo samo ob ustreznih dokazih z uporabo prej omenjenih pravil; (5) potrebna je vzpostavitev in uveljavitev kliničnih smernic, standardnih postopkov in programov zunanje kontrole kakovosti. Poleg tega je vsem bolnikom s HAE in njihovim sorodnikom potrebno omogočiti genetsko svetovanje, potrebno pa je tudi sodelovanje med različnimi strokovnjaki, da bi bolnikom in njihovim družinam izboljšali kvaliteto življenja.

Laboratorijska diagnostika se uporablja za potrditev diagnoze HAE in identifikacijo različnih vrst HAE. Za to se uporabljajo različne metode, tako biokemijsko-imunološki kot genetski testi, ki so v pomoč pri postavitvi zgodnje diagnoze in razlikovanju med različnimi klinično podobnimi stanji. Skupni cilj je izboljšati prepoznavanje in diagnozo HAE ter zagotoviti najboljšo možno oskrbo bolnikov s HAE in njihovih družin.

Literatura

1. Maurer M, Magerl M, Betschel S, Aberer W, Ansotegui IJ, Aygören-Pürsün E, et al. The international WAO/EAACI guideline for the management of hereditary angioedema-The 2021 revision and update. *Allergy*. 2022 Jul;77(7):1961-1990.
2. Germeis AE, Margaglione M, Pesquero JB, Farkas H, Cichon S, Csuka D, Lera AL, Rijavec M, et al. International Consensus on the Use of Genetics in the Management of Hereditary Angioedema. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2020; 8:901-911.
3. Germeis AE, Rijavec M, Veronez CL. Leveraging Genetics for Hereditary Angioedema: A Road Map to Precision Medicine. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2021 Jun;60(3):416-428.
4. Drouet C, López-Lera A, Ghannam A, López-Trascasa M, Cichon S, Ponard D, Parsopoulou F, Grombirkova H, Freiberger T, Rijavec M, Veronez CL, Pesquero JB, Germeis AE. *SERPING1* Variants and C1-INH Biological Function: A Close Relationship With C1-INH-HAE. *Front Allergy*. 2022; 3:835503.
5. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015; 17:405-424.

REGULATORNE CELICE T ZA ZDRAVLJENJE AVTOIMUNSKIH BOLEZNI

Jelka Pohar: Nacionalni inštitut za biologijo, Oddelek za genetsko toksikologijo in biologijo raka, Raziskovalna skupina za imunologijo in celično imunoterapijo (ICI), Ljubljana, Slovenija.

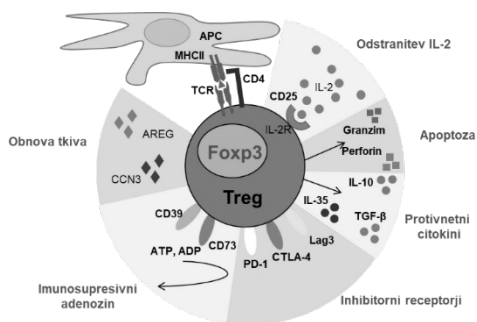
Financiranje: V okviru predstavljene raziskave je bila J.P. financirana s strani French Research Agency (ANR TCRinMS), v Sloveniji J.P. sodeluje na projektu J3-3084, ki je financiran s strani Javne agencije za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije in je vključena v program P1-0245. J.P. je prejela financiranje preko Raziskovalnega sklada NIB za projekt 10ICIGEN.

Avtoimunske bolezni prizadenejo vedno večji delež (5–10%) prebivalstva in imajo znaten vpliv na kvaliteto življenja bolnikov in posledično tudi velike socioekonomske vplive. Razpoložljive terapije, ki večinoma temeljijo na imunosupresivnih zdravilih, so vseživljenjske, povzročijo le delne remisije in so pogosto povezane z neugodnimi stranskimi učinki kot so oportunistične okužbe in razvoj malignih sprememb. Prekinitev imunosupresivnega zdravljenja bi bila mogoča le ob ponovni vzpostavitvi imunske regulacije, obnovi tkiva in popolni odstranitvi patogenih imunskih celic¹.

V iskanju varnih in učinkovitih terapij za avtoimunske bolezni vse bolj narašča zanimanje za razvoj celičnih imunoterapij. Vplivanje na imunski odziv z uporabo imunoterapij z avtolognimi (telesu lastnimi) gensko spremenjenimi imunskimi celicami je v ospredju več terapevtskih pristopov, ki spreminjajo paradigme za zdravljenje resnih bolezni, kot so na primer rakava obolenja², in ponujajo rešitev za zdravljenje stanj, pri katerih so na voljo omejene terapevtske možnosti ali pa jih sploh ni. Klinični uspeh T-celične imunoterapije s himernim antigenskim receptorjem (CAR) proti krvnim rakom in njihova odobritev s strani Food and Drug Administration (FDA) ter Evropske agencije za zdravila (EMA) sta ustvarila nov steber v zdravljenju resnih bolezni in bosta pospešila razvoj in klinično translacijo novih celičnih imunoterapij³.

V kontekstu celičnih imunoterapij za avtoimunske bolezni je eden od možnih pristopov uporaba regulatornih celic T (Treg), ki so ene najpomembnejših imunskih celic, odgovornih za homeostazo, preprečevanje avtoimunskih odzivov, vzdrževanje periferne tolerance in resolucijo vnetij na mestih okužbe. Predstavljajo približno 1 % človeških mononuklearnih celic periferne krvi (PBMC) in 5–10 % CD4⁺ T celic. Od drugih CD4⁺ T celic se razlikujejo po visokem izražanju CD25 in transkripcijskega faktorja Forkhead Box P3 (FOXP3), ki je glavni regulator Treg identitete in je nujen za njihov razvoj in supresivno funkcijo⁴. Okvare gena za FOXP3 povzročajo resno deregulacijo imunskega sistema, kot je na primer X-povezan sindrom (IPEX), za katerega so značilne visoke ravni citokinov v krvi, diabetes tipa 1, atopijski dermatitis, hipotiroidizem, enteropatija, artritis in sepsa, kar vodi v zgodnjo smrt bolnikov. Tudi v odsotnosti mutacij v FOXP3, Treg celicam vedno ne uspe uravnati prekomernih avtoimunskih odzivov. Običajno pogostnost Treg celic pri bolnikih z avtoimunskimi vnetji v primerjavi z zdravimi kontrolnimi osebami ni zmanjšana, vendar vnetno okolje delno zavira njihovo delovanje. Pri bolnikih s sistemskim eritematoznim lupusom in bolnikih z multiplo sklerozo na primer niso našli pomembnih razlik v številu celic Treg, vendar so pri teh celicah opazili nenormalno imunosupresivno funkcijo, nižjo klonalnost in zmanjšanje izražanja mRNA za FOXP3. Tudi v živalskem modelu eksperimentalnega avtoimunskega encefalomyelitisa (EAE) je zaradi vnetja v centralnem živčnem sistemu (CŽS), prišlo do nestabilnosti izražanja FOXP3 v avtoreaktivnih celicah Treg. Efektorski citokini lahko bodisi efektorske celice T naredijo manj občutljive na supresijo Treg (IL-21), bodisi direktno zavirajo celice Treg (TNF, IL-6, IFN tipa I), ali pa povzročijo njihovo pretvorbo v ex-FOXP3 Th2 celice s proinflammatorymi lastnostmi (IL-4).⁵

Celice Treg lahko neposredno ali posredno zavirajo različne imunske celice, vključno z efektorскими celicami T, celicami B, dendritičnimi celicami, naravnimi celicami ubijalkami, makrofagi in nevtrofilci (slika 1). Pri mišjem modelu EAE in mišjem modelu okužbe pljuč z virusom gripe so pokazali, da lahko Treg spodbujajo tudi remielinizacijo oziroma obnovo pljučnega tkiva⁵. V idealnem primeru bi zdravljenja s pomočjo celic Treg zmanjšala odvisnost od imunosupresivnih zdravil, obnovila imunski odziv in spodbudila obnovo tkiva.



Treg celice prepoznajo peptide, predstavljene preko MHC-II na antigen predstavitevni celici (APC). Po aktivaciji uporabljajo več neposrednih ali posrednih mehanizmov za uravnavanje vnetnih odzivov. α -podenota receptorja IL-2R, CD25 bistveno poveča afiniteto receptorja za IL-2. Odstranjevanje IL-2 iz vnetnega okolja je eden glavnih imunosupresivnih mehanizmov celic Treg. Poleg tega lahko inducirajo apoptozo s sproščanjem grancima ali perforina, sproščajo protivnetne citokine, izražajo inhibitorne receptorjev ter pretvorijo ATP in ADP v imunosupresivni adenzin.

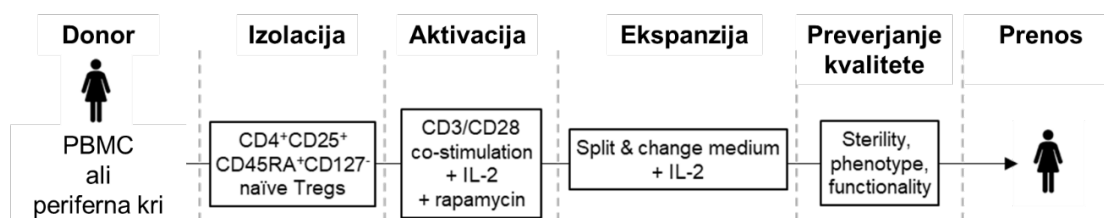
Lahko pa celo spodbujajo obnovo tkiva.

Zaradi njihovih mnogih supresivnih mehanizmov (slika 1), ki vplivajo na širok spekter imunskih celic, so številna nedavno ustanovljena biotehnoška podjetja, konzorciji in številne raziskovalne skupine že prepoznale potencial Treg celic za zdravljenje avtoimunskih bolezni in zavrnitve po presaditvi organov. Izvedljivost pristopa terapije s poliklonskimi Treg celicami in dober varnostni profil so že pokazali v več kliničnih študijah, v katerih so razvili tudi pristope za proizvodnjo celic po načelih dobre laboratorijske prakse⁶. Pri prejemnikih presajenih ledvic je terapija s poliklonskimi Treg povzročila zmanjšano odvisnost od imunosupresivnih zdravil in s tem manj neželenih učinkov, povezanih z okužbami. Opazili so tudi znižanje ravni citokinov v periferni krvi⁷. Pri bolnikih z diabetesom tipa 1 je klinična študija faze I pokazala odličen varnostni profil *ex vivo* ekspandiranih avtolognih poliklonskih celic Treg. Celice so v krvi bolnikov vztrajale še 1 leto po presaditvi. Zdravljenje, ki so ga bolniki dobro prenašali, je utrlo pot novim kliničnim študijam faze II⁸. Presaditev avtolognih celic Treg po presaditvi jeter je začasno povečal število Treg celic v krvi in zmanjšal odzive efektorских celic T, usmerjene proti darovanemu organu. Pristop se je tudi v teh primerih izkazal kot varen, bolniki pa so ga dobro prenašali⁹.

Številne predklinične študije pa so pokazale, da imajo za antigen specifične Treg celice večji terapevtski učinek v primerjavi s poliklonskimi Treg celicami. Zato so trenutna prizadevanja usmerjena v gensko manipulacijo celic Treg s transgenimi T-celičnimi receptorji (TCR) ali CAR, da bi jih naredili specifične za ciljne antigene in tkiva, s čimer bi povečali učinkovitost^{10,11}. Antigen specifične celice Treg imajo boljši terapevtski potencial v primerjavi s poliklonskimi celicami Treg, vendar so redke in jih je težko izolirati². Rezultati številnih študij na živalih kažejo, da bi se lahko za tarčni antigen specifične Treg celice uporabljale za zdravljenje avtoimunskih bolezni (npr. diabetes tipa 1, multipla skleroza, revmatoidni artritis), preprečevanje zavrnitvenih reakcij po presaditvi organov in bolezni presadka proti gostitelju. Te študije tudi poudarjajo pomen signalizacije preko receptorja TCR v biologiji Treg celic, saj bistveno prispeva k stabilnosti njihovega fenotipa^{12,13}. Za antigen specifične celice Treg, pridobljene iz miši NOD (nedebele miši s sladkorno boleznijo – predklinični model za diabetes tipa 1), transgene za TCR, ki prepozna antigen beta celic, so znatno zavrle bolezen in pomagale ohraniti nizko raven glukoze v krvi. Treg celice so ohranile izražanje značilnih genov kot tudi imunosupresivnih citokinov¹⁴. Ellis in kolegi so na živalskem modelu transplantacije trebušne slinavke pokazali, da Treg celice, ki izražajo CAR receptor, specifičen za aloantigen HLA-B7, migrirajo in vztrajajo v presajenih alogenskih otočjih ter kažejo supresivni fenotip¹³. V modelu s kolagenom inducirane artritisa so za antigen specifične celice Treg, migrirale v vneto šapo in zavrle artritis, upočasnile degradacijo

kosti in zmanjšale izražanje vnetnih citokinov¹⁵. Pomemben korak k prenosu zdravljenja s celicami Treg specifičnimi za antigen v kliniko je študija STEADFAST. Prva klinična študija bo ovrednotila varnost in odziv bolnikov na terapijo s CAR Treg celicami, specifičnimi za HLA-A*02, z namenom preprečevanja zavrnitvenih reakcij po presaditvi ledvic¹⁶.

Za pridobitev zadostnega in terapevtsko relevantnega števila celic Treg, so izolacija, ekspanzija, učinkovitost transdukcije in čistost ključnega pomena za vzpostavitev uspešnih terapevtskih protokolov². Postopki za izolacijo človeških celic Treg se začnejo z odvzemom periferne krvi. Nato se izvede imunoselekcija z magnetnimi kroglicami, da se odstranijo celice CD8⁺ in druge CD4⁻ celice ter obogatijo celice Treg (CD25⁺CD45RA⁺CD127⁻). Izolirane celice se nato aktivirajo z mikrokroglicami, prevlečenimi z α CD3/ α CD28, ki zagotavljajo stimulacijski signal TCR, potreben za preživetje v prisotnosti IL-2 in rapamicina - zaviralca mTOR, da se prepreči razmnoževanje konvencionalnih efektorskih T celic, ki izločajo vnetne citokine. Študije so pokazale, da se po 14-28 dnevih *ex vivo* gojenja Treg celic lahko doseže več kot 90-odstotna čistost in do 1000-kratna ekspanzija (slika 2)². Za pridobitev za antigen specifičnega terapevtskega izdelka je potrebno celice Treg gensko spremeniti z vstavitvijo gena za željeni imunski receptor – bodisi T celični receptor ali CAR. Za gensko modifikacijo se najpogosteje uporablja lenti- ali retrovirusna transdukcija, vendar so v razvoju tudi drugi pristopi, kot je transpozon/transpozaza in sistemi CRISPR/Cas9².



Slika 2: Postopek *ex vivo* gojenja in razmnoževanja Treg celic. Povzeto po Fritsche et al., 2020²

Med mojim podoktorskim projektom, ki sem ga vodila na Inštitutu Necker Enfants Malades (INEM) v Parizu v skupini prof. dr. Simona Fillatreau-ja, smo raziskovali molekularne mehanizme, ki pripomorejo k terapevtskemu učinku gensko spremenjenih za antigen specifičnih Treg celic, in izražajo TCR z visoko avidnostjo^{10,11}. Da bi razumeli molekularne mehanizme, vključene v zaščitno vlogo gensko spremenjenih antigen specifičnih celic Treg, in ocenili prednosti in omejitve tega pristopa, smo uporabili predklinični mišji model avtoimunske bolezni centralnega živčnega sistema (CNS) – EAE, ki smo ga inducirali z imunizacijo s peptidom, pridobljenim iz glikoproteina mielinskih oligodendrocitov (ang. myelin oligodendrocyte glycoprotein - MOG). Treg celice, modificirane tako, da so izražale TCR, ki je prepoznal peptid MOG₃₅₋₅₅, so zaščitile miši pred razvojem EAE. Po pojavu bolezni so se sprva kopičile v drenažnih bezgavkah in zvišale ravni izražanja LAG-3, CTLA-4 in PD-1. Gensko spremenjene celice Treg so pri zdravljenih miših tudi znatno zmanjšale izražanje vnetnih modulatorjev, kot so IFN- γ , GM-CSF, CD40L, IL-17A, iz avtoaktivnih celic CD4⁺ T. Poleg tega smo jih v vranici in CŽS zaznali več kot 30 dni po imunizaciji. Celice so ohranile fenotip efektorskih spominskih celic (CD44⁺CD62L⁻), ter v primerjavi z endogenimi Treg celicami še vedno izražale več LAG-3, CTLA-4 in PD-1. Za natančnejšo opredelitev značilnosti avtoaktivnih Treg celic v CŽS obolelih miši smo izvedli RNA sekveniranje v posameznih celicah (ang. single cell RNA sequencing) in posledično analizo transkriptoma avtoaktivnih Treg na vrhuncu EAE. Opazili smo, da so bili *Il10*, *Ctla4* in *Areg* močno izraženi v celicah Treg. Z uporabo genetskih pristopov smo ustvarili za antigen specifične Treg celice, v katerih so bili geni za *Il10*, *Ctla4* ali *Areg* utišani, in pokazali, da sta *Il10* in *Ctla4* zelo pomembna za delovanje, saj terapevtske celice z utišanim izražanjem le-teh niso zaščitile miši pred razvojem EAE. Naše raziskave poudarjajo pomen več različnih supresivnih neredundantnih mehanizmov, ki delujejo na terapevtski potencial celic Treg¹¹.

Literatura

1. Cooper, G. S., Bynum, M. L. K. & Somers, E. C. Recent insights in the epidemiology of autoimmune diseases: Improved prevalence estimates and understanding of clustering of diseases. *J Autoimmun* **33**, 197–207 (2009).
2. Fritsche, E., Volk, H. D., Reinke, P. & Abou-El-Enen, M. Toward an Optimized Process for Clinical Manufacturing of CAR-Treg Cell Therapy. *Trends Biotechnol* **38**, 1099–1112 (2020).
3. June, C. H. & Sadelain, M. Chimeric Antigen Receptor Therapy | Enhanced Reader. *The new england journal of medicine Review* **379**, 64–73 (2018).
4. Baecher-Allan, C., Brown, J. A., Freeman, G. J. & Hafler, D. A. CD4+CD25high regulatory cells in human peripheral blood. *J Immunol* **167**, 1245–53 (2001).
5. Amini, L. *et al.* Super-Treg: Toward a New Era of Adoptive Treg Therapy Enabled by Genetic Modifications. *Front Immunol* **11**, 611638 (2020).
6. Romano, M., Fanelli, G., Albany, C. J., Giganti, G. & Lombardi, G. Past, present, and future of regulatory T cell therapy in transplantation and autoimmunity. *Front Immunol* **10**, 1–14 (2019).
7. Trzonkowski, P. *et al.* First-in-man clinical results of the treatment of patients with graft versus host disease with human ex vivo expanded CD4+CD25+CD127- T regulatory cells. *Clin Immunol* **133**, 22–6 (2009).
8. Bluestone, J. A. *et al.* Type 1 diabetes immunotherapy using polyclonal regulatory T cells. *Sci Transl Med* **7**, 1–14 (2015).
9. Sánchez-Fueyo, A. *et al.* Applicability, safety, and biological activity of regulatory T cell therapy in liver transplantation. *American Journal of Transplantation* **20**, 1125–1136 (2020).
10. Kieback, E. *et al.* Thymus-Derived Regulatory T Cells Are Positively Selected on Natural Self-Antigen through Cognate Interactions of High Functional Avidity. *Immunity* **44**, 1114–1126 (2016).
11. Pohar, J. *et al.* Antigen receptor-engineered Tregs inhibit CNS autoimmunity in cell therapy using nonredundant immune mechanisms in mice. *Eur J Immunol* **52**, 1335–1349 (2022).
12. Raffin, C., Vo, L. T. & Bluestone, J. A. Treg cell-based therapies: challenges and perspectives. *Nat Rev Immunol* **20**, 158–172 (2020).
13. Ellis, G. I. *et al.* Trafficking and persistence of alloantigen-specific chimeric antigen receptor regulatory T cells in *Cynomolgus* macaque. *Cell Rep Med* **3**, 100614 (2022).
14. Tang, Q. *et al.* In vitro-expanded antigen-specific regulatory T cells suppress autoimmune diabetes. *Journal of Experimental Medicine* **199**, 1455–1465 (2004).
15. Fujio, K. *et al.* Gene Therapy of Arthritis with TCR Isolated from the Inflamed Paw. *The Journal of Immunology* **177**, 8140–8147 (2006).
16. Schreeb, K. *et al.* Study Design: Human Leukocyte Antigen Class I Molecule A*02-Chimeric Antigen Receptor Regulatory T Cells in Renal Transplantation. *Kidney Int Rep* **7**, 1258–1267 (2022).

IZRAŽANJE INDUCIBILNIH FAKTORJEV REPROGRAMIRA CELICE CAR-T TER IZBOLJŠA DELOVANJE IN VARNOST

Anže Smole. Nacionalni inštitut za biologijo, Oddelek za genetsko toksikologijo in biologijo raka, Raziskovalna skupina za imunologijo in celično imunoterapijo (ICI), Ljubljana

Izjava o interesih: A.S. je izumitelj na mednarodnih patentnih prijavih preko »The Trustees of the University of Pennsylvania«, ki zajemajo odkritja in izume opisane v tem prispevku.

Financiranje: V okviru predstavljene raziskave je bil A.S. financiran preko Perelman School of Medicine at the University of Pennsylvania in Parker Institute for Cancer Immunotherapy. A.S. je prejel financiranje preko Javne agencije za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije za projekt J3-3084 in je vključen v program P1-0245. A.S. je prejel financiranje preko Raziskovalnega sklada NIB za projekt 10ICIGEN.

CAR (himerni antigenski receptor)-T celična imunoterapija je klinično odobren pristop zdravljenja raka z uporabo genetsko spremenjenih celic T. Pristop, ki se trenutno uporablja v kliniki je osnovan na avtoložnih (bolniku lastnih) celicah CAR-T in vključuje tri korake: (i) Odvzem in izolacija bolnikovih celic T s postopkom levkafereze. (ii) *Ex vivo* priprava celičnega produkta, ki vključuje aktivacijo celic T, reprogramiranje preko virusnega vnosa receptorja CAR, ki celice T spremeni v celice CAR-T, in namnožitve celic CAR-T za doseganje dovolj velikega števila za terapevtsko aplikacijo. Receptor CAR omogoča specifično prepoznavo, tarčenje in odstranitev rakastih celic. (iii) Vnos celic CAR-T nazaj v bolnika, kjer celice CAR-T najdejo in uničijo rakaste celice (podrobneje predstavljeno v preglednem članku¹).

Trenutno celice CAR-T, katerih tarča je molekula CD19, predstavljajo klinično najbolj uspešen pristop celične imunoterapije. Klinične študije v neodzivnih ali ponovljenih oblikah akutne limfoblastične levkemije pri otrocih²⁻⁴ in B-celičnih limfomih pri odraslih⁵⁻¹³ so dokazale, da imunoterapija s celicami CAR-T lahko vodi do učinkovitih in dolgotrajnih kliničnih odzivov v bolnikih, kjer noben drug pristop zdravljenja ni deloval. Posledično so bile celice CAR-T, ki tarčijo CD19, leta 2017 klinično odobrene s strani FDA v ZDA in leta 2018 s strani EMA v Evropski uniji.

Kljub temu, da imunoterapija raka s celicami CAR-T predstavlja spremembo paradigme zdravljenja določenih krvnih rakov, kjer nobena druga razpoložljiva terapija ne deluje, se ta pristop srečuje s številnimi izzivi povezanimi z učinkovitostjo, varnostjo in široko dostopnostjo. Nekateri ključni vzroki teh izzivov so (i) imunosupresivno tumorsko mikrookolje, (ii) intrinzične lastnosti celic T, (iii) obstoj in identifikacija molekularnih tarč, ki omogočajo varno tarčenje rakastih celic, (iv) proizvodnja celičnega produkta in (v) neželeni stranski učinki kot je citokinska nevihta. Posledično, trenutno ne obstaja klinično odobrena CAR-T celična terapija za čvrste tumorje, ki predstavljajo večino rakastih obolenj. Pristop celične imunoterapije, arhitekturo molekule CAR, konceptualne izzive, ki omejujejo uspeh celic CAR-T v kliniki, ter sodobne pristope za reševanje teh izzivov povzemam v preglednem članku¹.

V tem prispevku se bom osredotočil našo raziskavo z naslovom »Expression of Inducible Factors Reprograms CAR-T Cells for Enhanced Function and Safety«, ki je bila nedavno objavljena v reviji *Cancer Cell*¹⁴ in naslavlja zgoraj navedene izzive. Raziskava se osredotoča na razvoj inovativne genske platforme, ki omogoča nadgradnjo celic CAR-T z novimi funkcijami. Platformo smo poimenovali Uni-Vect, saj v enem samem lentivirusnem vektorju združuje konstitutivno izražanje imunskega receptorja in prehodno (inducibilno), od aktivacije celic T-odvisno izražanje dodatne molekule. Deluje na način da celice CAR-T preko imunskega receptorja prepoznajo rakaste celice in poleg sproženja endogenega efektorskega programa celic T, pričnejo proizvajati tudi dodatne, »umetno vnesene« molekule, ki ojačajo funkcije in delovanje celic CAR-T z

namenom bolj učinkovitega ali varnega delovanja. Pri tem je izražanje dodatne molekule časovno omejeno in se prekine, ko rakastih celic ni več, s tem pa se zmanjšata možnost stranskih učinkov in sistemska toksičnost.

Ker je ta koncept zasnovan na način, da je kompatibilen s potencialno klinično translacijo, smo bili pri načrtovanju pozorni na dva pomembna vidika. (i) Da bi se izognili potencialni imunogenosti, je Uni-Vect načrtovan in ustvarjen iz molekularnih komponent, ki izvirajo iz človeka. (ii) Z namenom zagotavljanja zanesljivega in varnega delovanja smo pri razvoju sledili principom čim bolj enostavnega dizajna za doseganje želenih funkcij in robustnega delovanja.

Sprva smo na potrdili delovanje Uni-Vect z uporabo *in vitro/ex vivo* celičnih modelov. V lentivirusnem vektorju smo združili konstitutivno izražen receptor CAR, ki tarči čvrste tumorje, in prehodno izražen fluorescenčni protein, pripravili lentivirusne delce in ustvarili CAR-T celični produkt iz primarnih celic T zdravih darovalcev. Pokazali smo, da se tako pripravljene celice CAR-T odzivajo na antigen-pozitivno, ne pa tudi na antigen-negativno linijo rakastih celic. Ko smo dokazali, da sistem deluje kot načrtovano, smo nadaljevali z demonstracijo treh različnih terapevtskih implementacij in delovanje dokazali *in vitro* in *in vivo* v predkliničnih modelih na laboratorijskih živalih.

V prvi terapevtski implementaciji smo želeli nasloviti izziv omejenega delovanja celic CAR-T v čvrstih tumorjih. Pomemben dejavnik, ki preprečuje infiltracijo celic CAR-T v tumorje, sproženje efektorskih mehanizmov in delitev ter persistenco, je imunosupresivno tumorsko mikrookolje. V takšnem okolju pride do pomanjkanja kisika in glukoze, poleg tega rakaste celice aktivno neposredno ali posredno ustvarijo imunosupresivne pogoje. Z namenom izboljšanja učinkovitosti delovanja celic CAR-T v čvrstih tumorjih, smo v celicah CAR-T izrazili dodatno molekulo interleukin 12 (IL-12), ki ima pleiotropen učinek na okrepljeno delovanje imunskega sistema in tako razvili celice iIL-12-CAR-T. Celice iIL-12-CAR-T so bile pri nizkih dozah zmožne odstraniti čvrste tumorje *in vivo*, medtem ko je pri kontrolnih celicah CAR-T, ki so namesto IL-12 izražale fluorescenčni protein, prišlo do nenadzorovane rasti tumorjev. Pomembno je, da prehodno izražen IL-12 ni povzročil sistemske toksičnosti, v nasprotju pa je konstitutivno izražen IL-12 povzročil stranske učinke zaradi katerih laboratorijske živali niso preživele. Pri tem pristopu je Uni-Vect omogočil varno uporabo potentne imunostimulatorne molekule in izboljšal delovanje celic CAR-T v čvrstih tumorjih v primerjavi s trenutnimi alternativami.

V drugi terapevtski implementaciji smo na inovativen način skušali prispevati k zdravljenju citokinske nevihte (angl. »cytokine-release syndrome« oziroma CRS), ki lahko privede do življenjsko ogrožajočih zapletov, in predstavlja osrednji stranski učinek odobrene CAR-T celične imunoterapije za zdravljenje nekaterih krvnih rakov preko tarčenja CD19. CRS se trenutno sicer uspešno zdravi z injiciranjem biološkega zdravila tocilizumab (monoklonsko protitelo, ki preko vezave na interleukin-6 receptor inhibira signalizacijo IL-6), ki je bil odobren skupaj s celicami CAR-T prav za namen zdravljenja te toksičnosti. V naši raziskavi pa smo celice CAR-T nadgradili na način, da biološko zdravilo na osnovi tocilizumaba proizvajajo kar same in sicer le takrat, ko so rakaste celice prisotne. Ta celični produkt smo poimenovali iToci-CAR-T celice. V modelu humiziranih miši z implantiranim človeškim imunskim sistemom smo dokazali, da celice CAR-T brez vgrajenega varnostnega sistema podležejo toksičnosti citokinske nevihte, medtem ko nadgrajene iToci-CAR-T celice uspešno odstranijo rakaste celice, hkrati pa avtonomno zavirajo citokinsko nevihto. Čeprav so potrebne nadaljnje študije za boljše razumevanje mehanizmov delovanja, sklepamo, da so celice iToci-CAR-T uspele doseči pravo ravnovesje deljenja in izločanja citokinov, da so bile učinkovite pri nadzoru krvnega raka, obenem pa ni prišlo do letalne toksičnosti povezane s CRS. V našem modelu torej ni bilo potrebno injiciranje rekombinantnega IL-6R-blokirajočega protitelesa, saj imajo celice iToci-CAR-T vgrajen avtonomen sistem za zdravljenje citokinske nevihte.

V tretji terapevtski aplikaciji smo želeli izboljšati intrinzične lastnosti celic CAR-T, ki so se v dosedanjih kliničnih študijah in uporabi izkazale kot ključne za terapevtski uspeh. Te lastnosti vključujejo diferenciacijsko stanje celic T, sposobnost delitve, tvorjenje imunskega spomina in ohranjanje funkcionalnosti. Tega smo se

lotili s spreminjanjem samega ustroja delovanja celic T in sicer smo v celicah CAR-T testirali prehodno izražanje transkripcijskih faktorjev, povezanih s zgodnjimi stanji diferenciacije celic T in tvorjenjem funkcionalnega imunskega spomina. Dva transkripcijska faktorja, ki smo ju izbrali, sta bila TCF7 in inženirska verzija faktorja FOXO1 z izboljšano biološko aktivnostjo. Tako smo razvili nadgrajen celični produkt in ga poimenovali iTF-CAR-T celice. Analiza delovanja in fenotipa celic iTF-CAR-T je pokazala, da lahko od antigena-odvisno izražanje posameznega transkripcijskega faktorja ugodno vpliva na intrinzične lastnosti celic T. To smo dokazali na *in vitro* modelu ponovljene izpostavljenosti celic iTF-CAR-T rakastim celicam, kjer smo pri iTF-CAR-T celicah opazili zgodnejša diferenciacijska stanja in vzorec izražanja molekul, ki kažejo na funkcionalnost. Modulacija intrinzičnih lastnosti je vodila do izboljšane delitve celic iTF-CAR-T *in vitro* in *in vivo*. Pri eni od različic celic iTF-CAR-T je prišlo do pomembno povečane delitve v periferni krvi v primerjavi s kontrolnimi celicami CAR-T, kar je velikega pomena s kliničnega vidika, saj vemo, da ustrezna delitev celic CAR-T vodi v kontrolo rasti raka, medtem ko je neučinkovita delitev povezana z neodzivnostjo bolezni ali vodi v ponovitev bolezni. Ključnega pomena je, da je bila delitev celic iTF-CAR-T zaradi uporabe Uni-Vect prehodna, število celic T pa se je vrnilo na normalen nivo, ko je bil rak odstranjen. Ta ugotovitev poudarja pomen prehodnega (inducibilnega) izražanja transkripcijskega faktorja za zmanjšanje tveganja maligne transformacije ali avtoimunosti. Pomembno, *in vitro* ali *in vivo* nismo opazili od antigena neodvisne delitve ali nenadzirane rasti. Uni-Vect torej omogoča trajno modifikacijo celičnega produkta, medtem ko izražanje transkripcijskega faktorja ostaja prehodno, kar vodi do samostojnega delovanja po infuziji v poskusne živali. Naše nadaljnje raziskave so usmerjene v preučevanje mehanizmov delovanja iTF-CAR-T celic.

V vseh treh terapevtskih aplikacijah smo opazili, da ima že izražanje ene same dodatne molekule v celicah CAR-T lahko velik biološki efekt, kar je sicer zaželeno, vendar pa se hkrati pojavlja pomislek varne uporabe. Kljub temu, da je sistem Uni-Vect načrtovan prav z namenom varne uporabe, saj omogoča prehodno (inducibilno) izražanje, pa ima vgrajeno tudi inherentno tveganje. Ker je izražanje dodatne molekule v tej platformi odvisno od aktivacije celic T ob prepoznavi antigena, se lahko celice CAR-T aktivirajo preko vnesenega receptorja CAR, kar je želena in načrtovana pot aktivacije, vendar pa prav tako lahko pride do nenačrtovane aktivacije preko endogenega T-celičnega receptorja (TCR) ob potencialni prepoznavi specifičnega kompleksa peptid-MHC (poglavitni kompleks tkivne skladnosti). Zato smo z uporabo sistema CRISPR/Cas9 odstranili endogeni TCR in na ta način ustvarili celični produkt, kjer je signalizacija preko receptorja CAR ekskluzivni aktivator inducibilnega sistema, kar predstavlja pomembno izboljšavo za zmanjšane tveganja za neželene dogodke, povzročene z nereguliranim izražanjem pomožne molekule.

Poleg terapevtskih implementacij smo Uni-Vect uporabili tudi kot raziskovalno orodje, in sicer kot platformo za karakterizacijo novih imunskih receptorjev, specifično TCR za prepoznavanje neoantigenov, kot zelo atraktivnih tarč za zdravljenje raka. Tega dela raziskave zaradi časovne omejitve ne bom predstavil, pristop pa je natančno opisan v članku¹⁴.

Naše ugotovitve kažejo, da je Uni-Vect široko uporabna platforma za nadgradnjo celic T in omogoča pripravo dobro definiranih celičnih produktov. Prikazali smo tri terapevtske uporabe Uni-Vect pri razvoju celic CAR-T z nadgrajenimi funkcionalnostmi. Kljub temu da so predstavljene implementacije pomembne in imajo terapevtski potencial, pa nadaljnje možnosti uporabe Uni-Vect presegajo tisto, kar smo zajeli v naši raziskavi. Napredovanje področja celične imunoterapije vodi do povečanih potreb po sistemih, ki učinkovito, robustno in na varen način združujejo inducibilno in konstitutivno izražanje genov. Povzeto, naše delo predstavlja pomemben prispevek k razvoju inovativnih celičnih imunoterapij naslednje generacije, kljub temu pa je pot do klinične translacije konceptov ali delov te raziskave še dolga.

Reference:

1. Smole, A. (2022). Cancer immunotherapy with CAR T cells: well-trodden paths and journey along lesser-known routes. *Radiol. Oncol.* 56, 409–419. 10.2478/raon-2022-0049.
2. Grupp, S.A., Kalos, M., Barrett, D., Aplenc, R., Porter, D.L., Rheingold, S.R., Teachey, D.T., Chew, A., Hauck, B., Wright, J.F., et al. (2013). Chimeric Antigen Receptor–Modified T Cells for Acute Lymphoid Leukemia. *N. Engl. J.*

- Med. 368, 1509–1518. 10.1056/nejmoa1215134.
3. Maude, S.L., Laetsch, T.W., Buechner, J., Rives, S., Boyer, M., Bittencourt, H., Bader, P., Verneris, M.R., Stefanski, H.E., Myers, G.D., et al. (2018). Tisagenlecleucel in Children and Young Adults with B-Cell Lymphoblastic Leukemia. *N. Engl. J. Med.* 378, 439–448. 10.1056/nejmoa1709866.
 4. Lee, D.W., Kochenderfer, J.N., Stetler-Stevenson, M., Cui, Y.K., Delbrook, C., Feldman, S.A., Fry, T.J., Orentas, R., Sabatino, M., Shah, N.N., et al. (2015). T cells expressing CD19 chimeric antigen receptors for acute lymphoblastic leukaemia in children and young adults: A phase 1 dose-escalation trial. *Lancet* 385, 517–528. 10.1016/S0140-6736(14)61403-3.
 5. Schuster, S.J., Svoboda, J., Chong, E.A., Nasta, S.D., Mato, A.R., Anak, Ö., Brogdon, J.L., Pruteanu-Malinici, I., Bhoj, V., Landsburg, D., et al. (2017). Chimeric Antigen Receptor T Cells in Refractory B-Cell Lymphomas. *N. Engl. J. Med.* 28, 2545–2554. 10.1056/NEJMoa1708566.
 6. Sommermeyer, D., Hudecek, M., Kosasih, P.L., Gogishvili, T., Maloney, D.G., Turtle, C.J., and Riddell, S.R. (2016). Chimeric antigen receptor-modified T cells derived from defined CD8+ and CD4+ subsets confer superior antitumor reactivity in vivo. *Leukemia* 30, 492–500. 10.1038/leu.2015.247.
 7. Brentjens, R.J., Rivière, I., Park, J.H., Davila, M.L., Wang, X., Stefanski, J., Taylor, C., Yeh, R., Bartido, S., Borquez-Ojeda, O., et al. (2011). Safety and persistence of adoptively transferred autologous CD19-targeted T cells in patients with relapsed or chemotherapy refractory B-cell leukemias. *Blood* 118, 4817–4828. 10.1182/blood-2011-04-348540.
 8. Porter, D.L., Levine, B.L., Kalos, M., Bagg, A., June, C.H., Levine, B.L., Kalos, M., Bagg, A., and June, C.H. (2011). Chimeric Antigen Receptor–Modified T Cells in Chronic Lymphoid Leukemia. *N. Engl. J. Med.* 365, 725–733. 10.1056/nejmoa1103849.
 9. Neelapu, S.S., Locke, F.L., Bartlett, N.L., Lekakis, L.J., Miklos, D.B., Jacobson, C.A., Braunschweig, I., Oluwole, O.O., Siddiqi, T., Lin, Y., et al. (2017). Axicabtagene Ciloleucel CAR T-Cell Therapy in Refractory Large B-Cell Lymphoma. *N. Engl. J. Med.* 377, 2531–2544. 10.1056/nejmoa1707447.
 10. Schuster, S.J., Bishop, M.R., Tam, C.S., Waller, E.K., Borchmann, P., McGuirk, J.P., Jäger, U., Jaglowski, S., Andreadis, C., Westin, J.R., et al. (2019). Tisagenlecleucel in Adult Relapsed or Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *N. Engl. J. Med.* 380, 45–56. 10.1056/nejmoa1804980.
 11. Abramson, J.S., McGree, B., Noyes, S., Plummer, S., Wong, C., Chen, Y.-B., Palmer, E., Albertson, T., Ferry, J.A., Arrillaga-Romany, I.C., et al. (2017). Anti-CD19 CAR T Cells in CNS Diffuse Large-B-Cell Lymphoma. *N. Engl. J. Med.* 377, 783–784. 10.1056/NEJMc1704610.
 12. Kalos, M., Levine, B.L., Porter, D.L., Katz, S., Grupp, S.A., Bagg, A., and June, C.H. (2011). T cells with chimeric antigen receptors have potent antitumor effects and can establish memory in patients with advanced leukemia. *Sci Transl Med* 3, 95ra73. 10.1126/scitranslmed.3002842.
 13. Kochenderfer, J.N., Wilson, W.H., Janik, J.E., Dudley, M.E., Stetler-Stevenson, M., Feldman, S.A., Maric, I., Raffeld, M., Nathan, D.A.N., Lanier, B.J., et al. (2010). Eradication of B-lineage cells and regression of lymphoma in a patient treated with autologous T cells genetically engineered to recognize CD19. *Blood* 116, 4099–4102. 10.1182/blood-2010-04-281931.
 14. Smole, A., Benton, A., Poussin, M.A., Eiva, M.A., Mezzanotte, C., Camisa, B., Greco, B., Sharma, P., Minutolo, N.G., Gray, F., et al. (2022). Expression of inducible factors reprograms CAR-T cells for enhanced function and safety. *Cancer Cell* 40, 1470–1487. 10.1016/j.ccell.2022.11.006.

NETHERTONOV SINDROM

Meta Smerkolj, Andreja Kauran, Gašper Markelj. Klinični oddelek za alergologijo, revmatologijo in klinično imunologijo, Pediatrična Klinika, UKC Ljubljana

UVOD

Nethertonov sindrom (NS), znan tudi kot Comel-Nethertonov sindrom, je bil prvič opisan leta 1949. Gre za redko avtosomno recesivno genodermatozo z značilno diagnostično triado: kongenitalna ihtioziformna eritroderma, bambusna oblika las "trichorrhexis invaginata" in atopijski pojavi.(1) Mutacija SPINK5 gena, ki zapisuje LEKTI beljakovino je bila opisana leta 2000.(2) Patogene različice SPINK5 vodijo v zmanjšanje inhibicije proteolitičnih encimov kože s strani LEKTI beljakovine.(1,3)

Incidenca NS je ocenjena na 1 na 200 000 novorojenčkov, vendar je njegova pogostost verjetno podcenjena zaradi zgodnje neonatalne umrljivosti in podobnosti ostalim kongenitalnim eritrodermam, ihtiozam in atopijskemu dermatitisu.(3)

Zaradi porušene barijerne funkcije kože so bolniki najbolj ogroženi v prvih mesecih življenja zaradi sistemskih okužb, hipernatremske dehidracije in slabšega napredovanja na telesni masi. Kritično je zlasti neonatalno obdobje z visoko obolevnostjo in življenje ogrožajočimi zapleti. Po dopolnjenem 1. letu starosti je ogrožujočih zapletov manj.(1,3,4)

GENETIKA

SPINK5 gen se nahaja na kromosomu 5q32, kodira LEKTI beljakovino, ki je inhibitor serinskih proteaz. Celotna beljakovina se razgradi na več inhibitornih fragmentov. LEKTI je prvi inhibitor serinskih proteaz, ki je primarno udeležen v kožni bolezni ali značilni morfogenezi las.(2,3) Leta 2016 je bil objavljen pregled 80 različnih mutacij tako v eksonskih kot intronskih regijah, ki so bile do takrat opisane pri 172 homozigotnih ali sestavljenih heterozigotnih bolnikih iz 144 družin. Genotipi z mutacijami bližje začetku prepisa LEKTI beljakovine so bili povezani z izraženostjo hujših fenotipov pri bolniki z NS.(3,4,5)

PATOFIZIOLOGIJA

Beljakovina LEKTI se izraža v večini ploščatoceličnih epitelijev: v koži, požiralniku, ustni sluznici, vaginalni in maternični sluznici ter tudi v Hassalovih telescih timusa. V epidermisu se LEKTI izraža v zgornjih granularnih plasteh, najdemo ga tudi v notranjih plasteh lasnega folikla.

Posamezni fragmenti beljakovine zavirajo zunajcelične serinske proteaze (kalikreine - KLK5, KLK6, KLK7, KLK13, KLK14; katepsin, elastazo in kaspazo). Ravnovesje med LEKTI posredovano inhibicijo kalikreinskih proteaz in njihovo proteolitično aktivnostjo omogoča normalno obnovo epidermalne kožne plasti. Ob tem kalikreini sodelujejo tudi pri zagotavljanju lipidne bariere rožene plasti kože, njihova prekomerna aktivnost pa sproža provnetne dejavnike neodvisno od zunanjih sprožiteljev. Poleg kalikreinske aktivnosti, citokini IL-14 in IL-2, ki se sproščajo iz Th2 celic, zavirajo produkcijo protimikrobnih peptidov in prispevajo k bakterijskim okužbam kože.

Mutacija SPINK5 gena vodi v izgubo funkcije LEKTI beljakovine.

Pri NS pomanjkanje funkcije LEKTI proteina vodi v neravnovesje med proteolitičnimi encimi, prezgodnji odstop rožene plasti epidermisa in značilen defekt kožne bariere. Bolniki z NS imajo ob tem spremenjen mikrobiom kože, kjer prevladuje *S. aureus* in *S. epidermidis*, kar dodatno prispeva k neravnovesju in vodi v ponavljajoča vnetja (1).

KLINIČNE ZNAČILNOSTI

Za NS je značilna triada kongenitalne ihtioziformne eritroderme, bambusne spremembe las in dlak "trichorrhaxis invaginata" ter atopijskih pojavov.

Novorojenčki z NS imajo ob rojstvu običajno prisotno različno intenzivno generalizirano rdečico kože z luščenjem. Lasje, obrvi in trepalnice so lahko popolnoma odsotni že ob rojstvu in kasneje izraščajo zelo počasi ali pa so ob rojstvu še prisotni, vendar krajši in lomljivi.

Kritično je neonatalno obdobje z visoko smrtnostjo zaradi življenja ogrožajočih zapletov ob hipernatremični dehidraciji zaradi okvare kožne bariere, hipotermije, ponavljajočih se kožnih, respiratornih in gastrointestinalnih okužb. Zaostanek v rasti je pri bolnikih z NS pogost in je posledica povišanega katabolizma, prisotnosti kroničnega vnetja, malabsorpcije, alergij na hrano in ponavljajočih se okužb. Slednje pogosto vodi v končno nizko rast pri bolnikih z NS. Redko so pri bolnikih z NS opisovali tudi pridružen akutni pankreatitis, akutno bilateralno trombozo renalnih ven in perzistentno pulmonalno hipertenzijo.

Kožne manifestacije so v otroški dobi najbolj intenzivne, kasneje, v najstniškem obdobju in odrasli dobi, pa so ob ustrezni negi kože manj izrazite. Ihtioziformna eritoderma (IE) je lahko generalizirana ali lokalna, pri manjših otrocih je pogostejša na obrazu, kjer sta tudi rdečina in luščenje kože običajno najintenzivnejši. IE se lahko razvije v ihtiozo linearis circumflexa, ki jo sestavljajo eritematozne in serpentinčne migratorne kožne lezije obkrožene z luščenjem. Poslabšanjem s prisotnostjo kožnega vnetja in luščičih sprememb z intenzivno srbečico sledijo obdobja izboljšanja ali remisije. Srbečica je eden izmed glavnih pokazateljev poslabšanja bolezni, pomembno vpliva na spanje, razdražljivost, in ob praskanju povečuje možnost superinfekcije kože.(1)

Spremembe na laseh in dlakah ("bamboo hair", "trichorrhaxis invaginata (TI)") so diagnostično značilne za NS. Pod mikroskopom se vidi značilna invaginacija distalnega dela lasu v proksimalno jamico. Najštevilčnejše spremembe so prisotne na obrveh. Kljub temu, da je sprememba visoko specifična za NS, te značilnosti niso vedno prisotne in se ne pojavljajo na vseh lasnih izrastkih. Pogostost sprememb variira, lahko se pojavijo tudi po prvem letu starosti. Lasje so tanki, redki, kratki, lomljivi in rastejo zelo počasi, enako velja za obrvi trepalnice ter tudi ostale dlake po telesu. Alopecija je lahko difuzna ali lokalizirana na posameznih delih. (1,6) Značilnost bolnikov z NS je tudi atopija. V krvni sliki je pogosta eozinofilija. Bolniki imajo močno povišane vrednosti IgE protiteles, prisotna je dolgotrajna senzibilizacije na prehranske in inhalatorne alergene. Alergijske bolezni dihal - alergijska astma, rinitis, konjunktivitis in angioedem so pogostejše. Prisotni so opisi eozinofilnega ezofagitisa pri bolnikih z NS, ki dodatno pripomore k težavam s hranjenjem in nenapredovanju na na telesni masi.(1)

Redko je NS pridružen idiopatski pankreatitis, o mehanizmu povezave z osnovno boleznijo ni veliko znanega. Do sedaj so bili opisani trije primeri pankreatitisa pri bolnikih z NS: akutni idiopatski pankreatitis pri 14-letni bolnici, ponavljajoči akutni idiopatski pankreatitis pri 28-letnem bolniku s homozigotno mutacijo CFTR gena in kronični pankreatitis pri 11-letnem bolniku z dokazano eksokrino insuficienco pankreasa.(7)

ZAPLETI

Bolniki z NS imajo pogoste ponavljajoče okužbe kože in vek povzročene s *S. aureus-om*. Glivne in virusne okužbe kože, z izjemo HPV okužb v papilomatoznih spremembah, so redke. Drugi kožni zapleti vključujejo lihenifikacijo v flektornih gubah sklepov z zadebelitvijo kože, kot pri atopijskem dermatitisu. NS bolniki lahko imajo velike HPV pozitivne papilomatozne kožne spremembe v presredku in genitoanalni regiji, ki se lahko razvijejo v Buschke-lowensteinov tumor. Poročali so tudi o nekaj primerih bazalnoceličnega karcinoma.

Nenapredovanje na telesni masi in zaostanek v rasti v zgodnjem otroštvu sta posledica prepleta več dejavnikov: povečanega katabolizma, poškodovane kožne bariere, kroničnih ponavljajočih kožnih okužb, vnetij, enteropatije in kronične driske z malabsorpcijo. Hudo prizadeti bolniki z NS nujno potrebujejo ustrezno povečan kalorični in tekočinski vnos ter hipoalergeno dieto že od dojenčkovega obdobja. Kljub

vsem ukrepom, je končna višina bolnikov z NS običajno nižja. Ker se SPINK5 in KLK izražajo tudi v hipofizi je možen molekularna razlaga za nizko rast pri NS, tudi povečana razgradnja ravnega hormona s strani KLK v hipofizi.

ekspresija v hipofizi ter sposobnost KLK, da razgradi ravnega hormon.

Pri bolnikih z NS se opisuje tudi spremembe v delovanju imunskega sistema. Pogosto je prisotna eozinofilija s posameznimi abnormalnostmi v številčnosti T in B limfocitov ter njihovih subpopulacijah. V nekaterih študijah so opisovali zmanjšano funkcijo naravnih celic ubijalk, opisano je tudi znižano število plazmablastov. Celokupne vrednosti imunoglobulinov IgA, IgG in IgM so običajno normalne ali celo povišane, skoraj vedno pa so pomembno povišane vrednosti celokupnih IgE. Nekateri avtorji opazovana imunološka odstopanja pripisujejo kroničnemu vnetju kože in sistemskemu vnetju zaradi porušene kožne bariere. Ekspresija LEKTI v Hassallovih telescih timusa lahko vpiva na spremembo diferenciacije T celic.(1)

ZDRAVLJENJE

Glede na patogenezo NS zdravljenje razdelimo na dve strategiji: ohranjanje čim boljše kožne bariere in modulacija imunskega odziva in alergijskih reakcij s ciljem zmanjšati število okužb kože in zmanjšati sistemski odziv. Zaradi tesne povezave vztrajanja vnetja v koži ob porušeni kožni bariere, je smiselno zdravljenje z obema strategijama hkrati.

Nega kože je podobna kot pri drugih dermatoloških boleznih za katere je značilna poškodovana bariera (luskavica, AD), tarčne ali specifične terapije za NS trenutno ni. Priporočljiva je dnevna nega umivanja z olji, antiseptično milo v primeru akutnih zagonov. Zaradi suhe, luščice kože je potrebna nega z emolijenski in hidratantnimi pripravki. Ob srbečici uporabljamo peroralne antihistaminike brez sedativnega učinka (desloratadine), ki izboljšajo kvaliteto spanja. Poškodovana koža je nagnjena k okužbam, spremenjen je tudi kožni mikrobiom bolnikov s NS. Omejene okužbe kože zdravimo z topikalnimi antibiotiki za krajši čas (1-2 tedna), s čemer se poskusimo izogniti razvoju rezistence. Ob obširnejši okužbi kože z pridruženimi sistemskimi znaki (vročina, limfadenitis) je potrebna ustrezna antibiotična terapija usmerjena proti *S. aureus* in *Streptococcus spec.*.

Uporaba topikalnih sintetičnih steroidov je kot pri ostalih vnetnih dermatoloških boleznih učinkovita tudi pri NS zaradi svojih protivnetnih, imunosupresivnih in antiproliferativnih učinkov. Zaradi obširna prizadetost kože redna uporaba topikalnih kortikosteroidov vodi v večje tveganje za pojav sistemskih neželenih učinkov kortikosteroidne terapije. Za kontrolo kožnega vnetnega procesa so se kot uspešni izkazali tudi inhibitorji kalcinevrina (takrolimus, pimekrolimus). V nekaterih primerih se je fototerapija izkazala za uspešno, vendar se ob poškodovani epidermalni plasti in zmanjšani količini pigmenta ter večji izpostavljenosti UV žarkom poveča tveganje za kožnega raka. Bolniki z NS opisujejo različne izkušnje ob izpostavitvi soncu, večina opisuje poslabšanje najbolj na račun večjega potenja in posledične srbečice, ki poslabša splošno stanje kože, pot namreč vsebuje aktivne KLK. Pri izboru in kombinaciji terapije je potrebna individualna presoja, postopna uvedba in natančno spremljanje ter prilagajanje glede na izboljšanje kožnega vnetja in nadzor nad morebitnimi stranskimi učinki.

V razvoju je terapija, ki bo temeljila na inhibiciji KLK peptidazne aktivnosti z uporabo majhnih proteinskih KLK inhibitorjev, rekombinantnih endogenih serinskih proteinskih inhibitorjev in KLK specifičnih monoklonskih protiteles. Raziskuje se možnosti uporabe imunoterapije, bioloških zdravil kot so adalimumab, anti-TNF- α , dupilumab anti-IL-4R α , secukinumab anti-IL-17A, nadomestne terapije z imunoglobulini in inhibicije JAK/STAT signalnih poti.(1)

Veliko obeta tudi razvoj genske terapije s ciljem obnove ekspresije LEKTI beljakovine s pomočjo dveh pristopov: genski transfer s pomočjo virusnega vektorja ali kot si-MRNA posredovano utišanje genov, ki kodirajo KLK ali provnetnih mediatorjev. Glede nato, da je NS monogenska bolezen je možna obnova gena s ponovnim vnosom divjega tipa SPINK5 gena v keratinocite. Vnos gena je mogoč v dveh oblikah: ex-vivo, in-vivo.(1) Ex-vivo genska terapija je v prvi fazi kliničnega preizkušanja. Gre za uporabo lentivirusnega vektorja, kjer so gensko modificiran graft avtologne epidermalne plasti presadili na kožo s predhodno odstranjenim epidermisom. Metoda se je izkazala kot varna in izvedljiva, vendar je bila obnovljena ekspresija LEKTI beljakovine v presajenem epidermisu zgolj prehodna, trajala je manj kot tri mesece.(1,8) In-vivo genska terapija je v fazi predkliničnega preizkušanja. Gre za uporabo ne-integrativne genske terapije z uporabo HSV-1 posredovane dostave SPINK5 cDNA s topikalno aplikacijo. Prednost metode je, da je neinvazivna in izkorišča okvarjenost kožne bariere pri bolnikih z NS za olajšan dostop obnovljenega gena v kožo.(1)

SLOVENSKA KOHORTA BOLNIKOV

Slovensko kohorto bolnikov predstavlja 7 bolnikov brez medsebojnih sorodstvenih povezav, starih od 1,5 let do 31 let še vedno živih v času objave prispevka.(Tabela 1). Pri 6 bolnikih smo NS genetsko potrdili. V kohorti imamo 4 bolnike s homozigotno patogeno različico, ki imajo različno intenziven potek bolezni. Dva med njimi s patogeno različico c.153del bližje NH2 koncu beljakovine imata srednje hudo klinično sliko. Zelo izrazito klinično sliko smo opazili pri bolnikih z intronsko patogeno različico c.1431-12G>A, ki vodi v razpad mRNA in popolno odsotnost ekspresije LEKTI beljakovine.(9)

Vsi bolniki so imeli težjo klinično sliko v prvih petih letih življenja. Slabše so napredovali na telesni masi, štirje so imeli sistemske bakterijske okužbe v prvih mesecih življenja, nihče takrat ni prejemal profilaktičnega antibiotičnega zdravljenja. V šolskem obdobju in kasneje nihče od bolnikov ni imel hujših bakterijskih okužb. Bolnica s homozigotno patogeno različico c.1431-12G>A ima v naši kohorti najhujšo klinično sliko z multifokalnim osteomielitisom in izrazitim nenapredovanjem na telesni masi.(10) V sedmem mesecu starosti smo zaradi izrazitega neuspevanja v sklopu diagnostike ugotovili nizke vrednosti pankreatične elastaze v blatu. Ob izključitvi drugih vzrokov, smo zaradi suma na eksokrino pankreatično insuficienco v 11 mesecu starosti pričeli z nadomeščanjem pankreatičnih encimov (Kreon). Po njihovi uvedbi, je kljub neoptimalnem kaloričnem vnosu deklica pričela napredovati na telesni teži.(9,10)

Tabela 1 - Klinične in genetske značilnosti bolnikov z Nethertonovim sindromom

Št. bolnika	Trenutna starost	Spol	Starost ob klinični diagnozi	Genotip	Starost ob genetski diagnozi	Klinična slika v predšolskem obdobju	Klinični točkovnik prizadetosti v predšolskem obdobju	Klinična slika v šolskem obdobju in kasneje	Klinični točkovnik prizadetosti v šolskem obdobju in kasneje
1	31 let	M	5 let	c.[891C>T]; [1431-12G>A]	20 let	seboroični dermatitis, generalizirana ihtioziformna eritroderma, ichthyosis linearis circumflexa, septični koksitis, vnetje srednjega ušesa, akutni mastoiditis, nenapredovanje na telesni masi	4	atopijski dermatitis, trichorrhexis nodosa, generalizirana pustuloza	2
2	27 let	M	2 leti	NP	NP	diseboroični dermatitis, nonbullous congenital ichthyosiform erythroderma, ichthyosis linearis circumflexa, atopijski dermatitis, trichorrhexis nodosa, akutni bronhilitis, nenapredovanje na telesni masi	3	trichorrhexis nodosa, ponavljajoča se erythema nodosum	2
3	14 let	Ž	ob rojstvu	C.[153del];[153del]	3 leta	kongenitalna generalizirana ihtioziformna eritroderma, atopijski dermatitis, ponavljajoče se bakterijske okužbe kože, organska acidurija, pseudotumor cerebri po ciklosporinu, nenapredovanje na telesni masi	3	generalizirana ihtioziformna eritroderma, atopijski dermatitis	2

4	13 let	M	6 mes.	c.[1048C>T];[1048C>T]	2 leti	kongenitalna generalizirana ihtioziformna eritroderma, ponavljajoče se bakterijske okužbe kože, virusne bradavice, več seps, ponavljajoče se okužbe očesa, okužba sečil , nenapredovanje na telesni masi	4	dermatitis dlani in stopal ponavljajoči se herpetični ekcem huda bakterijska superinfekcija kože, osteoporoza	3
5	35 mes.	Ž	ob rojstvu	C.[153del];[153del]	2,5 mes.	kongenitalna generalizirana ihtioziformna eritroderma, ponavljajoče se bakterijske okužbe kože, okužbe očesa, okužbe zunanjšega sluhovoda, nenapredovanje na telesni masi	3		
6	20 mes.	Ž	ob rojstvu	c.[1431-12G>A];[1431-12G>A]	1 mes.	kongenitalna generalizirana ihtioziformna eritroderma, kemični pneumonitis, prehodni paralitični ileus, sepsa, septični artritis levega kolka, hematogeni multifokalni osteomielitis nenapredovanje na telesni masi	4		
7	14 mes.	Ž	1 mes.	c.[1156_1157insTG];[1832del]	4 mes.	nonbullous congenital ichthyosiform erythroderma, ponavljajoči se kožni abscesi, ponavljajoče se sepse , vnetje očesa, nenapredovanje na telesni masi	4		

Legenda: NP - ni podatka; hudi bakterijski zapleti so v **odebeljeni pisavi**;

Klinični točkovnik prizadetosti (CSS): 1 - blago opazen eritem, 2 - kožne manifestacije in pridruženi znaki (trichorrhexis invaginata, visoke vrednosti IgE, alergije), 3 - ponavljajoče se okužbe, zaostanek v rasti ali slabše napredovanje na telesni masi, 4 - hude kožne manifestacije in zaostanek v rasti ali slabše napredovanje na telesni masi in/ali težji zapleti bolezni, 5 - pokojni.

ZAKLJUČEK

Ocenjena incidenca NS v Sloveniji glede na našo kohorto je 2,4 na 100 000 novorojenčkov, kar je višje od pričakovane. Boljšo prepoznavo lahko pripišemo dobro vzpostavljeni mreži primarnega varstva in centralizirani obravnavi hudih bolezni v naši državi. V zadnjih letih je k skrajšanju časa do genetske potrditve bolezni pripomogla dostopnost genetske diagnostike na Pediatrični kliniki. Kohorta bolnikov z NS v Sloveniji ima podoben potek in zaplete bolezni kot so opisani v literaturi.

Intronska mutacija SPINK5 c.1431-12G>A vodi v popolno odsotnost ekspresije LEKTI proteina, kar je najverjetnejši razlog težkega poteka NS pri naši bolnici. Zelo verjetno eksokrina insuficienca pankreasa pri naši bolnici predstavlja pomemben dejavnik nenapredovanja. To je tudi prvič opisana pomembna eksokrina insuficienca pankreasa pri bolniku z NS pred prvim letom starosti.

Domnevamo, da bi vsem bolnikom z NS z namenom preprečevanja hujših okužb v prvih mesecih življenja koristila zgodnja profilaktična protimikrobna zaščita in zdravljenje z imunoglobulini.

VIRI

1. E. Petrova, A. Hovnanian. Review: Advances in understanding of Netherton syndrome and therapeutic implications. Expert opinion on orphan drugs 2020, vol. 8, no 11, 455-487.
2. S. Chavanas, et. al. Mutations in SPINK5, encoding a serine protease inhibitor, cause Netherton syndrome. Nat Genet 25, 141–142 (2000).
3. C. A. Sarri et al. Review article. Netherton Syndrome: A Genotype-Phenotype Review. Mol Diagn Ther. 2017
4. N. Bellon et al. The challenging management of a series of 43 infants with Netherton syndrome: unexpected complications and novel mutations. British Journal of Dermatology. March 2021. Volume184, Issue3. Pages 532-537
5. Śmigiel et al. Is c.1431-12G>A a common European mutation of spink5? report of a patient with Netherton Syndrome. Balkan Journal of Medical Genetics. 19(2) March 2016.
6. J. Powell et al. Netherton's syndrome: increased likelihood of diagnosis by examining eyebrow hairs. British Journal of Dermatology 1999; 141: 544-546.
7. P. Machet et al. Case Reports. Exocrine pancreatic insufficiency in a child with Netherton syndrome. Eur J Dermatol. 2016 Jun 1;26(3):311-2.

8. Wei-Li Di et al. Generation and clinical application of gene modified autologous epidermal sheets in Netherton syndrome – lessons learned from a phase 1 trial. *Human Gene Therapy*. 2019 Sep;30(9):1067-1078.
9. M. Smerkolj et al. Pregled bolnikov z Nethertonovim sindromom v Sloveniji v zadnjih 30 letih. Prispevek za 8. slovenski pediatrični kongres z mednarodno udeležbo. Bled, september, 2022.
10. A. Kauran, M. Smerkolj, O. Točkova, M. Homan, N. Emeršič, M. Velkavrh, M. Debeljak, U. Mahne, J. Lozar Krivec, P. Fister, D. Paro Panjan, T. Avčin, G. Markelj. Prikaz primera: slovenska bolnica z Nethertonovim sindromom s težkim kliničnim potekom. 8. SKP. September 2022

SRBEŽ – KLINIČNI PRISTOP

Aleksandra Bergant Suhodolčan. Dermatovenerološka klinika, UKCL, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

Uvod

Srbež (lat. pruritus) je neprijeten kožni dražljaj, ki izzove praskanje. Je najpogostejši dermatološki simptom, ki lahko spremlja številne dermatološke bolezni. Srbež pa se lahko pojavi tudi brez kožnih sprememb v sklopu različnih sistemskih bolezni. Občutek srbeža je subjektiven in ga ne moremo neposredno izmeriti, vemo pa, da ima pomemben vpliv na kakovost življenja bolnikov ¹.

Populacijske raziskave kažejo, da je imelo približno 20% ljudi vsaj enkrat v življenju kronični srbež, ki po definiciji traja vsaj 6 tednov. Prevalenca raste s starostjo. Kar 60% starejših od 65 let naj bi doživljalo občutke srbeža vsak teden. Pogostost srbeža pa je odvisna tudi od pridruženih bolezni in zdravil, ki jih bolnik prejema.

Patogeneza srbeža

Srbež poteka po histaminergični in nehistaminergični poti. Občutek srbeža se prenaša po nemieliniziranih živčnih vlakih tipa C in mieliniziranih živčnih vlaknih tipa Aδ. Te potem potekajo preko spinothalamičnega trakta v talamus, nato pa v korteks ².

Histaminergična pot prevaja pretežno akutni srbež, medtem ko imajo nehistaminergična vlakna vlogo predvsem pri prevajanju kroničnega srbeža. Citokini, ki sodelujejo pri nastanku srbeža so pretežno Th2 citokini, predvsem IL-4, IL-13, IL-31, poleg tega pa še drugi mediatorji, kot so histamin, opioidi, substanca P, katepsini, živčni rastni faktor in drugi ³.

Klasifikacija srbeža

Klinično delimo srbež na dve skupini: srbež ob sočasnem vnetju kože ter srbež brez kožnih sprememb. Ob kroničnem srbežu pa lahko najdemo tudi sekundarne kožne spremembe, ki so povezane predvsem z dolgotrajnim praskanjem in drgnjenjem kože. Sem spadajo ekskoriacije, nodusi pri prurigo nodularis ter lihenifikacija kože (zadebelitev s poudarjeno kožno risbo).

Kožne bolezni, ki povzročajo srbež so številne (Tabela 1). Pri nekaterih boleznih, kot sta npr. koprivnica in atopijski dermatitis, se srbež pojavlja praktično pri vseh bolnikih, prizadene pa tudi bolnike z drugimi kožnimi boleznimi, kot so luskavica, bulozne dermatoze, pa tudi lokalne okužbe in infestacije. Eden od najpogostejših vzrokov srbeža pri starejših je srbež zaradi kseroze (suhe kože), ki je še bolj izrazit v zimskem času in v suhem okolju in se najpogosteje pojavi na golenih.

Druga skupina so bolniki, ki imajo srbež brez kožnih sprememb (Tabela 1). Pri teh so vzrok za srbež v do 25% sistemske bolezni. Srbež se lahko pojavi paraneoplastično, predvsem hematoloških malignomih, ali pa se pojavi pred diagnozo maligne bolezni. Številna zdravila povzročajo srbež. Pri jemanju opioidov se ta pojavi v do 100%, medtem, ko se pojavi pri jemanju zaviralcev ACE v 1-15%. Srbež je pogost tudi pri uporabi nekaterih citostatikov, npr. paklitaksela (10-14%), zaviralcih epidermalnega rastnega faktorja (do 58%) in HES (12,6-54%) ^{1,4}.

Tabela 1: Vzroki srbeža.

Srbež, ki spremlja kožne spremembe	
Kožne bolezni	Vnetne kožne bolezni (atopijski dermatitis, luskavica, bulozne dermatoze...)
	Infestacije (garje) in piki insektov
	Okužbe (bakterijske, virusne, glivne)
	Idiopatska kseroza pri starejših
	Opekline in brazgotine
Srbež brez kožnih sprememb	
Ledvične bolezni	Ledvična odpoved
Jetrne bolezni	Primarni biliarni holangitis
	Holestatska zlatenica
	Hepatitis
	Holestaza v nosečnosti
Hematološke bolezni	Policitemija vera
	Anemija zaradi pomanjkanja železa
	Mastocitoza
	Hodgkinov limfom
	Ne-Hodgkinov limfom
	Multipli mielom
Endokrine in metabolne bolezni	Hipo/hipertiroidizem
	Sladkorna bolezen
	Karcinoid
Avtoimunske bolezni	Dermatomiozitis
	Sklerodermija
	Sjögrenov sindrom
Nevrološke bolezni	Brahioradialni pruritus
	Notalgia paresthetica
	Postherpetična nevralgija
	Multipla skleroza
	CVI
Psihogene motnje	Depresija
	Psihogene ekskoriacije
	Namišljene infestacije (t.i. »delusion of parasitosis«)
	Anoreksija nervosa
Reakcije na zdravila	Opioidi
	Zaviralci epidermalnega rastnega faktorja
	Retinoidi
	HES

Diagnostika

Ključna je natančna anamneza in opredelitev morebitnih primarnih kožnih lezij. Te so lahko generalizirane ali lokalizirane. V kolikor so kožne spremembe prisotne, nadaljujemo diagnostiko kožnih bolezni (histopatološke preiskave, direktna imunofluorescenca, laboratorijske preiskave...). Običajno se ob ustreznem zdravljenju dermatološke bolezni umiri tudi srbež.

Pri bolnikih, ki nimajo kožnih sprememb, razmišljamo o možnih sistemskih vzrokih srbeža. Pridobimo podatke o morebitnih pridruženih boleznih (vključno s psihiatričnimi boleznimi), zdravilih, ki jih bolnik prejema, potovanjih in morebitnem srbežu pri drugih družinskih članih. Iščemo znake sistemske bolezni (tiromegalija, splenomegalija, zlatenica...), tipamo bezgavke.

Predlagana osnovna laboratorijska diagnostika vključuje:^{1,5}

- hemogram z diferencialno krvno sliko (→ izključitev malignomov, mieloproliferativnih bolezni in sideropenične anemije)
- bilirubin, transaminaze, alkalna fosfataza (→ izključitev jetrnih bolezni)
- TSH (→ izključitev ščitničnih obolenj)
- serumska urea in kreatinin (→ izključitev ledvičnih obolenj)
- RTG PC (→ limfadenopatija)

Za dodatno laboratorijsko diagnostiko se odločimo glede na bolnikovo anamnezo, in lahko vključuje serologijo za HIV in hepatitis B in C, preiskave blata na parazite, elektroforezo proteinov, preiskavo blata na kri in druge usmerjene preiskave.

Pri bolnikih, pri katerih ne odkrijemo razloga za srbež, svetujemo kontrolne preglede na približno 4-6 mesecev, ko ponovimo anamnezo, klinični pregled in ustrezne laboratorijske preiskave.

Zdravljenje

Srbež za bolnikom močno krni kakovost življenja. Zdravljenje je sestavljeno iz splošnih ukrepov, ki veljajo za vse bolnike in specifičnega zdravljenja glede na morebitne vzroke srbeža^{4,6,7,8}.

Splošni ukrepi

Srbež lahko poslabšajo dejavniki, kot so suh zrak, vročina, iritanti in stres. Svetujemo uporabo nežnih mil (sindetov), umivanje z mlačno vodo in reden nanos emolientov (vlažilcev kože) takoj po tuširanju. Priporočamo hladnejše okolje, uporabo naravnih materialov za oblačila in izogibanje iritantom, kot so npr. volnena oblačila, čistila. Priporočamo tehnike za obvladovanje stresa, možna pa je tudi kognitivno-vedenjska terapija, s katero preprečujemo praskanje in t.i. cikel srbež-praskanje («itch-scratch cycle»).

Lokalno zdravljenje srbeža

Lokalni pripravki za obvladovanje srbeža vključujejo hladilne losijone, topikalne anestetike, topikalne antihistaminike, kapsaicin in lokalne protivnetne pripravke.

- Občutek hladu ima lahko antipruritični učinek, ker aktivira receptor TRPM8 - receptor za mraz. V ta namen se uporabljajo pripravki s **kalamino**, **mentolom**, ki se lahko na kožo nanašajo večkrat dnevno.
- **Topikalni anestetiki** so uporabni pri zdravljenju lokaliziranega, predvsem nevropatskega srbeža. Uporabljajo se pramoksin, polidokanol in kombinacija lidokaina in prilokaina (EMLA).
- **Topikalni antihistaminiki** (doksepin, difenhidramin) so uporabni pri histaminskem srbežu, npr. po piku insektov.
- **Lokalni protivnetni pripravki** (topikalni kortikosteroidi, zaviralci kalcinevrina, krisaborol) se uporabljajo pri srbežu, ki je povezan z dermatološkimi boleznimi, kot so atopijski dermatitis, kontaktni dermatitisi in luskavica. Njihova uporaba je pri srbežu, ki ni povezan z vnetjem kože, kontraindicirana.
- **Topikalni kapsaicin** lahko dolgotrajno desenzitizira nevrone za številne oblike stimulov in ga lahko uporabljamo za obvladovanje srbeža pri nevropatskem srbežu, kot je notalgia paresthetica, brahioradialni pruritus, postherpetični pruritus.

Sistemsko zdravljenje srbeža

Kot sistemska zdravila pri srbežu uporabljamo številna zdravila, ki vplivajo bodisi na sproščanje histamina, na mediatorje vnetja, receptorje za srbež ali na prevajanje srbeža po živčnih vlaknih. Za vrsto sistemske terapije se odločimo glede na morebiten vzrok srbeža in bolnikove pridružene bolezni.

- Uporaba **sistemskih H1 antihistaminikov** je smiselna pri srbežu, kjer je mediator histamin, kot so npr. urtikarija, mastocitoza in piki insektov. **Sedativni antihistaminiki**, kot je hidrokizin in difenhidramin so pogosto prva linija terapije srbeža, vendar o njihovi učinkovitosti ni zanesljivih dokazov. Bolnikom, ki trpijo zaradi nočnega srbeža koristi predvsem njihov sedativen učinek.
- **Antidepresivi**, kot so mirtazapin, selektivni zaviralci ponovnega prevzema serotonina (SSRI: paroksetin, sertralin...) in triciklinčni antodepresivi so lahko uporabni pri zdravljenju kroničnega srbeža. Več dokazov je za njihovo uporabo pri bolnikih s psihiatričnimi boleznimi, paraneoplastičnem, uremičnem in holestatskem pruritusu.
- **Antikonvulzante**, kot sta gabapentin in pregabalin uporabljamo pri nevropatskem pruritusu, kot sta brahioradialni pruritus in notalgia paresthetica.
- **Zaviralci opioidnih receptorjev μ** (naltrekson) so lahko uporabni pri bolnikih s holestatskim srbežem in srbežem ob kronični ledvični bolezni. Podobno so učinkoviti **agonisti opioidnih receptorjev κ** (nalbufin, difelikefalin – registriran za zdravljenje pruritusa pri ledvičnih bolnikih na hemodializi).
- Ena od možnosti zdravljenja srbeža, predvsem pri bolnikih, ki imajo kontraindikacije za drugo sistemske terapijo, je **phototerapija**. Mehanizem delovanja ni povsem znan, vključeval pa naj bi vpliv na epidermalni opioidni sistem, epidermalne citokine, mastocite in epidermalne živčne končiče. Uporabljajo se tako fototerapija z UVB, kot UVA in PUVA (psoralen + UVA). Med indikacijami so poleg vnetnih kožnih bolezni še prurigo nodularis, uremija, policitemija vera, psihogene ekskoriacije in notalgia paresthetica. Za doseg učinka je potrebno vsaj dvomesečno zdravljenje.
- Pri bolnikih z vnetnimi boleznimi kože, uporaba **imunomodulatornih zdravil** zmanjša tako pojav kožnih sprememb, kot tudi srbeža. Biološka zdravila, ki se uporabljajo pri psoriji (npr. zaviralci interleukina (IL) 17 in 23) izboljšajo srbež pri bolnikih z zmerno do hudo luskavico. Prav tako dupilumab, zaviralec IL-4 in IL-13 zmanjša srbež pri bolnikih z atopijskim dermatitisom, glede na podatke iz raziskav pa tudi pri nekaterih drugih boleznih (prurigo nodularis – že odobren za zdravljenje, ekcem rok, bulozni pemfigoid). Tudi zaviralci janus kinaze, kot sta tofacitinib in baricitinib, so se v raziskavah pri bolnikih z atopijskim dermatitisom in luskavico izkazali kot učinkoviti pri obvladovanju srbeža. Možna terapevtska pot zdravljenja srbeža je tudi inhibicija IL-31, ki je povišan pri bolnikih z atopijskim dermatitisom, prurigo nodularisom, T-celičnim limfomom in buloznim pemfigoidom. Protitelo proti receptorju IL-31 nemolizumab je pri teh bolnikih v študijah pokazalo močen antipruritični učinek.⁷

Zaključek

Srbež je pogost simptom, ki pa lahko močno vpliva na kakovost življenja bolnikov. Pri obravnavi teh bolnikov poskušamo najprej opredeliti vzrok srbeža in ga zdraviti, s tem običajno omilimo ali odpravimo tudi srbež sam. Kadar to no možno, za zdravljenje obstajajo številne možnosti, tako lokalne kot sistemske terapije. V prihodnosti pričakujemo predvsem na področju imunomodulatornih zdravil nove terapevtske možnosti za bolnike s srbežem.

Literatura:

1. Fazio SB, Yosipovitch G, Editors S, et al. Pruritus : Etiology and patient evaluation. *UpToDate*. Published online 2014:1-10. Accessed 15.3.2023.
2. Sutaria N, Adawi W, Goldberg R, Roh YS, Choi J, Kwatra SG. Itch: Pathogenesis and treatment. *J Am Acad Dermatol*. 2022;86(1):17-34.
3. Yang TLB, Kim BS. Pruritus in allergy and immunology. *J Allergy Clin Immunol*. 2019;144(2):353-360.
4. Weisshaar E, Szepietowski JC, Dalgard FJ, et al. European S2k Guideline on Chronic Pruritus. *Acta Derm Venereol*. 2019;99(5):469-506.
5. Nowak D, Yeung J. Diagnosis and treatment of pruritus. *Can Fam Physician*. 2017;63(12).
6. Fowler E, Yosipovitch G. A new generation of treatments for itch. *Acta Derm Venereol*. 2020;100(1):37-45.
7. Misery L, Brenaut E, Pierre O, et al. Chronic itch: emerging treatments following new research concepts. *Br J Pharmacol*. 2021;178(24):4775-4791.
8. Leslie TA, Greaves MW, Yosipovitch G. Current topical and systemic therapies for itch. *Handb Exp Pharmacol*. 2015;226:337-356.

KAJ JE NOVEGA PRI KRPIČNIH TESTIH

Mojca Bizjak. Univerzitetna klinika za pljučne bolezni in alergijo Golnik

UVOD

Epikutane (krpične) teste z osnovno serijo alergenov opravimo, če sumimo na alergijski kontaktni dermatitis. Evropska osnovna serija alergenov (angl. European baseline series, EBS) se spreminja (2015¹, 2019², 2023³). Alergen je potencialni kandidat za vključitev, če izzove pozitivno reakcijo pri več kot 0.5–1.0% testiranih oseb s sumom na alergijski kontaktni dermatitis, je razširjen v okolju in/ali klinično močno relevanten. Evropsko združenje za kontaktni dermatitis (angl. European Society of Contact Dermatitis, ESCD) priporoča odčitanje testov na: (a) dan 2 (D2), D3/D4 in okoli D7 kot optimalno ter (b) D3/D4 in okoli D7 kot dobro alternativo.¹

NAMEN

- (a) Ugotoviti stopnjo senzibilizacije pri osebah s sumom na alergijski kontaktni dermatitis, ki smo jih testirali z alergenih iz EBS in 10 dodatnimi alergenih v obdobju 2019–2021.
- (b) Predlagati posodobitev naše osnovne serije alergenov.

BOLNIKI IN METODE

Na Kliniki Golnik smo med januarjem 2019 in oktobrom 2021 testirali 748 odraslih oseb s sumom na alergijski kontaktni dermatitis. Njihova mediana starost je bila 45 let (IQR 32–59), 74% je bilo žensk. Uporabili smo našo razširjeno osnovno serijo 40 alergenov. Obliže smo namestili na zgornji del hrbta, bolniki pa so si jih sami odstranili po 48 urah. Predhodno so jim svoji z alkoholnim flomastrom ponovno označili robove obližev. Morfološko vrednotenje testov z inspekcijo in palpacijo glede na ICDRG kriterije (angl. International Contact Dermatitis Research Group; **Tabela 1**) smo opravili na D3 ter D6/7. Naša osnovna serija alergenov je vsebovala večino alergenov iz EBS iz leta 2015¹ in 2019² ter 10 dodatnih alergenov, ki so v **Tabeli 2** označeni v krepkem tisku: (a) 7 kozmetičnih alergenov (kokamidopropil betain, tiomersal, bronopol, propilen glikol, diazolidinil urea, imidazolidinil urea, cetearil alkohol), (b) mešanico modrih tekstilnih barv 106/124, (c) rastlinske alergene Compositae mix II in (d) glukokortikoid deksametazon-21-fosfat.⁴

REZULTATI

Vsaj eno pozitivno reakcijo (+, ++ ali +++) je imelo 56% testiranih oseb. Najpogosteje so jih izzvali: nikelj (19.0%), krom (9.6%), metildibromoglutaronitril (9.2%), *Myroxylon pereirae* (8.2%) in mešanica dišav I (7.1%) (**Tabela 2**). Če ne bi opravili poznega odčitanja na D6/7, bi zgrešili 16.6% ($n = 167$) pozitivnih reakcij.

ZAKLJUČEK

Predlagam posodobitev naše osnovne serije (**Tabela 3**). Prvih 32 alergenov (A1–32) v **Tabeli 3** je skladnih z EBS 2023.³ Odstranili bi 7 alergenov: tiomersal, propilen glikol, primin, deksametazon, imidazolidinil ureo, cetearil alkohol in Quaternium-15. **Tiomersal** je poznan kot alergen z nepojasnjeno klinično signifikantnostjo pozitivnih reakcij. **Propilen glikol** je pogosto iritant; 84% naših pozitivnih reakcij je bilo šibko pozitivnih (+). **Primin** je bil odstranjen iz EBS 2019.² Testi z **deksametazonom**, **imidazolidinil ureo** in **cetearil alkoholom** so bili pozitivni pri nizkem odstotku naših testirancev. **Quaternium-15** je od leta 2019 prepovedan v kozmetiki, ki jo proizvedemo v Evropski uniji, zato se predvideva, da bo senzibilizacija s tem alergenom upadla.³

Glede na EBS 2023³ bomo namesto benzokaina pričeli uporabljati **mešanico lokalnih anestetikov III** benzokain, cinhokain in tetrakain (A6) ter naslednje 4 nove alergene (A8, 21, 30 in 32). **2-hidroksietil**

metakrilat (A8) se lahko nahaja v kozmetičnih pripravkih za nohte, trepalnice in lasne podaljške, medicinskih materialih (predvsem v stomatologiji in ortopediji) ter industrijskih materialih (plastika, steklena vlakna, lepila, laki, barve idr.). **Natrijev metabisulfit** (A21) je konzervans, ki se lahko nahaja v ličilih in drugi kozmetiki, barvah za lase, razkužilih, zdravilih, gumijastih rokavicah, usnjenih izdelkih in industrijskih izdelkih.³ **Benzotiazolinon** (A30) je konzervans, ki se lahko nahaja v čistilih, barvah, usnju in industrijskih izdelkih, ne pa v kozmetiki. **Decil glukozid** (A32) se lahko nahaja v čistilih in kozmetiki (npr. šamponih, gelih za tuširanje, sredstvih za zaščito pred soncem, deodorantih, mazilih).

Obdržali bi 5 alergenov (A33, 34, 36, 37 in 39), ki so bili pozitivni pri $\geq 0.5\%$ naših preiskovancev, niso pa navedeni v EBS 2023.³ **Bronopol** (A33), **diazolidinil urea** (A34) ter **kokamidopropil betain** (A39) spadajo med sproščevalce formaldehida, ki se lahko nahajajo v kozmetiki ali industrijskih izdelkih. Alergijska reakcija je usmerjena proti osnovnemu alergenu ali pa sproščenemu formaldehidu.⁵ Le testiranje z 2% formaldehidom (A18) ne zadostuje za ugotovitev preobčutljivosti za sproščevalce formaldehida.⁵ Mešanica rastlin **Compositae mix II** (A36) vsebuje ekstrakte različnih rastlin (rimska kamilica, prava kamilica, navadni rman, navadni vratič, navadna arnika) ter seskviterpen lakton, ki se lahko nahajajo v kozmetiki, oljih in zdravilih. Slovenci takšne izdelke pogosto uporabljamo. Visoka koncentracija peloda teh rastlin lahko sproži celo aerogeni alergijski kontaktni dermatitis. **Mešanica modrih tekstilnih barv 106/124** (A37) vsebuje pogosta tekstilna alergena, ki se lahko nahajata v temnih tkaninah. V nižji koncentraciji ju testiramo tudi v mešanici tekstilnih barv (A31).

V našo osnovno serijo bi vključili še 3 nove alergene, ki so bili opisani kot kandidati za eventuelno vključitev v EBS:³ emulgator **sorbitan seskvioleat** (A35) ter dišavi **linalol hidroperoksid** (A38) in **limonen hidroperoksid** (A40).

Glavna omejitev naše raziskave je odsotnost analize klinične signifikantnosti pozitivnih testov. Kljub temu menim, da ponujamo natančen pregled alergenov, ki so lahko odgovorni za alergijski kontaktni dermatitis v Sloveniji. V bodoče moramo za aplikacijo tekočih alergenov uporabljati mikropipete ($\approx 15 \mu\text{L}$).

Tabela 1. Vrednotenje epikutanih testov

ICDRG oznaka	Interpretacija	Morfologija
-	Negativno	Ni reakcije
?+	Dvomljivo pozitivno	Blag netipen eritem
+	Šibko pozitivno	Tipen eritem, odsotne ali redke papule
++	Močno pozitivno	Eritem, infiltrat, številne papule, vezikule
+++	Ekstremno pozitivno	Intenziven eritem, infiltrat, zlivajoče se vezikule, bule, erozije
IR	Iritativna reakcija	Variabilno (oster rob, ni infiltrata): rjava barva, bule, erozije idr.

Legenda: ICDRG, International Contact Dermatitis Research Group

Tabela 2. Naša osnovna serija (2018–2022) z rezultati testiranja 748 bolnikov

Št.	Alergen	Konc. (%)	Pozitivno n (%)	Primerjava s Tabelo 2
1	Nikljev sulfat	5.0 ^{††}	142 (19.0)	
2	Kalijev dikromat	0.5 ^{††}	72 (9.6)	
3	Metildibromoglutaronitril (MDBGN)	0.5 ^{††}	69 (9.2)	
4	Peru balzam (<i>Myroxylon perei</i>)	25.0 ^{††}	61 (8.2)	
5	Mešanica dišav I (Cinnamyl alcohol, Cinnamal, Hydroxycitronellal, Amyl cinnamal, Geraniol, Eugenol, Isoeugenol, Evernia prunastri)	8.0 ^{††}	53 (7.1)	
6	Kokamidopropil betain	1.0 aq.	50 (6.7)	
7	Metilizotiazolinon in metilkloroizotiazolinon (MI 50 ppm, MCI 150 ppm)	0.02 aq. ^{††}	44 (5.9)	
8	Mešanica tekstilnih barv	6.6 ^{††}	43 (5.7)	
9	Formaldehid	2.0 aq. ^{††}	42 (5.6)	
10	Kolofonija	20.0 ^{††}	38 (5.1)	
11	Mešanica dišav II (Hydroxyisohexyl 3-cyclohexene carboxaldehyde, Citral, Farnesol, Coumarin, Citronellol, Hexyl cinnamal)	14.0 ^{††}	32 (4.3)	
12	Metilizotiazolinon (MI)	0.2 aq. ^{††}	30 (4.0)	
13	Propolis	10.0 [†]	30 (4.0)	
14	Tiomersal	0.1	27 (3.6)	Odstranjen
15	Kobaltov klorid	1.0 ^{††}	27 (3.6)	
16	Mešanica modrih tekstilnih barv 106/124	1.0	27 (3.6)	
17	Lanolinski alkoholi	30.0 ^{††}	23 (3.1)	
18	Parafenilendiamin (PPD)	1.0 ^{††}	22 (2.9)	
19	Neomicin sulfat	20.0 ^{††}	21 (2.8)	
20	2-bromo-2-nitropropane-1,3-diol (bronopol)	0.5	20 (2.7)	
21	Propilen glikol	30.0 aq.	19 (2.5)	Odstranjen
22	Epoksidna smola	1.0 ^{††}	12 (1.6)	
23	Budezonid	0.01 ^{††}	12 (1.6)	
24	Benzokain	5.0 [†]	11 (1.5)	Spremenjen (A6)
24	Mešanica tiuramov	1.0 ^{††}	11 (1.5)	
26	Lyral (Hydroxyisohexyl 3-cyclohexene carboxaldehyde)	5.0 ^{††}	9 (1.2)	
27	Primin	0.01 [†]	8 (1.1)	Odstranjen
28	Mešanica rastlin II (compositae mix)	5.0	6 (0.8)	
29	N-izopropil-N-fenil-parafenilendiamin (IPPD)	0.1 ^{††}	6 (0.8)	
30	Mešanica rastlin I (sesquiterpenelactone mix)	0.1 ^{††}	6 (0.8)	
31	4-terc-butilfenol formaldehidna (PTBP) smola	1.0 ^{††}	5 (0.7)	
32	Diazolidinil urea	2.0	5 (0.7)	
33	Deksametazon-21-fosfat	1.0	5 (0.7)	Odstranjen
34	Quaternium-15	1.0 ^{††}	4 (0.5)	Odstranjen
35	Merkaptobenzotiazol	2.0 ^{††}	4 (0.5)	
36	Imidazolidinil urea	2.0	3 (0.4)	Odstranjen
37	Merkapto mešanica	2.0 ^{††}	2 (0.3)	

38	Tiksokortol pivalat	0.1 ^{††}	2 (0.3)	
39	Parabeni (metil-, etil-, propil-, butil-paraben)	16.0 ^{††}	1 (0.1)	
40	Cetearil alkohol	20.0	1 (0.1)	Odstranjen

Legenda: Dodatni alergeni, ki jih ni bilo v EBS 2015^{†1} ter 2019^{†2}, so v **krepkem tisku**. Alergenski pripravki v vazelinu razen če je navedeno drugače (aq., voda).

Tabela 3. Predlog za posodobitev osnovne serije alergenov (2023)

Št.	Alergen	Konc.(%)
1	Kalijev dikromat	0.5
2	Parafenilendiamin (PPD)	1.0
3	Mešanica tiuramov (TMTM, TMTD, TETD, PTD)	1.0
4	Neomicin sulfat	20.0
5	Kobaltov klorid	1.0
6	Mešanica lokalnih anestetikov III (benzokain, cinhokain [INN dibukain], tetrakain)	10.0
7	Nikljev sulfat	5.0
8	2-hidroksietil metakrilat (2-HEMA)	2.0
9	Kolofonija	20.0
10	Parabeni (metil-, etil-, propil-, butil-paraben)	16.0
11	N-izopropil-N-fenil-parafenilendiamin (IPPD)	0.1
12	Lanolinski alkoholi	30.0
13	Merkapto mešanica	2.0
14	Epoksidna smola	1.0
15	Peru balzam (<i>Myroxylon pereirae</i>)	25.0
16	4-terc-butilfenol formaldehidna (PTBP) smola	1.0
17	Merkaptobenzotiazol	2.0
18	Formaldehid	2.0 aq.
19	Mešanica dišav I (Cinnamyl alcohol, Cinnamal, Hydroxycitronellal, Amyl cinnamal, Geraniol, Eugenol, Isoeugenol, Evernia prunastri)	8.0
20	Mešanica rastlin (sesquiterpenelactone mix)	0.1
21	Natrijev metabisulfit	1.0
22	Propolis	10.0
23	Metilizotiazolinon in metilkloroizotiazolinon (MI 50 ppm, MCI 150 ppm)	0.02 aq.
24	Budezonid	0.01
25	Tiksokortol pivalat	0.1
26	Metildibromoglutaronitril (MDBGN)	0.5
27	Mešanica dišav II (Hydroxyisohexyl 3-cyclohexene carboxaldehyde, Citral, Farnesol, Coumarin, Citronellol, Hexyl cinnamal)	14.0
28	Lyril (Hydroxyisohexyl 3-cyclohexene carboxaldehyde)	5.0
29	Metilizotiazolinon (MI)	0.2 aq.
30	Benzizotiazolinon	0.1
31	Mešanica tekstilnih barv: modra (35/106/124), rumena, oranžna, rdeča	6.6
32	Decil glukozid	5.0
33	Bronopol (2-bromo-2-nitropropane-1,3-diol)	0.5
34	Diazolidinil urea	2.0

35	Sorbitan seskvioleat (SSO)	20.0
36	Mešanica rastlin: Compositae mix II	5.0
37	Mešanica modrih tekstilnih barv 106/124	1.0
38	Linalol hidroperoksid	1.0
39	Kokamidopropil betain	1.0 aq.
40	Limonen hidroperoksid	0.3

Legenda: EBS 2023³ ne vsebuje alergenov 33–40. Alergeni, ki jih bomo pričeli testirati na novo, so označeni v **krepekem tisku**. Alergenski pripravki v vazelinu razen če je navedeno drugače (aq., voda).

LITERATURA

1. Johansen JD, Aalto-Korte K, Agner T, Andersen KE, Bircher A, Bruze M, et al. European Society of Contact Dermatitis guideline for diagnostic patch testing - recommendations on best practice. *Contact Dermatitis*. 2015;73(4):195-221.
2. Wilkinson M, Goncalo M, Aerts O, Badulici S, Bennike NH, Bruynzeel D, et al. The European baseline series and recommended additions: 2019. *Contact Dermatitis*. 2019;80(1):1-4.
3. Wilkinson SM, Goncalo M, Aerts O, Badulici S, Dickel H, Gallo R, et al. The European baseline series and recommended additions: 2023. *Contact Dermatitis*. 2023;88(2):87-92.
4. Bizjak M, Adamic K, Bajrovic N, Erzen R, Jost M, Kopac P, et al. Patch testing with the European baseline series and 10 added allergens: Single-centre study of 748 patients. *Contact Dermatitis*. 2022;87(5):439-446.
5. Whitehouse H, Uter W, Geier J, Ballmer-Weber B, Bauer A, Cooper S, et al. Formaldehyde 2% is not a useful means of detecting allergy to formaldehyde releasers- results of the ESSCA network, 2015-2018. *Contact Dermatitis*. 2021;84(2):95-102.

PRIMERJAVA LESTVIC ZA OCENO TEŽE AKUTNIH ALERGIJSKIH REAKCIJ

Mark Kačar. Univerzitetna klinika za pljučne bolezni in alergijo Golnik; Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

UVOD

Anafilaksija je huda in potencialno življenje ogrožajoča alergijska reakcija. Običajno zajame več organskih sistemov, kot so koža, dihalna, srce in ožilje ter prebavila, in lahko povzroči različne simptome, od koprivnice, srbenja in otekanja do oteženega dihanja, tahikardije, hipotenzije in šoka. V hujših primerih lahko nezdravljena anafilaksija privede do respiratornega ali srčnega zastoja in smrti.

Kljub dejstvu, da je anafilaksija obče znana klinična entiteta, obstaja več definicij in kriterijev za postavitve diagnoze, ki so si med seboj podobni, a se obenem med seboj tudi pomembno razlikujejo. V Sloveniji se najpogosteje uporabljajo diagnostični kriteriji NIAID/FAAN, čigar uporabo priporoča tudi EAACI v najnovejših smernicah za obravnavo anafilaksije.^(1,2) Po teh kriterijih je anafilaksija visoko verjetna, če je izpolnjen kateri koli od naslednjih treh kriterijev:

1. Akutni začetek bolezni (od nekaj minut do nekaj ur) s prizadetostjo kože, sluznice ali obojega (npr. generalizirana koprivnica, srbečica ali rdečina, otekle ustnice, jezik, uvula in vsaj eden od naslednjih dejavnikov:
 - a. prizadetost dihal (npr. dispneja, piskanje, bronhospazem, stridor, zmanjšan PEF in hipoksemija)
 - b. znižan krvni tlak ali pridruženi simptomi motenj v delovanju tarčnih organov (npr. hipotonija [kolaps], sinkopa, inkontinenca)
2. Dva ali več od naslednjih simptomov, ki se pojavijo hitro po izpostavljenosti verjetnemu alergenu za tega bolnika (od nekaj minut do nekaj ur):
 - a. prizadetost kože in sluznice (npr. splošna koprivnica, srbenje, rdečina, otekle ustnice, jezik, uvula)
 - b. ogroženo dihanje (npr. dispneja, piskanje, bronhospazem, stridor, zmanjšan PEF, hipoksemija)
 - c. znižan krvni tlak ali z njim povezani simptomi (npr. hipotonija [kolaps], sinkopa, inkontinenca)
 - d. vztrajni prebavni simptomi (npr. krčevita bolečina v trebuhu, bruhanje)
3. Znižan krvni tlak po izpostavljenosti za tega bolnika znanemu alergenu (od nekaj minut do nekaj ur):
 - a. Dojenčki in otroci: nizek sistolični krvni tlak (odvisno od starosti) ali > 30 % znižanje sistoličnega krvnega tlaka
 - b. Odrasli: sistolični tlak <90 mmHg ali >30-odstotno znižanje glede na izhodiščno vrednost.

V ameriški literaturi se pogosto uporabljajo kriteriji svetovne alergološke organizacije (WAO), ki kot anafilaktične smatra tudi reakcije z izolirano prizadetostjo dihal (bronhospazem, stridor) brez pridružene prizadetosti drugih organskih sistemov, prav tako pa je za anafilaksijo potrebna izpostavljenost le verjetnemu (in ne za posameznika znanemu) alergenu.

Še večje razlike obstajajo na področju lestvic za ocenjevanje resnosti anafilaksije in akutnih alergijskih reakcij nasploh. Nedavno objavljeni pregledni članek je identificiral kar 31 različnih lestvic, ki se med seboj razlikujejo v namembnosti (študije ali klinična praksa), so specifične za okolje (npr. perioperativno, oralna provokacija) ali alergen (npr. strup kožekrilcev). V Sloveniji se najpogosteje uporabljajo lestvica po Muellerju, Ring & Messmerju, Brownu, Sampsonu in WAO 2017(3–7).

Cilj tega prispevka je predstaviti lastnosti »optimalne lestvice« ter z njo primerjati že obstoječe lestvice z namenom racionalno uskladiti uporabo lestvic v klinični praksi ter študijah v Sloveniji.

KAKŠNA BI BILA OPTIMALNA LESTVICA?

Optimalna lestvica bi morala pokazati, da je resnost akutnih alergijskih reakcij na kontinuumu od blagih do smrtnih. Reakcij ne razvršča preprosto v anafilaktične ali neanafilaktične, saj se lahko diagnostična merila za anafilaksijo sčasoma spremenijo in ker se lahko število prizadetih organskih sistemov med kliničnim potekom bolnika spreminja.

Znaki in simptomi, vključeni v optimalni sistem razvrščanja resnosti, morajo biti zlahka prepoznavni v klinični oskrbi ter merljivi in objektivni z namenom konsistentnega poročanja med ocenjevalci.

Simptomi, vključeni v vsako stopnjo resnosti, morajo predstavljati enakovredno ali skoraj enakovredno resnost reakcije, vendar pa lahko znotraj vsakega razreda obstaja spekter resnosti bolezni, kar botruje uporabi podrazredov za natančnejšo opredelitev težav.

Optimalna lestvica mora razlikovati med resnostjo in številom vpletenih organskih sistemov, saj lahko pride do življenjsko nevarnih reakcij z izolirano vpletenostjo le enega organskega sistema (npr. izolirana dihalna odpoved).

Optimalna lestvica ne bi smela vključevati rutinskih terapij za alergijske reakcije (intramuskularni adrenalin, inhalacije beta-agonistov ali dodatni kisik) ali odziva na terapije, saj je uporaba teh terapij lahko odvisna od razpoložljivosti zdravil in regionalnih razlik v klinični praksi. Optimalna lestvica ne bi smela vključevati trajanja simptomov (kateri simptom? Trajanje z ali brez terapije?), morala bi biti intuitivna za uporabo v klinični praksi, njene stopnje resnosti (1-5) pa naj odražajo logično napredovanje resnosti bolezni.

Nazadnje mora biti optimalna lestvica široko uporabna v različnih kliničnih okoljih, z različnimi alergeni in pri bolnikih vseh starosti (vključno z dojenčki, majhnimi otroki, odraslimi in starejšimi).

MUELLER, 1966(3)

Prva širše uporabljena lestvica je bila objavljena leta 1966 v Journal of Asthma Research v članku, ki je preučeval reakcije po pikih kožekrilcev. Avtor, pediater s posebnim zanimanjem za alergijo za pik kožekrilcev, je reakcije razdelil na štiri stopnje, za hude je smatral stopnje 3 in 4:

1. Blaga sistemska reakcija (generalizirana urtikarija, srbečica, slabo počutje in tesnoba)
2. Sistemska reakcija (katerikoli iz 1. kategorije ter 2 ali več od: a. generaliziran edem, b. tiščanje v prsnem košu, c. piskanje, d. bolečine v trebuhu, slabost, bruhanje, e. vrtoglavica)
3. Huda sistemska reakcija (katerikoli iz 1. ali 2. stopnje ter dva ali več od: a. dispneja, b. disfagija, c. hripavost ali dizartrija, d. zmedenost, e. občutek grozeče pogube)
4. Šokovna reakcija (katerikoli iz 1., 2. ali 3. stopnje ter dva ali več od: a. cianoza, b. hipotenzija, c. kolaps, d. inkontinenca, e. nezavest)

Lestvica je osnovana na mnenju strokovnjaka, namenjena je le ocenjevanju anafilaksije po piku kožekrilca, več kot ¾ vseh preiskovancev v izvornem članku je bilo pediatričnih. Nekatero postavko so slabo definirane (npr. hipotenzija, dispneja), na osnovi subjektivnih težav lahko posameznik doseže tudi 3. stopnjo. Lestvica enači prizadetost več organskih sistemov s hujšo stopnjo reakcije, znotraj posamezne stopnje so uvrščeni znaki in simptomi različne resnosti.

RING IN MESSMER, 1977(4)

Druga pogosto uporabljena lestvica je bila objavljena leta 1977 v The Lancet z namenom ocenjevati resnost anafilaksije zaradi intravenske uporabe koloidov. Za hude reakcije, pri katerih je potrebno takojšnje zdravljenje, se smatrajo reakcije III in IV stopnje:

- I. Kožni simptomi in/ali blaga vročinska reakcija
- II. Merljivi, a ne smrtno nevarni kardiovaskularni (tahikardija, hipotenzija), gastrointestinalni (slabost) ali respiratorni simptomi
- III. Šok, smrtno nevaren spazem gladkih mišic (bronhi, maternica itd.)
- IV. Srčni ali dihalni zastoj

Tudi ta lestvica temelji na mnenju strokovnjakov, poleg reakcij po infuziji koloidov pa se je kasneje uveljavila pri vrednotenju preobčutljivostih reakcij ne glede na alergen. Veliko od ocenjevanih postavk je slabo definiranih (hipotenzija, respiratorni simptomi), marsikateri pogosti simptomi niso vključeni v

lestvico, nekateri znaki hude reakcije (npr. hipotenzija) so uvrščeni v stopnjo II, medtem ko so drugi, značilni tudi za blažje reakcije (npr. spazem maternice) uvrščeni višje.

BROWN, 2004(5)

Lestvica, ki jo je predlagal Brown leta 2004 v Journal of Allergy and Clinical Immunology, je bila razvita na osnovi retrospektivne analize 1149 primerov akutne sistemske preobčutljivostne reakcije. Avtor je z logistično regresijsko analizo identificiral znake in simptome, povezane s hipoksemijo (cianoza ali saturacija < 92%) in/ali hipotenzijo (sistolni krvni tlak < 90mmHg), ter jih nato glede na razmerje obetov razvrstil v tri stopnje:

1. Blaga – prizadetost kože ali podkožnih tkiv (generalizirana rdečina, urtikarija, periorbitalni edem, angioedem)
2. Zmerna – znaki prizadetosti dihal, kardiovaskularnega sistema ali prebavil (dispneja, stridor, piskanje, slabost, bruhanje, presinkopa, znojenje, tiščanje v grlu ali prsnem košu, bolečine v trebuhu)
3. Huda – hipoksija, hipotenzija, nevrološki kompromis (cianoza ali saturacija < 92%, hipotenzija < 90mmHg, zmedenost, kolaps, nezavest, inkontinenca)

Lestvica je namenjena predvsem klinični uporabi in je pogosto uporabljena v angleško govorečih državah. Osnovana je na statistični analizi velike, heterogene skupine bolnikov in ne na mnenju strokovnjaka. Ni omejena na sprožilec, populacijo ali okolje. Nekatere postavke so slabo definirane (npr. hipotenzija za pediatrične primere, zmedenost namesto GCS), nekatere postavke niso vključene v lestvico. Uporabnost lestvice v klinični praksi pride na račun (pre)nizke natančnosti za uporabo v kliničnih študijah.

SAMPSON, 2012(7)

Z namenom standardizacije poročanja o izidih dvojno slepljenih s placebom kontroliranega provokacijskega testiranja s hrano je Sampson s kolegi leta 2012 v Journal of Allergy and Clinical Immunology objavil lestvico, ki ocenjuje prizadetost petih organskih sistemov (koža, zgornja in spodnja dihalna, prebavila ter krvožilni sistem/osrednje živčevje) v štirih stopnjah (0-3). Lestvica, osnovana na mnenju strokovnjakov, ocenjuje izid provokacijskega testiranja in obenem omogoča odločanje o njegovem nadaljevanju ob pojavu simptomov na vsaki stopnji testiranja. Lestvica stopnje razdeli na »zelene« (testiranje se lahko nadaljuje), »oranžne« (možno nadaljevanje ali opustitev testiranja, podaljšanje intervala med stopnjami, ponovitev prejšnje stopnje) in »rdeče« (konec testiranja), končni rezultat pa je podan kot seznam, ki našteva stopnje prizadetosti glede na simptom ali organski sistem. Rezultat tako poda veliko količino podatkov, ne pa končnega seštevka, ki bi natančneje opredelil stopnjo reakcije. Posamezne postavke v lestvici so natančno definirane, so pa v posamezne barvne stopnje vključene reakcije različnih resnosti (npr. tako huda rinoreja kot šok spadata v »rdečo« kategorijo). Test je minimalno podvržen subjektivni interpretaciji preiskovanca ali preiskovalca.

Uporaba lestvice je zamudna in ni intuitivna, zato je primerna predvsem za klinične študije. Kljub dejstvu, da je bila razvita za vrednotenje rezultatov oralnega provokacijskega testiranja s hrano, se je lestvica kasneje uveljavila tudi pri drugih provokacijskih testih in imunoterapiji.

WORLD ALLERGY ORGANIZATION 2010 IN 2017(6,8)

Linda Cox in sodelavci so leta 2010 predlagali lestvico za ocenjevanje reakcij ob subkutani imunoterapiji, kasneje pa so jo validirali še za sublingvalno terapijo. Leta 2017 so objavili prilagojeno lestvico, primerno za širšo uporabo ne glede na alergen ali situacijo. Prilagojena lestvica stratificira reakcije na 5 stopenj, kot anafilaksija se smatrata stopnji 4 in 5:

1. stopnja: prizadetost enega organskega sistema
 - a. Koža (urtikarija, rdečina, srbečica kože, mravljinčenje ali srbečica ustnic, angioedem (ne oteklina grla) ALI
 - b. Zgornja dihalna (kihanje, rinoreja, srbečica nosu, zamašen nos, srbeče žrelo, kašelj brez bronhospazma) ALI
 - c. rdeče ali srbeče oči, solzenje ALI
 - d. slabost, kovinski okus v ustih

2. stopnja: prizadetost dveh ali več zgoraj omenjenih organskih sistemov
3. stopnja:
 - a. spodnja dihala (blag bronhospazem – kašelj, piskanje, težka sapa, odzivni na terapijo)
 - b. prebavila (krči v trebuhu [tudi maternica], bruhanje, driska)
4. stopnja:
 - a. spodnja dihala (hud bronhospazem brez odziva na terapijo)
 - b. zgornja dihala (edem grla s stridorjem)
5. stopnja:
 - a. spodnja ali zgornja dihala (respiratorna odpoved)
 - b. kardiovaskularni sistem (kolaps, hipotenzija [$< 90\text{mmHg}$ ali padec $> 30\%$], nezavest)

Končna stopnja je enaka stopnji najhujšega simptoma, dodamo ji še pripono glede na interval med stikom in reakcijo ($a \leq 5\text{min}$; $5\text{min} < b \leq 10\text{min}$; $10\text{min} < c \leq 20\text{min}$; $d > 20\text{min}$) ter pripono »z«, če adrenalin ni bil uporabljen.

Na mnenju strokovnjakov osnovana lestvica WAO 2017 je namenjena ocenjevanju vseh akutnih preobčutljivostnih reakcij ne glede na alergen ali situacijo. Za razliko od prejšnje različice so postavke bolje definirane in ocena je manj podvržena subjektivni interpretaciji. Obenem predstavlja lestvica tudi novo definicijo anafilaksije (stopnji 4 in 5), ki pa ni bila širše sprejeta. Lestvica vključuje tudi odziv na terapijo, posebne kategorije pa so dodeljene tudi glede na trajanje reakcije. Lestvica je obenem preveč kompleksna za rutinsko klinično rabo ter premalo natančna za raziskovalne namene.

DRIBIN, 2021(9)

Leta 2021 je Dribin s kolegi objavil najnovejšo lestvico za oceno resnosti akutnih preobčutljivostnih reakcij, ki je bila obenem tudi prva, osnovana na konsenzni metodi Delphi. Prvi korak pri razvoju lestvice je bila identifikacija vseh obstoječih ter opredelitev njihovih šibkosti in prednosti. Na osnovi teh je 21 izvedencev s področja alergologije in urgentne medicine razvilo točkovni sistem, ki bi bil najbližje optimalnemu. Razvili so lestvico s petimi stopnjami, ki predstavljajo kontinuum preobčutljivosti:

1. stopnja:
 - a. blaga prizadetost kože (srbež; nelagodnje na koži; občasno lokalizirano praskanje; urtikarija ali rdečina, ki zajemata $< 50\%$ telesne površine),
 - b. blaga prizadetost prebavil (slabost, bolečine v trebuhu, 1-2 epizodi driske ali bruhanja. Dojenčki: novonastalo polivanje, kolcanje, sločenje hrbta) ali
 - c. blaga prizadetost sluznic (mravljinčenje v ustih, srbenje v ustih ali grlu, kovinski okus, oteklina obraza; pordelost ali oteklina veznic; zamašen nos; rinoreja; odhrkavanje; oteklina ustnic; blaga oteklina jezika, mehkega neba in/ali uvule (anatomski mejniki so ohranjeni). Dojenčki: potiskanje ali vlečenje jezika, ponavljajoče drgnjenje ustnic, ušes ali oči)
2. stopnja:
 - a. blaga prizadetost dveh organskih sistemov 1. stopnje,
 - b. zmerna prizadetost kože (neprekinjeno praskanje po celotnem telesu, generalizirana urtikarija ali rdečina ($> 50\%$ telesne površine),
 - c. zmerna prizadetost sluznic (slinjenje; zmerno otekanje jezika, mehkega neba in/ali uvule (anatomski mejniki so nejasni). Dojenčki: izrazito povečano slinjenje)
 - d. zmerna prizadetost prebavil (pogosta/stalna slabost ali bolečine v trebuhu, stiska zaradi prebavnih simptomov, ≥ 3 epizode bruhanja ali driske oz. po dve epizodi vsakega od njiju)
3. stopnja:
 - a. blaga prizadetost kardiovaskularnega sistema (šibkost, vrtoglavica, presinkopa, palpitacije, zamegljen vid. Dojenčki: tahikardija, ki ni povezana z drugimi vzroki, kot so jok, nelagodje ali zdravila),
 - b. blaga prizadetost osrednjega živčevja (blaga zmedenost, zaspanost, občutek bližajoče se pogube. Dojenčki: vztrajna in nepojasnjena razdražljivost, neutolažljiv jok ali zmanjšana aktivnost) ali

- c. blaga prizadetost dihal (tiščanje v prsih, dispneja, novonastali kašelj, tiščanje ali nelagodje v grlu, sprememba glasu, piskanje brez povečanega dihalnega dela. Dojenčki: lajajoč kašelj, hripav jok)
- 4. stopnja:
 - a. huda prizadetost sluznic (huda oteklina jezika, mehkega neba in/ali uvule (popolna izguba anatomskih mejnikov),
 - b. zmerna prizadetost kardiovaskularnega sistema (hipotenzija, sinkopa (kolaps). Dojenčki: marmoriranost, cianoza),
 - c. zmerna prizadetost osrednjega živčevja (rezultat Glasgow coma score (GCS) od 13 do 14. Dojenčki: letargija) ali
 - d. zmerna prizadetost dihal (novonastali vztrajni kašelj, povečano dihalno delo, hipoksemija, stridor brez povečanega dihalnega dela, piskanje s povečanim dihalnim delom)
- 5. stopnja:
 - a. huda prizadetost kardiovaskularnega sistema (anafilaktični šok, srčni zastoj. Dojenčki: hipotenzija),
 - b. huda prizadetost osrednjega živčevja (ocena GCS < 13, epileptični napad. Dojenčki: novonastala hipotonija) ali
 - c. huda prizadetost dihal (respiratorna odpoved, bronhospazem s tihim prsnim košem pri avskultaciji IN povečanim dihalnim delom, stridor s povečanim dihalnim delom)

Omenjena lestvica je rezultat procesa Delphi, razvitega z namenom zmanjšati pristranskost mnenja posameznega strokovnjaka, res pa da vsi vključeni strokovnjaki prihajajo iz relativno homogene geografske regije (SV ZDA). Razvita je bila načrtno, po opravljenem pregledu obstoječih lestvic in identifikaciji njihovih šibkosti. Njena prednost je, da je neodvisna od definicije anafilaksije in namenjena za uporabo v klinični praksi in študijske namene. Kategorije so dobro definirane in predstavljajo spektrum od blage do smrtonosne reakcije, terminologija in definicije so zelo natančne. Kljub temu pa tudi ta lestvica upošteva uporabljena zdravila, do določene mere (t.j. stopnja 3) je odvisna od subjektivnih rezultatov, nekatere od postavk pa so ekstrapolirane iz definicij drugih bolezni (GCS in sistolni tlak iz SOFA točkovnika za sepsa). Avtorji eksplicitno poudarjajo tudi, da lestvica ni namenjena odločanju o morebitnih terapevtskih intervencijah, temveč le natančnejšemu poročanju o akutnih preobčutljivostnih reakcijah.

PRIMERJAVA LESTVIC V PRAKSI

Za primerjavo kliničnih lestvic (Mueller, Ring & Messmer, Brown, WAO 2017 in Dribin) smo retrospektivno primerjali indeksne reakcije naključno izbranih posameznikov iz registra »Celostna obravnava alergijskih bolezni in astme v Sloveniji: od epidemiologije do genetike – učinkovitost, varnost in mehanizmi imunoterapije s strupi kožekrilcev«. Gre za register vseh posameznikov, obravnavanih na UKPA Golnik zaradi alergije za strup kožekrilca, odobren s strani Komisije za medicinsko etiko RS.

	Mueller	Ring & Messmer	Brown	WAO 2017	Dribin	Konsenz
Huda	24	15	27	24	24	24
Ne huda	81	90	81	81	81	81
0	20	18	20	17	2	
1	33	19	18	4	16	
2	28	53	40	30	16	
3	16	15	27	30	47	
4	8	0		2	12	
5				22	12	
Ujemanje s konsenzom	81%	91.4%	95.2%	100%	100%	

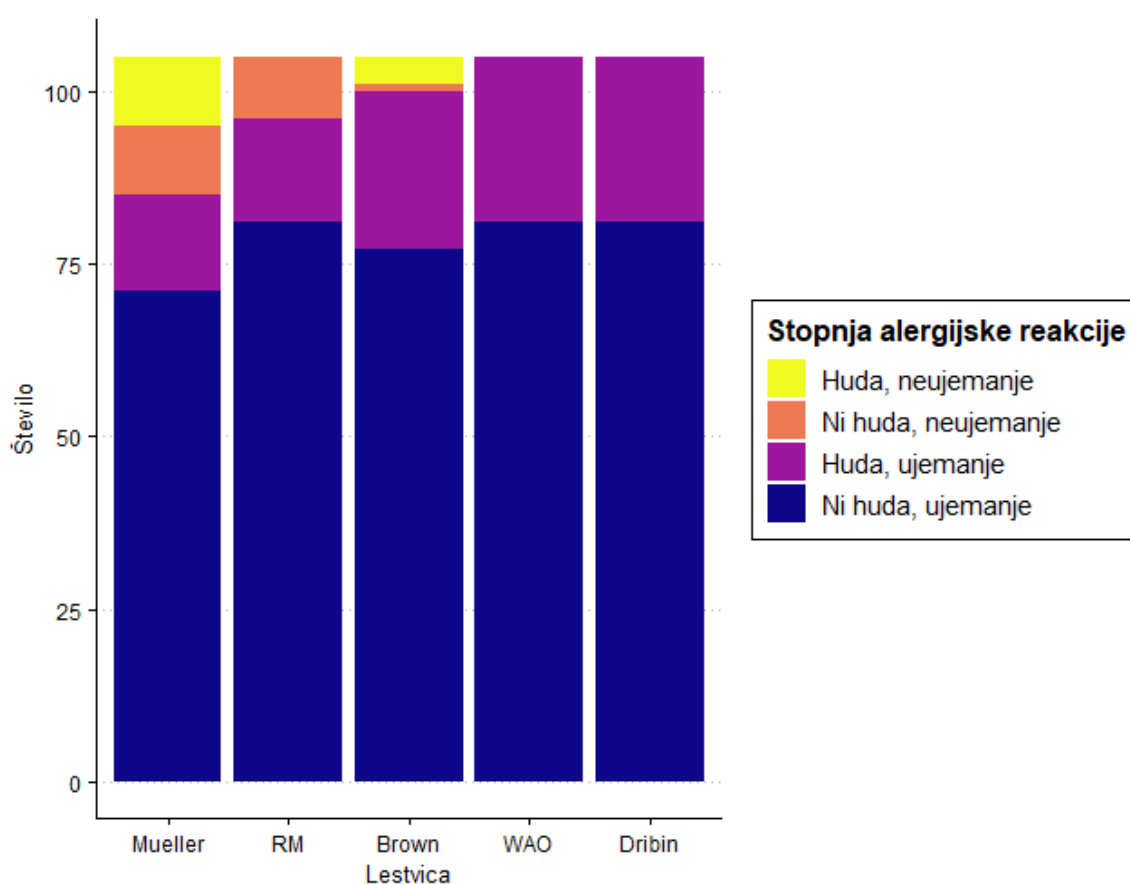
Tabela 1: Primerjava lestvic za ocenjevanje anafilaksije.

V analizo smo vključili 105 posameznikov (od tega 50 žensk). Povprečna starost preiskovancev je bila 46.6 let (razpon 2-80). Povzročitelj preobčutljivostne reakcije je bila čebela v 49% (n=51), osa v 28.6%(n=30), sršen v 15.2% (n=16) in neznan v 7.6% (n=8).

V nadaljevanju smo pri vseh preiskovancih ocenili stopnjo reakcije po petih v klinični praksi najpogosteje uporabljenih lestvicah – Mueller, Ring & Messmer, Brown, Dribin in WAO 2017.

Ker posamezne stopnje niso bile primerljive med lestvicami, smo rezultate pretvorili v eno od dveh kategorij resnosti – »huda« in »ne huda«. Identificirali smo 80 posameznikov, kjer so bili rezultati vseh petih lestvic enaki, pri 25 pa se rezultati niso ujeli. Za vsakega preiskovanca smo generirali konsenzni rezultat (t.j. izid je enak v treh ali več lestvicah), nato pa vsako lestvico primerjali z le-tim. Upoštevanje konsenz petih lestvic je 22.9% (n=24) imelo hudo, 77.1% (n=81) pa blago ali zmerno reakcijo. Ujemanje s konsenzom je bilo najnižje (81%) pri uporabi Muellerjeve lestvice in najvišje (100%) pri uporabi lestvic WAO ter Dribin.

Rezultati analize so prikazani v [Tabeli 1](#) in [Sliki 1](#).



Slika 1: Grafični prikaz ujemanja rezultatov posamezne lestvice s konsenzom. Seštevek spodnjih dveh kategorij (»Ni huda, ujemanje« in »Huda, ujemanje«) prikazuje celotno raven ujemanja.

ZAKLJUČEK

Natančna ocena resnosti akutnih alergijskih reakcij je pomembna za bolnike, zdravnike in raziskovalce. Večina obstoječih lestvic je bila razvitih za poročanje o akutnih alergijskih reakcijah za določen alergen ali situacijo, najpogosteje pa so osnovane na mnenju strokovnjakov. Te lestvice so le redko eksterno validirane, kar predstavlja ključen korak za standardizacijo spremljanja resnosti alergijske reakcije. V prispevku smo predstavili v Sloveniji najpogosteje uporabljene lestvice za ocenjevanje resnosti anafilaksije, njihove slabosti in prednosti. Predstavili smo tudi novejšo lestvico, razvito z namenom čim bolj zmanjšati pomanjkljivosti svojih predhodnikov. Kljub dejstvu, da ima tudi ta lestvica nekatere

pomanjkljivosti, so le-te odraz kompromisa, ki je potreben za formulacijo sistema, primernega tako za klinično, kot tudi raziskovalno prakso.

Primerjava lestvic na kohorti pravih bolnikov je pokazala relativno neadekvatnost dveh najpopularnejših lestvic (Mueller ter Ring & Messmer) in bi lahko služila kot racionalna osnova za harmonizacijo poročanja o akutnih alergijskih reakcijah v Sloveniji. Čeprav avtor tega prispevka meni, da je lestvica po Dribinu najbližja idealni, je pomembnejša univerzalna uporaba katerekoli, kot pa individualna uporaba specifične lestvice.

LITERATURA

1. Muraro A, Worm M, Alviani C, Cardona V, DunnGalvin A, Garvey LH, et al. EAACI guidelines: Anaphylaxis (2021 update). *Allergy* [Internet]. 2022 Feb 1;77(2):357–77. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/all.15032>
2. Sampson HA, Muñoz-Furlong A, Campbell RL, Adkinson NF, Bock SA, Branum A, et al. Second symposium on the definition and management of anaphylaxis: Summary report - Second National Institute of Allergy and Infectious Disease/Food Allergy and Anaphylaxis Network symposium. In: *Journal of Allergy and Clinical Immunology* [Internet]. Mosby; 2006 [cited 2023 Jan 27]. p. 391–7. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674905027235>
3. Mueller HL. Diagnosis and Treatment of Insect Sensitivity. *J Asthma Res* [Internet]. 1966 Jan 2 [cited 2021 Jul 14];3(4):331–3. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/02770906609106941>
4. Ring J, Messmer K. Incidence And Severity Of Anaphylactoid Reactions To Colloid Volume Substitutes. *Lancet* [Internet]. 1977 Feb;309(8009):466–9. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673677919535>
5. Brown SGA. Clinical features and severity grading of anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2004 Aug;114(2):371–6. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674904013983>
6. Cox LS, Sanchez-Borges M, Lockey RF. World Allergy Organization Systemic Allergic Reaction Grading System: Is a Modification Needed? *J Allergy Clin Immunol Pract* [Internet]. 2017;5(1):58-62.e5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaip.2016.11.009>
7. Sampson HA, Gerth Van Wijk R, Bindslev-Jensen C, Sicherer S, Teuber SS, Burks AW, et al. Standardizing double-blind, placebo-controlled oral food challenges: American Academy of Allergy, Asthma & Immunology-European Academy of Allergy and Clinical Immunology PRACTALL consensus report. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2012;130(6):1260–74. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2012.10.017>
8. Cox L, Larenas-Linnemann D, Lockey RF, Passalacqua G. Speaking the same language: The World Allergy Organization Subcutaneous Immunotherapy Systemic Reaction Grading System. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2010;125(3):569-574.e7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2009.10.060>
9. Dribin TE, Schnadower D, Spergel JM, Campbell RL, Shaker M, Neuman MI, et al. Severity grading system for acute allergic reactions: A multidisciplinary Delphi study. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2021 Jul;148(1):173–81. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2021.01.003>

INTERPRETACIJA SMERNIC ZA ALERGIJO PO PIKIH ŽUŽELK

Mitja Košnik, Mihaela Zidarn, Peter Kopač. Univerzitetna klinika za pljučne bolezni in alergijo, Golnik; Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

Trenutno veljavne smernice EAACI za imunoterapijo bolnikov alergičnih za strupe kožekrilcev (VIT) so bile objavljene leta 2017 (1). V teh smernicah ni jasne opredelitve do obravnave bolnikov z mastocitozo in bolnikov s povišanim osnovnim nivojem triptaze.

V naslednjih letih po izidu smernic je postalo jasno, da je indolentna mastocitoza veliko pogostejša, kot se je takrat mislilo. Spremenila se je tudi klinična pot iskanja indolentne mastocitoze. Leta 2017 je veljalo prepričanje, da mastocitozo iščemo pri bolnikih s povišanim osnovnim nivojem triptaze v krvi. Sedaj vemo, da je razlog za večino povišanih rezultatov osnovnega nivoje triptaze »dedna alfa-triptazemija«, ki je nova bolezen in je leta 2017 še nismo poznali.

Ker obnove EAACI smernic za vodenje bolnikov z alergijo za strupe kožekrilcev še ni na vidiku, je pomembno, da naslovimo te dileme.

Ključni poudarki iz EAACI smernic 2017

Indikacije: VIT je indicirana pri senzibiliziranih bolnikih s sistemsko reakcijo po piku kožekrilca, ki je obsežnejša od zgolj kožne prizadetosti. Smernice pravijo, da za dokaz senzibilizacije (in uvedbo VIT) zadostujejo kožni vbodni testi, lahko pa sIgE ali test aktivacije bazofilcev.

VIT je smiselna tudi pri bolnikih s kožno preobčutljivostno reakcijo, če so močno izpostavljeni pikom ali pa imajo zaradi te bolezni pomembno okrnjeno kakovost življenja.

Absolutne kontraindikacije za VIT sta neobvladana maligna bolezen in aktivna multisistemska avtoimunska bolezen. Nosečnost je kontraindikacija za uvajanje VIT.

Trajanje VIT: Smernice pravijo, da naj VIT traja vsaj 3 leta. Če je bolnik imel težko reakcijo pa vsaj 5 let. Torej je smiselno bolnike z relativnimi indikacijami za VIT zdraviti 3 leta.

Dejavniki tveganja za relaps: Relapsi so trikrat pogostejši pri bolnikih, ki si pred VIT imeli zelo težke reakcije in petkrat pogostejši pri bolnikih, ki so imeli sistemske zaplete med VIT.

Kriteriji za potrditev senzibilizacije

Včasih se, predvsem pri bolnikih z anamnezo zelo težke reakcije zgodi, da so kožni testi (tudi intradermalni) negativni, BAT zaradi šibke odzivnosti bazofilcev ni ocenljiv, sIgE prosti rekombinantnim alergenom žuželk so negativni, sIgE proti nativnemu strupu žuželke pa so med 0,11 in 0,34 kIU/L. Rezultat sIgE nad 0,11 z veliko verjetnostjo govori v prid senzibilizaciji in ga vrednotimo kot pozitiven test (2).

Kriteriji za oceno teže sistemske preobčutljivostne reakcije

Za oceno teže reakcij po pikih žuželk standardno uporabljamo shemo po Muellerju, ki ima 4 stopnje. Prvi dve stopnji nista anafilaksija, temveč akutna urtikarija in angioedem. Anafilaksija pa sodi v tretjo (dušenje) in četrto (hipotenzija) stopnjo. V klinični praksi pogosto bolnike umestimo v previsoko stopnjo. Cmok v žrelu in občutek nelagodja pri dihanju sta posledica strahu ob akutni reakciji. Ti simptomi sodijo v I oziroma II stopnjo. Prizadetost dihal (III stopnja) se kaže s kašljem, hripavostjo, stridorjem oziroma dušenjem. Ravno tako je vrtoglavost simptom, ki sodi v II stopnjo. Za IV stopnjo potrebujemo kolaps, nezavest ali objektivizirano hipotenzijo (tlak pod 90/60 oziroma pomembno nižji od bolnikovega normalnega krvnega tlaka).

Shema za oceno teže reakcije po Muellerju

Table I
Severity grading applied to the reactions, from Mueller's criteria

Grade	Müller	Symptoms
Mild	I	Generalized urticaria, itching, malaise, anxiety
	II	Any of the above, plus two or more of the following: angioedema, constriction in chest, nausea, vomiting, diarrhoea, abdominal pain, dizziness Or: Angioedema alone
Severe	III	Any of the above, plus two or more of the following: dyspnoea, wheezing, stridor, dysphagia, dysarthria, hoarseness, weakness, confusion, feeling of impending disaster Or: Dyspnoea, wheezing or stridor alone
	IV	Any of the above, plus two or more of the following: fall in blood pressure, collapse, loss of consciousness, incontinence, cyanosis

Katerim bolnikom v realni klinični praksi svetovati zdravljenje z VIT

Za 70% bolnikov velja standard, da je VIT indicirana pri reakcijah III in IV stopnji po Muellerju. Pri bolnikih z blažjimi sistemskimi reakcijami pri pogovoru o imunoterapiji upoštevamo tudi stopnjo izpostavljenosti (poklic, verjetnost pika žuželke, izvorna žuželka). Podatki klinike Golnik o ponovnih pikih v obdobju 10 let pri osebah, ki niso bili na imunoterapiji (cca 1000 bolnikov):

- Prva reakcija osa/ponovni pik ose: 61%
- Prva reakcija čebela/ponovni pik čebela: 59%
- Prva reakcija sršen/ponovni pik sršen: 20%

Bolnika v diagnostičnem postopku natančno informiramo glede opcij zdravljenja, glede učinkovitosti in načina izvajanja imunoterapije ter drugih preventivnih ukrepov (npr. samoinjektor adrenalina). Odločitev o imunoterapiji naj sprejme bolnik.

Primeri:

- **Blaga reakcija** (I, II po Muellerju), velika izpostavljenost, slaba kakovost življenja: Čebelarje poskusimo prepričati, da opustijo čebelarjenje. Če pri tem nismo uspešni in si bolnik želi VIT, se ta izvaja 3 leta. Podobno (3 leta) pri blagih reakcijah po piku os.
- **Reakcije po pikih sršena** (bolnik prenaša pike os oziroma ni podatka o pikih os): Če se odločimo za VIT, bi večino teh bolnikov zdravili 3 leta. Daljše zdravljenje pa je potrebno za bolnike s prepričljivo reakcijo IV in bolnike s cKIT aktivirajočo različico.
- **Težka reakcija po piku sršena**. Verjetnost ponovnih pikov sršena je majhna. Če je podatek o dobrem prenašanju pikov os in BAT kaže majhno občutljivost bazofilcev (pozitiven le pri koncentraciji 1 mg/L, imunoterapija ni močno indicirana (3)).

Zelo težka izvorna reakcija po piku čebele ali ose, cKIT negativni: npr. nezavest, inkontinenca blata, huda hipotenzija (RR pod 90/??), reanimacija, vendar je cKIT negativen: imunoterapija, ki je lahko trajna, če je stopnja izpostavljenosti pomembna (kmet, čebelar ipd) ali če bolnik to želi. Bolnik je tudi med VIT opremljen z dvema Epipenom. Če VIT prenehamo, bolnika opremimo z Epipenom. Če je bila zelo težka reakcija po piku sršena, naj VIT traja 5 let.

Zapleti po injekciji alergena med imunoterapijo (cKIT neg):

- **Zapleti po injekciji alergena zgolj med uvodno fazo:** to ne vpliva na odločitev o trajanju VIT.
- **Zapleti po injekciji alergena med vzdrževalno fazo:** primerno je povečati vzdrževalni odmerek in predlagati podaljšano oziroma trajno VIT. Pri tem upoštevati verjetnost ponovnih pikov. Če VIT končamo, predpišemo Epipen.

- **Reakcija po pikcu v času, ko bolnik prejema VIT:** Povečati vzdrževalni odmerek na 200 mcg, predlagati trajno VIT, bolnik naj ima Epipen.

Aktivirajoča različica cKIT (mastocitoza in klonalni sindrom aktivacije mastocitov): cKIT različico iščemo pri bolnikih s težko reakcijo (III in IV po Mullerju, pri čemer III pomeni resno dušenje, ne zgolj občutek cmoka v žrelu, IV pa pomeni kolaps, izgubo zavesti, hipotenzijo, inkontinenco.

- Vsem cKIT pozitivnim bolnikom, ki so imeli sistemsko preobčutljivostno reakcijo po pikcu žuželke, predlagamo zdravljenje z VIT, ne glede na težo izvorne reakcije. Predlagamo trajno VIT. Ves čas imajo pri sebi 2 Epipena.
- Vprašanje, kaj z bolniki z diagnozo mastocitoze (kožna, sistemska s hematološkimi manifestacijami), ki imajo pozitivne IgE proti strupom žuželk, nimajo pa sistemskih reakcij. V literaturi so namigi, da bi se tudi te zdravilo z imunoterapijo (2). Zaenkrat ostanemo na stališču, da imajo pri sebi dva samoinjektorja Epipena.

Dedna alfa-triptazemija: Diagnozo ponavadi postavimo v razčiščevanju vzroka za povišan osnovni nivo triptaze. Verjetnost anafilaksije pri osebah z dedno alfa-triptazemijo je enaka kot v splošni populaciji, so pa ti bolniki nagnjeni k težjim reakcijam. Verjetnost relapsa po koncu VIT izgleda podobna kot pri bolnikih brez dedne alfa-triptazemije. Prisotnost dedne alfa-triptazemije torej ne vpliva na odločitev in na potek imunoterapije. Odločitev o imunoterapiji temelji na teži reakcije in stopnji izpostavljenosti. VIT traja 5 let. Če bolnik ni na VIT, je opremljen z Epipenom. Če je bolnik imel zelo težko reakcijo, ima Epipen med in po koncu VIT. Če ugotovimo dedno alfa-triptazemijo, te diagnoze ne iščemo aktivno pri bolnikovih svojcih. Genotipizacijo pri svojcih opravimo, če ima svojec anamnezo anafilaksije. Pri asimptomatskih bolnikih z dedno alfa-triptazemijo ne iščemo senzibilizacije s strupi žuželk.

Povišan osnovni nivo triptaze, ampak negativni testi na cKIT in HAT: Izključiti je treba ostale razloge za povišan osnovni nivo triptaze (kronična ledvična bolezen, mielodisplastični sindromi). Narediti je smiselno biopsijo kostnega mozga za čvrsto izključitev mastocitoze oziroma hematoloških obolenj. Če je biopsija kostnega mozga negativna glede mastocitoze, se držimo priporočil, ki so napisana v odstavku za bolnike z dedno alfa-triptazemijo.

Čebelarji z alergijo po pikih žuželk:

- Če se le da, alergičnega čebelarja prepričamo, da preneha čebelariti.
- Če nadaljuje s čebelarjenjem, je prag za odločitev o VIT nižji (velja točka o veliki izpostavljenosti in pogostim blažjim reakcijam). Če ni na VIT, naj bo kljub blagi sistemski reakciji opremljen z Epipenom.
- Čebelarji, ki so imeli težko izvorno reakcijo (IV po Mueller), lahko ostanejo na VIT, dokler čebelarijo. Zaradi tveganja multiplih hkratnih pikov, ob katerih lahko kljub VIT pride do reakcije, naj bodo opremljeni z Epipenom.

Indikacije za (dolgo)trajno VIT

- Relaps po koncu imunoterapije
- Mastocitoza ali MCAS (prisotna cKIT različica ali pozitivna histologija)
- Ekstremno težka izvorna reakcija po pikcu ose ali čebele, tudi brez mastocitoze, če je bolnik pomembno izpostavljen pikom. Anamneza zelo težke reakcije je dejavnik tveganja za relaps.

Epipen

Nič:

- Bolniki s samo kožno sistemsko reakcijo po pikcu žuželke

- Bolniki na imunoterapiji (glej izjeme)

En:

- Bolniki iz prejšnje kategorije, ki iz kakšnega razloga želijo EpiPen (pogosti piki, strah, čebelarji, ki so že imeli blago preobčutljivostno reakcijo). Pri njih je EpiPen relativno indiciran, nimajo anafilaksije.

Dva:

- Bolniki z anafilaksijo, ki niso na imunoterapiji
- Vsi bolniki z mastocitozo (histološko ali cKIT pozitivni) oziroma klonskim sindromom aktivacije mastocitov, tudi če so na imunoterapiji
- Bolniki z ekstemno težko izvorno reakcijo (reanimacija), tudi če so na imunoterapiji in so cKIT negativni

Literatura

1. Sturm GJ, Varga EM, Roberts G, Mosbech H, Bilò MBKosnik M, et al. EAACI guidelines on allergen immunotherapy: Hymenoptera venom allergy. *Allergy*. 2018 Apr;73(4):744-764.
2. Vos BJPR, van Anrooij B, van Doormaal JJ, Dubois AEJ, Oude Elberink JNG. Fatal Anaphylaxis to Yellow Jacket Stings in Mastocytosis: Options for Identification and Treatment of At-Risk Patients. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2017 Sep-Oct;5(5):1264-1271.
3. Erzen R, Koren A, Selb J, Bajrovic N, Lalek N, Kopac P, Zidarn M, Korosec P, Kosnik M. Clinical, serological and basophil response to a wasp sting in patients with European hornet sting anaphylaxis. *Clin Exp Allergy*. 2021 Dec;51(12):1641-1644.

PRIDOBIVANJE IN VZDRŽEVANJE VEŠČIN ZA UPORABO SAMOINJEKTORJA ADRENALINA

Tea Močnik. Univerzitetna klinika za pljučne bolezni in alergijo Golnik

Uvod

Anafilaksija zahteva takojšnje ukrepanje, saj gre za urgentno stanje. Zlasti je pomembna ustrezna izbira zdravljenja, ob tem ima intramuskularna aplikacija adrenalina prednost pred vsemi ostalimi ukrepi. Kljub temu, da je adrenalin zdravilo izbora pri anafilaksijah, pa so tako zdravniki kot pacienti pogosto negotovi ali zdravilo aplicirati in so neustrezno poučeni o pravilnem apliciranju in odmerjanju (9). Približno 0,3% vseh anafilaktičnih se reakcij konča s smrtnim izidom. Najpogostejši vzrok smrti pri otrocih je bronhospazem, pri odraslih pa hipotenzija in kardiovaskularni kolaps. Vsaj polovica smrti zaradi anafilaksije nastopi v 60 minutah po stiku z alergenom. Po raziskavi iz leta 2021 je bilo v Sloveniji 15 smrti med leti 2010 in 2020. Pri vseh je šlo za prvi pojav anafilaktične reakcije (4).

Adrenalin deluje anti-anafilaktično in antagonizira ključne patofiziološke mehanizme pri anafilaksiji. Deluje na adrenergične receptorje alfa in beta. Poveča se upornost žil in s tem zviša krvni pritisk, zviša se srčna frekvenca in kontraktilnost srčne mišice, pride do bronhodilatacije, zmanjša se izločanje mediatorjev anafilaksije (9). Če ob anafilaksiji ne ukrepamo dovolj hitro, lahko pride do razvoja distributivnega (hipotenzivnega) šoka z grozečim kardiovaskularnim kolapsom in srčnim zastojem. Pri distributivnem šoku se zmanjša sistemski žilni upor in poveča prepustnost žil, posledica je izguba znotrajžilnega volumna. Pride tudi do lokalne periferne vazokonstrikcije. Zato je absorpcija adrenalina, danega intramuskularno, slabša in počasnejša. Ko pride do razvoja šoka, je edina učinkovita pot intravenozna (10).

Uporaba samoinjektorja adrenalina in pogoste napake

Da bi omogočili hiter odziv in takojšnje zdravljenje anafilaksije, pacientom predpišemo samoinjektor adrenalina, ki je namenjen laični uporabi. Uporaba samoinjektorja adrenalina je priporočljiva ob prvih znakih hude preobčutljivostne reakcije, raziskave pa dokazujejo, da je uporaba samoinjektorjev velikokrat neustrezna ali nepravočasna. Zakasnitev prepoznavanja anafilaksije in prepozno ukrepanje ima lahko resne posledice. Poleg hospitalizacij, ki predstavljajo finančno obremenitev, lahko privede do neželenih izidov, vključno s smrtjo (3).

Kljub temu, da je samoinjektor adrenalina na voljo, pacienti zdravila velikokrat ne nosijo vedno s seboj in niso ustrezno poučeni o pravilni uporabi. Podatki iz raziskav v tujini kažejo, da 84 odstotkov odraslih, ki so jim predpisali samoinjektor adrenalina, pripomočka ne zna pravilno uporabljati – vključno s starši, ki bi morda morali aplicirati zdravilo svojemu otroku (1). Da bi zagotovili dobro informiranost in poučenost, so pacienti in njihovi svojci vključeni v zdravstveno-vzgojne programe. Zdravstvena vzgoja zajema teoretični del prepoznavanja znakov sistemske preobčutljivostne reakcije, preprečevanje ali zmanjšanje izpostavljenosti alergenom in praktični del manualnih spretnosti uporabe samoinjektorja adrenalina. Za učenje in pridobivanje manualnih spretnosti je na voljo brezigelni vadbeni pripomoček. Nezadostno usposabljanje in pomanjkljivo znanje je lahko potencialni razlog za neuporabo samoinjektorja in posledično nepravočasno zdravljenje anafilaksije (6).

Zavedanje, da morajo imeti pacienti samoinjektor adrenalina ves čas pri sebi, je en izmed najpomembnejših korakov v primeru obvladovanja anafilaksije. V procesu zdravljenja pa sta poleg dostopnosti zdravila pomembna tudi pravilna uporaba samoinjektorja ter ustrezen čas aplikacije zdravila (5). Napake pri uporabi samoinjektorja so pogoste. V eni izmed raziskav so dokazali, da je več kot polovica testiranih naredila vsaj tri ali več napak. Najpogostejše napake so bile: pacient ni uporabil dovolj sile, da bi sprožil samoinjektor adrenalina; samoinjektorja v mišici ni zadržal dovolj dolgo, da bi se zdravilo v celoti apliciralo; pritiskanje

napačnega konca naprave v mišico (možnost vboda v prst) in neodstranitev varnostnega pokrovčka. Vse napake so bile ključne in v nobenem primeru pacient zdravila ne bi prejel (1). Podobno so dokazali tudi v raziskavi v Sloveniji. Od vključenih 41 udeležencev je na vadbeni napravi le 54 odstotkov pacientov pravilno uporabilo samoinjektor adrenalina. Najpogostejša kritična napaka je bila neodstranitev varnostnega pokrovčka, pacienti pa so imeli težave tudi z aktivacijo samoinjektorja in držanjem naprave na mestu vboda vsaj 3 sekunde (5).

Obnovitev znanja in krepitev veščin

Raziskave odražajo zaskrbljenost tudi na področju deficitarnosti usposabljanja pacientov – predvsem v povezavi z obnavljanjem znanja (7).

V namen pregleda aktualnega stanja uporabe samoinjektorja adrenalina med odraslimi pacienti s preobčutljivostjo za strup kožekrilca smo na Univerzitetni kliniki za pljučne bolezni in alergijo izvedli interno poročilo. Od februarja do marca 2023 smo zajeli 17 naključno zbranih pacientov, ki se zdravijo s specifično imunoterapijo (9 uvajalnih in 8 vzdrževalnih, od tega 9 s prisotno mutacijo v genu c-KIT). Vsi pacienti so imeli v preteklosti opravljeno zdravstveno-vzgojno šolo o pravilni uporabi samoinjektorja adrenalina. V času internega pregleda so bili pacienti pozvani, da izvedejo prikaz uporabe samoinjektorja na vadbenem pripomočku. Ugotovljeno je bilo, da 13 pacientov ni imelo samoinjektorja adrenalina s seboj, 7 jih ni znalo pravilno uporabiti samoinjektorja: 2 nista odstranila varovalnega pokrovčka, 3 niso zadržali samoinjektroja na mestu aplikacije dovolj časa in 2 sta demonstrirala aplikacijo v prst. Skoraj polovica pacientov (n=4) s prisotno mutacijo v genu c-KIT ni vedela zakaj imajo predpisana dva samoinjektorja adrenalina (Interno poročilo Klinike Golnik, 2023).

Pacienti, ki ne obnavljajo znanja po določenem času pozabijo kako pravilno uporabiti samoinjektor adrenalina. Da je časovni interval ponovitvene edukacije pomemben dokazuje več raziskav. Pacienti, ki niso dovolj dobro poučeni izražajo negotovost o tem, kdaj in kako si aplicirati samoinjektor adrenalina, skrbijo jih sistemski stranski učinki zdravila in nenamerne poškodbe ob aplikaciji. Pomanjkljive so tudi manualne spretnosti pri rokovanju s samoinjektorjem, pogostost napak je večja (2, 7). Znanje in veščine za uporabo samoinjektorja adrenalina po približno 6 – 12 mesecev upadejo. Ocenjeno je, da visok odstotek testiranih po 24 mesecih ne zna več pravilno uporabiti samoinjektorja adrenalina, ob tem se zmanjša zavedanje pomembnosti, da ima pacient samoinjektor vedno ob sebi, zmanjša se tudi prepoznavanje znakov anafilaksije (7, 11).

Ostali ukrepi ob anafilaksiji

Poleg pravočasne in pravilne aplikacije adrenalina pa je pomembno, da se pacient med anafilaksijo namesti v ležeči položaj. Glavni patofiziološki značilnosti anafilaktičnega šoka sta močno zmanjšanje venskega tonusa in ekstravazacija tekočine. Nastane mešani hipovolemični in distributivni šok, ki vključuje zmanjšanje volumna krvi (hipovolemija) zaradi ekstravazacije in porazdelitve krvi na napačna področja. Oboje skupaj povzroči zmanjšan venski povratek v srce in tako imenovan sindrom praznega ventrikla.

Po aplikaciji adrenalina, je potrebno bolnika položiti v ležeči položaj, dokler se ne stabilizira in postane popolnoma asimptomatski, s čimer preprečimo sindrom praznega ventrikla. Če bolnik prehitro vstane ali se usede, lahko pride do nenadne srčne smrti, saj se srce ob hudi vazodilataciji in hipovolemiji zaradi zmanjšane intravaskularnega volumna, ne uspe dovolj hitro napolniti, ker kri ne doseže dovolj hitro srca (prazna vena cava) (8).

Zaključek

Prepoznavanje znakov sistemske preobčutljivostne reakcije, znanje pravilnega ukrepanja ob anafilaksiji in uporabe samoinjektorja adrenalina začne po 6 mesecih upadati. Nadaljnja izobraževanja in programi za obnovitev znanja so namenjeni krepitevi veščin in spretnosti uporabe samoinjektorja adrenalina, zato jih

moramo redno izvajati. Časovni okvir za izvedbo ponovitvenih zdravstveno-vzgojnih aktivnosti ni točno določen, kar odpira možnosti za nadaljnjo raziskovanje. Potek zdravstveno-vzgojnih vsebin se lahko individualno prilagaja, vendar pa je redno izvajanje reedukacijskih programov in evalvacijskih postopkov pomembno, če želimo zagotoviti kakovostno obravnavo pacientov, ki imajo predpisan samoinjektor adrenalina. Redno usposabljanje pacientov in obnovitev znanja poveča pogostost in pravilnost uporabe samoinjektorja adrenalina, ko je to potrebno.

Literatura:

1. Bonds, R. S., Asawa, A., & Ghazi, A. I. (2015). Misuse of medical devices: a persistent problem in self-management of asthma and allergic disease. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 114(1), 74-76.
2. Cohen, M. B., Saunders, S. S., Wise, S. K., Nassif, S., & Platt, M. P. (2017, March). Pitfalls in the use of epinephrine for anaphylaxis: patient and provider opportunities for improvement. In *International Forum of Allergy & Rhinology* (Vol. 7, No. 3, pp. 276-286).
3. Dribin, T. E., Wasserman, S., & Turner, P. J. (2023). Who needs epinephrine? Anaphylaxis, auto-injectors, and parachutes. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*.
4. Frelih, N., Košnik, M. & Balažič J., 2021. Smrti zaradi anafilaksije v Sloveniji. In: Košnik, M. ed. *Zbornik sestanka: Jesenski sestanek alergološke in imunološke sekcijeSZD*. Ljubljana: Domus medica, Ljubljana, pp 22-23.
5. Kadivec, S., & Košnik, M. (2021). The Ability to Use Epinephrine Autoinjector in Patients Who Receive Prescription Immediately after Anaphylaxis. *International Archives of Allergy and Immunology*, 182(7), 625-630.
6. Kessler, C., Edwards, E., Dissinger, E., Sye, S., Visich, T., & Grant, E. (2019). Usability and preference of epinephrine auto-injectors: Auvi-Q and EpiPen Jr. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 123(3), 256-262.
7. Kose, S. S., Asilsoy, S., Tezcan, D., Al, S., Atay, O., Kangalli, O., ... & Karaman, O. (2020). Is there an optimal training interval to improve the correct use of adrenaline auto-injectors?. *International Archives of Allergy and Immunology*, 181(2), 136-140.
8. Mali, S., & Jambure, R. (2012). Anaphylaxis management: Current concepts. *Anesthesia, essays and researches*, 6(2), 115.
9. Ring, J., Klimek, L., & Worm, M. (2018). Adrenaline in the acute treatment of anaphylaxis. *Deutsches Ärzteblatt International*, 115(31-32), 528.
10. Sheikh, A., Shehata, Y. A., Brown, S. G. A., & Simons, F. E. R. (2009). Adrenaline for the treatment of anaphylaxis: Cochrane systematic review. *Allergy*, 64(2), 204-212.
11. Topal, E., Bakirtas, A., Yilmaz, O., Karagol, I. H. E., Arga, M., Demirsoy, M. S., & Turktas, I. (2014). When should we perform a repeat training on adrenaline auto-injector use for physician trainees?. *Allergologia et immunopathologia*, 42(5), 472-475.

PRIDOBIVANJE IN VZDRŽEVANJE VEŠČIN ZA UPORABO SAMOINJEKTORJA ADRENALINA

Tea Močnik. Univerzitetna klinika za pljučne bolezni in alergijo Golnik

Uvod

Anafilaksija zahteva takojšnje ukrepanje, saj gre za urgentno stanje. Zlasti je pomembna ustrezna izbira zdravljenja, ob tem ima intramuskularna aplikacija adrenalina prednost pred vsemi ostalimi ukrepi. Kljub temu, da je adrenalin zdravilo izbora pri anafilaksijah, pa so tako zdravniki kot pacienti pogosto negotovi ali zdravilo aplicirati in so neustrezno poučeni o pravilnem apliciranju in odmerjanju (9). Približno 0,3% vseh anafilaktičnih se reakcij konča s smrtnim izidom. Najpogostejši vzrok smrti pri otrocih je bronhospazem, pri odraslih pa hipotenzija in kardiovaskularni kolaps. Vsaj polovica smrti zaradi anafilaksije nastopi v 60 minutah po stiku z alergenom. Po raziskavi iz leta 2021 je bilo v Sloveniji 15 smrti med leti 2010 in 2020. Pri vseh je šlo za prvi pojav anafilaktične reakcije (4).

Adrenalin deluje anti-anafilaktično in antagonizira ključne patofiziološke mehanizme pri anafilaksiji. Deluje na adrenergične receptorje alfa in beta. Poveča se upornost žil in s tem zviša krvni pritisk, zviša se srčna frekvenca in kontraktilnost srčne mišice, pride do bronhodilatacije, zmanjša se izločanje mediatorjev anafilaksije (9). Če ob anafilaksiji ne ukrepamo dovolj hitro, lahko pride do razvoja distributivnega (hipotenzivnega) šoka z grozečim kardiovaskularnim kolapsom in srčnim zastojem. Pri distributivnem šoku se zmanjša sistemski žilni upor in poveča prepustnost žil, posledica je izguba znotrajžilnega volumna. Pride tudi do lokalne periferne vazokonstrikcije. Zato je absorpcija adrenalina, danega intramuskularno, slabša in počasnejša. Ko pride do razvoja šoka, je edina učinkovita pot intravenozna (10).

Uporaba samoinjektorja adrenalina in pogoste napake

Da bi omogočili hiter odziv in takojšnje zdravljenje anafilaksije, pacientom predpišemo samoinjektor adrenalina, ki je namenjen laični uporabi. Uporaba samoinjektorja adrenalina je priporočljiva ob prvih znakih hude preobčutljivostne reakcije, raziskave pa dokazujejo, da je uporaba samoinjektorjev velikokrat neustrezna ali nepravočasna. Zakasnitev prepoznave anafilaksije in prepozno ukrepanje ima lahko resne posledice. Poleg hospitalizacij, ki predstavljajo finančno obremenitev, lahko privede do neželenih izidov, vključno s smrtjo (3).

Kljub temu, da je samoinjektor adrenalina na voljo, pacienti zdravila velikokrat ne nosijo vedno s seboj in niso ustrezno poučeni o pravilni uporabi. Podatki iz raziskav v tujini kažejo, da 84 odstotkov odraslih, ki so jim predpisali samoinjektor adrenalina, pripomočka ne zna pravilno uporabljati – vključno s starši, ki bi morda morali aplicirati zdravilo svojemu otroku (1). Da bi zagotovili dobro informiranost in poučenost, so pacienti in njihovi svojci vključeni v zdravstveno-vzgojne programe. Zdravstvena vzgoja zajema teoretični del prepoznave znakov sistemske preobčutljivostne reakcije, preprečevanje ali zmanjšanje izpostavljenosti alergenom in praktični del manualnih spretnosti uporabe samoinjektorja adrenalina. Za učenje in pridobivanje manualnih spretnosti je na voljo brezigelni vadbeni pripomoček. Ne zadostno usposabljanje in pomanjkljivo znanje je lahko potencialni razlog za neuporabo samoinjektorja in posledično nepravočasno zdravljenje anafilaksije (6).

Zavedanje, da morajo imeti pacienti samoinjektor adrenalina ves čas pri sebi, je en izmed najpomembnejših korakov v primeru obvladovanja anafilaksije. V procesu zdravljenja pa sta poleg dostopnosti zdravila pomembna tudi pravilna uporaba samoinjektorja ter ustrezen čas aplikacije zdravila (5). Napake pri uporabi samoinjektorja so pogoste. V eni izmed raziskav so dokazali, da je več kot polovica testiranih naredila vsaj tri ali več napak. Najpogostejše napake so bile: pacient ni uporabil dovolj sile, da bi sprožil samoinjektor adrenalina; samoinjektorja v mišici ni zadržal dovolj dolgo, da bi se zdravilo v celoti apliciralo; pritiskanje napačnega konca naprave v mišico (možnost vboda v prst) in neodstranitev varnostnega pokrovčka. Vse

napake so bile ključne in v nobenem primeru pacient zdravila ne bi prejel (1). Podobno so dokazali tudi v raziskavi v Sloveniji. Od vključenih 41 udeležencev je na vadbeni napravi le 54 odstotkov pacientov pravilno uporabilo samoinjektor adrenalina. Najpogostejša kritična napaka je bila neodstranitev varnostnega pokrovčka, pacienti pa so imeli težave tudi z aktivacijo samoinjektorja in držanjem naprave na mestu vboda vsaj 3 sekunde (5).

Obnovitev znanja in krepitev veščin

Raziskave odražajo zaskrbljenost tudi na področju deficitarnosti usposabljanja pacientov – predvsem v povezavi z obnavljanjem znanja (7).

V namen pregleda aktualnega stanja uporabe samoinjektorja adrenalina med odraslimi pacienti s preobčutljivostjo za strup kožekrilca smo na Univerzitetni kliniki za pljučne bolezni in alergijo izvedli interno poročilo. Od februarja do marca 2023 smo zajeli 17 naključno zbranih pacientov, ki se zdravijo s specifično imunoterapijo (9 uvajalnih in 8 vzdrževalnih, od tega 9 s prisotno mutacijo v genu c-KIT). Vsi pacienti so imeli v preteklosti opravljeno zdravstveno-vzgojno šolo o pravili uporabi samoinjektorja adrenalina. V času internega pregleda so bili pacienti pozvani, da izvedejo prikaz uporabe samoinjektorja na vadbenem pripomočku. Ugotovljeno je bilo, da 13 pacientov ni imelo samoinjektorja adrenalina s seboj, 7 jih ni znalo pravilno uporabiti samoinjektorja: 2 nista odstranila varovalnega pokrovčka, 3 niso zadržali samoinjektorja na mestu aplikacije dovolj časa in 2 sta demonstrirala aplikacijo v prst. Skoraj polovica pacientov (n=4) s prisotno mutacijo v genu c-KIT ni vedela zakaj imajo predpisana dva samoinjektorja adrenalina (Interno poročilo Klinike Golnik, 2023).

Pacienti, ki ne obnavljajo znanja po določenem času pozabijo kako pravilno uporabiti samoinjektor adrenalina. Da je časovni interval ponovitvene edukacije pomemben dokazuje več raziskav. Pacienti, ki niso dovolj dobro poučeni izražajo negotovost o tem, kdaj in kako si aplicirati samoinjektor adrenalina, skrbijo jih sistemski stranski učinki zdravila in nenamerne poškodbe ob aplikaciji. Pomanjkljive so tudi manualne spretnosti pri rokovanju s samoinjektorjem, pogostost napak je večja (2, 7). Znanje in veščine za uporabo samoinjektorja adrenalina po približno 6 – 12 mesecev upadejo. Ocenjeno je, da visok odstotek testiranih po 24 mesecih ne zna več pravilno uporabiti samoinjektorja adrenalina, ob tem se zmanjša zavedanje pomembnosti, da ima pacient samoinjektor vedno ob sebi, zmanjša se tudi prepoznavanje znakov anafilaksije (7, 11).

Ostali ukrepi ob anafilaksiji

Poleg pravočasne in pravilne aplikacije adrenalina pa je pomembno, da se pacient med anafilaksijo namesti v ležeči položaj. Glavni patofiziološki značilnosti anafilaktičnega šoka sta močno zmanjšanje venskega tonusa in ekstravazacija tekočine. Nastane mešani hipovolemični in distributivni šok, ki vključuje zmanjšanje volumna krvi (hipovolemija) zaradi ekstravazacije in porazdelitve krvi na napačna področja. Oboje skupaj povzroči zmanjšan venski povratek v srce in tako imenovan sindrom praznega ventrikla.

Po aplikaciji adrenalina, je potrebno bolnika položiti v ležeči položaj, dokler se ne stabilizira in postane popolnoma asimptomatski, s čimer preprečimo sindrom praznega ventrikla. Če bolnik prehitro vstane ali se usede, lahko pride do nenadne srčne smrti, saj se srce ob hudi vazodilataciji in hipovolemiji zaradi zmanjšane intravaskularnega volumna, ne uspe dovolj hitro napolniti, ker kri ne doseže dovolj hitro srca (prazna vena cava) (8).

Zaključek

Prepoznavanje znakov sistemske preobčutljivostne reakcije, znanje pravilnega ukrepanja ob anafilaksiji in uporabe samoinjektorja adrenalina začne po 6 mesecih upadati. Nadaljnja izobraževanja in programi za obnovitev znanja so namenjeni krepitevi veščin in spretnosti uporabe samoinjektorja adrenalina, zato jih moramo redno izvajati. Časovni okvir za izvedbo ponovitvenih zdravstveno-vzgojnih aktivnosti ni točno

določen, kar odpira možnosti za nadaljnjo raziskovanje. Potek zdravstveno-vzgojnih vsebin se lahko individualno prilagaja, vendar pa je redno izvajanje reedukacijskih programov in evalvacijskih postopkov pomembno, če želimo zagotoviti kakovostno obravnavo pacientov, ki imajo predpisan samoinjektor adrenalina. Redno usposabljanje pacientov in obnovitev znanja poveča pogostost in pravilnost uporabe samoinjektorja adrenalina, ko je to potrebno.

Literatura:

1. Bonds, R. S., Asawa, A., & Ghazi, A. I. (2015). Misuse of medical devices: a persistent problem in self-management of asthma and allergic disease. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 114(1), 74-76.
2. Cohen, M. B., Saunders, S. S., Wise, S. K., Nassif, S., & Platt, M. P. (2017, March). Pitfalls in the use of epinephrine for anaphylaxis: patient and provider opportunities for improvement. In *International Forum of Allergy & Rhinology* (Vol. 7, No. 3, pp. 276-286).
3. Dribin, T. E., Wasserman, S., & Turner, P. J. (2023). Who needs epinephrine? Anaphylaxis, auto-injectors, and parachutes. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*.
4. Frelih, N., Košnik, M. & Balažič J., 2021. Smrti zaradi anafilaksije v Sloveniji. In: Košnik, M. ed. *Zbornik sestanka: Jesenski sestanek alergološke in imunološke sekcijeSZD*. Ljubljana: Domus medica, Ljubljana, pp 22-23.
5. Kadivec, S., & Košnik, M. (2021). The Ability to Use Epinephrine Autoinjector in Patients Who Receive Prescription Immediately after Anaphylaxis. *International Archives of Allergy and Immunology*, 182(7), 625-630.
6. Kessler, C., Edwards, E., Dissinger, E., Sye, S., Visich, T., & Grant, E. (2019). Usability and preference of epinephrine auto-injectors: Auvi-Q and EpiPen Jr. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 123(3), 256-262.
7. Kose, S. S., Asilsoy, S., Tezcan, D., Al, S., Atay, O., Kangalli, O., ... & Karaman, O. (2020). Is there an optimal training interval to improve the correct use of adrenaline auto-injectors?. *International Archives of Allergy and Immunology*, 181(2), 136-140.
8. Mali, S., & Jambure, R. (2012). Anaphylaxis management: Current concepts. *Anesthesia, essays and researches*, 6(2), 115.
9. Ring, J., Klimek, L., & Worm, M. (2018). Adrenaline in the acute treatment of anaphylaxis. *Deutsches Ärzteblatt International*, 115(31-32), 528.
10. Sheikh, A., Shehata, Y. A., Brown, S. G. A., & Simons, F. E. R. (2009). Adrenaline for the treatment of anaphylaxis: Cochrane systematic review. *Allergy*, 64(2), 204-212.
11. Topal, E., Bakirtas, A., Yilmaz, O., Karagol, I. H. E., Arga, M., Demirsoy, M. S., & Turktas, I. (2014). When should we perform a repeat training on adrenaline auto-injector use for physician trainees?. *Allergologia et immunopathologia*, 42(5), 472-475.

KAJ JE ZA SPREMENITI V PRIPOROČILIH ZA ANAFILAKSIJO

Tina Vesel Tajnšek. Klinični oddelek za otroško alergologijo, revmatologijo in klinično imunologijo (KOARKI), Univerzitetna pediatrična klinika Ljubljana, Univerzitetni klinični center, Bohoričeva 20, 1000 Ljubljana

Anafilaksija se še vedno, tudi v Slovenji, marsikdaj ne prepozna ali se jo premalo intenzivno zdravi (1). V predhodnem slovenskem dogovoru o obravnavi anafilaksije smo poudarili osrednjo vlogo zgodnjega zdravljenja z adrenalinom intramuskularno, pravičen položaj bolnika in pomen ukrepov, ki sledijo ob odpustu, kot so pouk prepoznave anafilaksije in samopomoči, vključno z učenjem uporabe samoinjektorja adrenalina (2). V prispevku so razmišljanja o obravnavi anafilaksij v naslednjih letih, vključno s predlogom še enostavnejših kriterijev prepoznave anafilaksije (3-4) in posterjem zdravljenja anafilaksije, kjer pa je še vedno poudarjena osrednja vloga zdravljenja z adrenalinom (5).

DEFINICIJA: Anafilaksija je resna, sistemska preobčutljivostna reakcija, ki se običajno razvije hitro in je lahko življenje ogrožajoča. Resna anafilaksija vključuje življenje ogrožajočo prizadetost dihal in/ ali kardiovaskularnega sistema in se lahko pojavi brez prisotnih sprememb na koži, lahko kot cirkulatorni šok (4).

EPIDEMIOLOGIJA: Pojavnost anafilaksije je bila ocenjena med 50 in 112 epizodami na 100.000 ljudi letno, prevalenca med 0,3–5,1 % (6-7). Pri otrocih je ocena incidenca anafilaksije variirala med 1 in 761 na 100 000 otrok letno (8). Še vedno se beleži trend naraščanja pri otrocih starejših od treh let na račun alergije na hrano (9-10). Dobro se je zavedati, da se pri 26 do 54 % oseb z anafilaksijo v naslednjih 1,5 do 25 letih anafilaksija ponovi (11), pa tudi, da ima 43 % otrok z alergijo na hrano vsaj enkrat anafilaksijo (12). Kljub naraščajočemu trendu hospitalizacij zaradi anafilaksije pa umrljivost ostaja nizka in sicer je bila ocenjena na 0,05–0,51 na milijon letno za anafilaksije zaradi zdravil, na 0,03–0,32 za anafilaksije zaradi hrane in na 0,09–0,13 za anafilaksije povzročene s strupom kožekrilcev (13-14).

Anafilaksijo največkrat povzročajo alergeni v hrani, piki žuželk (ose, čebele) in zdravila (antibiotiki ter nesteroidni antirevmatiki). V Evropi so pri med prehranskimi alergeni pri otrocih najpogostejši arašidi, lešniki, mleko in jajca, pri odraslih pa pšenica, zelena in morski sadeži; sadje kot npr. breskve pa so pogostejši vzrok anafilaksij v Sredozemskih državah (15-16). Če vzrok anafilaksije ni očitno (pri petini bolnikov vzroka anafilaksije ne uspemo ugotoviti in govorimo o idiopatski anafilaksiji), iščemo lahko razloge, kot so npr. alergija na meso sesalcev zaradi zaužitja 1, 3 alfa galaktoze (alfa gal sindrom, ki je manj očitna tudi, ker običajno nastane kasneje, tudi 6 ur po zaužitju mesa (17), možnost zaužitja pršic v pretečenih žitnih izdelkih (17), alergija na klorheksidin (19), na sestavino zdravil polietilenglikol (PEG) (20).

PATOFIZIOLOGIJA, GENETIKA: Ob idiopatski anafilaksiji izključujemo tudi sistemske mastocitose (tudi če je nivo serumske triptaze normalen) ter ob višjem nivoju serumske triptaze nad 6 ng/ml tudi hereditarno alfa triptazemijo. Obe genetski spremembi sta povezani z resnejšimi anafilaksijami (21-22). Anafilaksije po zdravljenju so lahko povezane z različnimi genetskimi zapisi za glavni histokompatibilni kompleks (HLA-B, HLA-DR) (23). Z anafilaksijo so lahko povezane tudi mutacije KARS, gen kodira encim lizil-transfer RNA sintazo (LysRS) (24).

Nadaljuje se raziskovanje patofizioloških mehanizmov anafilaksije predvsem po ne-IgE mehanizmi. Opredelili so možnost anafilaksije tudi pri ljudeh posredovane preko IgG/FcγR, nevtrofilcev in faktorja

aktivacije trombocitov (25). Pri s protitelesi IgG (IgG) posredovanih reakcijah prispevajo k anafilaksiji večje količine IgG imunskih kompleksov z navzkrižno povezavo FcγRs, ki ga sicer nadzoruje inhibitorni receptor FcγRIIB na različnih celicah naravne imunosti. Za alergen specifični IgG lahko zavre preko IgE posredovano anafilaksijo predvsem preko navzkrižne povezave FcεRI z inhibitornim IgG receptorjem FcγRIIB (26). K preprečitvi IgG posredovanih in tudi preko IgG FcγRIIB– kontroliranih IgE pripomore naravna ali dodana kovalentna vezava N-sialne kisline na IgG (27). Pri alergičnih na arašide je bila opredeljena večja vezava N-sialne kisline na sIgE, njena odstranitev sIgE pa je znižala degranulacijo efektorskih celic pri anafilaksiji (28). Glede povezanosti reakcije kože in prebavil med IgE posredovano anafilaksijo so zaenkrat na mišjih modelih pokazali, da mehanična poškodba kože povzroči porast intestinalnih mastocitov (29). Glede PGE2 pa se je izkazalo, da so bolniki z anafilaksijo imeli značilno nižje nivoje PGE2 - primerni nivoji PGE2 naj bi zniževali aktivacijo mastocitov preko receptorja PGE2 EP2/EP4 in tako ščiti pred anafilaksijo (30). Pri slovenskih bolnikih z alergijo na pik kožekrilcev in na arašide pa je bilo pokazano, da se med anafilaksijo zmanjša število bazofilcev, ekspresija FCER1A in zviša nivo CCL2 (31).

PREPOZNAVNA ANAFILAKSIJE: Predlagana je bila modifikacija diagnostičnih kriterijev (Tabela 1 ali predstavljeno enako na Sliki 1) za prepoznavo anafilaksije z združitvijo predhodnega prvega in drugega ter modifikacijo tretjega kriterija (2-4). Anafilaksija, predvsem huda oziroma smrtna, se namreč lahko začne z izolirano prizadetostjo dihal ali kardiovaskularnega sistema (32-34). V 10 do 20 % lahko poteka brez prizadetosti kože. Želja je bila tudi po poudarku prepoznave znakov prebavil kot dela anafilaksije (3, 4).

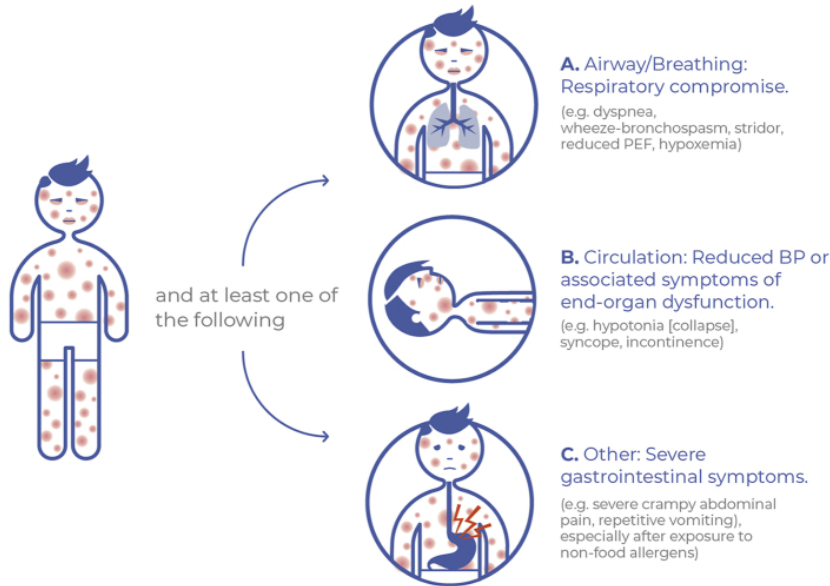
Tabela 1 in Slika 1: Klinični kriteriji za postavitve diagnoze anafilaksije (3).

Anafilaksija je zelo verjetna, če je izpolnjen katerikoli od naslednjih dveh kriterijev:
1. Nenaden začetek bolezni (v minutah ali urah) s prizadetostjo kože, sluznic ali obeh (npr. generalizirana urtikarija, srbenje, rdečica, otečene ustnice, jezik ali uvula), in še vsaj eden izmed naslednjih: a. Prizadetost dihal (npr. dispnea, bronhospazem, stridor, zmanjšan PEF, hipoksija). b. Hipotenzija ali simptomi hipoperfuzije centralnega živčnega sistema (npr. kolaps, sinkopa, inkontinenca). c. Huda gastrointestinalna simptomatika (npr. močni krči v trebuhu, bruhanje)
2. Nenaden začetek (v minutah ali urah) hipotenzije ali bronhospazma ali otekanja grla po izpostavitvi bolnika znanemu ali zelo verjetnemu alergenemu (v minutah do urah), tudi če ni značilne prizadetosti kože.

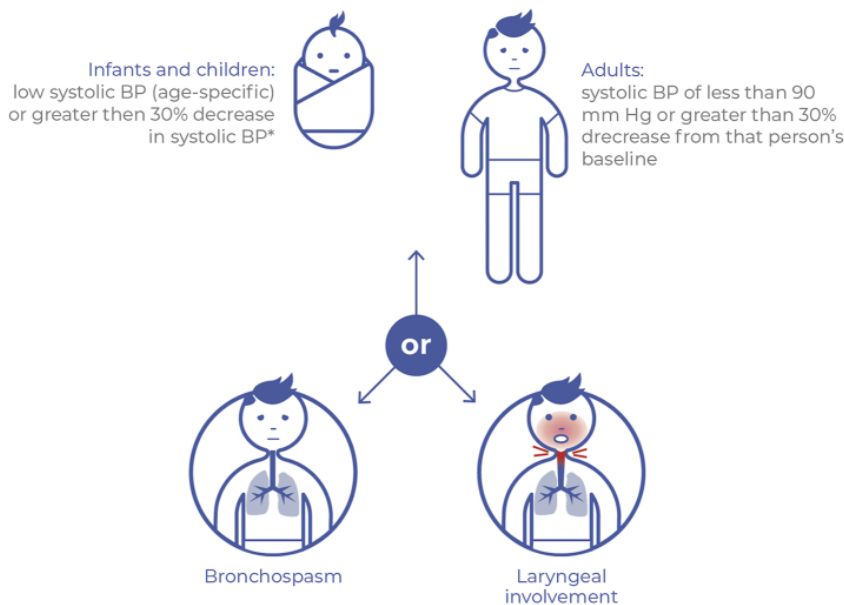
Hipotenzija je za otroke definirana kot vrednost sistolnega krvnega pritiska <70 mmHg od 1 meseca do 1 leta, <70 mmHg + (2-krat leta) za otroke od 1 do 10 let in < 90 mmHg od 11 do 17 let.

Anaphylaxis is highly likely when any one of the following **two criteria is fulfilled**

- ① Acute onset of an illness (minutes to several hours) with involvement of the skin, mucosal tissue, or both (e.g. generalized hives, pruritus or flushing, swollen lips-tongue-uvula)



- ② Acute onset of **hypotension*** or **bronchospasm** or **laryngeal involvement*** after exposure to a known or highly probable allergen for that patient (minutes to several hours), **even in the absence of typical skin involvement.**



PEF, Peak expiratory flow; BP blood pressure.

*Hypotension defined as a decrease in systolic BP greater than 3% from that person's baseline, OR
i. Infants and children under 10 years: systolic BP less than (70mmHg + [2 x age in years])
ii. Adults: systolic BP less than < 90 mmHg

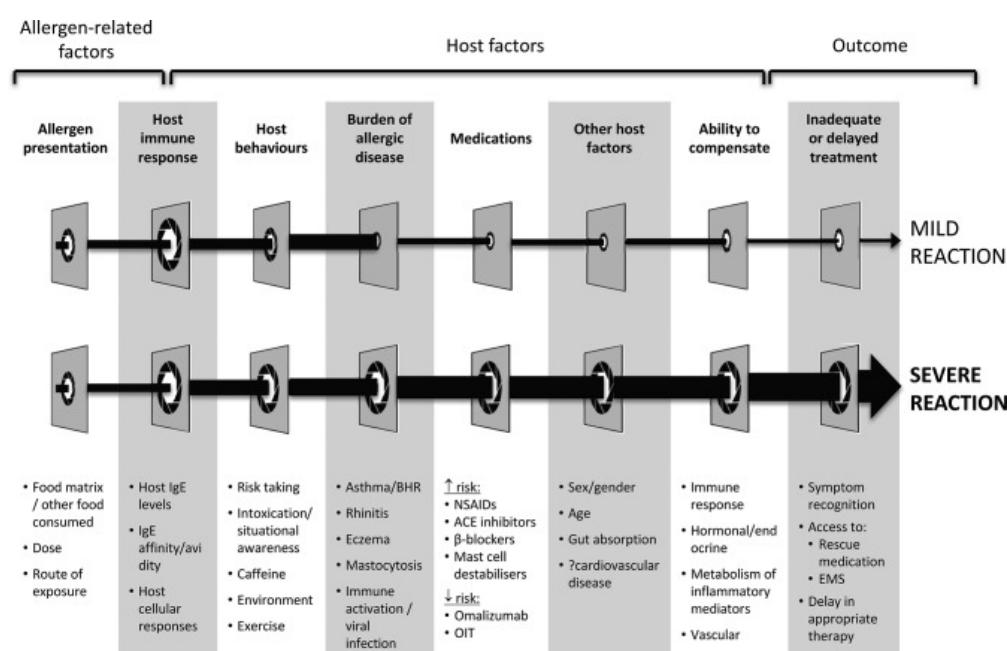
Laryngeal symptoms include: stridor, vocal changes, odynophagia.

POTEK IN TEŽA ANAFILAKSIJE: Anafilaksija lahko poteka bifazično pogosteje, kot je bilo predhodno opisano, pogosteje ob hudi anafilaksiji (tudi v 30%) (35). Pri polovici bolnikov se simptomi in znaki ponovijo v 6 do 12 urah po prvi epizodi (5). Pri hudi anafilaksiji se pogosteje ponovijo težji znaki (35). Zdravljenje z glukokortikoidi ni preprečilo bifazičnih potekov anafilaksije (36). Smernice EAACI zato opozorijo na smiselnost podaljšane opazovanja bolnikov težjih anafilaksij (predhodno smo priporočali, če so bile med anafilaksijo težave z dihanjem monitoriziranje 6 do 8 ur, po hipotenziji pa 12- 24 ur (2)), pa tudi pri bolnikih s hudo astmo, po večerni ali nočni anafilaksiji, če ni možnega dobrega opazovanja težav doma, oddaljenih od zdravniške pomoči, bolnikov s predhodnimi bifazičnimi poteki anafilaksij, po neznanem sprožitelju in če se pričakuje še absorpcija alergena npr. po zaužitju hrane (5).

Različni dejavniki tveganja za hudo anafilaksijo temeljijo predvsem na analizi primerov anafilaksij s smrtnim izidom. Kljub temu, da je anafilaksija zaradi hrane je najpogostejša v starostni skupini 0–5 let, je smrt zaradi anafilaksije v tej starostni skupini redka (37). Nagnjenosti najstnikov in odraslih k hudim izidom ni mogoče preprosto razložiti le s tveganim vedenjem. Astma velja za dejavnik tveganja, vendar v britanskem registru smrtne anafilaksije 22 % primerov ni imelo predhodne diagnoze astme. Drži tudi, da ima približno 50 % otrok z alergijo na hrano tudi astmo, a jih velika večina nikoli ne bo imela anafilaksije (35-38).

Pri posamezniku se lahko prepletejo različni dejavniki, ki povzročijo težji potek anafilaksije, vključno z odmerkom alergena (38-39). Na Sliki 2 je prikazan model dejavnikov težje anafilaksije (38). Jakost predhodne anafilaksije, npr. po hrani, ne napove jakosti bodoče anafilaksije. Večina hudih anafilaksij je prvih (15). Poudarja se še vedno anafilaksija zaradi arašidov, ki je najpogostejši vzrok anafilaksije pri otrocih, tudi zaradi tega, ker je pogosteje resnejša anafilaksija in ima tudi pogosteje bifazični potek (40). Pri alergiji na arašide višina specifičnih IgE (sIgE) na arašide in izvidi IgE rekombinantne diagnostike (npr. sIgE rArah 2) napovejo tudi resnost alergijske reakcije (41). Anafilaksijo po drevesnih oreščkih in kravjem mleku napoveduje trajnost alergije in netoleriranje termično obdelanega alergena, anafilaksijo na jajce pa netoleriranje termično obdelanega alergena. Višina sIgE na jajce in kravje mleko ne napove resnosti alergijske reakcije, le verjetnost (41-43).

Slika 2. Dejavniki težje anafilaksije (37).



Predlagana je bila tudi nova klasifikacija resnosti anafilaksije, ki razlikuje pet stopenj (44), katero uporabnost pa bodo v bodoče še opredeljevali (Slika 3).

Slika 3. Delitev resnosti anafilaksije (44)

Severity grading system for acute allergic reactions (Pocket Guide)	
Grading system application is INDEPENDENT of whether reactions fulfill NIAID/FAAN anaphylaxis diagnostic criteria*	
Severity grades**	Clinical criteria examples (see sub-grading system for complete criteria)
5 ANY Severe: <i>Cardiovascular, Neurologic, Respiratory</i>	Cardiovascular: anaphylactic shock, cardiac arrest; <i>Infants:</i> hypotension Neurologic: Glasgow Coma Scale (GCS; https://www.mdcalc.com/glasgow-coma-scale-score-gcs) < 13, seizure; <i>Infants:</i> hypotonia Respiratory: respiratory failure, stridor with increased work of breathing (WOB), bronchospasm with minimal/no air movement and increased WOB
4 ANY Moderate: <i>Cardiovascular, Neurologic, Respiratory</i> OR Severe: <i>Mucosal/angioedema</i>	Cardiovascular: hypotension, syncope; <i>Infants:</i> mottling, cyanosis Neurologic: GCS 13-14 ; <i>Infants:</i> lethargic Respiratory: new onset persistent cough, hypoxemia, increased WOB (+/- wheezing), stridor w/o increased WOB Mucosal/angioedema: severe oropharyngeal (tongue/palate/uvula) swelling
3 ANY Mild: <i>Cardiovascular, Neurologic, Respiratory</i>	Cardiovascular: weak, dizzy, palpitations; <i>Infants:</i> tachycardia not related to other causes such as crying, discomfort, or medications Neurologic: confusion, drowsy; <i>Infants:</i> unexplained irritability, decreased activity Respiratory: dyspnea, chest tightness; new onset cough, wheezing w/o increased WOB
2 2 or more Mild, ANY Moderate: <i>Skin, Gastrointestinal, Mucosal/angioedema</i>	Skin: <i>Mild:</i> localized urticaria, erythema; <i>Moderate:</i> generalized urticaria, erythema Gastrointestinal: <i>Mild:</i> 1-2 episodes of emesis/diarrhea; <i>Moderate:</i> ≥ 3 episodes of emesis/diarrhea Mucosal/angioedema: <i>Mild:</i> facial swelling, rhinorrhea; <i>Moderate:</i> moderate oropharyngeal swelling
1 ANY Mild: <i>Skin, Gastrointestinal, Mucosal/angioedema</i>	Skin: localized urticaria, erythema Gastrointestinal: 1-2 episodes of emesis or diarrhea Mucosal/angioedema: facial swelling, rhinorrhea

Pomembno in raziskovalno zelo bogato je preventivno področje imunoterapije s hrano. Imunoterapija z arašidi lahko pomembno zviša odmere, potreben za nastanek anafilaksije in manjša tveganje za naključne reakcije v vsakdanjem življenju (43-44). Raziskave kažejo tudi na učinkovitost bioloških zdravil, npr. omalizumab, bodisi v kombinaciji z imunoterapijo ali samih, v preventivi anafilaksij (47).

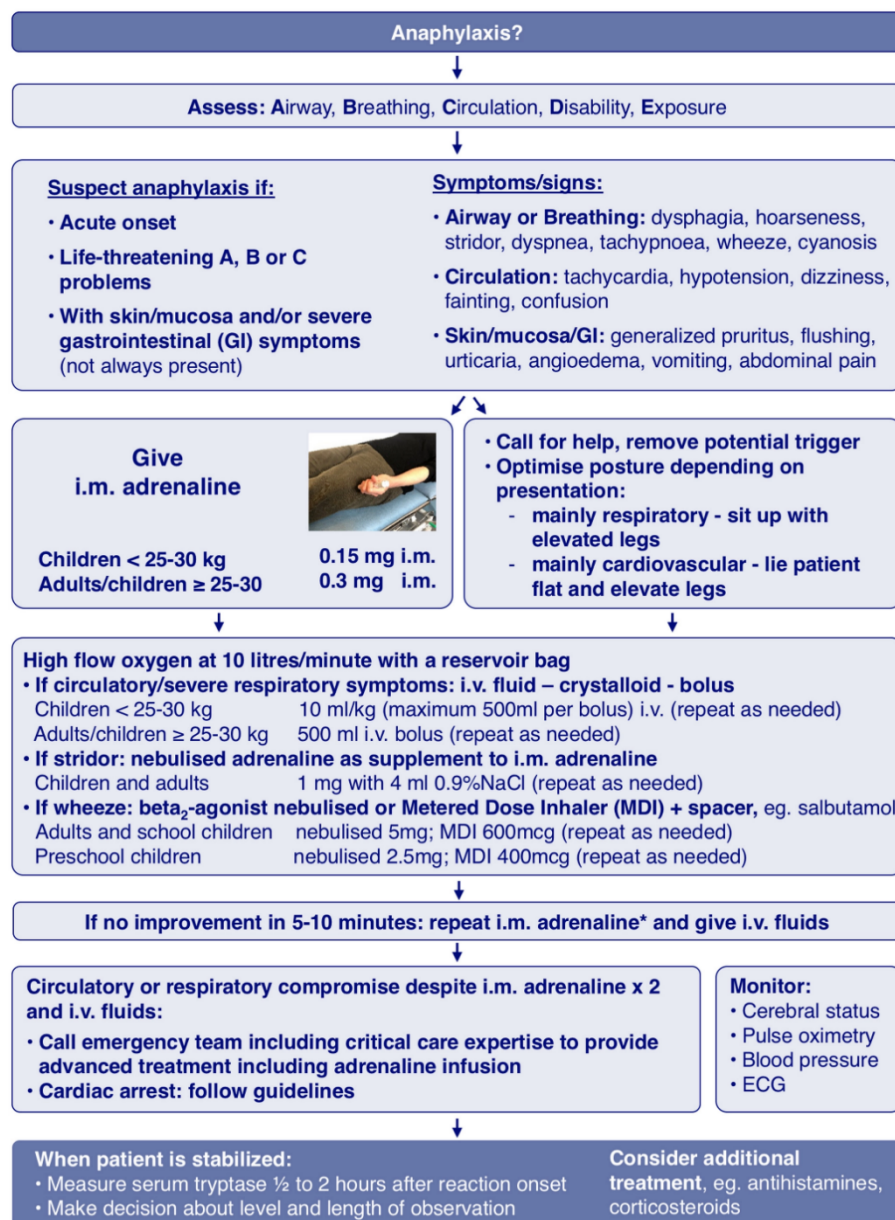
DIFERENCIALNA DIAGNOZA ANAFILAKSIJE: Kar nekaj kliničnih slik lahko zamenjamo z anafilaksijo. To so lahko akutna ali kronična koprivnica, okužbe (npr. boleče žrelo/hripavost s koprivnico), psihogene reakcije (vazovagalna sinkopa, panična epizoda, hiperventilacijski sindrom), poslabšanje astme, obstrukcija dihal (tudi npr. diskinezija glasilk), laringitis, oralni alergijski sindrom, šok druge vrste, miokardni infarkt, aritmije, zastrupitve (npr. z ribami, etanolom, opiat), epilepsija, psihoza, endokrinološke bolezni (hipoglikemija, tirotoksična kriza, karcinoidni sindrom, feokromocitom, vazointestinalni polipeptidni tumorji), angioedem (hereditarni, povezan z ACE inhibitorji), »red men« sindrom (npr. ob vankomicinu) (3, 5).

MARKERJI ANAFILAKSIJE: Opredeljujejo se novi markerji anafilaksije, ki bi uspeli razlikovati tudi med različnimi fenotipi anafilaksij. Štiri beljakovine (E-selektin, adrenomedulin, T-celični imunoglobulin, in mucinske domene 1) (48) in še druge tri (alergen-1, plazemski protein-A, povezan z nosečnostjo, in galektin-3) (49) značilno povezujejo z anafilaksijami bolnikov z mastocitozo. Kot potencialne biološke označevalce anafilaksije so predlagali zunajcelične vezikle (50) ter mikro RNA (miRNA), npr. miR-21-3p, miR-487b in hsa-miR-451a (51). Opisane še nismo preizkusili v vsakdanji klinični praksi.

ZDRAVLJENJE ANAFILAKSIJE: Na Sliki 4 je prikazana prirejena shema zdravljenja anafilaksije predlagana s strani EAACI 2021 (5). Ob naštetih znakih anafilaksije opomnijo tudi na sumljivo anafilaksijo, kjer so v ospredju prebavne težave in opomnijo tudi na priporočen položaj. Še manj se omenja zdravljenje z antihistaminiki in glukokortikoidi. Pri odmerkih zdravil pa navajajo poenostavljene odmerke (zaokrožitve in ne preračunane na težo otroka, npr. za adrenalin intramuskularno (im) ali v inhalaciji ter za inhalacije beta2 agonista), odmerek zdravljenja adrenalina za odrasle je celo opredeljen le kot 0,3 mg im, ob tem da istočasno opozorijo na veliko potrebo po dodatnih študijah o uporabi naštetih zdravil ob anafilaksiji. Iz spremljajoče vsebine je razvidno, da se odmerki adrenalina im sicer nanašajo na odmerke adrenalina v samoinjektorju (5.). Nezdravljenje anafilaksije z adrenalinom ostaja povezano s smrtnim izhodom anafilaksije (52). Ob zdravljenju

anafilaksij z adrenalinom so se potencialno resnejši neželeni učinki adrenalina (npr. visok krvni tlak, nelagodje v prsnem košu ali spremembe EKG) pojavili pri 3 % bolnikov, pogosteje pri intravenoznem prejetju adrenalina. Z višjimi odmerki adrenalina so bili povezani pričakovani blažji prehodni neželeni učinki (npr. tremor, palpitacije, zaskrbljenost) (53). Adrenalin sicer ne obrne vseh patofizioloških mehanizmov anafilaksije, npr. ne dvigne srednjega arterijskega pritiska ali utripnega volumna (UV), zato je pomembno zdravljenje tudi s fiziološko raztopino, ki dodatno pripomore k povišanju UV (54). Spremembe kardiovaskularnega sistema, vključno z znižanim UV so pri odraslih zaznali ne glede na resnost anafilaksije in pokazali na hitrejše izzvenetje gastrointestinalnih težav po parenteralni hidraciji (55).

Slika 4. Prepoznavanje in zdravljenje anafilaksije (5)



*Consider (i) giving second dose by needle and syringe in case of autoinjector failure and (ii) using 0.5mg dose for adolescents or adults.

Modified from the 2020 Danish National Anaphylaxis guideline (12.06.21)

SAMOINJEKTORJI ADRENALINA: Odprta ostajajo vprašanja na področju glede nošnje enega (morda bo bolnik imel pri sebi lažje vsaj en samoinjektor, večine samoinjektorjev se ne uporabi, večini bolnikov pomaga en odmerek oziroma drugega prejmejo s strani zdravniške oskrbe) ali dveh samoinjektorjev adrenalina (dva

priporoča Evropska agencija za zdravila, 10% bolnikov potrebuje drugi odmerek, oddaljenost od zdravniške oskrbe) (5, 56), optimalnega modela množičnega učenja laikov ukrepov ob anafilaksiji ter implementacije smernic v vrtec in šole (5). Ponovno so opozorili tudi na pomembnost strokovnega predpisa samoinjektorjev adrenalina tudi zaradi trenda predpisa in uporabe samoinjektorjev adrenalina ob blažjih alergijskih reakcijah ali celo ob odsotnosti (57). Glede na to, da se je ob anafilaksiji potrebno izogibati nenadnemu vstajanju- ker to poveča nevarnost smrti- bolnikom z anafilaksijo ne smemo svetovati, da ob anafilaksiji sami hodijo do mesta hranjenja samoinjektorja adrenalina, ampak naj samoinjektor prinese druga oseba, ki pomaga osebi z anafilaksijo (52). Osebe z anafilaksijo smo sicer že osveščali, da naj npr. ne opravljajo sami športnih aktivnosti, naj vedo, kje so dežurne službe in tudi, da imajo ob sebi vedno delujoč telefon, slednje je tudi del osveženih priporočil (3, 5). Med indikacijami za predpis samoinjektorja adrenalina dodajo še pri anafilaksiji na strup žuželk in celo na zdravila pri bolnikih s kardiovaskularnimi boleznimi (slednje so dejavnik tveganja za smrtno anafilaksijo (5, 52) in oralno imunoterapijo s hrano (58), ni pa npr. še dodanih novejših genetskih oblik anafilaksij (5). Ob teži otroka med 25 do 30 kg se lahko odločimo bodisi za predpis nižjega (150 mcg) ali višjega (300 mcg) odmerka adrenalina v samoinjektorju (5). Dalje ostaja težava dostopnosti samoinjektorjev adrenalina po svetu, dostopen je v 32 % držav, večinoma razvitejših, širše dostopen (npr. po šolah, vrtcih, javnih mestih) pa je le v posameznih državah (v 16 % od teh) (59).

ZAKLJUČKI: Glede vsakdanjih obravnav anafilaksij, kljub številnim oziroma zaradi publikacij po sprejetih nacionalnih priporočilih (2) s tega področja, bi priporočala da,

1. nadaljujemo ozaveščanje o prepoznavi anafilaksije tudi z zavedanjem, da simptomi s strani kože niso nujno prisotni ali da lahko izolirano prizadene dihalni ali gastrointestinalni sistem,
2. poudarjamo dalje zdravljenje z adrenalinom intramuskularno (odmerek za otroke 0,01 mg/kg telesne teže; maksimalno oz za odraslega 0,5 mg) in parenteralno bolnika hidrirati,
3. ne hitimo z odpustom bolnik po anafilaksiji (npr. po težji anafilaksiji, pri bolnikih s hudo astmo, po večerni ali nočni anafilaksiji, če ni možnega dobrega opazovanja težav doma, oddaljenosti od zdravniške pomoči, bolnikov s predhodnimi bifazničnimi poteki anafilaksij, po neznanem sprožitelju in če se pričakuje še absorbcija alergena),
4. nadaljujemo z zastavljenimi pogostimi izobraževanji o anafilaksiji (tako zdravstvenih delavcev in laikov),
5. opozarjamo bolnike, naj bodo obkroženi z osebami veččimi prve pomoči ob anafilaksiji in imeti ob sebi poleg samoinjektorja adrenalina tudi telefon.

Alergologi tudi v Sloveniji se sicer trudimo podrobnejše spoznati bolnike z anafilaksijo tudi npr. preko genetskih (21-22) in drugih markerjev (31), kar utegne vplivati tudi na dodatne klinične odločitve (npr. glede trajanja imunoterapije in predpisa samoinjektorjev adrenalina) in v posebnih primerih zdravimo z omalizumab. Dodala bi še, tudi zaradi nadaljevanje trenda naraščanja anafilaksij, da bi bilo dobro podpirati ohranjanje oziroma večanje alergoloških timov v Sloveniji ter večati dostopnost samoinjektorjev adrenalina. Tudi novejša publikacije pa opozorijo na še mnogo odprtih vprašanj ob obravnavi anafilaksij (5).

Literatura:

1. Worm M, Moneret-Vautrin A, Scherer K, Langb R, Fernandez-Rivas M, Cardona, et al. First European data from the network of severe allergic reactions (NORA) Allergy 2014; 69(10):1397-404.
2. Alergološka in imunološka sekcija SZD, Sekcija za pediatrično pulmologijo, alergologijo in klinično imunologijo, Združenje zdravnikov družinske medicine SZD, Slovensko združenje za urgentno medicino, Slovensko združenje za

intenzivno medicino, Združenje za anesteziologijo in intenzivno medicino. Dogovor o obravnavi anafilaksije. Dostopno na: <https://www.szum.si/media/uploads/files/ANAFILAKSIJA%20BROSURA.pdf>.

3. Cardona V, Ansotegui IJ, Ebisawa M, El-Gamal Y, Fernandez Rivas M, Fineman S, Geller M, Gonzalez-Estrada A, Greenberger PA, Sanchez Borges M, Senna G, Sheikh A, Tanno LK, Thong BY, Turner PJ, Worm M. World allergy organization anaphylaxis guidance 2020. *World Allergy Organ J* 2020 Oct 30;13(10):100472.
4. Turner PJ, Worm M, Ansotegui IJ, et al. Time to revisit the definition and clinical criteria for anaphylaxis? *World Allergy Organ J*. 2019;12:100066.
5. Muraro A, Worm M, Alviani C, Cardona V, DunnGalvin A, Garvey LH, et al. EAACI guidelines: Anaphylaxis (2021 update). *Allergy* 2022; 77(2):357-77.
6. Tejedor Alonso MA, Moro Moro M, Múgica García MV. Epidemiology of anaphylaxis. *Clin Exp Allergy* 2015;45:1027–39.
7. Tanno LK, Bierrenbach AL, Simons FER, et al. Critical view of anaphylaxis epidemiology: open questions and new perspectives. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2018;14:1–11.
8. Wang Y, Allen KJ, Suaini NHA, McWilliam V, Peters RL, Koplin JJ. The global incidence and prevalence of anaphylaxis in children in the general population: a systematic review. *Allergy* 2019;74: 1063–80.
9. Rudders SA, Arias SA, Camargo CA. Trends in hospitalizations for food-induced anaphylaxis in US children, 2000-2009. *J Allergy Clin Immunol* 2014; 134(4):960-2.
10. Robinson LB, Arroyo AC, Faridi MK, Rudders SA, Camargo CA Jr. Trends in US hospitalizations for anaphylaxis among infants and toddlers: 2006 to 2015. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2021 Feb;126(2):168-74.e3.
11. Tejedor-Alonso MA, Moro-Moro M, Múgica-García MV. Epidemiology of anaphylaxis: contributions from the last 10 years. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2015;25:163–75.
12. Fierstein JL, Brown D, Gupta R, et al. Understanding Food-Related Allergic Reactions Through a US National Patient Registry. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2021; 9: 206–15.e1.
13. Ansotegui IJ, Sánchez-Borges M, Cardona V. Current trends in prevalence and mortality of anaphylaxis. *Curr Treat Options Allergy*. 2016;3:205–11.
14. Turner PJ, Campbell DE, Motosue MS, Campbell RL. Global Trends in Anaphylaxis Epidemiology and Clinical Implications. Published Online First; 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2019.11.027>.
15. Grabenhenrich LB, Dölle S, Moneret-Vautrin A, Köhli A, Lange L, Spindler T, Ruëff F, et al. Anaphylaxis in children and adolescents: The European Anaphylaxis Registry. *J Allergy Clin Immunol* 2016;137(4):1128-37.
16. Worm M, Grünhagen J, Dölle S. Food-induced anaphylaxis - data from the anaphylaxis registry. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* 2016;59(7):836-40.
17. Platts-Mills TAE, Li RC, Keshavarz B, Smith AR, Wilson JM. Diagnosis and Management of Patients with the α -Gal Syndrome. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2020; 8(1):15-23.
18. Sánchez-Borges M, Suárez-Chacon R, Capriles-Hulett A, Caballero-Fonseca F, Iraola V, Fernández-Caldas E. Pancake syndrome (oral mite anaphylaxis). *World Allergy Organ J* 2009; 2(5):91-6.
19. Toletone A, Dini G, Massa E, et al. Chlorhexidine-induced anaphylaxis occurring in the workplace in a health-care worker: case report and review of the literature. *Med Lav* 2018;109:68–76.
20. Wylon K, Dölle S, Worm M. Polyethylene glycol as a cause of anaphylaxis. *Allergy Asthma Clin Immunol* 2016;12:67.
21. Valent P, Akin C, Bonadonna P, et al. Proposed diagnostic algorithm for patients with suspected mast cell activation syndrome. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2019;7:1125–33.
22. Lyons JJ, Chovanec J, O'Connell MP, Liu Y, Šelb J, Zanotti R, et al. Heritable risk for severe anaphylaxis associated with increased α -tryptase-encoding germline copy number at TPSAB1. *J Allergy Clin Immunol*. 2021 Feb;147(2):622-32.
23. Nicoletti P, Carr DF, Barrett S, McEvoy L, Friedmann PS, Shear NH, et al. Betalactam-induced immediate hypersensitivity reactions: a genome-wide association study of a deeply phenotyped cohort. *J Allergy Clin Immunol* 2021;147: 1830-7.e15.
24. Ribo P, Guo Y, Aranda J, Ainsua-Enrich E, Navines-Ferrer A, Guerrero M, et al. Mutation in KARS: a novel mechanism for severe anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* 2021;147:1855-64.e.
25. Jonsson F, de Chaisemartin L, Granger V, Gouel-Cheron A, Gillis CM, Zhu Q, et al. An IgG-induced neutrophil activation pathway contributes to humandrug-induced anaphylaxis. *Sci Transl Med* 2019;11:eaat1479.
26. Finkelman FD, Khodoun MV, Strait R. Human IgE-independent systemic anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* 2016;137:1674-80.
27. Petry J, Rahmoller J, Duhring L, Lilienthal GM, Lehrian S, Buhre JS, et al. Enriched blood IgG sialylation attenuates IgG-mediated and IgG-controlled-IgE-mediated allergic reactions. *J Allergy Clin Immunol* 2021;147:763-7.

28. Shade KTC, Conroy ME, Washburn N, Kitaoka M, Huynh DJ, Laprise E, et al. Sialylation of immunoglobulin E is a determinant of allergic pathogenicity. *Nature* 2020;582:265-77.
29. Leyva-Castillo JM, Galand C, Kam C, Burton O, Gurish M, Musser MA, et al. Mechanical skin injury promotes food anaphylaxis by driving intestinal mast cell expansion. *Immunity* 2019;50:1262-75.
30. Wong GS, Redes JL, Balenga N, McCullough M, Fuentes N, Gokhale A, et al. RGS4 promotes allergen- and aspirin-associated airway hyperresponsiveness by inhibiting PGE2 biosynthesis. *J Allergy Clin Immunol* 2020;146:1152-64.e13.
31. Korošec P, Turner PJ, Šilar M, et al. Basophils, high-affinity IgE receptors, and CCL2 in human anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* 2017;140(3):750-8.
32. Brown SGA, Stone SF, Fatovich DM, et al. Anaphylaxis: clinical patterns, mediator release, and severity. *J Allergy Clin Immunol* 2013;132.
33. Greenberger PA, Rotskoff BD, Lifschultz B. Fatal Anaphylaxis: Postmortem Findings and Associated Comorbid Diseases. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2007;98(3):252-7.
34. Pumphrey R, Sturm G. Risk factors for fatal anaphylaxis. In: *Advances in Anaphylaxis Management*. United House, 2 Albert Place. vols. 32–48. London N3 1QB, UK: Future
35. *Medicine Ltd*; 2014.
36. Gupta RS, Sehgal S, Brown DA, Das R, Fierstein JL, Casale TB, Nowak-Wegrzyn AH, Bilaver LA. Characterizing Biphasic Food-Related Allergic Reactions Through a US Food Allergy Patient Registry. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2021; 9(10):3717-27.
37. Lee S, Bellolio MF, Hess EP, Erwin P, Murad MH, Campbell RL. Time of onset and predictors of biphasic anaphylactic reactions: a systematic review and meta-analysis. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2014;3:408–16.e2.
38. Turner PJ, Gowland MH, Sharma V, et al. Increase in anaphylaxis-related hospitalizations but no increase in fatalities: an analysis of United Kingdom national anaphylaxis data, 1992–2012. *J Allergy Clin Immunol* 2015;135:956–63.
39. Tuner PJ, Baumert JL, Beyer K, et al. Can we identify patients at risk of lifethreatening allergic reactions to food? *Allergy* 2016;71:1241–55.
40. Dubois AEJ, Turner PJ, Hourihane J, et al. How does dose impact on the severity of food-induced allergic reactions, and can this improve risk assessment for allergenic foods?: report from an ILSI Europe Food Allergy Task Force Expert Group and Workshop. *Allergy* 2018. 73(7):1383-92.
41. Maris I, Dolle-Bierke S, Renaudin JM, Lange L, Koehli A, Spindler T, et al. Peanut-induced anaphylaxis in children and adolescents: data from the European Anaphylaxis Registry. *Allergy* 2021;76:1517-27.
42. Blumchen K, Beder A, Beschorner J, Ahrens F, Gruebl A, Hamelmann E, et al. Modified oral food challenge used with sensitization biomarkers provides more real-life clinical thresholds for peanut allergy *Allergy Clin Immunol* 2014; 134(2):390-8.
43. Turner PJ. Persistent allergy to cow's milk: of greater a clinical concern than other food allergies. *Pediatr Allergy Immunol* 2013;24(7): 624-6.
44. Samady W, Warren C, Wang J, Das R, Gupta RS. Egg Allergy in US Children *J Allergy Clin Immunol Pract* 2020;8(9):3066-73.
45. Dribin TE, Schnadower D, Spergel JM, Campbell RL, Shaker M, Neuman MI, et al. Severity grading system for acute allergic reactions: a multidisciplinary Delphi study. *J Allergy Clin Immunol* 2021;148:173-8.
46. Vickery BP, Vereda A, Casale TB, Beyer K, du Toit G, Hourihane JO, et al. AR101 Oral immunotherapy for peanut allergy. *New Engl J Med* 2018;379:1991-2001.
47. Trendelenburg V, Blumchen K, Bellach J, Ahrens F, Gruebl A, Hamelmann E, et al. Peanut oral immunotherapy protects patients from accidental allergic reactions to peanut. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2020;8:2437-41.e3.
48. Worm M, Francuzik W, Dolle-Bierke S, Alexiou A. Use of biologics in food allergy management. *Allergologie* 2021;44:218-23.
49. Gulen T, Teufelberger A, Ekoff M, Westerberg CM, Lyberg K, Dahlen SE, et al. Distinct plasma biomarkers confirm the diagnosis of mastocytosis and identify increased risk of anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* 2021;148:889-94.
50. Nunez-Borque E, Fernandez-Bravo S, Pastor-Vargas C, Alvarez-Llamas G, Gutierrez-Blazquez MD, Alwashali E, et al. Proteomic profile of extracellular vesicles in anaphylaxis and their role in vascular permeability. *Allergy* 2021;76:2276-9.
51. McGrath FM, Francis A, Fatovich DM, Macdonald SPJ, Arendts G, Bosco A, et al. Small nucleolar RNA networks are up-regulated during human anaphylaxis. *Clin Exp Allergy* 2021;51:1310-21.
52. Francuzik W, Pazur K, Dalke M, Dolle-Bierke S, Babina M, Worm M. Serological profiling reveals hsa-miR-451a as a possible biomarker of anaphylaxis. *JCI Insight* 2022;7:e156669.

53. Turner PJ, Jerschow E, Umasunthar T, et al. Fatal anaphylaxis: mortality rate and risk factors. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2017;5:1169–78.
54. Cardona V, Ferré-Ybarz L, Guilarte M, et al. Safety of Adrenaline Use in Anaphylaxis: A Multicentre Register. *Int Arch Allergy Immunol* 2017;173(3):171-7.
55. Dodd A, Hughes A, Sargant N, et al. Evidence update for the treatment of anaphylaxis. *Resuscitation* 2021; 163: 86-96.
56. Ruiz-Garcia M, Bartra J, Alvarez O, Lakhani A, Patel S, Tang A, et al. Cardiovascular changes during peanut-induced allergic reactions in human subjects. *J Allergy Clin Immunol* 2021;147:633-42.
57. Patel N, Chong KW, Yip AYG, et al. Use of multiple epinephrine doses in anaphylaxis: A systematic review and meta-analysis. *J Allergy Clin Immunol* 2021; 148: 1307-31.
58. Turner PJ, DunnGalvin A, Hourihane JO. The Emperor has no symptoms: the risks of a blanket approach to using epinephrine autoinjectors for all allergic reactions. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2016;4:1143–6.
59. Pajno GB, Fernandez-Rivas M, Arasi S, et al. EAACI Guidelines on allergen immunotherapy: IgE-mediated food allergy. *Allergy*. 2018;73(4):799-815.
60. Tanno LK, Simons FER, Sanchez-Borges M, et al. Applying prevention concepts to anaphylaxis: a call for worldwide availability of adrenaline auto-injectors. *Clin Exp Allergy*. 2017;47. <https://doi.org/10.1111/cea.12973>.

KAZALO

NOVA METODA ZA DOLOČANJE KOMPONENT KOMPLEMENTA.....	4
GENETSKA ANALIZA BOLNIKOV S SUMOM NA HAE- NOVOST	8
POSODOBLJENE SMERNICE ZA LABORATORIJSKO POTRJEVANJE HAE	10
REGULATORNE CELICE T ZA ZDRAVLJENJE AVTOIMUNSKIH BOLEZNI	12
IZRAŽANJE INDUCIBILNIH FAKTORJEV REPROGRAMIRA CELICE CAR-T TER IZBOLJŠA DELOVANJE IN VARNOST	16
NETHERTONOV SINDROM	20
SRBEŽ – KLINIČNI PRISTOP.....	26
KAJ JE NOVEGA PRI KRPIČNIH TESTIH.....	31
PRIMERJAVA LESTVIC ZA OCENO TEŽE AKUTNIH ALERGIJSKIH REAKCIJ.....	36
INTERPRETACIJA SMERNIC ZA ALERGIJO PO PIKIH ŽUŽELK	43
PRIDOBIVANJE IN VZDRŽEVANJE VEŠČIN ZA UPORABO SAMOINJEKTORJA ADRENALINA.....	47
PRIDOBIVANJE IN VZDRŽEVANJE VEŠČIN ZA UPORABO SAMOINJEKTORJA ADRENALINA.....	50
KAJ JE ZA SPREMENITI V PRIPOROČILIH ZA ANAFILAKSIJO.....	53
SPOMLADANSKI SESTANEK ALERGOSEKCIJE	64

SPOMLADANSKI SESTANEK ALERGOSEKCIJE

Urednik zbornika **Mitja Košnik**

Organizacija srečanja **Robert Marčun, Mitja Košnik**

Oblikovanje **LEPPA**

Izdajatelj **Alergološka in imunološka sekcija SZD**

Leto izdaje **2023**

Naklada **100 izvodov**

Tiskarna **Karun**

CIP - Kataložni zapis o publikaciji