

- } ALERGOLOŠKA IN  
IMUNOLOŠKA SEKCIJA  
SZD
- } Združenje ortopedov SZD
- } Slovensko imunološko  
društvo
- } Združenje hematologov  
Slovenije

Zbornik sestanka:

## **Aktualne teme iz alergologije in klinične imunologije**

Ljubljana, Domus Medica  
21-22. april 2017

Izdajatelj  
Alergološka in imunološka sekcij SZD

Urednik zbornika  
Mitja Košnik

Strokovni odbor srečanja  
Mitja Košnik, Klemen Stražar, Vladka  
Čurin Šerbec, Matevž Škerget

Organizacija srečanja  
Robert Marčun

Izvedbo sestanka  
**Aktualne teme iz alergologije in  
klinične imunologije**  
so omogočili:

**Stallergenes Greer/Ewopharma**  
**Glaxo SmithKline**

Chiesi  
Boehringer Ingelheim  
IRIS  
Lek  
Mylan  
Novartis  
Pliva Tewa

# Program

**Petek 21 april 2017**

15:30 Julij Šelb Drugačen pogled na vrednotenje testov alergije pri bolnikih preobčutljivih za strup žuželk (predstavitev doktorskega dela)

16:00-17:30 Preobčutljivost in kovinski vsadki v ortopediji (TBA, Marko Vok)

- Peter Kopač Vrste preobčutljivosti in primerni test (10 minut)
- Rihard Trebše Boleč umetni sklep – je lahko vzrok preobčutljivost na materiale vsadka? (20 minut)
- Marko Vok Epikutano testiranje pri sumu na preobčutljivost za ortopedске vsadke (30 minut)
- Razprava in sklepi

18:00: Stallergenes Greer/Ewopharma satelitski simpozij: Nov pristop k imunoterapiji z alergeni

18:00-18:15 Stallergenes Greer story (Senol Pak, MD, Stallergenes Greer)

18:15-18:30 Comprehensive Allergen Immunotherapy portfolio (Riad Fadel, MD, Stallergenes Greer)

18:30-19:30 Imunoterapija z alergeni v klinični praksi (Delavnici)

Kateri bolniki so primerni za zdravljenje z imunoterapijo z alergeni (Riad Fadel)

Kako izbrati najprimernejšo imunoterapijo z alergeni za primernega bolnika ob ravno pravem času (Doc. dr. Renato Eržen)

19:30-20:00 Zaključne ugotovitve

## **Sobota 22 april 2017**

8:30 Občni zbor alergosekcije

9:00-10:30 Povišana bazalna triptaza in mastocitoza (Mihaela Zidarn, Matevž Škerget)

- Matevž Škerget Bolezni mastocitov (20 minut)
- Mira Šilar Triptaza in CCL2 - sodobna laboratorijska biomarkerja za potrjevanje anafilaksije (20 minut)
- Mihaela Zidarn, Teja Janeš Bolniki s preobčutljivostjo za strupe žuželk in bolezni mastocitov (20 minut)
- Razprava in sklepi (20 minut)

10:30-11:15 Proste teme (Vladka Čurin Šerbec)

- Nina Frelj Preobčutljivost za zajca (15 minut)
- Sendi Montanič (ZTM) Imunogenetika pri presajanju organov in krvotvornih matičnih celic (15 minut)
- Mojca Benčina (KI) Tollu podoben receptor 9 - nov pogled na mehanizem aktivacije (15 minut)

Satelit Glaxo 20 min

12:30-14:00 Anafilaksija – ukrepi za preprečevanje (Tina Vesel, Mitja Košnik)

- Tina Vesel Obravnava bolnika z anafilaksijo 20 min
- Tina Vesel Predstavitev Strategije, edukacije. Širša dostopnost samoinjektorjev adrenalina 20 min
- Sonja Štramec Nemeč: Pregled zakonodaje 15 min
- Košnik Mitja Imunoterapija s strupi kožekrilcev: obnova mednarodnih smernic (20 minut)

# DRUGAČEN POGLED NA VREDNOTENJE TESTOV ALERGIJE PRI BOLNIKI PREOČUTLJIVI ZA STRUP ŽUŽELK

*dr. Julij Šelb, dr.med.; prof. dr. Mitja Košnik, dr.med; Mira Šilar, ing.kem.tehnol.; izr.prof. dr. Peter Korošec, univ.dipl.biol.*

## Raziskava izboljšanja diagnostičnega postopka alergije za strupe kožekrilcev

**OZADJE:** Ker ima do 60 % bolnikov, ki po piku kožekrilca doživijo anafilaktično reakcijo, pozitivne rezultate IgE protiteles proti nativnem strupu tako ose, kot tudi čebele, čeprav le manj kot 10 % bolnikov doživi klinično očitno reakcijo, če jih pičita osa in čebela, je diagnostični postopek določitve kožekrilca na katerega strup je bolnik alergičen, težak in nezanesljiv. Menimo, da bo kombinirana uporaba IgE protiteles proti rekombinantnim sestavinam strupov ose in čebele (t.i. SSMA [angl. 'species specific major allergen'] protitelesa) in testa aktivacije bazofilcev (t.i. BAT [angl. 'basophil activation test']) izvedenega z nativnima strupoma ose in čebele, v obliki stopenjskega procesa diagnostike oz. z uporabo algoritma razmerij statistično značilno izboljšala diagnostični postopek

**METODE:** V študijo smo vključili 177 zaporednih bolnikov, ki so po piku kožekrilca (družina Hymenoptera) doživeli anafilaktično reakcijo. Pri vseh bolnikih smo izmerili IgE protitelesa proti nativnem strupu ose in čebele, IgE protitelesa proti rekombinantnim proteinom strupov ose in čebele (rApi m 1 in rVes v 5) ter test aktivacije bazofilcev s 4-imi koncentracijami (0.001-1 µg/L) nativnega strupa ose in čebele.

**REZULTATI:** V končno analizo smo vključili 133 bolnikov, pri katerih je bila anamneza o kožekrilcu, ki je povzročil anafilaktično reakcijo, nedvoumna.

Na vzorcu bolnikov, ki so imeli pozitivne rezultate IgE protiteles proti nativnem strupu enega izmed kožekrilcev (proti nativnem strupu ose ali pa proti nativnem strupu čebele; tako imenovan IgE +/- vzorec [n = 73]), je bilo ujemanje rezultatov IgE protiteles proti nativnem strupu z anamnezo o kožekrilcu, ki je povzročil anafilaktično reakcijo, odlično (96 %). Prav tako je bilo zelo dobo ujemanje med rezultati IgE protiteles proti nativnem strupu in rezultati IgE protiteles proti rekombinantnim proteinom strupov, kot tudi ujemanje med rezultati IgE protiteles proti nativnem strupu in rezultati testa aktivacije bazofilcev (> 90 %).

Na vzorcu bolnikov, ki so imeli pozitivne rezultate IgE protiteles proti nativnima strupoma obeh kožekrilcev (proti nativnem strupu ose in tudi nativnem strupu čebele; tako imenovan IgE ++ vzorec [n = 56]), smo sestavili in ovrednotili algoritme, ki so temeljili na razmerjih rezultatov IgE protiteles proti rekombinantnim sestavinam strupov čebele in ose in/ali razmerjih rezultatov testa aktivacije bazofilcev, izraženega kot površina pod krivuljo aktivacije (t.i. BAT-AUC), z nativnim strupom čebele in ose. Vsi diagnostični postopki, ki so temeljili na algoritmih razmerij, so bili statistično značilno boljši (statistično značilno višji delež pravilnih diagnoz) od diagnostičnih postopkov, ki so temeljili na standardni interpretaciji diagnostičnih testov (statistično značilno izboljšanje je bilo opazno tudi nasproti, če se je diagnostični postopek izvajal stopenjsko). Od vseh diagnostičnih postopkov, ki so temeljili na algoritmih razmerij, je bil najboljši SSMA+BAT-AUC diagnostični postopek. S pomočjo tega postopka je bil delež pravilnih diagnoz več kot 80 % (statistično značilno izboljšanje v primerjavi z

diagnostičnim postopkom, ki je uporabljal samo standardno interpretacijo rezultatov testa aktivacije bazofilcev oziroma standardno interpretacijo rezultatov IgE protiteles proti rekombinantnim sestavinam strupov [delež pravilnih diagnoz pri teh dveh postopkih je bil okoli 50 %]; prav tako statistično značilno izboljšanje v primerjavi s stopenjskim diagnostičnim postopkom standardne interpretacije obeh testov [60 % delež pravilnih diagnoz]). Statistično značilno izboljšanje diagnostičnih postopkov, ki so temeljili na algoritmih razmerij, smo potrdili z analizo ROC-krivulje.

Na vzorcu bolnikov, ki so imeli negativne rezultate IgE protiteles proti nativnima strupoma obeh kožekrilcev (proti nativnem strupu ose in tudi nativnem strupu čebele; tako imenovan IgE -/- vzorec [n = 4]), smo s testom aktivacije bazofilcev dokazali senzibilizacijo pri vseh 4-ih bolnikih, dočim smo, z uporabo IgE protiteles proti rekombinantnim sestavinam strupov, to lahko storili le pri enem bolniku.

**ZAKLJUČKI:** S to raziskavo smo: i.) potrdili, da je enojno pozitiven rezultat IgE protiteles proti nativnem strupu zanesljiv pokazatelj kožekrilca, ki je pri bolniku povzročil anafilaktično reakcijo, zaradi česar nadaljnji diagnostični testi niso potrebni. ii.) pokazali, da je pri dvojno pozitivnem rezultatu IgE protiteles proti nativnima strupoma ose in čebele potrebno nadaljnje testiranje z IgE protitelesi proti rekombinantnim sestavinam strupov in testiranje s testom aktivacije bazofilcev, ter interpretacija rezultatov teh testov v obliki razmerij. iii.) pokazali, da je v skupini bolnikov z dvojno negativnimi rezultati IgE protiteles proti nativnima strupoma ose in čebele, nujno testiranje s testom aktivacije bazofilcev (za dokaz senzibilizacije).

## **Raziskava razlikovanja med različnimi stopnjami alergijske reakcije**

**OZADJE:** Diagnostični postopki, ki se trenutno uporabljajo pri diagnostiki alergije na kožekrilce, ne omogočajo niti razlikovanja med bolniki z velikimi lokalnimi reakcijami (VLR) in sistemskimi reakcijami (SR), kot tudi ne razlikovanja med različnimi stopnjami sistemih reakcij.

**METODE:** Sto-sedmim bolnikom, ki bili sprejeti zaradi alergije na pik kožekrilca in so imeli pozitivne rezultate IgE protiteles proti nativnem strupu enega izmed kožekrilcev (ali proti nativnem strupu ose [rezultati IgE protiteles proti nativnem strupu ose > 0.35 kU/L in rezultati IgE protiteles proti nativnem strupu čebele ≤ 0.35 kU/L], ali proti nativnem strupu čebele [rezultati IgE protiteles proti nativnem strupu čebele > 0.35 kU/L in rezultati protiteles proti nativnem strupu ose ≤ 0.35 kU/L]), smo izmerili IgE in IgG protitelesa proti ustreznem nativnem strupu, IgE protitelesa proti rekombinantnim proteinom ustreznega nativnega strupa (rApi m 1 ali rVes v 5), test aktivacije bazofilcev izmerjen s 4-mi koncentracijami (0.001-1 µg/L) ustreznega nativnega strupa in ocenjen kot BAT-AUC, ter bazalno triptazo. Izmerjene imunološke faktorje smo nato primerjali med skupinami bolnikov z VLR in SR ter znotraj različnih stopenj SR, ter jih nadalje uporabili v modelu penalizirane logistične regresije za napoved stopnje alergične reakcije (VLR proti SR).

**REZULTATI:** Rezultati IgE protiteles proti rekombinantnim sestavinam strupov in rezultati testa aktivacije bazofilcev, ocenjenega kot BAT-AUC, so bili edini neodvisni statistično značilni napovedni dejavniki SR. Noben izmed faktorjev ni zanesljivo ločeval med različnimi stopnjami SR, vendar pa, ko smo rezultate različnih imunoloških faktorjev korelirali s številsko spremenjenimi stopnjami resnosti alergične reakcije po piku kožekrilcev (VLR = 1, Mueller I = 2, ... Mueller IV = 5), je bila pri testu aktivacije bazofilcev, ocenjenem kot BAT-AUC in bazalni triptazi ta korelacija statistično značilna.

**ZAKLJUČKI:** Rezultati IgE protiteles proti rekombinantnim sestavinam strupov in rezultati testa aktivacije bazofilcev, ocenjenega kot BAT-AUC, lahko ločijo med bolniki z VLR in SR. Noben izmed preizkušenih faktorjev ne more zanesljivo ločevati med različnimi stopnjami SR.

### **Skupni zaključki in potencialna klinična uporabnost**

Rezultate IgE protiteles proti rekombinantnim sestavinam strupov in testa aktivacije bazofilcev z nativnima strupoma kožekrilcev, je potrebno interpretirati v obliki razmerij, saj na ta način povečmo delež pravilnih diagnoz. Večji delež pravilnih diagnoz ob interpretaciji rezultatov v obliki razmerij temelji na dejstvu absolutne razlike med vrednostmi IgE protiteles proti rekombinantnim sestavinam strupov ter vrednostmi testa aktivacije bazofilcev med različnimi skupinami alergijske reakcije (VLR proti SR). Pri interpretaciji rezultatov v obliki razmerij je ta razlika postavljena v kontekst ene osebe (ponavadi ima bolnik SR le po piku enega kožekrilca; po piku drugega kožekrilca pa ima VLR ali pa reakcije nima [asimptomatska senzibilizacija]), zaradi česar pri postavljanju mejnih vrednosti ni potrebno upoštevati razlik med posamezniki in so tako določene meje še bolj točne. Za aplikacijo pristopa v klinično prakso, bi bilo potrebno rezultate naše raziskave potrditi na skupini alergičnih bolnikov, ki bi bili v diagnostični namen provocirani s pikom žuželke.



## Vrste preobčutljivosti in primerni testi

Peter Kopač, Klinika Golnik

O preobčutljivostni reakciji govorimo, kadar določena snov povzroča objektivne in ponovljive simptome ter klinične znake samo pri manjšem številu ljudi, pri večini pa ne. Preobčutljivostno reakcijo lahko povzroči imunski mehanizem, kar imenujemo alergija, če pa imunskega mehanizma ne moremo dokazati, govorimo o ne-alergijski preobčutljivosti.

Preobčutljivostne reakcije lahko potekajo po več različnih mehanizmih in imajo zato lahko drugačne klinične slike. Glede na imunski mehanizem jih po Gellu in Coombsu razdelimo v štiri skupine. Klinično pa je pomembna razdelitev na takojšnje in kasne reakcije.

Reakcije ki potekajo po II in III tipu so redkejše in jih je težko dokazovati. V tem prispevku so predstavljeni testi za takojšnjo in kasno preobčutljivost.

Tipi preobčutljivosti po Gellu in Coombsu:

Tip	mehanizem	Primeri reakcij
I	takojšnja preobčutljivost	IgE, mastociti, bazofilci anafilaksija, urtikarija
II	citotoksična protitelesa	IgG, fagociti, NK celice hemolitična anemija
III	imunski kompleksi	IgG, imunski kompleksi serumska bolezen, akutni intersticijski nefritis
IV	kasna preobčutljivost	IV a makrofagi, limfociti kontaktni dermatitis
	IV b eozinofilci	makulopapularni izpuščaj z eozinofilijo
	IV c citotoksični limfociti T	Stevens-Johnsonov sindrom, toksična epidermalna nekroliza
	IV d nevtrofilci	pustulozne reakcije

### Takojšnja preobčutljivost

Večina alergijskih reakcij spada med tip takojšne preobčutljivosti. Ta mehanizem sestavljajo trije elementi: specifična IgE-protitelesa efektorske celice – mastociti in bazofilci. Vse tri komponente so nam dostopne z diagnostičnimi testi.

IgE-protitelesa so med vsemi imunoglobulini v najnižji koncentraciji in imajo tudi najkrajši razpolovni čas (dva dni). Koncentracija celokupnih IgE-protiteles ni rizični faktor za pojav alergije. Pomembna je samo pri dokazovanju specifičnih bolezni, kot so alergijska bronhopulmonalna aspergiloza (ABPA) in hiper IgE sindrom, ter pri težki astmi zaradi odmerjanje omalizumaba.

Specifične IgE (sIgE) lahko relativno enostavno dokažemo in vitro iz seruma z metodo ELISA ali RAST.

Sam dokaz sIgE-protiteles proti določenim alergenom še ne pomeni klinične alergije. Tudi do 40 % ljudi z dokazanimi pozitivnimi sIgE za aeroalergene in 20–40 % ljudi s sIgE za strupe žuželk nima kliničnih znakov alergije. To imenujemo asimptomatska senzibilizacija.

Mastociti so granulociti, vnetne celice, ki se nahajajo predvsem v tkivih. Poleg pomembne vloge pri alergijskih reakcijah sodelujejo tudi pri imunskem odgovoru proti mikrobom, pri celjenju ran, angiogenezi in fibrozi. Na svoji površini izražajo specifična

IgE-protitelesa kot del celičnega receptorja (FCERI). Ob aktiviranju sproščajo mediatorje vnetja, med katerimi sta pomembna triptaza in histamin.

S kožnimi vbodnimi in intradermalnimi testi dokazujemo prisotnost specifičnih IgE, vezanih na receptorju na mastocitih v koži. Kožni testi imajo večjo senzitivnost (85 %) kot in vitro določanje sIgE (70 %), saj je razpolovni čas IgE-protitelesa, vezanega na FCERI-receptor, daljši (deset dni) kot pri prostih IgE v krvi (dva dni). Ni pa še znano, zakaj tudi dokaz vezanega IgE na mastocitih ni vedno povezan z boleznijo – asimptomatska senzibilizacija.

S kožnim vbodnim testom vnesemo v podkožje minimalno količino alergena (0,0001 ml), z intradermalnim testom pa lahko vnesemo večjo količino (0,02–0,03 ml). Zato so intradermalni testi bolj senzitivni od vbodnih, vendar pa lahko povzročajo več iritativnih reakcij in so zato lahko manj specifični. Pri izvajanju in ocenjevanju testa so pomembne izkušnje, saj so kožni testi lahko tudi lažno pozitivni, možne so iritativne reakcije. Prav tako lahko pacienta z vnašanjem alergena v telo senzibiliziramo.

Ker se mastociti nahajajo večinoma v tkivu, so zelo težko dostopni za diagnostiko in vitro in se rutinsko ne uporabljajo.

Bazofilci pa so granulociti, ki se večinoma nahajajo v perifernem krvnem obtoku. Na svoji površini prav tako izražajo IgE-protitelesa na FCERI-receptorjih. V zadnjih letih je vedno več spoznanj, da imajo pomembno vlogo pri anafilaksiji in med njo lahko migrirajo v tkiva. Poleg tega so prisotni pri protivnetnem odgovoru, fagocitozi in strjevanju krvi.

Ker jih je mogoče relativno enostavno izolirati iz periferne krvi, so zelo uporabni za diagnostiko in vitro. Če alergen prečno poveže dve IgE-protitelesi na površini bazofilca, ga aktivira in bazofilec degranulira. Med degranulacijo se na površini izrazijo specifični proteini – aktivacijski markerji (CD 63, CD 203c), ki jih lahko kvantitativno dokažemo s pretočno citometrijo. Test aktivacije bazofilcev (BAT) s proteinski alergeni (pelodi, strupi kožekrilcev, lateksom, alergeni pršice, psa in mačke) je standardiziran ter ima visoko senzitivnost in specifičnost. To pa ne velja za BAT za zdravila, ker so zdravila majhne molekule, ki same težko povežejo dva receptorja na bazofilcih. V telesu delujejo kot hapteni. Šele ko se več majhnih molekul zdravila veže na proteinski nosilec, se sproži aktivacija. Občutljivost BAT je nizka pri majhnih molekulah NSAID in beta-laktamskih antibiotikih (30–50 %), višja pa pri večjih molekulah, kot so mišični relaksanti (50–90 %). Specifičnost je v vseh primerih visoka: 80–100 %.

Vedno več podatkov je, da lahko BAT loči med asimptomatsko senzibilizacijo in klinično alergijo.

### **Kasna preobčutljivost**

Pri tej vrsti preobčutljivosti je najpogostejša kasna kontaktna preobčutljivost. Ta nastane, ko se dendritične celice, prisotne predvsem v koži (Langerhansove celice), pa tudi v drugih organih, srečajo z alergenom in ga predstavijo T-limfocitom. Aktivirani T-limfociti z izločanjem citokinov in privabljanjem drugih celic povzročajo vnetje na mestu kontakta.

Z epikutanim kožnim testiranjem dokazujemo specifične T limfocite, ki so prisotni v koži. Uporablja se predvsem v diagnostiki alergijskega kontaktnega dermatitisa. V nasprotju z vbodnimi testi pustimo alergen na koži dlje časa (48 ur) in tudi teste ovrednotimo večkrat v daljšem časovnem obdobju (3–7 dni). Senzitivnost in specifičnost testov sta različni in odvisni tudi od testiranega alergena. Pri dokazovanju kasne preobčutljivosti za druge snovi, ki niso v stiku s kožo (npr.

zdravila, ortopedski materiali), so kožni testi slabše občutljivi, saj dokazujejo predvsem prisotnost limfocitov v koži, ne pa tudi v sistemskem obtoku.

Trenutno edini standardiziran in vitro test za diagnostiko kasne preobčutljivosti, ki dokazuje prisotnost specifičnih limfocitov v krvnem obtoku, je test limfocitne transformacije (LTT). Test je tehnično zahtevnejši, treba ga je izvajati s svežim vzorcem krvi. Po šestdnevni inkubaciji perifernih mononuklearnih krvnih celic v raztopini osumljenega antigena se začnejo limfociti razmnoževati. Sedmi dan se v raztopino doda radioaktivni timidin, ki se vgradi v na novo sintetizirano DNK. Vsebnost radioaktivnega označevalca se določi s posebnim čitalcem. Rezultat se primerja z negativno kontrolo in izrazi kot stimulacijski indeks (SI). Zaradi zahtevnega postopka inkubacije celic in uporabe radioaktivnega medija, posebne opreme in varnostnega postopka je rutinsko izvajanje LTT omejeno le na večje centre. Specifičnost LTT je visoka, senzitivnost pa nizka. V vsakem primeru je asimptomatska senzibilizacija prisotna tudi pri diagnostičnih testih za kasno preobčutljivost.

## **Zaključek**

Preobčutljivost lahko poteka po različnih mehanizmih in ima različno klinično sliko, zato zahteva različne diagnostične postopke. Treba je poznati, katere dele imunskega sistema testiramo ter kakšni sta senzitivnost in specifičnost uporabljenih testov. Preventivno testiranje brez kliničnih simptomov ni indicirano. Sam dokaz senzibilizacije z alergenom še ne pomeni alergijske bolezni, saj je asimptomatska senzibilizacija relativno pogosta. Prav tako imajo pozitivne teste lahko pacienti, ki že imajo vzpostavljeno toleranco za določen alergen (npr. po imunoterapiji). Celični testi imajo večinoma višjo specifičnost od kožnih. Po drugi strani pa negativni rezultati testov ne izključijo diagnoze alergijske preobčutljivosti. Le-to postavimo, če je klinična slika skladna z izvidom testa. V idealnem primeru bi vedno izvedli in vivo ter in vitro teste, kar pa žal ni vedno mogoče. Po prenehanju izpostavitve alergenom pa morajo težave izzveneti.

### Literatura:

1. Johansson SGO, Bieber T, Dahl R. Rostrums Revised nomenclature for allergy for global use: Report of the Nomenclature Review Committee of the World Allergy Organization, October 2003. 2003;832–836.
2. Schalock PC, Taylor JS, Maibach HI, Thyssen JP, Menne T. Pragmatic approach to the clinical work-up of patients with putative allergic disease to metallic orthopaedic implants before and after surgery. 2011;473–478.
3. Stone KD, Prussin C, Metcalfe DD. IgE, Mast Cells, Basophils, and Eosinophils Kelly. 2011;125:1–16.
4. Turjanmaa K, Darsow U, Niggemann B, Vanto T, Werfel T. Position paper EAACI / GA 2 LEN Position paper: Present status of the atopy patch test \*. 2006;2(9):1377–1384.
5. Bernstein IL, Li JT, Bernstein DI, et al. Allergy Diagnostic Testing: An Updated Practice Parameter Allergy Diagnostic Testing: An Updated Practice Parameter TABLE OF CONTENTS. 2008;100(3).

# BOLEČ UMETNI SKLEP – JE LAHKO VZROK PREOBCUTLJIVOST NA MATERIALE VSADKA?

*Rihard Trebše, Ortopedska bolnišnica Valdoltra*

## Uvod

Alergija na kovine je v splošni populaciji dokaj razširjena. Razvije se praviloma v zgodnjem življenjskem obdobju zaradi pogostega kontakta s potrošniškimi dobrinami kot so na primer nakit, gumbi, sponke, mobilni telefoni in podobno. Ob dolgotrajni ponavljajoči ekspoziciji alergične osebe razvijejo alergični kontaktni dermatitis, ki se manifestira kot srbeča lezija z vezikulami in papulami.

Ortopedski vsadki so v uporabi že več kot 100 let v zadnjih 50 letih pa njihova uporaba močno narašča in se glede na projekcije vsaj še do leta 2030 niti v razvitem svetu ne bo zaustavila. Ortopedski vsadki so praviloma kovinski, lahko pa tudi sestavljeni, v kombinaciji z raznimi polimeri. Praviloma gre za umetne sklepe ali vsadke, ki služijo za stabilizacijo zlomov. Najpogosteje se uporabljajo: titanove zlitine titana aluminija in vanadija oziroma niobija, čisti titan (CPT – commercially pure titanium), zlitine kobalta in kroma, molibdena in vanadija ter kirurško jeklo. Uporabljajo pa se tudi druge kovine kot so tantal, magnezij, cirkonij, stroncij in druge a mnogo redkeje (Milošev 2009). V sledih le lahko prisoten tudi nikelj, predvsem v kobalt krom molibdenovih zlitinah.

Kovine se uporabljajo večinoma za izdelavo teles umetnih sklepov. V zadnjem dvajsetletju pa smo bili priča tudi prehodno zelo povišani uporabi kovin za izdelavo obremenilnega sklopa kolčnih endoprotez in tudi nekaterih vpetih kolenskih endoprotez.

Alergija na kovino kot vzrok za neuspešnost umetnega sklepa je slabo definirana predstavlja pogost vzrok za diskusije na strokovnih srečanjih, ker je zanesljivih podatkov o njeni vlogi malo. Prvi opisi segajo v leto 1966 (Foussereau 1966), zadnjem času se pripisuje alergičnim fenomenom, kot vzroku za revizije, vedno večji pomen.

Alergične komplikacije po vstavitvi umetnega sklepa lahko povzročajo ekcem, urtikarijo, slabše celjenje rane, lahko pa tudi težave, ki niso vezane na kožo, kot so predvsem bolečine a tudi oteklina, izliv, omejena gibljivost in verjetno tudi omajanje (Basko-Plluska 2011, Granchi 2012, Hallab 2001, Hallab 2005, Thomas P 2008). Kožni simptomi seveda niso specifični za alergijo, klinični potek in simptomatika pred in po odstranitvi vsadka pa lahko nakazuje na alergično etiopatogenezo (Carboni 1994, Kanerva 2001, Kubba 1981, Rostoker 1987, Thomas 1987). Tudi ne-kožna simptomatika je nespecifična vendar pa jo, po izključitvi okužbe in mehanskih vzrokov, posebno pri kolenski endoprotezi, v nekaterih primerih lahko pripišemo alergiji na kovine (Hallab 2001, Granchi 2008, Eben 2009). Kadar vidimo v histološki sliki obprotezne membrane tudi limfocitne infiltrate in vnetje je verjetnost za alergični vzrok za neuspeh umetnega sklepa višja. V kakšnem obsegu lahko bolečine, otekline, periartikularno fibrozo (artrofibrozo) pripišemo alergiji na kovine je odprto vprašanje tudi zato, ker mnogi bolniki z dokazano alergijo na kovine nimajo kliničnih težav (Gawkrödger 1993, Thienpont 2013). Alergično etiologijo težav z umetnim sklepom pri ne-kožni manifestaciji dokazujemo z izključevanjem drugih razlogov kot so: okužbe, kristalopatije, omajanja, malpozicije, ekstraartikularni vzroki (npr. tendinopatije, tromboflebitisi) in ostali.

Poseben primer pa predstavljajo pacienti, kjer prihaja do neposrednega stika dveh premikajočih se kovinskih površin, kot so na premer bolniki s kolčno endoprotezo z obremenilnim sklopom kovina na kovino (KNK) in bolnikov z modularno kolčno endoprotezo, kjer prihaja do korozivnih fenomenov (Virtanen 2008), ki tudi lahko povzročajo sproščanje večjih količin kovinskih ionov v obprotezna tkiva. Pri teh pogosto prihaja do specifičnih načinov odpovedi umetnega kolka, ki se klinično manifestirajo z bolečino disfunkcijo sklepa, pseudotumorjem in gnoju podobnim izlivom, rentgensko z osteolitičnimi lezijami, histološko pa z periartikularnimi in limfocitnimi infiltrati ter vaskulitisi. Ni še povsem jasno ali gre pri teh bolnikih za alergične, tujkovim podobne granulomske reakcije, ali toksične reakcije na kovinske drobce, ki se iz teh obremenilnih sklopov sproščajo v okolico, vendar je bilo v Thomasovi študiji izmed 16 bolnikov z neuspešno kolčno endoprotezo z obremenilnim sklopom KNK pri 13 dokazana alergija na kovine z limfocitnim transformacijskim testom, kožnimi testi ali z obojim (Thomas 2009).

Slika 1



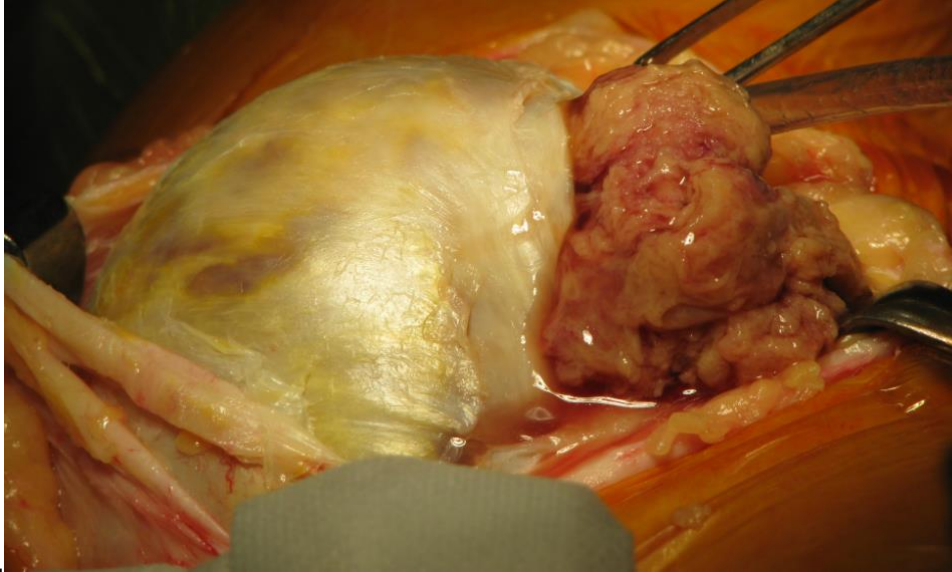
Kožna manifestacija alergije na kovine umetnega kolka.

V zadnjih dveh desetletjih je prišlo do izredno povečanega števila bolnikov s temi fenomeni zaradi dviga popularnosti tipa obremenilnega sklopa KNK, ki je bil zelo priljubljen med ortopedi, ker omogoča uporabo kolčnih glav velikih dimenzij, kar bistveno zmanjša verjetnost za izpah in druge nestabilnostne težave. Posledično je prišlo, predvsem v Zahodni Evropi in ZDA, kjer so te vsadke množično uporabljali, do epidemije revizij oziroma zamenjav takega umetnega sklepa, s hudimi kliničnimi posledicami za ljudi ter visokimi stroški. Regulatorne agencije kot sta FDA, MHRA in drugi (Milošev 2006, Thomas 2008, MDA 2012, FDA 2013) so zaradi tega to vrsto vsadkov odsvetovale ali celo prepovedale, še vedno pa več sto tisoč ljudem s takim tipom umetnega kolka grozi zahteven revizijski operativni poseg.

Leta 2009 je Avstralski register umetnih sklepov uvedel diagnozo »občutljivost na kovine« kot vzrok za revizije. Leta 2012 je bilo pod tem vzrokom revidiranih 0,9% ramenskih in 5,7% kolčnih endoprotez. Leta 2013 so najverjetneje zaradi ne povsem dokazane vzročne zveze z alergijo diagnozo spremenili v »s kovino povezani vzroki« -ali »metal-related pathology« .

V Sloveniji smo se te masovne patologije večinoma izognili, saj smo že kmalu po letu 2000 ugotovili na lastnih izkušnjah, da je obremenilni sklop KNK povezan z večjim številom revizij in specifično histološko sliko (Milošev 2006), pri čemer smo v Sloveniji, v omejeni seriji, uporabljali manjšo velikost kolčnih glav, ki ne povzroča toliko težav.

Slika 2



Pseudotumor zaradi obremenitve z metalnimi delci

### Diagnostika

V svetu obstaja več diagnostičnih protokolov za obdelavo bolnikov z sumom na alergijo na kovine (Thyssen 2011, Granchi 2012) pri čemer je potrebno vedeti, da je med bolniki z omajanimi kolčnimi vsadki več takih s pozitivnimi alergičnimi testi, kar pa še ne predstavlja vzročne zveze. Vsi diagnostični algoritmi slonijo bodisi na kožnih testih ali limfocitnem transformacijskem testu (LTT).

Profilaktični oziroma napovedni predoperativni testi se ne priporočajo zaradi prenizke napovedne moči razen morda v primerih predhodnih možnih alergičnih komplikacij v zvezi z kovinami ali akrilati. V primeru pozitivne anamneze in alergičnega testiranja je smiselno razmišljati o vsaditvi »antialergičnih« vsadkov (Schnuch 2008).

Pri sumu na alergični vzrok za odpoved ortopedskega vsadka se po izključitvi drugih že omenjenih vzrokov lahko odločimo za epikutano testiranje na alergijo na kovine, intraoperativno pa odvzamemo tkivo za histologijo, predvsem za izključitev okužbe pa tudi za potrditev suma na alergijo. Uporabimo lahko tudi LTT, ki v Sloveniji po meni znanih podatkih ni v rutinski uporabi. Je pa na voljo v bližnjih centrih v tujini. Pri epikutanih testih priporočajo odloženo oceno po enem tednu ekspozicije.

Histološko opisujejo 4 tipe periprotetičnih histoloških slik: tip I – tujkovemu granulomu podobna slika, tip II – granulocitna okužbena slika, tip III- mešana slika kombinacija tipa I in tipa II ter tip IV- paucicelularna – indiferentna slika (Krenn 2013, 2014). Limfocitni infiltrati lahko predstavljajo alergično periprotetično preobčutljivost vendar so histološke karakteristike še za preiskati (Thomas 2012).

### Antialergični vsadki

V uporabi so različni tipi antialergičnih vsadkov. Večinoma se uporabljajo za kolenske endoproteze, kjer je, zaradi pretežne uporabe kobalt krom molibdenovih zlitin z primesmi niklja, večja verjetnost za alergične zaplete, kot pri kolčni endoprotezi, kjer prevladuje titan in titanove zlitine in je iz kirurškega jekla ali kobalt krom molibdenovih zlitin v večini primerov samo glavnica endoproteze.

Ker so kirurške keramike biološko zelo inertne so primerne kot antialergični vsadek. Keramična kolenska endoproteza je na voljo samo pri enem proizvajalcu in je zelo draga. Druga možnost, ki jo uporabljajo različni proizvajalci je prevleka iz titan niobij

nitrida, ki je korozivno zelo odporen, z izredno visoko trdoto, odpornostjo na abrazijo in biološko inerten. Tretja možnost je uporaba titanovih zlitin tudi za izdelavo kolenske endoproteze.

Slika 3



Keramična antialergična kolenska endoproteza.

## Rezultati

V Ortopedski bolnišnici Valdoltra letno operiramo do 250 bolnikov z odpovedjo ortopedskega vsadka, vendar prospektivno ne vodimo bolnikov, ki imajo domnevno alergični vzrok za težave. Pri mnogih bolnikih z bolečim umetnim sklepom v procesu diagnosticiranja vzrokov za bolečine napotimo na epikutano testiranje na ortopedske kovine. V primerih da je klinična slika zelo izrazita in bolnik navaja neprenašanje bižuterije, ur, očal ali drugih metalnih predmetov ki prihajajo v stik s kožo, se odločimo za uporabo antialergičnega vsadka. Do sedaj smo uporabili antialergični vsadek v vsaj 10 primerih. V večini primerov uporabimo vsadke prevlečene z titan niobij nitridom v enem primeru pa smo uporabili tudi keramično kolensko endoprotezo. Pri treh bolnikih (5 kolen) s hudo preobčutljivostjo na kovine v anamnezi in pri epikutanih testih smo preventivno uporabili antialergični vsadek. Pri 3 od 5 bolnikov z domnevno alergijo na kovine in bolečim umetnim kolenom je zamenjava običajnega z antialergičnim vsadkom prinesla klinično izboljšanje pri eni bolnici se stanje ni popravilo za eno pa izhod posega ni znan.

### Literatura:

1. Australian Orthopaedic Association National Joint Replacement Registry (2012) Annual report. AOANJR
2. Basko-Plluska JL, Thyssen JP, Schalock PC (2011) Cutaneous and systemic hypersensitivity reactions to metallic implants. *Dermatitis* 22(2):65–79
3. Carboni GP, Contri P, Pilla G, Vasina PG (1994) Dermatitis associated with orthopaedic prostheses and internal fixations. *Contact Dermatitis* 31(3):197–198
4. Foussereau J, Laugier P (1966) Allergic eczemas from metallic foreign bodies. *Trans St John's Hosp Dermatol Soc* 52(2):220–2256
5. Gawkrödger DJ (1993) Nickel sensitivity and the implantation of orthopaedic prostheses. *Contact Dermatitis* 28(5):257–259
6. Granchi D, Cenni E, Giunti A, Baldini N (2012) Metal hypersensitivity testing in patients undergoing joint replacement: a systematic review. *J Bone Joint Surg Br* 94(8):1126–1134
7. Hallab N, Merritt K, Jacobs JJ (2001) Metal sensitivity in patients with orthopaedic implants. *J Bone Joint Surg Am* 83A(3):428–436
8. Hallab NJ, Anderson S, Stafford T, Glant T, Jacobs JJ (2005) Lymphocyte responses in patients with total hip arthroplasty. *J Orthop Res* 23(2):384–391
9. Kanerva L, Forstrom L (2001) Allergic nickel and chromate hand dermatitis induced by orthopaedic metal implant. *Contact Dermatitis* 44(2):103–104 Kubba R, Taylor JS, Marks KE (1981) Cutaneous complications of orthopedic implants. A two-year prospectivestudy. *Arch Dermatol* 117(9):554–560

10. Krenn V, Morawietz L, Kienapfel H, Ascherl R, Matziolis G, Hassenpflug J, et al (2013) Revised consensus classification. Histopathological classification of diseases associated with joint endoprostheses. *Z Rheumatol* 72(4):383–392
11. Krenn V, Thomas P, Thomsen M, Kretzer JP, Usbeck S, Scheuber L, et al (2014) Histopathological particle algorithm: Particle identification in the synovia and the SLIM. *Z Rheumatol* 73(7):639–649
12. Medical Device Alert (2012) Ref: MDA/2012/008
13. Milosev I, Trebše R, Kovac S. Materials development and latest results of various bearings. In: Aoi T, Toshida A eds. *Hip replacements, approaches, complications and effectiveness*, Nova Science Publishers Inc., New York 2009.
14. Milošev I, Trebše R, Simon Kovač, Andrej Coer, Venčeslav Pišot. Results and retrieval analysis in Sikomet metal-on-metal total hip arthroplasty at a mean follow-up of seven years *J Bone Joint Surg Am* 2006, 88-a (6), 1173-82
15. Rostoker G, Robin J, Binet O, Blamoutier J, Paupe J, Lessana-Leibowitch M, et al (1987) Dermatitis due to orthopaedic implants. A review of the literature and report of three cases. *J Bone Joint Surg Am* 69(9):1408–1412
16. Schnuch A, Aberer W, Agathos M, Becker D, Brasch J, Elsner P, et al (2008) Performing patch testing with contact allergens. *J Dtsch Dermatol Ges* 6(9):770–775
17. Thienpont E, Berger Y (2013) No allergic reaction after TKA in a chrome-cobalt-nickel-sensitive patient: case report and review of the literature. *Knee Surg, Sports Traumatol, Arthrosc* 21(3):636–640
18. Thomas P, Braathen LR, Dorig M, Aubock J, Nestle F, Werfel T, et al (2009) Increased metal allergy in patients with failed metal-on-metal hip arthroplasty and peri-implant T-lymphocytic inflammation. *Allergy* 64(8):1157–1165
19. Thomas P, Schuh A, Ring J, Thomsen M (2008) Orthopedic surgical implants and allergies: joint statement by the implant allergy working group (AK 20) of the DGOOC (German association of orthopedics and orthopedic surgery), DKG (German contact dermatitis research group) and DGAKI (German society for allergology and clinical immunology). *Orthopade* 37(1):75–88
20. Thomas PH, C.v.d., Schopf C, Thomsen M, Frommelt L, Schneider J, Flaig M, Krenn V, Mazoochian F, Summer B (2012) Periimplant histology and cytokine pattern in Metal-allergic Knee arthroplasty patients with improvement after revision with hypoallergenic materials. *Sem Arthroplasty* 23(4):268–272
21. Thomas RH, Rademaker M, Goddard NJ, Munro DD (1987) Severe eczema of the hands due to an orthopaedic plate made of Vitallium. *Br Med J (Clin Res Ed)* 294(6564):106–107
22. Thyssen JP, Johansen JD, Menne T, Liden C, Bruze M, White IR (2010) Hypersensitivity reactions from metallic implants: a future challenge that needs to be addressed. *British J Dermatol* 162(2):235–23
23. Thyssen JP, Menne T, Schalock PC, Taylor JS, Maibach HI (2011) Pragmatic approach to the clinical work-up of patients with putative allergic disease to metallic orthopaedic implants before and after surgery. *Br J Dermatol* 164(3):473–478
24. US Food and Drug Administration (2013) Concerns about metal-on-metal hip implants. FDA
25. Virtanen S, Milošev I, Gomez-Barrena E, Trebše R, Salo J, Konttinen YT. Special modes of corrosion under physiological and simulated physiological conditions. *Acta Biomaterialia* 2008;4:468-476.



## EPIKUTANO TESTIRANJE PRI SUMU NA PREOČUTLJIVOST ZA ORTOPEDSKE VSADKE

*Marko Vok Dermatovenerološka ambulanta, Zdravstveni dom Izola*

V zadnjih letih število vstavitve umetnih sklepov (totalna artroplastika) skokovito narašča. Življenjska doba ortopedskih vsadkov (endoprotez) je omejena in je njihova zamenjava pogosto potrebna. Najpogostejši vzroki za izgubo vsadka so infekcija in mehanski vzroki. Pogostnost izgube zaradi pozne kontaktne preobčutljivosti za snovi vsadka ni znana, vendar ni zanemarljiva.

Pozno kontaktno preobčutljivost dokazujemo in vivo z epikutanim (krpičnim) testom, in vitro pa s testom transformacije limfocitov. Prvega v Sloveniji izvajamo v desetih do petnajstih enotah, drugega se rutinsko za alergene, ki so predmet tega prispevka, ne izvaja.

Epikutano ali krpično testiranje je uveljavljeni in standardizirani diagnostični postopek, v bistvu biološki preizkus, s katerim dokazujemo vzrok alergijskega kontaktnega dermatitisa. Temelji na dejstvu, da so specifični spominski T-limfociti prisotni v celem telesu in da se za izzivanje alergijske reakcije alergen lahko nanese kamorkoli na koži. Navidezno je preprost; njegova izvedba, odčitavanje in predvsem interpretacija pa so zahtevni.

Epikutano testiranje se mora zaključiti z oceno, ali je dokazana preobčutljivost vzrok, dejavnik poslabšanja ali je za dermatitis nepomembna. Pozitiven epikutani test nikoli ne smemo avtomatično enačiti z alergijskim kontaktnim dermatitisom. Nek pozitiven test je klinično relevanten če ga po času, lokalizaciji in anamnezi o izpostavljenosti določenemu alergenu lahko povežemo z epizodo dermatitisa. Torej v dermatologiji rezultat epikutane testa vedno postavljamo v odnos z dermatitisom. V endoprotetiki pa je kožna simptomatika pogosto odsotna in je edina potrditev relevantnosti pozitivnega testa izginotje težav po odstranitvi starega in vsaditvi novega vsadka, ki alergena ne vsebuje. Zaradi tega je epikutano testiranje pri sumu na preobčutljivost na ortopedske vsadke toliko zahtevnejše.

### **Klinična slika**

Ne obstajajo specifični klinični znaki preobčutljivosti za materiale ortopedskih vsadkov. Najpogostejši znak je bolečina z ali brez radiografskih znakov izgube proteze. Diferencialno diagnostično najpogostejše pride v poštev infekcija nizke stopnje. Možnih vzrokov za bolečine po totalni artroplastiki je zelo veliko in zaradi tega moramo biti previdni kadar bolečino pripisujemo kontaktni preobčutljivosti.

V literaturi najdemo opise različnih kožnih reakcij, ki spremljajo ortopedske vsadke. Lokalizirane ekcemne spremembe v okolici vsadka se pogosteje pojavljajo okoli stacionarnih kovinskih kot dinamičnih. Generalizirani izpuščaji se lahko kažejo kot eritem, urtikarija, difuzni ekcem in numularni ekcematoidni dermatitis. Pri izgubi vsadka se neredko pojavljajo aseptični limfocitni vaskulitis (ALVAL) in psevdotumorske formacije, ki se jih v zadnjem času povezuje s povečanim sproščanjem kovinskih ionov iz vsadka, in bi v redkih primerih lahko bile posledica kontaktne preobčutljivosti. Pri večini pacientov z izgubo vsadka in pozitivnim epikutanim testom so spremljajoči kožni znaki v okolici vsadka prej izjema kot pravilo.

## Materiali in alergeni

Pri endoprotezah se srečujemo z naslednjimi osnovnimi materiali:

1. Kovine
2. Polietilen
3. Keramika
4. Kostni cement

**Kobalt-kromove zlitine** temeljijo na kobaltu (62-67%) in kromu (27-30%) ter vsebujejo manjše količine drugih metalov (molibden 5-7%, nikelj 1%). V **titanovih zlitinah** je osnovna kovina je titan (89-91%) kateremu sta najpogosteje dodana aluminij (5.5-6.5%) in vanadij (3.5-4-5%). **Zlitine iz nerjavečega jekla** vsebujejo železo (>58%), mešano z večjimi količinami kroma (13-15,5%) in niklja (17-19%) ter manjšimi količinami drugih kovin (npr. molibden 2-4%). Poleg omenjenih v zlitinah najdemo tudi: mangan, niobij, tantal, baker in druge kovine.

**Polietilen** je organska snov sestavljena iz zelo dolgih, ponavljajočih se verig plina etilena. Ima ultra-visoko molekularno težo.

**Keramiko** tvorijo zelo majhni in zelo čisti kristali aluminijevega ali cirkonijevega oksida.

**Kostni cement** je primarno sestavljen iz dveh sestavin: praha kopolimerov polimetilmetakrilata in tekočega monomera metilmetakrilata. Izpostavljenost svetlobi ali visokim temperaturam lahko sproži prezgodnjo polimerizacijo tekoče komponente. Da bi se preprečila prezgodnja polimerizacija se kot stabilizator oz. inhibitor dodaja **hidrokinon**. Po drugi strani se pa za spodbujanje polimerizacije praškasti komponenti kot starter običajno dodaja **benzoilperoksid**. Tekoči komponenti se kot sredstvo za iniciacijo polimerizacije polimera in monomera na sobni temperaturi dodaja **N,N-dimetil-p-toluidin**. Praškasti komponenti so v nekaterih cementih dodani še **antibiotiki**, posamezni ali v kombinaciji (gentamicin, klindamicin, vankomicin in tobramicin).

Najpogostejši alergeni pri endoprotezah so **kovine**. Prva poročila o kontaktni preobčutljivosti za kovinske ortopedske vsadke so stara več kot 50 let. Od takrat v literaturi lahko zasledimo naraščajoče število poročil tudi za srčno-žilne, zobne in ginekološke kovinske vsadke. Vse kovine v stiku z biološkimi sistemi korodirajo in sproščeni ioni lahko sprožijo imunsko reakcijo. Najpogostejši alergeni v ortopedskih vsadkih so **nikelj, kobalt in krom**, redkeje **titan, vanadij, baker in aluminij**.

Poročila o nekovinskih alergenih v endoprotezah so redka, verjetno tudi zaradi tega, ker je pozornost raziskovalcev večinoma usmerjena h kovinskim alergenom. V literaturi najdemo poročila o preobčutljivosti za **metilmetakrilat, benzoilperoksid, hidrokinon in N,N-dimetil-p-toluidin** v kostnem cementu. Polietilen in keramika verjetno ne povzročata alergij.

## Epikutano testiranje

Ko smo leta 2005 začeli epikutano testirati paciente s sumom na kontaktno preobčutljivost za snovi ortopedskih vsadkov na trgu ni bilo neke standardizirane serije, predvsem kovin, za testiranje v takšnih primerih. Imeli smo standardizirane pripravke v Evropski osnovni seriji alergenov za nikelj, krom in kobalt, ki so tudi najpomembnejši alergeni pri ortopedskih vsadkih. S temi alergeni imamo veliko izkušenj, o njih vemo veliko, pa vendarle v praksi kar nekaj težav kot npr. veliko število nejasnih in dvomljivih reakcij ter relativno nizko ponovljivost pozitivnega testa pri kromu, in težave pri ocenjevanju relevantnosti pozitivnega testa pri kobaltu.

Za nekatere druge kovine, za katere ni bilo standardiziranih haptenov niti podatkov v literaturi o morebitnih alergijah, smo bili prepuščeni lastni iznajdljivosti ter smo soli

nekaterih kovin sami redčili. Kasneje so se pojavile standardne specialne kovinske serije, ampak vse težave s tem še zdaleč niso bile rešene. Mnoge kovine v elementarni obliki na koži ne povzročajo alergijskih reakcij, njihove soli pa povzročajo. Še vedno za mnoge kovine ne poznamo ustrezne oblike in koncentracije pri katerih bi pričakovali zadovoljiv imunski odziv. V teh primerih je potrebno testirati z različnimi koncentracijami različnih soli neke kovine. Pomagamo si lahko tudi s kovinskimi ploščicami ali obruski kovinskih delov. Poglejmo primer pri sumu na kontaktno preobčutljivost za titan. Pri testiranju se največ uporablja 10% titanov dioksid v vazelinu, čeprav so pred kratkim dokazali, da je veliko primernejši 5% titanov oksalat dekahidrat.

## Naše izkušnje

V letih 2005-2017 smo epikutano testirali 46 pacientov, 13 moških in 33 žensk. Pred načrtovano operacijo je bilo testiranih 7, zaradi težav po operaciji pa 39 pacientov. Zaradi težav s kolkom smo testirali 26, s kolenom 18 in s statičnimi kovinskimi vsadki 2 pacienta (podlaket in gleženj). Torej 37 pacientov je imelo težave po vstavitvi ortopedskega vsadka. V tabeli 1. so prikazane nekatere njihove značilnosti. Tabela 2. prikazuje paciente s pozitivnimi in dvomljivimi reakcijami za alergene vsadka. Delež pozitivnih reakcij za nikelj, krom in kobalt smo primerjali z deležem pozitivnih reakcij v letih 2005-2016 v naši enoti in vseh enotah, ki sodelujejo v Registru epikutanega testiranja (tabela 3).

Tabela 1. Nekateri značilnosti krpično testiranih pacientov s težavami po vstavitvi vsadka.

Spol	n	%
Moški	10	27
Ženske	27	73
Povprečna starost	66 let	
Mediana starost	58 let	
Kožna simptomatika		
Da	20	54
Ne	17	46
Epikutani test		
pozitiven	18	49
negativen	19	51
Relevanten za vsadek		
Da	6	33
Ne	12	67

Tabela 2. Pacienti s pozitivnim in dvomljivim izidom testa na alergene vsadka.

Št.	Začetnici	Spol	Starost	Vsadek	Alergen	Relevantno	Znaki + dodatni pozitivni testi na alergene, ki jih ne pričakujemo v vsadku
1	ZM	Ž	82	koleno	++Co	DA	Dermatitis na golenih že pred operacijo
2	MB	M	55	kolk	+Ni	DA	Bolečina
3	VSK	Ž	33	kolk	++Ni, +V	DA	5 let dermatitis nad protezo
4	DI	Ž	56	koleno	+Ni, +benzoiil peroksid	DA	Bolečine, psoriatični artritis, ekcem rok-frizerka, ++epoksidne smole, +S. Myroxylyon p.
5	CV	Ž	80	kolk in koleno	+Co	DA	Srbeči dermatitis na obeh golenih; +metildibromoglutaroni tril
6	BD	Ž	54	kolk	++Ni,+Cr, ++Co	DA	Bolečine, 10 let pred op. OSM poškodba medenice
7	KO	Ž	61	kolk	+Hg	NE	Izpuščaj po operaciji, ?+ Fragrance mix II
8	ČS	M	61	kolk	?+V	?	Bolečina
9	PT	Ž	77	koleno	?+Ni	?	Bolečina
10	TS	M	78	koleno	?+Cr, Ag	?	Srbeči izpuščaji nad kolenom
11	KI	Ž	72	Kolk	?+Cr	?	Psoriza, Ekcem?

Tabela 3. Delež pozitivnih reakcij za nikelj, krom in kobalt v letih 2005-2016 pri pacientih s težavami zaradi vsadka, pacientih testiranih v naši enoti in tistimi v Registru epikutanega testiranja.

Alergen	Ortopedski vsadek n=37	Dermatološka amb. Vok n=1705	Register epikutanega testiranja n=16075
Ni	10.1%	23.1%	17.4%
Cr	5.0%	5.7%	5.4%
Co	5.0%	10.1%	7.4%

### Priporočila za epikutano testiranje pri izgubi vsadka

Izguba endoproteze zaradi pozne preobčutljivosti za snovi vsadkov je neizpodbitno dokazano dejstvo. Epikutani test je potrditveni test že obstoječe kontaktne preobčutljivosti, nima nikakršne napovedne vrednosti in ga ni smiselno izvajati v profilaktično-profetske namene. Pozitiven epikutani test sam po sebi ni pojasnilo etiologije neke bolezni. Preiskovalec mora, na podlagi znanja in izkušenj, ugotoviti korelacijo med pozitivnim testom in boleznijo.

Torej ni smiselno testirati vsakega pacienta pred vstavitvijo vsadka. Vprašljivo je tudi ali testirati pacienta, ki ima anamnezo o preobčutljivosti npr. na neko kovino, saj je za pričakovati, da bo večina kljub temu protezo dobro prenašala. Morda vzrok leži tudi v

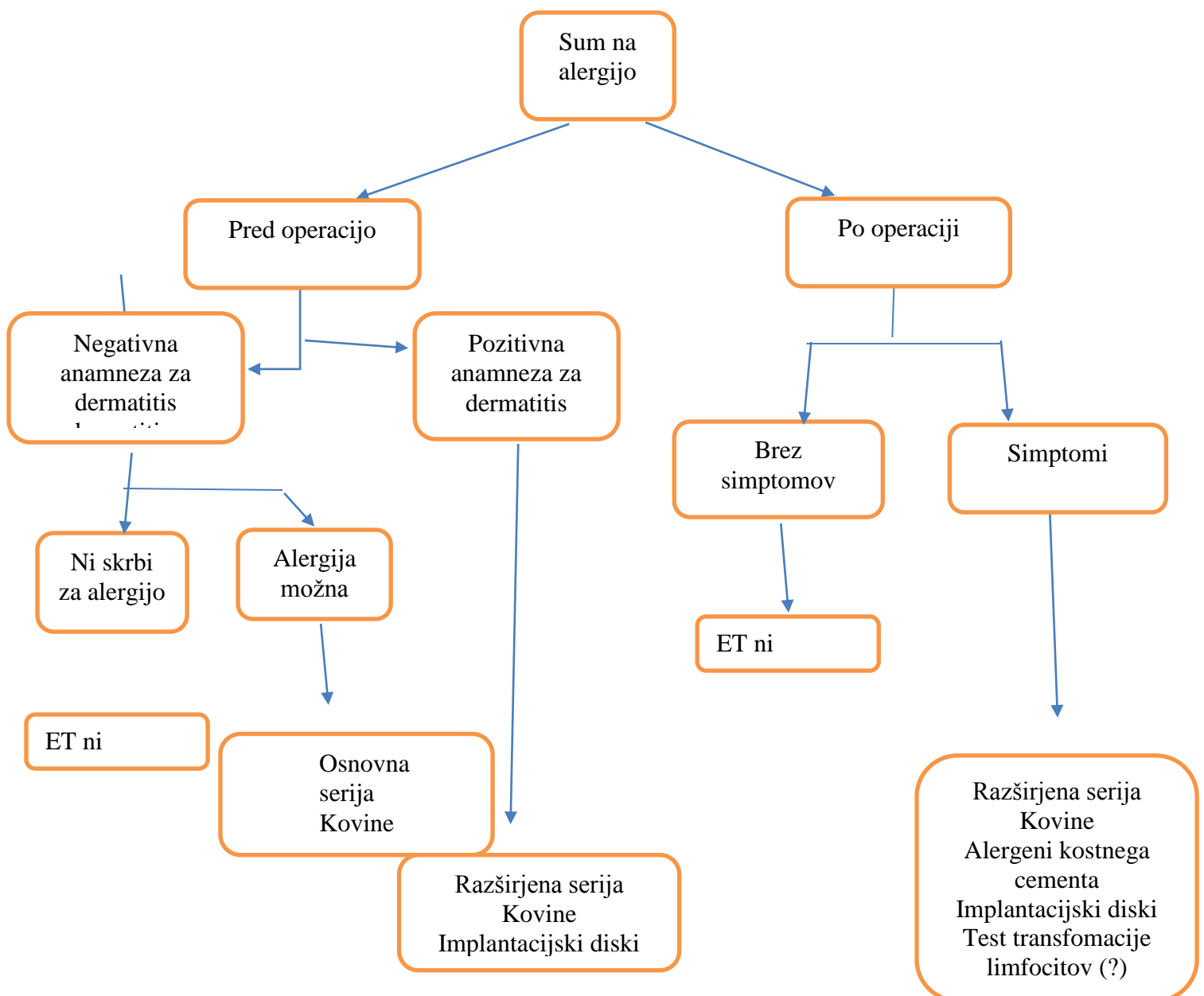
tem, da vsi posamezniki, ki so preobčutljivi za isti alergen, nimajo in nikoli ne bodo imeli enako hude alergijske reakcije in posledično klinične slike. Da ne omenjamo možnosti nastanka tolerance. Vendar dejstva, da nekdo ima hud dolgoletni ekcem zaradi alergije na kovino verjetno ne bi smeli zanemariti pri izboru materiala za endoprotezo, saj v takšnih primerih z večjo verjetnostjo lahko pričakujemo težave po operaciji.

Zadeva je prav tako zapletena tudi ko testiramo paciente z vsadkom, pri katerih smo izključiti druge morebitne vzroke za izgubo vsadka. Saj kontaktna preobčutljivost na alergene vsadkov nima neke jasne in značilne klinične slike. Tudi pri testiranju teh pacientov se srečujemo s tem, da pozitiven epikutani test ni nujno relevanten za bolezensko dogajanje.

Diagnoza »alergija za vsadek« naj bi bila rezultat tehtnega premisleka, ki bi upošteval rezultate vseh možnih diagnostičnih postopkov, kar vključuje: zgodovino bolezni, klinično sliko, epikutani test, histološko preiskavo tkiva okolice vsadka in test transformacije limfocitov.

Naslednji algoritem o diagnostiki kontaktne preobčutljivosti za ortopedske vsadke je povzet iz članka navedenega v literaturi pod št. 1 (Slika 1).

Slika 1. Diagnostični algoritem pri sumu na kontaktno preobčutljivost na ortopedski vsadek



Literatura:

1. Schalock PC, Menné T, Johansen JD, Taylor JS, Maibach HI, Lidén C, et al. Hypersensitivity reactions to metallic implants – diagnostic algorithm and suggested patch test series for clinical use. *Contact Dermatitis* 2011; 66, 4-19.
2. ZWW T, Schalock PC. Hypersensitivity reactions to implanted metal devices – facts and fictions. *J Investig Alergol Clin Immunol* 2016; 26(5): 279-94.
3. Thomas P. Clinical and diagnostic challenges of metal implant allergy using the example of orthopaedic surgical implants. *Allergo J Int* 2014; 23: 179-85.
4. Thomas P, Stea S. *Metal Implant allergy and immuno-allergological compatibility aspects of ceramic materials*. Springer Verlag, Berlin Heidelberg 2015.
5. Bircher A, Friederich N F, Seelig W, Scherer K. Allergic complications from orthopaedic joint implants: the role of delayed hypersensitivity to benzoyl peroxide in bone cement. *Contact Dermatitis* 2011; 66: 20–26.
6. Vok M, Kalač Pandurovič M. Preobčutljivost za materiale ortopedskih endoprotez. *IV Dermatološki dnevi v Mariboru; 2007 Oct 19-20, Maribor, Slovenija*. Maribor: Univerzitetni klinični center, Oddelek za kožne in spolne bolezni; 2007.
7. 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: 195–221.

## BOLEZNI MASTOCITOV

*Matevž Škerget, Klinični oddelek za hematologijo, UKC Ljubljana*

Mastociti so celice vpletene v imunski odgovor in jih pri zdravih posameznikih najdemo v krvnem obtoku in tkivih organov. Z izločanjem molekul shranjenih v granulah (proteaze, serotonin, histamin, heparin, itd.) in vnetnih posrednikov pomembno vplivajo pri obrambi organizma pred mikroorganizmi. Kadar pride do prekomernega in za telo škodljivega delovanja njihovega delovanja govorimo o bolezni mastocitov. Ločimo mastocitoze in sindrom aktivacije mastocitov (SAM). Mastocitoze so skupina bolezni s kopičenjem mastocitov v različnih tkivih, medtem ko o SAM govorimo ob kliničnih znakih, ki so posledica prekomernega izločanja aktivnih molekul iz mastocitov, vendar z diagnostičnimi postopki ne najdemo infiltracije tkiv z mastociti kot je to značilno za mastocitoze.

### Mastocitoze

Za mastocitoze je značilno kopičenje aberantnih mastocitov v različnih tkivih. Glede na prizadeto mesto in potek bolezni ločimo različne oblike. Tabela 1 prikazuje razdelitev po Svetovni zdravstveni organizaciji (SZO).

**Tabela 1:** Razdelitev mastocitoz po SZO 2016

- 
1. Kožna mastocitoza
  2. Sistemska mastocitoza
    - a. Indolentna sistemska mastocitoza
    - b. Tleča sistemska mastocitoza
    - c. Sistemska mastocitoza s pridruženo krvno novotvorbo
    - d. Agresivna sistemska mastocitoza
    - e. Mastocitna levkemija
  3. Mastocitni sarkom
- 

O **kožni mastocitozi** govorimo ko je ta edini prizadeti organ. Je najpogostejša oblika mastocitoze pri otrocih. Najpogosteje se pojavi kot makulopapularen temneje pigmentiran izpuščaj – urtikarija pigmentoza. Redkejšje so oblike z difuzno prizadetostjo kože ali z večjo tumorsko spremembo- mastocitom. Pri odraslih je kožna mastocitoza redka (5 %), saj ob koži pogosto najdemo tudi sistemska prizadetost in tako govorimo o **sistemski mastocitozi (SM)**. Tako so najpogosteje prizadeti kostni mozeg, bezgavke, jetra, vranica in prebavila. Bolnikove težave so posledica okvare organov zaradi infiltracije z mastociti ali predvsem izločanja različnih aktivnih molekul in vnetnih posrednikov iz mastocitov. SM ločimo na podvrste glede na klinično sliko in nekatere laboratorijske značilnosti. O **indolentni sistemski mastocitozi** govorimo kadar pri bolniku na podlagi diagnostičnih kriterijev postavimo diagnozo SM, vendar niso prisotni znaki agresivnejšega poteka. Pri **tleči SM** je pogosto prisotna hepatosplenomegalija in limfadenopatija ob čemer laboratorijsko ugotovljamo močno povečano serumsko triptazo (> 200 ng/mL) in večjo infiltracijo kostnega mozga z mastociti (> 30 %). Te pokazatelje imenujemo B najdbe. O **agresivni SM** govorimo ko zaradi infiltracije z mastociti pride do okvare delovanja organov, predvsem motnje v delovanju jeter, malabsorbcije in pancitopenije (C najdbe). Mastocitna levkemija in sarkom sta redki bolezni.

Diagnozo postavimo s histološkim pregledom tkiva, najpogosteje kože in kostnega mozga. Pri sistemski mastocitozi v kostnem mozgu najdemo skupke atipičnih mastocitov, ki lahko imajo atipični imunofenotip. Pogosto je prisotna mutacija KITD816V, ki jo potrdimo z molekularnimi preiskavami. V venski krvi imajo bolniki tudi izven napadov povečano serumsko triptazo (> 20 ng/mL). Vselej v vzorcu kostnega mozga opravimo tudi preiskave za izključitev drugih krvnih bolezni. Tabela 2 prikazuje diagnostična merila za SM.

**Tabela 2:** Diagnostična merila za sistemsko mastocitozo

Glavno merilo za SM	Multifokalni agregati mastocitov v kostnem mozgu ali drugem organu (>15 mastocitov na agregat)
Pomožna merila za SM	<ul style="list-style-type: none"> <li>i. Mastociti s patološko vretenasto obliko (&gt; 25%)</li> <li>ii. Prisotnost mutacije na KIT na mestu 816</li> <li>iii. Mastociti s patološkim izražanjem CD2 in/ali CD25</li> <li>iv. Serumsko triptazo &gt; 20 ng/ml (ne ob pridruženih hematoloških klonalnih boleznih)</li> </ul>

Potrebno je eno glavno in eno pomožno merilo ali tri pomožna merila

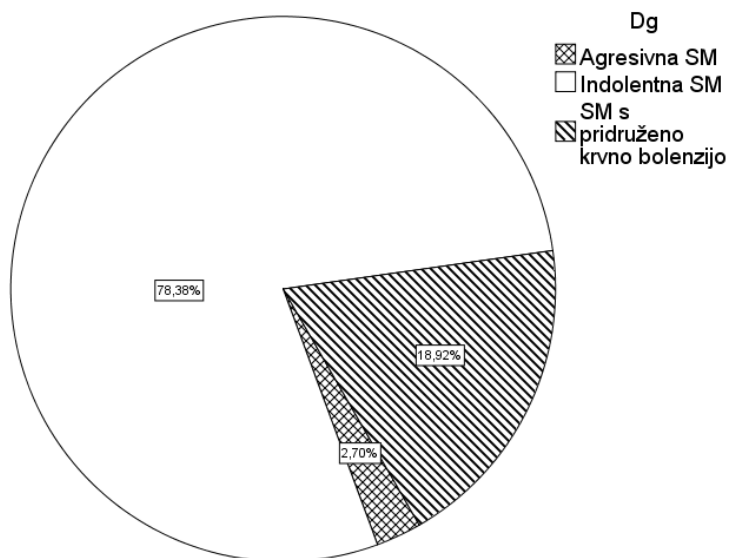
Zdravljenje sistemskih mastocitoz je večinoma simptomatsko. Bolnikom svetujemo izogibanje dejavnikom, ki pri njih sprožijo napad. Bolniki morajo vselej pri sebi nositi **avtoaplikator adrenalina** in biti poučeni o njegovi uporabi. S histaminskimi **zaviralci H<sub>1</sub> in H<sub>2</sub>** olajšamo subjektivne težave, predvsem srbež in težave zaradi hiperacidnosti. Kadar subjektivni znaki aktivacije mastocitov vztrajajo in pri indoleptni in agresivni mastocitozi se poslužujemo **interferona**, **kladribina** in zaviralcev tirozinskih kinaz (TKI). Potrebno je opozoriti, da mutacija KIT na mestu 816 ni dovzetna na zavoro z **imatinibom**, tako lahko to zdravilo uporabimo samo pri bolnikih s SM brez te mutacije ali uporabiti novejši TKI. Največ izkušenj je z zdravilom **dasatinib**. Vse več je tudi podatkov o uporabi zaviralca proteinskih kinaz **midostavrina**. Pri pridruženih krvnih boleznih zdravimo to neodvisno od SM.

### Naše izkušnje

Od leta 2000 smo na KO za hematologijo Univerzitetnega Kliničnega Centra Ljubljana obravnavali 27 bolnikov s sistemsko mastocitozo. Povprečna starost bolnikov je znašala 50 let (24 – 80 let). Slika 1 prikazuje vrste obravnavanih SM. Z molekularno diagnostiko smo pri 65 % odkrili mutacijo KIT na mestu 816. Pri 30 % ljudi smo ob meritvi kostne gostote zasledili osteopenijo ali osteoporozo. Povprečna starost teh bolnikov je bila 52 let (26 – 70 let). Tabela 3 prikazuje uporabljena zdravila.

Slika 1: Prikaz sistemskih mastocitoz na KO za hematologijo.





**Tabela 3:** Prikaz uporabljenih zdravil pri bolnikih s SM

Zdravilo	Delež bolnikov
H1 zaviralec	65 %
H2 zaviralec	60 %
Zaviralec tirozinske kinaze (dasatinib)	8 %
Metilprednizolon	8 %
Sistemske citostatiki	11 %
Bisfosfonati	24 %

### Priporočila za presejanje za sistemsko mastocitozo

1. Pri odraslih bolnikih s potrjeno kožno mastocitozo svetujemo celotno diagnostiko s histološkim pregledom kostnega mozga, saj potrditev sistemske mastocitoze lahko vpliva na prognozo in sledenje bolnikov.
2. Pri odraslih bolnikih brez potrjene kožne mastocitoze s sumom na sistemsko mastocitozo in vrednostjo triptaze < 25 ng /ml svetujemo odvzem venske krvi za mutacijo KIT 816. V primeru pozitivnega izvida je potrebna celotna diagnostika s pregledom kostnega mozga.
3. Pri odraslih bolnikih brez potrjene kožne mastocitoze s sumom na sistemsko mastocitozo in vrednostjo triptaze > 25 ng /ml in/ali REMA točkovanje nad 2 je potrebna celotna diagnostika s pregledom kostnega mozga.

Tabela 4: REMA točkovni sistem

Spremenljivka		
Spol	Moški	+1
	Ženske	-1
Klinični znaki	Odsotnost urtikarije in angioedema	+1
	Urtikarija in angioedem	-2
	Presinkopa in/ali sinkopa	+3
Serumska triptaza	< 15 ng/ml	-1
	> 25 ng/ml	+2

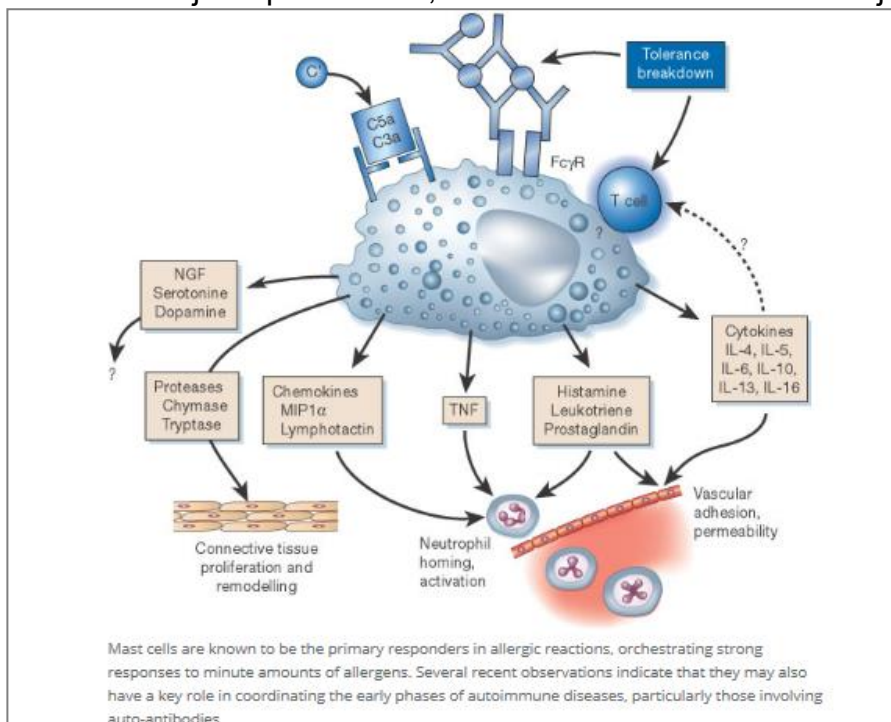
Reference:

1. Theoharides TC, Valent P, Akin C. Mast Cells, Mastocytosis, and Related Disorders. *N Engl J Med.* 2015; 373(2): 163-72.
2. Valent P, Escribano L, Broesby-Olsen S, Hartmann K, Grattan C, Brockow K, et al. Proposed diagnostic algorithm for patients with suspected mastocytosis: a proposal of the European Competence Network on Mastocytosis. *Allergy.* 2014; 1267-74
3. Arock M, Sotlar K, Akin C, Broesby-Olsen S, Hoermann G, Escribano L, et al. KIT mutation analysis in mast cell neoplasms: recommendations of the European Competence Network on Mastocytosis. *Leukemia.* 2015: 1223-32.

# TRIPTAZA IN CCL2, SODOBNA LABORATORIJSKA BIOMARKERJA ZA POTRJEVANJE ANAFILAKSIJE

Mira Šilar, Klinika Golnik

Laboratorijsko potrjevanje anafilaksije temelji na prepoznavanju aktivacije mastocitov in/ali bazofilcev. Aktivacijo mastocitov in bazofilcev sproži imunološki (IgE/ne-IgE) ali neimunološki mehanizem. Pri odraslih osebah so najpogostejši vzroki anafilaksije piki žuželk, pri otrokih pa so anafilaksije večinoma vezane na prehranske alergene. Kar nekaj težav povzročajo zdravila. Ob aktivaciji mastocitov in bazofilcev se sproščajo mediatorji (slika 1)(1), ki niso značilni samo za anafilaksijo, zato je pomembno, da naročnik laboratorijskih preiskav ve, kam in kako umestiti laboratorijski rezultat.



## TRIPTAZA

Je serinska proteaza. Gen za triptazo pri človeku je izražen na kromosomu 16, v štirih izomerah. Najbolj znana sta dva tipa,  $\alpha$  in  $\beta$  (tabela 1)(2), ki se nahajata v nezreli obliki v mastocitih. Za pro  $\alpha$ -triptazo je značilna majhna biološka aktivnost. Mastociti jo izločajo v nizkih koncentracijah, tudi v odsotnosti degranulacije.  $\beta$ -triptaza se obilno nahaja v granulah mastocitov, prehaja iz pro oblike v zrelo obliko in se izloča sočasno z

$\alpha$ -triptazo med aktivacijo oziroma degranulacijo mastocitov. Funkcija  $\gamma$  in  $\delta$ -triptaz zaenkrat še ni prepoznana. Izračun razmerja med celotno triptazo in zrelo  $\beta$  triptazo (TPSB2) nakazuje veliko verjetnost za anafilaksijo, če je indeks  $<10$  in nasprotno, veliko verjetnost sistemske mastocitoze, kadar je indeks  $>20$ .

Zadnje raziskave so pokazale, da je število kopij  $\alpha$ -triptaza kodirajočega zaporedja na genu TPSAB1 povezano z nivojem bazalne triptaze. Vsi posamezniki, ki so podedovali eno kopijo  $\alpha$ -triptaza kodirajočega zaporedja na obeh alelih so imeli

normalen nivo bazalne triptaze. V primeru dveh ponovitev  $\alpha$ -triptaza kodirajočega zaporedja na obeh alelih ali celo treh ponovitev na enem alelu je bil nivo bazalne triptaze signifikantno povišan v primerjavi z osebami, ki so imele le dve ponovitvi  $\alpha$ -triptaza kodirajočega zaporedja na enem alelu.

Raziskave so tudi pokazale, da obstaja pomembna povezava med številom kopij  $\alpha$ -triptaza kodirajočega zaporedja na genu TPSAB1 in fenotipskim izražanjem bolezni. Osebe, ki so podedovale tri ponovitve  $\alpha$ -triptaza kodirajočega zaporedja na enem alelu so imele izražene klinično pomemben fenotip. Fenotip se najpogosteje deduje avtosomno dominantno in je izključno povezan s številom kopij  $\alpha$ -triptaza kodirajočega zaporedja na enem alelu gena TPSAB1. Ta pojav je povezan s ponavljajočimi se kožnimi simptomi, motnjami v prebavilih, sistemskimi reakcijami na strupe in spremembami vezivnega tkiva (3).

Nadaljnje študije bodo osvetlile povezavo med povišano koncentracijo triptaze in različnimi oblikami bolezni (mastocitoza), ki se kažejo v povezavi z njo.

### UGOTAVLJANJE TRIPTAZE

Za določanje serumske triptaze se uporablja kvantitativni fluorescentni encimski test (ImmunoCap Tryptase, Phadia Laboratory Systems, Uppsala, Sweden). Test ne ločuje  $\alpha$  in  $\beta$  triptaze, torej meri obe, inaktivno monomerno in aktivno tetramerno obliko, zato tudi ime celotna ali skupna triptaza.

Optimalni čas vzorčenja je 15 minut do 3 ure po reakciji (zvišane vrednosti so zaznavne tudi do 6 ur po reakciji). Kri se odvzame v epruveto (rdeč zamašek) brez dodatkov. Odvzeta kri lahko stoji na sobni temperaturi do dva dni oziroma v hladilniku, pri 2-8°C, pet dni. Priporočljivo je, da se kri centrifugira in odloči serum. Rahla lipemičnost ali hemoliza seruma ne moti izvajanja preiskave. Test se izvede v enem dnevu. Rezultat je izražen v  $\mu\text{g/l}$ . Referenčna vrednost je 11,4  $\mu\text{g/l}$ . Višje vrednosti so indikator aktivacije mastocitov (anafilaksija) ali pa nakazujejo povečano količino mastocitov (mastocitoza).

Priporočila se odvzem parnega vzorca. Primerjava akutne vrednosti serumske triptaze z bazalno je pomembna za potrditev vzroka povišane vrednosti.

Bazalni nivo serumske triptaze je zvišan pri mastocitozi. Povišane vrednosti triptaze najdemo tudi pri podskupinah bolnikov z mielodisplatičnim sindromom, mieloprofilativnimi neoplazmami, akutno mieloično levkemijo, kronično mieloično levkemijo in kronično eozinofilno levkemijo(4).  $\alpha$  ponovitve so prav tako povezane z višjo vrednostjo bazalne triptaze in v primeru triplikacij napovedujejo klinično pomembne simptome, medtem ko duplikacije večinoma potekajo brez kliničnih znakov.

Normalna koncentracija triptaze ne izključuje anafilaksije. Znana je nizka diagnostična občutljivost testa (65-70%) tudi v primerih, ko je vzorčenje izvedeno optimalno in je anafilaksija posledica z IgE posredovane preobčutljivosti. V primerih nutritivne anafilaksije je % senzitivnosti še nižji (50%).

Pozitiven rezultat je lahko tudi lažen, zaradi v serumu prisotnih heterofilnih protiteles. Heterofilna protitelesa kot so revmatoidni faktor (RF) in človeška/humana anti-mišja protitelesa (HAMA) se lahko vežejo na imunske globuline drugih vrst in zato reagirajo s triptaznim konjugatom, katerega osnova so mišja protitelesa. Prisotnost heterofilnih protiteles povzroči spontan porast vrednosti, še posebno v primerih, ko so pacienti zdravljeni z himeričnimi monoklonskimi protitelesi kot je npr. Infliksimab, ki se uporablja za zdravljenje revmatoidnega artritisa, Chronove in drugih bolezni.

Triptaza se lahko ugotavlja tudi posmrtno. Če je vzorca dovolj, je smiselno z dodatnimi specifičnimi testi dokazati vzrok anafilaktične reakcije. Primer nenadne smrti s povišano triptazo v gozdu: dodatno naročiti določitev specifičnih protiteles IgE

za kožekrilce. V primeru neznanega povzročitelja anafilaksije je na voljo laboratorijski test ISAC oziroma mikromreža, z večjim naborom alergenov (istočasno 125). Test se izvede iz zelo majhne količine vzorca. Zadostuje 30  $\mu$ l.

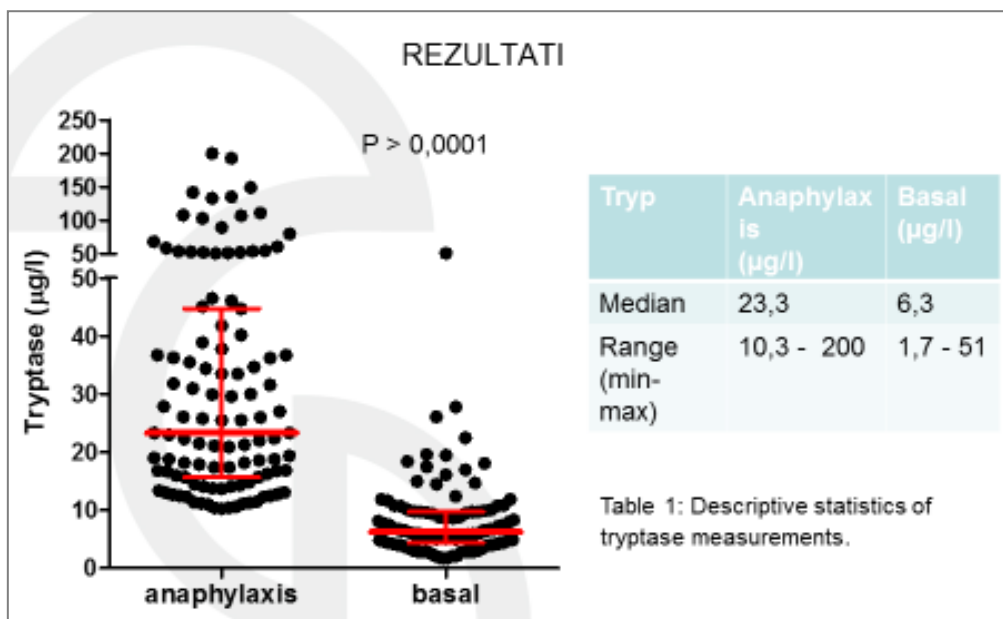
## IZKUŠNJE IZ DNEVNE RUTINE

**CCL2 - BIOMARKER ANAFILAKSIJE**

- 107 pacientov s klinično diagnozo anafilaksija


Triggers of anaphylaxis in this group	%
Hymenoptera venoms	43 %
Medications	29%
Foods	8 %
Currently under evaluation or idiopathic	20 %

- Vsem pacientom potrjena zvišana celotna triptaza >10  $\mu$ g/l
- Izvedene serijske meritve
- Bazalna triptaza izmerjena po 24 urah, najkasneje v 3 mesecih po dogodku



# MONOCITNI KEMOTAKTIČNI PROTEIN 1 (MCP-1/ CCL2)

CCL2 je majhna proteinska molekula, ki ima ključno vlogo pri migraciji imunskih celic. Prepozna se v različnih bolezenskih stanjih :


**JOURNAL OF INTERFERON & CYTOKINE RESEARCH**  
May 2004 Volume 23, Number 5

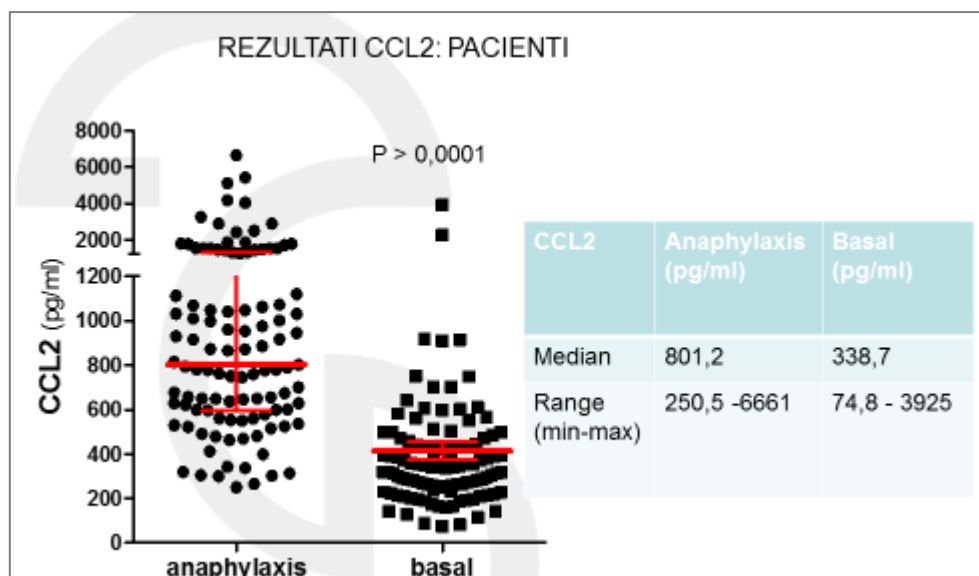
[Journals](#)   [Search](#)   [Alerts](#)

PMC full text: [J Interferon Cytokine Res. 2009 Jun; 29\(6\): 313-326.](#)  
 doi: [10.1089/jir.2008.0827](#)  
[Copyright/License](#)   [Request permission to reuse](#)

**Table 3.**  
Involvement of CCL2 in Different Diseases: List of Diseases that Are Affected by CCL2

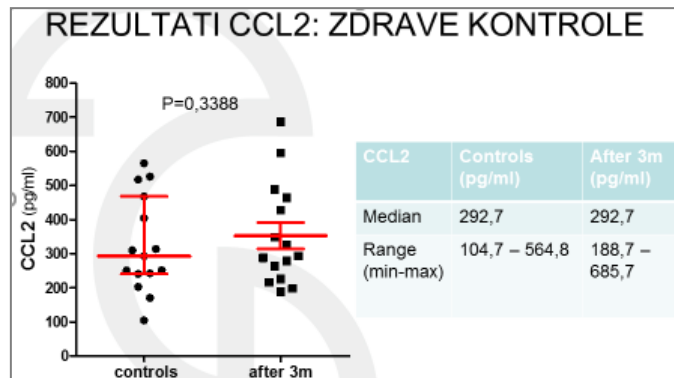
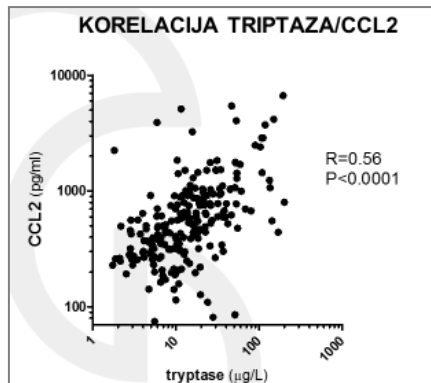
Effects	Mechanism	References
Thrombus formation	By generating tissue factor	Chao and Teubman 2004
Tuberculosis	Lower levels of IL-12 p40	Flores-Villamueva and others 2005
Immunotolerance in endometriosis	Apoptosis of T-lymphocytes	Salem and others 2006
Recurrent miscarriage	IL-19-induced MCP-1	Huang and others 2006
Viral clearance from CNS	Increased infiltration of T lymphocytes	Carmen and others 2006
Multiple sclerosis	Correlation between CCL2 and axonal damage CCL2 and IP-10 in hypertrophic astrocytes	Tazuma and others 2004
Secondary progressive multiple sclerosis		
Nociception (perception of pain)	CCL2-mediated depolarization of neurons	Sun and others 2006
HIV-neurological complications	Tat-mediated upregulation of COX-2, MCP-1, IL-18, TNF- $\alpha$ , and iNOS, and activation of microglial cells	Flora and others 2005
Oxygen-induced injury (retinopathy)	Marked increase in CCL2 in microglia/macrophages	Devies and others 2006
HIV-associated neurocognitive impairment	Correlation between plasma MCP-1 and tissue status TNF- $\alpha$ and anisotropy measurements	Ragin and others 2006
Tumor neovascularity	CCL2 influence by affecting macrophage infiltration	Wang and others 2006
Brain development and heterologous desensitization, influence of neuronally active pharmacological agents such as opioids and cannabinoids	Chemokine-based intracellular communication interaction with neurotransmitter systems	Adler and others 2006
Nephropathy	p38 MAPK phosphorylation	Grasso and others 2006
Inflammatory bowel disease	CCL2-mediated differentiation of intestinal macrophages	Spoetl and others 2006
Allergic asthma	IL-4 and IL-13-induced release of CCL2 in bronchial epithelium	Ip and others 2006
Rheumatoid arthritis	Increased CCL2 before onset	Rantapaa-Dahlqvist and others 2007
Insulin resistance	Increased MCP-1, TNF- $\alpha$ , and IL-6	Kamei and others 2006
Ischemia-related neuronal death	Astrocytes expressing CCL2, MCP-1, and cells expressing its receptors	Sakurai-Yamashita and others 2006
Excitotoxic (NMDA) neuronal injury	CCL2 production by astrocytes	Katayama and others 2002

V zadnjem obdobju se CCL2 potrjuje kot pomemben pokazatelj anafilaksije. Za laboratorijsko dokazovanje se odvzame serum ali plazma (zelen zamašek). Postopek odvzema vzorca je identičen postopku za prej opisano triptazo.



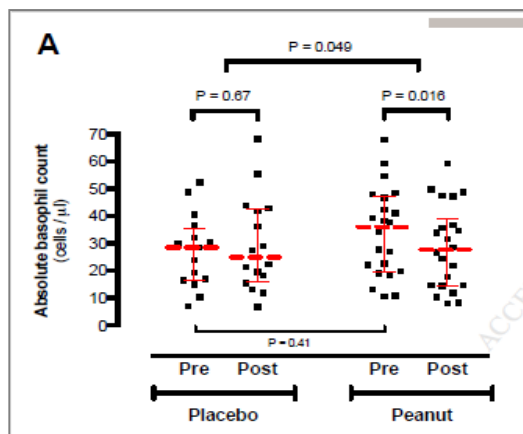
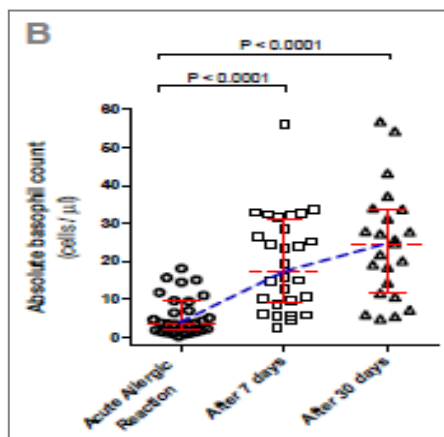
Primerjava meritev triptaze vs CCL2, v isti skupini 107 pacientov:

Rezultati so povedni in velika verjetnost je, da CCL2 postane enakovreden, specifičen biomarker za potrjevanje anafilaksije. Nadaljnje raziskovanje bo usmerjeno v povečanje števila kontrol in primerov z negativno triptazo a preprečljivo anamnezo anafilaksije.

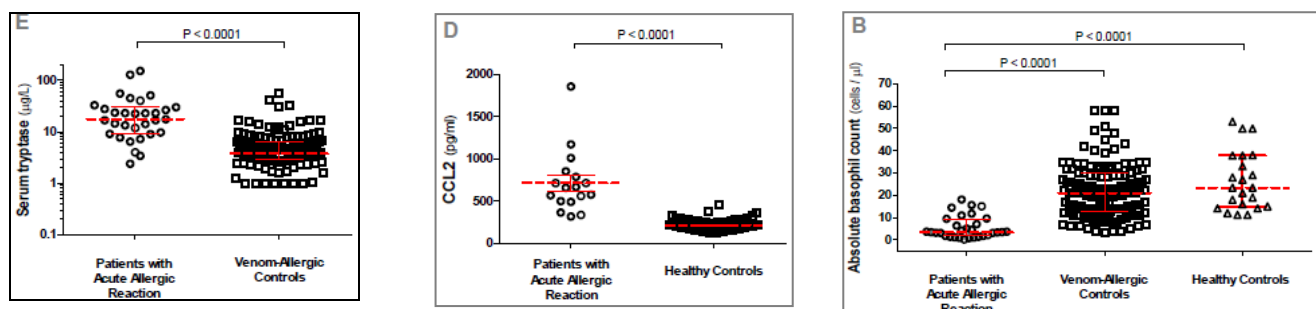


## ŠTEVILO BAZOFILCEV ZA POTRDITEV ANAFILAKSIJE

Med sodobne, aktualne markerje za potrditev anafilaksije sodi tudi ugotavljanje absolutnega števila bazofilcev. Metoda ni nova, temelji na trikratnem odvzemu vzorca: takoj po reakciji, sedem dni kasneje in nazadnje vsaj en mesec po reakciji. Graf B prikazuje padec števila bazofilcev v akutni fazi, počasno naraščanje in po enem mesecu postavitve na bazalno raven (število bazofilcev je enako številu pred reakcijo). Graf A dokazuje, da ostane število bazofilcev med izvedbo placebo provokacije nespremenjeno in nasprotno, se pomembno spremeni, ko se provokacija izvede z vzročnim alergenom (5).



## PRIMERJAVA MERITEV TRIPTAZE/CCL2/ŠTEVILA BAZOFILCEV



Iz grafov E, D in B je razvidno, da so bile v primerjavo vključene tudi kontrole: zdrave in pacienti, preobčutljivi za kožekrilce. Rezultati jasno kažejo uspešnost predstavljenih testov: porast triptaze in CCL2 ter padeč števila bazofilcev v akutni fazi (80% bazofilcev med anafilaksijo migrira iz krvi) in normalne, nespremenjene vrednosti kontrol (5).

### KATERI OD OMENJENIH TESTOV JE NAJPRIMERNEJŠI ZA RUTINO

Za celovito ugotavljanje anafilaksije in spremljanje dinamike priporočamo vse tri teste. Vendar je potrebno opozoriti na pravočasen odvzem vzorca, ker pomembno vpliva na rezultat:

- ABS. ŠTEVILO BAZOFILCEV: sveža heparinizirana kri (epr. zelen zamašek)
  - 1. odvzem do 24<sup>h</sup>
  - 2. odvzem po 14. dneh
  
- TRIPTAZA: svež serum (epr. rdeč zamašek)
  - 1. odvzem do 6<sup>h</sup>
  - 2. odvzem po 24<sup>h</sup>
  
- CCL2: serum/plazma ( ) (epr. rdeč/lila zamašek)
  - 1. odvzem do 6<sup>h</sup>
  - 2. odvzem po 24<sup>h</sup>

#### Viri:

1. <http://www.nature.com/nature> (slika 1)
2. <https://en.wikipedia.org/wiki/Tryptase> (tabela 1)
3. Lyons JJ, Yu X, Hughes JD, Le QT, Jamil A, Bai Y et al. Elevated basal serum tryptase identifies a multisystem disorder associated with increased TPSAB1 copy number. *Nat Genet.* 2016 Dec;48(12):1564-1569.
4. Valent P, Sperr WR, Sotlar K, Reiter A, Akin C, Gotlib J, Horny HP, Aroc M. The serum tryptase test: an emerging robust biomarker in clinical hematology. *Expert Rev Hematol.* 2014 October ; 7(5): 683-690.
5. Korosec P, Turner PJ, Silar M, Kopac P, Kosnik M, Gibbs BF et al. Basophils, high-affinity IgE receptors and CCL2 in human anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol.* 2017 Mar 22. [Epub ahead of print]



# BOLNIKI S PREOBČUTLJIVOSTJO ZA STRUPE ŽUŽELK IN BOLEZNI MASTOCITOV

*Mihaela Zidarn, Teja Janeš*

## Opis primera

Bolnik star 40 let, ki je bil sicer zdrav, je utrpel anafilaksijo IV. stopnje po Mullerjevi lestvici po piku čebele. Uvedena je bila imunoterapija s strupom čebele, ki jo je prenašal brez zapletov. Po 5 letih je bilo zdravljenje zaključeno. V naslednjem letu je utrpel pik več žuželk med delom v gozdu. Zaradi simptomov preobčutljivostne reakcije je poklical reševalno službo, ob prihodu reševalcev je bil brez znakov življenja, reanimacija ni bila uspešna. Iz shranjenega vzorca seruma odvzetega ob diagnostiki anafilaktične reakcije, zaradi katere je bila začeta imunoterapija, je bila izmerjena vrednost triptaze 31,7 (normalna vrednost do 11,5).

## Razprava

Anafilaksija po pikih kožekrilcev in idiopatska anafilaksija sta bolj pogosta pri bolnikih z boleznimi mastocitov. Približno polovica bolnikov z mastocitozo doživi anafilaktično reakcijo, približno 30% jih je preobčutljivih za strup kožekrilcev, reakcije so pogosto težje kot v povprečju pri ostalih bolnikih s preobčutljivostjo za strup kožekrilcev.(1) Obstajajo tudi dokazi, da je neuspeh imunoterapije s strupom kožekrilcev lahko povezan z mastocitozo. Vendar je diagnozo sistemske mastocitoze pri bolnikih s preobčutljivostjo za strup kožekrilcev težje postaviti, ker bolniki pogosto niso pripravljeni opraviti biopsije kostnega mozga, med drugim tudi zaradi tega ker terapevtske posledice tega posega niso jasne.(2) Pogostnost mastocitoze med bolniki s preobčutljivostjo za strup kožekrilcev je ocenjena na do 5%, pri tistih bolnikih, ki so doživeli reakcijo s hipotenzijo pa do 30%. Pogostejše so reakcije brez kožne simptomatike.(3) V literaturi je opisanih nekaj smrtnih primerov pri bolnikih pri katerih je bila imunoterapija končana, ni pa opisov smrtnih primerov pri bolnikih, ki so bili na vzdrževalnem zdravljenju. Klinična slika mastocitoze je raznolika, lahko je omejena samo na kožo ali pa se kaže z različnimi oblikami sistemske bolezni. Simptomi, ki se pojavljajo pri bolnikih z mastocitnimi motnjami so:

- Zardevanje
- Urtike
- Angioedem
- Srbež
- Zamašenost nosu
- Oteženo dihanje
- Tahikardija
- Hipotenzija ali hipertenzija
- Utrujenost
- Bolečine v mišicah in/ali sklepih
- Osteoporoza
- Slabost in bruhanje
- Diareja
- Migrene
- Nevrološke motnje (npr. motnje koncentracije in/ali spomina)

Za kožno mastocitozo so značilne rjavo obarvane makule in oteklina-urtika ob drgnjenju (Darierjev znak) Slika 1 (Avtor: Mojca Bizjak dr.med, specialistka dermatologije)



Porast serumske triptaze za več kot 20% nad bazalno vrednostjo in hkrati vsaj 2ng/ml znotraj 4 ure po začetku akutnega dogodka kaže na vključenost mastocitov. (4).

Biopsija kostnega mozga je indicirana pri vseh odraslih bolnikih s tipičnimi kožnimi lezijami in pri bolnikih z nepojasnjenimi hipotenzivnimi epizodami in/ali sinkopami predvsem, če je zvišana bazalna triptaza ali triptaza po dogodku. Indicirana je tudi pri bolnikih z vrednostjo triptaze med 11,5 in 20 ng/ml, če ima bolnik tipično klinično sliko, npr. nepojasnjeno osteoporozo (predvsem pri moških), splenomegalio, limfadenopatijo ali nenormalnosti v krvni sliki. (4)

Med bolniki z idiopatsko anafilaksijo so našli bolnike z normalno vrednostjo bazalne triptaze in znaki klonskih populacij mastocitov v kostnem mozgu, kar nakazuje na možnost intrinzičnih motenj v mastocitih, ki imajo za posledico večjo nagnjenost k anafilaksiji. (5)

Mehanizem povečanega tveganja za anafilaksijo po piku kožekrilcev pri bolnikih z mastocitnimi motnjami ni pojasnjen.

Priporočila za zdravljenje bolnikov z mastocitozo in preobčutljivostjo za strup kožekrilcev niso povsem enotna. Na podlagi analize objavljenih raziskav so Niedoszytko in sodelavci priporočili, da je indicirana imunoterapija, da se predlaga višji vzdrževalni odmerek, doživljenjska imunoterapija in nošenje adrenalina kljub imunoterapiji.(1) V letošnjem letu pričakujemo nove smernice za imunoterapijo. Trenutno veljavne evropske smernice predlagajo dolgotrajno ali doživljenjsko imunoterapijo.(6) Golden ravno tako predlaga, da se pri bolnikih z mastocitozo razmisli o doživljenjski imunoterapiji.(3) Bolniki z mastocitozo morajo biti vedno opremljeni z avtoinjektorjem adrenalina, nekateri priporočajo dva odmerka.(1)

### **Analiza bolnikov zdravljenih na Kliniki Golnik**

Na Kliniki Golnik smo v zadnjih desetih letih ugotovili povišano bazalno triptazo pri 195 bolnikih. Od tega je bilo 79 bolnikov pri nas obravnavano zaradi preobčutljivostne reakcije po piku kožekrilca, od tega 29 po piku ose, 27 po piku čebele, 3 po piku sršena, 20 po piku neznane žuželke. 23 bolnikov je bilo obravnavanih zaradi alergije za zdravila, 14 bolnikov zaradi kronične spontane urtikarije, še 6 zaradi drugih oblik urtikarije, 10 zaradi preobčutljivosti za hrano, 9 zaradi okužbe, 6 zaradi anafilaksije po znanem alergenu, 5 zaradi angioedema, 5 zaradi prebavnih težav, 5 zaradi rinitisa, 4 bolniki zaradi srbeža, 4 zaradi drugih težav s kožo, 3 zaradi idiopatske anafilaksije, 3 zaradi astme, 2 zaradi KOPB in po eden zaradi hipotenzije, kolapsa, vaskulitisa, dispneje, histaminske intolerance, sarkoidoze, intersticijske pljučne bolezni. Trije bolniki so bili k nam usmerjeni za nadaljnjo obravnavo ob že znani kožni ali sistemski mastocitozi. Šest bolnikov je bilo obravnavano zaradi suma na mastocitozo. Za 54 bolnikov je bil zabeležen podatek, da smo jih usmerili k hematologu. Za 16 bolnikom smo dobili povratno informacijo s strani hematologa, pri 7 bolnikih je bila mastocitoza potrjena, pri 9 bolnikih pa izključena.

### **Zaključek**

Na podlagi naših izkušenj in podatkov iz literature menimo, da je priporočljivo vsem bolnikom s sistemsko preobčutljivostjo reakcijo po piku kožekrilca določiti bazalno triptazo. Pri bolnikih, ki imajo povišane vrednosti je potrebna nadaljnja hematološka obravnava. Pri bolnikih, ki so preživeli najtežje oblike sistemske preobčutljivostne reakcije po piku, s hudo hipotenzijo in z odsotnostjo kožne simptomatike, je smiselna hematološka obravnava za izključitev sistemske mastocitoze tudi pri bolnikih z normalno vrednostjo bazalne triptaze.

#### Reference:

1. Niedoszytko M, De Monchy J, Van Doormaal JJ, Jassem E, Oude Elberink JNG. Mastocytosis and insect venom allergy: Diagnosis, safety and efficacy of venom immunotherapy. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol.* 2009;64(9):1237–45.
2. Ruëff F, Vos B, Oude Elberink J, Bender A, Chatelain R, Dugas-Breit S, et al. Predictors of clinical effectiveness of Hymenoptera venom immunotherapy. *Clin Exp Allergy.* 2014;44(5):736–46.
3. Golden DBK. Anaphylaxis to Insect Stings. *Immunol Allergy Clin NA.* Elsevier Inc; 2015;35(2):287–302.
4. Theoharides TC, Valent P, Akin C. Mast Cells, Mastocytosis, and Related Disorders. *N Engl J Med.* 2015;373(2):163–72.
5. Akin, C, Scott LM KC. Demonstration of an aberrant mast-cell population with clonal markers in a subset of patients with "idiopathic" anaphylaxis. 2007. 2331-3 p.
6. Jng E, Rueff F, Fernandez J, Ge S, Jarish R, Wuthrich B. EAACI POSITION PAPER PREVENTION AND TREATMENT OF HYMENOPTERA VENOM.

## ALERGIJA NA ZAJCA

*Nina Frelih, SB Šempeter pri Novi Gorici*

### **Uvod**

Razvoj alergijskega rinitisa, konjunktivitisa in astme pri izpostavljenosti zajcu je pogosta pri znanstvenikih in tehnikih, ki v laboratorijih pogosto rokujejo z zajci. Po podatkih iz ZDA jih izmed 90.000 delavcev v laboratorijih med 21 in 46% razvije alergijo za laboratorijske živali. Od tega jih približno 10% razvije poklicno astmo.

V zadnjih letih postajajo zajci vse bolj priljubljeni tudi kot hišni ljubljenci, zato se alergijske reakcije pojavljajo tudi izven laboratorija. Zajčja dlaka, urin in slina sta vir alergenov, ki pri senzibiliziranih posameznikih povzročijo respiratorno alergijsko reakcijo.

### **Analiza pacientov**

Na Kliniki Golnik smo med februarjem 2015 in februarjem 2017 dokazali senzibilizacijo na zajca pri 8 pacientih. Vsi so prišli na pregled zaradi simptomatike prizadetosti dihal, bodisi rinitisa, rinokonjunktivitisa ali dušenja.

Dva sta razvila težave ob stiku s hlevskimi zajci. Ob hranjenju zajcev se je pojavljal voden izcedek iz nosu, srbečica oči, solzenje, kihala sta. En je ob stiku razvil tudi dispnejo. Svoje težave sta že sama povezala s stikom z zajci, na kar sta opozorila med pregledom.

Štirje pacienti so imeli težave ob stiku s hišnim zajcem. Pri eni pacientki se je pojavila simptomatika rinokonjunktivitisa v domačem okolju, kjer imajo zajca, v študentskem stanovanju pa te težave v celoti izzvenijo. Drugega je pričelo dušiti vsakič, ko je bil na obisku pri dekletu, ki ima zajca. Dva sta navajala dušenje, zamašen nos, en je ob tem tudi otekal v obraz. Druga dva sta močno kihala, se solzila, oči so ju pekle, iz nosu je tekel voden izcedek.

Ena pacientka je imela težave ob stiku kravami in mačkami, ob testiranju na številne živalske alergene pa smo odkrili senzibilizacijo na zajca.

Pri treh ob osmih pacientov smo s pljučno funkcijo ugotavljali alergijsko astmo s pozitivnim metaholinskim testom. Šest jih je imelo močno pozitivne kožne teste na pršico.

Vsem pacientom smo svetovali izogibanje zajcu, v terapijo pa smo uvedli nosni steroid in antihistaminik.

## Molekularna alergologija zajca

Večina pomembnejših alergenov pri sesalcih spada v 3 skupine: družina lipokalinov, družina sekretoglobulinov in družina serumskih albuminov. Zajčje alergene najdemo v dlaki, epiteliju, slini in urinu. V grobem spadajo v družino lipokalinov.

žival	vrsta	vir	alergen	družina
zajec	Oryctolagus cuniculus	epitelij, slina, urin, dlaka	Ory c1	lipokalin
			Ory c2	lipokalin
			Ory c3	sekretoglobulin
			Ory c4	lipokalin

Druga dokazana alergena sta Ag2 in zajčji serumski albumin.

Možna je IgE posredovana navzrižnost med Ory c4 in drugimi alergeni pri sesalcih: Fel d4 (mačka), Can f6 (pes), Equ c1 (konj), Mus m1 (miš) in Rat n1 (podgana). Opisujejo tudi navzkrižnost pri osebah z alergijo na srne.

Alergijo potrdimo s kožnimi testi, v serumu pa dokazujemo specifična IgE protitelesa.

### Klinična slika

Alergija na zajca se kaže s simptomi in znaki prizadetosti zgornjih in spodnjih dihal. Razvijejo se blag do srednje močan rinitis, konjunktivitis in astma. Lahko se pojavi tudi srbečica. Hude alergijske reakcije pa so izredno redke.

Opisovan je primer 32- letnega raziskovalca, ki se je po nesreči zbadel z iglo, ki je bila pred tem uporabljena na zajčjem tkivu. V roku 15 minut se je razvila huda anafilaktična reakcija, zaradi česar je potreboval hospitalizacijo. V krvi je imel povišane specifične IgE proti zajčjemu epiteliju (16.2 U/ml).

### Zaključki

V jemanju anamneze pri pacientih s sumom na respiratorno alergijo naj bi praviloma vedno povprašali tudi po hišnih ljubljenceh. Zajec je kot relativno nezahtevna žival v današnjem času hitrega načina življenja in pomanjkanja časa čedalje pogostejši hišni ljubljencek, po katerem ne smemo pozabiti vprašati. Le z dobro anamnezo bomo namreč lahko razkrili možen vzrok alergije.

#### Viri:

1. <http://www.phadia.com/en/Products/Allergy-testing-products/ImmunoCAP-Allergen-Information/Epidermals-and-Animal-Proteins/Allergens/Rabbit-epithelium/>
2. Liccardi G, Salzillo A, Russo M, Esposito G, Liccardi A, D'Amato G. Major rabbit allergen Ory c 3: what could be its possible role as a sensitizing agent in real life? J Allergy Clin Immunol. 2014;133:283-4. [http://www.jacionline.org/article/S0091-6749\(13\)01637-0/pdf](http://www.jacionline.org/article/S0091-6749(13)01637-0/pdf)
3. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2693847/>
4. Kuehn A., Hilger C.: Animal Allergens; Common Protein Characteristics Featuring their Allergenicity, 2015; 4, 27-40.

## IMUNOGENETIKA PRI PRESAJANJU KRVOTVORNIH MATIČNIH CELIC

*Sendi Montanič, Blanka Vidan-Jeras, Center za tipizacijo tkiv, Zavod RS za transfuzijsko medicino*

Poglavitni histokompatibilnostni kompleks (MHC) obsega skupine genov, ki kodirajo vrsto molekul, osnovnih gradnikov uspešne imunske obrambe posameznika. Genska regija MHC pri človeku vsebuje več kot 200 kodirajočih genskih lokusov. Med njimi so tudi genski zapisi za humane levkocitne antigene HLA (Human Leukocyte Antigen). Njihova naloga je predstaviti telesu tuje peptide imunskemu sistemu. Ti peptidi največkrat izhajajo iz različnih mikroorganizmov, proti katerim se telo bori. V primeru presajanja organov ali tkiv pa predstavljajo največjo oviro, zaradi katere katerikoli darovalec ni primeren za kateregakoli prejemnika. Zato je sistem HLA, ki je zapisan na šestih mestih na kromosomu (lokusih), eden izmed najbolj intenzivno preučevanih genskih sistemov današnjega časa. H kompleksnosti sistema prispevajo številne genske različice (aleli) HLA in njihove možne kombinacije. Ključni pomen le-teh se kaže na področjih presaditve organov, tkiv in krvotvornih matičnih celic (KMC), odpornosti in dovzetnosti za avtoimunske ter infekcijske bolezni. Vedno bolj spoznavamo njihov pomen tudi v reprodukcijski medicini. Posamezne genske različice HLA in njihove kombinacije so značilne za določene rase in etnične skupine (1).

Zaradi naraščajočega števila novoodkritih alelov HLA je bila leta 1968 pod pokroviteljstvom Svetovne zdravstvene organizacije (WHO) ustanovljena Nomenklatura komisija, ki na osnovi izsledkov Mednarodnih delavnic (International Histocompatibility Workshop, IHW) skrbi za poimenovanje na novo odkritih antigenov HLA. K strmemu naraščanju števila novoodkritih alelov HLA je v veliki meri prispevalo odkritje metod za tipizacijo genov HLA na ravni deoksiribonukleinske kisline (DNK). Do decembra 2016 je bilo znanih 16.251 alelov HLA, od tega 3.830 alelov lokusa HLA-A, 4.647 alelov lokusa HLA-B, 3.382 alelov lokusa HLA-C, 2.252 alelov lokusa HLA-DRB1 in 1.054 alelov lokusa HLA-DQB1 (<http://hla.alleles.org/nomenclature/index.html>) (2).

Pri presaditvah KMC čim večja skladnost med bolnikom in darovalcem bistveno poveča možnosti za uspešen izid. V slovenskem nacionalnem programu za presajanje KMC iščemo darovalca, ki se z bolnikom sklada v 10 od 10 alelov HLA (3). Aleli se nahajajo na lokusih HLA-A, B, C, DR in DQ. Kadar je to mogoče upoštevamo vpliv epitopov molekul HLA-DP. Neujemanja v alelih HLA med darovalcem in prejemnikom KMC odločilno vplivajo na pojav bolezni presadka proti gostitelju (GvHD) in na preživetje bolnika po presaditvi. Idealni darovalec je glede na HLA in druge gene identični monozigotni dvojček, sledi mu bolniku identični sorojenec, naslednja izbira pa je nesorodni darovalec s čim boljšim ujemanjem.

Alel HLA zapišemo tako, da za oznako genskega lokusa oz. gena zapišemo zvezdico, ki ji sledijo štirje seti številok ločeni z dvopičji. V prvih dveh setih števil v imenu alela se odražajo spremembe v vsaj enem nukleotidu zaporedja, ki kodira aminokislinsko zaporedje proteina. V tretji set številok imena so vključene tihe mutacije, ki ne povzročajo sprememb aminokislinskega zaporedja. V četrtem setu številok pa se razlikujejo imena alelov z razlikami v intronih in 5, ali 3, neprevedljivih regijah (5, 3, UTR). Različne stopnje in načine izražanja proteina opisujejo črke na koncu imena. Če alel HLA kodira protein, ki se ne izraža na površini celic, je na koncu imena dodana črka N za ničelni alel (<http://hla.alleles.org/nomenclature/index.html>).

V Centru za tipizacijo tkiv (CTT) smo od leta 2000 akreditirani pri Evropski federaciji za Imunogenetiko (EFI), kar pomeni, da moramo delovati v skladu s strokovnimi standardi federacije. Vključeni smo tudi v redna zunanja preverjanja kakovosti delovanja. Glede na to, ali gre za tipizacijo HLA za namene presaditve organov ali KMC, nam standardi EFI določajo stopnjo ločljivosti tipizacije in kriterije, ki jim tipizacije morajo ustrezati.

Prve molekularne metode tipizacije genov HLA so se pojavile že v začetku 80. let prejšnjega stoletja. Sledil je razmah uporabe molekularnih metod, ki temeljijo na verižni reakciji s polimerazo (PCR), kot sta hibridizacija s sekvenčno specifičnimi oligonukleotidi (PCR-SSO) in metoda pomnoževanja s sekvenčno specifičnimi začetnimi oligonukleotidi (PCR-SSP).

Zadnji dve desetletji pa v večini laboratorijev za določitev alelov HLA izvajamo tipizacijo, ki temelji na klasičnem sekvenciranju po Sangerju (PCR-SBT).

Metodo PCR-SSO v zadnjih letih največ uporabljamo v kombinaciji s tehnologijo Luminex, ki identificira alele HLA s pomočjo sekvenčno specifičnih oligonukleotidnih sond, vezanih na fluorescentno označene mikrokroglice. Metoda PCR-SSP temelji na uporabi parov kratkih sekvenčno specifičnih začetnih oligonukleotidov, s katerimi v prisotnosti termostabilnega encima Taq DNA polimeraze (iz termofilne bakterije lat. *Thermus aquaticus*) in štirih deoksiribonukleotidtrifosfatov (dNTP), pomnožujemo tarčne odseke DNA. Klasično sekvenciranje genov HLA pa sloni na principu verižno-terminacijske metode sekvenciranja DNK, ki jo je leta 1977 razvil Frederic Sanger. Z računalniškim programom dobljeno sekvenco nato primerjamo s knjižnico znanih sekvenc alelov določenega gena HLA, ki so vsebovane v podatkovni bazi- IMGT/HLA (<http://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla>). Pomanjkljivost takega sekvenciranja genov HLA je pomnoževanje in sekvenciranje obeh alelov istega gena hkrati, zato pogosto ni mogoče ugotoviti, kateremu od obeh alelov pripada določen nukleotid v dobljeni sekvenci. V primeru alelne heterozigotnosti, imajo lahko različne kombinacije alelov istega gena identično sekvenco, zato takrat govorimo o dvoumnih rezultatih tipizacije ali z eno besedo o dvoumnostih.

Vzrok za dvoumnost so lahko tudi nukleotidne razlike v predelih nukleotidnega zaporedja, ki jih s takim sekvenciranjem ne zajamemo, zato ločba med različnimi kombinacijami alelov, ki se razlikujejo izven analiziranih predelov, ni možna. Tretji tip dvoumnih rezultatov se pojavi, kadar del nukleotidnega zaporedja določenega alela ni znan (4). Za rezultat, ki podaja do nukleotida nedvoumno natančno določeno zaporedje, je v največ primerih potrebna dodatna tipizacija, bodisi s PCR-SSP ali z dodatnim usmerjenim sekvenciranjem tistih odsekov DNK, v katerih se aleli med seboj razlikujejo, kar je zamudno in cenovno manj ugodno.

V številnih laboratorijih HLA po vsem svetu trenutno uvajamo različne metode naslednje generacije sekvenciranja (NGS). Te metode so zaenkrat uspešno uvedli laboratoriji z velikim številom preiskovanih vzorcev, kot so laboratoriji, ki podpirajo velike svetovne registre prostovoljnih darovalcev KMC. Za laboratorije s srednjim in manjšim obsegom dela, pa so te metode zamudne in predrage.

Eden od alternativnih pristopov k tipizaciji HLA je monoalelno sekvenciranje, pri katerem pomnožujemo vsakega od alelov posebej. Trenutno v našem laboratoriju uporabljamo komercialno dostopne reagente, s katerimi pomnožujemo 2., 3. in 4. ekson za lokuse HLA-A, B in C ter 2., 3. ekson pri lokusih HLA-DR, DQ in DP. Dobimo rezultat skoraj brez dvoumnosti, ostanejo lahko le ničelni aleli, pri katerih so razlike izven pomnoženih eksonov.

Po drugi strani pa je možna izboljšava sekvenciranja celotnega gena z uporabo metode po Sangerju s posebno načrtovanimi začetnimi oligonukleotidi, ki so jo razvili v za sekvenciranje HLA vodilnem laboratoriju v Maastrichtu pod vodstvom profesorja Marcela Tilanusa (Full-length HLA allele-specific hemizygous Sanger sequencing) (5). Metoda je v pripravi za fazo preizkušanja v 10 izbranih pri EFI akreditiranih laboratorijih. Eden izmed njih je tudi naš CTT. Rezultati dosedanjih testiranj so pokazali, da s to metodo v večini primerov dobimo nedvoumen rezultat tipizacije z ločljivostjo na stopnji alela (ultra visoka ločljivost).

Srednje velikim laboratorijem, kot je tudi naš, primeren alternativni pristop k tipizaciji HLA pa ponuja tudi nova generacija sekvenciranja (NGS) z uporabo komercialnih reagentov. Preizkusili smo reagente podjetja Roche na aparatu Junior454, kjer pa tudi pomnožujemo samo 2., 3. in 4. ekson pri lokusih HLA-A, B in C ter 2., 3. ekson pri lokusih HLA-DR, DQ in DP. S tem pristopom se ni mogoče izogniti dvoumnostim. Ta metoda NGS ima prednost pri delu z velikim številom vzorcev, ob popolni avtomatizaciji procesa, sicer pa je cenovno neugodna in zamudna (6).

Nedavno je podjetje Oxford Nanopore razvilo napravo MinION®, ki je majhen in cenovno dostopen sekvenator. Njegova velika prednost v primerjavi z mnogimi drugimi tehnologijami NGS je, da omogoča sekvenciranje fragmentov DNK dolgih do 13.000 baznih parov (7).

Tehnologija temelji na proteinskih nanoporah, ki so postavljene v električno odporno polimerno membrano. Skozi nanopore teče električni tok in tako ustvarja napetost v membrani. Če gre skozi poro analit, to povzroči značilne spremembe v električnem toku, merjenje le-teh pa omogoča identifikacijo preiskovane molekule. V primeru sekvenciranja

DNK, spustimo skozi nanoporo vijačnico DNK. Električni tok se spreminja glede na to, katera od baz G, A, T ali C prehaja skozi poro. Ta metoda sekvenciranja je vsestransko uporabna na različnih področjih, saj je primerna za sekvenciranje tako genomske DNK, cDNK kot tudi RNK, je enostavna, omogoča prenosljivost aparature, sekvenciranje dolgih zaporedij in analizo v realnem času (8).

Da bi raziskali uporabno vrednost te nove metode v našem rutinskem laboratoriju, smo rezultate tipizacij z MinION-om primerjali z rezultati do sedaj uporabljenih metod, in sicer klasičnega sekvenciranja po Sangerju (AlleleSEQR HLA-SBT Reagents, Abbott) in Rochevimi reagenti za novo generacijo sekvenciranja na aparatu Roche GS Junior system. Izvedli smo tipizacije 18 vzorcev na lokusih HLA-A, B in C. Primerjali smo stopnjo ločljivosti tipizacije, čas, potreben za izvedbo, uporabnost za rutinsko delo, dostopnost na trgu in ceno. Pri vseh z MinION-om tipiziranih vzorcih smo dobili rezultate brez dvoumnosti v eksonih. Nekaj nejasnosti ostaja še v intronih. Razlog za to je največkrat v sekvencah alelov HLA, ki v predelu intronov zaenkrat še niso znane in jih tako računalniški programi za interpretacijo rezultatov tipizacije ne morejo primerjati z referenčno sekvenco. Korak naprej bomo storili v okviru naslednje Mednarodne delavnice za imunogenetiko (17th IHW), ki ima kot enega izmed ciljev določiti celotno nukleotidno zaporedje čim večjega števila alelov HLA. Klasični sekvenator, ki ga trenutno uporabljamo, ima 20 krat večjo nabavno vrednost kot sekvenator MinION. Podobno je tudi cena reagentov za MinION bistveno nižja, tako da bi z njegovo uporabo lahko znižali stroške tipizacije za namen testiranja bolnikov in darovalcev pred presaditvijo KMC ter potencialnih darovalcev članov Slovenija Donor pri vpisu v register. Predvidevamo, da bomo z napredkom tehnologije uporabo lahko razširili na testiranja pred presaditvijo organov. Metodo lahko apliciramo na različne gene, zato bi bila primerna tudi za testiranja, ki jih izvajajo ostali laboratoriji na Zavodu RS za transfuzijsko medicino. V nekaterih laboratorijih v tujini jo že uporabljajo tudi za označevalce virusnih okužb in krvne skupine. Metoda predstavlja velik napredek v tehnologiji, ki je v primeru tipizacije naraščajočega števila genskih različic HLA tudi nujno potreben.

Sekvenciranje z MinION-om omogoča primerjavo nukleotidnega zaporedja celotnih genov HLA v vsakem posameznem branju, visoko pokritost, rešitev dvoumnih rezultatov in visoko izpovednost. Zaključimo lahko, da je ta metoda NGS cenovno ugodna in hitra ter uporabna v različnih vejah diagnostike.

#### Literatura:

1. Mendez A, Montanic S, Kemperle I, Riccio E, Vidan-Jeras B. HLA profile of the slovenian population. *Tissue Antigens*. 2012; 79(6): 558.
2. Robinson J, Halliwell JA, Hayhurst JH, Flicek P, Parham P, Marsh SGE. The IPD and IPD-IMGT/HLA Database: allele variant databases. *Nucleic Acids Research*. 2015; 43: D423-431.
3. Kemperle I, Montanič S, Jazbec J, Pretnar J, Vidan-Jeras B. Vpliv polimorfizma in rekombinacij v regiji HLA na izbiro darovalca krvotvornih matičnih celic za presaditev. *Zdravniški vestnik*. 2012; 81: 361-372.
4. Adams SD, Barracchini KC, Chen D, Robbins FM, Wang L, Larsen P, Luhm R, Stroncek DF. Ambiguous allele combinations in HLA Class I and Class II sequence-based typing: when precise nucleotide sequencing leads to imprecise allele identification. *Journal of Translational Medicine*. 2004; 2:30.
5. Voorter C E M, Groeneweg M, Meertens C, Onclin S, Molenbroeck S, Tilanus M G J. Generation of extended HLA allele sequences by full length hemizygous sanger sequence based typing preliminary results on the 17th IHIWS component. *HLA*. 2016; 87: 219-220.
6. Montanic S, Kemperle I, Mendez A, Vidan-Jeras B. Next-generation versus Sanger sequencing in matching for hematopoietic stem cell transplantation. *Tissue Antigens*. 2013; 81(5):318.
7. Jain et al. The Oxford Nanopore MinION: delivery of nanopore sequencing to the genomics community. *Genome Biology*. 2016; 17: 239.
8. Groeneweg M, Voorter C E M, Slangen T W M, Meertens C M, Palusci F, Tilanus M G J. The power of single molecule sequencing in HLA diagnostics. *HLA*. 2016; 87: 220.



## Tollu-podoben receptor 9 – nov pogled na mehanizem aktivacije

*Mojca Benčina, Jelka Pohar, Roman Jerala, Kemijski inštitut-Odsek za sintezno biologijo in imunologijo*

### UVOD

Tollu-podobni receptorji (TLR) so nepogrešljivi za zaznavanje okužb s patogeni, predvsem virusi in bakterijami. Detekcija patogenov temelji na prepoznavanju njim značilnih molekulskih vzorcev<sup>1</sup>. Visoka učinkovitost imunostimulacije, pa tudi nizka cena in stabilnost nukleinskih kislin, postavlja receptor TLR9 med atraktivne tarče za imunsko-terapevtske intervencije. Znotrajcelični receptor TLR9 se izraža v antigen prezentirajočih celicah (APC)<sup>2</sup>. Aktivacija TLR9 preko MyD88 odvisne signalizacije stimulira sproščanje citokinov povezanih s Th1 odzivom, sintezo interferonov, spodbuja celično prezentacijo in adaptivno imunost ter izražanje MHC-II celic B in makrofagov<sup>5,6</sup>. Po drugi strani prekomerna aktivacija receptorja TLR9 prispeva k razvoju avtoimunih obolenj, kot so: sistemski lupus eritemetozus (SLE), vnetje črevesja, luskavica, multipla skleroza, revmatoidni artritis (RA) in ateroskleroza<sup>7,8</sup>.

Aktivacija receptorja s sintetičnimi oligonukleotidi (ODN), ki vsebujejo nemetilirane CpG motive, povzema aktivacijo receptorja z naravnim substratom, mikrobnno in virusno DNA<sup>3,4</sup>. Faktorji, kot so: položaj, število in dostopnost CpG motivov v ODNu, vplivajo na aktivacijsko sposobnost receptorja. Prepoznavanje ODNov s TLR9 je vrstno specifično<sup>9-12</sup>. Optimalno zaporedje za aktivacijo mišjega (m)TLR9<sup>6,13</sup> se razlikuje od optimalnega zaporedja za aktivacijo človeški (h)TLR9<sup>10</sup>.

Kljub obsežni uporabi mišjih modelov v temeljnih in aplikativnih imunoloških raziskavah, je ključna determinanta, ki uravnava aktivacijo mTLR9, slabo identificirana. Cilj raziskave je bil določiti minimalno potrebno nukleotidno zaporedje agonistov, ki specifično aktivirajo imunski odziv človeških ali mišjih APC. Na podlagi dobljenih rezultatov smo dopolnili mehanizem aktivacije receptorja TLR9.

### METODE

Učinkovitost aktivacije receptorjev mTLR9 in hTLR9 z različnimi ODNi smo testirali na reporterskih celicah HEK293 prehodno transficiranih s plazmidi, ki nosijo zapis za receptor TLR9, pomožno molekulo UNC93B1 in reporterski luciferazi. V nadaljevanju smo aktivacijsko sposobnost ODNov preverjali na mišjih (RAW Blue) makrofagih in B-limfocitih (Ramos Blue). Za RAW Blue in Ramos Blue reporterske celice je značilno, da aktivacija transkripcijskega faktorja NF-κB ali AP-1 privede do sinteze sekrecijske alkalne fosfataze, kar merimo z reagentom, ki se obarva modro. Rezultate smo potrdili na dendritičnih celicah vzgojenih iz kostnega mozga miši in človeških B-celicah in dendritičnih celicah izoliranih iz človeške krvi.

Molekulski 3D model hTLR9 smo pripravili s pomočjo programa I-TASSER (<http://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/I-TASSER>). Celično lokalizacijo divjega tipa in mutant TLR9 smo pokazali z barvanjem s protitelesi in mikroskopijo. Izražanje mutant TLR9 smo potrdili z analizo po Westrnu.

### REZULTATI

Za določitev minimalnega zaporedja agonistov potrebnega za aktivacijo TLR9 smo pripravili skupine sintetičnih ODNov. Pri tem smo preverjali: (i) minimalno potrebno število CpG motivov, (ii) oddaljenost CpG motiva od 5'-konca oligonukleotida in (iii) medsebojno oddaljenost dveh ali več CpG motivov. Preverjali smo tudi (iv) dolžino ODNov in (v) vpliv nukleotidov okoli CpG motiva.

Analiza aktivacije receptorja z različnimi ODNi je pokazala, da je za aktivacijo hTLR9 potrebno drugačno zaporedje agonista, kot za aktivacijo mTLR9. Še več, pokazali smo, da ODNi z minimalnim zaporedjem, ki aktivirajo mTLR9, ne aktivirajo hTLR9.

Minimalne zahteve za ODNe, ki učinkovito aktivirajo človeški TLR9, so:

- (i) prisotnost dveh CG dinukleotidov, ki sta med seboj ločena 6-10 nt, pri tem prvi CpG motiv sledi 5'-timidinu;
- (ii) podaljšan poli-timidinski rep na 3'-koncu ODNa; in
- (iii) dolžina ODNa mora biti vsaj 21 nt.

V nasprotju z minimalnim zaporedjem ODNa, ki je specifičen za hTLR9, je mogoče aktivirati mišji TLR9 z ODNi:

- (i) z samo enim CpG motivom, ki je 4-6 nt oddaljen od 5'-konca oligonukleotida;
- (ii) 5'-TCC, ki je 1 do 3 nt ločen od CG dinukleotida, motiv izboljša aktivacijsko sposobnost ODNa; in
- (iii) ODNi dolgi med 23 in 29 nt imajo najboljšo učinkovitost aktivacije receptorja.

V nadaljevanju smo želeli ugotoviti, kaj je podlaga za razlikovanje prepoznavanja ODNa z mišjim in človeškim TLR9. Na osnovi 3D molekularnega modela hTLR9 in strukture mTLR9 ter aminokislinske poravnave hTLR9 in mTLR9 smo izbrali aminokislinske preostanke, ki naj bi bili vpleteni v prepoznavanje sintetičnega ODNa. S točkovno mutagenezo smo zamenjali, med drugim, aminokislinske preostanke Gln<sup>346</sup>, Arg<sup>348</sup> in Gln<sup>562</sup> v mišje. Mutantam TLR9 smo izmerili sposobnost aktivacije z ODNi specifičnimi za aktivacijo mišjega ali človeškega receptorja. Kljub temu, da mutacije vplivajo na aktivacijo receptorja, le-te ne vplivajo na celično lokalizacija receptorja in izražanje receptorja. Pokazali smo, da aminokislinski preostanki Gln<sup>346</sup>, Arg<sup>348</sup> in Gln<sup>562</sup> spremenjeni v mišje izboljšajo aktivacijo hTLR9 z ODNi, ki specifično aktivirajo mTLR9.

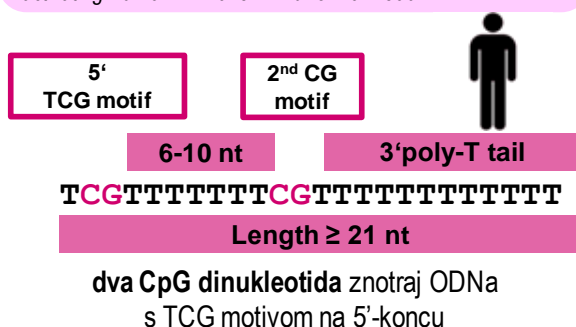
## ZAKLJUČEK

Pri pripravi novih sintetičnih agonistov TLR9 je nujno potrebno upoštevati minimalne zahteve, katerim mora agonist zadostiti, da dosežemo aktivacijo receptorja, saj ODNi, ki aktivirajo mišji TLR9, ni nujno, da bodo aktivirali človeški receptor.

### Minimalno zaporedje ODNa za aktivacijo človeškega TLR9



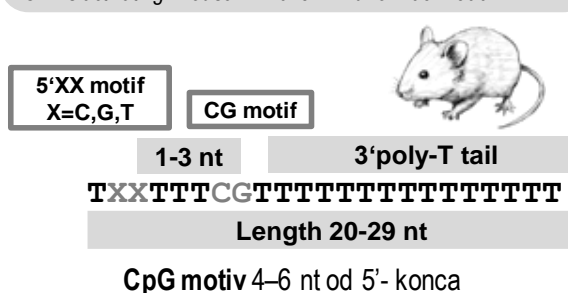
Pohar et al. 2015. *Minimal sequence requirements for ODNs activating human TLR9. J Immunol.* 194: 3901



### Minimalno zaporedje ODNa za aktivacijo mišjega TLR9



Pohar et al 2015. *Species-specific minimal sequence motif for ODNs activating mouse TLR9. J Immunol* 195: 4396



Aminokislinski preostanki Gln<sup>346</sup>, Arg<sup>384</sup> in Gln<sup>562</sup> prispevajo k specifičnemu prepoznavanju dveh CpG motivov človeškega receptorja TLR9.

#### LITERATURA :

1. Akira, S. & Takeda, K. Toll-like receptor signalling. *Nat. Rev. Immunol.* **4**, 499–511 (2004).
2. Dalpke, A. H. & Heeg, K. CpG-DNA as immune response modifier. *Int. J. Med. Microbiol.* **294**, 345–54 (2004).
3. Hemmi, H. *et al.* A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA. *Nature* **408**, 740–5 (2000).
4. Krieg, A. M. CpG motifs in bacterial DNA and their immune effects. *Annu. Rev. Immunol.* **20**, 709–60 (2002).
5. Krieg, A. M. Therapeutic potential of Toll-like receptor 9 activation. *Nat. Rev. Drug Discov.* **5**, 471–84 (2006).
6. Krieg, A. M. *et al.* CpG motifs in bacterial DNA trigger direct B-cell activation. *Nature* **374**, 546–9 (1995).
7. Marshak-Rothstein, A. Toll-like receptors in systemic autoimmune disease. *Nat. Rev. Immunol.* **6**, 823–835 (2006).
8. Barrat, F. J. *et al.* Nucleic acids of mammalian origin can act as endogenous ligands for Toll-like receptors and may promote systemic lupus erythematosus. *J. Exp. Med.* **202**, 1131–9 (2005).
9. Bauer, S. *et al.* Human TLR9 confers responsiveness to bacterial DNA via species-specific CpG motif recognition. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **98**, 9237–42 (2001).
10. Hartmann, G. *et al.* Delineation of a CpG phosphorothioate oligodeoxynucleotide for activating primate immune responses in vitro and in vivo. *J. Immunol.* **164**, 1617–24 (2000).
11. Roberts, T. L., Sweet, M. J., Hume, D. A. & Stacey, K. J. Cutting edge: species-specific TLR9-mediated recognition of CpG and non-CpG phosphorothioate-modified oligonucleotides. *J. Immunol.* **174**, 605–8 (2005).
12. Verthelyi, D., Ishii, K. J., Gursel, M., Takeshita, F. & Klinman, D. M. Human peripheral blood cells differentially recognize and respond to two distinct CPG motifs. *J. Immunol.* **166**, 2372–7 (2001).
13. Yi, a K., Chang, M., Peckham, D. W., Krieg, a M. & Ashman, R. F. CpG oligodeoxyribonucleotides rescue mature spleen B cells from spontaneous apoptosis and promote cell cycle entry. *J. Immunol.* **160**, 5898–906 (1998).

## OBRAVNAVA BOLNIKA Z ANAFILAKSIJO

*Asist Tina Vesel, dr. med., spec. pediater, prof. dr. Tadej Avčin, dr.med. spec. pediater, prof. dr. Mitja Košnik, dr. med. spec. intern.*

### Uvod

**Anafilaksija je resna, življenje ogrožajoča generalizirana ali sistemska preobčutljivostna reakcija, ki se razvije v minutah in katere del so simptomi in znaki prizadetosti dihal in kardiovaskularnega sistema (1).** Piki kožekrilcev, zdravila in hrana so najpogostejši povzročitelji anafilaksije pri odraslih, pri otrocih in mladostnikih pa je hrana najpogostejši povzročitelj anafilaksije (2-3).

V skladu z novimi smernicami Evropske akademije za alergologijo in klinično imunologijo (EAACI) (4) o obravnavi oseb z anafilaksijo so nastale po usklajevanju med predstavniki strokovnih sekcij in oddelkov tudi osvežena slovenska priporočila za obravnavo otrok, mladostnikov in odraslih z anafilaksijo (5-6). Nove smernice poudarjajo osrednjo vlogo zgodnjega zdravljenja z adrenalinom intramuskularno, pravi položaj bolnika in pomen ukrepov, ki sledijo ob odpustu, kot so pouk prepoznave anafilaksije in samopomoči, vključno z učenjem aplikacije samoinjektorja adrenalina (4-6). **Še vedno pa v vsakdanji praksi opazamo da anafilaksija marsikdaj ni prepoznana, da je premalo intenzivno zdravljena, tako s strani medicinskega osebja, kot tudi v domačem okolju (7-8) in da so pomanjkljivi zapisi v medicinski dokumentaciji o anafilaksiji ter podatki o eventualnih sprožilcih anafilaksije (npr. zapisniki o anafilaksiji, povezani z medicinskimi posegi in/ali anestezijo).**

### Prepoznavna in potek anafilaksije

Diagnoza anafilaksije je klinična. Zanj je značilna hitro nastala (v nekaj minutah lahko pa tudi urah) prizadetost več organskih sistemov, predvsem dihal, obtočil in kože. V Tabeli 1 prikazujemo klinične kriterije za anafilaksijo (9), v Tabeli 2 pa eno izmed predlaganih delitev resnosti anafilaksije (10). Tveganje za nastanek ali resnost anafilaksije povečajo lahko dodatni dejavniki, kot so npr. okužba, uživanje nessteroidnih antirevmatikov (NSAR), napor, sprememba rutine, uživanje alkohola, mastocitoza in drugi (11-12). Po 8 do 24 urah se lahko pojavi ponoven zagon reakcije (bifazni potek), predvsem po začetni hipotenziji ali obstrukciji dihal (13-14). Smrtnost pri težki anafilaksiji je med 0,65 do 2 % in je največkrat povezana z bronhospazmom. Izmed prehranskih alergenov so se izkazali za nevarnejše arašidi in drevesni oreščki, manjkrat pa mleko in ribe. **Glavni dejavniki tveganja za smrtni izid anafilaksije so pridružene bolezni kot sta astma ali bolezen mastocitov, zakasnela aplikacija adrenalina ter pokončni položaj prizadetega (15-16).**

**Tabela 1: Klinični kriteriji za postavitev diagnoze anafilaksije (9)**

Anafilaksija je zelo verjetna, če je izpolnjen katerikoli od treh naslednjih 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, hipoksija). b. Prizadetost kardiovaskularnega sistema (npr. hipotenzija, kolaps).
2. Dva ali več od naštetih, ki nastanejo hitro po izpostavi za bolnika verjetnem alergenu (v minutah do urah): a. Prizadetost kože ali sluznic (npr. generalizirana urtikarija, srbenje, rdečica, otekanje). b. Prizadetost dihal (npr. dispnea, bronhospazem, stridor, hipoksija). c. Prizadetost kardiovaskularnega sistema (npr. hipotenzija, kolaps). d. Perzistentni gastrointestinalni simptomi (količne bolečine v trebuhu, bruhanje).
3. Hipotenzija po izpostavitvi bolnika znanemu alergenu (v minutah do urah). 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.

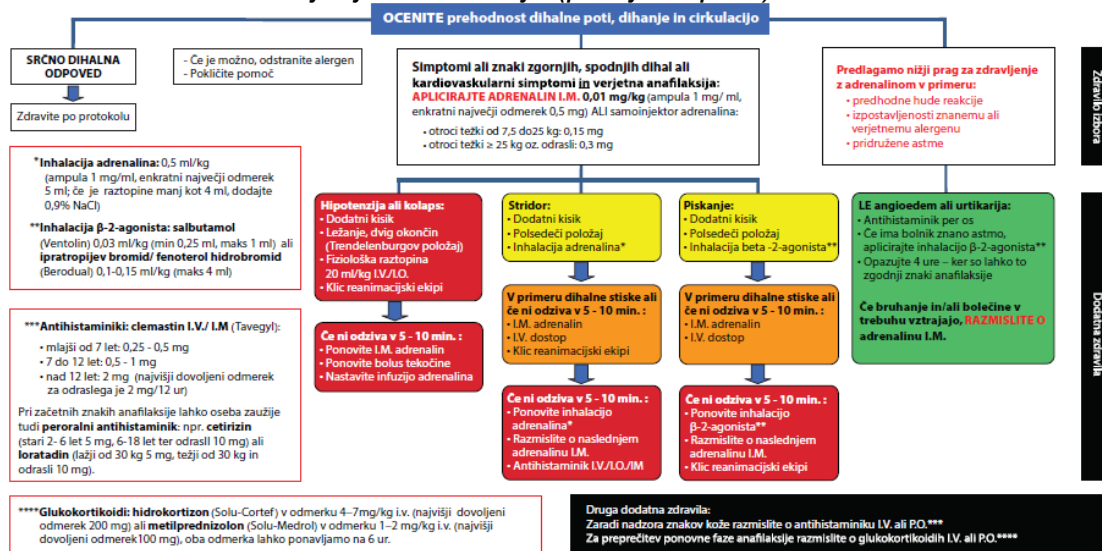
**Tabela 2: Stopnje resnosti anafilaksije (10).**

Prizadet organski sistem / Stopnja	Koža	Prebavila	Dihala	Kardiovaskularni sistem	Živčevje
1. blaga	Srbenje oči in nosu, generalizirani srbež, rdečica, koprivnica, angioedem	Srbež ust, oteklina ustnic, slabost, bruhanje, blage bolečine v trebuhu	Zamašen nos in/ali kihanje, rinoreja, srbenje žrela, občutek otekanja žrela, blago piskanje	Tahikardija	Sprememba v aktivnosti, zaskrbljenost
2. zmerna	Karkoli od zgoraj naštetega	Karkoli od zgoraj naštetega IN krčevite bolečine v trebuhu, driska, ponavljajoče se bruhanje	Karkoli od zgoraj naštetega IN hripavost, lajajoč kašelj, težko požiranje, stridor, dispnea, zmerno piskanje	Kot zgoraj	Občutek vrtoglavice, občutek bližajoče se grožnje
3. huda	Karkoli od zgoraj naštetega	Karkoli od zgoraj naštetega IN izguba kontrole sfinktrov	Karkoli od zgoraj naštetega IN cianoza ali saturacija kisika pod 92 %, dihalna odpoved	Hipotenzija in/ali kolaps, disritmija, huda bradikardija in/ali odpoved srca	Zmedenost, izguba zavesti

## Zdravljenje anafilaksije

Na Sliki 1 je prikazana stopenjska shema zdravljenja anafilaksije. Primerna lega ob anafilaksiji je ležeča na hrbtu z dvignjenimi nogami (Trendelenburgov položaj), v primeru težkega dihanja polsedeci položaj, ob bruhanju pa leže na boku. Če je možno, prekinemo stik z alergenom: npr. v primeru zaužite hrane oplaknemo usta, v primeru infuzije zdravila le-to ustavimo in v primeru pika žuželke odstranimo želo. V primeru srčno-dihalne odpovedi izvajamo postopke oživljanja (4-6, 17)

**Slika 1. Shema zdravljenja anafilaksije (prirejeno po 4)**



Legenda: I.M.- intramuskularno, I.V.- intravenozno, I.O.- intraosialno

**Adrenalin je zdravilo prvega izbora (Slika 1). Takoj, ko postavimo utemeljen sum na anafilaksijo, ga apliciramo intramuskularno.** Adrenalin preko alfa adrenergičnih receptorjev zveča periferni upor, krvni pritisk, izboljša prekrvavitev srca, zmanjša urtikarijo in angioedem. Preko beta1adrenergičnih receptorjev zveča srčno frekvenco, izboljša krčljivost srca, preko beta2adrenergičnih receptorjev pa širi dihalnih poti in preprečuje sproščanje histamina iz mastocitov in bazofilcev. Adrenalin apliciramo vedno, kadar so prisotni simptomi in znaki prizadetosti dihal ali kardiovaskularnega sistema in sicer: hripavost, lajajoč kašelj, težko požiranje, stridor, dispnea, zmerno piskanje, cianoza, prenehanje dihanja, hipotenzija, kolaps, huda bradikardija in/ali odpoved srca. Pri osebah z astmo ali ob pojavu simptomov, s katerimi se je začela predhodna anafilaksija (npr. bolečine v trebuhu po izpostavljenosti alergenju), apliciramo adrenalin že ob blažjih znakih alergijske reakcije. Adrenalin se aplicira v zgornjo lateralno stran stegna- odraslemu v odmerku 0,5 mg, otroku pa v odmerku 0,01 mg na kg telesne teža kar ustreza 0,01 ml/kg TT nerazredčenega adrenalina (1: 1000; 1mg/ml), maksimalni enkratni odmerek adrenalina pa je tudi pri otroku 0,5 mg. Adrenalin je potrebno aplicirati čim hitreje po začetku anafilaksije. Vsaka zamujena minuta pomeni večjo možnost, da bo anafilaksija postala odporna na zdravljenje. Aplikacija adrenalina se lahko ponavlja 5- 10 minut, če je to potrebno. Intravenozno se aplicira adrenalin ob hudi anafilaksiji, ki je neodzivna na zdravljenje z bolusi tekočine in adrenalin dvakrat dan v mišico. Intravenski odmerek adrenalina je od 0,1 do 5 µg/kg/min. Adrenalina ne apliciramo subkutano, saj se v tem primeru absorbira počasneje in slabše. Kontraindikacij za

aplikacijo adrenalina v mišico ni. Kljub temu ocenjujejo, da se adrenalin aplicira le v desetini do tretjini primerov anafilaksij (4-6, 18-20).

Dodatni **kisik** dajemo bolniku s simptomi s strani dihal ali ob anafilaksiji s hipotenzijo (4, 17). Zaradi vazodilatacije in povečane prepustnosti drobnih žil se lahko volumen plazme zmanjša za polovico. Zato so pomemben del zdravljenja anafilaksije **tekočine**, in sicer intravenske kristaloidne ali koloidne raztopine, pri odraslem 1 do 2 l, otroku pa v odmerku 20 ml/kg i.v. v 10- 20 minutah, kar lahko po potrebi ponovimo. Če je potreba po tekočinah večja kot 40 ml/kg, dodamo **inotropno podporo**. Glede na obstoječe podatke ne vemo, kateri izmed vazopresorjev bi bil najboljša izbira pri bolnikih s šokom, priporočeno pa je, da začnemo z nizkim odmerkom ter nato odmerek prilagajamo kliničnemu odzivu, npr. hitrost infuzije intravenoznega adrenalina zmanjšamo v primeru tremorja, bledice in tahikardije ter istočasno ob normalnem ali visokem pritisku (4, 18, 21). **Inhalacija beta-2-agonista** je koristna kot dodatno zdravljenje bronhospazma pri anafilaksiji, vendar je lahko dostop zdravila po tej poti otežen zaradi samega bronhospazma in zato ima intramuskularni adrenalin prednost tudi v tem primeru. Priporočen odmerek inhalacije salbutamola pri odraslem je 1 ml, pri otroku pa je 0,03 ml/kg (najmanj 0,25 ml, največ 1 ml). Kot dodatno zdravljenje angioedema grla damo bolniku **inhalirati adrenalin**, v odmerku 0,5 ml/kg, največ 5 ml (v ampuli adrenalina je 1 ml adrenalina v koncentraciji 1 mg/ml) (4-6). **Antihistaminiki oziroma H1 antagonisti** so kompetitivni antagonisti histamina, le enega od mediatorjev anafilaksije. Antihistaminik pogosto damo po stiku z alergenom ali ob pojavu kliničnih simptomov ali znakov alergične reakcije, čeprav ni jasnih dokazov za njihovo učinkovitost pri anafilaksiji. Kot monoterapijo jih uporabljamo le, kadar ni težav z dihanjem ali hipotenzije. Vsekakor aplikacija antihistaminika ne sme povzročiti zakasnitve aplikacije adrenalina. Pri nas je na voljo v parenteralni obliki klemastin (Tavegyl, v koncentraciji 1 mg/ml v ampulah po 2 ml)- največji odmerek za odraslega je 2 mg na 12 ur, pri otrocih mlajših od 7 let se daje v odmerku 0,25 do 0,5 mg (kar je 1/8 do 1/4 ampule), pri otrocih starih od 7 do 12 let 0,5 do 1 mg (kar je 1/4 do 1/2 ampule) in pri otrocih nad 12 let 2 mg (1 ampula). Ob začetnih znakih anafilaksije lahko oseba zaužije peroralni antihistaminik kot je npr. cetirizin (odrasli 10 do 20 mg, otroci stari 2-6 let 5 mg, otroci stari 6- 18 let 10 mg) ali loratadin (odrasli 10 do 20 mg, otroci lažji od 30 kg 5 mg, težji pa 10 mg) vendar le, če je tega sposoben, npr. da nima težav z dihanjem, požiranjem ali če njegova zavest ni prizadeta (4, 22). **Glukokortikoidi** niso zdravilo prvega izbora za zdravljenja anafilaksije, saj ne delujejo dovolj hitro. Tudi njihova učinkovitost pri zmanjševanju pojava zakasnelih anafilaksijah ni bila prepričljivo dokazana. Dobro delujejo npr. za preprečevanje velike lokalne reakcije po piku žuželke. Zato se lahko uporabijo le kot dodatno zdravilo. Običajno se uporablja hidrokortizon (Solu-Cortef) v odmerku 4–7 mg/kg i.v. (najvišji enkratni dovoljeni odmerek in tudi odmerek za odraslega je 200 mg) ali metilprednizolon (Solu-Medrol) v odmerku 1–2 mg/kg i.v. (najvišji enkratni dovoljeni odmerek oziroma odmerek za odraslega je 100 mg), odmerke lahko ponavljamo na 6 ur. Glukokortikoidi so zelo redko lahko tudi vzrok anafilaksije, predvsem pri atopikih (4, 23). Predhodno zdravljenje z antagonisti beta receptorjev lahko oteži zdravljenje anafilaksije. V tem primeru lahko ob znižanem krvnem pritisku in neučinkovitosti adrenalina apliciramo **intravenozno glukagon** (0,025-0,1 mg/kg TT, najvišji dovoljeni odmerek je 1 mg) (24-25).

## Obravnavanje osebe z anafilaksijo

Osebo z anafilaksijo je potrebno sprejeti v bolnišnico in opazovati, npr. po prizadetosti dihal vsaj 6 do 8 ur, po anafilaktičnem šoku pa vsaj 24 ur (13-14). Priporočamo, da se odvzame po anafilaksiji serum (v naslednjih 15 minutah do dveh urah), z namenom možnosti dodanih preiskav, ki so nam lahko v pomoč, kadar smo v dvomih, ali je resnično šlo za anafilaksijo (npr. za določitev triptaze) (26). Ob odpustu osebe po anafilaksiji je potrebno poiskati alergologa, saj je potrebna ocena tveganja za eventualno ponovno reakcijo, izvesti diagnostično testiranje, dati natančna navodila za ukrepe za zmanjšanje tveganja stika z alergenom, poskrbeti za individualen načrt ukrepanja ob anafilaksiji in predpisati samoinjektor adrenalina. V primeru potrjene **alergije na hrano** se je potrebno alergenu izogibati (dieta), Pomembna preventiva ponovne epizode **anafilaksije po pikih žuželk** sta pouk o ukrepih za izogibanje ponovnim pikom in specifična imunoterapija (SCIT), katere namen je doseči desenzibilizacijo oziroma toleranco na strup. Postopek traja ponavadi pet let v obliki podkožnih injekcij strupa ose ali čebele. V primeru potrjene **alergije na zdravilo** opredelimo tudi, ali je oseba alergična na strukturno podobna zdravila znotraj iste skupine in opozorimo tudi na možen desenzibilizacijski postopek (4-6).

Otrokom s težo med 7,5 kg in 25 kg predpišemo samoinjektor adrenalina v odmerku 150 µg, otrokom težjim od 25 kg in odraslim pa samoinjektor adrenalina v odmerku 300 µg. Zaradi morebitne potrebe po ponovnem odmerku adrenalina ob zdravljenju anafilaksije, neučinkoviti prvi aplikaciji adrenalina (npr. ob izmikanju otroka), relativno nizkem odmerku adrenalina (npr. za otroke nad 30 kg) je možno predpisati otroku dva odmerka samoinjektorja adrenalina. Ob predpisu samoinjektorja adrenalina je potrebno izobraziti osebo in njegove bližnje kdaj in kako se samoinjektor uporabi (4, 18). V Tabeli 3 navajamo indikacije za predpis samoinjektorja adrenalina. Po uvedbi SCIT s strupom kožekrilca v večini primerov nošnja samoinjektorja adrenalina ni več potrebna. Pametno je, da **ima oseba z nevarnostjo anafilaksije pri sebi stalno telefon**, s katerega lahko ob morebitni anafilaksiji pokliče nujno medicinsko pomoč in druge osebe.

**Tabela 4.** Indikacije za predpis samoinjektorja adrenalina (6).

<b>Absolutne indikacije:</b>
– Predhodna anafilaksija, sprožena s hrano, lateksom ali inhalacijskimi alergeni
– Anafilaksija sprožena z naporom
– Idiopatska anafilaksija
– Prehranska alergija in pridružena nestabilna ali srednja do huda, perzistentna astma *
– Anafilaksija po strupu kožokrilcev pred začetkom specifične imunoterapije
– Pridružena bolezen mastocitov ali povečana bazalna koncentracija triptaze skupaj s predhodno sistemsko alergijsko reakcijo po piku insekta
<b>Relativne indikacije**:</b>
– Blaga do srednje huda alergijska reakcija na arašide in/ali drevesne oreščke*



– Najstnik ali mlad odrasel z znano alergijo na hrano*
– Oddaljenost od zdravniške pomoči in prejšnja blaga do srednje huda alergijska reakcija na hrano, strup, lateks ali inhalacijske alergene
– Blaga do srednje huda alergijska reakcija na zelo majhne količine hrane*

Opombe: \* Izvzet je oralni alergijski sindrom; \*\* Če je prisotna ena relativna indikacija, pomislimo o predpisu samoinjektorja adrenalina, če jih je prisotnih več, še bolj pomislimo o predpisu samoinjektorja adreanalina.

Osebo lahko po anafilaksiji opremimo tudi s setom zdravil za samopomoč vendar je potrebno opozoriti, da se mora ob simptomih in znakih prizadetosti dihal ali kardiovaskularnega sistema najprej aplicirati adrenalin. Set zdravil naj vsebuje tablete antihistaminika in metilprednizolona. Alergik zaužije vsebino seta, če pride do stika z znanim alergenom oziroma ob prvih znakih blažje alergijske reakcije (6, 18).

**V zaključku** poudarjamo, da je temeljno zdravilo za zdravljenje adrenalin, ki ga apliciramo v mišico. Adrenalin apliciramo vedno, kadar so prisotni simptomi in znaki prizadetosti dihal ali kardiovaskularnega sistema. Tako medicinsko osebe kot tudi vse v domačem okolju je potrebno spodbujati k čimprejšnji aplikaciji adrenalina. Osebo z anafilaksijo je potrebno sprejeti v bolnišnico. Pri obravnavi osebe z anafilaksijo je nujno čimprejšnja obravnava pri alergologu.

#### Literatura:

1. Johansson SGO, Bieber T, Dahl R, Friedmann PS, Lanier B, Lockey R, et al. A revised nomenclature for allergy for global use: Report of the Nomenclature Review Committee of World Allergy Organization. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113: 832–6.
2. Bohlke K, Davis RL, De Stefano F, Mary SM, Braun MM, Thompson RS. Epidemiology of anaphylaxis among children and adolescents enrolled in a health maintenance organization. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113: 536–42.
3. Braganza SC, Acworth JP, Mckinnon DR, Peake JE, Brown AF. Paediatric emergency department anaphylaxis: different patterns from adults. *Arch Dis Child* 2006; 91: 159–63.
4. Muraro A, Roberts G. Food allergy and anaphylaxis guidelines. Zurich: European Academy of Allergy and Cinal immunology, 2014.
5. Vesel T, Koren Jevrica A, Emeršič N, Accetto M, Bizjak R, Obermayer Temlin A, et.al. Smernice za obravnavo otroka in mladostnika z anafilaksijo. *Zdrav Vestn* 2014; 83: 425-35.
6. Košnik M. Dogovor o obravnavi anafilaksije, Golnik: Alergološka in imunološka sekcija SZD, 2015.
7. Grabenhenrich LB, Dölle S, Moneret-Vautrin A, Köhli A, Lange L, Spindler T, et al. Anaphylaxis in children and adolescents: The European Anaphylaxis Registry. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;137(4):1128-37.
8. Vesel T, Delovna skupina pediatrov alergologov, Košnik M. Adrenalin v zdravljenju anafilaksije. Srečanje timov družinskih zdravnikov 2015. Zbornik.
9. Sampson HA, Munoz-Furlong A, Campbell RL, Adkinson NF, Bock SA, Branum A et al. Second symposium on the definition management of anaphylaxis: summary report-Second National Institute of and Infectious Disease/Food Allergy Anaphylaxis Network symposium. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117: 391–7.
10. Sampson HA. Anaphylaxis and emergency treatment. *Pediatrics* 2003; 111 Suppl 4: 1601–7.
11. Cardona V, Luengo O, Garriga T, Labrador-Horrillo M, Sala-Cunill A, Izquierdo A, et al. Co-factor-enhanced food allergy. *Allergy* 2012; 67: 1316-8.
12. Horny HP, Sotlar K, Valent P. Mastocytosis: state of the art. *Pathobiology* 2007; 74: 121–32.
13. Mehr S, Liew WK, Tey D, Tang ML. Clinical predictors for biphasic reactions in children presenting with anaphylaxis. *Clin Exp Allergy* 2009; 39: 1390–6.
14. Golden DB. Patterns of anaphylaxis: acute and late phase features of allergic reactions. *Novartis Found Symp* 2004; 257: 101–10.
15. Pumphrey RS. Lessons for management of anaphylaxis from a study of fatal reactions. *Clin Exp Allergy* 2000; 30:1144–50.
16. Simons FE, Clark S, Camargo CA, Jr. Anaphylaxis in the community: learning from the survivors. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 124: 301-6.
17. Nolan J, Baskett P. ERC Guidelines for Resuscitation 2005. Oxford: Elsevier, 2005.
18. Simons FER, Arduso LRF, Biló MB, El-Gamal YM, Ledford DK, Ring J, et al. World anaphylaxis guidelines: Summary *J Allergy Clin Immunol* 2011; 127: 587-93.

19. Gu X, Simons FE, Simons KJ. Epinephrine absorption after different routes of administration in an animal model. *Biopharm Drug Dispos* 1999; 20: 401–5.
20. Järvinen KM, Sicherer SH, Samson HA, Nowak-Wegrzyn A. Use of multiple doses of epinephrine in food-induced anaphylaxis in children. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 122: 133-8.
21. Gueugniaud PY, David JS, Chanzy E, Hubert T, Dubien PJ, Mauriacourt P, et al. Vasopressin and epinephrine vs. Epinephrine alone in cardiopulmonary resuscitation. *N Engl J Med* 2008; 359: 21-30.
22. Sheikh A, Ten Broek V, Brown S, Simons F. H<sub>1</sub>-antihistamines for the treatment of anaphylaxis with and without shock. *Cochrane Database Syst Rev* 2007; CD006160.
23. Vesel T, Šilar M, Accetto M, Uroš Krivec, Simona Žitnik, Vesna Glavnik, et al. Hypersensitivity to glucocorticoids in children. In: Polič B, ed. *Abstract book of 2nd Meeting of Middle-European Societies for Immunology and Allergology*. 2013 Okt 10-13; Opatija, Hrvatska. Opatija; 2013.
24. Zaloga G, Delacey W, Holmboe E, Chernow B. Glucagon reversal of hypotension in a case of anaphylactoid shock. *Ann Int Med* 1986; 105: 65–6.
25. Javeed N, Javeed H, Javeed S, Moussa G, Wong P, Rezai F. Refractory anaphylactoid shock potentiated by beta-blockers. *Cathet Cardiovasc Diagn* 1996; 39: 383–4.
26. Sala-Cunill A, Cardona V, Labrador-Horrillo M, Luengo O, Estes O, Garriga T, et al. Usefulness and limitations of sequential serum tryptase for the diagnosis of anaphylaxis in 102 patients. *Int Arch Allergy Immunol* 2013; 160: 192-9.

## STRATEGIJA ZA VARNOST OSEB Z ALERGIJSKIMI BOLEZNI

asist. Tina Vesel, dr. med. spec. pediatri, prof. dr. Tadej Avčin, dr. med. spec. pediatri., prof. dr. Mitja Košnik, dr. med. spec. intern.

Januarja 2016 smo na spletni strani Društva za pomoč otrokom z imunskimi boleznimi ponudili dokument **STRATEGIJA ZA VARNOST otrok z alergijskimi boleznimi v organiziranem varstvu 2016–2020** (dostopen na <http://www.imuno.si/si/alergijske-bolezni/strategija-za-varnost-otrok.htm>). Dokument smo sestavili pediatri, medicinske sestre, dietetiki, starši in pedagoški delavci, ki se srečujemo vsakodnevno z alergijskimi boleznimi otrok v želji 1. ureditve bivanjskih razmer otrok z alergijskimi boleznimi v organiziranem varstvu; 2. poenotenja in spodbuditve preventivnih ukrepov v organiziranem varstvu, da se tako izognemo poslabšanju otrokove alergijske bolezni; 3. zagotovitve oseb, ki znajo preprečevati poslabšanje alergijske bolezni in ob njem primerno ukrepati, in dostop do zdravil za alergijske bolezni; 4. opredelitve pogojev in možnosti za širšo dostopnost samoinjektorja adrenalina v organiziranem varstvu. Vsebine dokumenta so prikazane na Sliki 1.

Slika 1. Vsebine STRATEGIJE ZA VARNOST otrok z alergijskimi boleznimi v organiziranem varstvu 2016–2020.



Menimo, da je potrebna implementacija tega ali podobnega dokumenta v Sloveniji s pomočjo tudi več državnih inštitucij kot so npr. Nacionalni inštitut za javno zdravje (NIJZ) in različnih Ministrstev in pa tudi, da je potrebna ureditev razmer tudi za odrasle z alergijskimi boleznimi. **V tem prispevku navajamo izhodišča za potrebo po strategiji za varnost oseb z alergijskimi boleznimi.**

**Alergijske bolezni so med najpogostejšimi kroničnimi boleznimi razvitega sveta-** ocenjeno je, da prizadenejo okrog 30% prebivalstva v Zahodni Evropi v vsaj nekem obdobju v življenju. Alergijske bolezni so najpogostejše v otroški dobi- približno 5% otrok ima alergijo za hrano, 0,5% otrok življenje ogrožajočo anafilaksijo, 15% otrok pa občasne pomembne alergijske težave, kot npr. seneni nahod in astma (1). V Sloveniji so v letu 2008 poročali iz vrtcev in šol (osnovnih in srednjih), da v 80 % skrbijo za vsaj 1 do 5 % otrok z alergijo na hrano (v 20 % vrtcev in 10 % osnovnih šol tudi za več- 5 do 15 % otrok). Bolezni dihal pri otrocih je zaznalo 62 do 78 % vrtcev in šol pri vsaj 1 do 5% njihovih varovancev (2).

**Sprejem nacionalne strategije za varnost otrok z alergijskimi boleznimi je nujen, da bi izboljšali in omogočili varno vključitev otrok z alergijo v vzgojno-izobraževalni sistem, v druge javne ustanove oziroma v njihova okolja.** Potrebno je skrbeti za pravice otroka z alergijsko boleznijo (Tabela 1) (6). Vso navedeno pozornost in aktivnost bi bilo potrebno nadaljevati pri vključevanju nato mladih odraslih v vzgojno-izobraževalni sistem, torej tudi v srednjih šolah in na fakultetah.

*Tabela 1. Pravice otroka z alergijsko boleznijo (6).*

Otrok z alergijsko boleznijo ima pravico do okolja, v katerem ni tveganja za akutno poslabšanje njegovega zdravja ali smrt.
Otrok z alergijsko boleznijo naj ne bo stigmatiziran zaradi svoje bolezni, omogočeno naj mu bo sodelovanje v izobraževalnih in rekreativnih dejavnostih enako kot vrstnikom.
Otrok z alergijsko boleznijo naj ima dostop do oseb, ki znajo prepoznavati in ukrepati ob akutnih alergijskih reakcijah, ter do zdravil in ukrepov, ki zdravijo alergijsko bolezen.
Izobraževanje otroka z alergijo naj bo prilagojeno njenemu zdravstvenemu stanju, če je to potrebno (npr. pri športni vzgoji, praksi).

**Posebno pozornost je treba nameniti otroku ali odraslemu, ki je že doživel anafilaksijo ali ima povečano tveganje za nastanek anafilaksije.** Anafilaksija je potencialno življenjsko nevarna alergijska reakcija, nevarna zaradi dihalne stiske in/ali prizadetosti srčno-žilnega sistema. Anafilaksijo naj bi vsaj enkrat v življenju imelo vsaj 0,1 % ljudi. Večina epizod se ugodno konča, smrtnost je okrog 0,3 % (1 oseba na 2 milijona prebivalcev na leto). Po podatkih NIJZ je v Sloveniji letno zaradi anafilaksije na primarnem nivoju obravnavanih povprečno 187 bolnikov, na sekundarnem ambulantnem nivoju pa 163 bolnikov. Vsako leto so z glavno diagnozo anafilaksije hospitalizirani povprečno 103 bolniki. Med leti 1997 in 2012 je bilo med odraslimi v Sloveniji evidentiranih 10 smrti zaradi anafilaksije, 7 po pikih žuželk, 3 po zdravilih. **Piki kožekrilcev so tudi najpogostejši vzroki anafilaksije pri odraslih, sledijo pa anafilaksije zaradi izpostavi zdravilom (na prvem mestu kinolonom) in hrani.** Anafilaksija po piku kožekrilca praviloma preseneti, torej ni pričakovana pri posamezniku in praviloma ta oseba nima pri sebi temeljnega zdravila za anafilaksijo-adrenalina. Velikokrat zdravstveno oskrbo anafilaksije po piku komplicira tudi odročnost dogodka (7-11). Incidenca anafilaksije pri otrocih se ocenjuje na 0,19 do 50 na 100000 otrok letno ter v zadnjih letih narašča, predvsem na račun alergije na hrano. **Hrana (arašidi, mleko, jajca, drevesni oreški, pšenica, raki, ribe in soja), piki kožekrilcev ter zdravila (betalaktamski antibiotiki, mišični relaksanti, nesteroidni antirevmatiki– NSAR) so najpogostejši vzroki anafilaksije pri otrocih.** Sprejemi zaradi anafilaksije so v zadnjih 20 letih 4- krat narasli, pojavnost zaradi hrane povzročene anafilaksije pa se je v zadnjih desetih letih podvojila (3, 4, 12-15)

**Adrenalin je temeljno zdravilo v zdravljenju anafilaksije. Osebe z anafilaksijo (po hrani, kožekrilcih in drugimi) imajo pri sebi samoinjektor adrenalina kot zdravilo samopomoči (16).** V Sloveniji smo na podlagi analize predpisovanja samoinjektorjev adrenalina zgolj na Univerzitetni pediatrični kliniki v Ljubljani ocenili leta 2013, da je vsaj 260 otrok ogroženih zaradi anafilaksije (najpogosteje zaradi zaužite hrane in pika kožekrilcev), naslednje leto pa smo potrdili, da je teh otrok še več (cca 25 %), saj so podatke prispevali tudi pediatri drugod po Sloveniji. V zadnjih letih predpišemo samoinjektorje adrenalina na novo od 80 do 120 otrokom. Iz istih pa tudi drugih raziskav se da tudi razbrati, da je anafilaksija premalo intenzivno prepoznana in premalo intenzivno zdravljena, tako pri otrocih, kot tudi pri odraslih (5).

Ocenjeno je tudi, da ima dve tretjini šol po Evropi ima vsaj enega otroka, pri katerem se lahko zgodi anafilaksija (17-18). Prav v šoli je nastopila anafilaksija med 10 % in 18 % otrok z anafilaksijo (3, 18). Vrtci in šole, pa tudi starši in otroci so večinoma pomanjkljivo pripravljeni za skrb nad alergijsko boleznijo otroka. V šolo niti ne pride informacija o alergijah, kar otroka pušča izpostavljenega tveganju, ki bi se mu dalo izogniti; načrti za ukrepanje niso vključeni v šolske aktivnosti, posebej ne med izleti ali kolonijami; urgentna zdravila velikokrat niso dostopna in učitelji so slabo izobraženi kako prepoznati ali ukrepati ob alergijski reakciji pri otroku. Alergeni na hrano so lahko prisotni pri skoraj vseh situacijah v šoli npr. pri pouku, znanstvenih projektih, med obroki, med odmori in pri praznovanjih (2, 6, 19).

**Če želimo obvladovati alergijske reakcije, je potrebno jasno izobraževanje o tem, kako preprečimo izpostavljenost alergenu, kot tudi kakšna je prva pomoč oziroma zdravljenje alergijske reakcije.** Izboljšani dostop do jasnih izobraževalnih gradiv bi zmanjšal zaskrbljenost ob misli na morebitno alergijsko reakcijo in izboljšal ukrepanje ob alergijski reakciji. Posamezne raziskave pokažejo, da se znanja o alergijskih boleznih pri otroku po izobraževanju staršev in zaposlenih v šolah in vrtcih pomembno dvignejo in da je potrebno taka izobraževanja ponavljati (20-22). Ni pa jasnih priporočil, kako najbolj učinkovito izobraževati številne skrbnike alergičnih otrok npr. po celotni državi. Očitno je, da so velike potrebe vrtcev in šol po razumljivem pristopu k izobraževanju o alergijah, ki bi zagotavljal, da bi vse osebe pripomoglo k preprečevanju stika z alergenom (npr. osebe v kuhinji, učitelji, čistilke) in bili sposobni začeti zdraviti alergijsko reakcijo pri otroku (6, 16). Zaradi možnosti pojava prvih, nepričakovanih anafilaksij -do 24% otrok, ki se jim je zgodila anafilaksija, je imelo prvo epizodo anafilaksije ravno v šoli- je priporočeno, da bi vse šole morale biti pripravljene z izobraževanjem, ne glede na to ali imajo ali še ne vključene otroke z anafilaksijo. V Sloveniji smo vzpostavili modele 90 minutnega izobraževanja med študenti Pedagoške fakultete, med že zaposlenimi v vrtcih in šolah, svojcih in tudi otrocih z alergijo in jih tudi ocenili kot uspešne z vprašalniki pred in po predavanjih- takoj, po 14 dnevih in po dveh letih so imeli udeleženci višje znanje kot pred predavanji, opisane analize smo opravili med leti 2013 in 2016 (23, 24, 25). Poudarili pa moramo, da v Sloveniji trenutno ni na voljo sistematičnega široko zastavljenega izobraževanja o alergijskih reakcijah, o prehranskih alergenih večini, ki bi ga morala imeti (npr. zaposlenim v živilski industriji, kuharjem, zaposlenim v šolah, v vrtcih).

Skrb za preventivne ukrepe in pomoč ob alergijski reakciji je v Sloveniji pa tudi drugod po svetu osredotočena predvsem na otroke, torej v vrtcih in šolah, vendar tudi odrasli z alergijo na hrano potrebujejo dobro pomoč pri preventivnih ukrepih, ki morajo biti zanje enaki omejujoči kot v otroštvu. Izkušnje kažejo, da se po vrtcih in šolah v Sloveniji večinoma trudijo zaščititi otroka z alergijo na hrano, npr. na arašide, z osveščanjem ostalih otrok in staršev, vendar se tudi dogaja, da se še kljub vednosti, da je otrok alergičen, nadaljujejo izpostave alergenu. Izkušnje otrok mladostnikov in mladih odraslih so večinoma tudi, da je znanje o alergijskih boleznih še posebej pomanjkljivo ali odsotno v srednjih šolah in še bolj na fakultetah.

**Alergija na arašide je najpogostejši vzrok predpisovanja samoinjektorja adrenalina pri otrocih v Sloveniji v zadnjih letih,** in sicer tako pri predšolskih kot tudi šolskih otrocih (5). Alergija na hrano, ki se kaže kot anafilaksija, se pogosto (v 80 %) nadaljuje tudi v odraslo dobo. Marsikje drugod po Evropi, Ameriki, Avstraliji so

zato vzpostavili model skrbi za osebo z alergijo na arašide v smislu vzpostavitve okolja brez arašidov, npr. v razredu, na šoli, fakulteti, na letalih in podobno (26-27).

**Možnosti izboljšav obstajajo tudi ob pripravi hrane za alergične osebe.** Označevanje alergenov v Evropski uniji (EU) je določeno z uredbo Uredba (EU) št. 1169/2011 o zagotavljanju informacij potrošnikom. Ta zahteva, da se 13 najpogostejših alergenov (mleko, jajca, pšenica, soja, drevesni oreščki, arašidi, ribe, mehkužci, zelena, gorčica, sezam, volčji bob, žveplov dioksid), če so sestavine živila, ustrezno navede. Kljub temu pa ni lahka skrb za preprečitev navzkrižne kontaminacije, torej prenos običajno manjše količine alergena na sicer varno hrano, ki se lahko zgodi od postopka pridelovanja, obdelovanja, transportiranja hrane (kar proizvajalci hrane prostovoljno označijo kot » živilo lahko vsebuje alergen« ali »izdelano v obratu, ki tudi izdeluje« ali »alergen je lahko prisoten v sledovih«) pa tudi ob prodaji, kuhanju ali serviranju hrane. Iz analize primerov anafilaksij zaradi hrane tudi v Slovenji je razvidno, da so številni nastali zaradi navzkrižne kontaminacije, ki je nastala npr. med pripravo jedi v kuhinjah vrtcev, šol, gostinskih obratov. Trenutno v Slovenji ni na voljo standardiziranega, široko dostopnega izobraževanja o varni pripravi hrane pri alergiji na hrano za zaposlene v živilski tehnologiji, tudi ne za tiste, ki skrbijo za pripravo prehrane oziroma kuhanje. Opisano prispeva k nastanku alergijskih reakcij na hrano in pripomore k nižji kakovosti življenja alergičnih na hrano. Iz vsakdanje prakse lahko tudi opozorimo, da se zaposleni v kuhinjah po šolah in vrtcih pri pripravi obrokov za otroke v Sloveniji lahko soočajo s problemi kot so: premajhni prostori, premalo ustrezno usposobljenih zaposlenih (npr. kuharjev, primerno usposobljenih vodij kuhinj), priprava velikega števila različnih diet.

V nekaterih razvitih državah so tudi presodili, da je smiselna **vzpostavitev širše dostopnosti samoinjektorjev adrenalina**, npr. po vrtcih, šolah, fakultetah, drugih javnih ustanovah, na letališčih in letalih. Zgodi se namreč lahko, da preseneti anafilaksija prvič, ali da oseba z anafilaksijo nima pri sebi samoinjektorja adrenalina ali da si oseba z anafilaksijo zaradi hude reakcije ni sposobna sama pomagati. Kombinacija različnih dejavnikov lahko privede še do hitrejšega nastanka in težjega poteka anafilaksije- pri petini bolnikov so za razvoj anafilaksije poleg alergena namreč potrebni še dodatni dejavniki kot so telesni napor, okužba, uživanje nesteroidnih antirevmatikov, psihični stres, uživanje alkohola, menstruacija. Ti dejavniki lahko tudi povečajo jakost anafilaksije. Tako lahko npr. telovadba, v kombinaciji z predhodno zaužito hrano privede do anafilaksije tudi npr. šele v telovadnici in podobno. Zato se zdi smiselna namestitev samoinjektorjev adrenalina tudi v rekreacijskih centrih, v restavracijah, v nakupovalnih centrih, na letalih in podobno (29-31).

**Pomembno je poznavanje obvladovanja tudi nekaterih drugih alergijskih bolezni.** Hitro in pomembno lahko zdravje osebe z alergijo ogrozi poslabšanje astme, pravilna aplikacija predpisanih zdravil pa osebi s poslabšanjem astme hitro olajša dihalno stisko. Tudi alergijski rinokonjunktivitis in atopijski dermatitis sta pogosti alergijski bolezni, ki lahko poslabšata počutje in sposobnost opravljanja obveznosti. Pri otrocih se pojavi potreba po obvladovanju le teh alergijskih bolezni če ne že vsakodnevno v šoli, pa izraziteje na šolskih izletih, taborih oz. šoli v naravi (1, 6).

Pomembno je tudi **strokovno svetovanje najstniku ali odraslemu glede usmerjanja v poklic, ki ga bo lahko opravljal kljub svojim obstoječim alergijam.**

Pozitivni rezultati kožnih testov npr. na hrano ali inhalacijske alergene še ne pomenijo alergije oziroma težav posameznika, zgodi pa se, da se prav zato zaprejo vrata npr. službe za posameznika. Po drugi strani pa je potrebno predvideti obremenitve za posameznika s pomembnimi alergeni v bodoči praksi in službi- če so neizogibne, je racionalno, da se jim oseba z alergijo izogne z izbiro drugih (npr. če se poslabša osebi astma ob stiku z živalsko dlako, naj ne izbere poklic veterinarja), če pa so možne prilagoditve, se priporoča opraviti te prilagoditve (npr. ob zaposlitvi osebe z alergijo na arašide, je izvedljivo zmanjšati prisotnost arašidov, npr. tudi z izbiro druge hrane v avtomatih s hrano). Alergijske bolezni pa se lahko pri posameznikih lahko razvijejo tudi na novo v delovnih okoljih (32-33).

Potrebe otroka in odraslega z alergijo se razlikujejo zaradi različnih sposobnosti v sodelovanju pri preventivi in zdravljenju alergijskih bolezni (npr. pri otrocih skrbijo za preventivne ukrepe in zdravljenje alergijske bolezni predvsem njihovi skrbniki, npr. starši, zaposleni v vrtcih, šolah) in zaradi funkcioniranja v različnih okoljih. V Sloveniji se otroci z alergijo vodijo pri izbranih pediatrih in pri pediatrih z dodatnimi znanji iz alergologije (to so člani »Delovne skupine pediatrov alergologov«), otroke z astmo obravnavajo pediatri z dodatnimi znanji iz pulmologije, otroke z alergijskimi boleznimi prebavil vodijo tudi pediatri gastroenterologi, otroke z alergijskimi boleznimi kože pa dermatologi. Odrasle bolnike z alergijo v Sloveniji vodijo poleg izbranega zdravnika internisti pulmologi z dodatnimi znanji iz alergologije in podobno kot pri otrocih velja, da se v obravnavo glede na klinično sliko vključujejo tudi specialisti drugih strok (dermatologi, internisti gastroenterologi). Ocenjujemo, da bi v Sloveniji potrebovali večjo podporo pri obravnavi otrok, mladostnikov in mladih odraslih z alergijo vsaj pri navedenem:

- podporo pediatrom alergologom, da bi imeli omogočeno obravnavo otrok in mladostnikov z alergijo (trenutno se jih veliko sooča s težavami kot so neodobritev potrebnega kvantitativnega in kvalitativnega izvajanja alergološke diagnostike s strani uprav bolnišnic, nezadostno število kadra)
- podporo alergologom, da bi imeli omogočeno obravnavo odraslih z alergijo (tudi velja podobno kot zgoraj)
- dostopnost medicinskih sester z znanji iz alergologije tudi za široke potrebe izobraževanj o alergijskih boleznih po šolah in vrtcih in za diagnostiko alergijskih bolezni
- večje število dietetikov, ki bi bili v pomoč pri obravnavi otrok, mladostnikov in mladih odraslih z alergijo na hrano
- podpora sistematičnemu izobraževanju o alergijskih boleznih v različnih šolah in fakultetah (npr. za zaposlene v živilski tehnologiji, kuharje, gostince, vzgojitelje in učitelje) in uvrstitev usmerjenih izobraževanj o alergijskih boleznih (npr. o anafilaksiji, astmi, atopijskem dermatitisu) kot primerno vrednoteno vrsto zdravstvene storitve.

Zaključili bi, da le sodelujoč odnos med zdravniki, skupnostnimi, šolskimi sestrami, starši, osebjem v šoli in otrokom pod pokroviteljstvom organizacije na državnem nivoju zagotovi zaščito alergičnega otroka (6, 16). Tudi odrasle osebe z alergijskimi boleznimi potrebujejo sistematsko podporo v svojem delovanju.

### Literatura:

1. Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and atopic eczema: ISAAC. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Steering Committee. *Lancet*. 1998 Apr 25;351(9111):1225-32.
2. Glavnik V et al. Slovenski projekt- anafilaksija. Varnost otrok z alergijo v vrtcih in šolah, 2008
3. Mehl A, Wahn U, Niggemann B. Anaphylactic reactions in children – a questionnaire based survey in Germany. *Allergy* 2005;60:1440–5.
4. Lin RY, Anderson AS, Shah SN, Nuruzzaman F. Increasing anaphylaxis hospitalizations in the first 2 decades of life: New York State, 1990–2006. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2008;101:387–93.
5. Vesel T, Delovna skupina pediatrov alergologov, Košnik M. Vloga adrenalina v zdravljenju anafilaksije. Srečanje timov družinske medicine, Ljubljana, 2015
6. Muraro A, Clark A, Beyer K, Borrego LM, Borres M, Lødrup Carlsen KC, Carrer P, Mazon A, Rancè F, Valovirta E, Wickman M, Zanchetti M. The management of the allergic child at school: EAACI/GA<sup>2</sup>LEN Task Force on the allergic child at school. *Allergy* 2010;65:681–9.
7. Konsenz o anafilaksiji- dogovor med različnimi strokami v Sloveniji, 2015, Golnik.
8. Johansson SGO, Bieber T, Dahl R, Friedmann PS, Lanier B, Lockey R, et al. A revised nomenclature for allergy for global use: Report of the Nomenclature Review Committee of World Allergy Organization. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:832–6.
9. Pumphrey RS, Gowland MH. Further fatal allergic reactions to food in the United Kingdom, 1999-2006. *J Allergy Clin Immunol* 2007;119(4):1018-9.
10. Campbell RL, Hagan JB, Li JT, Vukov SC, Kanthala AR, Smith VD, Manivannan V, Bellolio MF, Decker WW. Anaphylaxis in emergency department patients 50 or 65 years or older. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2011;106:401-6.
11. Worm M, Eckermann O, Döller S, Aberer W, Beyer K, Hawranek T, Hompes S, Koehli A, Mahler V, Nemat K, Niggemann B, Pfohler C, Rabe U, Reissig A, Rietschel E, Scherer K, Treudler R, Ruëff F. Triggers and treatment of anaphylaxis: an analysis of 4000 cases from Germany, Austria and Switzerland. *Dtsch Arztebl Int* 2014;111:367-75.
12. Bohlke K, Davis RL, De Stefano F, Mary SM, Braun MM, Thompson RS. Epidemiology of anaphylaxis among children and adolescents enrolled in a health maintenance organization. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:536–42.
13. Braganza SC, Acworth JP, Mckinnon DR, Peake JE, Brown AF. Paediatric emergency department anaphylaxis: different patterns from adults. *Arch Dis Child* 2006;91:159–63.
14. Macdougall CF, Cant AJ, Colver AF. How dangerous is food allergy in childhood? The incidence of severe and fatal allergic reactions across the UK and Ireland. *Arch Dis Child* 2002;86:236–9.
15. Novembre E, Cianferoni A, Bernardini R, Mugnaini L, Caffarelli C, Cavagni G, et al. Anaphylaxis in children: clinical and allergologic features. *Pediatrics* 1998;101:8–16. *Allergy Clin Immunol* 2001;107:191–3.
16. Muraro A, Roberts G, Worm M, Bilò MB, Brockow K, Fernández Rivas M, et al; EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines Group. Anaphylaxis: guidelines from the European Academy of Allergy and Clinical Immunology. *Allergy*. 2014;69(8):1026-45.
17. Eigenmann PA, Zamora SA. An internetbased survey on the circumstances of food induced reactions following the diagnosis of IgE-mediated food allergy. *Allergy* 2002;57:449–53.
18. McIntyre CL, Sheetz AH, Carroll CR, Young MC. Administration of epinephrine for life threatening allergic reactions in school settings. *Pediatrics* 2005;116:1134–40.
19. Watura J. Nut allergy in schoolchildren: a survey of schools in the Severn NHS Trust. *Arch Dis Child* 2002;86:240–4.
20. Bansal PJ, Marsh R, Patel B, Tobin MC. Management of anaphylaxis in child care centers: evaluation 6 and 12 months after an intervention program *Ann Allergy Asthma Immunol* 2006;97(6):813-5.
21. Patel BM, Bansal PJ, Tobin MC. Recognition, evaluation, and treatment of anaphylaxis in the child care setting. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2005;94(1):55-9.
22. Vargas PA, Sicherer SH, Christie L, Keaveny M, Noone S, Watkins D, Carlisle SK, Jones SM. Developing a food allergy curriculum for parents. *Pediatr Allergy Immunol* 2011;22(6):575-82.
23. Šoster Križnik E, Deisinger L, Maslar M, Obermayer A, Vesel T. Knowledge and mindset on anaphylaxis management in children and teenagers among caregivers in Slovenia. FAAM 2014
24. Vesel T, Nahtigal M. Evaluation of courses adopted to children on prevention, recognition and management of anaphylaxis. PAAM 2015
25. Posega Devetak S, Devetak I, Vesel T. Evaluation of the Anaphylaxis Post-graduate Teacher Intervention programme. EAACI 2016
26. Banerjee DK, Kagan RS, Turnbull E, Joseph L, St Pierre Y, Dufresne C, et al. Peanut-free guidelines reduce school lunch peanut contents. *Arch Dis Child* 2007;92(11):980-2.
27. Nowak-Węgrzyn A<sup>1</sup>, Conover-Walker MK, Wood RA. Food-allergic reactions in schools and preschools. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2001;155(7):790-5.
28. ZAKONODAJA KANADA: Sabrina's Law, 2005 S.o. 2005, chapter 7.
29. ZAKONODAJA ZDA: Amending the act of March 10, 1949 (P.L.30, No.14), entitled "An act relating to the public school system, including certain provisions applicable as well to private and parochial schools; amending, revising, consolidating and changing the laws relating thereto," in school health services, providing for school access to emergency epinephrine.
30. Priporočila Velika britanija, 2014: Supporting pupils at school with medical conditions Statutory guidance for governing bodies of maintained schools and proprietors of academies in England.
31. Cardona V, Luengo O, Garriga T, Labrador-Horrillo M, Sala-Cunill A, Izquierdo A, et al. Co-factor-enhanced food allergy. *Allergy* 2012; 67:1316-8.
32. Moscato G, Pala G, Boillat MA, Folletti I, Gerth van Wijk R, Olgiate-Des Gouttes D, et al. EAACI position paper: prevention of work-related respiratory allergies among pre-apprentices or apprentices and young workers. *Allergy*. 2011;66(9):1164-73.
33. Moscato G, Vandenplas O, Van Wijk RG, Malo JL, Perfetti L, Quirce S, et al; European Academy of Allergology and Clinical Immunology. EAACI position paper on occupational rhinitis. *Respir Res* 2009;3:10:16.



## PREGLED ZAKONODAJE

*Sonja Štramec Nemec, univ. dipl. prav.*

### Uvod

V tem prispevku bi želela predstaviti zakonodajo, ki ureja ali vpliva na položaj oseb z alergijo. Težave oseb z alergijo izhajajo predvsem iz neurejenega statusa oseb z alergijo. Tujina ima praviloma urejen status alergikov kot obliko invalidnosti. S tem, da v Sloveniji ni urejen status oseb z alergijo, država krši človekove pravice, saj dovoli diskriminacijo oseb z alergijo.

### Primeri diskriminacije oseb z alergijo

- nedostopnost dietne prehrane v vrtcih in šolah oziroma nestrokovno pripravljane diete prehrane;
- otroci nimajo pravice do spremljevalca v vrtcu ali šoli;
- odločbe za otroke s posebnimi potrebami za alergike v OŠ in SŠ ne vsebujejo ukrepov s prilagoditvami oziroma te prilagoditve niso zakonske predvidene;
- nedostopnost hrane v lokalih in restavracijah zaradi površnega izvajanja Uredbe;
- nedostopnost do nekaterih javnih prevozov (npr. alergik na arašide) – letalski prevozi ali
- nerazumni pogoji za pridobitev dodatka za varstvo in nego.

Primer: Alergiki praviloma ne morejo skleniti dodatnega zdravstvenega zavarovanja za tujino, saj večina zavarovanj/zavarovalnic ima v pogojih zavarovanja splošno izključitev, po kateri zavarovalnica ne nudi kritja medicinske asistencije za kritje stroškov bolezni, zdravstvenih stanj in poškodb, ki so obstajale ali so se pojavile in niso bile v celoti odpravljene pred odhodom v tujino. Sem so vključene vse kronične in ponavljajoče se bolezni, razen določenih izjem, med katerimi pa alergije ni (najpogostejše izjeme so: bolezni srca, astma, ledvični kamni in sladkorna bolezen).

### Pravne podlage

Prepoved diskriminacije je določena v II. poglavju ustave RS, ki ureja področju ČLOVEKOVE PRAVICE IN TEMELJNE SVOBOŠČINE. Prepoved diskriminacije poleg Ustave RS široko ureja 12. Protokol k EKČP, ki splošno prepoveduje diskriminacijo pri opredeljevanju in uživanju vseh pravic, urejenih z notranjim pravom države pogodbenice in glede katerekoli osebne okoliščine. Navedene določbe priznavajo pravico do enakega obravnavanja. Pravico do enakega obravnavanja varuje in deloma ureja že Ustava, ki jamči enakost pri uživanju vseh človekovih pravic in svoboščin, enakost pred zakonom (14. člen Ustava RS). Razlikujemo neposredno diskriminacijo in posredno diskriminacijo (kadar je oseba z določeno osebno okoliščino (npr. invalidnosti) bila, je ali bi lahko bila zaradi navidezno nevtralnega predpisa, merila ali prakse v enakih ali podobnih situacijah in pogojih v manj ugodnem položaju kot druge osebe, razen če te določbe, merila ali ravnanja objektivno upravičuje zakoniti cilj in če so sredstva za doseganje tega cilja ustrezna in potrebna. Alergija je v tujih pravnih redih in v mednarodnih dokumentih obravnavane kot vrsta invalidnosti.

Mednarodna Konvencija o Pravicah Invalidov v 2. členu določa, da kot diskriminacija zaradi invalidnosti šteje tudi odklonitev razumne prilagoditve. "Diskriminacija zaradi invalidnosti" pomeni vsako razlikovanje, izključevanje ali omejevanje zaradi

invalidnosti z namenom ali posledico zmanjšanja ali izničevanja enakopravnega priznavanja, uživanja ali uresničevanja vseh človekovih pravic in temeljnih svoboščin na političnem, gospodarskem, socialnem, kulturnem, civilnem ali drugem področju. "Primerna prilagoditev" pomeni potrebne in primerne spremembe ter prilagoditve, ki ne nalagajo nesorazmernega ali nepotrebne bremena, kadar so v posameznem primeru potrebne, da se invalidom na enaki podlagi kot drugim zagotovi uživanje ali uresničevanje vseh človekovih pravic in temeljnih svoboščin. Te prilagoditve se lahko nanašajo tako na način dostopanja do neke pravice ali pa dobrine ali storitve, na njeno obliko, ali na pogoje njenega zagotavljanja. Način prilagoditve glede na svoje potrebe izbere oseba z invalidnostjo. Primeri razumne prilagoditve v vrtcih in šolah: alergik na arašide: v objekt se ne vnaša smokijev; alergik na pršico: učilnica se 1x na teden bolje počisti; alergik na pelode: v času cvetenja alergena, se na okno namesti »lovilec peloda«; alergik na pike kožekrilcev: na okno na namesti mreža,...

### **Področja, ki jih ureja zakonodaja in kjer pogosto alergije niso upoštevane oziroma ne olajša življenja alergikov:**

**Izjema namenjena prav alergijam:** dne 13.12.2014 se je začela uporabljati Uredba (EU) št. 1169/2011 o zagotavljanju informacij potrošnikom, ki določa, da so podatki o alergenih, kadar so ti prisotni v končnem proizvodu, obvezni tudi za nepredpakirana živila, ponujena za prodajo končnemu potrošniku. Zakonodaja sicer dopušča izbiro načina in mesta označevanja alergenov za živila, vendar zahteva, da morajo biti podatki o alergenih v živilih, ki se prodajajo v obratih javne prehrane, navedeni najmanj na enem od mest, kjer je predstavljena ponudba jedi (npr. jedilni list, pano, plakat, ekran, prtiček,...). Navedba alergena mora biti na dobro vidnem mestu, nedvoumna, čitljiva, neizbrisna in ne sme biti prekrita z drugim besedilnim ali slikovnim materialom. Seznam sestavin ali proizvodov, ki lahko povzročajo alergije ali preobčutljivosti, iz priloge II, ki jih je potrebno navesti: žito, ki vsebuje gluten; raki, ribe in mehkužci; jajca; arašidi; mleko ali mlečni izdelki, ki vsebujejo laktozo; soja; oreščki; listnata zelena; gorčica, gorčično seme; sezamovo seme; žveplov dioksid in sulfiti in volčji bob.

**DODATEK ZA NEGO OTROKA, KI POTREBUJE POSEBNO NEGO IN VARSTVO:** Pravilnik o kriterijih za uveljavljanje pravic za otroke, ki potrebujejo posebno nego in varstvo določa za v primerih hudih bolezni kot so tudi alergije na hrano (pri preobčutljivosti na večje število osnovnih hranil) dodatek za nego otroka v višini 100 EUR mesečno. Iz Priloge 1 k Seznamu težkih, kroničnih bolezni in stanj izhaja, da dodatek za nego otroka pripada alergikom v primeru: Alergija na hrano, če je dokazana alergija na hrano na 3 ali več osnovnih živil (mleko, soja, jajca, arašidi, pšenica), po 9 mesecu starosti. Pri nizko pozitivnih alergoloških testih (kožni vbodni test in/ali nizko pozitivni IgE) mora biti alergija potrjena s provokacijskim testom.

**POSEBNE OLAJŠAVE ZA VZDRŽEVANE DRUŽINSKE ČLANE,** pravico uveljavlja eden od staršev za otroka, ki potrebuje posebno nego in varstvo in ima pravico do dodatka za nego otroka v skladu z zakonom o starševskem varstvu in družinskih prejemkih ali pravico do dodatka za pomoč in postrežbo v skladu z zakonom o pokojninskem in invalidskem zavarovanju.

**POVRAČILO STROŠKOV ZA NAKUP ZDRAVIL IN MEDICINSKO TEH. PRIPOMOČKOV:** lahko bolniki uveljavljajo na ZZZS, v kraju stalnega bivališča. Vlogo je potrebno nasloviti na ZZZS, navesti je potrebno opisane zdravstvene težave bolnika in navesti katera zdravila oz. medicinski tehnične pripomočke potrebuje in prosite za povračilo stroškov. Vlogi je potrebno priložiti tudi mnenje osebnega zdravnika oz. pediatra oz. specialista, da zdravila oz. medicinsko tehnične

pripomoček/pripomočke potrebuje alergik pri zdravljenju. Primeri: alergiki na pršice: odeje, vzglavniki za alergike; sesalec s HEPA filtrom, ...

**ZDRAVILIŠKO ZDRAVLJENJE:** Predlog za zdraviliško zdravljenje poda osebni izbrani zdravnik oz. pediater, lahko pa tudi na predlog specialista na ZZZS. Na podlagi 81.čl. Zakona o zdravstvenem varstvu zdravstvenega zavarovanja imenovani zdravnik izda sklep o odobritvi zdraviliškega zdravljenja. Pravica do uveljavljanja zdraviliškega zdravljenja izhaja iz 45. člena Pravil obveznega zdravstvenega zavarovanja, če je z zdravljenjem v naravnem zdravilišču pričakovati: bistveno izboljšanje zdravstvenega stanja za daljši čas, povrnitev funkcionalnih in delovnih sposobnosti, preprečitev napredovanja bolezni ali slabšanja zdravstvenega stanja za daljši čas, zmanjšanje pogoste odsotnosti zadržanosti od dela zaradi bolezni ali zdravljenja v bolnišnici. Zdraviliško zdravljenje traja praviloma 14 dni in se izvaja v določenem trajanju brez prekinitev

**STATUS DOLGOTRAJNO BOLNEGA OTROKA:** Po Zakonu o usmerjanju otrok s posebnimi potrebami lahko status otroka s posebnimi potrebami dobijo tudi dolgotrajno bolni otroci, mednje spadajo tudi otroci z alergijo. Po izvedenem postopku se pridobi Odločba o usmerjanju, ki v vrtcih pomeni znižan normative glede števila otrok v skupini. V OŠ pa nima nobenih posledic, razne, da je ugotovljen status. Odločba o usmerjanju je tudi podlaga za oprostitev plačila cestnine pri registraciji avtomobila.

**Prehrano v vzgojno-izobraževalnih ustanovah:** Osnovne in srednje šole morajo za učence in dijake obvezno organizirati vsaj en obrok hrane dnevno. To določajo 57. člen Zakona o osnovni šoli, 32. člen Zakona o gimnazijah ter 60. člen Zakona o poklicnem in strokovnem izobraževanju. Zakon o šolski prehrani v 4. členu določa, da šolska prehrana obsega zajtrk, malico, kosilo in popoldansko malico. Šola mora za vse učence v okviru dejavnosti javne službe obvezno organizirati malico. Kot dodatno ponudbo lahko šola organizira tudi zajtrk, kosilo in popoldansko malico. Dietne obroke organizira šola v okviru dodatne ponudbe, v skladu s svojimi zmožnostmi.

#### Viri:

- Ustava RS (Uradni list RS, št. [33/91-I](#) s spremembami in dopolnitvami)
- Zakonu o usmerjanju otrok s posebnimi potrebami (Uradni list RS, št. [58/2011](#), s spremembami in dopolnitvami)
- Zakon o zdravstvenem varstvu zdravstvenega zavarovanja (Uradni list RS, št. [9/1992](#), s spremembami in dopolnitvami)
- Pravila obveznega zdravstvenega zavarovanja (Uradni list RS, št. [79/94](#) s spremembami in dopolnitvami)
- Zakon o dohodnini (Uradni list RS, št. [13/11](#) – UPB, s spremembami in dopolnitvami)
- Uredba (EU) št. 1169/2011 o zagotavljanju informacij potrošnikom
- Zakon o ratifikaciji Konvencije o pravicah invalidov in Izbirnega protokola h Konvenciji o pravicah invalidov (MKPI), (Uradni list RS, št. 37/2008)
- Evropska konvencija o varstvu človekovih pravic in temeljnih svoboščin (Uradni list RS, št.: 41/1994)
- Pobuda Zagovornika enakih možnosti

# PRENOVA SMERNIC ZA IMUNOTERAPIJO S STRUPI ŽUŽELK

Mitja Košnik, Klinika Golnik

Anafilaksija po pikih je najpogostejši razlog anafilaksije odraslih in drugi najpogostejši pri otrocih. Pik čebele, ose ali sršena vsaj enkrat v življenju doživi 56,6 do 94,5% ljudi (1). Do 7,5% ljudi po piku the žuželk doživi sistemsko alergijsko reakcijo (SAR). 39,1% reakcij je blagih (razred I), 43,5% zmernih (razred II) in 17,4% hudih v skladu s klasifikacijo po Ring in Messmerju (2). Dejavniki povezani s tveganjem za hude reakcije so starost, povišana bazalna triptaza, sočasne srčno-žilne bolezni in astma. Nasprotujoči so rezultati, ali je sočasno zdravljenje z zaviralci receptorjev beta ali zaviralci angiotenzinske konvertaze (zaviralci ACE) dejavnik tveganja za hujšo SAR (3). Pogostost velikih lokalnih reakcij (VLR) je do 26,4%. Verjetnost SAR pri osebah z VLR ni pomembno večja kot pri osebah z normalnimi reakcijami, ki še nikoli niso imele SAR (4). Do 0,5 na 1 milijon ljudi vsako leto umre zaradi SAR po pikih žuželk (1). Poleg tega alergija za pike žuželk negativno vpliva na kvaliteto življenja.

Verjetnost ponovne SAR pri ponovnem piku enake žuželke je velika. Bolniki imajo pri ponovnih pikih največkrat enako težko reakcijo, kot je bila prva. Zato je pomembni izvajati preventivne ukrepe, da do pika ne pride in usposobiti bolnika za samopomoč, če pride do pika (5). Bolniki se morajo izogibati aktivnostim, pri katerih je veliko tveganje pika. Opremimo jih z zdravili za samopomoč. Tablete antihistaminika in glukokortikoida preprečijo blage sistemske reakcije in blažijo velike lokalne reakcije, ne preprečijo pa anafilaksije. Bolniki, ki so imeli reakcijo težjo od urtikarije in niso zdravljeni s specifično imunoterapijo, morajo biti opremljeni z samoinjektorjem adrenalina. Priporočila o uporabi avtoinjektorjev adrenalina pri bolnikih z alergijo za strup žuželk je pripravila delovna skupina sekcije za alergijo za strupe žuželk v EAACI (5).

## **Indikacije za predpis avtoinjektorja adrenalina za bolnike, ki niso zdravljeni z VIT:**

- z IgE povzročena alergija za strup žuželk pri odraslin in otrocih, ki imajo po piku več kot le kožno/sluznično reakcijo in niso zdravljeni z imunoterapijo.
- Mastocitoza ali povišana bazalna triptaza pri bolniku, ki je imel kakršnokoli z IgE povzročeno sistemsko alergijsko reakcijo.
- Nižji prag za predpis avtoinjektorja adrenalina:
  - Blaga SAR pri bolnikih, ki so oddaljeni od medicinske pomoči.
  - Blaga SAR pri bolnikih, pri katerih je velika verjetnost ponovnih pikov oziroma je velika možnost večih pikov hkrati (npr čebelarji).

Kriteriji za predpis adrenalina morajo upoštevati tudi kakovost življenja. Navodilo, da morajo nositi avtoinjektor adrenalina, veliko bolnikov dojame kot breme.

## **Indikacije za predpis avtoinjektorja adrenalina med VIT:**

Avtoinjektor adrenalina je treba predpisati bolnikom z indikacijo za VIT za obdobje, ko čakaj na imunoterapijo, oziroma dokler ne dosežejo vzdrževalnega odmerka pri imunoterapiji.

Predpisovanje med imunoterapijo ne temelji na čvrstih dokazih:

- Mastocitoza ali povišana bazalna triptaza pri bolnikih na vzdrževalni imunoterapiji. Pri teh bolnikih se lahko sistemske reakcije po piku žuželke zgodijo kljub zdravljenju z imunoterapijo in možnosti, da se SAR zgodi tudi po piku žuželke, za katero bolnik ne prejema VIT.
- Bolnik, pri katerem je večja verjetnost neučinkovite VIT (npr izjemno težka reakcija pred imunoterapijo, anafilaktična reakcija med imunoterapijo po piku ali po injekciji).

- Nekateri menijo, da bi bolnik z anafilaksijo pred imunoterapijo imel avtoinjektor adrenalina do takrat, ko se pokaže dobro prenašanje pikov s provokacijskim testom ali pikom v naravi.
- Nekateri bi priporočili avtoinjektor adrenalina tudi bolnikom, ki med VIT prejemajo zaviralce ACE.

***Indikacije za predpis avtoinjektorja adrenalina po koncu VIT:***

Sicer je verjetnost težkih reakcij po koncu imunoterapije majhna, ampak vseeno se je treba o tem in o možnosti predpisa adrenalina pogovoriti z bolnikom.

- Zanesljivo avtoinjektor adrenalina potrebujejo bolniki z mastocitozo oziroma povišano bazalno triptazo. Enako velja za bolnike, pri katerih je velika verjetnost relapsa (na primer zelo huda reakcija pred imunoterapijo, anafilaksija med VIT).

***Indikacije za predpis avtoinjektorja adrenalina za bolnike z anafilaksijo po piku žuželke in negativnimi testi alergije:***

- Avtoinjektor adrenalina je potrebno predpisati takim bolnikom, če imajo mastocitozo ali povišano bazalno triptazo.
- Če je bolnik imel suspektno klinično sliko anafilaksije in ima negativne teste alergije, je smiselno do zaključka diagnostičnega postopka (na primer za eno sezono) predpisati avtoinjektor adrenaline, čez 6 tednov do 3 mesece pa ponoviti teste alergije.

***Indikacije za predpis avtoinjektorja adrenalina bolnikom z VLR:***

Tem bolnikom ne predpisujemo avtoinjektorjev adrenalina. Velike lokalne reakcije niso napovedni dejavnik težkih sistemskih reakcij (4).

***Indikacije za predpis dveh avtoinjektorjev adrenalina:***

- Bolniki z mastocitozo ali povišano bazalno triptazo
- Anamneza, da je bolnik potreboval več kot en odmerek adrenalina
- Anamneza skoraj smrtne anafilaksije
- Otežen dostop do medicinske pomoči
- Telesna teža bolnika, ki je nesorazmerna standardnemu odmerku adrenalina

**Imunoterapija**

Imunoterapija s strupi žuželk je učinkovit ukrep za preprečevanje hudih alergijskih reakcij. V kratkem bodo posodobljene smernice za imunoterapijo s strupi žuželk. Žal je ta trenutek delovna verzija dokumenta v nekaterih ključnih točkah še predmet diskusije, zato prispevek ne opisuje dokončnega stališča smernic, ampak trenutno razmišljanje.

***Indikacije:***

- Imunoterapija je zdravljenje izbire pri odraslih bolnikih in otrocih, ki so doživeli z IgE posredovano sistemsko reakcijo, ki je bila težja kot le generalizirana kožna reakcija. Senzibilizacijo se lahko dokaže s kožnimi testi, določanjem specifičnih IgE ali testom BAT. VIT ni indicirana, če se ne dokaže sIgE ali pri bolnikih z nenavadnimi reakcijami (trombocitopenija, vaskulitis...).
- Pri bolnikih z VLR VIT ni potrebna. Vendar VIT zmanjša burnost VLR, zato pride v poštev pri bolnikih s pogostimi in zelo motečimi VLR.

- VIT pride v poštev tudi pri bolnikih z blažjimi reakcijami, kadar je zaradi strahu pred pikom (reakcijo) pomemben problem zmanjšana kakovost življenja.

### **Kontraindikacije:**

- Srčno-žilne bolezni niso kontraindikacija za VIT, če je osnovna bolezen stabilna
- Beta blokatorji niso kontraindikacija za VIT
- ACE inhibitorji niso kontraindikacija za VIT
- Obvladana maligna bolezen ni kontraindikacija za VIT
- Avtoimunske bolezni enega organa niso kontraindikacija za VIT
- Aktivna multisistemska avtoimunska bolezen je kontraindikacija za VIT
- Starost pod 5 let ni absolutna kontraindikacija, če je otrok imel hudo reakcijo
- V nosečnosti se VIT ne začne, že vzpostavljene VIT pa se ne prekinja

### **Izvedba VIT**

- Svetuje se premedikacija z antihistaminikom, ker to zmanjša lokalne reakcije in tudi prepreči blage sistemske reakcije
- Večini bolnikov zadostuje VIT z enim alergenom. Če bolnik potrebuje VIT z dvema alergenoma, oba alergena lahko prejme hkrati.
- Vzdrževalni odmerek je 100 mikrogramov. Če bolnik ob tem odmerku doživi reakcijo po piku žuželke, se odmerek poveča na 200 mikrogramov.
- VIT naj se izvaja vsaj 3 leta. To trajanje zadostuje za bolnike z blagimi do zmernimi reakcijami. Bolnik z zelo težko začetno reakcijo naj bo na VIT 5 let.
- Pri bolnikih z zapleti ze začasno zmanjša odmerek. Če to ne zadostuje, je opcija omalizumab.
- Trajna VIT pride v poštev pri bolnikih, ki so po piku čebele imeli zelo hudo reakcijo in bolnikih, s sistemskimi zapleti med vzdrževalno VIT. To so namreč pomembni dejavniki, ki napovedujejo relaps po koncu VIT.
- Spodbuja se, da se čim prej po začetku VIT naredi provokacijskih test s pikom žuželke (razloga: kakovost življenja in identifikacija tistih, ki jim je treba odmerek alergena zvečati).
- Laboratorijsko spremljanje (slgE, slgG, BAT) učinkovitosti VIT ni smiselno.

### **Naše izkušnje**

V letih 2010 do 2014 je na Kliniki Golnik imunoterapijo izvajalo 514 bolnikov (41% žensk), starost  $47,2 \pm 14,4$  let, 186 s čebeljim in 328 z osjim strupom. 20,4% bolnikov je doživelo pik žuželke že v prvem letu imunoterapije. Pik čebele je doživelo 68 od 186 bolnikov (36,6%), pik ose 127 od 328 bolnikov (38,7%). Od 195 bolnikov, ki so med imunoterapijo doživeli pik žuželke, jih je 27 poročalo o simptomih (11 čebele, 16 ose), 9 jih je imelo objektivno alergijsko reakcijo, od katerih je bila 1 težka (III stopnja po Muellerju).

### Literatura:

1. Bilo MB, Bonifazi F. The natural history and epidemiology of insect venom allergy: clinical implications. Clin Exp Allergy 2009;39:1467–1476.
2. Bokanovic D, Aberer W, Griesbacher A, et al. Prevalence of hymenoptera venom allergy and poor adherence to immunotherapy in Austria. Allergy 2011;66:1395-6.
3. Stoevesandt J, Hain J, Kerstan A, et al. Over- and underestimated parameters in severe Hymenoptera venom-induced anaphylaxis: cardiovascular medication and absence of urticaria/angioedema. J Allergy Clin Immunol 2012;130:698-704.
4. Sturm GJ, Kranzelbinder B, Schuster C, Sturm EM, Bokanovic D, Vollmann J et al. Sensitization to Hymenoptera venoms is common, but systemic sting reactions are rare. J Allergy Clin Immunol 2014;133:1635-43.
5. Bilò MB, Cichocka-Jarosz E, Pumphrey R, Oude-Elberink JN, Lange J, Kosnik M, et al. Self-medication of anaphylactic reactions due to Hymenoptera stings-an EAACI Task Force Consensus Statement. Allergy. 2016;71:931-43.