



ČASOPIS UDRUŽENJA ANESTEZISTA REANIMATORA I TRANSFUZISTA SRBIJE



ANESTEZIJA REANIMACIJA TRANSFUZIJA

BEOGRAD
2022

Časopis Udruženja anesteziologa, reanimatora i transfuzista Srbije

Glavni i odgovorni urednik: Dragoslav Itov

Uređivački odbor
Draga Udovica
Biljana Milutinović
Ninoslav Stojković

Recenzenti:
Akademik Prof. dr Bela Balint
VNS Mirjana Kovač
N sar. dr Nataša Vavić
N sar. dr sc med. Snežana Jovanović Srzentić
N sar. Prim. dr sc med. Zorana Andrić
Dr sc med. Olivera Savić
Prof. dr sc med. Maja Šurbatović
Prof. dr sc med. Dragan Đorđević
Prof. dr sc med. Nebojša Lađević
Prof. dr sc med. Dušan Vučetić
Prof. dr sc med. Slađana Anđelić
N. sar. dr Zoran Stanojković
Prim dr sc med. Ana Antić
Dr spec. Zdravko Brkan
Dr spec. Ana Popadić
Dr spec. Aleksandar Vranjanac

Časopis izlazi kao dvobroj: Tiraž : 700

Štampa: ACTION PRO , Beograd

Predsednik Udruženja: Draga Udovica

Izdaje: Udruženje anesteziologa, reanimatora i
transfuzista Srbije
Beograd, Svetog Save 39

GENERALNI SPONZOR
GENERAL SPONSOR



**FRESENIUS
KABI**
caring for life



S A D R Ź A J

**AFEREZE U TERAPIJI IMUNSKI-
POSREDOVANIH POREMEĆAJA**

Bela Balint, Gordana Ostojić,
Olivera Marković, Ivana Urošević,
Marija Dinić, Milena Todorović..... 5

**ZNAČAJ TROMBOELASTOMETRIJE
U KARDIOHIRURGIJI**

Milan Lazarević, Dragan Milić,
Mlađan Golubović, Miodrag Đorđević,
Velimir Perić, Danka Sokolović,
Zorica Lazarević, Zoran Stanojković 19

**SLABA FUNKCIJA KALEMA POSLE
ALOGENE TRANSPLANTACIJE
MATIČNIH ČELIJA HEMATOPOEZE –
KAKO JE PREPOZNATI I LEČITI**

Milena Todorović Balint, Irena Đunić,
Darko Antić, Olivera Marković, Marija Dinić,
Bela Balint 31

**UTICAJ KRVNE GRUPE ABO I RHD NA
KINETIKU PRIHVATANJA ALOKALEMA I
ISHOD ALOGENE TRANSPLANTACIJE
MATIČNIH ČELIJA HEMATOPOEZE**

Glorija Blagojević, Milena Todorović Balint,
Zorana Andrić, Bela Balint, Bjanka Lako Šoškić 39

**DOBROVOLJNO DAVANJE KRV I
USLOVIMA COVID-19 PANDEMIJE**

Ana Antić..... 53

**PRIKUPLJANJE I OBRADA KRVNE
PLAZME OD COVID-19
REKONVALESCENATA**

Dragana Stojčević-Ivanov, Gordana Ostojić,
Dragana Gojkov, Danilo Vojvodić, Džihan
Abazović, Jelena Dmitrović-Popović,
Dušan Vučetić 61

**KARL LANDSTEINER – ZAČETNIK
NOVOG RAZDOBLJA U
TRANSFUZIONOJ
MEDICINI**

Zorica Radonjić, Bela Balint,
Snežana Jovanović Srzentić 71

**HEMOLIZNA TRANSFUZIJSKA
REAKCIJA KAO NEPOVOLJAN
EFEKAT HEMOTERAPIJE**

Branislava Belić..... 81

STEM CELLS AND FOOD ALLERGIES

Neona Seenarine and Mirjana Pavlovic..... 89

**AFEREZNO PRIKUPLJANJE MATIČNIH
ČELIJA HEMATOPOEZE
ZA POTREBE AUTOLOGNE I
ALOGENE TRANSPLANTACIJE
KOŠTANE SRŽI U UKC TUZLA**

Sunita Čustendil Delić, Svetlana Jović Lacković..... 99

**PREOPERATIVNA ANESTEZIOLOŠKA
PROCENA FUNKCIJE RESPIRATORNOG
SISTEMA**

Snježana Zeba, Katarina Mladenović,
Goran Rondović 105

**LEČENJE TRAUMOM INDUKOVANE
KOAGULOPATIJE UPOTREBOM ROTEM-A**

Goran Rondović, Rade Vuković, Sonja Stanković,
Filip Stojanović, Snježana Zeba, Katarina
Mladenović, Nataša Petković, Marina Vlajić,
Stevan Orović..... 115

**PERIOPERATIVNA TERAPIJA BOLA
KOD PACIJENATA ZAVISNIH OD
OPIOIDA**

Katarina Mladenović, Goran Rondović,
Snježana Zeba..... 125

**SINDROM GORNJE ŠUPLJE VENE -
JATROGENA KOMPLIKACIJA I
PRINCIPI ZBRINJAVANJA**

Goran Rondović, Rade Vuković, Stevan
Orović, Nataša Petković, Sonja Stanković,
Filip Stojanović, Snježana Zeba,
Katarina Mladenović 137



AFEREZE U TERAPIJI IMUNSKI-POSREDOVANIH POREMEĆAJA

Bela Balint^{1,2}, **Gordana Ostojić³**, Olivera Marković^{4,5},
Ivana Urošević⁶, Marija Dinić⁷, Milena Todorović^{5,8}

¹ Odeljenje medicinskih nauka, Srpska akademija nauka i umetnosti;

² Institut za kardiovaskularne bolesti Dedinje, Beograd;

³ Institut za transfuziologiju i hemobiologiju, Vojnomedicinska akademija, Beograd;

⁴ Odeljenje Hematologije sa onkohematologijom, Klinika za internu medicinu, Kliničko-bolnički centar "Bežanijska kosa", Beograd, Srbija;

⁵ Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Srbija;

⁶ Klinika za hematologiju, Klinički centar Vojvodine, Novi Sad;

⁷ Institut za transfuziju krvi Srbije, Beograd;

⁸ Klinika za hematologiju, Univerzitetsko-klinički centar Srbije, Beograd.

Sažetak

Afereza obuhvata eksfuziju cele krvi, njeno vantelesno razdvajanje na komponente, prikupljanje neke od njih ili otklanjanje/depleciju patološki izmenjenog krvnog sastojka i/ili dela krvi u kome se nalazi patogeni supstrat/agens, odnosno ekscresne količine nekog krvnog sastojka – uz vraćanje u cirkulaciju preostalog ili "rekonstituisanog" dela krvi.

Kod selektivnih afereznih procedura bolesniku se reinfunduju "prečišćavana" sopstvena (autologna) plazma ili krvne ćelije, posle njihove ex vivo modifikacije (deplecija i/ili modulacija funkcija). Tako, selektivnom terapijskom izmene plazme (TIP), odnosno adsorpcijskom citaferezom postiže se selektivna redukcija patogena u krvi/organizmu. U praktičnom radu, moguće je redukovati plazmatsku koncentraciju lipoproteina male gustine (Low Density Lipoprotein – LDL) primenom LDL-afereze ili antitela pomoću ekstrakorporalne imunomodulacije. Fotofereza je citaferezni postupak izdvajanja mononukleusnih ćelija (MNC), uz njeno ex vivo zračenje (inaktivacija) ultravioletnim zracima A (UVA), uz upotrebu psoralena (PUVA), kao fotosenzitišuće supstance. Adsorpcijska granulocitafereza služi za otklanjanje granulocita koji mogu rezultovati oštećenjima u "target" tkivima (oslobođanje inflamacijskih citokina i drugih materija). Mehanizmu delovanja, treba prilagoditi i definiciju afereza – ona predstavlja izvođenje postupaka vezanih za eksfuziju bolesnikove krvi, ex vivo modulaciju njenog sastava i/ili nekih funkcija i (re)infuziju ex vivo manipulisanе krvi.

Potencijalni sporedni efekti, odnosno neželjeni događaji afereza mogu biti razvrstane u blage, srednje/umerene i teške. Zato, njihovo izvođenje nije moguće bez poznavanja hemobiologije, imunologije, hemoreologije, ali i osposobljenosti osoblja za rad sa vantelesnim krvotokom, uz poznavanje osnova kardiopulmonalne reanimacije.

Ključne reči: Afereza, imunski-posredovani poremećaji, izmene plazme, komplikacije

Uvod

Terapijska afereza je ekstrakorporalna procedura kojom se (primenom separatora krvnih ćelija) otklanja onaj deo bolesnikove

krvi–plazma, odnosno neki njen sastojak ili krvne ćelije – u kome se nalazi "patogeniagens" ili koji je patološki izmenjen (kvalita

tivno i/ili kvantitativno). Na osnovu toga, šta je otklonjeno, terapijske afereze je moguće razvrstati na terapijsku izmenu plazme (TIP) i citafereze. Postoji podela na konvencionalne i selektivne/adsorpcijske afereze – izdvajanje komponente plazme ili samo pojedinih krvnih ćelija (limfocita, granulocita), odnosno *ex vivo* modulacija njihove aktivnosti (1–3).

TIP predstavlja skup afereznih postupaka vezanih za privremenu eksfuziju dela bolesnikove krvi, otklanjanje određenog volumena plazme – u kome se nalazi specifični "patogeni supstrat" – uz reinfuziju preostalog (modifikovanog) dela krvi i neke onkotski aktivne i biološki podnošljive nadoknadne tečnosti. Cilj TIP je redukcija prisustva "patogenog agensa" u cirkulaciji/organizmu do nivoa koji više neće nepovoljno uticati na tok bolesti i omogućiti regeneraciju (3–6). Posebnu grupu TIP čine afereze, kombinovane sa vantelesnom (imuno)adsorpcijom da bi se postigla selektivna redukcija koncentracije nekog plazmatskog konstituenta: (auto)antitela, imunskih kompleksa, C-reaktivnog proteina (CRP) ili lipoproteina male gustine (Low Density Lipoprotein – LDL) (2–10).

Terapijskim citaferezama se otklanjaju suviše količine ili patološki izmenjene (ekscesne/abnormalne) krvne ćelije. Njihov cilj je redukcija broja ćelija u cirkulaciji/organizmu i ublažavanje simptoma prouzrokovanih "citemijom" (ćelijski hiperviskozni sindrom) ili postizanje hemomodulacijskog efekta (fotofereza, adsorpcijska granulocitafereza, adoptivna imunoterapija i primena donor-specifičnih limfocita (Donor Lymphocyte Infusion–DLI) (4–6).

O izdvajanju plazme iz krvi kod eksperimentalnih životinja i reinfuziji ćelija saopštvano je 1914. godine (11). Prva terapijska "plazmafereza" izvedena je 1952. godine (12), a godine 1960. opisan je povoljan učinak TIP u lečenju makroglobulinemije (13). Nekoliko godina kasnije izveštavano je o citafereznom lečenju bolesnika sa leukemijom (14, 15).

Uvođenje separatora krvnih ćelija, inicijalno namenjenih prikupljanju krvnih ćelija ili plazme datira iz sedamdesetih godina prošlog veka (1–3, 16). Iste decenije, izvedene su i prve TIP upotrebom separatora krvnih ćelija u lečenju bolesnika sa Goodpasture-ovim sindromom (17) i mijastenijom gravis (18).

Aferezne procedure izvode se u tretmanu brojnih hematoloških, imunoneuroloških, reumatoloških i drugih autoimunskih poremećaja u kombinaciji sa imunosupresivnim i ostalim medikamentima. Primena TIP je od medicinske koristi i u lečenju multiplog mijeloma, krioglobulinemije, trovanja, familjarne hiperholesterolemije, posttransfuzijske purpure i fetomaterinske aloimunizacije (4–6, 19–24). Kod različitih "citemija", odnosno nekih autoimunskih poremećaja primenjuju se citoreduktivne citafereze (5, 25–27), odnosno adsorpcijske citafereze (28–30). Tokom poslednjih decenija u brojnim centrima – tako i u našoj zemlji – izvode procedure afereznog prikupljanja MNC u cilju postizanja imunomodulatornog efekta posle njihove terapijske primene – transplantacija matičnih ćelija hematopoeze (MČH), adoptivna imunoterapija ili fotofereza (2–6).

Cilj ovog rada je analiza terapijske akcije delovanja, efekata i potencijalnih komplikacija afereznog tretmana kod imunski-posredovanih poremećaja. Biće ukratko prikazane novije vrste terapijskih afereza (selektivna TIP), uz kratak osvrt na sopstvene rezultate postignute kombinacijom TIP i ekstrakorporalne imuno-adsorpcije (ECIA) u sklopu prekonkondicijskog tretmana primalaca ABO-inkompatibilnih bubrega i efekti CRP-afereze.

Mehanizmi delovanja i izvođenje TIP

Mehanizmi povoljnog terapijskog efekta TIP još uvek nisu sasvim poznati, ipak se smatra da oni mogu biti postignuti menjanjem koncentracije i odnosa antigena i antitela, imunih kompleksa ili modifikacijom aktivnosti medi

jatora/modulatora imunoinflamacijskog odgovora, deblokiranjem mononukleusnofagocitnog sistema i poboljšanjem reoloških svojstava krvi – a ponekad placebo efektom. S druge strane, infuzijom normalne humane plazme moguće je postići nadoknadu onog konstituenta plazme koji je deficitaran u bolesnikovoj krvi (2–6, 19–24).

Procedure TIP se izvode primenom sistema za manuelnu plazmaferezu ili separatorima krvnih ćelija – i to, najčešće tri puta nedeljno, u urgentnim stanjima svakodnevno, a prilikom održavajućih izmena jednom do dva puta mesečno. Volumen otklonjene plazme jednom procedurom TIP treba da iznosi po važećim standardima oko 40–60 mL/kgtm bolesnika (to iznosi oko 2–4 L), a celom terapijskom kursum 3–5 volumena bolesnikove cirkulišuće plazme. To je od posebnog značaja, jer povoljni efekat TIP, između ostalog, u velikoj meri zavisi od intenziteta i učestalosti afereznog tretmana, odnosno volumena otklonjene plazme. U urgentnim stanjima i kod posebnih indikacija opravdano je izvoditi TIP svakodnevno, ponekad dva puta dnevno do poboljšanja kliničke slike, a po potrebi i uz otklanjanje većeg volumena plazme od standardima predviđene količine po kilogramu telesne mase bolesnika (1–5).

Jednom procedurom TIP kod odraslih osoba – pored "ciljnog patogena" – otklanja se približno 150 g proteina iz cirkulacije (oko 110 g albumina i oko 40 g globulina), uz još neke procentualno manje zastupljene biološki aktivne proteine, kao što su hormoni, medijatori i modulatori imunskog odgovora, citokini i drugi (5, 19–24). Zbog toga, nadoknadna tečnost trebalo bi da sadrži istu količinu albumina (ukupno ≤ 60 –80 g), u zavisnosti od funkcionalne očuvanosti jetre (sinteza) i bubrega (potencijalni gubitak), kao i drugih parametara koji utiču na njegov metabolizam. Međutim, u rastvoru albumina ne postoje imunoglobulini, niti činioci koagulacije, odnosno antitrombin III (AT-III) i nisu prisutni medija

tori/modulatori imunskog odgovora. Primnom čak i intenzivnih TIP, ukoliko je sinteza u jetri očuvana, koncentracija činilaca koagulacije će se u dovoljnoj meri oporaviti do sledeće procedure i rizik od krvarenja praktično ne postoji. Manifestno krvarenje se uočava retko, obično kada postoji neki pridodati poremećaj hemostaze (trombocitopenija) (1–6).

U praktičnom radu, nadoknadne tečnosti tokom izvođenja TIP treba da zadovolje sledeće zahteve: a) prisustvo najvažnijih plazmatskih proteina; b) onkotsku efikasnost; c) netoksičnost i d) biološku podnošljivost. Osnovne karakteristike kristaloidnih rastvora za nadoknadu otklonjene plazme jeste da su jeftini i odsustvo rizika od transmisije virusa – ali oni se kratko zadržavaju u intravaskulnom prostoru i ne sadrže činioce koagulacije, imunoglobuline, niti druge proteine. Rastvori albumina karakterišu izoonkotski pritisak i odsustvo "inflamacijskih medijatora". Međutim, oni su relativno skupi i u njima nisu prisutni činioci koagulacije, imunoglobulini i neki drugi plazmatski konstituenti. Sveža plazma isto može biti korišćena kao nadoknadna tečnost pri izvođenju TIP. Ona sadrži sve konstituente humane plazme, ali njena primena je udružena sa rizikom transmisije virusa i češćom pojavom sporednih efekata, kao što su preopterećenje citratom, alergijske reakcije ili imunizacija (senzitivizacija) primaoca (3, 5). Nadoknada otklonjene plazme se najčešće postiže kombinacijom rastvora humanog albumina i fiziološkog rastvora NaCl, a rede upotrebom sveže plazme ili pasterizovanog rastvora proteina plazme.

Najzad, nedavno je uveden novi parametar procene ili indikator efikasnosti izmene plazme (Plasma Removal Efficacy – PRE) separatora krvnih ćelija (5, 31).

Ukupni volumen krvi (Total Blood Volume – TBV) moguće je definisati softverom aparature za aferezu. Ukupni volumen plazme (Total Plasma Volume – TPV) se izračunava for

mulom: $TPV = TBV \times (1 - Hct)$. Vrednost PRE izražava kao specifičan indeks (u procentima) zapremine otklonjene plazme u odnosu na ukupni volumen procesirane plazme, a izračunava se formulom: $PRE [\%] = (TPV_{otklonjeni} : TPV_{procesirani}) \times 100$ (31).

Indikacije za lečenje primenom TIP

Tokom sredine prošlog veka evidentirano je više od sto poremećaja i bolesti u čijem je

lečenju primenjivana TIP. Postignuti terapijski efekti nisu bili jednaki i bilo bi pogrešno ako bi se tvrdilo da je kod svih oboljenja postojalo puno opravdanje za primenu TIP. Danas važeće indikacije za TIP u lečenju bolesnika sa neurološkim i hematološkim imunski-uslovljenim i drugim poremećajima i bolestima prikazane su u tabeli 1 (1–5,19–24,32–50).

Tabela 1.

TIP u lečenju imunski-posredovanih i drugih poremećaja

POREMEĆAJI/OBOLJENJA	PARAMETRI PROCENE
potvrđene indikacije	
Trombotska trombocitopenijska purpura (TTP)	nedeterminisan /indirektni
Hemolizno-uremijski sindrom (HUS)	nedeterminisan /indirektni
Paraproteinemija (hiperviskozni sindrom)	imunoglobulini i viskozitet plazme
Bolest hladnih aglutinina	hladni aglutinini
Mijastenija gravis (krizni period bolesti)	anti-acetilholin receptorska antitela
Akutni Guillain-Barre-ov sindrom	nedeterminisan /indirektni
Hronične inflamacijske neuropatije	nedeterminisan
Goodpasture-ov sindrom	antitela protiv bazalne membrane
Krioglobulinemija	krioglobulini
ABO inkompatibilija (transplantacija MČH)	anti-eritrocitna aloantitela
ABO inkompatibilija (transplantacija bubrega)	anti-eritrocitna aloantitela
imunski-posredovane uslovne indikacije	
Sistemijski eritemski lupus (SLE)	anti-nukleusna antitela (ANA)
Hipersenzitivni i krioglobulinemijski vaskulitis	imunski kompleksi
Poliarteritis nodoza (PAN)	imunski kompleksi
Churg-Strauss-ov sindrom (CSS)	imunski kompleksi
Wegener-ova granulomatoza	imunski kompleksi
Progresivni glomerulonefritis	imunski kompleksi
Hemofilija sa inhibitorom	antitelo anti-FVIII:C
Fetomaterinska inkompatibilija	anti-eritrocitna aloantitela
Antifosfolipidni sindrom	antifosfolipidnih antitela
Pemfigus vulgaris	antitela protiv bazalne membrane glomerula

Izvođenje TIP modifikuje tok sistemskih autoimunskih bolesti. Procedurama TIP postiže se redukcija koncentracije "patogenog supstrata": krioglobulina, lupus antikoagulansa, specifičnih autoantitela, imunih kompleksa, odnosno njihovih komponenti (antigeni i an-

titela), različitih imunoinflamacijskih medijatora i/ili modulatora – a time neposredno se utiče na ishod patološkog imunskog odgovora. Za terapiju spomenutih poremećaja, izvođenje jedino TIP ne bi bilo dovoljno efikasno, potrebna je primena imunosupresiv-

nih i ostalih medikamenata. Upotrebom TIP se otklanjaju ili redukuju "imunski-patogeni-supstrati" iz cirkulacije, a imunosupresivnim sredstvima postiže se inhibicija njihove de novo sinteze, uz modulaciju imunskog odgovora. Sve to govori u prilog tome da proceni povoljnih efekata TIP treba prilaziti sa puno opreza, samim tim, što se određena poboljšanja mogu postići medikamentima, a ponekad i placebo efektom (2–6).

Literaturni podaci govore u prilog neosporno pozitivnih efekata TIP u tretmanu teškog oblika TTP. Njega karakterišu prisustvo

hemoragijskog sindroma usled trombocitopenije i drugih hemostaznih defekata (hemoragijski cistitis, hematomi, petehije), neurološki defekti (sopor i slabost mišića) i bubrežna disfunkcija (oligurija, proteinurija, hematurija) i drugi opšti simptomi. U tretmanu TTP/HUS primenom TIP, potrebno je koristiti plazmu ili plazmu siromašnu u krioprecipitatu (kriosupernatant) kao nadoknadnu tečnost. Terapijski učinak se manifestuje rezultatima koji su prikazani u Tabeli 2 (23, 43–46).

Tabela 2.

Učinak i efekti afereznog tretmana kod TTP

- porast broja trombocita
- nestanak hemoragijskog sindroma
- oporavak neuroloških disfunkcija
- poboljšanje funkcije bubrega
- kompletna klinička remisija
- dugoročne koristi

nadoknadna tečnost = kriosupernatant ili sveža zamrznuta plazma (ZSP)

Naši rezultati (43–46) potvrdili su da prime-na dovoljno intenzivnih i učestalih TIP, u kombinaciji sa drugom imunomodulacijskom terapijom i palijativnim medikamentima, je terapija izbora, neretko i spašavajući život bolesnika. Kod mlade bolesnice sa teškim oblikom TTP, lečene kod nas procedure TIP su izvedene svakodnevno (najpre dva puta, a potom jednom), kasnije svaki drugi dan, sve dok broj trombocita nije porastao na oko $60 \times 10^9/L$, uz delimični oporavak vrednosti i drugih laboratorijskih parametara. Volumen otklonjene plazme jednom TIP iznosio je 2 100 – 4 000 mL, a ukupan broj izvedenih TIP procedura bio je 35 (otklonjeno je 101 L plazme). U cilju nadoknade otklonjene plazme, infundovano je 70 L kriosupernatanta, uz manji volumen fiziološkog rastvora NaCl u kombinaciji sa humanim albuminom. Došlo je do oporavka hematoloških, neuroloških, bubrežnih i osta-

lih poremećaja (5, 46). Potrebno je istaći da je bolesnica subjektivno dobro podnela intenzivni TIP tretman, bez pojave sporednih efekata i neželjenih događaja afereza.

Povoljan terapijski efekat TIP kod bolesti hladnih aglutinina, autoimunske hemolizne anemije, granulocitopenije ili trombocitopenije je rezultat redukcije plazmatskog sadržaja specifičnih autoantitela – što omogućava poboljšanje vrednosti hemograma i biohemizma krvi, uz oporavak i opšteg stanja bolesnika (3–5, 43–45).

U terapiji serumskog hiperviskoznog sindroma zbog prisustva mijelomskih paraproteina, intenzivnim TIP postiže se hemoreološki oporavak. Pokazatelji pozitivnog učinka TIP su normalizacija proteinograma i raspodele proteina u intra i ekstravaskulnom prostoru, redukcija hiperviskoziteta i sedimentacije eritrocita, oporavak bubrežne

funkcije i hemostaze, uz povlačenje neroloških poremećaja (43–45).

Pravovremena primena intenzivnih procedura TIP je od neosporne koristi u lečenju bolesnika sa imunoneurološkim poremećajima. Od njih treba napomenuti mijasteniju gravis, Guillain-Barre-ov sindrom ili akutni poliradikuloneuritis, hroničnu inflamacijsku demijelizacijsku neuropatiju, polimiozitis i dermatomozitis, Eaton-Lam-bert-ov sindrom (5, 33–35, 40–43).

Kod naših bolesnika opšti kriterijumi za primenu TIP bili su: a) dobro opšte stanje bolesnika; b) odsustvo akutne ili hronične infekcije; c) bar delimično očuvana sposobnost kretanja i d) prisustvo znakova progresije bolesti i odsustvo znakova spontane remisije poslednjih 6 meseci (5, 33, 34, 43). Postignuti rezultati su pokazali da je najbolji terapijski učinak TIP postignut kod akutnog poliradikuloneuritisa i mijastenije gravis (afereze: svaki drugi dan; održavajuće TIP: jednom mesečno) sa cirkulišućim antitelima protiv acetilholinskih receptora (postoje u 85 – 90% bolesnika). Povoljan efekat je manifestovao povratkom oslabljenih refleksa, normalizovanjem motornih funkcija, iščezavanjem disfunkcije govora i gutanja – uz pozitivan nalaz određenih laboratorijskih testova (33, 34, 43).

Što se tiče heterogene grupe sistemskih imunski-posredovanih poremećaja, postoje podaci o efikasnosti TIP kod bolesnika sa Goodpasture-ovim sindromom sa bubrežnom i respiratornom insuficijencijom, rekurentnim trombozama usled prisustva antfosfolipidnih (anti-kardiolipinskih, anti-beta2-glikoproteinskih i ANA) antitela, kriglobulinemijom, sa SLE, poliarteritisom nodozom (PAN), Churg-Strauss-ovim sindromom CSS), Wegener-ovom granulomatozom, vaskulitisom označenom kao mikroskopski poliangiitis (MPA) i drugim tipovima sistemskog vaskulitisa (5,36–39).

Urgentni tretman bolesnika sa Goodpasture-ovim sindromom pomoću TIP rezultuje sniženjem koncentracije imunih kompleksa, normalizovanjem većine laboratorijskih parametara, uspostavljanjem bubrežne i respiratorne funkcije, uz opšti oporavak bolesnika, iako pomoću TIP nije moguće uticati na etiopatogenezu osnovnog poremećaja (4, 5).

Efikasnost afereznog lečenja u bolesnika sa kriglobulinemijom, zavisi ne samo od imunohemijskog tipa poremećaja (tipovi I, II i III), nego i od kliničke manifestacije (53). Prisustvo kriglobulina može biti udruženo sa virusnom infekcijom (hepatitis B ili C), nekim autoimunskim poremećajem (SLE, reumatoidni artritis, Sjögren-ov sindrom, sklerodermija, bolest hladnih aglutinina, polimiozitis) ili limfoproliferativnim oboljenjima (makroglobulinemija, limfomi, hronične leukemije). U ovoj grupi bolesnika, aferezni tretman doprinosi povlačenju kožnih promena, oporavku bubrežne i respiratorne funkcije, kao i neuroloških poremećaja. Uz to, postoji sniženje plazmatskog sadržaja kriglobulina ili imunskih kompleksa (uz sledstvenu bolju tkivnu perfuziju) i opšte poboljšanje bolesnika (43–45). Učinak TIP je funkcija pravovremene primene afereza, volumena otklonjene plazme i učestalosti TIP, ali i upotrebe medikamentizne terapije – kortikosteroida, imunosupresivnih lekova, po potrebi anti-virusnih lekova i alfa-interferona 2b (IFN α 2b) (4, 5).

Mišljenja u vezi sa efikasnošću terapijskih protokola koji podrazumevaju i primenu TIP kod bolesnika sa SLE, nisu sasvim ujednačena. Ipak, smatra se da u ovoj grupi bolesnika izvođenjem TIP – uz lečenje kortikosteroidima i imunosupresivnim lekovima – moguće je doprineti poboljšanju terapijskog učinka (4, 37, 43–45). Pri tome, indikacije za uvođenje TIP su: a) neophodnost urgentne redukcije plazmatskog sadržaja autoantitela (ANA i anti-ds-DNK) i imunskih kompleksa; b) kontraindikacija za upotrebu

citotoksičnih imunosupresivnih lekova i c) primena terapijskog protokola, označenog i kao "sinhronizacija" – kombinacija TIP sa sledstvenim pulsni dozama ciklofosfamida – u cilju postizanja dugotrajne remisije (5, 43–45).

Za bolje razumevanje terapijske akcije afe-reznog tretmana u bolesnika sa sistemskim vaskulitisom, potrebno je osnovno poznavanje etiopatogeneze ovih poremećaja. Ukratko, u bolesnika sa PAN, kao rezultat fokalnih inflamacijskih procesa, postoje palpabilni čvorići duž sitnih i srednje velikih arterija, tj. infiltrati sastavljeni uglavnom od makrofaga i CD4+ limfocita – što govori u prilog postojanja i ćelijski-posredovanih autoimunskih lezija. Slično PAN, CSS je takođe autoimunska poremećaj – karakterišu ga hipereozinofilija, sistemski nekrotizirajući vaskulitis i češća pojava u osoba sa alergijskim manifestacijama. Najzad, posebni oblici sistemskog vaskulitisa su Wegenerova granulomatoza i MPA. Od imuno-loških markera, za njih je karakteristično prisustvo tzv. anti-neutrofilskog citoplazmatskog autoantitela (ANCA)(4, 43, 47–50).

Imunopatogeneza navedenih poremećaja je takođe nepotpuno razjašnjena – smatra se da su lezije izazvane imunskim kompleksima. Stvoreni imunski kompleksi će rezultovati aktivacijom sistema komplementa, sa sledstvenim tkivnim oštećenjima. Što se tiče ANCA, izgleda da ona takođe doprinose nastanku lezija endotela krvnih sudova, posebno u Wegener-ovoj granulomatozi i MPA. Naime, ova antitela dovode do migracije i vezivanja neutrofila za endotel, njihove aktivacije i sinteze faktora nekroze tumora (TNF) – te lize endotelskih ćelija i pojave vaskulitisa (5, 47–50).

U ovoj grupi bolesnika imunomodulacijski efekat TIP (uz medikamentoznu terapiju) postignut je usled otklanjanja imunskih kompleksa, autoantitela (ANCA), menjanjem ćelijski-posredovanog imuniteta (aktivn-

osti limfocita T), kao i citokinskog profila. Najzad, redukcijom plazmatskog sadržaja ANCA pomoću TIP moguće je doprineti bržem (ali nažalost ne i dugotrajnom) oporavku bolesnika sa rapidnim progresivnim glomerulonefritisom u odnosu na kontrolnu grupu bolesnika lečenih standardno kortikosteroidima i imunosupresivnim lekovima (47–50).

O efikasnom lečenju bolesnika sa reumatoidnim artritisom pomoću TIP ili limfoplazmaferezom (otklanjanje dela bolesnikove plazme i limfocita) ima saopštenja (5, 51–53). Međutim, uočeno je da u osoba sa reumatoidnim artritisom ili karcinomom, kao i u bolesnika sa Crohn-ovom bolešću ili ulceroznim kolitisom dolazi do granulocitoze (uz limfocitopeniju) (28–30, 54). Njihovo nagomilavanje u tkivima dovodi do inflamacijskih oštećenja lučenjem proteolit-ičkih enzima i slobodnih radikala kiseonika, odnosno posredstvom oslobođenih proin-flamacijskih citokina i adhezivnih molekula. Zbog toga, kod ovih bolesnika je opravdano lečenje terapijskom adsorpcijskom granulocitaferozom, čiji je cilj postizanje imunomodulacijskog efekta, smanjenjem ukupnog broja granulocita u organizmu i sledstvenom redukcijom oslobađanja i aktivnosti spomenutih medijatora inflamacije (5, 29, 54).

Ekstenzivnim procedurama TIP, moguće je redukovati koncentraciju urođenih aloantitela anti-A i/ili anti-B (klase IgM i IgG) u cirkulaciji bolesnika kojima se planira transplantacija ABO-inkompatibilnih MČ i time sprečiti intravaskulnu hemolizu i stvoriti bolje uslove za prihvatanje inkompatibilnog alotransplantata (5–8, 69–71).

Međutim, pri proceni terapijskog učinka TIP kod imunski-posredovanih poremećaja još uvek su prisutne određene teškoće zbog: a) nepotpunog poznavanja etiopatogeneze ovih poremećaja; b) nepostojanja odgovarajućih kontrolnih grupa; c) istovremene primene imunosupresivnih lekova i d) nedostatka

jednostavnih laboratorijskih testova za kvantifikaciju "patogenog supstrata" u bolesnikovoj krvi i u otklonjenoj plazmi (34, 43–45).

Inovativna terapija citaferezama

Cilj terapijskih citafereza je redukcija broja ćelije (ekscresnih količina) iz cirkulacije u lečenju bolesnika sa akumulacijom pojedinih ili svih vrsta krvnih ćelija, a radi prevencije/ublažavanja simptoma celularnog hiperviskoznog sindroma (eritrocitafereza), hiperleukocitozne-leukostaze (leukaferaza) ili nekih poremećaja hemostaze (trombocitafereza). Kada su u pitanju maligne hematopatije sa prekomernim brojem ćelija u krvi – njihovo otklanjanje citaferezom bilo bi adekvatno parcijalnoj eksciziji tumorske mase. U ovu grupu afereza spada i zamena patološki izmenjenih krvnih ćelija (izmena eritrocita). Terapijskim citaferezama je takođe moguće *ex vivo* menjati funkciju imunokompetentnih ćelija (fotofereza) (1–5, 55–57).

Prikupljanje mononukleusnih ćelija (MNC) citaferezom danas ima svoju posebnu primenu u transplantacijskoj medicini i imunski-posredovanoj terapiji. Reč je o prikupljanju MNC – sa prisutnim imunokompetentnim i/ili matičnim ćelijama (MC) – iz periferne krvi radi: a) konvencionalne transplantacije MC ili primene u regenerativnoj medicini; b) postizanja anti-tumorskog efekta, kao što je reakcija "kalem protiv leukemije" (Graft versus Leukemia – GvL) posle infuzije donor-specifičnih limfocita (Donor Lymphocyte Infusion – DLI); c) *ex vivo* aktivacije ćelija interleukinom 2 (IL-2) i produkcije "limfokinima aktivisanih ćelija-ubica" (Lymphokine-Activated Killers – LAK) ili tumor infiltrujućih limfocita (Tumor Infiltrating Lymphocytes – TIL) u sklopu adoptivne imunoterapije (5, 54–68). Počev od uvođenja rekombinantnih faktora rasta hematopoeze (mobilizacija), postoje

brojna saopštenja o afereznom prikupljanju MC iz periferne krvi (4, 58–65). Afereze treba izvoditi upotrebom separatora krvnih ćelija najnovije generacije u cilju dobijanja kvalitetnog produkta – optimizirani prinos CD34+ i CD90+ ćelija, uz svođenje na minimum prisustvo ostalih krvnih ćelija (5, 62). Postupak afereze je u potpunosti automatizovan – podrazumeva korišćenje standardizovanih programa za aferezu MC sa kontinuiranim monitoringom sloja ciljnih ćelija ("real-time automatic interface monitored and collect-line controlled system").

Najzad, tokom poslednjih decenija, napredak je postignut i na polju selektivne citafereze. To je rezultovalo uvođenjem niza novih afereznih procedura, kao što su fotofereza za lečenje bolesnika sa nekim vrstama limfoma i drugim poremećajima usled disfunkcije limfocita T (GvHD), odnosno leukaferaza sa adsorpcijom granulocita za tretman nekih imunski-posredovanih poremećaja (ulcerozni kolitis, Crohn-ova bolest, vaskulitisi, gangrenozna piodermija) (4, 28–30, 54–57).

Terapijska primena selektivnih TIP

Glavni nedostaci konvencionalne TIP su deplecija i/ili disbalans plazmatskih proteina, neselektivnost u otklanjanju "patogenog supstrata", potencijalna imunomodulacija i rizik od transmisije virusa (7–10, 69–71). Zbog toga, uvedena je nova aferezna procedura za lečenje specifičnih poremećaja i bolesti koja je manje štetna, uz veću efikasnost – selektivna TIP.

Selektivna TIP se zasniva na pretpostavci da se veća klinička korist postiže usled ciljane redukcije "patogenog agensa" u cirkulaciji. Ukoliko se medikamentozno inhibira ili svodi na najmanji stepen de novo sinteza i oslobađanje specifičnog "patogena" – taj agens može nestati ili barem biti bitno redukovan u bolesnikovoj krvi (7–10, 69–

71). Selektivna TIP nije moguća, niti je opravdana kada je osnovni cilj nadoknada nekog deficitarnog plazmatskog konstituenta (TTP) (5).

Svakako, izvođenje selektivne afereze zahteva: a) precizno poznavanje prirode "patogenog agensa" koji treba da bude otklonjen iz cirkulacije; b) iznalaženje specifičnih liganda za efikasnu ex vivo adsorpciju i c) korišćenje biokompatibilnih supstanci kao matriksa, koji neće dovesti do pojave sporednih efekata (npr. aktivacije sistema komplementa) (5–10, 69–71). Bolesnicima lečenim selektivnom TIP se zajedno sa krvnim ćelijama reinfunduje i "prečišćena" plazma sa svim njenim autolognim konstituentima, te tokom afereze nije potrebno koristiti kristaloidne i/ili koloidne nadoknadne tečnosti, niti infundovati alogenu plazmu ili krioprecipitat (4, 5).

Prilikom selektivne afereze, adsorpcija "patogenog supstrata" iz bolesnikove plazme može biti postignuta upotrebom imunski-afinitetnih (primena specifičnih antitela) ili hemijsko-afinitetnih (korišćenje bioloških ili sintetskih adsorbenasa) kolona. U upotrebi su kolone sa antitelima usmerenim protiv humanih imunoglobulina, tj. antihumanim antitelima, odnosno različitim adsorbensima, kao što su stafilokokni protein A (za vezivanje autoantitela IgG1, IgG2 i IgG4), protein G (za selektivno vezivanje IgG3), fenilalanin (za redukciju titra anti-acetilholin receptorskih antitela) i drugi (4–10).

O primeni selektivne TIP u pripremi bubrežnih bolesnika (kondicioniranje) sa terminalnom renalnom insuficijencijom, kojima se planira transplantacija ABO-inkompatibilnog bubrega postoji veliki broj saopštenja (5–8, 71). Ove procedure se baziraju na upotrebi komercijalnih kolona ili drugih sistema za ECIA antitela ABO (u kombinaciji sa imunosupresivnim medikamentima) (4, 5).

Postoje i domaća saopštenja o depleciji

antitela ABO prime nom originalnog sistema za ECIA (7, 8). Reč je o sistemu za redukciju koncentracije aloantitela specifičnosti ABO korišćenjem sopstvenog ECIA sistema, uz upotrebu separatora krvnih ćelija (sa setom za TIP). Uz efikasnu ex vivo adsorpciju aloantitela, ostvareni su povoljni klinički efekti – stvoreni su uslovi za prihvatanje ABO-inkomp-atibilnog bubrega. Omogućena je i značajna ušteda materijalnih sredstava, jer cena transplantacije ABO-inkompatibilnog bubrega pri korišćenju komercijalnih kolona iznosi i do 40 000 dolara, dok je cena prekondicijskog afereznog tretmana primenom sopstvenog post-upka ECIA svega oko 2 000 eura (5, 7).

Poznato je da kod bolesnika sa akutnim infarktom miokarda (AMI) i ST-elevacijom (STEMI), plazmatski nivo C-reaktivnog proteina (CRP) povezan je sa površinom zone infarkta, zahvaćenošću miokarda ("transmuradni opseg") i smanjenom ejectionom frakcijom leve komore (Left Ventricular Ejection Fraction – LVEF), uz veći stepen mortaliteta unutar mesec dana (9).

Posle STEMI izvedene su i kod nas CRP-afereze upotrebom Spectra-Optia i Pentasorb CRP-adsorbera (9, 10). Po našem saznanju, to je bio drugi i treći rad u svetu objavljeni o efikasnosti CRP-afereze. Utvrđeno je da pravovremeno izvedena CRP-afereza je obećavajući inovativni terapijski pristup za lečenje STEMI koji bi mogao da obezbedi redukciju infarktne zone – sa inferiornom pojavom srčane insuficijencije posle AMI (superiorna LVEF). Međutim, precizna i potpuna procena efikasnosti i bezbednosti ovog tretmana, zahteva dalje multicentrične randomizovane i veće kliničke studije (9).

Sporedni efekti i neželjeni događaji afereza

Afereze, a posebno terapijske – predominantno TIP – su agresivne procedure kojima

se direktno interveniše u cirkulaciju osoba i zato mogu biti praćene sporednim efektima. Da bi oni bili svedeni na minimum, primenjuju se posebni kriterijumi za donorske i terapijske afereze, izvodi se permanentno praćenje laboratorijskih parametara (hemogram, biohemizam krvi, skrining testovi koagulacije), uz klinički nadzor bolesnika (2–5).

Sporedni efekti, odnosno neželjeni događaji afereza mogu biti razvrstane u blage, srednje/umerene i teške. Blagi sporedni efekti se tolerišu dobro i bez medikamentozne terapije, umereni zahtevaju primenu lekova radi zbrinjavanja bolesnika, dok teški sporedni efekti i neželjeni događaji zahtevaju prekidanje aferezne procedure. Najteži oblik komplikacija je smrt bolesnika usled aferezom indukovano neželjenog događaja (5, 72–75).

Od sporednih efekata i neželjenih događaja, treba istaći komplikacije vaskularnog pristupa, zatim trovanje citratom, disbalanse u perifernoj cirkulaciji (hipo- i hipervolemijaska kriza), vazovagalne poremećaje, alergijske reakcije i respiratorni distres, sniženje koncentracije normalnih konstituenata plazme sa sledstvenim farmakodinamskim promenama (posebno onih lekova koji se vezuju za albumin), respiratornu insuficijenciju i zastoj srca (3–5, 72–75).

Komplikacije vezane za venepunkciju se javljaju kada je vena osobe slabije izražena i postoji meko potporno tkivo ispod nje – može doći do probijanja donjeg zida vene, što će izazvati bol i formiranje hematoma. Ukoliko se hematom ne organizuje, već poveća svoju zapreminu, može izazvati kompresiju nerva. Na mestu venepunkcije, može doći retko i do infekcije, ukoliko je polje za intervenciju nedovoljno pripremljeno (5, 75).

Od sporednih efekata, najčešće se javljaju oni uzrokovani viškom citrata i manifestuju se u vidu perioralne parestezije, trnjenja, nagona za povraćanje, tetanije, srčane arit

mije. Njihov razvoj favorizuju hiperventilacija, hipotermija, hipomagnezijemija i upotreba plazme kao nadoknadne tečnosti. Ovi efekti mogu biti sprečeni menjanjem odnosa cele krvi i citrata, sporijom reinfuzijom krvi, uz najcelishodniji izbor nadoknadne tečnosti (TIP). (73–75).

Teški sporedni efekti (mogu ugrožavati zdravlje ili život bolesnika) su veoma retki, ipak epizode izražene hipotenzije, bronhospazma, aritmije i asistolije mogu da budu kritične. Vrsta nadoknadne tečnosti može da utiče i na učestalost ove kategorije sporednih efekata. S tim u vezi, pokazano je da je aritmija ili asistolija bila prisutna u različitoj meri kada je korišćena plazma (reakcije/afereze = 3/6404) ili rastvor albumina u fiziološkom rastvoru NaCl (reakcije/afereze = 4/11365), kao nadoknadna tečnost (5, 75).

Naša prva iskustva, stečena izvođenjem afereza primenom separatora sa diskontinuiranim protokom krvi pokazala su da je incidenca sporednih efekata iznosila 10–15% u odnosu na primenjene aferezne procedure (5, 43–45).

Uvođenjem separatora krvnih ćelija nove generacije – sa kontinuiranim protokom i malim ekstrakorporalnim volumenom krvi, sa savremenim softverskim sistemom za kontrolu procedura, kao i optimizovanim odabirom bolesnika i indikacija – ti procenti su neuporedljivo redukovani. Tako, pokazano je da su neželjeni događaji afereza: a) blagi kod 2,4% procedura (venski pristup = 54%; uticaj vrste aparata = 7%; hipotenzija = 15% i trnjenje = 8%); b) umereni kod 3% (trnjenje = 58%; urtikarija = 15%; hipotenzija = 10%; mučnina/povraćanje = 3%) i c) teški kod 0,4% procedura (sinkopa/hipotenzija = 32%; urtikarija = 17%; groznica/temperature = 8%; aritmija/asistolija = 4,5%; mučnina/povraćanje = 4%) (75).

Ukoliko afereze izvodi osoblje dovoljno edukovano za izvođenje ekstrakorporalne cirkulacije i kardiopulmonalne reanimacije,

uz primenu savremene opreme za aferezni tretman i adekvatno kliničko i laboratorijsko praćenje bolesnika, sporedni efekti i neželjeni događaji mogu biti uspešno sprečeni urgentnim medikamentoznim tretmanom. Međutim, u veoma malom procentu postoje nažalost i afereze sa veoma teškim komplikacijama i letalnim ishodom.

Literatura:

1. Klein HG. Therapeutic hemapheresis. In: Petz LD, Swisher SN, Kleiman S, Spence RK, Strauss RG, editors. Clinical practice of transfusion medicine, 3rd ed. New York: Churchill Livingstone; 1996. p. 1011–22.
2. Cohn CS, Delaney M, Johnson ST, Katz LM. Technical Manual, 20th edition. Bethesda: AABB Press; 2020.
3. Klein HG, Anstey DJ. Mollison's Blood transfusion in clinical medicine. 12th ed. Oxford: Wiley and Blackwell; 2014.
4. Balint B, Bogdanović G, Dimitrijević G. Hemaferaze. In: Balint B, editor. Transfuziologija. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva; 2004. p. 455–77.
5. Balint B, Vucetic D, Ostojic G, Ljubenov M. Osnovi transfuziologije sa hemobiologijom. Beograd: Medicinski fakultet VMA – Medija centar Odbrana; 2015.
6. Winters JL, Dunbar NM. Apheresis Principles and Practice; Vol. 1: Therapeutic Apheresis, 4th edition. Bethesda: AABB Press; 2020.
7. Balint B, Pavlovic M, Jevtic M, Hrvacevic R, Ostojic G, Ignjatovic Lj, Mijuskovic Z, Blagojevic R, Trkuljic M. Simple "closed-circuit" group-specific immunoabsorption system for ABO-incompatible kidney transplants. *Transf Apher Sci* 2007;36: 22533.
8. Balint B, Pavlovic M, Todorovic M, Jevtic M, Ristanovic E, Ignjatovic Lj. The use of simplified ex vivo immunoabsorption and "multi-manner" apheresis in ABO/H-mismatched kidney transplant setting – phase II clinical study. *Transf Apher Sci* 2010; 43(2):141–8.
9. Boljevic D, Nikolic A, Rusovic C, Lakcevic J, Bojic M, Balint B. A promising innovative treatment for ST-elevation myocardial infarction: The use of C-reactive protein selective apheresis – Case report. *Blood Purif* 2020; 49(6): 753–7.
10. Milosevic M, Balint B, Boskovic S, Bojic M, Nikolic A, Otasevic P. Early selective C-reactive protein apheresis in patient with acute ST segment elevation myocardial infarction. *Blood Purif* 2021; 50(3): 399–401.
11. Abel JJ, Roowntree LG, Turner BB. Plasma removal with return of corpuscles (plasmapheresis). *J Pharmacol Exp Ther* 1914; 5: 628–41.
12. Adams WS, Bland WH, Bassetts H. A method of human plasmapheresis. *Proc Soc Exp Biol Med* 1952; 80: 371–7.
13. Schwab PJ, Fahey JL. Treatment of Waldenström's macroglobulinaemia by plasmapheresis. *NJ Engl Med* 1960; 263:574–9
14. Bierman HR, Marshall GJ, Kellz KH. Leukapheresis in man. III Haematologic observations in patients with leukemia and myeloid metaplasia. *Blood* 1963;21:164–9.
15. Freireich EJ, Judson G, Levin RH. Separation and collection of leukocytes. *Canc Res* 1965; 25: 1516–20.
16. Pool JG. Cryoprecipitated factor VIII concentrate. *Bibl Haematol (Basel)* 1970;34: 23
17. Lockwood CM, Rees AJ, Pearson TA, Evans DJ, Peters DK, Wilson CB. Immunosuppression and plasma exchange in the treatment of Goodpasture's syndrome. *Lancet* 1976; ii: 711–5.
18. Pinching AJ, Peters DK, Newson DJ. Remission of myasthenia gravis following plasma exchange. *Lancet* 1976; ii: 1373–6.
19. Fernández-Zarzoso M, Gómez-Seguí I, de la Rubia J. Therapeutic plasma exchange: Review of current indications. *Transfus Apher Sci* 2019;58(3): 247–53.
20. Clark WF, Huang SS. Introduction to therapeutic plasma exchange. *Transfus Apher Sci*

- 2019; 58(3): 228–9.
21. Saheb S, Gallo A. Urgent therapeutic plasma exchange. *Transfus Apher Sci* 2020; 59(6): 102991. doi: 10.1016/j.transci.2020.102991.
22. Pham HP, Staley EM, Schwartz J. Therapeutic plasma exchange - A brief review of indications, urgency, schedule, and technical aspects. *Transfus Apher Sci* 2019; 58(3): 237–46.
23. Picod A, Provôt F, Coppo P. Therapeutic plasma exchange in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Presse Med* 2019; 48(11 Pt 2): 319–27.
24. Sanchez AP, Balogun RA. Therapeutic plasma exchange in the critically ill patient: Technology and indications. *Adv Chronic Kidney Dis* 2021; 28(1): 59–73.
25. Coffe C, Pouthier F, Barisien C, Slimane M, Sheytanova A. Therapeutic leukapheresis and thrombapheresis in medical emergencies. *Transfus Apher Sci* 2020; 59(6): 102997. doi:10.1016/j.transci.2020.102997.
26. Radović M, Balint B, Milenković Lj, Tiška-Rudman Lj, Taseski J. Therapeutic leukapheresis. *Transf Sci* 1991; 12:193–6.
27. Duvall D. Therapeutic cytappheresis: too many platelets, too many white blood cells. *J Clin Apher.* 2011; 26(1): 47–52.
28. Sawada K. Cytapheresis (CAP) with leukocyte removal filter/bead column as one therapeutic option for inflammatory bowel disease. *Transfus Apher Sci* 2017; 56(5): 689–97.
29. Sáez-González E, Moret I, Alvarez-Sotomayor D, Díaz-Jaime FC, Cerrillo E, Iborra M, et al. Immunological mechanisms of adsorptive cytappheresis in inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci* 2017; 62(6): 1417–25.
30. Shibuya T, Nomura O, Nomura K, Okahara K, Haga K, Ishikawa D, et al. Effectiveness of cytappheresis for ulcerative colitis in special situations: Delayed onset of optimum efficacy in elderly patients. *Digestion* 2020; 101(1): 46–52.
31. Balint B, Todorovic M, Ostojic G, Vucetic D. Plasma removal/exchange efficacy: Spectra-Optia versus Cobe-Spectra – A comparative preclinical study. *J Clin Apher* 2013; 28: 126.
32. Balint B, Todorovic-Balint M, Petakov M, Ostojic G, Vucetic D. Effectively "cross-bridged" hemostatic and blood screening test defects due to glycogenosis type 1 associated extremely hyperlipidemia. *Transf Apher Sci* 2014; 50: 314–5.
33. Raphael J-C, Chevret S, Gajdos Ph. Plasma exchange in neurological diseases. *Transf Sci* 1996; 17: 267–82.
34. Radović M, Balint B, Jovičić A. The use of therapeutic plasma exchange for treatment of acute polyradiculoneuropathy. *Transfus Sci* 1995; 16: 167–71.
35. Balint B, Jovičić A, Apostolski S, Magdić B, Taseski J. Plasma exchange in myasthenia gravis and multiple sclerosis. *Vojnosanit Pregl* 2000;57 (5 Suppl):11–5.
36. Deshpande PV, Gilbert R, Alton H, Milford DV. Microscopic polyarteritis with renal and cerebral involvement. *Pediatr Nephrol* 2000; 15: 134–5.
37. Bambauer R, Schwarze U, Schiel R. Cyclosporin A and therapeutic plasma exchange in the treatment of severe systemic lupus erythematosus. *Artif Organs* 2000; 24: 852–6.
38. Balint B, Radović M, Stefanović Z, Mitrović D, Pavlović G. Izmene plazme u lečenju antifosfolipidnog sindroma. *Bilt Transfuziol* 1993; 21: 69–71.
39. Seror R, Pagnoux C, Guillemin L. Plasma exchange for rheumatoid arthritis. *Transfus Apher Sci* 2007; 36: 195–9.
40. Schröder A, Linker RA, Gold R. Plasmapheresis for neurological disorders. *Expert Rev Neurother* 2009; 9: 1331–9.
41. Lehmann HC, Hartung HP, Hetzel GR, Stüve O, Kieseier BC. Plasma exchange in neuroimmunological disorders: part 2. Treatment of neuromuscular disorders. *Arch Neurol* 2006; 63: 1066–71.

42. Verschuuren JJ, Wirtz PW, Titulaer MJ, Willems LN, van Gerven J. Available treatment options for the management of Lambert–Eaton myasthenic syndrome. *Expert Opin Pharmacother* 2006; 7: 1323–36.
43. Balint B, Radovic M, Malesevic M, Jovicic A, Stamatovic D, Ostojic G, et al. The rationale for therapeutic apheresis in the treatment of hematologic and immune-mediated neurologic disorders. *Blood Banking Transf Med* 2003; 1(2): 73–80.
44. Radović M, Balint B, Djurić D, Taseski J, Krstic C, Tiska–Rudman, Lj et al. Plasma exchange therapy in hematology. *Libri Oncol* 1990; 19: 147–150
45. Radovic M, Balint B, Tiska–Rudman Lj, Milenkovic Lj, Taseski J. Application of therapeutic Plasma Exchange in Hematology. *Transf Sci* 1994; 15: 481–5.
46. Ostojić G, Balint B, Stamatović D, Vučetić D, Gligić B, Trkuljić M et al. Intenzivne izmene plazme u lečenju bolesnice sa tromboznotrombocitopenijskom purpustom. *Bilt Transfuziol* 2003; 49: 61–64.
47. Mitrović D, Popović M, Anđelković Z, Stefanović D, Radojčić Č, Miljušković Z, Balint B.: Krioglobulinemijski vaskulitis. *Vojnosanit pregl* 2000; 57: 541–5.
48. Balint B, Jovićić A, Taseski J, Malešević M, Mitrović D. Primena afereznih procedura u lečenju bolesnika sa hemobiološkim poremećajima. *Vojnosanit Pregl* 1999; 56: 45–55.
49. Balint B, Taseski J, Popović M, Mitrović D. Aferezna terapija. In: Popović M, editor. *Terapija reumatičnih oboljenja*. Beograd: Vojnoizdavački zavod, 1999. p. 240–8.
50. Balint B, Taseski J, Popović M, Mitrović D. Aferezna terapija. In: Popović M, Stefanović D, Mitrović D (Eds). *Reumatične i srodne bolesti*. Beograd: Vojnoizdavački zavod, 2000. p. 240–7.
51. Wallace DJ, Medici MA, Nichols S, Klinenberg JR, Bick M, Gatti R, Goldfinger D. Plasmapheresis versus lymphoplasmaphoresis in rheumatoid arthritis: immunologic comparisons and literature review. *J Clin Apher* 1984; 2(2): 184–9.
52. Hidaka T, Hashiba Y, Kubo K, Kai Y, Maeda K. Leukocytapheresis in rheumatoid arthritis. *Transfus Apher Sci* 2017; 56(5): 698–702.
53. Seror R, Pagnoux C, Guillevin L. Plasma exchange for rheumatoid arthritis. *Transfus Apher Sci* 2007; 36(2): 195–9.
54. Yonekawa M, Kawamura A, Komai T, Agishi T, Adachi M. Extracorporeal granulocytapheresis for cancer and rheumatoid arthritis. *Transfus Sci* 1996; 17(3): 463–72.
55. Drexler B, Buser A, Infanti L, Stehle G, Halter J, Holbro A. Extracorporeal photopheresis in graft-versus-host disease. *Transfus Med Hemother* 2020; 47(3): 214–25
56. Slomovich S, Bell J, Clerkin KJ, Habal MV, Griffin JM, Raikhelkar JK, et al. Extracorporeal photopheresis and its role in heart transplant rejection: prophylaxis and treatment. *Clin Transplant* 2021; 35(7): e14333. doi: 10.1111/ctr.14333.
57. Du AX, Osman M, Gniadecki R. Use of Extracorporeal Photopheresis in Scleroderma: A Review. *Dermatology* 2020; 236(2): 105–10.
58. Sharma N, Sawant RB, Sen S. Optimizing pediatric peripheral blood stem cell collection. *Transfus Apher Sci* 2021; 60(1): 102966. doi: 10.1016/j. traci. 2020. 102966.
59. Gupta GK, Perreault S, Seropian SE, Tormey CA, Hendrickson JE. Optimization of repeat plerixafor dosing for autologous peripheral blood stem-cell collection. *Transfus Apher Sci.* 2021 Jun; 60(3):103069.doi:10.1016/j.transci. 2021.103069.
60. Ishii A, Jo T, Arai Y, Oshima S, Kanda J, Kitawaki T, et al. M. Development of a quantitative prediction model for peripheral blood stem cell collection yield in the plerixafor era. *Cytotherapy* 2022; 24(1): 49–58.
61. Gulbas Z. Haploidentical stem cell transplantation-bone marrow vs peripheral

- blood. *Transfus Apher Sci* 2018; 57(2): 168–70.
62. Balint B, Stanojevic I, Todorovic M, Stamatovic D, Pavlovic M, Vojvodic D. Relative frequency of immature CD34+/CD90+ subset in peripheral blood following mobilization correlates narrowly and inversely with the absolute count of harvested stem cells in multiple myeloma patients. *Vojnosanit Pregl* 2017; 74(11): 1071–7.
63. Luznik L, Fuchs EJ. Donor lymphocyte infusions to treat hematologic malignancies in relapse after allogeneic blood or marrow transplantation. *Cancer Control* 2002; 9(2): 123–37.
64. Soiffer RJ. Donor lymphocyte infusions for acute myeloid leukaemia. *Best Pract Res Clin Haematol* 2008; 21(3): 455–66.
65. Roddie C, Peggs KS. Donor lymphocyte infusion following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Expert Opin Biol Ther* 2011; 11(4): 473–87.
66. Kurnick JT, Kradin RL. Adoptive immunotherapy with recombinant interleukin 2, LAK and TIL. *Allergol Immunopathol (Madr)* 1991; 19(5): 209–14.
67. Hiserodt JC. Lymphokine-activated killer cells: biology and relevance to disease. *Cancer Invest* 1993; 11(4): 420–39.
68. Met Ö, Jensen KM, Chamberlain CA, Donia M, Svane IM. Principles of adoptive T cell therapy in cancer. *Semin Immunopathol* 2019; 41(1): 49–58.
69. Ohkubo A, Okado T. Selective plasma exchange. *Transfus Apher Sci* 2017; 56(5): 657–60.
70. Pineda AA, Taswell HF. Selective plasma component removal: alternatives to plasma exchange. *Artif Organs* 1981; 5(3): 234–40.
71. Hanaoka A, Naganuma T, Kabata D, Morii D, Takemoto Y, Uchida J, et al. Safety and efficacy of tandem hemodialysis and selective plasma exchange in pretransplant desensitization of ABO-Incompatible kidney transplantation. *Blood Purif* 2021; 50(6): 829–36.
72. Strauss RG. Mechanisms of adverse effects during hemapheresis. *J Clin Apher* 1996; 11: 160–4.
73. Uhl L, Maillet S, King S, Kruskall MS. Unexpected citrate toxicity and severe hypocalcemia during apheresis. *Transfusion* 1997; 37: 1063–5.
74. Weinstein R. Hypocalcemic toxicity and atypical reactions in therapeutic plasma exchange. *J Clin Apher* 2001; 16: 210–1.
75. Mörtzell Henriksson M, Newman E, Witt V, Derfler K, Leitner G, Elloot S, et al. Adverse events in apheresis: An update of the WAA registry data. *Transfus Apher Sci* 2016; 54(1): 2–15.

Autor za korespondenciju:

Akademik prof. dr Bela Balint

Srpska akademija nauke i umetnosti,
Kneza Mihaila 35,
11 000 Beograd, Srbija

Tel: +381 64 2625 126

Email: balintbela52@yahoo.com

ZNAČAJ TROMBOELASTOMETRIJE U KARDIOHIRURGIJI

**Milan Lazarević^{1,2}, Dragan Milić^{1,2}, Mladan Golubović^{1,2}, Miodrag Đorđević^{2,3},
Velimir Perić^{1,2}, Danka Sokolović⁴, Zorica Lazarević¹, Zoran Stanojković^{2,4}**

¹ Klinika za kardiohirurgiju, Univerzitetski klinički centar Niš

² Medicinski fakultet, Univerzitet u Nišu

³ Klinika za endokrinu hirurgiju, Univerzitetski klinički centar Niš

⁴ Zavod za transfuziju krvi Niš

Sažetak

Krvarenje tokom i posle kardiopulmonalnog bajpasa je multifaktorijalno. Naime, produženi kontakt trombocita sa plastičnim crevima sistema za vantelesni krvotok remeti njihovu funkciju, dovodi do aktivacije trombocita i koagulacione kaskade, što za konačan ishod ima trombocitopeniju za više od 30%, kao i potrošnu koagulopatiju.

Zbog svega predhodno navedenog, jedan od najtežih zadataka u kardiohirurgiji je uspostavljanje pravovremene, fiziološke hemostaze. Krvarenje se obično javlja tokom i posle kardiohirurške operacije. Pravu ulogu u navedinim akutnim stanjima dobijaju upravo point of care (POC) uređaji za monitorisanje hemostaznog sistema poput rotacione tromboelastometrije. Ovo retrospektivno istraživanje je obuhvatilo 100 bolesnika koji su bili podvrgnuti jednostrukoj, dvostrukoj i trostrukoj hirurškoj revaskularizaciji miokarda, u Klinici za kardiohirurgiju KC Niš, u periodu od 6 meseci. Preoperativno kao i 3 sata i 24 sata postoperativno određivani su krvna slika, koagulacioni status, osnovni parametri rotacione tromboelastometrije (parametri unutrašnjeg-IN test i spoljašnjeg puta koagulacije-EX test), funkcionalni fibrinogen-FIB test, upotreba krvi i produkata krvi, perioperativno i postoperativno, upotreba autotransfuzije putem aparata za intraoperativno spašavanje krvi Haemonetics Cell Saver 5+, praćena je količina perioperativnog krvarenja, ali i postoperativnog krvarenja putem drena u jedinici intenzivne nege.

Prosečno perioperativno krvarenje je bilo skoro 1,5l ($1458 \pm 629,73$ ml), minimalno 900ml, a maksimalno 4200ml. Prosečno krvarenje na dren nakon 24h je bilo $663,50 \pm 390,3$ ml. Parametri tromboelastometrije kod kojih se očekuje da su prediktori povećanog krvarenja postoperativno poput CT intest duži od 300s je imalo 23 pacijenata 3h nakon operacije, a nakon 24h nije bilo takvih pacijenata, A10 fib test ≤ 8 mm je imalo 8 % pacijenata pre operacije, 15 % pacijenata 3h posle operacije i 2% pacijenta 24h posle operacije, međutim u našem istraživanju ovi parametri nisu udruženi sa povećanim krvarenjem kod pacijenata. Sa druge strane maksimalna čvrstoća ugruška u EX testu i krvarenje nakon hirurške intervencije je statistički značajno veće kod pacijenata koji su imali MCF ex < 45 mm 3h posle operacije ($p < 0,001$), ali i bolesnici sa MCF intest manjim od 45mm. Takođe, pacijenti sa CT u EX testu dužim od 100s su postoperativno primali veći broj transfuzija krvi, u odnosu na pacijente sa nižim vrednostima vremena koagulacije.

Poseban klinički značaj poseduje elastometrijsko testiranje hemostaznog sistema, uz čiju upotrebu je omogućena pravilna i pravovremena dijagnoza različitih poremećaja koagulacije, predikcija mogućeg krvarenja koje se još nije klinički manifestovalo, kao i izbor ciljane hemostazne terapije koja će sprečiti ili zaustaviti krvarenje.

Uvod

Klasično aorto-koronarni bajpas izvodi se u uslovima ekstrakorporalne cirkulacije (Ecc), na mirnom srcu. Kardiopulmonalni bajpas (KPB) predstavlja metodu kojom se za vreme kardiohirurške intervencije zamenjuje srčana akcija i plućna cirkulacija. Osnovna uloga ove tehnike je da u toku hirurške intervencije obezbedi oksigenaciju tkiva i termoregulaciju. U tu svrhu koristi se mašina za ekstrakorporalnu cirkulaciju¹.

Kardiopulmonalni bajpas omogućava da pacijentovo srce i pluća privremeno budu izdvojeni iz cirkulacije i njihova aktivnost suspendovana da bi se kardiohirurška intervencija mogla izvoditi u kontrolisanim uslovima. Od materijala za izradu sistema za vantelesni krvotok najzastupljeniji je polivinil-hlorid (PVC), ali se koriste i silikon i lateks guma². Antikoagulacija je neophodna da bi pacijent bezbedno mogao biti povezan na aparat za vantelesni krvotok tokom kardiohirurške intervencije. Kontakt krvi i veštačkih nebioloških površina Sistema za vantelesni krvotok dovode do aktivacije koagulacionog Sistema i formiranja ugruška u cirkulaciji u roku od nekoliko minuta u odsustvu antikoagulantnih lekova. Neadekvatna antikoagulacija u svojoj najozbiljnijoj formi dovodi do letalnog ishoda, a u blažoj formi vodi u disfunkciju bubrega ili mozga. Najčešće korišćeni antikoagulans je visokomolekularni heparin (VMH).

Krvarenje tokom i posle kardiopulmonalnog bajpasa je multifaktorijalno. Naime, produženi kontakt trombocita sa plastičnim crevima Sistema za vantelesni krvotok remeti njihovu funkciju, dovodi do aktivacije trombocita i koagulacione kaskade, što za konačan ishod ima trombocitopeniju za više od 30%, kao i potrošnu koagulopatiju. Kontaktna aktivacija koagulacione kaskade se dešava prilikom kontakta veštačke površine creva sa krvlju, i to pre svega aktivacijom

faktora XII. Trombociti pacijenata koji se podvrgavaju kardiohirurgiji su vrlo osetljivi, jer su pacijenti po pravilu preoperativno na mono ili dvojnoj antitrombocitnoj terapiji koja inhibira njihovu funkciju i dodatno remeti perioperativnu i postoperativnu hemostazu. Dilucija u sklopu prajminga, hipotermija tokom intervencije, produženo trajanje procedure vantelesnog krvotoka, takođe remete sistemsku hemostazu. Određeni broj pacijenata je pre operacije na oralnoj ili parenteralnoj antikoagulacionoj terapiji koja putem inhibicije aktivacije faktora II, VII, IX, X, XI onemogućava uspešnu hemostazu. Povećani perioperativni gubitak krvi, kombinovana primena heparina i protamina, preoperativna anemija, bubrežna insuficijencija, bolesti jetre, godine starosti preko 70 godina, ženski pol, urođene ili stečene koagulopatije su sve faktori rizika koji remete koagulacionu kaskadu i hemostazu^{4,5}.

Zbog svega predhodno navedenog, jedan od najtežih zadataka u kardiohirurgiji je uspostavljanje pravovremene, fiziološke hemostaze. Krvarenje se obično javlja tokom i posle kardiohirurške operacije. U toku ovakvog urgentnog stanja rutinsko laboratorijsko testiranje koagulacije pomoću PT-a, APTT-a, broja trombocita je najčešće sporo i nedovoljno. Pravu ulogu u navedenim akutnim stanjima dobijaju upravo point of care (POC) uređaji za monitorisanje hemostatnog sistema, a pre svega rotaciona tromboelastometrija⁶.

Sistemska hemostazna terapija je od presudnog značaja za pravovremeno zbrinjavanje komplikacija u pogledu krvarenja, a pravilna antitrombocitna i antikoagulantna terapija za sprečavanje nastanka tromboze⁷.

Materijali i metode

Ovo retrospektivno istraživanje je obuhvatilo 100 bolesnika koji su bili podvrgnuti jed

nostrukoj, dvostrukoj i trostrukoj hirurškoj revaskularizaciji miokarda, u Klinici za kardiohirurgiju KC Niš, u periodu od 6 meseci. U istraživanje je uključeno 100 ispitanika (22 osobe ženskog pola-22,0% i 78 muških ispitanika – 78,0%). Prosečna starost ispitivane populacije je $64,6 \pm 7,5$ godina (Min 43, Max 80 godina).

Posle standardne kardiohirurške preoperativne pripreme pacijenata, pacijenti su operisani prema standardnim kardiohirurškim protokolima.

Preoperativno kao i 3 sata i 24 sata postoperativno određivani su sledeći parametri:

1. Krvna slika (broj eritrocita-Rbc, hemoglobin-Hgb, hematokrit-Hct, broj leukocita-Wbc, broj trombocita-Plt) na Horiba CRP 200 automatskom brojaču, iz 4ml pune krvi uzorkovane u epruveti sa EDTA antikoagulansom.
2. Koagulacioni status (protrombinsko vreme-PT, International Normalized Ratio-INR, aktivisano parcijalno tromboplastinsko vreme-aPTT, fibrinogen-F I, antitrombin III-AT III, D dimer, na uređaju ACL Elite Pro, iz pune krvi uzete u epruvetu sa Na-citratom kao antikoagulansom, koja je odmah po uzorkovanju centrifugirana 15 min na 3500 obrtaja, a zatim iz seruma pipetirani uzorci od 250 mikrolitara su puštani u testiranje na koagulometru.
4. Osnovni parametri rotacione trombelastometrije (parametri unutrašnjeg-IN test i spoljašnjeg puta koagulacije-EX test, i to: (vreme koagulacije-CT koje zavisi od koncentracije i aktivnosti faktora koagulacije u plazmi, maksimalna čvrstoća ugruska-MCF čija vrednost je uslovljena brojem i funkcijom trombocita kao i koncentracijom fibrinogena, amplituda ugruska posle 10 minuta-A10 takođe zavisi od broja/funkcije trombocita i koncentracije fibrinogena, ugao alfa, maksimalna liza-ML koja registruje patološku lizu ugruska), funkcionalni fibrinogen-FIB test, A10 koja zavisi od post

ojanosti i polimerizacije fibrinskog ugruska), na uređaju rotacionom tromboelastometru Clot pro, Enicor, Germany, iz pune krvi 4ml u epruveti sa natrijum-citratom kao antikoagulansom, a krv je analizirana takođe u roku od 30min od uzorkovanja.

5. Upotreba krvi i produkata krvi, perioperativno i postoperativno, beležena je u medicinskoj dokumentaciji koja se vodi u operacionoj sali (operativna lista), kao i u jedinici intenzivne nege (šok lista).
6. Upotreba sintetskih hemostaznih agenasa (protrombin kompleks koncentrat-PCC, dezmozpresin-acetat-DDAVP, traneksamična kiselina), beleženo je u medicinskoj dokumentaciji koja se vodi u operacionoj sali (operativna lista), kao i u jedinici intenzivne nege (šok lista).
7. Upotreba autotransfuzije putem aparata za intraoperativno spašavanje krvi Haemonetics Cell Saver 5+, praćena je količina perioperativnog krvarenja (beleženo u operacionoj sali-saver lista) ali i postoperativnog krvarenja putem drena u jedinici intenzivne nege (šok lista).

Osnovni parametri Clot pro testova koji se dovode u vezu sa različitim poremećajima hemostaze (praćenih povećanim krvarenjem) i posledičnom primenom hemostazne terapije su:

- Vreme koagulacije-CT Ex test ≥ 100 s (ref. vrednost 38-79s), označava poremećaj faktora koagulacije spoljašnjeg koagulacionog puta (II,V,VII,IX faktor).
- Vreme koagulacije-CT In test ≥ 300 s (ref. vrednost 100-240s), se odnosi na poremećaj faktora koagulacije unutrašnjeg puta (svi faktori sem VII i XIII) ili prisustvo rezidualnog efekta visokomolekularnog heparina.
- Maksimalna čvrstoća ugruska-MCF Ex test/In test ≤ 45 mm (ref.vrednost 50-72mm), javlja se kod poremećene funkcije i broja trombocita ili kod deficita fibrinogena.
- Amplituda ugruska posle 10 minuta-A10 Fib test ≤ 8 mm (ref.vrednost 9-23mm) regis

truje se kod niske koncentracije i loše polimerizacije fibrinskog ugruška, koji zavisi od koncentracije funkcionalnog fibrinogena. -Maksimalna liza ugruška- $ML \geq 15\%$ (ref. vrednost $<15\%$) označava patološku hipofibrinolizu, koja takođe za posledicu ima povećano krvarenje kod pacijenata.

Statistička obrada podataka

Podaci su prikazani u vidu aritmetičke sredine i standardne devijacije, minimalnih i maksimalnih vrednosti, kao i u vidu apsolutnih i relativnih brojeva.

Normalnost kontinuiranih varijabli je testirana Kolmogor-Smirnov testom.

Ukoliko je distribucija podataka bila normalna poređenje vrednosti preoperativno, i postoperativno u dva trenutka (3h i 24h posle operacije) vršenom je ANOVA testom za ponovljena merenja. Ukoliko distribucija podataka nije normalna, za ovakvo poređenje je korišćen je Friedman-ov test. Ukoliko je distribucija podataka normalna poređenje između dve grupe vršeno je t testom, ukoliko distribucija podataka nije normalna ovo poređenje je vršeno Mann-Whitney testom. Hipoteza je testirana sa pragom značajnosti $p < 0,05$. Analiza podataka vršena je u programskom paketu SPSS 16.0.

Rezultati

Tabela 1.

Vrednosti eritrocita(RBC), hemoglobina(HGB), hematokrita (Hct), leukocita (Wbc) i trombocita (PLT) mereno preoperativno i postoperativno posle 3h i 24h

Parametar†	Preoperativno	3h postopeativno	24h postoperativno	p-vrednost ¹
RBC	4,46±0,47	3,86±0,55	3,76±0,49	<0,001
Hgb	137,74±10,93	114,98±11,32	109,96±8,87	<0,001
Hct	39,18±4,17	32,99±3,95	31,86±3,10	<0,001
WBC	7,11±1,28	10,07±3,07	9,14±3,34	<0,001 ²
PLT	236,22±63,88	148,13±56,65	167,01±50,96	<0,001 ²

† Aritmetička sredina±standardna devijacija, ¹ANOVA za ponovljena merenja, ² Friedman-ov test

Broj eritrocita praćen u tri merenja statistički značajno opada ($p < 0,001$). Takođe i vrednosti hemoglobina i hematokrita statistički značajno opadaju u praćenom periodu ($p < 0,001$, odnosno $p < 0,001$). Broj leukocita posle 3h od operacije raste u odnosu na period pre operacije, a zatim do 24h od opera-

cije pada. Utvrđena je statistički značajna razlika u broju leukocita u praćenom periodu ($p < 0,001$). Trombociti naglo padaju do 3h od operacije, zatim u periodu od 24 od operacije imamo blagi porast. Broj trombocita se statistički značajno menja u periodu praćenja ($p < 0,001$)(Tabela 1).

Tabela 2.

Vrednosti PT, INR, aPTT, F I, AT III i D-dimer mereno preoperativno i postoperativno posle 3h i 24h

Parametar [†]	Preoperativno	3h postoperativno	24h postoperativno	p-vrednost ¹
PT	11,67±1,47	15,81±5,22	12,63±1,42	<0,001
INR	1,15±0,13	1,57±0,55	1,26±0,14	<0,001
Aptt	28,03±3,78	34,28±13,26	30,36±6,82	<0,001
FI	4,14±1,40	3,16±1,25	4,40±1,00	<0,001
ATIII	89,26±12,46	70,38±10,78	68,27±8,36	<0,001
D dimer	500,30±1028,32	611,35±1012,42	581,32±968,39	0,089 ²

[†] Aritmetička sredina±standardna devijacija, ¹ANOVA za ponovljena merenja, ² Friedman-ov test

PT se 3h nakon operacije povećava, a zatim do 24h pada. Utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u PT u periodu praćenja ($p<0,001$). INR se 3h posle operacije povećava, a zatim do 24h pada. Utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u INR u periodu praćenja ($p<0,001$).

APTT se 3h posle operacije povećava, a zatim do 24h pada. Utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u APTT u periodu praćenja ($p<0,001$).

Vrednosti fibrinogena (F I) se smanjuju u prvih 3h posle operacije, a zatim se u perio-

du do 24h od operacije vraćaju na vrednosti koje su bile pre operacije. Utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u vrednostima F I u tri merenja ($p<0,001$).

Vrednosti antitrombina tri (ATIII) se statistički značajno smanjuju u tri merenja ($p<0,001$).

D dimer u periodu od 3h od operacije povećava u odnosu na preoperativne vrednosti, a zatim se u periodu do 24 od operacije blago smanjuje. Utvrđeno je da se vrednosti D dimera ne menjaju statistički značajno u tri merenja ($p=0,089$)(Tabela 2.)

Tabela 3.

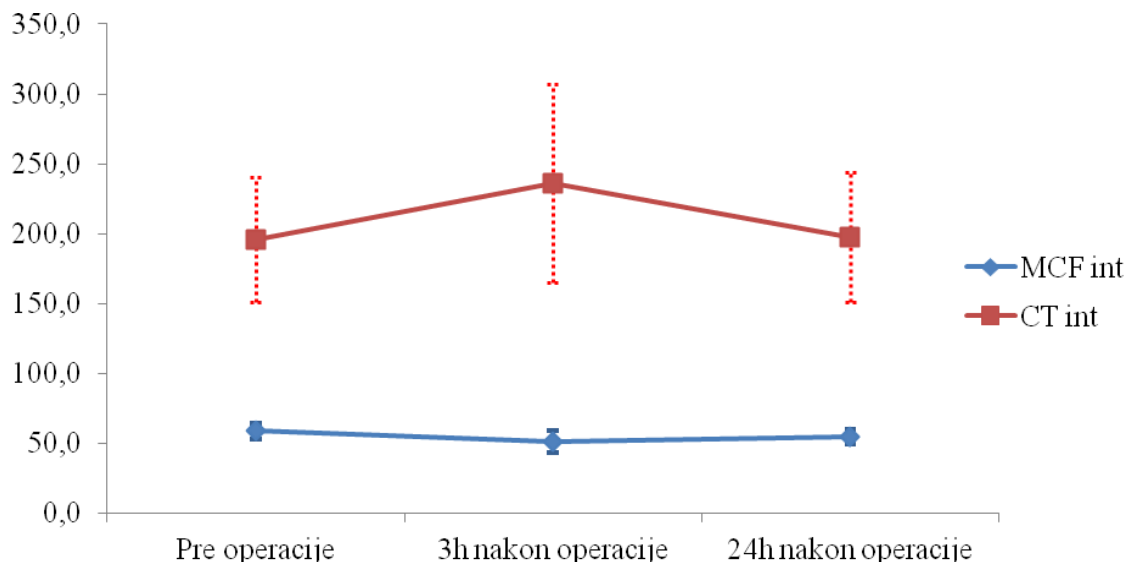
Vrednosti CT int i MCF int u periodu praćenja u ispitivanoj populaciji

Parametar [†]	Preoperativno	3h postoperativno	24h postoperativno	p-vrednost ¹
CT INTEM	195,96±44,63	236,11±70,65	197,43±46,83	<0,001
MCF INTEM	58,89±5,70	50,91±7,87	54,70±7,87	<0,001

[†] Aritmetička sredina±standardna devijacija, ¹Friedman-ov test

Vrednosti CT int se povećavaju u prvih 3h od operacije u odnosu na preoperativni period, a zatim u periodu do 24h vraćaju na preoperativne vrednosti. Utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u vrednostima CT int između tri merenja ($p<0,001$)(Tabela 3). Vrednosti MCF int pa-

daju u prvih 3h posle operacije u odnosu na preoperativni period, a zatim počinju blago da rastu u periodu do 24h od operacije. Utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u vrednostima ovog parametra između tri merenja ($p<0,001$)(Tabela 3, Grafikon 1).



Grafikon 1. Vrednosti CT int i MCF int u periodu praćenja u ispitivanoj populaciji

Vrednosti CT extem se povećavaju u prvih 3h od operacije u odnosu na preoperativni period, a zatim u periodu do 24h padaju na niže vrednosti u odnosu na preoperativni period. Utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u vrednostima CT extem između tri merenja ($p < 0,001$)(Tabela 4).

Vrednosti MCF extem padaju u prvih 3h posle operacije u odnosu na preoperativni period, a zatim počinju blago da rastu u periodu do 24h od operacije. Utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u vrednostima ovog parametra između tri merenja ($p < 0,001$)(Tabela 5, Grafikon 5).

Tabela 4.

Vrednosti CT ex i MCF ex u periodu praćenja u ispitivanoj populaciji

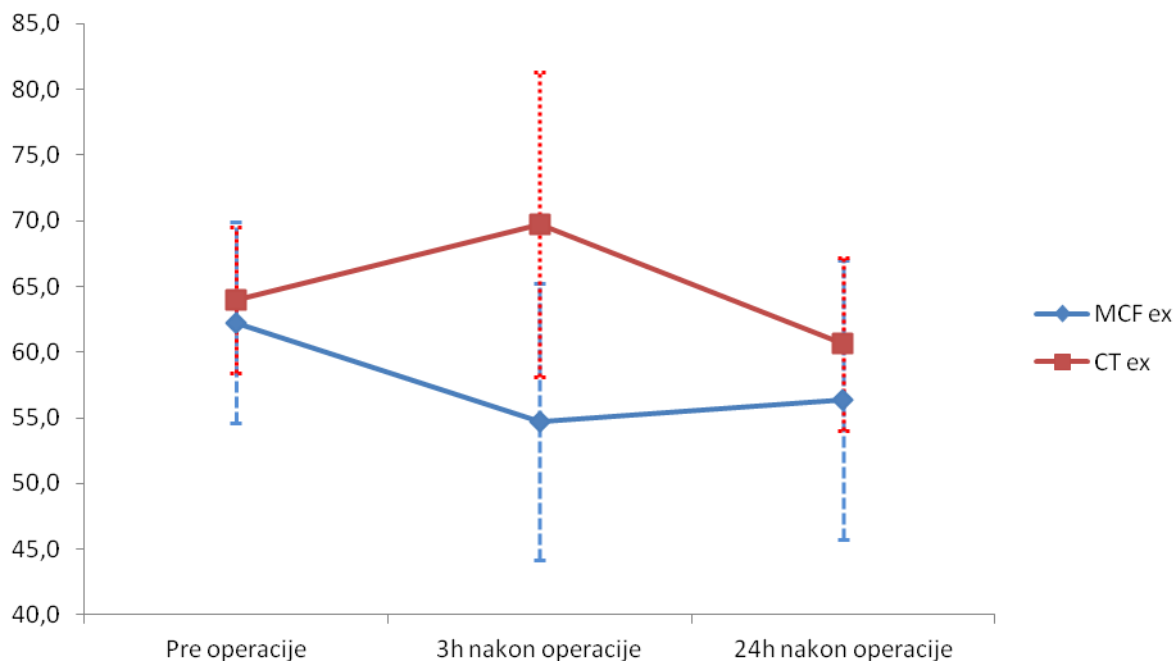
Parametar†	Preoperativno	3h postoperativno	24h postoperativno	p-vrednost ¹
CT extem	63,96±7,67	69,71±10,56	60,62±10,61	<0,001
MCF extem	62,25±5,58	54,73±11,63	56,38±6,59	<0,001

† Aritmetička sredina±standardna devijacija, ¹ANOVA za ponovljena merenja,

Vrednosti A10 fibtem se do 3h posle operacije ($12,31 \pm 6,82$) smanjuju u odnosu na preoperativne vrednosti ($19,79 \pm 10,35$), a zatim počinje blagi rast ($16,36 \pm 5,89$) (Grafikon 6). Utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u vrednostima ovog parametra između tri merenja ($p < 0,001$).

Vrednosti CT extem se povećavaju u prvih 3h od operacije u odnosu na preoperativni period, a zatim u periodu do 24h padaju na niže vrednosti u odnosu na preoperativni

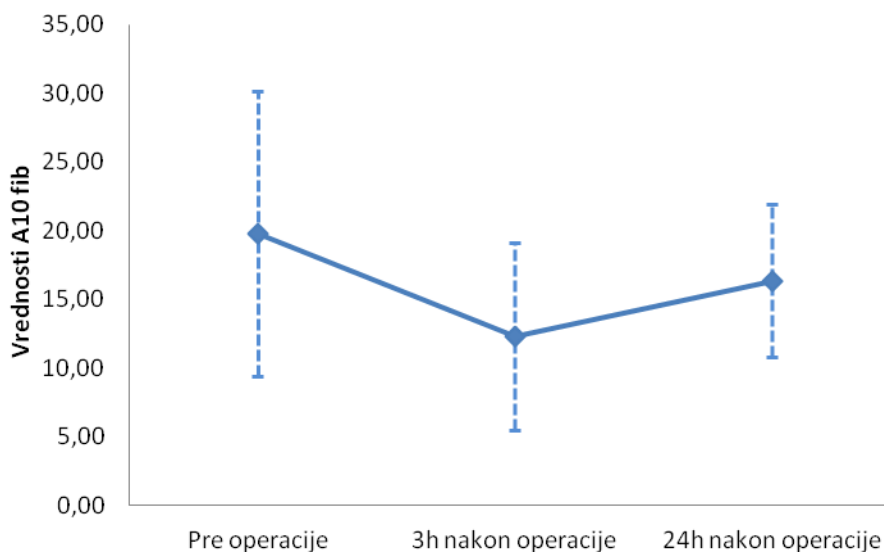
period. Utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u vrednostima CT extem između tri merenja ($p < 0,001$)(Tabela 5.). Vrednosti MCF extem padaju u prvih 3h posle operacije u odnosu na preoperativni period, a zatim počinju blago da rastu u periodu do 24h od operacije. Utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u vrednostima ovog parametra između tri merenja ($p < 0,001$)(Tabela 5, Grafikon 5).



Grafikon 2. Vrednosti CT ex i MCF ex u periodu praćenja u ispitivanoj populaciji

Vrednosti A10 fibtem se do 3h posle operacije ($12,31 \pm 6,82$) smanjuju u odnosu na pre-operativne vrednosti ($19,79 \pm 10,35$), a zatim počinje blagi rast ($16,36 \pm 5,89$) (Grafikon 2).

Utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u vrednostima ovog parametra između tri merenja ($p < 0,001$).



Grafikon 2. Vrednosti A10 fibtem u periodu praćenja u ukupnoj populaciji



Tabela 5.

Parametri koji ukazuju na povećano peri i postoperativno krvarenje

	Pre operacije	3h posle operacije	24h posle peracije
CT ex>100	0 (0,0%)	4 (4,0%)	0 (0,0%)
MCF ex<45	0 (0,0%)	21 (21,0%)	3 (3,0%)
CT int>300	0 (0,0%)	23 (23,0)	0 (0,0%)
MCF int<45	0 (0,0%)	17 (17,0)	5 (5,0%)
A10 fib≤8	8 (8,0%)	15 (15,0%)	2 (2,0%)
INR>2	0 (0,0%)	6 (6,0%)	0 (0,0%)
APTT>50	0 (0,0%)	8 (8,0%)	5 (5,0%)
ML>15	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)

CTextem veće od 100 su imala četiri pacijenta (4,0%) 3h posle operacije.

CTextem veće od 100 su imala četiri pacijenta (4,0%) 3h posle operacije.

MCFextem manji od 45 je imalo 21 pacijent (21,0%) 3h posle operacije i 3 pacijenta (3,0%) 24h posle operacije.

Tabela 6.

Postoperativno krvarenje u odnosu na niske vrednosti parametara
MCF extem

Vreme me- renja†	MCF ex	Postoperativno krvarenje	
		AS±SD	p-vrednost ¹
3h	<45	1988,10±1083,73	0,001
posle operacije	≥45	1317,09±326,293	

‡ 3 pacijenta, † Aritmetička sredina±standardna devijacija, ¹Man-Whitey test

Krvarenje nakon hirurške intervencije je statistički značajno veće kod pacijenata koji su imali MCF ex <45mm 3h posle operacije (p<0,001)(Tabela 6).

Tabela 7.

Postoperativno krvarenje u odnosu na niske vrednosti parametara MCF intem.

Vreme merenja†	MCF int	Postoperativno krvarenje	
		AS±SD	p-vrednost ¹
24h	<45‡	3550,00±1286,47	0,002
posle operacije	≥45	1347,89±319,73	

‡ 5 pacijenata, † Aritmetička sredina±standardna devijacija, ¹Man-Whitey test

Postoperativno krvarenje je statistički veće kod pacijenata koji su imali MCF int <45mm 24h posle operacije (p=0,002)(Tabela 7).

Diskusija

Važno je napomenuti da se kod većine bolesnika koji su se podvrgavali kardiohirurškim procedurama i koji su imali povećanu stopu morbiditeta i mortaliteta davala nadoknada u proseku jedna do dve jedinice krvi. Ovi pacijenti se uglavnom tretiraju zbog anemije ali su u principu bili hemodinamski⁸.

Studija koju smo mi uradili obuhvatila je 100 kardiohirurških pacijenata, od kojih je 20 pacijenata u toku 24h postoperativno, primilo u proseku jednu jedinicu-350ml resuspendovanih eritrocita, isključivo kod vrednosti $Hgb \leq 85g/l$, sa ciljem korekcije postoperativne anemije radi izbegavanja hipoksije, što je u skladu sa predhodno opisanim rezultatima.

Tromboelastografija je dinamička kvalitativna i kvantitativna procena formiranja ugruška koja se sastoji od tri faze: pokretanje ugruška, čvrstoća ugruška i stabilnost ugrušaka (fibrinoliza). Izvođenje tromboelastografije pomoću Clot Pro-a je vrlo korisna, ali ne uklanjaju potrebu za drugim POC tehnikama koje omogućuju procenu funkcije trombocita (npr. Agregometrija-Multiplate), što je sve inkorporisano u brojnim algoritmima koji se stalno modifikuju i razvijaju⁹.

Uprkos poboljšanjima ostvarenim sa postojećim novim tehnikama još uvek većina hirurga je sklono da prihvati znatnu količinu gubitka krvi kao karakteristiku kardiohirurgije¹⁰. Istraživanje sprovedeno u našoj ustanovi takođe ukazuje da je prosečan postoperativni gubitak na dren veći od 1000ml imalo svega 9% pacijenata, pre svega zahvaljujući pravovremenoj primeni hemostaznih agenasa tzv. Ciljane hemostazne terapije vođene point of care uređajima za testiranje hemostaze.

Veoma je važno obezbediti adekvatnu drenažu i uklanjanje krvi iz perikarda i pleure

(ima visoku fibrinolitičku aktivnost i tkivni faktor koagulacije). Uklanjanje ove krvi i ugruška verovatno ne samo da smanjuje šansu da dođe do prevelikog gubitka krvi sprečavajući sistemsku koagulopatiju, ali verovatno je da ima blagotvorne efekte i na nekoliko drugih faktora koji su povezani sa operacijom kao, npr. zapaljenje, atrijalna fibrilacija, perikardni izlivi (tamponade), i razvoj priraslica. Naši rezultati ukazuju da nije registrovan ni jedan pacijent sa patološkom hiperfibrinolizom, što je posledica ranog davanja antifibrinolitika-traneksamične kiseline u dozi od 1000mg odmah posle sternotomije.

Nakon pažljive evaluacije, izgleda da je hemodilucija najviše izražen faktor povezan sa razvojem koagulopatije posle kardiohirurške intervencije, i, verovatno igra važnu ulogu u nastanku gubitka krvi posle operacije na srcu¹⁰. Protrombin kompleks koncentrat (PCC) je hemostazni agens koji se aplikuje prilikom deficita vitamin K zavisnih faktora koagulacije (II,VII,IX,X), što se posebno dešava u dilucionoj koagulopatiji tokom i nakon kardiohirurške intervencije. Prednost je na strani PCC u poređenju sa plazmom. Trenutno ne postoji konsenzus o doziranju i vremenu primene PCC-a, a povećani rizik od tromboembolijske komplikacije uvijek mora biti uravnotežen za primenu PCC-a. Tri pacijenta u ovom istraživanju su postoperativno dobila PCC u proseku po 1000 i.j. zbog deficita navedenih faktora, što je registrovano putem parametra $CT \geq 100s$ ex test na Clot Pro, kao i vrednostima protrombinskog vremena tj. INR-a preko 5.

Fibrinogen je jedan od najvažnijih faktora koagulacije i moguće je da proces zgrušavanja padne ispod kritičnog nivoa tokom hemodilucije te stoga treba voditi računa i po potrebi krenuti sa davanjem fibrinogen koncentrata¹¹. S obzirom da nismo posedovali koncentrat fibrinogena, prateći vrednosti Fibtem testa na Clot Pro, a poseb

no amplitude ugruška posle 10min (A10), 13 pacijenata je rano postoperativno (tokom 3h posle intervencije) primalo krioprecipitat u proseku 15 doza po pacijentu.

Upotreba POC evaluacije može da pruži brži i potpuniji uvid u ovaj delikatan balans, stvarajući više individualizovan tretman orijentisan prema svakom pacijentu posebno. Velika varijacija u osetljivosti pacijenta na primenu klopidogetrela, često daje jako različite individualne rezultate pre operacije, što iziskuje dalju upotrebu i određivanje POC pre, za vreme i posle kardiohirurgije. Individualni pristup orijentisan prema svakom pacijentu posebno može doprineti smanjenju perioperativnog i postoperativnog gubitka krvi i svesti potrebu za primenu transfuzije na minimum¹².

Zaključak

Zbog složenosti i trajanja kardiohirurške operacije, kod bolesnika koji su podvrgnuti CABG proceduri, dolazi do izraženih hemostatskih promena.

Zbog svega navedenog prioritet je dijagnostikovati najčešće poremećaje koagulacije kod bolesnika koji su podvrgnuti hirurškoj revaskularizaciji miokarda i izabrati adekvatnu hemostaznu terapiju radi pravovremenog zbrinjavanja poremećaja koagulacije kod kardiohirurških pacijenata.

Poseban klinički značaj poseduju uređaji za POC testiranje hemostaznog sistema, uz čiju upotrebu je omogućena pravilna i parvovremena dijagnoza navedenih poremećaja koagulacije, predikcija mogućeg krvarenja koje se još nije klinički manifestovalo, kao i izbor ciljne hemostazne terapije koja će sprečiti ili zaustaviti krvarenje.

Treba istaći da je 20% pacijenata posle kardiohirurške intervencije primilo transfuziju resuspendovanih eritrocita (u proseku 1 jedinicu), a svi operisani pacijenti su tokom intervencije primili autolognu transfuziju

sopstvene krvi preko aparata za intraoperativno spašavanje krvi.

Zbog svega navedenog, svega 9% operisanih pacijenata je imalo drenažu veću od 1L u prvih 24h od operacije, bez posledičnih komplikacija u pogledu hirurške reintervencije. Savremene metode u kombinaciji sa dokazanim kliničkim protokolima, velikim kliničkim iskustvom osoblja, poštujući princip „vreme je život“, omogućavaju najbolje moguće zbrinjavanje pacijenata sa detektovanim poremećajem hemostaze u kardiohirurgiji.

Literatura:

1. Herzog CA, Ma JZ, Collins AJ. Comparative survival of dialysis patients in the United States after coronary angioplasty, coronary artery stenting, and coronary artery bypass surgery and impact of diabetes. *Circulation*. 2002; 106(17): 2207-11.
2. Fox K, Garcia MA, Ardissino D, et al. Guidelines on the management of stable angina pectoris: executive summary: The Task Force on the Management of Stable Angina Pectoris of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J*. 2006; 27(11): 1341-81.
3. Trullàs JC, González-Franco Á. Major developments in the 2016 european guidelines for heart failure. *Rev Clin Esp*. 2017; pii: S0014-2565(17)30052-8.
4. Fuster V, Moreno PR, Fayad ZA, et al. Atherothrombosis and high-risk plaque: part I: evolving concepts. *J Am Coll Cardiol* 2005; 46(6): 937-54.
5. Roberts HR. Oscar Ranthoff: his contributions to the golden era of coagulation research. *Br J Haematol* 2003; 122: 180-98.
6. Hoffbrand AV, Moss PAH, Pettit JE. Platelets, blood coagulation and haemostasis.
7. *Haematology* 2008; 264-77.



8. Paone G, Likosky DS, Brewer R, et al. Transfusion of 1 and 2 units of red blood cells is associated with increased morbidity and mortality. *Ann Thorac Surg.* 2014; 97(1): 87–93;
9. Jeffrey R. et al. Coagulation Parameter Thresholds Associated with Non-Bleeding in the Eighth Hour of Adult Cardiac Surgical Post-Cardiotomy Extracorporeal Membrane Oxygenation. *J Extra Corpor Technol.* 2016 Jun; 48(2): 71–78.
10. Jubelirer SJ, Mousa L, Reddy U, et al. Coronary artery bypass grafting (CABG) in patients with immune thrombocytopenia (ITP): a community hospital experience and review of the literature. *W V Med J.* 2011; 107(6): 10–4.
11. Vamvakas EC, Carven JH. RBC transfusion and postoperative length of stay in the hospital or the intensive care unit among patients undergoing coronary artery bypass graft surgery: the effects of confounding factors. *Transfusion.* 2000; 40(38): 832–9.
12. Haanschoten MC, van Straten AH, Verstappen F, et al. Reducing the immediate availability of red blood cells in cardiac surgery, a single-centre experience. *Neth Heart J.* 2015; 23(1): 28-32.

Autor za korespondenciju:**Dr Milan Lazarević**Klinika za kardiohirurgiju, Univerzitetski klinički centar Niš,
Medicinski fakultet, Univerzitet u Nišu**Tel: +381631050501****dr_m.lazarevic@hotmail.com**



SLABA FUNKCIJA KALEMA POSLE ALOGENE TRANSPLANTACIJE MATIČNIH ČELIJA HEMATOPOEZE – KAKO JE PREPOZNATI I LEČITI

Milena Todorović Balint^{1,2}, Irena Đunić^{1,2}, Darko Antić^{1,2},
Olivera Marković^{2,3}, Marija Dinić⁴, Bela Balint^{5,6}

¹ Klinika za hematologiju, Univerzitetski klinički centar Srbije, Beograd.

² Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Srbija;

³ Odeljenje Hematologije sa onkohematologijom, Klinika za internu medicinu, Kliničko-bolnički centar "Bežanijska Kosa", Beograd, Srbija;

⁴ Institut za transfuziju krvi Srbije, Beograd;

⁵ Odeljenje medicinskih nauka, Srpska akademija nauka i umetnosti;

⁶ Institut za kardiovaskularne bolesti Dedinje, Beograd.

Sažetak

Slaba funkcija kalema ili transplantata (Poor Graft Function – PGF) posle alogene transplantacije matičnih ćelija hematopoeze (allo-HSCT) može biti životno ugrožavajuća komplikacija koju karakteriše bilinijska ili trilinejska citopenija i prisustvo hipoplastične kostne srži uz kompletni donorski himerizam. To znači prisustvo 100% ćelija donora u organizmu bolesnika, detektovanih analizom ćelijskog himerizma na molekularno genetičkom nivou. Najčešći faktori rizika za nastanak PGF jesu mala doza primenjenih CD34+ matičnih ćelija hematopoeze (HSC) u transplantatu (kalemu), prisustvo donor specifičnih antitela, bolest kalema protiv domaćina (Graft Versus Host Disease – GvHD), infekcija citomegalovirusom (CMV), preopterećenje gvožđem, čiji je laboratorijski pokazatelj visok feritin u serumu, kao i splenomegalija. Patogenetski mehanizmi u nastanku PGF su i dalje nerazjašnjeni u potpunosti i to predstavlja značajan problem, obzirom da PGF dovodi do kompromitovanja procedure allo-HSCT. Utvrđeno je da za nastanak PGF nije bitan samo broj CD34+ HSC u kalemu, već i mikrosredina kostne srži bolesnika, tj. deficit i disfunkcija mezenimalnih i endotelnih ćelija, povišeni radikali kiseonika, kao i poremaćaji imunskog sistema. Stoga je razumevanje svih potencijalnih mehanizama koji dovode do pojave ove teške, često i fatalne komplikacije nasatale nakon allo-HSCT, bitno za planiranje terapijske strategije. Primena selektovanog "stem-ćelijskog boosta" (Stem Cell Boost – SCB), mezenimalnih matičnih ćelija, kao i novijih medikamentoznih agenasa (N-acetil cistein, atorvastatin, agonisti trombopoetinskih receptora), može poboljšati klinički tok bolesnika sa PGF. Kliničke studije sa navedenim agensima su do sada sprovedene na malom broju bolesnika, pa će veće prosepktivne studije biti potrebne za donošenje definitivnih zaključaka o značaju svakog pojedinačnog terapijskog pristupa.

Ključne reči: alogena transplantacija matičnih ćelija, slaba funkcija kalema, faktori rizika, terapija

Uvod

Alogena transplantacija matičnih ćelija hematopoeze (allo-HSCT) je visokospecijalizovana procedura zamene i repopulacije hema-

topoeznog tkiva bolesnika hematopoeznim tkivom donora. Predstavlja koncept primene hemio/radioterapije sa imunosupresivnom terapijom nakon čega se bolesniku aplikuju

donorske HSC. Ona predstavlja jedinu kurativnu metodu lečenja visokorizičnih malignih hemopatija i određenih nemalignih bolesti hematopoeznog sistema kao što je aplastična anemija. Većina bolesnika se oporavi nakon allo-HSCT uz rekonstituciju alogene hematopoeze, ali određeni procenat doživi pojavu tzv. slabosti kalema (Graft Failure – GF), koja je uzrokovana odbacivanjem transplantata (kalema) uz pad donorskog himerizma, ili se javlja slaba funkcija kalema (Poor Graft Function – PGF) sa potpunim donorskih himerizmom (1). Pojava mešanog himerizma porekla donorskih ćelija i ćelija bolesnika (recipijenta) može biti odraz početnog odbacivanja kalema. Za razliku od odbacivanja kalema, kod PGF je prisutan 100% donorski himerizam, tj. prisustvo isključivo ćelija donora u kostnoj srži i perifernoj krvi bolesnika. Za dijagnozu PGF, potrebno je jasno definisanje dijagnostičkih kriterijuma, o čemu još uvek postoje izvesne neusaglašenosti (1).

Novije studije definišu PGF u zavisnosti od težine citopenije u najmanje dve ćelijske linije, a to znači da je: 1. Apsolutni nrož neutrofila (ANC) $\leq 0,5 \times 10^9/L$; 2. Trombociti (PLT) $\leq 20 \times 10^9/L$; i hemoglobin (Hb) $\leq 70 g/L$ u najmanje 3 konsektivna dana nakon d+28 od allo-HSCT, ili da je potrebna transfuzijska potpora, uz hipoplastičnu kostnu srž, a uz prethodno isključivanje bolesti kalem protiv domaćina (Graft Versus Host Disease – GvHD) ili relapsa bolesti. Primarni PGF prestavlja nepostizanje engraftmenta, dok sekundarni PGF prestavlja gubitak inicijalnog engraftmenta. Terapijski odgovor je lošiji kod primarnog u odnosu na sekundarni PGF (1). Radi se o potencijalno životno ugrožavajućoj komplikaciji obzirom na perzistentnu citopeniju, stalnu potrebu za transfuzijama i prisutan rizik od rekurentnih infekcija. Incidencija PGF iznosi 5 – 27%, sa tendencijom rasta, obzirom i na ekspanziju haploidentičnih transplantacija (2). Mehani-

zam nastanka PGF nije u potpunosti razjašnjen, ali mikrosredina kostne srži svakako ima značajnu ulogu u njenom nastanku. U terapijskom pristupu značajni su svakako selektovan "stem-ćelijski boost" (Stem Cell Boost; SCB), infuzija mezenhimalnih matičnih ćelija i novi terapijski principi koji uključuju atorvastatin, N-acetil-cistein, el-trombopag.

Faktori rizika za slabost Kalema

Faktori rizika za nastanak PGF su niska doza CD34+ ćelija u transplantatu, infekcija citomegalovirusom (CMV), GvHD, prisustvo donor specifičnih antitela (Donor-Specific Antibody; DSA), preopterećenje gvožđem, splenomegalija. Takođe, CMV infekcija i GvHD su češće udruženi sa sekundarnim PGF u odnosu na primarni (3).

Analizom dve novije studije utvrđeno je da je doza CD34+ ćelija $5,5 \times 10^6/kg$ tm u odnosu na dozu $2,2 \times 10^6/kg$ tm povezana sa nižim rizikom za razvoj PGF (2.89% versus 5.6%; $p = 0.015$). Zao i sar. su utvrdili da je doza CD34+ ćelija $< 5 \times 10^6/kg$ tm može predstavljati nezavistan faktor rizika za razvoj primarnog PGF i u multivarijantnoj logističkoj regresionoj analizi (2).

Prisustvo donor specifičnih antitela (DSA) specifičnosti anti-HLA se takođe povezuje sa nastankom PGF. Prisustvo anti-HLA DSA povezano je sa 10 puta povećanim rizikom od odbacivanja grafta u haploidentičnoj allo-HSCT. Zato, ovih anti-HLA DSA je neophodna pre svake haploidentične allo-HSCT. Naime, po smernicama Evropskom udruženju za transplantaciju MČH (European Society for Blood and Marrow Transplantation – EBMT), granična (cut off) vrednost srednjeg intenziteta fluorescencije (Mean Fluorescence Intensity – MFI) iznosi 1000 za ovu vrstu transplantacija. Svakako, potrebno je ovakve DSA pozitivne (vrednost ≥ 1000 MFI) donore izbeći ukoliko je to

moгуће (4).

Od ostalih faktora rizika za razvoj PGF navodi se i preopterećenje gvožđem, čiju vrednost prati vrednost serumskog feritina, kao biološkog markera. Ukoliko je feritin ≥ 2000 ng/mL, on predstavlja nezavistan faktor rizika za razvoj primarnog PGF i loše sveukupno preživljavanje (2). Patofiziološki mehanizam nastanka PGF kod preopterećenja gvožđem nastaje zbog nagomilavanja slobodnih kiseoničnih radikala koji imaju supresivni efekat na mikrosredinu kostne srži i diferencijaciju CD34⁺ HSC. Takođe, gvožđe je značajan nutritivni faktor za razvoj bakterija i gljivica, te dovodi do sklonosti ka infekcijama.

Faktor rizika za razvoj primarne PGF je i splenomegalija, obzirom da se u uvećanoj slezini vrši destrukcija hematopoetskih ćelija i na taj način kompromituje engraftment. Stoga je ulazak u proceduru allo-HSCT kod bolesnika sa uvećanom slezinom, od visokog rizika za neuspeh i nepostizanje stabilnog engraftmenta. To su naročito bolesnici sa mijeloproliferativnim neoplazmama (mijelofibroza), kod kojih je slezina značajno uvećana. Utvrđeno je da je kk dijametar slezine > 12 cm i debljina veća od 4 cm nezavistan faktor rizika za razvoj PGF (2).

Infekcija sa CMV koja se javlja kod 30 – 70% primaoca transplantata HSC, a sa verovatnoćom 60 – 70% ukoliko je bolesnik seropozitivan. Naime, rizik za CMV infekciju predstavlja seropozitivnost recipijenta i donora, ili seropozitivnost recipijenta, uz seronegativnost donora. Mehanizam mijelosupresije vrši se dejstvom CMV putem infekcije stromalnih ćelija (5). Takođe su i lekovi u terapiji CMV infekcije izrazito mijelotoksični, te kao i CMV dovode do pojave PGF (6). Takođe HHV6 virus može ispoljiti izrazit mijelosupresivni efekat i dovesti do odloženog engraftmenta u slučaju da se reaktivira kod bolesnika nakon sprovedene

allo-HSCT. Njegov efekat na hematopoezu je takođe snažan, kao i kod CMV, a verovatnoća reaktivacije zasnovana je na činjenici da se preko 90% zdravih osoba inficira ovim virusom u detinjstvu, a reaktivacija se događa kod 30 – 60% bolesnika podvgnutih allo-HSCT (7).

GvHD, kao najteža imunska posredovana komplikacija nakon allo-HSCT, dovodi takođe do oštećenja mikrosredine kostne srži. Bolesnici sa GvHD gr I-IV imaju značajno niži broj trombocita na d+50 nakon transplantacije (8).

Hematopoetski oporavak kod bolesnika sa PGF i GvHD je udružen sa rezolucijom GvHD.

Ostali faktori rizika za PGF su starija životna dob, inkompatibilija u ABO krvnom sistemu, intenzitet kondicionog režima, nepotpuna podudarnost u HLA sistemu (9/10) između donora i recipijenta itd.

Mehanizmi nastanka slabosti Kalema

HSC se nalaze u mikrosredini kostne srži (hematopoetske niše) i ona omogućava kompleksnu povezanost hematopoetskih ćelija i ćelija strome. Većina HSC se nalazi u perivaskularnim prostorima. Perivaskularne stromalne ćelije koje ih okružuju su mezenhimalne matične ćelije (MSCs), endotelne ćelije (ECs), adipociti, makariorociti, osteoblasti, makrofagi i regulatorni T limfociti (Tregs).

Pored navedenih ćelija, citokini koje one sekretuju, stem cell faktor i CXCL12, ključne su komponente niša koje regulišu homeostazu HSCs (9). Same HSCs opstaju u relativno hipoksičnim uslovima u kostnoj srži (10). Zna se da mikrosredina kostne srži igra ključnu ulogu u nastanku PGF, mada svi mehanizmi nisu u potpunosti razjašnjeni. MCs su smanjenog broja i funkcionalnosti u uslovima PGF i ispoljavaju veći stepen apoptoze i starenja (11). S druge strane je

prisutno intracelularno povećanje p-p53, p21, slobodnih radikala kiseonika u MCs kod bolesnika sa PGF. Na taj način smanjuje se mogućnost održavanja funkcionalnog kapaciteta hematopoeze

Pored MCs, ECs su važni deo strome i ubrzavaju oporavak vaskularne mreže kostne srži, njenu celularnost i utiču na hematopetski i imunski oporavak u mišjim modelima (12).

Dve prospektivne studije su pokazale da je broj ECs značajno niži kod bolesnika koji imaju primarni i sekundarni PGF (13). Kod PGF, ECs nisu samo brojčano smanjene, već su i disfunkcionalne, sa oštećenjem funkcije proliferacije, migracije, angiogeneze, sa višim stepenom apoptoze i prisustva kiseoničnih radikala.

Povećanje slobodnih formi kiseoničnih radikala utiče na iscrpljivanje CD34⁺ HSC kostne srži koje su u stanju mirovanja (14). U nišama kostne srži normalno vladaju hipoksični uslovi koji su ključni za održavanje funkcija HSC, u smislu, preživljavanja, kontrole ćelijskog ciklusa i održavanja metabolizma koji ih štiti od oksidativnog stresa (15).

Ćelije imunskog sistema mikrosredine kostne srži imaju takođe ključnu ulogu u regulaciji hematopoeze. Utvrđeno je povećanje proinflamatornih M1 makrofaga i redukcija antiinflamatornih M2 makrofaga kod bolesnika sa PGF (16). Funkcija makrofaga kostne srži (proliferacija, migracija, i fagocitoza) je takođe poremećena, a ne samo njihov broj. Oštećena je i funkcija CD34⁺ HSC kod kojih postoji ushodna regulacija (up regulacija) p38 MAPK signalnog puta. Potoji i značajno veća proporcija Th1 i Tc1 limfocita koji produkuju IFN gama, a smanjenje proporcije Th2 i Tc2 ćelija koje produkuju IL-4, što dovodi do šifta Th1/Th2 i Tc1/Tc2. Takođe su Th17 i Tc17 ćelije (koje produkuju IL-17) značajno povećane, kao i odnos Th17/Treg kod PGFa. T

reg su ključne ćelije u regulaciji imunskog odgovora. Kod prolongirane trombocitopenije u sklopu PGF, povećani su IGFBP-1 (insulin-like growth factor-binding protein i RANTES (regulated on activation, normal T cell expressed and secreted), i to dovodi do oštećene funkcije megakariocita (17). Kod sekundarnog PGF, povećani su GPI-AP (glycosylphosphatidyl inositolanchored Protein) leukociti i HLA-alel nedostajući leukociti.

Terapijski principi

Standardne terapijske opcije kod postojanja PGF uključuju primenu hematopoetskih faktora rasta kao što su faktor stimulacije granulocitnih kolonija (Granulocyte Colony-Stimulating Factor; G-CSF), eritropoetin (EPO) infuziju dodatnih ćelija donora (Stem Cell Boost; SCB), i sekundarnu allo-HSCT. Hematopoetski faktori rasta G-CSF i EPO povećavaju broj neutrofilnih granulocita i vrednost hemoglobina, ali kratkotrajno uz potrebu za čestim ponavljanjem terapije što vodi ka aloimunizaciji i opterećenjem gvožđem usled čestih transfuzija.

S druge strane SCB i sekundarna allo-HSCT ispoljavaju veći stepen efikasnosti. Međutim, zbog pojave GvHD-a, nakon njihove primene dugotrajno sveukupno preživljavanje nije značajno bolje (18). U ciklu redukcije akutnog i hroničnog GvHD umesto neselektovanog SCB, koristi se CD34⁺ selektovan SCB (19)

Takođe, MSCs predstavljaju dobru terapijsku opciju zbog sopstvene manje imunogenosti u odnosu na HSCs.

Prednost CD34⁺ SCB je u tome što ne mora da se koristi novi kondicioni režim, koji je neophodan kod sekundarne allo-HSCT, koja u tom slučaju nosi veći rizik od kumulativne tkivne i ćelijske toksičnosti. Terapijska stopa odgovora i oporavak od trilinearne citopenije iznosile su 83% i 75% u

studiji Stasia i sar. bez obzira na vrstu donora (20). Procedura je takođe sigurna, uz nizak rizik od nastanka a GvHD gr II, bez pogoršanja prethodnog cGvHD. Nije ispoljen značajan stepen toksičnosti vezan za primenu CD34+ CB, a ovom metodom dobijana uz pomoć imunomagnetne selekcije, depletiraju se T limfociti, što je više moguće. To se vrti pozitivnom imunomagnetnom selekcijom CD34+ HSC i deplecijom T limfocita.

Uvek je za dobijanje SCB potrebna volja donora da se podvrgne novoj aferezi nakon sekundarnog procesa mobilizacije, te je u tom aktu potrebno uzeti dovoljno ćelija i deo njih zamrnuti kao hematopoetski "rescue", za slučaj da je potrebna njihova ponavljana aplikacija. Poređenjem tzv. živih i kriokonzerviranih ćelija, koje su naknadno odmrznute i primenjene, nisu nađene razlike u stopi odgovora. Primenom kombinacije G-CSFa i plerixafora povećava se ćelijski prinos CD34+ HSC, u odnosu na samo primenu G-CSFa (21).

Obzirom da je u osnovi PGF disfunkcija MSCs u kostnoj srži, njihova primena može biti efikasna strategija lečenja (1).

Takođe, MSCs su značajno manje imunogene i ne moraju se prikupljati od originalnog tj prethodno korišćenog donora. Sveukupno preživljavanje nakon primene MSCs u lečenju PGF iznosi 70%, bez značajnih neželjenih događaja (22). Rezultati koji se odnose na primenu MSCs dobijeni su na malim serijama bolesnika. Pored uspešnog hematopoetskog oporavka, verifikovano je prisustvo infekcija, virusnih, bakterijskih i gljivičnih kod više od polovine bolesnika (23).

Nove strategije lečenja

Novi lekovi su pokazali povoljne efekte u lečenju PGFa. Tako atorvastatin, koji se koristi u lečenju dislipidemije, poboljšava

funkciju endotelnih progenitorskih ćelija (EPCs), i to kvantitativno i kvalitativno u in vitro studijama (13).

N-acetil-cistein (NAC) u mišjim modelima poboljšava engraftment HSCs redukujući nivo slobodnih kiseoničnih radikala (ROS) (24). Kliničke studije su pokazale da NAC poboljšava oštećenje funkcije ECs kostne srži kod bolesnika sa PGF (25). Tako je kod 35 bolesnika sa PGF tretiranih NAC-om, došlo do rekonstitucije ECs kostne srži i CD34+ HSC, a koje su inicijalno bile < 0.1%, sa konsekutivnim smanjenjem incidence PGFa. Eltrombopag agonista trombopotinskih receptora (TPO), stimuliše TPO receptor c-mpl, kako na megakariocitima, tako i na HSCs. Na taj način dovodi do produkcije megakariocita i trombocita i koristi se za lečenje aplastične anemije i post-transplantacione trombocitopenije.

U lečenju sekundarnog PGF, dovodi do remisije kod 10/12 bolesnika (1).

Pokazano je da i helatori gvožđa, kakav je deferazirox poboljšavaju hematopoetski odgovor kod nekih bolesnika sa aplastičnom anemijom i akutnom leukemijom

Olivietti i sar. su pokazali da kod bolesnika sa aplastičnom anemijom i PGF nakon allo-HSCT, dolazi do kompletnog hematološkog oporavka nakon primene deferaziroxa, kao helatora (26). Naši rezultati su pokazali da učestalost PGF iznosi 34%, što je nešto više u odnosu na publikovane rezultate (2). Kod 92% bolesnika sa PGF dokazana je CMV reaktivacija zbog koje su primali specifičnu terapiju. Smrtnost bolesnika sa PGF iznosila je 46%, a jedno-godišnje preživljavanje 23%, što je u skladu sa literaturnim podacima (2).

Zaključak

PGF je teška komplikacija nastala nakon allo-HSCT i nosi sa sobom visok stepen mortaliteta. Bolesnici sa PGF imaju jako

loše preživljavanje kada se ne leče. Najvažniji faktori rizika za njegov nastanak su mala doza CD34⁺ HSC, prisustvo DSA, CMV infekcija, GvHD, opterećenje gvo-ždem (visok veritin), splenomegalija. Potrebno je uzeti u obzir sve pretransplantacione faktore rizika, i pokušati prevenirati nastanak PGFa. Poremećaji na nivou mi-krosredine kostne srži imaju ključnu ulogu u patogenezi, te se terapija usmerava na poboljšanje mikrosredine kostne srži i na hematopoetski oporavak. To je i dovelo do razvoja novih terapijskih strategija. Primenuje se svež ili krioprezerviran CD34⁺ SCB bez prethodnog kondicioniranja kao sigurna i efikasna strategija lečenja. MSCs mogu poboljšati prognozu PGF, ali i povećavaju rizik od infekcija. I na kraju, nove terapijske opcije kao što je atorvastatin, NAC, eltrombopag, deferasirox pokazuju dobar stepen toleracije i dobru efikadnost. Sve studije su do sada sprovedene na malom broju ispitanika, a neka ispitivanja su rađena samo u in vitro uslovima. Stoga će buduće prospektivne randomizovane, dobro kontrolisane studije biti neophodne za potvrdu dosadašnjih rezultata.

Literatura:

1. Chen J , Wang H, Zhou J and Feng S. Advances in the understanding of poor graft function following allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation. *Ther Adv Hematol* 2020, Vol. 11: 1–13 DOI: 10.1177/ 2040620720948743
2. Zhao Y, Gao F, Shi J, et al. Incidence, risk factors, and outcomes of primary poor graft unction after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2019; 25: 1898–907.
3. Sun YQ, He GL, Chang YJ, et al. The incidence, risk factors, and outcomes of primary poor graft function after unma-
4. Ciurea SO, Cao K, Fernandez-Vina M, et al. The European society for blood and marrow transplantation (EBMT) consensus guidelines for the detection and treatment of donor-specific Anti-HLA antibodies (DSA) in haploidentical hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2018; 53: 521–34.
5. Einsele H, Ljungman, P and Boeckh M.- How I treat CMV reactivation after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2020;135(19):1619–29.
6. Cho SY, Lee DG and Kim HJ. Cytomegalovirus infections after hematopoietic stem cell transplantation: current status and future immunotherapy. *Int J Mol Sci* 2019; 20: 2666.
7. Perruccio K, Sisinni L, Perez-Martinez A, et al. High incidence of early human herpesvirus-6 infection in children undergoing haploidentical manipulated stem cell transplantation for hematologic malignancies. *Biol Blood Marrow Transplant* 2018; 24: 2549–57.
8. Dominiotto A, Raiola AM, van Lint MT, et al. Factors influencing haematological recovery after allogeneic haematopoietic stem cell transplants: graft-versus-host disease, donor type, cytomegalovirus infections and cell dose. *Br J Haematol* 2001; 112: 219–27.
9. Ding L, Saunders TL, Enikolopov G, et al. Endothelial and perivascular cells maintain haematopoietic stem cells. *Nature* 2012; 481: 457–62.
10. Nombela-Arrieta C, Pivarnik G, Winkel B, et al. Quantitative imaging of haematopoietic stem and progenitor cell localization and hypoxic status in the bone marrow microenvironment. *Nat Cell Biol* 2013; 15: 533–43.

11. Song Y, Zhao HY, Lyu ZS, et al. Dysfunctional bone marrow mesenchymal stem cells in patients with poor graft function after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2018; 24: 1981–89.
12. Zeng L, Chen C, Song G, et al. Infusion of endothelial progenitor cells accelerates hematopoietic and immune reconstitution, and ameliorates the graft-versus-host disease after hematopoietic stem cell transplantation. *Cell Biochem Biophys* 2012; 64: 213–22.
13. Kong Y, Wang YT, Hu Y, et al. The bone marrow microenvironment is similarly impaired in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation patients with early and late poor graft function. *Bone Marrow Transplant* 2016; 51: 249–55.
14. Kong Y, Song Y, Hu Y, et al. Increased reactive oxygen species and exhaustion of quiescent CD34-positive bone marrow cells may contribute to poor graft function after allotransplants. *Oncotarget* 2016; 7: 30892–906.
15. Moirangthem RD, Singh S, Adsul A, et al. Hypoxic niche-mediated regeneration of hematopoiesis in the engraftment window is dominantly affected by oxygen tension in the milieu. *Stem Cells Dev* 2015; 24: 2423–36.
16. Zhao HY, Lyu ZS, Duan CW, et al. An unbalanced monocyte macrophage polarization in the bone marrow microenvironment of patients with poor graft function after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol* 2018; 182: 679–92.
17. Liu C, Yang Y, Wu D, et al. Inflammation associated cytokines IGFBP1 and RANTES impair the megakaryocytic potential of HSCs in PT patients after Allo-HSCT. *Biol Blood Marrow Transplant* 2018; 24: 1142–51.
18. Lund TC, Liegel J, Bejanyan N, et al. Second allogeneic hematopoietic cell transplantation for graft failure: poor outcomes for neutropenic graft failure. *Am J Hematol* 2015; 90: 892–6.
19. Haen SP, Schumm M, Faul C, et al. Poor graft function can be durably and safely improved by CD34+-selected stem cell boosts after allogeneic unrelated matched or mismatched hematopoietic cell transplantation. *J Cancer Res Clin Oncol* 2015; 141: 2241–51.
20. Stasia A, Ghiso A, Galaverna F, et al. CD34 selected cells for the treatment of poor graft function after allogeneic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2014; 20: 1440–3.
21. Ghobadi A, Fiala MA, Ramsingh G, et al. Fresh or Cryopreserved CD34+-selected mobilized peripheral blood stem and progenitor cells for the treatment of poor graft function after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2017; 23: 1072–7.
22. Servais S, Baron F, Lechanteur C, et al. Multipotent mesenchymal stromal cells for poor graft function after allogeneic hematopoietic cell transplantation: a multicenter prospective study. *Blood* 2019; 134: 37.
23. Liu X, Wu M, Peng Y, et al. Improvement in poor graft function after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation upon administration of mesenchymal stem cells from third-party donors: a pilot prospective study. *Cell Transplant* 2014; 23: 1087–98.
24. Hu L, Cheng H, Gao Y, et al. Antioxidant N-acetyl-L-cysteine increases engraftment of human hematopoietic stem cells in immunodeficient mice. *Blood* 2014; 124: e45–e48.
25. Kong Y, Wang Y, Zhang YY, et al.



Prophylactic oral NAC reduced poor hematopoietic reconstitution by improving endothelial cells after haploidentical transplantation. Blood Adv 2019; 3: 1303–17.

26. Olivieri J, Mancini G, Goteri G, et al. Reversal of poor graft function with iron-chelating therapy after allogeneic transplantation for severe aplastic anemia. Leuk Lymphoma 2016; 57: 965–8.

Autor za korespondenciju:

Prof. dr Milena Todorović Balint

Klinika za hematologiju, Univerzitetski klinički centar Srbije
Dr Koste Todorovića 2,
11 000 Beograd, Srbija

Tel: +38163344133

Email: bb.lena@gmail.com

UTICAJ KRVNE GRUPE ABO I RHD NA KINETIKU PRIHVATANJA ALOKALEMA I ISHOD ALOGENE TRANSPLANTACIJE MATIČNIH ĆELIJA HEMATOPOEZE

Glorija Blagojević¹, Milena Todorović Balint^{2,3},
Zorana Andrić¹, Bela Balint^{4,5,6}, Bjanka Lako Šoškić¹

¹ Institut za transfuziju krvi Srbije, Beograd;

² Klinika za hematologiju Univerzitetski klinički centar Srbije, Beograd;

³ Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu;

⁴ Institut za kardiovaskularne bolesti Dedinje, Beograd;

⁵ Medicinski fakultet VMA, Univerzitet odbrane, Beograd;

⁶ Odeljenje medicinskih nauka, Srpska akademija nauke i umetnosti.

Sažetak

Alogena transplantacija matičnih ćelija hematopoeze (MČH) se više decenija uspešno primenjuje u lečenju brojnih urođenih i stečenih, malignih i benignih hematoloških, ali i drugih oboljenja. Pored podudarnosti, u sistemu humanih leukocitnih antigena (HLA) između davaoca i primaoca, na ishod transplantacije utiče i vrsta oboljenja, stadijum bolesti, uzrast bolesnika, kondicioni režim i profilaksa post-transplantacijskih komplikacija. Nepodudarnost bolesnika i davaoca u sistemu ABO nije kontraindikacija za izvođenje transplantacije i prisutna je kod oko jedne trećine od ukupnog broja transplantacija. Postoje tri oblika ABO-nepodudarnosti: a) major (npr. primalac O, davalac A) koju odlikuje prisustvo antitela u cirkulaciji primaoca koja su usmerena protiv eritrocitnih antigena davaoca; b) minor (npr. primalac A, davalac O) čija je karakteristika prisustvo antitela u suspenziji MČH usmerena na eritrocite primaoca; c) bidirekcijska ili dvosmerna inkompatibilija (npr. davalac A, primalac B) koja predstavlja kombinaciju prethodna dva oblika. Uprkos adekvatnim pripremnim procedurama u pretransplantacijskom toku, kod svih ABO inkompatibilija između davaoca i primaoca postoji rizik od hemolizne reakcije. U pojedinim slučajevima može doći i do odloženog prihvatanja kalema crvene loze i čiste aplazije crvene loze, naročito ukoliko postoji major ili bidirekcijska ABO-inkompatibilija. Sve veći broj autora ABO-inkompatibiliju navodi kao jedan od uzroka nastanka bolesti kalem protiv domaćina. Nasupot tome, neki autori tvrde da ABO inkompatibilija ne dovodi do neželjenih reakcija nakon transplantacije matičnih ćelija hematopoeze.

Ključne reči: alogena transplantacija, matične ćelije hematopoeze, ABO-inkompatibilija

Uvod

Alogena transplantacija matičnih ćelija hematopoeze (MČH) se više decenija uspešno primenjuje u lečenju brojnih urođenih i stečenih, malignih i benignih hematoloških, ali i drugih oboljenja. Usavršavanjem protokola kondicioniranja i prikupljanja matičnih

ćelija hematopoeze, transplantacija MČH postaje utemeljen način lečenja za mnoga hematološka i onkološka oboljenja, bolesti imunog sistema i metabolizma. Pored podudarnosti u sistemu humanih leukocitnih antigena (HLA) davaoca i primaoca, na ishod alogene transplantacije, utiču i dijagnoza, stadijum bolesti, godine bolesnika,

režim kondicioniranja i profilaksa komplikacija nakon transplantacije. Pokazano je da podudarnost u sistemu HLA smanjuje smrtnost i rizik za pojavu teškog oblika bolesti „kalem protiv domaćina“ i udružena je sa boljim preživljavanjem bez bolesti u poređenju sa transplantacijom od nepodudarnog davaoca (1–4).

Uvođenjem režima kondicioniranja sa smanjenim intenzitetom, kao što su nemijeoablativni i režim redukovano intenziteta (*Reduced-Intensity Conditioning Regimen* – RIC) polje transplantacije je prošireno i na starije bolesnike i bolesnike sa komorbiditetima (5–7).

Alogena transplantacija u odnosu na tip davaoca može biti srodna i nesrodna. S obzirom na to da se geni sistema HLA nasleđuju kao haplotip, verovatnoća da su rođeni brat ili sestra potpuno podudarni ili potpuno različiti u HLA iznosi 25%, a 50% da su poluidentični. Najbolji davalac za bolesnika kome je potrebna transplantacija je rođeni brat ili sestra koji su potpuno podudarni u sistemu HLA (8).

Haploidentična transplantacija od srodnog davaoca je terapijska opcija kod bolesnika koji nemaju srodnog podudarnog davaoca ili ukoliko se nema dovoljno vremena za pronalaženje podudarnog nesrodnog davaoca. Zajednički haplotip podrazumeva podudarnost ne samo u glavnim histokompatibilnim lokusima, nego i drugim imunološki relevantnim lokusima na zajedničkom haplotipu. Zbog ogromnog polimorfizma sistema HLA, mala je verovatnoća da dve osobe koje nisu u srodstvu budu HLA podudarne. Ukoliko bolesnik nema odgovarajućeg davaoca u okviru svoje porodice, pronalaženje nesrodnog podudarnog davaoca omogućeno je postojanjem Registara davalaca MČH (9–11). Za više od 80% transplantacija izvor

MČH je periferna krv (*Peripheral Blood Stem Cell* – PBSC). Ova procedura je u potpunosti automatizovana, izvodi se na separatoru krvnih ćelija sa standardizovanim protokolima, uz kontrolu i očuvanje kvaliteta pripremljenog ćelijskog produkta. Najčešće korišćeni agens za mobilizaciju matičnih ćelija hematopoeze iz srži u perifernu krv je granulocitni faktor rasta (*Granulocyte Colony Stimulating Factor* – G-CSF). Brojne studije su jasno pokazale da postoje prednosti alogene transplantacije MČH poreklom iz periferne krvi u odnosu na kostnu srž. To su manja stresna procedura po davaoca, brže prihvatanja kalem, značajno snižena incidenca ranih komplikacija vezanih za period jatrogene aplazije. Nasuprot tome, kasne imunske komplikacije, kao što je hronična bolest kalem protiv domaćina (*Graft versus Host Disease* – GvHD) se znatno češće javljaju kada je izvor periferna krv (5, 11–14). Sve ređe, izvor je kostna srž (*Bone Marrow* – BM) gde se MČH prikupljaju multiplim aspiracijama iz spongičnih delova kostiju. Najzad, izvor matičnih ćelija je i krv pupčanika (umbilikalne MČH). Odluka o izboru izvora MČH zavisi od osnovne bolesti, uzrasta bolesnika, stadijuma bolesti i želje davaoca. Posle prikupljanja, MČH mogu biti transplantirane neposredno po uzimanju ili posle skladištenja u zamrznutom stanju. Broj ukupnih nukleisanih ćelija (*Total Nucleated Cells* – TNC) u krajnjem produktu treba da bude najmanje $2-4 \times 10^8/\text{kg}$ tm kada se ćelije prikupljaju iz kostne srži, odnosno broj CD34+ $2-5 \times 10^6/\text{kg}$ tm primaoa kada je u pitanju periferna krv. Dovoljan broj CD34+ ćelija u produktu dovodi do bržeg prihvatanja neutrofila i trombocita, smanjuje vreme hospitalizacije, smanjuje broj primenjenih krvnih produkata i snižava incidencu infekcija (12, 15, 16).

Nepodudarnost bolesnika i davaoca u sistemu ABO nije kontraindikacija za izvođenje transplantacije i očekivana je kod oko

jedne trećine od ukupnog broja transplantacija (17).

Krvnogrupalni sistemi ABO i Rhesus

Krvnogrupalni sistem ABO je otkrio Karl Landsteiner početkom dvadesetog veka, je najznačajniji sistem za kliničku transfuzionu medicinu. U zavisnosti od toga koju je krvnu grupu sistema ABO nasledio, u serumu bolesnika mogu da budu prisutna prirodna anti-A i/ili anti-B antitela protiv antigena koji ne poseduje na svojim eritrocitima. Krvnogrupalni sistem ABO se sastoji iz dva antigena A i B koji su indirektni produkti alela A i B. Treci alel, O, je recisiv u odnosu na prva dva. Za stvaranje antigena sistema ABO neophodan je antigen H koji se nasledjuje nezavisno od njih. Antigeni se nalaze na membrani eritrocita, trombocita, mnogim tkivima i pripadaju liposolubilnim, a u većini telesnih tečnosti hidrosolubilnim grupospecifičnim supstancama. Geni za regulaciju ekspresije ABO sistema se nalaze na hromozomu 9. Postoje četiri krvne grupe sistema ABO: A, B, AB i O (18, 19).

Ukoliko davalac i primalac matičnih ćelija hematopoeze nisu iste krvne grupe, transplantacija je moguća uprkos ABO inkompatibiliji. Postoje tri tipa ABO inkompatibilije: major, minor i bidirekcijska inkompatibilija (20).

Major ABO-inkompatibilija

Kod major ABO-inkompatibilije, eritrociti davaoca nisu kompatibilni sa plazmom primaoca, odnosno na eritrocitima davaoca se nalaze antigeni A, B, ili A i B, a u plazmi bolesnika se nalaze prirodno prisutna antitela usmerena na pomenute antigene. Takođe, major inkompatibilija postoji i kada su prisutna neka druga antitela – kao što su anti-D antitela iz sistema Rhesus u plazmi

primaoca usmerena protiv antigena koja se nalaze na membrani eritrocita davaoca (21). Da bi se sprečila hemolizna reakcija nakon major inkompatibilne transplantacije, postoje različite strategije obrade produkta u zavisnosti da li je izvor MČH periferna krv ili kostna srž. S obzirom na činjenicu da je hematokrit kostne srži oko 30%, neophodno je smanjiti količinu inkompatibilnih eritrocita iz produkta ili sniziti koncentraciju antitela u plazmi primaoca. Prilikom obrade produkta, dolazi do gubitka dela MČH. Zato neki centri obrađuju BM jedino ukoliko je titar izohemaglutinina viši od 64, odnosno 128. Prikupljanje MČH iz periferne krvi pomoću separatora krvnih ćelija podrazumeva automatizovano smanjenje broja eritrocita na što niži nivo, te se obrada produkta ne primenjuje (22, 23–25).

Najnovije preporuke Evropskog udruženja za transplantaciju MČH (*European Society for Blood and Marrow Transplantation – EBMT*) su da ukoliko je titar izohemaglutinina u plazmi bolesnika viši ili jednak 32, količina eritrocita u PBSC graftu bi trebalo da bude manja od 20 mL, a deplecija eritrocita u BM je obavezujuća. Ukoliko je titar niži od 16, obrada PBSC nije potrebna. Uklanjanje eritrocita iz BM se može uzeti u razmatranje, ali nije obavezujuće (26).

Preporuka nekih centara je da se terapijskim izmenama plazme uklone anti-davaočeva antitela ukoliko je titar viši od 32, posebno kod bolesnika sa aplastičnom anemijom (22, 23).

Minor ABO-inkompatibilija

Kod minor ABO inkompatibilije karakteristično je prisustvo antitela u suspenziji MČH usmerenih protiv eritrocitnih antigena primaoca (npr. u plazmi davaoca krvne grupe O nalaze se prirodna anti-A i anti-B antitela, a na eritrocitima primaoca krvne grupe A, B ili AB se nalaze antigeni A, B, ili A i B). Da bi se izbegla hemoliza eritrocita primaoca, ukoliko se MČH

prikupljaju iz kostne srži, nepходно je deplazmatisati produkt (60).

Preporuke EBMT je deplazmatisanje produkta (BM i PBSC) ukoliko je titar prirodno prisutnih antitela u plazmi davaoca viši od 256. Ukoliko je titar niži od 128, treba razmotriti deplazmatisanje produkta dobijenog iz kostne srži. (26)

Minor ABO-inkompatibilna transplantacija bi mogla rezultovati blažim oblikom imunske hemolize. Ona se obično manifestuje od 7–10 dana posle transplantacije i traje oko dve naredne nedelje. To obično nije posledica pasivnog unošenja inkompatibilnih antitela, nego njihove naknadne produkcije in vivo od strane davaočevih B limfocita. (20)

Bidirekcijska ABO-inkompatibilija

Kod bidirekcijske inkompatibilije postoji kombinacija prethodna dva oblika. U dvosmernoj inkompatibiliji primalac je krvne grupe A ili B, a davalac B ili A, pa istovremeno postoji inkompatibilija eritrocita primaoca i plazme davaoca i obrnuto (60). Preporuke EBMT su da ukoliko je visok titar anti-davaočevih antitela, istovremeno treba deplazmatisati produkt i sniziti količinu eritrocita (26).

RhD-inkompatibilija

Pored ABO sistema, i u sistemu Rh može biti neslaganja. Oko 80% RhD negativnih bolesnika se imunizuje ukoliko primi RhD pozitivne eritrocite. Studije koje se odnose na transplantirane bolesnike pokazale su da je učestalost anti-D aloimunizacije 10% kod RhD pozitivnih bolesnika sa RhD negativnim davaocem. Učestalost imunizacije je manja zbog primene imunosupresivnih lekova. Kada je davalac RhD pozitivan, a primalac Rh negativan, u pitanju je major RhD inkompatibilija. Pošto do stvaranja an-

ti-D antitela retko dolazi, strategija transplantacionih centara je da se produkt MČH ne obrađuje. Izuzetak su već imunizovani bolesnici (bolesnici sa anti-D antitelima u plazmi). U minor RhD inkompatibiliji davalac je RhD negativan, a primalac RhD pozitivan. Može doći do imunizacije primaoca i stvaranja anti-D antitela usled kontakta imunih ćelija iz transplantata sa RhD pozitivnim eritrocitima bolesnika. Ova komplikacija se ne može sprečiti obradom produkta. U slučaju RhD pozitivnog bolesnika koji dobija RhD-negativni transpl-antat, limfociti donora su izloženi eritrocitima primaoca, što može dovesti do de novo RhD imunizacije u periodu nakon transplantacije. Razvoj anti-D antitela obično ne utiče na ishod transplantacije i nije od kliničkog značaja u posttransplantacionom toku odraslih (27–29).

Suportivna terapija kod ABO-inkompatibilnih transplantacija MČH

Prema preporukama EBMT, transfuzija eritrocita nakon alogene transplantacije MČH se primenjuje ako je vrednost hemoglobina 80g/l za hemodinamski stabilne bolesnike. Profilaktička primena trombocita kod afebrilnih bolesnika koji ne krvare je broj trombocita $10 \times 10^9/l$ (26).

Suportivna terapija posle transplantacije MČH, podrazumeva neke specifičnosti kod ABO-inkompatibilije čije poštovanje je neophodno radi prevencije neželjenih efekata. Kod major ABO-nepodudarnih transplantacija trebalo bi transfundovati eritrocite krvne grupe primaoca dok su primaočeva aloantitela (anti-A/B) prisutna u cirkulaciji, odnosno dok rezultat direktnog antiglobulinskog testa (DAT) ne postane negativan. Plazma, kao i sve komponente krvi koje sadrže veću količinu plazme (trombociti, zamrznuta sveža plazma) trebalo bi da budu krvne grupe davaoca, da ne bi došlo do pa-

sivnog prenosa inkompatibilnih antitela. U slučaju minor inkompatibilije, trebalo bi transfundovati eritrocite krvne grupe davaoca, a plazmatske komponente krvne grupe primaoca, dok sopstveni eritrociti ne iščeznu iz cirkulacije. U slučaju bidirekcijske inkompatibilije, primenjuju se eritrociti krvne grupe O, a trombocite krvne grupe AB. U slučaju RhD-inkompatibilije, bolesnici bi trebalo da primaju RhD negativne komponente (26, 30, 31).

Komplikacije ABO-inkompatibilne transplantacije MČH

Rezultati o uticaju ABO-inkompatibilije na sveukupni tok i ishod transplantacije (prihvatanje kalema, pojava ranih i kasnih hemoliznih komplikacija, učestalost, vrsta i stepen GVHD, relaps bolesti i ukupno preživljavanje) su oprečni. Odredjeni stepen rizika hemolizne reakcije postoji kod svih oblika ABO-nepodudarnih transplantacija, uprkos izvedenim procedurama pretransplantacione pripreme (7, 32).

Akutna i odložena hemoliza

Kao posledica ABO inkompatibilne transplantacije mogu nastati hemolizne transfuzijske reakcije. U zavisnosti od vremena nastanka može se napraviti razlika između neposredne (tokom infuzije grafta) ili odložene hemolizne reakcije. Akutna hemoliza se obično javlja kada se koriste produkti MČH poreklom iz kostne srži jer sadrže veću količinu eritrocita (približno 200 – 450 mL) i plazme (preko 1000 mL). Kod minor ABO inkompatibilne transplantacije MČH poreklom iz kostne srži, radi se uklanjanje izohemaglutinina. Kod major ABO inkompatibilije, iz produkta se uklanjaju eritrociti ili se terapijskim izmenama plazme snižava titar prirodno prisutnih antitela kod primaoca. Kod primene MČH poreklom iz pe-

riferne krvi, nije potrebno primenjivati postupke obrade produkta s obzirom na to da je u produktu MČH prisutan manja količina eritrocita (oko 8 – 15 mL) i plazme (200 – 500 mL) (33, 34, 37).

Kod primene RIC kondicioniranja postoji povećana incidenca za 30% odložene hemolizne transfuzijske reakcije kod minor ABO-inkompatibilne transplantacije koja se obično javlja 7 – 14 dana nakon transplantacije. Razlog nastanka ove komplikacije je veća količina preostalih eritrocita primaoca zbog smanjene doze hemio/radioterapije i povećane proizvodnje izohemaglutinina od strane B limfocita davaoca (sindrom *passenger* limfocita), posebno ukoliko je produkt prikupljen iz periferne krvi. Laboratorijske znakove intravaskularne hemolize (pad hematokrita i haptoglobina; povišeni nivoi slobodnog hemoglobina i laktat dehidrogenaze) treba pratiti kod bolesnika 2 h i 24 h nakon transplantacije. Ukoliko nastane hemoliza, u većini slučajeva, direktni anti-globulinski test će biti pozitivan (34–37).

Čista aplazija crvene loze

Čista aplazija crvene loze (*Pure Red Cell Aplasia* – PRCA) je moguća komplikacija major ABO-inkompatibilije. Radi se o poremećaju u kome postoji inhibicija u sazrevanju ćelija eritrocitne loze. Bolesnici sa PRCA obično imaju normocitnu ili ređe makrocitnu anemiju. Eritroblasti su deficitarni u kostnoj srži, ali je produkcija leukocita i trombocita normalna. Smatra se da je u osnovi PRCA inhibicija davalac-specifične eritrocitopoeze posredstvom primaočevih anti-A/B antitela (36, 38). Češće se primećuje ukoliko je davalac A krvne grupe, a primalac O i rezultat je prisustva rezidualnih B limfocita ili plazma ćelija koje proizvode izohemaglutinine usmerene protiv davaočevih eritrocita. Bolan i saradnici (36) su pokazali da se rizik od PRCA povećava

upotrebom RIC-a. Studije Lee i i Schetelig (39, 40) su dokazale da prisustvo visokog titra anti-A izohemaglutinina dovodi do nastanka PRCA. Ukoliko PRCA perzistira i nakon 60 dana, ne očekuje se sponatna remisija. Opisani su različiti modaliteti lečenja za uklanjanje perzistentnih izohemaglutinina, kao što su primena eritropoetina, terapijske izmene plazme ili imunoadsorpcije, smanjenje imunosupresivnih lekova ili davanje infuzije donorskih limfocita (DLI). Pored toga, upotreba rituksimaba (monoklonskog antitela usmerenog protiv CD20-pozitivnih B ćelija) pokazala se efikasnom u nekim prikazima slušajeva. Ukoliko se iscrpe druge terapijske mogućnosti, bortezomib se pokazao efikasnim u lečenju PRCA (36, 39–41).

Odloženo prihvatanje Kalema

Prihvatanje kalema (engraftment) bele loze je definisano brojem neutrofila većim od $0,5 \times 10^9/l$, tri uzastopna dana bez primene G-SCF. Engraftmentom trombocita i eritrocita se podrazumeva broj trombocita veći od $20 \times 10^9/l$, vrednost hemoglobina iznad 80g/l, tri uzastopna dana bez primenjene transfuzije (26).

S obzirom da se antigeni sistema ABO nalaze i na eritrocitima, trombocitima i leukocitima, brojne studije su ispitivale uticaj ABO inkompatibilije na prihvatanje svake loze pojedinačno (23, 43, 44, 45–46). Nekoliko autora je pokazalo da prisustvo anti-davaočevih izohemaglutinina u major ABO inkompatibiliji može odložiti oporavak eritrocita i povećati potrebe za transfuzijom eritrocita nakon transplantacije. Seebach saradnici (23) su u velikoj internacionalnoj studiji upoređivali bolesnike sa ABO-inkompatibilnom transplantacijom (njih 995) sa ABO-kompatibilnom transplantacijom (2108). Svi bolesnici su imali podudranog srodnog davaoca i primili

mijeloablativni režim kondicioniranja. Studija je pokazala da su bolesnici sa major ABO-nepodu-darnim davaocem primili više transfuzija eritrocita i imali odložen engraftment neutron fila. Odložen engraftment neutrofila kod ABO-inkompatibilnih parova u odnosu na ABO-kompatibilne je pokazana i u novijoj studiji Ataca i saradnika (43).

U studiji koja je obuhvatala 432 bolesnika, Valentini i saradnici (44) su u univarijantnoj analizi pokazali da ABO-inkompatibilija dovodi do odloženog prihvatanja sve tri loze. Takodje bolesnici su imali veće potrebe za suportivnom terapijom eritrocitima i trombocitima nakon transplantacije.

Za razliku od prethodnih autora, Danstan i Cooling (45, 46) nisu doveli u vezu ABO inkompatibilne transplantacije sa sporijim oporavkom leukocita i trombocita nakon ABO inkompatibilnih transplantacija. Iako su studije japanskog registra (JMDP, u koju je uključeno 5549 bolesnika) (47) i francuskog registra (Societe Francaise de Greffe de Moelle et de Therapie Cellulaire u koju je uključeno 1108 bolesnika) (48) dokazale povezanost sa sporijim engraftmentom neutrofila kod major ABO inkompatibilije, studija najvećeg američkog registra (NMDP sa 6978 bolesnika) (49) nije dovela do istog zaključka. Canaani i saradnici (50) u grupi od 837 bolesnika nisu pokazali uticaj ABO-inkompatibilije na prihvatanje kalema nakon haploidentičnom transplantacije MČH.

Slabost Kalema

Slabošću kalema se smatra ukoliko je 28. dana nakon transplantacije broj neutrofila manji od $0,5 \times 10^9/l$, broj trombocita niži od $20 \times 10^9/l$ i vrednost hemoglobina niža od 80g/l (26).

Remberger i saradnici (51) su primetili povećani rizik od slabosti kalema nakon major ABO-inkompatibilne transplantacije u analizi 224 bolesnika. U ovoj studiji bilo je

6 bolesnika sa slabošću kalema i to 4/67 bolesnika su imali major ABO inkompatibiliju, a 2/16 bolesnika bidirekcijsku ABO-inkompatibiliju. Međutim, u ovoj analizi, većina bolesnika je imala i nepodudarnog davoca u HLA sistemu što je otežavalo precizno definisanje uloge ABO inkompatibilije u nastanku primarne slabosti kalema. Za razliku od gore navedenih rezultata, studije Bensingera, Kim i Worela (52–54) nisu dokazale povećani rizik od primarne i sekundarne slabosti kalema u ABO-nepodudarnim transplantacijama, što je dovelo do pretpostavke da dodatni faktori imaju uticaja.

Bolest kalem protiv domaćina

Jedna od najčešćih komplikacija alogene transplantacije MČH je GvHD. Može da se javi uprkos primenjenoj sveobuhvatnoj imunosupresivnoj profilaksi. U etiopatogenezi GvHD-a ključnu ulogu imaju davaočevi T limfociti u sadejstvu sa drugim imu-nokompetentnim efektorskim ćelijama i proinflammacijskim medijatorima. Nastanku ove komplikacije svakako može doprineti deficit funkcije imunskog sistema primaoca, najviše hipofunkcija B limfocita, što dovodi do neefikasnosti u eliminisanju donor-specifičnih antigena. Prema mišljenju nekih postoji i deficit funkcije timusa – što potvrđuje učestalija pojava GvHD kod starijih primalaca (55–57).

Kako se antigeni sistema ABO ne ekspresiraju samo na krvnim ćelijama već i na drugim tkivima i organima, izohemaglutinini davaoca takođe se mogu vezati za te ćelije domaćina. Pojedini autori smatraju da upravo ABO inkompatibilne transplantacije mogu biti jedan od faktora nastanka bolesti kalem protiv domaćina (47, 57–59).

Kimura i saradnici (47) su dokazali veću incidencu akutnog GVHD stepena III-IV i kod

major i kod minor ABO inkompatibilnih transplantacija, ali ne i u grupi sa bidirekcijskom inkompatibilijom. Učestalost pojavljivanja hepatičkog GVHD je bila veća kod minor ABO-inkompatibilije. Razlog nastanka je objašnjen time da epitelne ćelije bilijarnih kanala ekspresiraju antigene ABO krvnogrupnog sistema i da se za njih vezuju izohemaglutinini davaoca. Nasuprot tome, Seebach i saradnici (23) su primetili teški hepatički GVHD (stepen III-IV) jedino kod bidirekcijske ABO-inkompatibilije.

U studiji Bacigalupo i saradnici (58) analizirani su faktori povezani sa nastankom akutnog GVHD-a u grupi od 174 bolesnika. Ova studija je pokazala da su bolesnici sa minor inkompatibilijom u značajno većem riziku od teškog akutnog GVHD-a. Kumulativna incidenca GVHD II, III i IV stepena bila je 39% za ABO-podudarne, 54% za major i 82% za minor ABO-inkompatibilne transplantacije. Takođe, Ludajić i saradnici (60) su minor ABO-inkompatibiliju svrstali u značajan faktor rizika za akutni GVHD (stepen II-IV), sa povećanjem rizika i do tri puta.

U studiji Gutierrez-Aguirre i saradnika (59) analizirana je grupa bolesnika koji su isključivo primali RIC i nađena je najveća stopa akutnog GVHD-a kod minor ABO-inkompatibilije (25%) u poređenju sa ABO-kompatibilnim parovima (20,5%). U ovoj studiji najmanja stopa akutnog GVHD je nađena u grupi sa major ABO-inkompatibilijom (15,4%).

Pet studija nisu pokazale uticaj ABO-inkompatibilije na nastanak akutne GVHD (61, 50, 62–64).

Rizik od relapsa bolesti

Nijedna od četiri velike studije (23, 47, 49, 65) nisu pokazale da ABO-inkompatibilna transplantacija povećava rizik od relapsa bolesti. Tri studije su pokazale uticaj, ali sa

oprečnim rezultatima. Dve studije u kojima primenjen RIC protokol (54, 66) su pokazale da ABO-kompatibilna transplantacija povećava rizik za nastanak relapsa bolesti. Nasuprot tome, u studiji (67) sa mijeloablativnim režimom kondicioniranja je pokazano da je rizik od relapsa veći u minor i bidirekcijskim ABO-inkompatibilnim transplantacijama.

Smrtnost nezvana za relaps bolesti

ABO-inkompatibilna transplantacija može izazvati imunološke hemolitičke reakcije, koje mogu da dovedu do smrti bolesnika. Osim ove komplikacije, ABO-inkompatibilija nije uticala na smrtnost nezvanu za relaps (*Non Relapse Mortality* – NRM) (43, 50, 64). Nakon uvođenja RIC režima, Kimura(47) i Michallet (65) su utvrdili povećan mortalitet za bolesnike koji su imali ABO-nepodudarnog davaoca. Nova istraživanja Valentini i saradnika su u grupi od 432 bolesnika povećani NRM doveli u vezu sa major ABO-inkompatibilnim transplantacijama (44).

Ukupno preživljavanje

Većina autora nije uočila uticaj ABO-inkompatibilije na ukupno preživljavanje nakon transplantacije (44, 64). Kimura i saradnici (47) su primetili kraće ukupno preživljavanje za bolesnike koji su primili major ABO-inkompatibilni transplantat u poređenju sa minor ili bidirekcijskom inkompatibilijom. Nasuprot tome, Stussi i saradnici (41) su pokazali niže ukupno preživljavanje samo za bidirekcijske ABO-inkompatibilne transplantacije. Slične rezultate su prijavili Benjamin i saradnici (68), ali samo kod primaoca BM grafta.

Za razliku od prethodnih autora, Mehta (66) i Erker (67) su dokazali da je ABO-nepodudarnost povezana sa superiornim

ukupnim preživljavanjem i preživljavanjem bez bolesti. U studiji koja je obuhvatala 202 bolesnika transplantiranih na Klinici za hematologiju Vojnomedicinske akademije zapaženo je kraće preživljavanje posle ABO-inkompatibilne transplantacije zbog većeg rizika od potencijalno fatalnog aGvHD stepena III-IV (69).

U seriji naših bolesnika bilo je približno 50% ABO-inkompatibilnih parova donor/recipient. To predstavlja nešto veću učestalost u odnosu na podatke iz literature (17, 21). U grupi sa ABO-inkompatibilijom, najzastupljenija je bila minor, potom je sledila major, a najređa je bila bidirekcijska inkompatibilija – što je u skladu sa rezultatima drugih autora (20). Rezultati dobijeni u ovoj kliničkoj studiji nisu pokazali češću pojavu post-transplantacijskih komplikacija kod ABO-inkompatibilnih u odnosu na ABO-kompatibilne transplantacije MČH.

Zaključak

ABO-inkompatibilna transplantacija ima specifične efekte na ishod alogene transplantacije uglavnom zbog imunohematoloških događaja, razvoja akutne bolesti kalem protiv domaćina, rizika od relapsa, i ukupnog preživljavanja. Međutim, dosadašnji rezultati nisu konzistentni, a brojni drugi faktori, kao što su režim kondicioniranja, izvor MČH, izbor davaoca i profilaksa GVHD, moraju se uzeti u obzir da bi se studije mogle pravilno uporediti. Poznavanje mogućih komplikacija, pravilna primena suportivne terapije krvnim produktima i dostupnost različitih tehnologija koje podrazumevaju manipulaciju graftom i terapijske izmene plazme, smanjuju mogućnost nastanka komplikacija nakon ABO-inkompatibilnih transplantacija. Buduća prospektivna, randomizovana, kontrolisana i veća klinička ispitivanja će omogućiti bolju procenu učestalosti i uticaja ABO-inkompatibilije na ishod alogene transplantacije MČH.

Literatura:

1. Oudshoorn M, et al. Typing of potential and selected donors for transplant: methodology and resolution: Tissue Antigens 2007; 69 Suppl1:10-2.
2. Cifticiler R, et al. Impact of ABO blood group incompatibility on the outcomes of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Transfus Apher Sci. 2019; pii:S1473-0502(19)30128-4.
3. Spellman SR, Eapen M, Logan BR, Mueller C, Rubinstein P, Setterholm MI, Woolfrey AE, Horowitz MM, Confer DL, Hurley CK, National Marrow Donor P, Center for International B, Marrow Transplant R, 2012. A perspective on the selection of unrelated donors and cord blood units for transplantation. Blood 120, 259-265.
4. Bray RA, Hurley CK, Kamani NR, Woolfrey A, Muller C, Spellman S, Setterholm M, Confer DL, 2008. National marrow donor program HLA matching guidelines for unrelated adult donor hematopoietic cell transplants. Biol Blood Marrow Transplant 14, 45-53.
5. Gratwohl A, Baldomero H, Aljurf M, Pasquini MC, Bouzas LF, Yoshimi A, Szer J, Lipton J, Schwendener A, Gratwohl M, Frauendorfer K, Niederwieser D, Horowitz M, Kodaera Y, Worldwide Network of Bone Marrow Transplantation Hematopoietic stem cell transplantation: a global perspective. JAMA. 2010; 303:1617-24.
6. Bacigalupo A, Ballen K, Rizzo D, Giralto S, Lazarus H, Ho V, Apperley J, Slavin S, Pasquini M, Sandmaier BM, Barrett J, Blaise D, Lowski R, Horowitz M. Defining the intensity of conditioning regimens: working definitions. Biol Blood Marrow Transplant. 2009; 15(12):1628-33.
7. Passweg JR, Baldomero H, Chabannon C, Basak GW, de la Cámara R, Corbacioglu S, Dolstra H, Duarte R, Glass B, Greco R, Lankester AC, Mohty M, Peffault de Latour R, Snowden JA, Yakoub-Agha I, Kröger N; European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). Hematopoietic cell transplantation and cellular therapy survey of the EBMT: monitoring of activities and trends over 30 years. Bone Marrow Transplant. 2021; 56(7):1651-64.
8. Shina T, Hpsomichi K, Inoko H et al. The HLA genomic loci map: expression, interaction, diversity and disease. J Hum Genet 2009; 54:15-39.
9. Andrić Z. Izbor davaoca matičnih ćelija hematopoeze-značaj HLA tipizacije. Bilt Transf 2010; 56:73-77.
10. Fernandez Vina M, Heslop HE, Barker JN. New approaches in alternative donor transplantation. Biol Blood marrow Transplant 2013; 19:91-96.
11. Andrić Z. Određivanje polimorfizma lokusa humanih leukocitnih antigena u populaciji potencijalnih davalaca matičnih ćelija hematopoeze u Srbiji. Doktorska disertacija. Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, 2014.
12. Lee SN, Sohn JY, Kong JH, Eom HS, Lee H, Kong SY. Comparison of Two Apheresis Systems of COBE and Optia for Autologous Peripheral Blood Stem Cell Collection. Ann Lab Med. 2017; 37(4):327-30.
13. Schmitt M, Hoffmann JM, Lorenz K, Publicover A, Schmitt A, Nagler A. Mobilization of autologous and allogeneic peripheral blood stem cells for transplantation in hematological malignancies using biosimilar G-CSF. Vox Sang. 2016; 111(2):178-86.

14. Simonin M, Dalissier A, Labopin M, et al. More chronicGvHD and non-relapse mortality after peripheral blood stem cell compared with bone marrow in hematopoietic transplantation for paediatric acute lymphoblastic leukemia: a retrospective study on behalf of the EBMT Paediatric Diseases Working Party. *Bone Marrow Transplant.* 2017;52:1071–3
15. Balint B. Peripereal blood stem cell harvesting, purification and cryopreservation. *Bilt Transf* 2005; 51: 7–12.
16. Booth GS, Gehrie EA, Bolan CD, Savani BN. Clinical guide to ABO-incompatible allogeneic stem cell transplantation. *Biol BloodMarrow Transplant.* 2013;19:1152–8
17. Balint B, Vucetic D, Ostojic G, Ljubenov M. Osnovi transfuziologije sa hemobiologijom. Beograd: Medicinski fakultet VMA – Medija centar Odbrana; 2015.
18. Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M. Blood transfusion in clinical medicine, 10th edition. Oxford: Blackwell Scientific Publications; 1997.
19. Daniels G. Human blood groups: introduction, terminology and function. In: Daniels G: Human Blood Groups 2nd-ed. Oxford: Blackwell Science, 2002; pp.1-7.
20. Stamatovic D, Balint B, Elez M, Tarabar O, Ostojic G, Andric Z et al. Uticaj krvnogrupne ABO nepodudarnosti prim-aoca i davaoca na rezultate alogene transplantacije matičnih ćelija hematopoeze. *Bilt Transfuziol* 2014; 60: 50–3.
21. Balint B, Vucetic D, Ostojic G, Ljubenov M. Osnovi transfuziologije sa hemobiologijom. Beograd: Medicinski fakultet VMA – Medija centar Odbrana; 2015.
22. Veljkovic D, Vujic D, Andolina M, Serbic o, Jevtic D. Recovery of the CD34+ cells after processing ABO/HLA incompatible bone marrow transplants. *Bilt Transfuziol* 2009; 55:66-74.
23. Seebach JD, Stussi G, Passweg JR, Lober iza FR Jr, Gajewski JL, Keating A, Goerner M, Rowlings PA, Tiberghien P, Elfenbein GJ, Gale RP, van Rood JJ, Reddy V, Gluckman E, Bolwell BJ, Klumpp TR, Horowitz MM, Ringdén O, Barrett AJ; GVHD Working Committee of Center for International Blood and Marrow Transplant Research. ABO blood group barrier in allogeneic bone marrow transplantation revisited. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2005; 11(12):1006-13.
24. Z N Ozkurt 1, Z A Yegin, I Yenicesu, et al. Impact of ABO-incompatible donor on early and late outcome of hematopoietic stem cell transplantation. *Transplant Proc* 2009; 41(9):3851-8.
25. Christou G, Iyengar A, Shorr R, Tinmouth A, Saidenberg E, Maze D, Tay J, Bredeson C, Allan DS. Optimal transfusion practices after allogeneic hematopoietic cell transplantation: a systematic scoping review of evidence from randomized controlled trials. *Transfusion.* 2016; 56(10):2607-14.
26. Carreras E, Dufour C, Mohty M, Kröger N. The EBMT handbook: hematopoietic stem cell transplantation and cellular therapies. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-02278-5>.
27. Cid J, Lozano M, Fernandez-Aviles F, Carreras E, Pereira A, Mazzara R, Ordinas A. Anti-D alloimmunization after D-mismatched allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with hematologic diseases. *Transfusion.* 2006; 46:169–73.
28. Worel N, Bohm A, Rabitsch W, Leitner G, Mitterbauer M, Kalhs P, Mayr WR, Schwartz D, Greinix HT. Frequency and prognostic value of D alloantibodies after D-mismatched allogeneic hematopoietic stem cell transplantation after reduced-intensity conditioning. *Transfusion.* 2012;52:1348–53.
29. Gonzalez-Porras JR, Graciani IE, Perez-Simon JA, Martin-Sanchez J, Encinas C, Conde MP, Nieto MJ, Corral M. Prospective evaluation of a transfusion policy of

- D+ red blood cells into D- patients. *Transfusion*. 2008; 48:1318–24.
30. Roback JD, Grossman BJ, Harris T, Hillyer CD. *Technical Manual*, 17th ed. Bethesda: AABB Press; 2011.
31. Cohn CS. Transfusion support issues in hematopoietic stem cell transplantation. *Cancer Control* 2015; 22: 52–9.
32. Worel N, Kalhs P. ABO-incompatible allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Haematologica*. 2008; 93:1605–07.
33. Rowley SD. Hematopoietic stem cell transplantation between red cell incompatible donor-recipient pairs. *Bone Marrow Transplant*. 2001; 28:315–21.
34. Larghero J, Rea D, Esperou H, Biscay N, Maurer MN, Lacassagne MN, Ternaux B, Traineau R, Yakouben K, Dosquet C, Socie G, Gluckman E, Benbunan M, Marolleau JP. ABO-mismatched marrow processing for transplantation: results of 114 procedures and analysis of immediate adverse events and hematopoietic recovery. *Transfusion*. 2006; 46:398–402.
35. Worel N, Greinix HT, Supper V, Leitner G, Mitterbauer M, Rabitsch W, Fischer G, Rosenmayr A, Hocker P, Kalhs P. Prophylactic red blood cell exchange for prevention of severe immune hemolysis in minor ABO-mismatched allogeneic peripheral blood progenitor cell transplantation after reduced-intensity conditioning. *Transfusion*. 2007; 47:1494–502.
36. Bolan CD, Childs RW, Procter JL, Barrett AJ, Leitman SF. Massive immune haemolysis after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation with minor ABO incompatibility. *Br J Haematol*. 2001; 112: 787–95.
37. Worel N. ABO-Mismatched Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Transfus Med Hemother*. 2016; 43(1):3-12.
38. Zaucha JM, Mielcarek M, Takatu A, Little MT, Gooley T, Baker J et al. Engraftment of early erythroid progenitors is not delayed after non-myeloablative major ABO-incompatible haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol* 2002; 119:21
39. Lee JH, Lee KH, Kim S, Lee JS, Kim SH, Kwon SW, Kim WK. Anti-A isoagglutinin as a risk factor for the development of pure red cell aplasia after major ABO-incompatible allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2000; 25:179–184. [PubMed] [Google Scholar]
40. Schetelig J, Breitschaft A, Kroger N, Zabelina T, Ebell W, Bornhauser M, Haack A, Ehninger G, Salama A, Siebert W, Cooperative Transplantations Study Group After major ABO-mismatched allogeneic hematopoietic progenitor cell transplantation, erythroid engraftment occurs later in patients with donor blood group A than donor blood group B. *Transfusion*. 2005; 45:779–787.
41. Stussi G, Halter J, Bucheli E, Valli PV, Seebach L, Gmur J, Gratwohl A, Schanz U, Passweg JR, Seebach JD. Prevention of pure red cell aplasia after major or bidirectional ABO blood group incompatible hematopoietic stem cell transplantation by pretransplant reduction of host anti-donor isoagglutinins. *Haematologica*. 2009; 94:239–48.
42. Helbig G, Stella-Holowiecka B, Wojnar J, Krawczyk M, Krzemien S, Wojciechowska-Sadus M, Markiewicz M, Wylezol I, Kopera M, Holowiecki J. Pure red-cell aplasia following major and bi-directional ABO-incompatible allogeneic stem-cell transplantation: recovery of donor-derived erythropoiesis after long-term treatment using different therapeutic strategies. *Ann Hematol*. 2007; 86:677–83.
43. Ataca Atilla P, Akkus E, Atilla E, Gokmen N, Civriz Bozdog S, Kocak Toprak S, Kurt Yuksel M, Ozcan M, Demirel T, Ilhan

- O, Beksac M, Akan H, Arslan O, Topcuoglu P, Gurman G. Effects of ABO incompatibility in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transfus Clin Biol.* 2020 Aug; 27(3):115-21.
44. Valentini CG, Metafuni E, Gallo L, Giammarco S, Orlando N, Bianchi M, Sica S, Bacigalupo A, Chiusolo P, Teofili L. ABO Mismatch in Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplant: Effect on Short- and Long-term Outcomes. *Transplant Direct.* 2021; 7(8):e724.
45. Dunstan RA. Status of major red cell blood group antigens on neutrophils, lymphocytes and monocytes. *Br J Haematol.* 1986;62:301-9
46. Cooling LLW, Kelly K, Barton J, Hwang D, Koerner TAW, Olson JD. Determinants of ABH expression on human blood platelets. *Blood.* 2005; 105:3356-64.
47. Kimura F, Sato K, Kobayashi S, Ikeda T, Sao H, Okamoto S, Miyamura K, Mori S, Akiyama H, Hirokawa M, Ohto H, Ashida H, Motoyoshi K, Japan Marrow Donor P. Impact of ABO-blood group incompatibility on the outcome of recipients of bone marrow transplants from unrelated donors in the Japan Marrow Donor Program. *Haematologica.* 2008; 93:1686-1693.
48. Michallet M, Le QH, Mohty M, Prebet T, Nicolini F, Boiron JM, Esperou H, Attal M, Milpied N, Lioure B, Bordigoni P, Yakoub-Agha I, Bourhis JH, Rio B, Deconinck E, Renaud M, Chir Z, Blaise D. Predictive factors for outcomes after reduced intensity conditioning hematopoietic stem cell transplantation for hematological malignancies: a 10-year retrospective analysis from the Société Française de Greffe de Moelle et de Thérapie Cellulaire. *Exp Hematol.* 2008; 36:535-44.
49. Kollman C, Howe CWS, Anasetti C, Antin JH, Davies SM, Filipovich AH, Hegland J, Kamani N, Kernan NA, King R, Ratanatharathorn V, Weisdorf D, Confer DL. Donor characteristics as risk factors in recipients after transplantation of bone marrow from unrelated donors: the effect of donor age. *Blood.* 2001; 98:2043-51.
50. Canaani J, Savani BN, Labopin M, Huang XJ, Ciceri F, Arcese W, Tischer J, Koc Y, Bruno B, Gülbas Z, Blaise D, Maertens J, Ehninger G, Mohty M, Nagler A. Impact of ABO incompatibility on patients' outcome after haploidentical hematopoietic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia – a report from the Acute Leukemia Working Party of the EBMT. *Haematologica.* 2017 Jun; 102(6):1066-74.
51. Remberger M, Watz E, Ringden O, Mattsson J, Shanwell A, Wikman A. Major ABO blood group mismatch increases the risk for graft failure after unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2007; 13:675-682. [PubMed] [Google Scholar]
52. Bensinger WI, Buckner CD, Thomas ED, Clift RA. ABO-incompatible marrow transplants. *Transplantation.* 1982;33:427-9
53. Kim JG, Sohn SK, Kim DH, Baek JH, Lee KB, Min WS, Kim CC, Lee MH, Lee JJ, Chung IJ, Kim HJ, Lee JW. Impact of ABO incompatibility on outcome after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2005; 35:489-95.
54. Worel N, Kalhs P, Keil F, Prinz E, Moser K, Schulenburg A, Mitterbauer M, Mannhalter C, Mayr WR, Schwarzingger I, Hocker P, Lechner K, Greinix HT. ABO mismatch increases transplant-related morbidity and mortality in patients given nonmyeloablative allogeneic HPC transplantation. *Transfusion.* 2003;43:1153-61.
55. Heidegger S, van den Brink MR, Haas T, Poeck H. The role of pattern-recognition receptors in graft-versus-host disease and graft-versus-leukemia after allogeneic stem cell transplantation. *Front Immunol* 2014; 5:1-7.

56. Maeda Y. Pathogenesis of graft-versus-host disease: innate immunity amplifying acute alloimmune responses. *Int J Hematol* 2013; 98: 293–9.
57. Stussi G, Muntwyler J, Passweg JR, Seebach L, Schanz U, Gmur J, Gratwohl A, Seebach JD. Consequences of ABO incompatibility in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2002; 30:87–93.
58. Bacigalupo A, Van Lint MT, Occhini D, et al. ABO compatibility and acute graft-versus-host disease following allogeneic bone marrow transplantation. *Transplantation* 1988; 45:1091-4.
59. Gutierrez-Aguirre CH, Gomez-De-Leon A, Alatorre-Ricardo J, Cantu-Rodriguez OG, Gonzalez-Llano O, Jaime-Perez JC, Mancias-Guerra C, Flores-Jimenez JA, Gomez-Almaguer D. Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation using reduced-intensity conditioning in an outpatient setting in ABO-incompatible patients: are survival and graft-versus-host disease different? *Transfusion.* 2014; 54:1269–77.
60. Ludajic K, Balavarca Y, Bickeböller H, Rosenmayr A, Fischer GF, Faé I, Kalhs P, Pohlreich D, Kouba M, Dobrovolna M, Greinix HT. Minor ABO-mismatches are risk factors for acute graft-versus-host disease in hematopoietic stem cell transplant patients. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2009; 15:1400–6.
61. Worel N, Greinix HT, Keil F, Mitterbauer M, Lechner K, Fischer G, Mayr W, Hocker P, Kalhs P. Severe immune hemolysis after minor ABO-mismatched allogeneic peripheral blood progenitor cell transplantation occurs more frequently after nonmyeloablative than myeloablative conditioning. *Transfusion.* 2002; 42:1293–301.
62. Mielcarek M, Leisenring W, Torok-Storb B, Storb R. Graft-versus-host disease and donor-directed hemagglutinin titers after ABO-mismatched related and unrelated marrow allografts: evidence for a graft-versus-plasma cell effect. *Blood* 2000; 96:1150–6.
63. Canals C, Muniz-Diaz E, Martinez C, Martino R, Moreno I, Ramos A, Arilla M, Boto N, Pastoret C, Remacha A, Sierra J, Madoz P. Impact of ABO incompatibility on allogeneic peripheral blood progenitor cell transplantation after reduced intensity conditioning. *Transfusion.* 2004; 44:1603–11.
64. Damodar S, Shanley R, MacMillan M, Ustun C, Weisdorf D. Donor-to-Recipient ABO Mismatch Does Not Impact Outcomes of Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation Regardless of Graft Source. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2017; 23(5):795-804.
65. Michallet M, Le QH, Mohty M, Prebet T, Nicolini F, Boiron JM, Esperou H, Attal M, Milpied N, Lioure B, Bordigoni P, Yakoub-Agha I, Bourhis JH, Rio B, Decoinck E, Renaud M, Chir Z, Blaise D. Predictive factors for outcomes after reduced intensity conditioning hematopoietic stem cell transplantation for hematological malignancies: a 10-year retrospective analysis from the Société Française de Greffe de Moelle et de Thérapie Cellulaire. *Exp Hematol.* 2008; 36:535–44.
66. Mehta J, Powles R, Sirohi B, Treleaven J, Kulkarni S, Saso R, Tait D, Singhal S. Does donor-recipient ABO incompatibility protect against relapse after allogeneic bone marrow transplantation in first remission acute myeloid leukemia? *Bone Marrow Transplant.* 2002; 29:853–9.
67. Erker CG, Steins MB, Fischer RJ, Kienast J, Berdel WE, Sibrowski W, Cassens U. The influence of blood group differences in allogeneic hematopoietic peripheral blood progenitor cell transplantation. *Transfusion.* 2005; 45:1382–90.



-
-
68. Benjamin RJ, McGurk S, Ralston MS, Churchill WH, Antin JH. ABO incompatibility as an adverse risk factor for survival after allogeneic bone marrow transplantation. Transfusion. 1999; 39:179–87.
69. Ljubenov Marika. Ocena efekta ABO-inkompatibilnosti i peritransplantacijskih in vivo i ex vivo tretmana na prihvatanje alokalema i pojavu komplikacija posle transplantacije meticnih celija hematopoeze. Doktorska teza. Medicinski fakultet Vojnomedicinska akademija. 2015 Beograd

Autor za korespondenciju:

Glorija Blagojević MD

Institut za transfuziju krvi Srbije,

Svetog Save 39,

11 000 Beograd, Srbija

Tel: +381641145120

Email: glorija.miletic@gmail.com

DOBROVOLJNO DAVANJE KRVU U USLOVIMA COVID-19 PANDEMIJE

Ana Antić

Zavod za transfuziju krvi Niš, Srbija

Sažetak:

Iako do danas nije zabeležen ni jedan slučaj prenosa SARS-CoV-2 putem krvi, COVID-19 pandemija je izazvala ozbiljne probleme i izazove u snabdevanju krvnim komponentama. Naime, sa širenjem pandemije rezerve krvnih komponenti su se značajno redukovale, što je bila posledica uvedenih mera u borbi protiv širenja virusa. Tako su se kao posledica "lockdown"-a i kampanje "ostani kod kuće" otkazivale unapred zakazane akcije davanja krvi, zatvorene su škole i fakulteti, veliki broj ljudi je prešao da radi od kuće, značajno su smanjene sve javne aktivnosti, što je sve zajedno imalo veliki uticaj na broj prikupljenih jedinica krvi. Pored toga, kod potencijalnih dobrovoljnih davalaca javio se nedostatak poverenja i strah od mogućnosti zaražavanja tokom davanja krvi (od same venepunkcije, sredine, osoblja, tokom putovanja od/do mesta kolekta). Iz tog razloga, službe transfuzije morale su reagovati brzo na novonastale uslove, što je podrazumevalo usvajanje nacionalnog pristupa u cilju koherentnosti i koordinacije dobrovoljnog davanja krvi, a uzimajući u obzir sve specifične faktore lokalne sredine i potrebe za transfuzijom. Ovakva vrsta pristupa imala je za cilj da obezbedi poverenje javnosti u bezbednost i efikasnost u snabdevanju krvnim komponentama, kao i podršku svih zainteresovanih strana u sistemu obezbeđivanja stabilnih rezervi krvi.

U ovom radu su iznete specifičnosti organizacije rada ekipe za prikupljanje krvi tokom COVID-19 pandemije, dodatni kriterijumi za odabir dobrovoljnih davalaca, kao i specifični kriterijumi vezani za vakcinaciju protiv SARS-CoV-2 virusa kod potencijalnih davaoca krvi.

Ključne reči: COVID-19, dobrovoljno davanje, transfuzija krvi, vakcina

Abstract:

Although no cases of SARS-CoV-2 transmission via transfusion of blood and blood components have been reported to date, the COVID-19 pandemic has caused serious problems and challenges in the supply of blood components. With the spread of the pandemic, the reserves of blood components were significantly reduced, which was a consequence of the introduced measures in the fight against the spread of the virus. As a result of the "lockdown" and the "stay at home" campaign, pre-scheduled blood donation campaigns were canceled, schools and colleges were closed, a large number of people moved away from work, all public activities were significantly reduced, which all together had a large impact on the number of collected blood units. In addition, potential voluntary donors had a lack of trust and fear of the possibility of infection during blood donation (from the venipuncture itself, the environment, staff, during travel from/to the place of collection). For that reason, transfusion services had to react quickly according to the new conditions, which meant adopting a national approach for the purpose of coherence and coordination of voluntary blood donation, taking into account all specific factors of the local environment and the need for transfusion. This type of approach aimed to ensure public confidence

in the security and efficiency in the supply of blood components, as well as the support of all stakeholders in the system of providing stable blood reserves.

This paper presents the specifics of the organization of the blood collection team during the COVID-19 pandemic, additional criteria for the selection of voluntary donors, as well as specific criteria related to vaccination against SARS-CoV-2 virus in potential blood donors.

Key words: COVID-19, blood donation, blood transfusion, vaccine

Komponentna transfuzijska terapija predstavlja sastavni deo savremene kliničke prakse i od esencijalne je važnosti u terapiji brojnih oboljenja i kliničkih stanja, kao što su velike hirurške intervencije, postpartalna hemoragija, trauma, operacija transplantacije organa, komplikovani maligniteti i lečenje poremećaja krvi, kao što su talasemija, hemofilija i anemija srpastih ćelija (1). Kontinuirano obezbeđenje stabilnih rezervi krvnih komponenti podrazumeva obezbeđivanje dovoljnih količina jedinica cele krvi dobrovoljnih davaoca, na šta uprkos prethodno planiranim i dobro organizovanim akcijama prikupljanja krvi može uticati veliki broj neplaniranih nepovoljnih faktora, kao što su vremenski uslovi, godišnji odmor, ili epidemije infektivnih bolesti. S druge strane, svaka od krvnih komponenti ima ograničeni rok, kao i specifične uslove skladištenja, a potrebe za odgovarajućom komponentom su najčešće nepredvidive u vrsti, količini i krvnogrupoj pripadnosti. Upravo iz tih razloga, obezbeđenje kontinuiranog davanja krvi dobrovoljnih davalaca jeste jedan od najvažnijih zadataka savremene transfuziološke službe. Motivacija i regrutovanje potencijalnih davalaca krvi, kao i organizacija akcija dobrovoljnog davanja krvi jesu jedan od osnovnih zadataka i izazova u radu, pri čemu svaka epidemija i pojava “emerging” ili “re-emerging” patogena može značajno da ugrozi bezbednost transfuzije i obezbeđivanje stabilnih rezervi krvi (2).

Prvi slučaj pneumonije uzrokovane SARS-CoV-2 virusom zabeležen je 31. de-

cembra 2019. godine u gradu Wuhanu, Hubei provincija u Kini, odakle se virus jako brzo preneo širom sveta, inficirajući milione ljudi i dovodeći do miliona smrtnih ishoda. Svetska zdravstvena organizacija je 11. marta 2020. godine proglasila pandemiju koju je nazvala COVID-19. Do kraja februara 2022. ovim virusom je zaraženo preko 430 miliona ljudi u svetu, a umrlo je skoro 6 miliona, dok je u Srbiji virus potvrđen kod 1,9 miliona ljudi i doveo je do preko 15 hiljada smrtnih ishoda.

SARS-CoV-2 virus je sedmi poznati humani koronavirus, u grupi u koju spadaju i SARS-CoV (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus*), koji je izazvao epidemiju 2002. godine i MERS-CoV (*Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus*), koji je izazvao epidemiju 2012. godine. Smatra se da je iznenadna pojava SARS-CoV-2 kod ljudi posledica prenosa virusa putem zoonoza, iako je neposredni prenosi-lac do danas ostao nepoznat. Virus ima dug period inkubacije (1-14 dana, prosečno 5-6 dana, najduže zabeleženo je 24 dana) i dovodi do infekcije respiratornog trakta, prvenstveno se prenoseći putem respiratornih kapljica i kontaktom. Najčešći simptomi bolesti su groznica, bolovi u mišićima, umor, suv kašalj i dispneja, što može da se završi akutnim respiratornim popuštanjem i fatalnim ishodom. Infekcija može biti i potpuno asimptomatska, što predstavlja poseban problem u borbi protiv širenja virusa (3,4). Parenteralna transmisija virusa nije dokazana, iako je retrospektivnom analizom uzoraka krvi dobrovoljnih davalaca u Kini

PCR metodom u realnom vremenu (*real-time reverse transcription polymerase chain reaction*) dokazano prisustvo SARS-CoV-2 virusa u 4 uzorka od testiranih skoro 5000 uzoraka dobrovoljnih davalaca, koji su u trenutku davanja krvi bili bez simptoma bolesti (5). Takođe, postoje dokazi o prisustvu SARS-CoV-2 virusa u spermi, pljuvački i gastrointestinalnom traktu (6,7).

COVID-19 pandemija, uzrokovana SARS-CoV-2 virusom, izazvala je od kraja 2019. god pa sve do sada široku nestabilnost u globalnom zdravstvenom sistemu, uključujući i rad transfuzioloških službi i snabdevanje krvnim komponentama. Pandemija je donela brojne izazove u održavanju stabilnih rezervi krvi, obzirom da su društvene, ali i veliki broj aktivnosti zdravstvenog sistema prešle sa svojih uobičajenih na aktivnosti koje su orijentisane na suzbijanje širenja virusa i lečenje obolelih. Potencijalni davaoci krvi su postali zbunjeni, zabrinuti i nedovoljno informisani o davanju krvi tokom pandemije, dok su sa druge strane, mere za suzbijanje širenja pandemije koje su se sprovodile, kao što su kampanja “ostani kod kuće”, masovni “lockdown” i ograničavanje javnog okupljanja otežavale organizovanje akcija dobrovoljnog davanja krvi (8, 9). Kao posledica ograničenih društvenih odnosa i smanjenih finansijskih mogućnosti, promenjeni su društveni prioriteti i svest o potrebi za davanjem krvi. Iz tog razloga, službe transfuzije morale su reagovati brzo na novonastale uslove, što je podrazumevalo usvajanje nacionalnog pristupa u cilju koherentnosti i koordinacije dobrovoljnog davanja krvi, a uzimajući u obzir sve specifične faktore lokalne sredine i potrebe za transfuzijom. Ovakva vrsta pristupa imala je za cilj da obezbedi poverenje javnosti u bezbednost i efikasnost u snabdevanju krvnim komponentama, kao i podršku svih zainteresovanih strana u sistemu obezbeđivanja stabilnih rezervi krvi (10).

Službe transfuzije su uključene u nacionalne timove odgovorne za pravovremeni odgovor na postojeću epidemiološku situaciju, a, takođe, su razvile, implementirale i realizovale planove prikupljanja krvi u uslovima COVID-19 pandemije.

Motivacija davalaca u COVID-19 pandemiji

Podaci pokazuju da je dobrovoljno davanje krvi tokom COVID-19 pandemije dramatično smanjeno za 40-67%, posebno u zemljama u kojima su bile na snazi mere ograničenog kretanja (11). Kao posledica “lockdown”-a i kampanje “ostani kod kuće” otkazivale su se unapred zakazane akcije davanja krvi, zatvorene su škole i fakulteti, veliki broj ljudi je prešao da radi od kuće, značajno su smanjene sve javne aktivnosti, što je sve zajedno imalo veliki uticaj na broj prikupljenih jedinica krvi. Pored toga, kod potencijalnih dobrovoljnih davalaca javio se nedostatak poverenja i strah od mogućnosti zaražavanja tokom davanja krvi (od same venepunkcije, sredine, osoblja, tokom putovanja od/do mesta kolekta). Da bi se ovaj problem rešio od ključnog značaja su bili kontinuirani javni pozivi za dobrovoljno davanje krvi putem medija i društvenih mreža, zajedno sa uveravanjima o bezbednosti na mestu kolekta i poštovanju propisanih mera u cilju suzbijanja COVID-19 pandemije (12,13). Jedna od prvih i najvažnijih lekcija naučenih od kineskog medicinskog tima u upravljanju zalihama krvi u uslovima pandemije bila je upravo korišćenje društvenih mreža za regrutovanje davaoca krvi. Kinesko društvo za transfuziju krvi (*Chinese Society of Blood Transfusion*) je u cilju obezbeđivanja dovoljne količine krvi za transfuziju uputilo javni apel preko društvene mreže We Chat, gde su pozivani određeni davaoci krvi i zakazivani termini za davanje krvi, uz poštovanje socijalne dis

tance i ostalih propisanih mera za sprečavanje širenja pandemije (14).

Službe transfuzije imale su zadatak da aktivno pristupe i kontaktiraju potencijalne davaoce krvi putem telefonskih poziva, SMS poruka ili e-maila, gde je ovakav telemedicinski pristup imao ulogu preliminar-nog medicinskog skrininga, kako bi se osiguralo da samo zdrave osobe mogu da se jave kao potencijalni dobrovoljni davaoci krvi. Takođe, upućeni su apeli putem društvenih mreža, kao što su Facebook, Twitter, Instagram i druge, a potencijalnim davaocima krvi je savetovano da prethodno zakažu ili najave davanje krvi, da ne dolaze u velikim grupama i ne dovode pratioce na mesto kolekta. Takođe, za davaoce je bilo moguće obezbediti prevoz do/od mesta kolekta (4,15).

Kineska praksa upravljanja rezervama krvi tokom pandemije pokazala je i važnost uspostavljanja jedinstvenog informacionog sistema koji omogućava pozivanje potencijalnih davaoca krvi u slučaju postojanja hitnih potreba za transfuzijom. Implementacija ovakvog informacionog sistema pomaže optimizaciji transfuzijskog lanca, sagledavanju realnih potreba i mobilizaciji davaoca iz određenih područja gde su trenutne potrebe zadovoljene u druga, u kojima postoje povećane potrebe za transfuzijom krvnih komponenti. Na taj način omogućeno je pravilno upravljanje zalihama krvi i prikupljanje dovoljnih količina jedinica cele krvi, čime se sprečava prekomerno stvaranje zaliha u određenim transfuziološkim službama i stvaranje deficita u drugim (14).

Organizacija rada ekipa za prikupljanje krvi

Strategija prenosa SARS-CoV-2 virusa na mestu kolekta podrazumeva sprovođenje mera javnog zdravlja i preporuka za sprečavanje širenja COVID-19 pandemije. Stacionarna odeljenja za prikupljenje krvi

unutar Instituta i Zavoda za transfuziju krvi, kao i mesta kolekta na terenu nisu mesta za negu pacijenata, pa stoga nije potrebno primeniti mere koje su specifične za zdravstvene ustanove, već mere javnog zdravlja i sprečavanja širenja pandemije u sredinama sa većim socijalnim kontaktima. Ove mere podrazumevaju skrining simptoma vezanih za COVID-19 infekciju, socijalno distanciranje, higijenu ruku, upotrebu lične zaštitne opreme i higijenu radnog prostora. Blagovremeno i pravilno informisanje potencijalnih davaoca, ali i čitave javnosti o preduzetim merama doprinosi većem poverenju i odzivu na apele za davanje krvi (16).

Kako bi se izbegla gužva na mestu prikupljanja krvi potencijalnim davaocima se savetuje da zakažu svoj termin za davanje krvi, čime se planira dolazak svakog pojedinčnog davaoca, i time smanjuje mogućnost okupljanja većeg broja davaoca na mestu kolekta u isto vreme, ali i broja medicinskog osoblja (održava se dovoljan broj potrebnog osoblja, nema preklapanja smena i kretanja osoblja između službi). Smanjenje kontakta između davaoca i osoblja, redovna dekontaminacija radne sredine, merenje telesne temperature na ulazu u prostoriju, obezbeđivanje zaštitnih maski za lice i sredstava za dezinfekciju ruku davaocima koji ulaze, kao i obezbeđenje fizičke distance između njih predstavljaju najvažnije mere sprečavanja širenja COVID-19 infekcije na mestu prikupljanja krvi (17,18). Neophodno je, takođe, da se stolice za davanje krvi postave na dovoljnoj fizičkoj udaljenosti, obezbedi redovna dezinfekcija opreme i radnih površina, kao i ventilacija prostorije najmanje dva puta dnevno u periodu ne kraćem od 30 minuta. Osoblje na mestu kolekta je u obavezi da nosi zaštitne rukavice prilikom venepunkcije, koristi alkohol za dezinfekciju mesta za venepunkciju, nosi zaštitne maske sve vreme rada, dezinfikuje

stolicu/krevet za davanje krvi posle svakog davanja ili postavlja papirne čaršave na krevet/stolicu za jednokratnu upotrebu (19). Rezultati meta-studije su pokazali da je prevalenca SARS-CoV-2 infekcije među zdravstvenim radnicima 7-11%, pa je striktno pridržavanje propisanih mera za kontrolu širenja virusa od izuzetnog značaja (20).

Kriterijumi za davanje krvi u COVID-19 pandemiji

Iako do sada u literaturi nema podataka o prenošenju SARS-CoV-2 virusa transfuzijom krvi i krvnih komponenti, pa je stoga ovaj rizik teoretski i smatra se malo verovatnim, transfuziološke službe su ipak morale da preduzmu odgovarajuće korake u cilju procene i planiranja eventualnog rizika, i usvojene standardne kriterijume za davanje krvi dopune kriterijumima vezanim za ponašanje u uslovima COVID-19 pandemije (21-23). Prema vodiču Svetske zdravstvene organizacije (World Health Organization, WHO) i preporukama Američke agencije za hranu i lekove (U.S Food and Drug Administration, FDA) nije potrebno testiranje potencijalnih davaoca na SARS-CoV niti je potrebno testiranje prikupljenih jedinica krvi na zalihamu (16,24).

Prvi korak u organizaciji prikupljanja krvi u toku pandemije jeste edukacija potencijalnih davaoca o kriterijumima za samoisključivanje od davanja krvi koji se zasnivaju na faktorima rizika za prenošenje SARS-CoV-2 virusa i kliničkim simptomima infekcije. Od suštinskog je značaja isključivanje davanja krvi za osobe koje se ne osećaju dobro ili imaju groznicu i/ili respiratorne simptome, kao što su kašalj i nedostatak vazduha. Potencijalne davaoce sa simptomima COVID-19 infekcije treba odbiti i uputiti na testiranje i izolaciju, u skladu sa nacionalnim preporukama (16).

Prema WHO vodiču osobe koje su imale mogući direktni kontakt sa SARS-CoV-2 virusom (potvrđena infekcija ili nega obolelog pacijenta), kao i osobe koje dolaze iz područja sa visokim nivoom lokalnog prenosa (crvena zona prema nacionalnim kriterijumima) se odbijaju kao dobrovoljni davaoci na period koji se određuje nacionalnim preporukama, ali ne manjim od 14 dana u odsustvu simptoma infekcije (17). Osobe sa potvrđenom COVID-19 infekcijom u odsustvu simptoma bolesti trebaju biti odbijene kao dobrovoljni davaoci na period od 14 dana od poslednjeg pozitivnog testa. Osobe koje su se oporavile od potvrđene COVID-19 infekcije trebaju biti odbijene kao dobrovoljni davaoci na period od 14 dana od potpunog povlačenja simptoma i prestanka uzimanja terapije. Takođe, davaoce treba savetovati da ukoliko u periodu od 14 dana od davanja krvi razviju respiratornu bolest ili im se potvrdi COVID-19 infekcija o tome odmah obaveste službu transfuzije. Jedinice krvi ili komponente pripremljene unutar 14 dana pre početka razvoja bolesti ili pozitivnog testa na SARS-CoV-2 kod davaoca, ili nakon rizičnog kontakta, mogu se povući sa zaliha. Jedna od mogućnosti je i da se komponente stave u karantin od 14 dana, mada je ovaj pristup teško primenljiv u praksi, posebno imajući u vidu kratak rok skladištenja koncentrata trombocita, te se može primeniti samo na koncentrate eritrocita i jedinice plazme. Ova preporuka je zasnovana na studiji procene modela koja je pokazala smanjenje rizika prenosa SARS-CoV-2 putem krvi na ovaj način za 65,77 % (25).

Prema FDA preporukama osobe sa suptilnom ili potvrđenom COVID-19 simptomatskom infekcijom se odbijaju kao dobrovoljni davaoci na period od 10 dana od poslednjeg pozitivnog testa, dok osobe sa pozitivnim SARS-CoV-2 antitelima koje prethodno nisu imale kliničke simptome

bolesti mogu dati krv dobrovoljno bez odlaganja i izvođenja dijagnostičkih testova (kao što je nazofaringealni bris) (24).

Kriterijumi vezani za vakcinaciju protiv SARS-CoV-2 virusa

U cilju zaštite zdravlja dobrovoljnih davaoca krvi i redukcije teoretskog rizika prenosa vakcinalnog agensa na primaoca transfuzije, WHO je usvojila kriterijume koji se odnose na prihvatanje ili isključivanje potencijalnih davalaca krvi u zavisnosti od vrste primenjene vakcine protiv COVID-19 infekcije (16). Najnovije FDA preporuke su u saglasnosti sa WHO kriterijumima (24).

Generalno posmatrano, podaci o bezbednosti za sve do sada odobrene SARS-CoV-2 mRNA vakcine ne ukazuju na bilo kakav mogući neželjeni efekat na davanje krvi (26,27). Takođe, ove mRNA vakcine inkapsulirane u lipozomima ne sadrže živi virus, pa je svaki rizik transfuzije krvnih komponenti pripremljenih iz jedinica krvi primalaca ovih vakcina teoretski i smatra se beznačajnim. Iako u skladu sa trenutno globalnom praksom primaoci vakcina protiv SARS-CoV-2 koje ne sadrže živi virus i osećaju se dobro mogu da daju krv odmah tj. bez odlaganja, u određenim sredinama u svetu, gde odlaganje ne ugrožava snabdevanje krvlju i dostupnost na zalihama, preporučuje se ipak period odlaganja do 7 dana, kako bi se smanjio uticaj povratne informacije od davaoca, koji razviju simptome nakon davanja krvi koje usledi ubrzo nakon vakcinacije. S druge strane, primaoci vakcina sa živim virusom (vektorske ili sa atenuisanim virusom) se odbijaju za davanje krvi najmanje 2 nedelje, a najduže do 4 nedelje. Sve vakcinisane osobe koje se ne osećaju dobro nakon što su primile vakcinu protiv SARS-CoV-2 treba da budu odbijene za davanje krvi na period od 7 dana ili do povlačenja simptoma. Ukoliko je potencijal

ni davalac krvi vakcinisan, ali nema podataka o vrsti vakcine, primenjuje se privremeno odbijanje od 14 dana, a najduže do 28 dana. Osoba koja učestvuje u kliničkom ispitivanju žive vakcine protiv SARS-CoV-2 ne bi trebalo da dobrovoljno daje krv 12 meseci nakon prijema eksperimentalne vakcine, osim ako vakcinu naknadno ne odobri relevantno regulatorno telo. Osoba koja učestvuje u kliničkom ispitivanju ne-žive vakcine protiv SARS-CoV-2 ne bi trebalo da dobrovoljno daje krv 28 dana nakon prijema eksperimentalne vakcine, osim ako vakcinu naknadno ne odobri relevantno regulatorno telo (16, 24).

Zaključak

Bezbednost dobrovoljnih davalaca, osoblja i pacijenata koji primaju transfuzije krvnih produkata predstavljaju osnovni cilj rada ovlašćenih transfuzioloških ustanova u eri COVID-19 pandemije. Ova pandemija može biti prevaziđena samo okupljanjem svih društvenih snaga, prevencijom i kontrolom bolesti koje su bazirane na naučnim i stručnim činjenicama, preciznom primenom usvojenih mera i bliskom saradnjom u svim sferama.

Literatura:

1. Tripathi PP, Kumawat V, Patidar GK. Donor's Perspectives on Blood Donation During Covid-19 Pandemic. *Indian J Hematol Blood Transfus* 2021; 30:1-10.
2. Antić A, Đorđević Živković S, Jelić M, Vučić M, Vacić N, Balint B. Procesiranje i skladištenje krvnih komponenti u uslovima COVID-19 pandemije. *Med reč* 2020; 1(3): 114-8.
3. Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N Engl J Med* 2020; 382: 1708-20.

4. Okoroiwu HU, Okafor IM, Asemota EA, Ogar CO, Uchendu IK. Coping with COVID-19 pandemic in blood transfusion services in West Africa: the need to re-strategize. *Hematol Transfus Cell Ther* 2021; 43(2): 119-25.
5. Chang L, Zhao L, Gong H, Wang L, Wang L. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 RNA Detected in Blood Donations. *Emerg Infect Dis* 2020;26(7):1631-3
6. Li D, Jin M, Bao P, Zhao W, Zhang S. Clinical characteristics and results of semen tests among men with corona virus disease 2019. *JAMA Netw Open*, 3: 2020.
7. Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, Liang WH, Ou CQ, He JX, et al; China Medical Treatment Expert Group for Covid-19. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med* 2020;382(18):1708-20.
8. Stanworth SJ, New HV, Apolseth TO, Brunskill S, Cardigan R, Doree C, Germain M, et al. Effects of the COVID-19 pandemic on supply and use of blood for transfusion. *Lancet Haematol* 2020;7(10):e756–e764.
9. Pandey HC, Coshic P, Chippy CS, Arcot PJ, Kumar K. Blood supply management in times of SARS-CoV-2 pandemic—challenges, strategies adopted, and the lessons learned from the experience of a hospital-based blood centre. *Vox Sang* 2020;116(5):497–503.
10. Franchini M, Farrugia A, Velati C, Zanetti A, Romanò L, Grazzini G, et al. The impact of the SARS-CoV-2 outbreak on the safety and availability of blood transfusions in Italy. *Vox Sang* 2020;115(8):603-5.
11. Raturi M, Kusum A. The blood supply management amid the COVID-19 outbreak. *Transfus Clin Biol* 2020;27:147-51.
12. Noordin SS, Yusoff NM, Karim FA, Chong SE. Blood transfusion services amidst the COVID-19 pandemic. *J Glob Health* 2021;11:03053.
13. Vassallo RR, Bravo MD, Kamel H. Pandemic blood donor demographics—do changes impact blood safety? *Transfusion* 2021;61(5):1389–93.
14. Cai X, Ren M, Chen F, Li L, Lei H, Wang X. Blood transfusion during the COVID-19 outbreak. *Blood Transfus* 2020;18(2):79-82.
15. Almalki S, Asseri M, Khawaji Y, Alqurashi R, Badawi M, Yakout N, Elgemmezi T, Hindawi S. Awareness about Coronavirus (COVID-19) and challenges for blood services among potential blood donors. *Transfus Apher Sci* 2021;6:103211.
16. Maintaining a safe and adequate blood supply and collecting convalescent plasma in the context of the COVID-19 pandemic. World Health Organization. (Interim guidance, 17 February 2021). Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-BloodSupply-2021-1>.
17. Considerations for implementing and adjusting public health and social measures in the context of COVID-19. World Health Organization. (Interim Guidance, 4 November 2020). Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/considerations-in-adjusting-public-health-and-social-measures-in-the-context-of-covid-19-interim-guidance>.
18. Mask use in the context of COVID-19. World Health Organization. (Interim Guidance, 1 December 2020). Available at: [https://www.who.int/publications/i/item/advice-on-the-use-of-masks-in-the-community-during-home-care-and-in-healthcare-settings-in-the-context-of-the-novel-coronavirus-\(2019-ncov\)-outbreak](https://www.who.int/publications/i/item/advice-on-the-use-of-masks-in-the-community-during-home-care-and-in-healthcare-settings-in-the-context-of-the-novel-coronavirus-(2019-ncov)-outbreak).
19. Zhang X, Liang X, Qi H, Liu Q, Lin J, Zhang Y, et al. Recommendations for Blood Establishments Regarding the Novel Coronavirus Disease (COVID-19) Outbreak (v1.0). 2020.
20. Gómez-Ochoa SA, Franco OH, Rojas LZ, Raguindin PF, Roa-Díaz ZM, Wyssmann BM, et al. COVID-19 in Health-Care Workers: A Living Systematic Review and Meta-Analysis of Prevalence, Risk Factors, Clinical Characteristics, and Outcomes. *Am J Epidemiol* 2021;190:161-75.



-
21. Cho HJ, Koo JW, Roh SK, Kim YK, Suh JS, Moon JH, et al. COVID-19 transmission and blood transfusion: A case report. *J Infect Public Health* 2020;13:1678-9.
 22. Kwon SY, Kim EJ, Jung YS, Jang JS, Cho NS. Post-donation COVID-19 identification in blood donors. *Vox Sang* 2020;115:601-2.
 23. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 2020;395 (10223): 497-506.
 24. Updated Information for Blood Establishments Regarding the COVID-19 Pandemic and Blood Donation. US Food & Drug Administration, 11 January 2022. Available at: <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/safety-availability-biologics/updated-information-blood-establishments-regarding-covid-19-pandemic-and-blood-donation>.
 25. Yuan Z, Chen D, Chen X, Wei Y. Estimation of the number of blood donors during the COVID-19 incubation period across China and analysis of prevention and control measures for blood transfusion transmission. *Transfusion* 2020;60:1778-84.
 26. Aliprantis AO, Shaw CA, Griffin P et al. A phase 1, randomized, placebo-controlled study to evaluate the safety and immunogenicity of an mRNA-based RSV prefusion F protein vaccine in healthy younger and older adults. *Hum Vaccin Immunother* 2020; 29:1-14.
 27. Polack FP, Thomas SJ, Kitchin N, et al. Safety and efficacy of the BNT162b2 Covid-19 vaccine. *N Engl J Med* 2020; 383:2603-15.

Autor za korespondenciju:

Prim dr sc.med. Ana Antić
Zavod za transfuziju krvi Niš
Bul. Dr Zorana Đinđića 48
Tel.+381631039045
e-mail: anaantic@sbb.rs

PRIKUPLJANJE I OBRADA KRVNE PLAZME OD COVID-19 REKONVALESCENATA

Dragana Stojčević-Ivanov, Gordana Ostojić, Dragana Gojkov, Danilo Vojvodić,
Džihan Abazović, Jelena Dmitrović-Popović, Dušan Vučetić

Institut za transfuziologiju i hemobiologiju, Vojnomedicinska akademija, Beograd

Sažetak

Rekonvalescentna plazma se pokazala kao obećavajući terapijski hemoprodukt za lečenje pacijenata obolelih od COVID-19. U toku pandemije COVID-19, dobila je hitno odobrenje za masovnu upotrebu. Upotreba pasivno stvorenih antitela bazira se na pretpostavci da rekonvalescentna plazma sadrži terapijsku koncentraciju neutrališućih antitela koja se pasivno prenose primaocu plazme. U slučaju COVID-19 pandemije, rekonvalescentna plazma pokazala se sigurnom i potencijalno veoma efikasnom kod pacijenata inficiranih virusom SARS-CoV-2. U leto 2020. godine, na Institutu za transfuziologiju i hemobiologiju, Vojnomedicinske akademije, organizovano je prikupljanje plazme od COVID-19 rekonvalescentnih dobrovoljnih davalaca. Prikupljanje plazme je vršeno tkz. „manuelnom aferezom“ i od dobrovoljnih davalaca krvi rekonvalescenata nakon preležene bolesti izazvane virusom SARS-CoV-2. Uzorci seruma davalaca su testirani sopstvenim („in-house“) kvantitativnim testom na koncentraciju anti-IgG i anti-IgM antitela na spike i nucleus proteine izraženu u EU/kg.

Abstract

Convalescent plasma has proven to be a promising therapeutic product for the treatment of patients with COVID-19. During the COVID-19 pandemic, it received urgent approval for mass use. The use of passively generated antibodies is based on the assumption that convalescent plasma contains a therapeutic concentration of neutralizing antibodies that are passively transmitted to the plasma recipient. In the case of the COVID-19 pandemic, convalescent plasma has been shown to be safe and potentially very effective in patients infected with the SARS-CoV-2 virus. In the summer of 2020, at the Institute of Transfusiology and Hemobiology, Military Medical Academy, plasma collection was organized from COVID-19 convalescent voluntary donors. Plasma collection was performed so-called "manual apheresis" and from voluntary blood donors - convalescents after suffering from a disease caused by the SARS-CoV-2 virus. Donor serum samples were tested by an „in-house“ quantitative test for the concentration of anti-IgG and anti-IgM antibodies to spikes and nucleus proteins expressed in EU/kg.

Uvod

U decembru 2019. godine, novi soj coronavirus-a, nazvan Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2

(SARS-CoV-2 ili 2019-nCoV), nepoznatog porekla, raširio se u kineskoj pokrajini Hubej (1). Bolest koju izaziva SARS-CoV-2

nazvana je coronavirus disease-19 (COVID-19). Manifestuje se velikim brojem kliničkih oblika, od asimptomatskog, preko blagih simptoma do teške kliničke slike i smrti. Virusna infekcija se proširila globalno i Svetska zdravstvena organizacija je 2020. Godine proglasila pandemiju.

Sam virus je dobio naziv Korona zbog “šiljaka” (spikes), S glikoproteina, koji se nalaze na površini virusa. Glikoprotein S je antigen koji se vezuje za receptore i odgovoran je za ćelijsku fuziju, dok glikoprotein M (drugi veliki protein membrane virusa) ima ulogu u formiranju membrane i viriona (2, 3), dok je jednostruka RNK najveća virusna RNK pronađena do danas (4, 5) sa 26-32 Kbp (6, 7).

Put prenošenja 2019-nCoV je direktna inhalacija kontaminiranih “kapljica” koje su u atmosferu otpuštene kihanjem ili kašljanjem, ili direktnim kontaktom preko oralne, nazalne ili očne sluznice (8). Distanca od dva metra je jedan od načina zaštite od širenja infekcije, ali nije dovoljna (9).

Akutna infekcija 2019-CoV je veoma slična sezonskom gripu. Najčešće je praćena povišenom temperaturom, glavoboljom, kratkim dahom, kašljem, bolovima u mišićima i umorom. Pacijenti sa ozbiljnim simptomima, kao što su otežano disanje, bol u grudima, otežan govor, otežano kretanje, zahtevaju urgentnu hospitalizaciju. Ostali simptomi koji se javljaju kod akutne infekcije su hemoptizija, dijareja, dispneja, akutni srčani poremećaji i tipičan nalaz na rendgenskom snimku pluća u vidu „mlečnog stakla“.

Uzevši u obzir akutni respiratorni distress sindrom, antivirusna terapija, antibiotici, kortikosteroidi i antiinflamatorni lekovi su osnova terapijskih protokola (10). Kao dodatak tradicionalnim lekovima, u terapiji COVID-19 koriste se i biljni lekovi, vitaminski suplementi i plazma rekonvalescenata (PR).

Rekonvalescentna plazma, tj. plazma prikupljena od davalaca krvi koji su se oporavili od bolesti, se u prošlosti koristila u terapiji mnogih virusnih infekcija (ebola, influenza, SARS, MERS, virusna hemoragijska groznica). Ova plazma je odlična opcija kao profilaksa ili kurativa-samostalno ili uz određeni terapijski protokol, ili kao poslednja mera kada specifična terapija ne postoji.

Rekonvalescentna plazma se može prikupljati manuelnom ili automatizovanom metodom.

Manuelna metoda prikupljanja plazme se vrši na isti način kao i prikupljanje jedinice cele krvi. U kесе za prikupljanje krvi se uzima 450mL krvi. Prikupljena krv se zatim centrifugira kako bi se odvojila plazma, koja se ekstraktorima prebacuje u kesu predviđenu za to, a eritrociti se vraćaju davaocu. Opasnost ove metode je mogućnost greške i reinfuzija pogrešnih eritrocita, ozbiljna i potencijalno fatalna transfuzijska reakcija ukoliko se radi istovremeno sa više davaoca.

Kod automatizovane procedure se prikupljanje, separacija i vraćanje odvijaju na separatoru krvnih ćelija. Davalac je povezan preko dijaliznih kanila (aplikovane u antekubitalne vene), na set za prikupljanje plazme instaliran na aparatu. Ne postoji rizik od vraćanja pogrešnih ćelija. Potencijalni rizici se predoče davaocima tokom prve procedure, a većina davalaca dobro toleriše sam postupak, međutim, ovaj način je daleko skuplji zbog cene seta koji je za jednokratnu upotrebu.

Cilj rada je identifikacija, prikupljanje, ispitivanje i priprema krvne plazme od rekonvalescentnih dobrovoljnih davalaca sa adekvatno visokim titrom anti-IgG odnosno anti-IgM SARS-CoV antitela.

Materijal i metodi

Davaoci rekonvalescentne plazme su bili rekonvalescenti, dve do četiri nedelje

posle preležane COVID-19 infekcije (koji su donirali samo plazmu) i davaoci krvi sa preležanom COVID-19 infekcijom u anamnezi, koji su prošli standardne predonorske procedure prema nacionalnom transfuzijskom pravilniku.

Svi davaoci su testirani na markere transfuzijom prenosivih infekcija (Hepatitis B, Hepatitis C, HIV1/2 i Syphilis) Elisa testovima i PCR tehnikom, određivanju krvne grupe tj. ABO i Rhesus pripadnosti, skriningu na antieritrocitna antitela, kao i titra Anti-SARS-CoV-2 IgG i IgM antitela na spike i nucleus proteine.

Sama procedura izdvajanja plazme je bila prema sledećem protokolu: od davalaca se prikuplja 450 ± 45 mL krvi u primarnu kesu četvorostrukog seta različitih proizvođača (Macopharma, France; TH, China) koja se zatim centrifugira na „Heraeus“ centrifugi, brzinom od 3500 obrtaja u min, 7 minuta, na temperaturi od 22°C . Zatim je rađena separacija na automatskim separatorima (T-Ace II, TERUMO, Japan ili LMB, Nemačka), kako bi se odvojila plazma koja se prebacuje u za nju predviđenu kesu.

Ako je krv uzimana od COVID rekonvalescenata, eritrociti se vraćaju davaocu,

a sam postupak ponavlja jedan do tri puta, ukupno. Po jedinici obrađene krvi, dobijalo se u proseku 200 mL plazme (160-250 mL), a davaocima je vraćano oko 300 mL eritrocita. Za vreme obrade jedinica krvi, davaoci su primali fiziološki rastvor, 250-500 mL - tzv. manuelna plazmafereza.

Posle obrade rekonvalescentna, krvna plazma se zamrzava u zamrzivaču za brzo zamrzavanje plazme tkz. „Blast Freezer-u“ („Keterman“, Nemačka) na temperaturi od -60°C u trajanju od 24 časa. Zatim se etiketirana plazma prebacuje u zamrzivač, gde se skladišti na temperaturi od $-35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ do upotrebe.

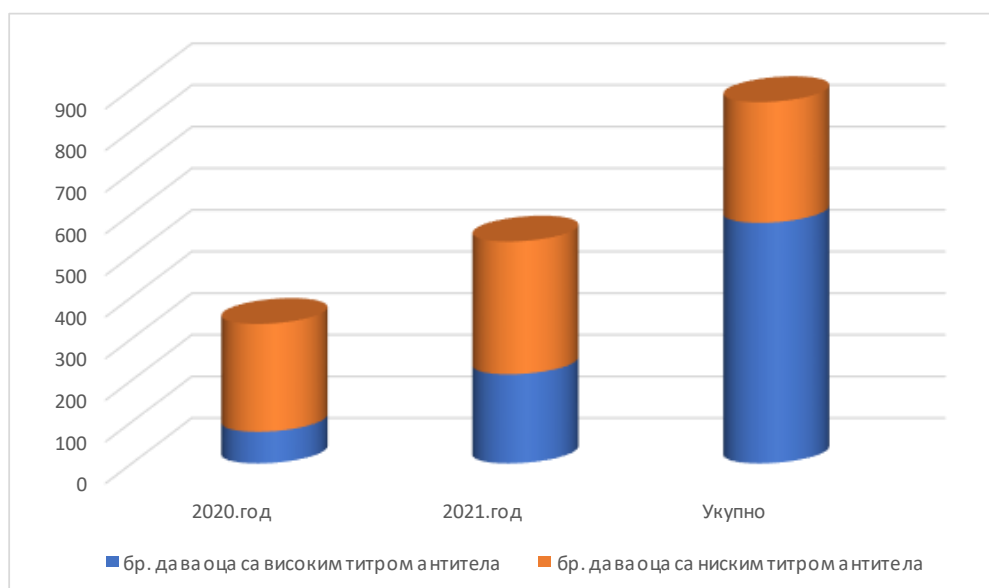
Rezultati

Na Institutu za transfuziologiju i hem-obiologiju VMA sakupljanje COVID-19 rekonvalescentne plazme započeto je u maju 2020. godine, u jeku pandemije. U periodu od godinu dana (jun 2020.-jun 2021.) na anti-COVID-19 antitela testirano je 868 potencijalnih davalaca rekonvalescentne plazme. Od tog broja 290 jedinica je izdato za upotrebu kao rekonvalescentna COVID-19 plazma (tabela br. 1, dijagram 1).

Табела 1

Procenat uzoraka pozitivnih na antitela u odnosu na ukupan broj testiranih

	2020. godina	2021. godina	Ukupno
Br. testiranih uzoraka	335	533	868
Br. uzoraka sa zadovoljavajućim titrom antitela	76	214	290
Procenat	22.69	40.15	33.41



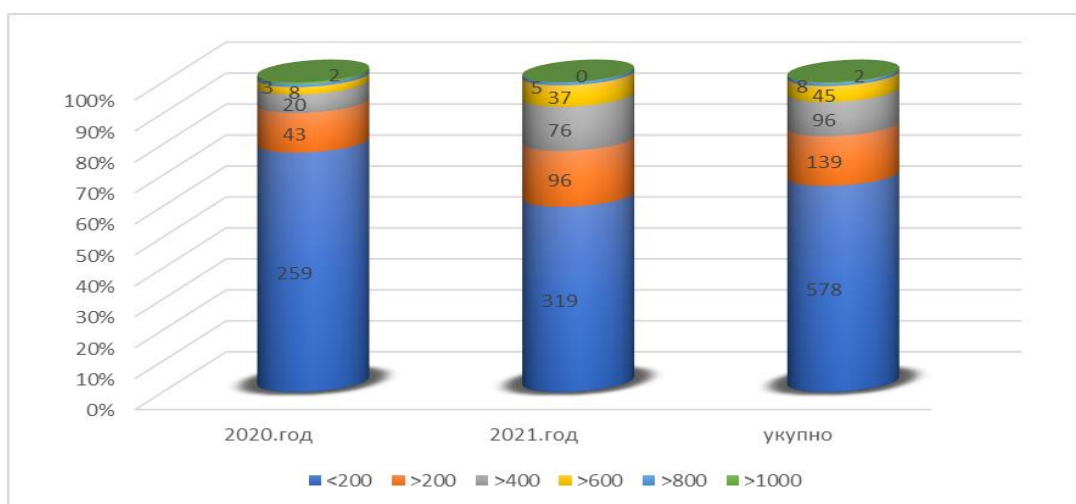
Dijagram 1 – Pozitivni i negativni uzorci na IgG antitela na Spike protein

Uzorci seruma davalaca su testirani kvantitativnim testom na koncentraciju anti-IgG i anti-IgM antitela na *spike* i *nucleus* proteine, sa posebnom pažnjom na IgG antitela na spike protein. *Cut-off* vrednost je bio titar od 200 EU/kg (Tabela br. 2, Dijagram 2).

Tabela 2

Titar anti-IgG antitela na spike protein

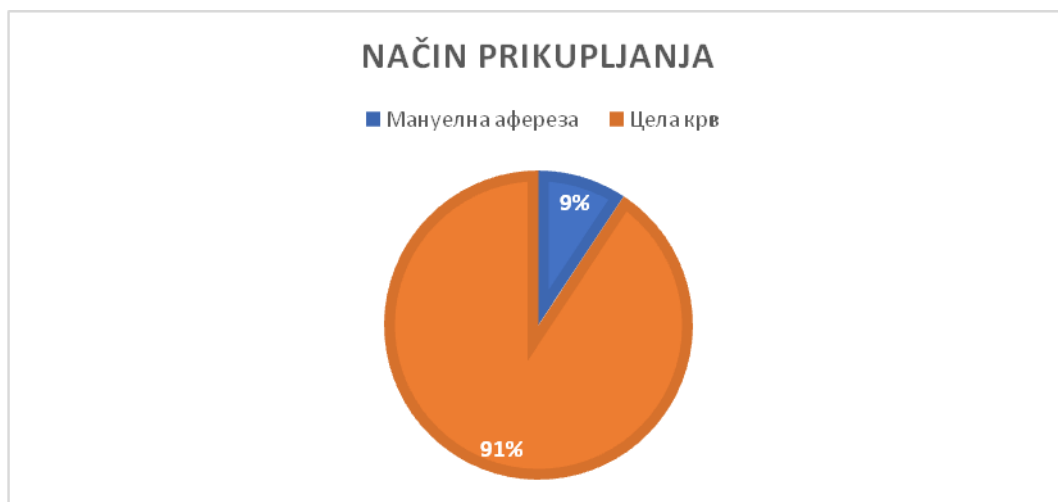
	<200	>200	>400	>600	>800	>1000	Ukupno
Broj davalaca u 2020.год	259	43	20	8	3	2	335
Broj davalaca u 2021.год	319	96	76	37	5	0	533
Ukupno	578	139	96	45	8	2	868



Dijagram 2– Odnos titra antitela među testiranim potencijalnim davaocima rekonvalescentne krvne plazme

Sam proces prikupljanja krvne plazme na Institutu za transfuziologiju i hemobiologiju VMA sprovodio se na dva načina:

- Manuelnom afereznom metodom
- Klasičnim postupkom za dobrovoljno davanje krvi



Dijagram 3 – Načini prikupljanja rekonvalescentne krvne plazme

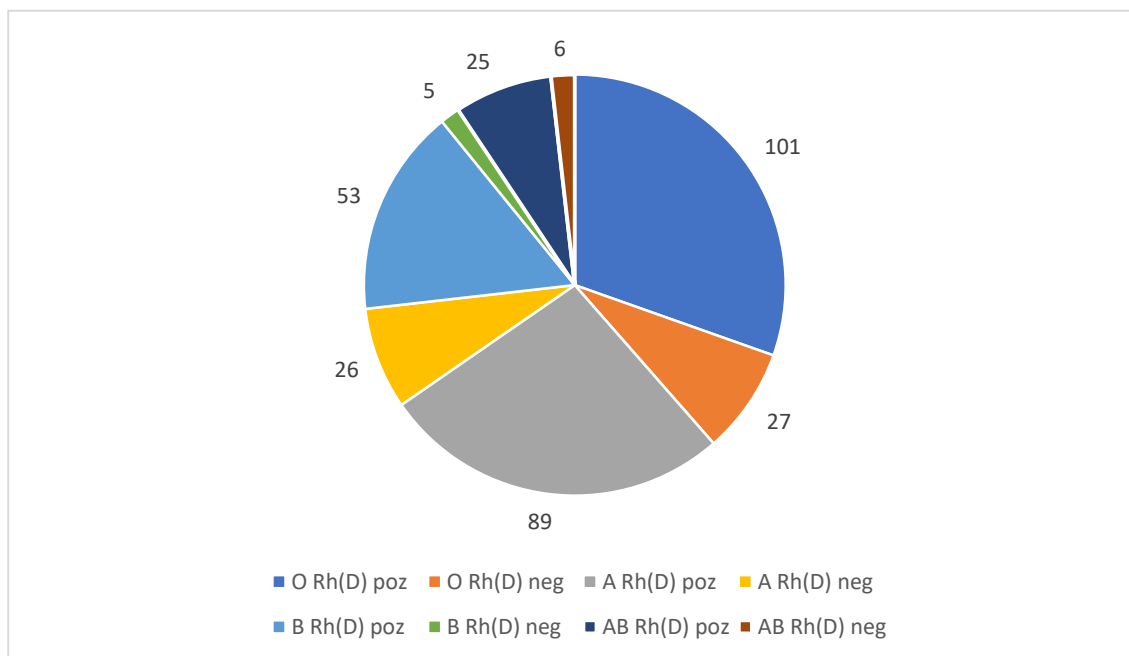
Od 290 uzetih jedinica rekonvalescentne krvne plazme, 27 je uzeto primenom manualnog afereznog postupka, a ostatak (263 jedinica) je uzet klasičnim postupkom za uzimanje krvi od dobrovoljnih davalaca (Dijagram 3).

Iz ugla krvnogrupne pripadnosti, dobrovoljni davaoci rekonvalescentne krvne plazme su u najvećem procentu bili O Rh(D) pozitivni, a zatim A Rh(D) pozitivni (Tabela br. 3, dijagram 4).

Tabela 3

Krvno grupna pripadnost dobrovoljnih davalaca rekonvalescentne krvne plazme

Krvne grupe	O		A		B		AB	
Rh (D)	+	-	+	-	+	-	+	-
2020. god	21	7	20	8	17	0	6	1
2021. god	80	20	69	18	36	5	19	5
Ukupno	101	27	89	26	53	5	25	6



Dijagram 4 – Krvno grupna pripadnost dobrovoljnih davalaca rekonvalescentne krvne plazme

Diskusija

Od početka pandemije COVID-19 upotreba rekonvalescentne plazme kao mogućeg lečenja se nametala kao potencijalno rešenje, naročito na početku pandemije, kada nisu bile odobrene vakcine kao preventivna mera za sprečavanje širenja infekcije.

U radu su opisana naša iskustva u identifikaciji potencijalnih davalaca plazme nakon rekonvalescencije od COVID-19, pripremanju, skladištenju, distribuciji i razvoju strategije za buduće moguće epidemije sličnih razmera.

Pretpostavlja se da je rekonvalescentna plazma COVID-19 efikasna kroz proces pasivne imunizacije, posebno prenošenjem neutrališućih antitela sa oporavljene osobe nekome u riziku od COVID-19 nakon izlaganja SARS COV-2 ili lečenja ako se simptomi već manifestuju. Interes za plazmu rekonvalescenata se pojavio rano u pandemiji, s obzirom na prethodnu primenu plazme

rekonvalescenata za lečenje drugih bolesti korona virusa (tj. SARS-a i „Middle Eastern Respiratory Syndrome“) (11). Rani primeri upotrebe PR tokom epidemije COVID-19 u Kini, pokazali su da je PR bezbedna i potencijalno korisna u lečenju teškog COVID-19. (12-14). Štaviše, PR predstavlja pristup specifičan za virus koji se može brzo primeniti, dok se druge terapije specifične za bolest još uvek razvijaju. Pored antivirusnih mehanizama neutrališućih antitela, imunomodulatorni efekti komponenata plazme mogu biti od koristi. Nekoliko malih i velikih studija pokazalo je efekte rekonvalescentne plazme za lečenje teške virusne bolesti. Transfuzija plazme može prouzrokovati manje neželjene prateće događaje poput groznice, mučnine, alergijskih reakcija, patogeno prenosivih putem krvi i neke ozbiljne neželjene događaje poput akutnog oštećenja pluća (transfusion-related acute lung injury- TRALI), transfuzijom povezanog cirkulatornog preopterećenja (transfu

sion-associated circulatory overload – (TACO) i antitelima zavisno poboljšanje (antibody-dependent enhancement -ADE) (15-19).

Institut je postavio kriterijume koji su bili opšte prihvaćeni za uslove koji su neophodni da bi neko bio davalac plazme. Tu se podrazumevalo da postoji dokaz o preležanoj infekciji odnosno postavljenoj dijagnozi COVID-19 (dokumentovano laboratorijskim testom), potpuno odsustvo simptoma najmanje 14 dana pre davanja plazme, negativan rezultat testa na COVID-19 (bris nazofarinksa ili PCR test), kao i odgovarajući titar anti-IgG odnosno anti-IgM antitela na spike odn. nucleocapsid virusa (20).

Rekonvalescentna plazma se na Institutu selektivno prikupljala od oporavljenih pacijenata prema koncentraciji specifičnih anti-SARS-CoV-2 antitela. Ona se izdvajala i zamrzavala nakon dobrovoljnog davanja jedinice cele krvi od nevakcinisanih davalaca, koji su se oporavili od korone pre mesec i više dana. Drugi način je bio da se plazma prikupljala tkz. “manuelnom aferezom”, od nevakcinisanih davalaca sa visokim titrom antitela, tako što davaoci daju jedinicu cele krvi koja se zatim centrifugira, odvaja plazma, a resuspendovani eritrociti se vraćaju davaocu infuzijom. Ovaj postupak davanja krvi se ponavlja, nakon čega se odvaja i druga jedinica plazme, a resuspendovani eritrociti ponovo vraćaju davaocu. Davaoci krvi sa visokim titrom IgG antitela na “spike” protein su obavestavani da mogu ponovo dati plazmu nakon mesec dana.

Ovako izdvojena plazma je indikovana kod bolesnika sa umerenim i srednje teškim oblikom infekcije koronom, a plazma se daje u toku prvih 3-5 dana, najkasnije do sedmog dana (po dve jedinice u dva uzastopna dana). Ovakav pristup prikupljanja PR omogućava velike uštede, jer se ne koriste skupi setovi za aferezu, dobija se

plazma od više davalaca (znatno bolji efekat u lečenju zbog poliklonskih antitela), a količina plazme je praktično ista (oko 600 mL), titar antitela je najviši, a antitela su usmerena na sve antigene virusa (jer plazma potiče od više davalaca).

Uspostavljanje registra davalaca PR je veoma korisno za identifikaciju kandidata koji ispunjavaju uslove za buduće donacije. Veoma je važno da se oformi “Banka” zamrznutih i spremnih PR da bi u svakom trenutku bilo dovoljnih količina PR za terapijsku upotrebu. Ona se može redovno znavljati prikupljanjem plazme jednom ili dvaput od svih potencijalnih donatora, posebno u ranim fazama pandemija.

Podaci studije iz regiona Veneto kao i dve nedavne meta-analize sugerišu da je primena PR doprinela smanjenju smrtnosti od teškog COVID-19, gde je ukupni mortalitet kod pacijenata primljenih u jedinicama intenzivne nege iznosio 39%, dok je kod pacijenata lečenih PR mortalitet bio skoro za polovinu manji (20%) sa visoko značajnom razlikom (21).

Kod obolelih sa teškim oblikom COVID-19 rano lečenje PR može doprineti povoljnom ishodu, sa smanjenom smrtnošću, posebno kod starijih pacijenata, koji predstavljaju populaciju sa visokim rizikom od letalnog ishoda (22, 23, 24).

Lečenje PR je takođe bilo povezano sa većom stopom kliničkog poboljšanja kod pacijenata sa umerenom ili teškom bolešću. Pacijenti sa umerenom bolešću lečeni PR imali su značajno nižu stopu mortaliteta tokom 30 dana (22, 23, 24). U poređenju sa kontrolnom grupom, zasićenost kiseonikom se poboljšala u roku od 3 dana od transfuzije PR. Nivoi CRP-a su opadali tokom prvih 14 dana nakon transfuzije PR.

Neželjeni događaji prilikom primene PR koji su bili zabeleženi su se odnosili na: pruritus, osip na koži, urtikariju, bronho-

spazam, dispneju, parestezijama gornje usne, ali su oni izuzetni retko zabeleženi.

S obzirom da nismo u trenutku pandemije raspolagali dovoljnim količinama setova za prikupljanje rekonvalescentne COVID-19 plazme na automatizovanim aparatima, pristupili smo originalnoj metodi uzimanja plazme manuelnom tehnikom – korišćenjem sistema višestrukih kesa koje inače posedujemo i koristimo za davanje krvi, odnosno izdvajanjem i zadržavanjem plazme od dobrovoljnih davalaca krvi koji imaju zadovoljavajući titar anti-SARS-CoV-2 antitela. Ovakvim pristupom se postigla značajna finansijska ušteda, s obzirom da su kese za prikupljanje krvi neuporedivo jeftinije od setova za automatsko prikupljanje plazme, a praktično je postignut isti, odnosno čak i bolji efekat, jer se u terapiji koristi plazma od četiri davaoca.

Da smo na pravom putu pokazuje i rad koji je nedavno publikovan i u kome se WHO ponovo poziva da revidira stavove koji se odnose na neefikasnost terapije PR jer su dokazi upravo potvrdili suprotno, odnosno, da pacijente treba lečiti PR što pre u ranijim stadijumima bolesti, primenom PR sa što višim titrom antitela. Pokazano je skraćanje boravka u bolnici odn. raniji izlazak iz bolnice kao i bolji ishod lečenja naročito kod imunosuprimiranih pacijenata (25).

Zaključak

Rekonvalescentna plazma je potencijalna terapija koja ispunjava uslove da bude brzo i efikasno primenjena. Ustanovljeno je da rekonvalescentna krvna plazma data u prvim danima od pojave simptoma kod umerenih odnosno srednje teških oblika bolesti, dovodi do povlačenja tegoba kod gotovo svih inficiranih pacijenata. Većina rekonvalescentna posle preležane COVID-19 infekcije razvije visok titar *anti-COVID*

antitela i neutrališućih antitela. S obzirom da je ustanovljeno da posle tri meseca od dijagnoze dolazi do pada neutrališućih antitela, treba pristupiti kolekciji plazme u tom periodu. Potrebno je promovisati dobrovoljno davanje krvi od rekonvalescentnih davaoca koji nisu vakcinisani kako bi se povećale zalihe rekonvalescentne krvne plazme u ovlašćenim transfuziološkim ustanovama na teritoriji Srbije. Pasivna imunoterapija uključena u ranoj fazi bolesti može smanjiti visok rizik pogoršanja stanja pacijenta, a samim tim i smrti izazvane COVID-19 infekcijom.

Literatura:

1. Singhal T. A Review of Coronavirus Disease-2019 (COVID-19). *Ind J Pediatr.* 2020; 87(4): 281–6.
2. Jacofsky D, Jacofsky EM, Jacofsky M. Understanding Antibody Testing for COVID-19. *J Arthroplasty.* 2020 Jul; 35(7S): S74-S81.
3. Comas-Garcia M. Packaging of Genomic RNA in Positive-Sense Single-Stranded RNA Viruses: A Complex Story. *Viruses.* 2019; 11(3): 253.
4. Mousavizadeh L, Ghasemi S. Genotype and phenotype of COVID-19: Their roles in pathogenesis. *J Microbiol Immunol Infect.* 2021 Apr; 54(2): 159-163.
5. Velavan TP, Meyer CG. The COVID-19 epidemic. *Trop Med Int Health.* 2020; 25(3): 278–80.
6. Li H, Liu S-M, Yu X-H, Tang S-L, Tang C-K. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): current status and future perspectives. *Int J Antimicrob Agents.* 2020; 55(5): 105951.
7. Riou J, Althaus CL. Pattern of early human-to-human transmission of Wuhan 2019 novel coronavirus (2019-nCoV), December 2019 to January 2020. *Euro Surveill.* 2020; 25(4): 2000058.
8. Lotfi M, Hamblin MR, Rezaei N. COVID-19: Transmission, prevention,

- and potential therapeutic opportunities. *Clin Chim Acta*. 2020; 508: 254–66.
9. Gattinoni L, Coppola S, Cressoni M, Busana M, Rossi S, Chiumello D. Covid-19 does not lead to a “typical” acute respiratory distress syndrome. *Am J Resp Crit Care Med*. 2020; 201(10): 1299–1300.
10. Gavriatopoulou M, Ntanasis-Stathopoulos I, Korompoki E, Fotiou D, Migkou M, Tzanninis IG, et al. Emerging treatment strategies for COVID-19 infection. *Clin Exp Med*. 2021 May; 21(2):167 -179.
11. Bloch EM, Shoham S, Casadevall A, Sachais BS, Shaz B, Winters JL, et al. Deployment of convalescent plasma for the prevention and treatment of COVID-19. *J Clin Invest*. 2020 Jun 1; 130(6): 2757-65.
12. Duan K, Liu B, Li C, et al. Effectiveness of convalescent plasma therapy in severe COVID-19 patients. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2020;117:9490-6.
13. Marano G, Vaglio S, Pupella S, et al. Convalescent plasma: new evidence for an old therapeutic tool? *Blood Transfus* 2016;14: 152-7.
14. Shen C, Wang Z, Zhao F, et al. Treatment of 5 Critically Ill Patients With COVID-19 With Convalescent Plasma. *JAMA* 2020; 323:1582-9.
15. Food and Drug Administration. Convalescent plasma letter of authorization. 2020. Available : <https://www.fda.gov/media/141477/download>. Accessed August 31, 2020.
16. Food and Drug Administration. EUA 26382: Emergency Use Authorization (EUA) Request. 2020. Available <https://www.fda.gov/media/141480/download>. Accessed August 31, 2020.
17. Food and Drug Administration. Convalescent plasma letter of authorization. 2020. Available at: <https://www.fda.gov/media/141477/download>. Accessed August 31, 2020.
18. Food and Drug Administration. EUA 26382: Emergency Use Authorization (EUA) Request. 2020. Available at: <https://www.fda.gov/media/141480/download>. Accessed August 31, 2020.
19. Jun Yong Choi. Convalescent Plasma Therapy for Coronavirus Disease 2019. *Infect Chemother*. 2020;52:e65.
20. Recommendations for Investigational COVID-19 Convalescent Plasma [Internet]. Silver Spring (MD): U.S. Food and Drug Administration; 2020 [cited 2020 May 11]. Available from: <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/investigational-new-drug-ind-or-device-exemption-ide-process-cber/recommendations-investigational-covid-19-convalescent-plasma>.
21. De Silvestro G, Marson P, La Raja M, Cattelan AM, Guarnieri G, Monticelli J, et al. Outcome of SARS CoV-2 inpatients treated with convalescent plasma: One-year of data from the Veneto region (Italy) Registry. *Eur J Intern Med*. 2021 Dec 27:S0953-6205(21)00433-7. doi:10.1016/j.ejim.2021.12.023.
22. Klassen S.A., Senefeld J.W., Johnson P.W., Carter R.F., Wiggins C.C., Shoham S., et al. The effect of convalescent plasma therapy on COVID-19 patient mortality: systematic review and meta-analysis. *Mayo Clin Proc*. 2021; 96: 1262–1275.
23. Yuwono Soeroto A., A Purwiga A., A Alam A., D Prasetya D. Plasma convalescent decrease mortality in COVID-19 patients: a systematic review and meta-analysis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2021; 25: 4841–4853.
24. Alsharidah S, Ayed M, Ameen RM, Alhuraish F, Rouheldeen NA, Alshammari FR, et al. COVID-19 convalescent plasma treatment of moderate and severe cases of SARS-CoV-2 infection: A multicenter interventional study. *Int J Infect Dis*. 2021 Feb; 103: 439-446.
25. Paneth N, Casadevall A, Pirofski L, Henderson JP, Grossman BJ, Shoham S, et al. WHO covid-19 drugs guideline: reconsider using convalescent plasma. *BMJ* 2022; 376:o295 | doi: 10.1136/bmj.o295





KARL LANDSTEINER – ZAČETNIK NOVOG RAZDOBLJA U TRANSFUZIONOJ MEDICINI

Zorica Radonjić¹, Bela Balint^{2,3}, Snežana Jovanović Srzentić⁴

¹ Odeljenje za transfuziju krvi, Institut za zdravstvenu zaštitu majke i deteta Srbije „Dr Vukan Čupić“, Beograd, Srbija

² Odeljenje medicinskih nauka, Srpska akademija nauka i umetnosti;

³ Institut za kardiovaskularne bolesti Dedinje“, Beograd, Srbija;

⁴ Institut za transfuziju krvi Srbije, Beograd, Srbija.

Sažetak

Karl Landsteiner je, neosporno, utemeljitelj krvnih grupa, o čemu svedoči njegov rad iz 1901. godine, objavljen u bečkom medicinskom nedeljniku „*Wiener klinische Wochenschrift*“, pod naslovom „*Fenomeni aglutinacije normalne ljudske krvi*“ koji govori o grupama ABC (ABO). Ovo fundamentalno otkriće bilo je prekretnica u razvoju nauke o transfuziji krvi i transplantaciji tkiva. Međutim, njegova ličnost dobija razmere vredne divljenja kada se uzmu u obzir svi njegovi odlučujući naučni doprinosi medicini. Cilj ovog preglednog rada je da se prikaže život i najvažnija naučna dostignuća Karl-a Landsteiner-a.

1. Od pokušaja lečenja krvlju do otkrića krvnih grupa ABO

Upotreba krvi u terapijske svrhe, tako što se pije kao „elixir vitae“, seže u vreme koje prethodi biblijskom. Uprkos protivljenju prvog rimskog lekara, Aulus-a Cornelius-a Celsus-a (25 p.n.e – 50 n.e.), ispijanje krvi se i dalje primenjivalo. Bila je rutinska praksa da se krv palih gladijatora pije kao lek za razne bolesti, uključujući epilepsiju (1).

Racionalno promišljanje o transfuziji bilo je sprečeno uverenjem Aristotela (384–322 p.n.e.) i Galena (130–200 n.e.) koji su smatrali da se krv stvara u srcu ili jetri i teče dok se ne potroši. Ovo učenje bilo je neosporno prihvaćeno više od 1400 godina, sve do 1616. godine i detaljnog opisa humanog krvotoka od strane W. Harvey-a (1578–1657). Harvey-evo otkriće iznenada je dalo podsticaj za razmišljanje o mogućnosti prenošenja krvi iz krvnog suda

jedne životinje ili osobe, u krvni sud druge. Godine 1628. Giovanni Francisco Colle (1558–1631), profesor na Univerzitetu u Padovi (koji je možda znao za Harvey-ev rad) pisao je o transfuziji krvi kao o mogućem „metodu za produženje života“, iako nema dokaza da je on ikada pokušao da izvrši transfuziju. Engleski lekar Richard Lower (1631–1691) 1666. godine uspešno je transfundovao krv od jednog psa drugom psu (2, 3).

Ohrabren Lower-ovim pokušajima, francuski lekar Jean Baptiste Denis (1635– 1704) je 1667. godine u Parizu, primenio transfuziju jagnjeće krvi jednom petnaestogodišnjem dečaku. Proceduru je kasnije ponovio kod još nekoliko pacijenata. Nakon što je smrt jednog pacijenta pripisana njegovom novom postupku, bilo mu je zab-

ranjeno da nastavi ovu praksu. Ipak, zahvaljujući takvim eksperimentima dokazana je izvodljivost transfuzije krvi. Međutim, proći će skoro dva veka pre nego što su državna i crkvena ograničenja (uključujući edikt u Francuskoj i papsku bulu) ukinuta, a terapijske transfuzije postale legalno prihvatljive (4). Transfuzije krvi sa životinje na čoveka su u ovom periodu vršene bez znanja o imuno-hematološkim razlikama među vrstama, bez poznavanja antikoagulanasa i sa ograničenom opremom.

Istorijski, datum prve dokumentovane transfuzije humane krvi je 22. decembar 1818. godine. Londonski lekar *James Blundell* (1790–1877) primenio je transfuziju krvi čoveku koji je bolovao od karcinoma želuca. Približno 14 unci krvi (oko 400 ml) od nekoliko davalaca transfundovano je špricom u malim količinama u intervalima od oko pet minuta. Ovaj događaj smatra se početkom savremene ere transfuzione medicine (5, 6).

Sredinom 1800-ih transfuzije krvi su još jednom napuštene kada je uvedena infuzija fiziološkog, slanog rastvora kao supstituenta za krv (1).

Zanimljivo je da su počeci lečenja transfuzijama imali izvesnog uspeha čak i bez ikakvog znanja o krvnim grupama. Razlike u kompatibilnosti krvi među vrstama su prepoznate pre nego razlike unutar vrsta. *Leonard Landois* (1837–1902) objavio je 1875. godine rad pod naslovom „*Die Transfusion des Blutes*“ u kome je izneo zapažanje da mešanje krvnih ćelija jedne vrste sa serumom druge vrste često prouzrokuje njihovu hemolizu unutar 2 minuta (7).

U poslednjoj deceniji 19. veka za-beležen je zadivljujući napredak u oblastima mikrobiologije i imunologije. Francuski naučnici razvijali su „ćelijsku imunologiju“ predstavljenu mehanizmom fagocitoze, dok su s druge strane austrijsko-nemački istraživači ispitivali antimikrobnu i antitoksičnu

aktivnost seruma senzibilisanih životinja. Dva naočigled nepovezana pravca istraživanja vodila su ka razvoju, transfuzione imunologije“ (8).

U tom smislu, januara 1896. godine *Karl Landsteiner*, u to vreme dvadesetsedmogodišnji mlad lekar, dobija posao asistenta na Institutu za higijenu Medicinskog fakulteta u Beču, kojim upravlja *Max von Gruber* (1853–1927). *Gruber* je bio poznat po otkriću specifične aglutinacije u reakciji između bacila tifusa i vibriona kolere sa aloaglutininima iz seruma rekonvalescentnih pacijenata. Skoro u isto vreme *Fernard Widal* i *Arthur Sicard* u Parizu predlažu ovu aglutinacionu reakciju za brzu dijagnostiku tifusa. *Landsteiner* je bio fasciniran *Gruber-Widal* reakcijom koja je pružala dokaz za serološku diferencijaciju tifusnih i netifusnih bacila. Pod Gruberovim uticajem pojačalo se *Landsteiner*-ovo interesovanje za mehanizme imunosti i prirodu antitela (8–10). U jesen 1897. godine on prelazi na Institut za patološku anatomiju koji vodi *Anton Weichelbaum* (1845–1920) (pronalazač bakterijskog uzročnika meningitisa), na kome ostaje narednih 10 godina. To je, bez sumnje, jedan od najproduktivnijih perioda njegovog života. Za to vreme objavio je 75 radova (52 iz serologije, 12 iz bakteriologije i virusologije, 11 iz patologije) i uradio više od 3600 obdukcija (10).

Nekoliko radova o aglutinaciji humanih i životinjskih eritrocita aglutininima iz različitih seruma objavljenih oko 1900. godine, citirali su *Landsteiner* (1900), a posebno *Halban* (1900), *Shattock* (1900) i *Eisenberger* (1901). Interakcije između humanih eritrocita i seruma bile su zapažene uglavnom kod bolesnih osoba, tako da su njihovi izoaglutinini smatrani patološkim (napomena: „izo“ – označava reakciju između različitih jedinki iste vrste; „alo“ – između jedinki različitih vrsta. Značenje ovih

prefiksa od tada se donekle promenilo) (8). Februara 1900. godine *Landsteiner* objavljuje rad pod naslovom „Prilog poznavanju antienzijskih, litičkih i aglutinacionih efekata krvnog seruma i limfe”. U zabelešci na dnu stranice rada može se pročitati sledeći komentar: „... Serum zdravih ljudi izaziva aglutinaciju ne samo krvnih ćelija životinja već često ima isto dejstvo na krvne ćelije drugih pojedinaca. Postavlja se pitanje da li je ovaj fenomen posledica nasleđenih individualnih razlika ili nastaje zbog oštećenja, izazvanih eventualno bakterijama” (10–12).

Originalni rad o postojanju krvnih grupa objavljen je 14. novembra 1901. godine, u broju 46 časopisa „Winner klinische Wochenschrift” pod naslovom „Fenomeni aglutinacije normalne ljudske krvi”. U odnosu na kriterijume tog vremena, ovaj tekst je prilično kratak. Metodologija je jednostavna i bazirana je na reakciji aglutinacije *in vitro*. Nema preciznih objašnjenja o načinu dobijanja seruma. Eritrociti se dobijaju razblaživanjem krvi sa 5% do 0,6% rastvorom NaCl. Serum i suspenzija eritrocita su

pomešani u jednakim zapreminama na pločici ili u epruveti. *Landsteiner* ne precizira temperaturu na kojoj se odigrava reakcija, jačinu aglutinacija, kao ni posle kog vremena se čitaju rezultati. Zaključci proizilaze uglavnom od reakcija aglutinacije između seruma i eritrocita šestorice zdravih ljudi, saradnika Instituta za patološku anatomiju (a to su dr *Stoerk*, dr *Pletschnig*, dr *Sturli*, dr *Erdheim*, dr *Landsteiner*, laborant *Zaritsch*) i šest porodilja. Utvrđene su tri grupe (A, B i C) sa sledećim karakteristikama (11, 13) (Slika 1):

- Serum ispitanika A aglutiniše eritrocite ispitanika B, ali ne i eritrocite drugih osoba sa karakteristikama ispitanika A;
- Eritrociti ispitanika A su aglutinirani na isti način serumom ispitanika B;
- Serum ispitanika C aglutiniše eritrocite ispitanika A i B ali ne i one drugih ispitanika C (ova grupa će biti nekoliko godina kasnije preimenovana u grupu O, na inicijativu *Ludwik-a Hirsfeld-a* (1884–1954) i *Emil-a von Dungern-a* (1867–1961) (11, 13).

Tabelle I, betreffend das Blut sechs anscheinend gesunder Männer.

Sera							
Dr. St.		—	+	+	+	+	—
Dr. Plecn.		—	—	+	+	—	—
Dr. Sturl.		—	+	—	—	+	—
Dr. Erdh.		—	+	—	—	+	—
Zar.		—	+	+	+	—	—
Landst.		—	+	+	+	+	—
Blutkörperchen von:		Dr. St.	Dr. Plecn.	Dr. Sturl.	Dr. Erdh.	Zar.	Landst.

Slika 1. Reprodukcijska Tabele I (strana 1133) Landštajnerovog rada iz 1901. godine. Zapaža se da Landštajner (*Landst*) i *Stoerk* (*Dr St*) pripadaju istoj grupi, jer njihov serum (redovi 1 i 6) aglutiniše sve eritrocite izuzev onih iz iste grupe: a to je grupa O. *Sturli* (*Dr Sturl*) i *Erdheim* (*Dr Erdh*) pripadaju istoj grupi (identičnost njihovih redova i kolona); ova grupa (A ili B?) se razlikuje od Landštajnerove i *Stoerk*-ove. Njihov serum aglutiniše samo eritrocite dve preostale osobe, *Pletschnig*-a (*Dr Plecn*) i *Zaritsch*-a (*Zar*), koji pripadaju trećoj grupi (B ili A?). Preuzeto od Aymard JP. *Transfus Clin Biol.* 2012;19:244–8.

U diskusiji rada *Landsteiner* ističe da aglutinacija može biti postignuta sa osušanim i ponovo rastvorenim serumom, kao i sa osušenom krvlju. Zatim, on insistira na potencijalnom značaju ovih istraživanja za sudsku medicinu i, tek u poslednjim redovima ovog rada, on brzo, gotovo na prikriven način, podseća na problem transfuzije i piše: „... ova zapažanja omogućavaju da se objasne promenjivi rezultati terapijskih transfuzija krvi kod čoveka”. Iz ove publikacije izvedeno je i dobro poznato imunohematološko pravilo, takozvano „*Landsteiner*-ovo pravilo“ koje kaže da serum svakog čoveka sadrži izohemaglutinine koji nisu usmereni protiv aglutinabilne supstance na sopstvenim eritrocitima (10, 11, 13).

Sledeće godine, *Adriano Sturli* (1873–1966) i *Alfred Decastello-Rechtwehr* (1872–1960), dvojica *Landsteiner*-ovih saradnika na Institutu za patološku anatomiju, potvrđuju rezultate njegovog istraživanja u većoj studiji od 155 ispitanika. Identifikovali su 4 ispitanika (2,5%) bez aglutinina u sopstvenom serumu, čiji eritrociti su aglutinisani serumom ispitanika sve tri prethodno utvrđene krvne grupe (krvna grupa AB). Zapažaju takođe da se izoaglutinini nalaze kod zdravih ljudi i da nisu povezani samo sa bolešću (14).

2. Mladost i školovanje *Karl*-a *Landsteiner*-a

Karl Landsteiner rođen je 14. juna 1868. godine u Badenu, lepom banjskom i turističkom mestu smeštenom južno od Beča, u pokrajini Donja Austrija, kao prvo i jedino dete *Leopold*-a *Landsteiner*-a (1817–1875) i njegove supruge *Fanni Hess* (1837–1908) poreklom iz jevrejske trgovačke porodice iz *Prossnitz*-a u Moravskoj. Bračni par pripada dobrostojećoj bečkoj jevrejskoj buržoaziji. *Leopold Landsteiner* bio je novinar, glavni urednik dnevnog liberalnog *Die Presse*, a

potom i osnivač dnevnog lista *Morgenpost*. Umro je u 58. godini života, kada je *Karl* imao sedam godina.

Srednje obrazovanje *Karl Landsteiner* stiče u gimnaziji *Maximilian-Staatsgymnasium*, gde u julu 1885. godine polaže maturalni ispit sa odličnim ocenama za prirodne nauke, fiziku i matematiku. U jesen 1885. godine upisuje Medicinski fakultet Univerziteta u Beču. Tu će učiti često kod prestižnih profesora: kod *Carl*-a *Toldt*-a an-atomiju, *Otto*-a *Kahler*-a internu medicinu, *Theodor*-a *Billroth*-a hirurgiju, *Siegmund*-a *Exner*-a fiziologiju. Dok je bio na studijama, *Landsteiner* i njegova majka prihvataju hrišćanstvo. Kršten je pod imenom *Karl Otto* 4. decembra 1890. godine u katoličkoj crkvi *Schotten* u Beču. Kasnije, tokom života trudio se da svoje jevrejsko poreklo zadrži u potpunoj tajnosti. Postaje doktor medicine (*Doktor der gesamten Heilkunde*) 21. februara 1891. godine. Njegovo usavršavanje u narednim godinama već najavljuje njegovu buduću karijeru, jer je mnogo boravio po renomiranim hemijskim laboratorijama u *Virzburgu*, *Minhenu* i *Cirihu*. *Landsteiner* se udaljava od kliničke medicine i potvrđuje svoju zainteresovanost za proučavanjem humane biologije kao hemičar (10, 11).

3. Život i rad *Karl*-a *Landsteiner*-a posle otkrića krvnih grupa ABO

Landsteiner ostaje na Institutu za patološku anatomiju sve do 1907. godine. Tu nastavlja svoja istraživanja o aglutinaciji humanih eritrocita i analizira razlike koje nastaju u odnosu na različite faktore kao što su temperatura, koncentracija eritrocita, starosna dob. On zapaža da su „imuni” ABO aglutinini rezistentniji na toplotu od „normalnih”. To je bio prvi korak u poznavanju razlike između imunihi prirodnih antieritrocitnih antitela, što danas smatramo osnovnim znanjima iz ove oblasti. Uporednom analizom jačine

aglutinacija seruma majki i njihove novorođene dece on jasno sugerise postojanje imunološke nezrelosti novorođenčadi („...“

organizam novorođenčeta, ako se uporedi sa organizmom odrasle osobe mora se smatrati nepotpuno razvijenim”)(Slika 2) (11, 15).



Slika 2. Karl Landsteiner

Uporedo sa ovim istraživanjima, *Landsteiner* nastavlja proučavanja i u drugim oblastima. U saradnji sa *Julius*-om *Donath*-om (1870–1950), 1904. godine razjašnjava patofiziološki mehanizam paroksizmalne hemoglobinurije na hladnoću. Dokazuju da je ova bolest posledica prisustva specifičnih antieritrocitnih antitela i objavljuju prvi rad o autoantitelima i autoimunoj bolesti (16).

Tokom rada na Institutu za patološku anatomiju *Landsteiner* je uključen u istraživanja o sifilisu. Zajedno sa *W. Mucha*-om (1877–1933), asistentom na Katedri za sifilidologiju i dermatologiju, razvija novu metodu dijagnostike spiroheta uz pomoć mikroskopa, koristeći tehniku tamnog polja (*Dunkelfeldbeleuchtung*) (10, 17). *Landsteiner* i *Ernst Finger* (1856–1939) uspevaju da dokažu prenosivost sifilisa sa ljudi na majmune (10, 18,19).

Početkom 1908. godine, preuzima rukovođenje službom patoanatomije u *Wilhelminenspital* u *Ottakring*-u, na zapadu Beča. u *Ottakring*-u, na zapadu Beča. To je i danas jedna od najvećih gradskih bolnica sa više od 1500 bolničkih postelja. Tu je radio 12 godina, do 31. marta 1920. godine. Za to vreme objavio je 91 od ukupno 360 radova. Majka, koju je mnogo voleo, umire 1908. godine.

Poliomijelitis je bila još jedna bolest čijem proučavanju je *Landsteiner* dao svoj doprinos. Na sastanku Kraljevskog i carskog društva lekara u Beču 18. decembra 1908. godine, *Landsteiner* prikazuje uspešan eksperimentalni model transmisije poliomijelitisa na majmune, tako što intraperitonealno ubrizgava homogenizovanu suspenziju tkiva CNS-a od devetogodišnjeg dečaka koji je umro od dečije paralize na Dečjoj klinici *Wilhelminen* bolnice (9).

U saradnji sa *Constantin-om Levaditi-jem* (1874–1953) sa Instituta Paster u Parizu, *Landsteiner* dokazuje da se radi o virusnoj bolesti (9, 20).

Godine 1916. ženi se sa *Leopoldine Helene Wlasto* (1880–1943), pozorišnom glumicom, čiji otac je svetovni upravnik grčke pravoslavne parohije u Beču (11).

Njihov sin, Ernst, koji će im biti jedino dete, rođen je 8. aprila 1917. godine.

Život u Beču posle Prvog svetskog rata bio je gotovo nepodnošljiv. Pod teretom finansijske i socijalne krize povezane sa slomom Austrougarske monarhije, *Landsteiner* napušta Beč 1920. godine i sa porodicom odlazi u Hag gde preuzima mesto obducenta u bolnici Crveni krst (*Rode Kruis Ziekenhuis*). U tom periodu objavio je 12 radova, od kojih su neki na holandskom jeziku. U Holandiji se *Landsteiner*-ovo materijalno stanje poboljšava. Međutim, on nije zadovoljan svojom profesionalnom situacijom: njegova strast za istraživanjem ostaje neispunjena. Podstaknut od strane *Simon-a Flexner-a*, direktora Instituta *Rockefeller*, prihvata mesto istraživača u ovoj instituciji, te u aprilu 1923. godine napušta Hag i odlazi u Njujork (9, 11).

Landsteiner će biti istraživač na *Rockefeller*-ovom institutu sve do penzionisanja 1939. godine. Ovde se potpuno predaje istraživanjima i nastavlja svoj rad na izučavanju sistema ABO.

Sa svojim asistentom, *Charles-om Philip-om Miller-om*, dokazuje prisustvo antigena ABO na eritrocitima antropoidnih majmuna. Sa svojim drugim asistentom, *Philip-om Levine-om* (1900–1987), potvrđuje podelu krvne grupe A na podgrupe A_1 i A_2 . Ukazuje na verovatnoću naslednog karaktera ovih podgrupa, kao i njihovu različitu distribuciju između osoba crne i bele rase (11).

Landsteiner i *Levine* 1927. godine otkrivaju dva „aglutinišuća faktora” na humanim eritrocitima, koja označavaju slovima

M i N. Nezavisni od krvnih grupa ABO, oni su prvi poznati antigeni jednog zajedničkog kompleksa, sistema MNS (prema klasifikaciji Međunarodnog udruženja za transfuziju krvi ISBT, oni su deo sistema označenog kao ISBT 2). Isti naučnici 1927. godine otkrivaju antigen P (sistem GLOB (ISBT 28)) (21).

Landsteiner, njegova supruga i sin postaju državljani SAD 21. juna 1929. godine. *Landsteiner* dobija Nobelovu nagradu za fiziologiju 1930. godine, za „otkriće ljudskih krvnih grupa”. U Stokholmu, gde odlazi sam, na tradicionalnoj laureatskoj konferenciji govori na nemačkom jeziku, na temu „Individuelne razlike ljudske krvi”. (*Über individuelle Unterschiede des menschlichen Blutes*).

Široko rasprostranjeno uverenje je da se u otkriću sistema *Rhesus* vidi poslednja značajna uloga *Landsteiner-a* kada je u pitanju istraživanje krvnih grupa. Realnost je malo drugačija. Do otkrića „rezus faktora” došlo je bez ikakve sumnje i zahvaljujući *Philip-u Levine-u*, 1937. godine (on je 1932. godine napustio *Landsteiner-a* i Institut *Rockefeller*) otkrićem odgovarajućih antitela u serumu jedne žene koja je rodila mrtav plod. Međutim, publikacija ovog slučaja potiskivana je sve do 1939. godine (11, 22). Tako su *Landsteiner* i *Alexander Wiener* (1907–1976) tek kasnije, 1940–1941. pronasli „rezus faktor” uz pomoć eksperimentalnog modela heteroimunizovanog zeca sa eritrocitima majmuna *Macacus rhesus* (11, 23, 24).

U Njujorku, u saradnji sa bakteriologom *Clara-om Nigg* (1897–1986), *Landsteiner* radi na vrlo važnim radovima o tifusu, a posebno na uslovima rasta *Rickettsia in vitro* (25).

Na kraju, u poslednjim godinama života u Americi, u saradnji sa imunologom *Merrill Wallace Chase* (1905–2004), *Landsteiner* posvećuje zadivljujuće radove izuča-

vanju fenomena kožne alergije, kao i anafilakse (11).

Krajem 1939. godine *Landsteiner* prestaje da radi kao aktivni istraživač na Institutu *Rockefeller*. Međutim, ipak zadržava na raspolaganju jednu malu laboratoriju u kojoj nastavlja svoj rad. Poslednje godine *Landsteiner*-ovog života bile su u senci brige za suprugu koja je bolovala od malignog tumora štitne žlezde. Neumorno je radio na istraživanju malignih tumora u nadi da će joj pomoći. Kada je shvatio da to neće moći da učini, njegovo psihofizičko stanje se pogoršalo. Tako, 24. juna 1943. godine, dobija jake bolove u grudima koji upućuju na akutni infarkt srca. Umiro 26. juna 1943. godine u bolnici Instituta šest meseci pre supruge. Njegovo telo je kremirano, a pepeo sahranjen na *Prospect Hill Cemetery*, na ostrvu *Nantucket*, u vodama Nove Engleske (10, 11).

Karl Landsteiner je, neosporno, utemeljitelj krvnih grupa. O tome svedoči njegov prvi rad iz 1901. godine, koji govori o grupama ABC (ABO), kao i mnogobrojni radovi koji su usledili, u kojima su se on i njegovi saradnici posvetili otkrivanju čitavog jednog sveta krvnih grupa.

Završne reči *Hermann-a Chiari-a* na otkrivanju spomen-ploče *Landsteiner-u* na Univerzitetu u Beču 1961. godine, najbolje opisuju praktični značaj njegovog dela „... Gde god se danas u svetu daje transfuzija krvi, gde god je zabrinutoj majci ugroženo dete spaseno, *Karl Landsteiner* je virtuelno prisutan“ (10, 11).

4. Transfuziona medicina na početku novog milenijuma

Od drevnih vremena do novog milenijuma, krv je bila materija koja fascinira ljude. Otkrićem krvnih grupa ABO započinje savremeno doba primene bezbednih transfuzija krvi.

Radna grupa za imunogenetiku eritrocita i terminologiju krvnih grupa Međunarodnog udruženja za transfuziju krvi (International Society of Blood Transfusion – ISBT) svrstava, do sada otkrivenih 345 eritrocitnih antigena u 43 sistema krvnih grupa (jun 2021. godine). Sistem ABO ostao je prvi (ISBT 1) i za kliničku praksu jedan od najvažnijih. Skoro svi geni sistema krvnih grupa su klonirani i sekvencirani.

Poznato je njihovo mesto na odgovarajućim hromozomima. Poznata je takođe molekularna osnova za većinu krvno-grupnih polimorfizama. S druge strane, vrlo malo se zna o funkciji antigena krvnih grupa i fiziološkom značaju polimorfizama. Radna grupa ISBT registruje i tri kategorije eritrocitnih antigena koji još nisu povezani sa sistemima. Kolekcije obuhvataju antigene koji su biohemijski, genetski ili serološki slični, čija genska osnova još nije otkrivena. Postoje i dve serije antigena: serija 700 obuhvata antigene koji se ne uklapaju ni u jedan sistem ili kolekciju i čija je incidencija < 1% u svim populacijama, dok serija 901 sadrži antigene čija je incidencija > 99% u svim populacijama.

Transfuzionu medicinu na početku XXI veka sačinjava spektar različitih medicinskih disciplina i postupaka: prikupljanje, testiranje i skladištenje krvnih komponenti; oblasti hemostaze, imunohematologije, transplantacije i ćelijskog inženjeringa; donorske i terapijske afereze; lečenje rekombinantnim plazmatskim proteinima; upotreba komponenti krvi u kliničkoj medicini. Bez resursa u transfuzionoj medicini moderna hirurgija i medicina bi se teško mogle ostvariti, a transfuziono lečenje započinje od davalatstva krvi.

Svake godine se širom sveta prikupi oko 100 miliona jedinica krvi. Obezbeđivanje dovoljnog broja bezbednih krvnih

komponenti od ključnog je značaja za svaki savremeni nacionalni zdravstveni sistem (26). U čast *Karl-a Landsteiner-a*, od 2004. godine, na datum njegovog rođenja 14. juna, obeležava se Svetski dan davalaca krvi. Ovaj datum ustanovila je Svetska zdravstvena organizacija u nameri da se podigne svest o potrebi za bezbednom krvlju i krvnim produktima i da se izrazi zahvalnost dobrovoljnim, neplaćenim davaocima krvi. Svake godine se bira slogan/tema koja će da istakne vrednost davanja krvi, ne samo s ciljem da se spasi životi, već i s namerom da se ljudima pomogne da žive duži i produktivniji život.

Literatura:

1. Hajdu SI. Blood transfusion from antiquity to the discovery of the Rh factor. *Ann Clin Lab Sci.* 2003; 33(4): 471–3.
2. Colle G. *Methodus facile parandi iucunda tuta et nova medicamenta.* Venetiis, 1628.
3. Learoyd P. The history of blood transfusion prior to the 20th century – part 1. *Transfus Med.* 2012; 22(5): 308–14.
4. Denis JB. Lettre touchant deux experiences de la transfusion faites sur des hommes. *J Cusson, Paris*, 1667.
5. Blundell J. Experiments on the transfusion of blood by the syringe. *Med Chir Trans* 1818; 9: 56–92.
6. Blundell, J. Some account of a case of obstinate vomiting, in which an attempt was made to prolong life by the injection of blood into the veins. *Medico-Chirurgical Transactions.* 1819; 10: 296–311.
7. Giangrande PLF. The history of blood transfusion. *Br J Haematol.* 2000; 110: 758–67.
8. Boulton FE. Blood transfusion; additional historical aspects. Part 1. The birth of transfusion immunology. *Transf Med* 2013; 23: 375–81.
9. Schwarz HP. Karl Landsteiner and his major contributions to haematology. *Br J Haematol.* 2003; 121: 556–65.
10. Figl M, Pelinka LE. Karl Landsteiner, the discoverer of blood groups. *Resuscitation.* 2004; 63: 251–4.
11. Aymard JP. Karl Landsteiner (1868–1943) et la découverte des groupes sanguins. *Transfus Clin Biol.* 2012; 19: 244–8.
12. Landsteiner K. Zur Kenntnis der antifermentativen, lytischen und agglutinierenden Wirkungen des Blutserums und der lymph. *Centr Bakt Orig* 1900; 27: 357–62.
13. Landsteiner K. Ueber Agglutinationserscheinungen normalen menschlichen Blutes. *Wien klin Woch* 1901; 14: 1132–4.
14. Decastello von A, Sturli A. Ueber die Isoagglutinine im Serum gesunder und kranker Menschen. *Münch Med Woch* 1902; 49: 1090–5.
15. Halban J, Landsteiner K. Ueber Unterschiede des fötalen und mütterlichen Blutserums und über eine agglutinations- und fällungshemmende Wirkung des Normalserums. *Münch Med Woch* 1902; 49: 473–6.
16. Donath J, Landsteiner K. Über paroxysmale Hämoglobinurie. *Münch Med Wochenschr* 1904; 51: 1590–3.
17. Landsteiner K, Mucha V. Zur Technik der Spirochätenuntersuchung. *Wien Klin Wochenschr* 1906; 19: 1349–50.
18. Finger E, Landsteiner K. Untersuchung über Syphilis an Affen, Erste Mitteilung. *Sitzgsber Akad Wiss Math naturw* 1905; 114(3): 497–503.
19. Finger E, Landsteiner K. Untersuchung über Syphilis an Affen. Zweite Mitteilung. *Sitzgsber Akad Wiss Math naturw* 1906; 115(3): 179–200.
20. Levaditi C, Landsteiner K. La Poliomyelitis experimental. *Compt Rend Soc Biol (Paris)* 1910; 68: 311–3.



-
21. Landsteiner K, Levine P. A new agglutinable factor differentiating individual human bloods. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1927; 24: 600–602.
 22. Levine P, Stetson RE. An unusual case of intra-group agglutination. *J Am Med Assoc* 1939; 113: 126–7.
 23. Landsteiner K, Wiener AS. An agglutinable factor in human blood recognized by immune sera for rhesus blood. *Proc Soc Exp Biol Med* 1940; 43: 223.
 24. Landsteiner K, Wiener AS. Studies of an agglutinin (Rh) in human blood reacting with anti-rhesus sera and with human isoantibodies. *J Exp Med* 1941; 74: 309–20.
 25. Nigg C, Landsteiner K. Studies on the cultivation of the typhus fever rickettsia in the presence of live tissue. *J Exp Med* 1932; 55: 563–76.
 26. Dzik WH, Murphy MF. Introduction: Two centuries of progress in transfusion medicine. In: Murphy MF, Roberts DJ, Yazer MH, editors. *Practical transfusion medicine*. Chichester: John Wiles & Sons Ltd; 2017. p. 1–10.

Autor za korespondenciju:

Zorica Radonjić

Odeljenje za transfuziju krvi, Institut za zdravstvenu zaštitu majke i deteta Srbije „Dr Vukan Čupić“

Beograd, Radoja Dakića 6–8

aurora.radonjic@gmail.com





HEMOLIZNA TRANSFUZIJSKA REAKCIJA KAO NEPOVOLJAN EFEKAT HEMOTERAPIJE

Branislava Belić

Akademija medicinskih nauka SLD,

Sažetak

U toku prošlog veka došlo je do razvoja nauke i tehnologije, što je doprinelo da transfuzija krvnih komponenata bude danas efikasnija i bezbednija nego ranije. U toku praćenja pojava o neželjenim i štetnim reakcijama na primenu transfuzija krvnih komponenata, najistaknutije mesto zauzimaju hemolizne transfuzijske reakcije (HTR), koje nastaju kao posledica inkompatibilnosti između eritrocitnih krvnih grupa primaoca i davaoca krvi, te zbog nepravilnog skladištenja i postupanja sa krvnim komponentama. HTR se javlja zbog nastanka intravaskularne ili ekstravaskularne imune destrukcije ili razaranja eritrocita.

Akutna hemolizna reakcija (AHTR) nastaje u periodu uključivanja transfuzije do isteka 24 sata, a najteži oblici se opisuju kod inkompatibilnosti u ABO sistemu krvnih grupa, kada osoba krvne grupe O dobije transfuziju eritrocita krvne grupe A, B ili AB. Intravaskularnu hemolizu izazivaju antitela IgM klase, a nju mogu da izazovu i druga, komplement vezujuća antitela: anti-Kell, anti-Kidd, anti-Lewis, anti-Vel i anti-Pk. Zbog pogrešne identifikacije bolesnika može doći do pogrešne transfuzije, prilikom uzimanja uzorka krvi za pretransfuzijska ispitivanja ili prilikom uključivanja komponente krvi. Zamena uzorka krvi u laboratoriji ili greška pri određivanju krvne grupe se veoma retko dešava. AHTR se klinički manifestuje šokom sa izraženom hipotenzijom, diseminovanom intravaskulnom koagulacijom (DIK) i insuficijencijom bubrega.

Kasna ili odložena hemolizna transfuzijska reakcija (KHTR) se javlja 24 sata nakon transfuzije eritrocita, a do nje dovode antitela protiv Rh, Kell, Duffy, Kidd ili drugih proteinskih antigena, koja nastaju isključivo posle transfuzije alogene krvi ili trudnoće. Češće se opisuje kod politransfundovanih bolesnika, a naročito kod primalaca na hroničnom programu transfuzije. Nastaje u sekundarnom imunom odgovoru ali može da se ispolji i u primarnom. Može da se ispolji simptomima i znacima hemolize ali ne retko, samo serološkom inkompatibilnosti. Kod ove reakcije dolazi do ekstravaskularne destrukcije eritrocita, koji su obloženi antitelima. KHTR se prevenira strogim pridržavanjem pravila o uzimanju uzoraka krvi za pretransfuzijske testove kod politransfundovanih bolesnika i primenom osetljivih metoda za detekciju antieritrocitnih antitela.

Ključne reči: hemolizna transfuzijska reakcija, hemoterapija, antitela

HEMOLYSIS TRANSFUSION REACTION AS AN ADVERSE EFFECT OF CHEMOTHERAPY

Abstrakt

During the last century, development of science and technology has contributed to the safer and more efficient production of blood transfusion components than before. Monitoring of adverse

reactions during the transfusions of blood components, showed that the most prominent are hemolytic transfusion reactions, which occur as a result of incompatibility between erythrocyte blood groups of recipients and blood donors, or due to improper storage and handling of blood components. Hemolytic transfusion reaction (HTR) occurs due to intravascular or extravascular immune destruction of erythrocytes. Acute hemolytic transfusion reaction (AHTR) occurs during the transfusion period up to 24 hours, and the most severe forms are described in case of incompatibility in the ABO blood group system, when a person of blood group O receives a transfusion of erythrocytes of blood group A, B or AB. Intravascular hemolysis is caused by IgM class antibodies, and it can also be caused by other complement-binding antibodies: anti-Kell, anti-Kidd, anti-Lewis, anti-Vel and anti-Pk. The incorrect identification of the patient can lead to incorrect transfusion, which can happen when taking a blood sample for transfusion tests. Blood samples mix-up in the laboratory or an error in determination of the blood group are very rare. AHTR is clinically manifested as shock with severe hypotension, disseminated intravascular coagulation (DIK) and renal insufficiency. Delayed hemolytic transfusion reaction (DHTR) occurs 24 hours after erythrocyte transfusion and is caused by antibodies against Rh, Kell, Duffy, Kidd or other protein antigens, which occur exclusively after allogeneic blood transfusion or pregnancy. It is more commonly described in polytransfused patients, and especially in recipients on a chronic transfusion program. It occurs in the secondary immune response but can also be manifested in the primary and can be manifested by symptoms and signs of hemolysis, but not infrequently, only by serological incompatibility. This reaction leads to extravascular destruction of erythrocytes, which are coated with antibodies. DHTR is prevented by strict adherence to blood sampling rules for transfusion tests in polytransfused patients and with the application of sensitive methods for anti-erythrocyte antibody detection.

Key words: hemolysis transfusion reaction, chemotherapy, antibodies

Uvod

Transfuzija krvi kod nas i u svetu, predstavlja nezamenljivi segment u lečenju povređenih i obolelih od različitih bolesti. Lečenje transfuzijom ili transplantacijom tkiva i organa je moguće samo poznavanjem i poštovanjem zakonitosti i pravila o kompatibilnosti krvnih grupa kod primalaca i davalaca krvi. Otkriće krvnih grupa ABO od strane Landsteinerja početkom prošlog veka je bilo od velikog naučnog značaja ali je dovelo i do prekretnice u kliničkoj medicini. Ono je omogućilo bezbedno lečenje transfuzijom krvi i transplantacijom, što je doprinelo i bržem razvoju svih grana medicine, naročito transplantacione medicine, a istovremeno i smanjenu morbiditeta i mortaliteta obolelih i povređenih, koji su lečeni transfuzijom krvi. U toku

prošlog veka došlo je do razvoja nauke i tehnologije što je doprinelo da hemoterapija odnosno transfuzija krvnih komponenata bude danas efikasnija i bezbednija nego ranije. Ipak, zbog sadržaja aloantigena, nekih od bioaktivni supstanci i potencijalne mogućnosti prisustva uzročnika transfuzijom prenosivih bolesti, dolazi do pojave neželjenih odnosno nepovoljnih efekata hemoterapije. Usmerena terapija može da zaštiti pacijenta od nepoželjnih efekata, jer se na taj način primenjuje kod pacijenta samo ona komponenta, koja mu nedostaje. Praćenje pomoću sistema hmovid-gilance, koji je skup organizovanih procedura praćenja ozbiljnih neželjenih ili neočekivanih događaja kod davalaca i primalaca krvi odnosno praćenje pojava o neželjenim i štetnim

reakcijama na primenu transfuzija krvnih komponenata, prati se tok krvi i krvnih produkata, prikupljaju i analiziraju neželjeni događaji da bi se povećao kvalitet i bezbednost transfuzije. Najistaknutije mesto pri pojavi neželjenih reakcija, zauzimaju hemolizne transfuzijske reakcije, koje nastaju kao posledica inkompatibilnosti između eritrocitnih krvnih grupa primaoca i davaoca krvi, te zbog nepravilnog skladištenja i postupanja sa krvnim komponentama odnosno hemoproduktima [1–6].

Hemolizna transfuzijska reakcija (HTR)

HTR se javlja zbog nastanka intravaskularne ili ekstravaskularne imune destrukcije ili razaranja eritrocita. Svrstava se u neposredne transfuzijske reakcije i u odnosu na vreme ispoljavanja reakcije razlikujemo, akutnu ili neposrednu hemoliznu reakciju (AHTR), u kojoj se destrukcija eritrocita javlja od momenta započinjanja transfuzije pa do isteka vremena od 24 sata i kasnu ili odloženu hemoliznu reakciju (KHTR), u kojoj dolazi do pojave hemolize kasnije, nakon 24 sata od primene transfuzije, odnosno nakon indukcije i pojave imunološkog odgovora na transfuziju hemoprodukata. U odnosu na mesto razaranja eritrocita, razlikujemo intravaskularnu HTR odnosno intravaskularnu destrukciju eritrocita i ekstravaskularnu HTR odnosno ekstravaskularnu destrukciju eritrocita [1–8].

Intravaskularna HTR ili intravaskularna destrukcija eritrocita

Intravaskularna hemolizna reakcija nastaje najčešće nastaje zbog anti-A ili anti-B antitela IgM klase. Kada dođu u kontakt sa inkompatibilnim eritrocitima vezuju se za odgovarajući eritrocitni antigen i formiraju imune komplekse, dolazi do aktivacije sistema komplementa i koagulacione kaskade,

neuroendokrinog i sistemskog inflamatornog odgovora. Imajući u vidu da dolazi do aktivacije sistema komplementa, koji dovodi do fiksacije litičkog kompleksa C5-C9 na membrani eritrocita, javlja se hemoliza eritrocita u cirkulaciji. Dolazi do pojave hemoglobina u plazmi i urinu, hemoglobinurije i hemoglobinemije i one su karakteristike intravaskularne HTR. Aktiviranjem leukocita sa anafilatoksinima C3a i C5a, oslobađa se histamin i drugi vazodilatorni amini i inflamatorni citokini, posebno interleukin-1 (IL-1, IL-6, IL-8) i faktor nekroze tumor (TNF). Zbog ovih medijatora dolazi do različitih simptoma i znakova AHTR kao što su temperatura, hipotenzija, čujno disanje, bolovi u grudnom košu, muka, gađenje i povraćanje. U AHTR do teške kliničke slike zbog intravaskularne destrukcije eritrocita IgM antitelima, dovodi komponenta komplementa C5a, koja je snažniji medijator inflamacije od C3a. Usled aktivacije koagulacionog i fibrinoliznog sistema dolazi do pojave diseminovane intravaskularne koagulacije (DIK). Zbog intravaskularne hemolize i hipotenzije se javlja odgovor simpatikusa i dolazi do vazokonstrikcije krvnih sudova bubrega, unutrašnjih organa i kože uz pojavu šoka i cirkulatornog kolapsa. U daljem toku dolazi do poremećaja bubrežne funkcije usled ishemije, hipotenzije, taloženja imunih kompleksa i tromboze bubrežnih krvnih sudova. Akutna tubulska nekroza i bubrežna insuficijencija su posledice, koje mogu da ugroze život bolesnika. Manji deo inkompatibilnih eritrocita može da u ćelijama monocitonukleusno-fagocitnog sistema (MNFS) podleže ekstravaskularnoj destrukciji eritrocita odnosno hemolizi [1–3, 7–9].

Ekstravaskularna HTR ili ekstravaskularna destrukcija eritrocita

Ova transfuzijska reakcija ili pojava nastaje zbog IgG antitela, koja ne aktiviraju kom

plement ili fiksiraju komplement na membrani eritrocita samo do faze C3. Kompleksi eritrocita, koji su obloženi antitelima podklase IgG1 i/ili IgG3 se vezuju na Fc receptor na makrofagima, koji ih fagocituju ili razaraju citotoksičnim mehanizmom u slezini. Slobodne molekule IgG u cirkulaciji sprečavaju destrukciju eritrocita na drugim mestima, jer cirkulišuće molekule IgG imaju kompetitivnu ulogu sa antitelima, koji oblažu eritrocite za Fc receptore na makrofagima. Ako se na eritrocitima pored antitela IgG klase, nalaze i molekule komplementa, javlja se sinergizam, te je destrukcija eritrocita jača. U ovakvim situacijama destrukcija je predominantna u jetri, zbog prisustva fagocitnih ćelija, koje imaju Fc receptore za IgG i C3c. Imajući u vidu da je protok krvi u jetri oko 10 puta brzi nego u slezini, vezivanje eritrocita, koji su senzibilisani antitelima za makrofage u slezini se lakše odvija, a njihova destrukcija je oko 100 puta intenzivnija u odnosu na jetru. Kao komplement zavisna antitela se opisuju anti-Kidd antitela, a novija istraživanja pokazuju da samo anti-Kidd antitela klase IgM mogu da aktiviraju komplement. Lizosomalni enzimi oslobođeni iz mononuklearnih ćelija takođe deluju na destrukciju eritrocita ali i fagociti i citotoksični mehanizam mogu da budu istovremeno uključeni [8–9,14].

Akutna hemolizna transfuzijska reakcija (AHTR)

Pojava AHTR je klinički prvi put opisana 1668. godine, a opisao je engleski lekar Jean Denis. U 17. veku nisu bile otkrivene krvne grupe te nije bio poznat njihov klinički značaj. Ovaj poznati lekar je veoma jasno i precizno uočio i opisao kliničke simptome i pojave AHTR [8]. Klinički simptomi AHTR su posledica aktivacije velikog broja plazmatskih sistema, odnosno formiranje i delovanje imunoloških kom

pleksa na membrani eritrocita. Klinički se ova reakcija manifestuje bolom u veni na mestu transfuzije i duž vene kojom se pacijentu transfunduju inkompatibilni eritrociti, bolom u grudnom košu, povišenom telesnom temperaturom više ili 1°C od fizioloških vrednosti, groznicom, bolom u abdomenu i slabinskom predelu, dispnejom i hipotenzijom. Pored navedenog, može se javiti i cirkulatorni kolaps praćen hipotenzijom i bubrežna insuficijencija. Pri pojavi navedenih simptoma treba odmah prekinuti transfuziju, održavati venu infuzijom kristaloidnih rastvora, proceniti težinu kliničkog stanja, pratiti simptome, vitalne znake i diurezu. Do AHTR može doći zbog pogrešne identifikacije bolesnika, odnosno do davanja pogrešne transfuzije, prilikom uzimanja uzorka krvi za pretransfuzijska ispitivanja ili prilikom uključivanja komponente krvi. Moguća je i zamena uzorka krvi u laboratoriji ili greška pri određivanju krvne grupe ali se one veoma retko događaju. Ukoliko je transfundovana veća količina inkompatibilnih eritrocita klinička slika AHTR je znatno teža. Transfuzija inkompatibilnih eritrocita u ABO sistemu u količini većoj od 2000ml, može dovesti do teške hemolize, akutne bubrežne insuficijencije, DIK-a, a u nekim slučajevima i smrtnim ishodom. Klinička slika zavisi od brzine transfuzije, količine transfundovane inkompatibilne krvi i koncentracije antitela u serumu bolesnika. AHTR veoma teškog oblika može da nastane već nakon primene 10–15ml inkompatibilnih eritrocita, a po literaturnim podacima 30 ml primenjene krvi, može da dovede do smrtnog ishoda. Oko 50% inkompatibilnih transfuzija protekne bez simptoma posle primene kompletne jedinice krvi, a ostalih 50% ispolji znake AHTR, što je posledica učestalosti krvnih grupa u populaciji bele rase. Kod oko 2% primalaca inkompatibilne krvi dođe do smrtnog ishoda. Posebna obazrivost je neophodna u pedijatrijskoj popu-

laciji. Laboratorijska ispitivanja AHTR se sastoje iz ispitivanja ABO krvnih grupa iz pretransfuzijskog i postranfuzijskog uzorka krvi. U ovakvim situacijama je potrebno ponoviti krvnu grupu iz jednice krvi, koju je bolesnik primao, uraditi direktni antiglobulinski test (AHG – Coombsov test), skrining antitela metodom indirektnog antiglobulinskog testa (IAT) iz pretransfuzijskog i postranfuzijskog uzorka krvi primaoca i unakrsnu probu iz pretransfuzijskog i postranfuzijskog uzorka krvi i sa preostalim eritrocitima iz jedinica krvi. Pored navedenog, potrebno je izvršiti i hematološke analize, krvnu sliku, slobodni hemoglobin u serumu i urinu, ukupni bilirubin, haptoglobin i elektrolite u serumu. Od testova koagulacije treba uraditi skrining testove (PT, aPTT, TT, fibrinogen, broj trombocita) antitrombin i D-dimere. Značajno je uraditi hemokulturu na prisustvo aerobnih i anaerobnih bakterija u krvi pacijenta i krvnih komponenti, koje je bolesnik primao. Prilikom primene transfuzije kada osoba krvne grupe O dobije transfuziju eritrocita krvne grupe A, B ili AB, javlja se najteža forma ATHR, koja ima potencijalno smrtni ishod. Ova pojava se najčešće javlja pri pogrešnoj identifikaciji primaoca, u vreme venepunkcije ili prilikom uključivanja transfuzije. Druga antieritrocitna antitela klase IgM klase ili komplement fiksirajuća IgG antitela ponekad mogu da izazovu ATHR. Takva antitela su: anti-Kell, anti-Kidd, anti-Lewis, anti-Vel i anti-Pk antitela. Pasivno unesena antitela davaoca mogu da dovedu do AHTR kod primaoca u slučaju primene inkompatibilnih produkata plazme davaoca kao što su plazma, koncentrat trombocita i imunoglobulin za intravensku primenu – IvIgG. Intravaskularnu hemolizu izazivaju antitela IgM klase, a nju mogu da izazovu i druga, komplement vezujuća antitela: anti-Kell, anti-Kidd, anti-Lewis, anti-Vel i anti-Pk. AHTR se klinički manifestuje šokom sa izraženom hipotenzi

jom, diseminovanom intravaskulnom koagulacijom i insuficijencijom bubrega [11–14].

Kasna ili odložena hemolizna transfuzijska reakcija (KHTR)

Ova transfuzijska reakcija je posledica imunološke komplikacije transfuzije, koja se ispoljava 24 sata nakon transfuzije, a do nje dovode antitela protiv Rh, Kell, Duffy, Kidd ili drugih proteinskih antigena, koja nastaju isključivo posle transfuzije alogene krvi ili trudnoće. Češće se opisuje kod politransfundovanih bolesnika, a naročito kod primalaca na hroničnom programu transfuzije. Nastaje u sekundarnom imunom odgovoru ali može da se ispolji i u primarnom. Može da se ispolji simptomima i znacima hemolize ali ne retko, samo serološkom inkompatibilnosti. Kod ove reakcije dolazi do ekstravaskularne destrukcije eritrocita, koji su obloženi antitelima. KHTR se prevenira strogim pridržavanjem pravila o uzimanju uzoraka krvi za pretransfuzijske testove kod politransfundovanih bolesnika i primenom osetljivih metoda za detekciju antieritrocitnih antitela. Do ekstravasulne koagulacije dolazi zbog aloimunizacije bolesnika, odnosno primaoca na jedan ili više antigena eritrocita davaoca odnosno stvaranjem antitela primaoca. Kod primalaca krvi i krvnih komponenti učestalost KHTR se kreće od 0,2–2,6%, ali je učestalost veća kod bolesnika na hroničnom programu transfuzije. Učestalost aloimunizacije kod obolelih od talasemije iznosi 5–11% a kod obolelih od anemije srpastih eritrocita 18–47%. Nakon izlaganja stranim antigenima može da dođe do imunog odgovora kod primaoca sa predominantnim stvaranjem aloantitela klase IgM, a nakon nekoliko dana ili nedelja sintetišu se antitela klase IgG. Primarna imunizacija je obično tiha i bez kliničkih znakova, a ukoliko ne dođe do ponovne stimulacije antigenima, koncentracija antitela opada i

ne može se otkriti pretransfuzijskim testovima. Ukoliko dođe do ponovne transfuzije antigen-pozitivne krvi aloimunizovanom primaocu se javlja sekundarni imuni odgovor sa većom produkcijom antitela IgG ili anamnestički odgovor. Porast antitela se zapaža 2–14. dana nakon transfuzije antigen pozitivne krvi. Pošto je vek trajanja eritrocita 120 dana a u cirkulaciji primaoca se nalaze antigen pozitivni eritrociti dolazi do reakcije antigen-antitelo i javljaju se znaci i simptomi KHTR. Ukoliko pri pojavi KHTR nema kliničkih već samo seroloških znaka, onda govorimo o serološkoj KHTR. Do KHTR-a dovode antitela protiv Rh, Kell, Duffy, Kidd ili drugih proteinskih antigena, koja nastaju isključivo posle transfuzije alogene krvi ili trudnoće. Češće se KHTR opisuje kod politransfundovanih bolesnika, a naročito kod primalaca na hroničnom programu transfuzije. Klinička slika kod KHTR se karakteriše ali veoma retko povišenom temperaturom, groznicom, žuticom, malaksalošću i bolovima u leđima. Sumnju na KHTR najčešće postavljamo pri neočekivanoj anemiji i izostanku očekivanog povećanja hematokrita posle transfuzije. Hemoliza može da bude obimna i da dovede do akutne bubrežne insuficijencije, a simptomi se obično ispoljavaju tokom prve dve nedelje od transfuzije, ali mogu biti veoma blagi i neprepoznatljivi 3–4 nedelje. Laboratorijska ispitivanja KHTR se sastoje iz ispitivanja hematokrita/hemoglobina, pregleda razmaza krvi zbog anemije odnosno povećanog broja retikulocita i sferocitoze. Potrebno je ispitati direktan i indirektan bilirubin zbog mogućnosti povišenih vrednosti kao i mogućeg povećanja LDH u serumu. Od transfuzioloških ispitivanja neophodno je iz novog uzorka uraditi direktan antiglobulinski test (DAT) i skrining antitela, koji je obično pozitivan kod KHTR. Veoma je značajno istaći i pojavu mešanog polja, jer u krvi primaoca se nalaze dve populacije eritrocita,

jedna populacija eritrocita potiče od primaoca a druga od davaoca krvi. Populacija eritrocita davaoca je obložena antitelima i daje pozitivan DAT. Kada postoji potpuna hemoliza eritrocita davaoca DAT može da bude negativan ali se to retko dešava. Kod pozitivnog skrininga antitela neophodno je uraditi identifikaciju antitela da bi se pronašla njihova specifičnost. Nakon pronalaska specifičnog antitela klase IgG treba ispitati i eritocite davaoca na specifičnost antigena. Ukoliko postoji udruženost simptoma i znakova ekstravaskulne hemolize, pozitivan DAT, nalaz specifičnog aloantitela klase IgG i specifičnog antigena na eritrocitima davaoca dobijamo potvrdu da je sumnja na KHTR opravdana. Ukoliko je skrining antieritrocitnih antitela sa serumom negativan, a DAT pozitivan, skrining antitela treba ponoviti sa elucijom a u slučaju pozitivnog nalaza, uraditi identifikaciju antitela iz eluata. KHTR se prevenira strogim pridržavanjem pravila o uzimanju uzoraka krvi za pretransfuzijske testove kod politransfundovanih bolesnika i primenom osetljivih metoda za detekciju antieritrocitnih antitela [14–17].

Ukoliko postoji dokazana aloimunizacija kod bolesnika za transfuziju krvi do kraja njegovog životnog veka, ne treba da se primenjuju eritrociti prema kome je usmereno utvrđeno specifično antitelo – odnosno, treba da se primenjuju fenotipizirani eritrociti bez specifičnog antigena. Primaocima krvi bi trebalo da se pre svake transfuzije urade pretransfuzijska testiranja, posebno skrining antitela i test kompatibilnosti. Ukoliko postoje potrebe za ponovnom transfuzijom, a anamnestički podaci ukazuju na prethodne transfuzije i trudnoće, testove treba ponoviti nakon tri dana, jer se ovaj period posle transfuzije preporučuje za ponavljanje skrininga, zbog anamnestičkog odgovora i mogućeg nalaza i pojave novih antitela [18].

Zaključak

Hemolizna transfuzijska reakcija se može izbeći samo adekvatnim merama prevencije. Za sprovođenje ovih mera značajan udeo imaju klinike i službe transfuzije krvi. Poseban oprez je neophodan i pri uzimanju uzoraka krvi od pacijenata, obeležavanju i slanju uzoraka. Iste mere mora da sprovede i službe transfuzije krvi pri ispitivanju uzoraka krvi uzete od dobrovoljnih davalaca. Izbegavanje grešaka doprinosi sprečavanju hemoliznih transfuzijskih reakcija i kvalitetnom zbrinjavanju pacijenata. Ispitivanje što većeg broja antigena krvnih grupa a ne samo ABO i Rh sistema kod dobrovoljnih davalaca krvi, takođe bi doprinelo pojavi manjeg procenta senzibilizacija na antigene ostalih krvnogrupnih sistema. Imajući u vidu navedene posledice HTR, transfuziju treba primeniti kada za to postoje opravdane indikacije. Rizik od pojave PTR i HTR se može smanjiti usmerenom terapijom i jedinstvenom doktrinom. Praćenje pomoću sistema hemovidgilance, povećava kvalitet i bezbednost transfuzije hemoprodukata. Na nacionalnom nivou ne postoji jedinstven informacioni sistem i globalizacija podataka, kao ni jedinstvena metodologija prikupljanja podataka i klasifikacije nuspojava što bi smanjilo rizik od PTR.

Literatura:

1. Kovač M, Balint B, Bogdanović G, urednici. Bazična i klinička transfuziologija. Medicinski fakultet, Univerziteta u Beogradu, Akademska misao. Beograd, 2020.
2. Klein HG, Anstee DJ. Molisson's Blood Transfusion in Clinical Medicine 12th ed. Oxford:Wiley-Blackwell, 2014.
3. Balint B, Trkuljić M, Todorović M. Osnovni principi hemoterapije. Beograd: Čigoja štampa, 2010.
4. Belić B. Komitet za transfuziju krvi-hemovidžilans. 2. kongres transfuziologa Jugoslavije sa međunarodnim učesćem; Beograd. Okt 30 – Nov 1. 2002; Bilt Transf 2002; 48(1-2): 133(100).
5. Faber JC. EUROSAT 2003: work of the European haemovigilance network (EHN). Transfus Clin Biol 2003;11:2-10
6. Faber JC. Worldwide overview of existing haemovigilance systems. Transfus Apheresis Sci 2004;31:99-110.
7. Srzentić-Jovanović S, Veljković D. Imunobiološki značaj krvnih grupa Intra. Net Communication Beograd, 2009.
8. Fung, Mark K, Eder, Anne F, Spitalnik, Steven, Westhoff, Connie M. Technical Manual, 19th ed. Bethesda: AABB Press; 2017.
9. Balint Transfuziologija. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva; 2004.
10. Oberman HA. The history of transfusion medicine. In: Petz LD, Swisher SN, Kleinman S, Spence RK, Strauss RG. (eds) Clinical practice in transfusion medicine. 3rd ed. New York: Churchill Livingstone, 1996: 11-32.
11. Belić B, Đokić M. Rizik od senzibilizacije antigenima Kell sistema. Bilt Hematol Transf 1988; 16(1): 8-18.
12. Belić B. Frekvencija Kell krvno-grupnog sistema u Vojvodini [magistarski rad]. Novi Sad; 1989:58
13. Belić B. Krvne grupe Kell sistema u populaciji Vojvodine. Glasnik Antropološkog društva Jugoslavije, Beograd, 2005; 40 :119-126.
14. Belić B.: Zastupljenost krvnih grupa Lewis i Kidd sistema u stanovnika Vojvodine-pilot studija. Glasnik Antropološkog društva Srbije, Novi Sad, 2011, 46: 167-172.
15. Balint B, Vučetić D, Ostojić G, Ljubenov M. Osnovi transfuziologije sa hemobiologijom. Beograd: Medicinski



- fakultet VMA–Medija centar Odbrana; 2015.
16. Jenner PW, Holland PV. Diagnosis and management of transfusion reactions. In: Petz LD, Swisher SN, Kleiman S, Spence RK, Strauss RG, editors. Clinical practice of transfusion medicine, 3rd edition. New York; Churchill Livingstone; 1996.
17. Davenport RD. Hemolytic transfusion reactions. In: Popovsky MA, editor. Transfusion reactions. 4th edition. Bethesda: AABB; 2015; 22: 16–25.
18. Jovanović R, Belić B. Implementacija sistema kontrole kvaliteta u transfuziološkoj praksi. Med Pregl 2000; 53: 169–73.

Autor za korespondenciju:

Prof. Branislava Belić,
Akademija medicinskih nauka SLD,
21000 Novi Sad,
Stevana Milovanova 6A/6/13,
Tel +3816352 069
Email: drbbelic@gmail.com

STEM CELLS AND FOOD ALLERGIES

Neona Seenarine and Mirjana Pavlovic¹

¹Department of Computer and Electrical Engineering and Computer Science, Florida Atlantic University, Boca Raton, USA

Abstract

Food allergies are on the rise and because they are becoming more frequent, they need to be taken more seriously. A viable treatment method needs to be created and stem cells may hold a key to solving this. Due to their unique properties, stem cells have been explored as a better treatment option to treat diseases and other medical maladies. Stem cells may hold a key to this but to use them effectively, the immune system needs to be studied comprehensively so that we know how food allergens significantly affect it. Once we understand this process, then we can study and implement how stem cells can be utilized properly and effectively. A few methods have been noted in which stem cells have been used to treat nonfood allergens and because of these discoveries, it is possible to use them as a blueprint to help treat food allergies.

Key words: Food Allergy, Stem cells, Immune system, allergens, treatment.

Sažetak

Alergijske reakcije na hranu su u porastu i zbog povećane uestalosti, treba ih uzeti vrlo ozbiljno. Moguće je da su matične ćelije ključne za kreiranje efikasnog tretmana. Zbog svojih jedinstvenih osobina, matične ćelije su korišćene u tretmanu mnogih medicinskih fenomena i oboljenja. Matične ćelije su možda ključne u ovom slučaju ali da bismo to razumeli neophodno je da studiramo imuni system do detalja koji bi nam objasnili kako on u tom slučaju deluje. Jednom, kad shvatimo proces, tada možemo organizovati efikasan pristup i tretman. Ovaj rad prikazuje i analizira nekoliko načina primene matičnih ćelija u slučaju alergena koji nisu iz hrane i upravo zbog tih rezultata razmatrana je mogućnost da se to može primeniti na slučajeve alergije na hranu.

Ključne reci: Alergija na hranu, matične ćelije, Imuni sistem, alergeni, tretman.

Introduction

Food allergies are one of the most common allergic diseases known to the modern world. In the United States alone, there are about 32 million cases in which 5.6 million (7.6%) children and 26 million (10.8%) adults are affected [1]. Worldwide there are about 220-250 million people [2] who are affected, and this problem is becoming more

prevalent. The reason food allergies are increasing is due to the growth of more industrial areas and economic progress [3]. People are spending less time outdoors and it affects how their immune system develops. The immune system is unable to get accustomed to the environment and without this exposure, it cannot recognize and adjust to different pathogens and allergens. It will then

react badly to certain foods by thinking they are deadly pathogens and will attack them. This action causes symptoms such as swollen cheeks and lips, hives, dizziness, anaphylaxis, nausea, and, in the worst cases, death. Those who have food allergies must readjust to a new lifestyle so that their diet must eliminate that allergen. This means people must be extra cautious when buying groceries or even when going out to restaurants, causing them to be anxious and in constant vigilance.

To stop living in an industrial world is not a viable solution and even though people do need to go outside more, their jobs and livelihood tend to be of utmost priority due to economic strain (high class vs. low class) or the place they live in is unsafe to go out (e.g., more polluted). The solution to this problem is to find a treatment for food allergies. To do so, the immune system must be treated directly since it is the one mistaking the food for an allergen. An answer to this problem might be with stem cells. Stem cells are known to induce healing by repairing and replacing damaged cells. Their uses are unlimited and have been used for immunotherapy in treating cancer where the immune system's damaged cells are remedied. Since the immune system is composed of lymphocytes (white blood cells) neutrophils, monocytes/macrophages, and various antibodies, it is likely that these biological elements play a role in the development of food allergies and that stem cells can help.

In this paper, we shall discuss what kind of role stem cells can play in treating food allergies.

Stem Cells and Food Allergies Definition

To understand the development of food allergies, we need to understand how the immune system works. Even though we may not know the exact cause of why the im-

mune system responds negatively to food allergies, we do know how they develop and what key factors are involved. In addition, a fundamental understanding of stem cells will be discussed in order to understand its role.

The immune system is solely responsible for the protection of the human body. It defends against pathogens and foreign bodies that enter it and protects against diseases and infections [4]. It is a complex network that is composed of various organs and tissues, all of which have their own chemicals and reactions that create responses to alert the body. The structures that are involved are the *skin*, *bone marrow*, bloodstream, thymus, lymphatic system, lymph nodes, spleen, and mucosal tissue [4]. All function together to create a cascade of responses that are used to detect and destroy any foreign pathogens. However, to create these responses in the first place, certain immune cells need to be developed. The bone marrow is responsible for their creation and are formed via Hematopoietic stem cells [5]. Hematopoietic stem cells are the basis to create other forms of mature blood cells and it divides into two forms: myeloid progenitor stem cells and lymphoid progenitor stem cells [5]. Both develop into mature white blood cells with differing roles to play. The myeloid progenitor stem cells develop cells that are innate to the immune system [4] meaning they are the first to interact and identify the pathogen. Myeloid progenitor stem cells develop into leukocytes, which are white blood cells that circulate in the blood. Neutrophils, eosinophils, basophils, monocytes, mast cells, dendritic cells, and macrophages [4] all circulate in the blood stream ready to detect any foreign particles and respond accordingly. Lymphoid progenitor stem cells (or lymphoblasts) are the ones to respond to foreign particles and will attack it. Lymphoblasts mature into lymphocytes, which are T cells, B cells, and natural killer (NK) cells [1-4].

The T and B cells are called adaptive white blood cells [4] which means they will respond and remember a certain pathogen so that they can attack it again later in the future. T cells (or T lymphocytes) are responsible for recognizing foreign bodies via antigens [6]. Antigens are particles that reside on the surface of cells when the foreign body binds to the lymphocyte's receptor molecule [6]. T cells are made up of four essential types: helper, killer (or cytotoxic T cell), regulatory, and memory T cells [7][8]. Helper T cells will alert the B cells to produce antibodies by secreting cytokines to the B cell; killer T cells will bind to the cell that has been infected with the antigen and kill it; regulatory T cells will suppress the immune response of the foreign body [7], and memory T cells will remember the antigen and will recognize it again in the future. B cells (or B lymphocytes) are alerted by the T cells in which they respond to a certain antigen [10]. In response, the B cells will produce antibodies, which are immunoglobins (Ig) that attack the foreign bodies. The immunoglobins produced are IgM, IgD, IgG, IgA, and IgE [9] and specific ones will attack differing pathogens. When the antibody binds to the antigen, the B cell will then be triggered. This activation causes the B cells to differentiate into two types: Plasma cells and memory cells. Plasma cells will produce the antibodies that target certain antigens [10], while memory B cells are the ones to recognize the certain antigen [10], meaning if the antigen reappears in the body, the memory B cells will quickly recognize it and alert more of the B cells. Natural killer cells (also called lymphocytes) will automatically attack pathogens since they are first in line to defend the human body [4][9]. They do not require any sort of activation and they could either kill the pathogen (or the cell infected) right away or suppress it until the

white blood cells and T cells sense the foreign body [4][9].

Even though common foods should not be recognized as foreign invaders, the immune system would recognize certain ones to be harmful. This negative reaction is caused by the release of a specific immunoglobulin, IgE. As recalled, B cells will produce different antibodies depending on the pathogen or infection. IgE is released when the immune system overacts to an allergen. This can be any type of allergy, food or not, and whenever the allergen enters the body, the immune system will detect it and will release IgE. The antibody will then bind to mast cells and basophils and will cause the release of histamines [12]. These chemicals will create an inflammatory response and more IgE will appear more. This overabundance causes the allergic reaction and creates symptoms such as swelling or tightness of the throat and tongue, difficulty breathing or shortness of breath, dizziness, nausea, vomiting, diarrhea, etc. [13]. Worst case scenario would be anaphylactic shock, where the body has become overly sensitive and can lead to death [14]. Despite this extreme reaction, there may be an evolutionary reason why the immune system behaves as such. The IgE antibody may have evolved as a defense mechanism against parasites [15] and act as a gate keeper function [15], meaning they would recognize foreign materials and eliminate them quickly. This would be beneficial to people in that the body will produce mechanisms to try and expel the allergen out of the system, such as vomiting, sneezing, diarrhea, mucus secretion, etc. [15]. As beneficial as this method is, it is undeniable stringent on people who have food allergies and with it being on the rise, it does not prove to better their standard of living.

By using the knowledge of the immune

system and how food allergies develop, it is possible that stem cells can be used to overcome this predicament. Coincidentally, the first discovery of stem cells essentially came from the research of hematopoietic stem cells [16]. Through this research, it was uncovered that stem cells behaved quite differently than other cells in that they are pluripotent and can self-renewal [17]. Pluripotency means that the stem cells can differentiate into various cell types [17]. This means that they can grow and mature into any type of cell with their specific properties, and they can do so numerous times. An example of this would be the myeloid and lymphoid progenitor stem cells, where they differentiate into different types of white blood cells with differing properties. Self-renewal means that stem cells can replicate numerous times unlike other cells who cannot do this [17]. Because of this ability, it can be theorized that stem cells can be used to replace tissues that have been damaged by disease and can be used for therapy.

Stem Cell's Mechanisms and Their Role in the Medical Field

The ability for stem cells to self-renew and have pluripotency is due to the dynamic relationship between the tissue and the stem cells in the niche [18] [19]. The niche, or microenvironment, is a specific area in the organ or tissue where stem cells reside [20]. This area is used whenever there is damage to the tissue and will send chemical signals to the niche in order to alert it. When the niche gets this specific signal, it will produce stem cells and they will differentiate into that specific tissue. Once they form, they go to the damaged area and repair it. These signals need to be highly specific because it allows the stem cells to differentiate into specific organs. Sometimes the stem cells could be instructed to either stay as

they are or be used to differentiate into the desired cell type [20]. Signaling factors helped determine what lineage the cells need to change into during their cell cycle. During the asymmetric division, the daughter cells will be formed and when they divide, one of them will be undifferentiated while the other will transform into the certain cell [21] [19]. How the daughter cell differentiates is dependent on the microenvironmental factors around them. Factors include biochemical signals such as fibroblast growth factors (FGFs), WNT signals, transforming growth factors— β (TGF β), and bone morphogenic proteins (BMP) [22], and small molecules, such as SHH signals or endogenous signals [22], to help induce stem cells to differentiate. This process can happen anywhere throughout the body in order to replenish cells to tissue injury.

Besides pluripotency, there are different ways for stem cells to be differentiated. They can be unipotent, multipotent, or totipotent as well. Unipotent means that the stem cell can produce only one type of cell or have one lineage [23] [24]. Multipotency is when stem cells have the ability to form into multiple specialized cell types but within the same class or category of tissues or organs [23]. Such examples include hematopoietic stem cells where the cells will only form into blood and immune system, Mesenchymal stem cells will turn into fat, muscle and cartilage cells, and neural stem cells will turn into neurons and glia [23]. Totipotent is similar to pluripotent except that these stem cells will self-renew into any cell type including placenta and umbilical cord cells [23][25]. Pluripotent cannot be derived from them but are in other types of tissues. The one that is most desirable to use would be stem cells that are pluripotent or totipotent.

In addition, there are 3 types of stem cells: embryonic, adult, and progenitor stem cells. Embryonic stem cells (ESCs) are plu

ripotent and can differentiate into any cell type due to the inner cell mass in an *in vitro* embryo [26] (this means that the ESCs are fertilized and grown only in the lab). Adult stem cells (ASCs) are undifferentiated cells that reside in tissues and generate into that specific cell type in that tissue. This means they will only develop into cells that reside in a specific tissue and cannot form into another differing tissue. However, if you do place ASCs in a different part of the body, they will develop into that tissue, making it relatively versatile [27]. They are also known as somatic cells meaning they are derived from non-reproductive cells (i.e. eggs or sperm) in the body [26], and ASCs are the ones to repair damaged tissue [26]. Progenitor stem cells (PSCs) differentiate into their designated cell lineage, meaning they will change into their specialized cell type of the same tissue or organ [28]. They will only develop into that particular cell type no matter what unlike ASCs who can. Since Progenitor stem cells cannot self-renewal, embryonic and adult stem cells are more ideal to use in medicine.

Because of stem cell's ability to be able to differentiate into any cell type, they are highly desirable to be used in medicine. To differentiate into any cell would mean that damage to the tissue or organ, no matter where it is in the body, can be repaired easily and effectively. Stem cell therapy encompasses this idea as a form of regenerative medicine where stem cells are grown in the lab and then implanted into the patient [29]. This method allows for direct contact with the damage or diseased tissue since the stem cells would be injected directly at that area. This also means that the product will not be lost or circulate randomly in the body. In addition, because the cells are harvested directly from the patient, there will be no rejection to the new cells and there will be less

immunogenicity and little foreign body response.

In order to harvest the stem cells, they are obtained via the patient themselves usually from the blood, bone marrow or cord blood (such as the umbilical cord or placenta) [30]. Any of these areas can work and they are separated from the body in order to extract the stem cells. When extracting from the blood, it is removed from the patient via blood transfusion and when the stem cells are obtained, the blood will be transfused back into the patient [30]. For bone marrow, a small sample will be obtained from the hip bone. For the cord blood, that is obtained from the umbilical cord or placenta from a donor who had a newborn [30]. When the stem cells are obtained, they are placed in a cell culture with nutrients in it and they will naturally proliferate. In this state they are undifferentiated so in order to get the cell type that is desired, the cells have to become differentiated. For that to happen, the cell culture will need to undergo several changes in terms of chemical composition, altering the cell culture surface, or forcing the expression of specific genes [31]. Depending on the optimization of the culture, different stem cells can be grown such as heart cells, skin cells, blood cells, etc. Once they differentiate and matured, they will be injected back into the patient so that the new cells will repair the defective tissue [31].

As of now, stem cell therapy is at the best being used for Haemopoietic stem cell transplantation (HSC). However, this type of therapy has paved the way for more types of treatments and also improve stem cells. HSC is one of the oldest forms of stem cells therapy and a widely practiced treatment [32]. This type of therapy is used for patients who have cancer and are undergoing chemotherapy. Since chemotherapy has the tendency to damage healthy cells, HSC is used

to help replace and replenish these cells. In addition, HSC can be used for patients who have autoimmune disease such as psoriasis, rheumatoid arthritis, graves' disease, [32] etc. HSC works is by extracting the stem cells from the blood, bone marrow, or cord blood [32] and you could either get this from the patient themselves (autologous) or from a donor (allogenic; taking the cells from a twin is called syngeneic) [32].

Even though stem cells have mostly been used for HSCs, there is more research being conducted to see if they can be used for other models such as neurodegenerative diseases, gene therapy, and immunology. And due note that this is still a relatively new field, so everything so far is based off hypothetical but possible scenarios for future treatment. One case in point would be using stem cells in immunological diseases. They are already being used for autoimmune diseases [33] so the transition to treat other immune diseases would be worth to try. The main difference is that these other immune diseases are based off an overreactive immune system that are affected by environmental factors while autoimmune diseases attacks cells without any visible/detectable cause [33] [34]. However, as we recalled, HSCs are involved with the immune system and they are the ones responsible to develop myeloid progenitor stem cells and lymphoid progenitor stem cells. These are two vital components that make leukocytes and lymphocytes and are involved with triggering the immune responses. So, if a treatment were to be proposed, it needs to directly target the HSCs and determine what factors can be regulated.

Stem Cell Treatment Plans

Directly targeting HSCs would mean regulating the chemical components that affect food allergies. To recall, whenever there is an allergen, the immune system reacts by

sending IgE to the foreign body, which will trigger an allergic reaction. Because IgE is the main factor to start the reaction, this needs to be regulated. To control IgE, the body has to produce less amounts of it whenever there is a potential allergen in the system. In order to form lower levels of IgE, the white blood cells that produce B cells need to be regulated; these would be the leukocytes and they are developed from myeloid progenitor stem cells (MSCs). Overall, to stop the allergic reactions, the MSCs need to be directly targeted so that the levels of IgE can be slowed down.

Some ideas are coming based on the research data by the Kosheeka Powering Research (2020), about using MSCs to treat allergic asthma. In their experiment, they used MSCs from healthy rats and injected them in rats with allergic asthma. Their results showed that the IgE levels dropped as well as eosinophilia, production of cytokines decreased, and inflammation did not occur [35]. Eosinophilia is higher levels of eosinophils, which are white blood cells that fight off diseases and appear during allergic reactions [36]. They are known to appear in high levels whenever a person has an asthma attack or if they have an allergic reaction to food [37]. Even though Eso is a good indication as to whenever an allergic reaction occurs, it only appears whenever IgE levels are high and does not affect how it alerts the body to the allergen.

In addition, they also took into consideration how MSCs can affect food allergies. Again, by replacing healthy MSCs in the rat model with the food allergy, the IgE antibodies were at the lower level, and they also lowered Th2 cells, respectively [35]. These are T helper type 2 (subgroup of T cells) where they secrete interleukins (IL) 4, 5, 9, 13, and 17E/25 (which are cytokines) [38]. The IL-4 and IL-13 promote B cell production of IgE and IL-5 stimulate eosinophil

activation and survival [39]. Not only would there be an increase in IgE during an allergic reaction but there will also be an abundant presence of Th2. While Th2 cells were not covered in the paper, they gave a clear indication of their involvement in allergic reactions and with IgE regulation.

In addition to regulating IgE, another factor to take into consideration is the T cells remembering the allergen. T cells can memorize the foreign bodies they attack and recognize them in the future; because of this, nearly all the T cells in the body will obtain this information. Even though new MSCs can lower IgE levels, there is no guarantee that the body will automatically be cured. What would happen instead is that the pre-existing T cells recognize a certain food as an allergen and then influence the new T cells (from the injected MSCs). The new T cells would in turn memorize the allergen; therefore, the person will continue to have the allergic reaction. In order for the treatment to work, the MSCs must remember that the food is not a harmful substance and that it should not release anything to create the reaction. To do this, new MSCs need to be introduced in the body—they would have no memory of the allergen and be able to translate this message to the other T cells so that they would not attack either. An idea presented by AL-Kouba et al. (2017) suggests that gene therapy can be used where a gene that regulates the allergen protein [40] is added into the stem cell. The stem cells are then injected into the body and the gene will help the body learn that the allergen is harmless, and not react. The gene that the study used is genetically modified bone marrow (BM) or hematopoietic stem and progenitor cells (HSPC) [41] [42] where the researchers used antigen-encoded BM or HSPC in their experiment. Based on the results, the antigen expression of these cells could help with memory termination of T

cells, specifically CD4+ and CD8+ responses, and that it can help the body with tolerance to the allergen [43]. Even though AL-Kouba et al. (2017) mainly focused on asthma, they have theorized that this could be applied to food allergies as well since the immunological responses are similar.

Overall, the treatment proposal for food allergies involves replacing the MSCs in the body with healthy ones where they will produce lower amounts of IgE and using gene therapy so that they do not memorize the allergen again. Both ideas are already being explored with Kosheeka Powering Research (2020) and AL-Kouba (2017) with a few differences in mind. Because this paper involves regulating IgE, other factors such as eosinophilia and Th2 do not necessarily have to be targeted. They have both demonstrated that they are by-products when dealing with food allergies and they are important to consider when regulating IgE. In addition, both research studies focused on treating asthma. Even though the focus of this paper is on food allergies, both Kosheeka Powering Research (2020) and AL-Kouba (2017) do aspire that their research can help treat food allergies since both illnesses involve similar immunological responses.

References:

- [1] Food Allergy & Anaphylaxis.
[tps://www.foodallergyawareness.org/food-allergy-and-anaphylaxis/food-allergy-basics/food-allergy-aics/#:~:text=Against%20Food%20Allergies-Food%20Allergy%20Basics,2\)%20in%20the%20United%20States.](https://www.foodallergyawareness.org/food-allergy-and-anaphylaxis/food-allergy-basics/food-allergy-aics/#:~:text=Against%20Food%20Allergies-Food%20Allergy%20Basics,2)%20in%20the%20United%20States.)
- [2] Food Allergy – A Rising Global Health Problem.
<https://www.worldallergy.org/UserFiles/file/WorldAllergyWeek2013final.pdf>

- [3] Loh, W., & Tang, M. (2018). The Epidemiology of Food Allergy in the Global Context. *International journal of environmental research and public health*, 15(9), 2043. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6163515/>
- [4] Overview of the Immune System <https://www.niaid.nih.gov/research/immune-system-overview>
- [5] Gleichmann, Nicole. (2020, Jan, 24). What are Progenitor Cells? Exploring Neural, Myeloid and Hematopoietic Progenitor Cells. *Cell Science*. <https://www.technologynetworks.com/cell-science/articles/what-are-progenitor-cells-exploring-neural-myeloid-and-hematopoietic-progenitor-cells-329519>
- [6] T Cells. *Biology Reference* <http://www.biologyreference.com/Se-T/T-Cells.html>
- [7] T Cell. *Britannica* <https://www.britannica.com/science/T-cell>
- [8] CTCA (2017, May, 30). What's the Difference? B-cells and T-cells. *Cancer Treatment Centers of America*. <https://www.cancercenter.com/community/blog/2017/05/whats-the-difference-b-cells-and-t-cells>
- [9] Types of antibodies <https://ruo.mbl.co.jp/bio/e/support/method/antibody-isotype.html>
- [10] (2020) B Cells. *Teach Me Physiology* [https://teachmephysiology.com/immune-system/cells-immunesystem/bcells/#:~:text=The%20B%20lymphocyte%20\(B%20cell,cells%20or%20memory%20B%20cells](https://teachmephysiology.com/immune-system/cells-immunesystem/bcells/#:~:text=The%20B%20lymphocyte%20(B%20cell,cells%20or%20memory%20B%20cells)
- [11] Eissmann, Philipp. *Natural Killer Cells*. *British Society for Immunology* <https://www.immunology.org/public-information/bitesized-immunology/cells/natural-killer-cells#:~:text=NK%20cells%20were%20first%20noticed,for%20this%20'natural'%20killing>
- [12] Yu, W., Freeland, D., & Nadeau, K. C. (2016). Food allergy: immune mechanisms, diagnosis and immunotherapy. *Nature reviews. Immunology*, 16(12), 751–765. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5123910/#:~:text=In%20food%20allergen%20sensitized%20individuals,the%20rapid%20manifestation%20of%20symptoms>
- [13] *Allergies and the Immune System* <https://www.hopkinsmedicine.org/health/conditions-and-diseases/allergies-and-the-immune-system>
- [14] *Anaphylactic Shock: What You Need to Know*. <https://www.healthline.com/health/anaphylactic-shock>
- [15] MD Portnoy, Jay (2015, Jan). *IgE in Clinical Allergy and Allergy Diagnosis*. *World Allergy Organization*. <https://www.worldallergy.org/education-and-programs/education/allergic-disease-resource-center/professionals/ige-in-clinical-allergy-and-allergy-diagnosis>
- [16] Müller, A. M., Huppertz, S., & Henschler, R. (2016). Hematopoietic Stem Cells in Regenerative Medicine: Astray or on the Path?. *Transfusion medicine and hemotherapy: offizielles Organ der Deutschen Gesellschaft für Transfusionsmedizin und Immunhamatologie*, 43(4), 247–254. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5040947/>
- [17] Biehl, J. K., & Russell, B. (2009). Introduction to stem cell therapy. *The Journal of cardiovascular nursing*, 24(2), 98–105. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4104807/>
- [18] Fuchs, E., & Chen, T. (2013). A matter of life and death: self-renewal in stem cells. *EMBO reports*, 14(1), 39–48. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3537149/#:~:text=They%20replenish%20tissue%20cells%20that,receives%20from%20the%20niche%20microenvironment>
- [19] NIH Stem Cell Information Home Page. In *Stem Cell Information* [World Wide Web site]. Bethesda, MD: National Institutes of Health, U.S. Department of Health and Human Services, 2016 [cited December 1, 2020] <https://stemcells.nih.gov/info/basics/stc-basics/#stc-I>



- [20] Rockefeller University. (2016, January 14). Signals that make early stem cells identified. ScienceDaily. Retrieved December 1, 2020 from www.sciencedaily.com/releases/2016/01/160114213452.htm
- [21] Tersikh, V. V., Vorotelyak, Y. A., & Vasiliev, A. V. (2009). Self-renewal of stem cells. *Acta naturae*, 1(2), 61–65. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3347516/>
- [22] Zakrzewski, W., Dobrzyński, M., Szymonowicz, M. et al. (2019, February 26) Stem cells: past, present, and future. *Stem Cell Res Ther* 10, 68 (2019). <https://stemcellres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13287-019-1165-5#citeas>
- [23] Hildreth, Cade (2020, March 1). What is the difference between totipotent, pluripotent, and multipotent? BioInformant. <https://bioinformant.com/totipotent-pluripotent-multipotent/>
- [24] MacDonald, Anna (2018, May 29) Cell Potency: Totipotent vs Pluripotent vs Multipotent Stem Cells. Cell Science from Technology Networks. <https://www.technologynetworks.com/cell-science/articles/cell-potency-totipotent-vs-pluripotent-vs-multipotent-stem-cells-303218>
- [25] Murnaghan, Ian (2019, 22 Nov). Unipotent Stem Cells. Explore Stem Cells. <http://www.explorestemcells.co.uk/unipotentstem-cells.html#:~:text=A%20unipotent%20stem%20cell%20refers,differentiate%20along%20only%20one%20lineage.&text=This%20means%20that%20the%20cell,broad%20range%20of%20cell%20types.>
- [26] Types of Stem Cell. University of Nebraska Medical Center. <https://www.unmc.edu/stemcells/educational-resources/types.html>
- [27] Gleichmann, Nicole (2020, Jan 24.). What are Progenitor Cells? Exploring Neural, Myeloid and Hematopoietic Progenitor Cells. Cell Science from Technology Networks. <https://www.technologynetworks.com/cell-science/articles/what-are-progenitor-cells-exploring-neural-myeloid-and-hematopoietic-progenitor-cells-329519#:~:text=Progenitor%20cells%20are%20descendants%20of,the%20same%20tissue%20or%20organ.>
- [28] (2019, November 19). What are stem cells? Library of Congress. <https://www.loc.gov/everyday-mysteries/item/what-are-stem-cells/>
- [29] Stem cells: What they are and what they do. Mayo Clinic. <https://www.mayoclinic.org/tests-procedures/bone-marrow-transplant/in-depth/stem-cells/art-20048117>
- [30] What happens -Stem cell and bone marrow transplants. NHS. <https://www.nhs.uk/conditions/stem-cell-transplant/what-happens/#:~:text=The%20most%20common%20way%20to,for%20about%204%20days%20beforehand.>
- [31] NIH Stem Cell Information Home Page. In Stem Cell Information [World Wide Web site]. Bethesda, MD: National Institutes of Health, U.S. Department of Health and Human Services, 2016 [cited December 1, 2020] <https://stemcells.nih.gov/info/basics/III.htm>
- [32] Watt, F. M., & Driskell, R. R. (2010). The therapeutic potential of stem cells. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 365(1537), 155–163. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2842697/>
- [33] (2020, June 22) What Are Autoimmune Disorders? WebMD. <https://www.webmd.com/a-to-z-guides/autoimmune-diseases>
- [34] Disorders of the Immune System. Johns Hopkins Medicine. <https://www.hopkinsmedicine.org/health/conditions-and-diseases/disorders-of-the-immune-system>
- [35] Kosheeka Powering Research. (2020, May18th). Stem Cells For Healing Allergies. <https://kosheeka.com/stem-cells-for-healing-allergies/>



- [36] Mayo Clinic. (2019, Oct 8th). Eosinophilia. [https://www.mayoclinic.org/symptoms/eosinophilia/basics/definition/sym-20050752#:~:text=Eosinophilia%20\(e%2Do%2Dsin%2Do,an%20allergic%20reaction%20or%20cancer](https://www.mayoclinic.org/symptoms/eosinophilia/basics/definition/sym-20050752#:~:text=Eosinophilia%20(e%2Do%2Dsin%2Do,an%20allergic%20reaction%20or%20cancer)
- [37] Fulkerson, P. C., & Rothenberg, M. E. (2013). "Targeting eosinophils in allergy, inflammation and beyond". *Nature reviews. Drug discovery*, 12(2), 117–129. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3822762/>
- [38] R&D Systems a biotehne brand. (n.d). Th2 Cells. [https://www.rndsystems.com/research-area/th2-cells#:~:text=T%20helper%20type%20%20\(Th2,response%20to%20large%20extracellular%20pathogens](https://www.rndsystems.com/research-area/th2-cells#:~:text=T%20helper%20type%20%20(Th2,response%20to%20large%20extracellular%20pathogens)
- [40] Berger A. (2000). Th1 and Th2 responses: what are they? *BMJ (Clinical research ed.)*, 321(7258), 424. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC27457/>
- [41] The University of Queensland. (2017, June 2nd). Gene therapy could 'turn off' severe allergies. <https://www.uq.edu.au/news/article/2017/06/gene-therapy-could-turn-off%E2%80%99-severe-allergies>
- [42] AL-Kouba, J, Wilkinson, A.N, Starkey, M.R, Rudraraju, Werder, R.B, Liu, X., Law, S.C, Horvat, J.C., Brooks, J.F., Hill, G.R., Davies, J.M, Phipps., S., Hansbro, P.M., Steptoe, R.J. (2017). "Allergen-encoding bone marrow transfer inactivates allergic T cell responses, alleviating airway inflammation". *The Journal of Clinical Investigation*. <https://insight.jci.org/articles/view/85742#BIBL>
- [43] Brooks, J.f, Barber, J.E.M, Davies, J.M, Wells, J.W, Steptoe, R.J. (2020). "Transfer of antigen-encoding bone marrow under immune-preserving conditions deletes mature antigen-specific B cells in recipients and inhibits antigen-specific antibody production". *National Library of Medicine*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32546362/>

Corresponding author:

Prof. Mirjana Pavlovic, MD, PhD

CEECS, EE-96, #515

Florida Atlantic University, Bioengineering, 33431 Boca Raton, FL, USA

Tel: 561-297-2348

e-mail:mpavlovi@fau.edu

AFEREZNO PRIKUPLJANJE MATIČNIH ĆELIJA HEMATOPOEZE ZA POTREBE AUTOLOGNE I ALOGENE TRANSPLANTACIJE KOŠTANE SRŽI U UKC TUZLA

Sunita Ćustendil Delić, Svetlana Jović Lacković

Poliklinika za transfuziologiju, UKC Tuzla, Bosna i Hercegovina

Uvod

Transplantacija matičnih ćelija hematopoeze (MČH) predstavlja jedan od modaliteta lečenja raznih vrsta malignih i nemalignih hematoloških obolenja. Ovaj modalitet danas, posmatrajući i ostale terapijske pristupe u našoj regiji i šire, predstavlja skoro i rutinski proces za veliki postotak obolelih.(1) U postupku prikupljanja MČH dostupna su 3 izvora: koštana srž, periferna krv i krv iz pupčanika.(2) Izbor izvora je direktno određen osnovnim obolenjem bolesnika sa već ranije poznatim iskustvima, kliničkim stanjem bolesti i dostupnosti adekvatnog donora MČH. U praktičnom radu aferezo prikupljanje MČH se primenjuje za potrebe autologne transplantacije (gde se koriste vlastite bolesnikove ćelije) i alogene transplantacije (gde se koriste zdrave ćelije od HLA podudarnog davaoca). Periferna krv se sve više koristi u kliničkoj praksi, gde zauzima vodeće mesto kada je u pitanju izbor izvora MNC. (3)

MČH imaju sposobnost diferencijacije u sve ćelije tkiva i organa, te omogućavaju delimičnu ili potpunu repopulaciju obolele koštane srži. (4) Time se veliki broj dosada neizlečivih bolesti može staviti pod kontrolu, uvodeći bolesnika u fazu remisije, gde se osećaju zdravi i sigurni, čime se životni vek znatno produžava ukoliko izostane potpuno izlečenje. Naša Ustanova je i dan danas jedina organizaciona jedinica u Univerzitetsko-kliničkom centru Tuzla, Federacije Bosne i Hercegovine, koja na području cele države izvodi ovaj tip procedura počev od 2005 godine.

Ciljevi

Cilj studije je bio prikazati presek stanja

ovog programa od početka 2005 godine do kraja 2021 godine sa prikazom broja afereznih procedura i evaluacijom ovog modaliteta lečenja kroz definisani period.

Pacijenti i metode

Retrospektivnom studijom analizirane su 254 aferezne procedure, koje su rađene pacijentima obolelim od malignih hematoloških bolesti, a koji su bili hospitalizovani na Hematološkoj klinici UKC Tuzla. Pacijenti su bili oba pola: 97 (38,2%) žena i 157 (61,8%) muškaraca, životne dobi od 17 do 65 godina. Za potrebe autologne transplantacije izvršeno je 230 afereznih procedura, a za potrebe alogenih 24 procedure. Autogenim transplantacijama su tretirani pacijenti oboleli od sledećih bolesti: Multipli mijelom (MM)-98 pacijenata, Non-Hodgkin limfom (NHL)-67 pacijenata, Hodgkin limfom (HL)-47 pacijenata, Akutna limfocitna leukemija (AnLL)-12 pacijenata, Akutna mijeloidna leukemija (AML)-6 pacijenata. Alogenim transplantacijama su tretirani pacijenti od sledećih bolesti: Akutna limfocitna leukemija (AnLL)-10 pacijenata, Akutna mijeloidna leukemija (AML)-10 pacijenata i Aplastične anemije (AA)-4 pacijenta. Tokom afereznog prikupljanja vršeno je procesiranje krvi većeg volumena (3-4). Sve procedure su rađene na ćelijskom separatoru Cobe Spectra prvih 15 godina, a od 2019 godine na Fresenius Amicus ćelijskom separatoru. Kao antikoagulantno sredstvo korištena je otopina ACD formule A. Odlučujući parametar za početak aferezne procedure je bio broj

MNC iz periferne krvi (2005-2008), a nakon 2008 godine broj CD34 mononuklearnih ćelija i broj leukocita (monocita) iz periferne krvi. Procedure su rađene preko plasiranih centralnih venskih katetera, čija je prohodnost omogućavala nesmetan protok krvi. Svim pacijentima i davaocima MCH su tokom procedure praćeni vitalni znaci (krvni pritisak, puls, temperatura), te opšti aspekt i eventualno pojava neželjenih reakcija. Aferezni produkti namenjeni za autolognu transplantaciju su naknadno bili podvrgnuti programiranoj kriokonzervaciji sa kriptoprotektorom DMSO u 10%-noj koncentraciji, te naknadno uskladišteni na temperaturi čuvanja od -140* C. Aferezni produkti namenjeni za alogenu transplantaciju su transfundirani pacijentima neposredno nakon procedure, dok u slučaju minor ABO-nepodudarnosti, rađene su dopunske mere, centrifugiranje suspenzije MCH sa maksimalnom redukcijom antitela usmerenih protiv eritrocitnih antigena primaoca. Uspešnost prikupljenog afereznog produkta je merena brojem CD 34 + i MNC.

Rezultati

Tokom dugogodišnjeg rada (2005.-2021. godine) u našoj ustanovi ukupno su urađene 254 aferezne procedure, od kojih je 230 bilo za potrebe autologne transplancije, a 24 za potrebe alogene transplantacije. U cilju prikupljanja odgovarajućeg broja CD34 ćelija ukupno 50 autolognih aferenih procedura je urađeno u dva akta, a dvije procedure su urađene u tri akta. Ukupno 148 procedura je urađeno u jednom aktu. Pacijenti su bili oba pola: 88 žena (34,6%) i 113 muškaraca (65,4%), životne dobi od 17 do 65 godina. Tokom afereznog prikupljanja vršeno je procesiranje krvi velikog volumena (3-4). Kao antikoagulantno sredstvo korištena je otopina ACD formule A. Najčešća hematološka oboljenja koja su bila indikacija za aferezno prikupljanje mononuklearnih ćelija iz periferne krvi su prikazana u Tabeli 1.

Tabela 1.

Pregled afereznih procedura urađenih za potrebe autologne transplantacije i najčešće zastupljene hematološke dijagnoze

	2005.-2008.	2009.- 2012.	2013.- 2016.	2017.-2021
Hodgkin limfom (HL)	3	17	4	23
Non-Hodgkin limfom (NHL)	2	17	30	18
Multipli mijelom (MM)	11	10	39	38
Akutna mijeloidna leukemija (AML)	2	1	3	-
Akutna limfocitna leukemija (AnLL)	6	4	2	-
UKUPNO	24	49	78	79

Odlučujući parametar za prikupljanje mononuklearnih ćelija putem ćelijskog separatora bio je broj MNC iz periferne krvi (2005.-2008.), a nakon 2008. godine broj CD34 mononuklearnih ćelija i broj leukocita u perifernoj krvi. Aferezne procedure su tokom prvih 15 godina rađene na ćelijskom separatoru Cobe Spectra, a od 2019. godine sve procedure su rađene na Fresenius Amicus ćelijskom separatoru, što je znatno olakšalo tok procedure. Uspješnost transplantacije je merena prinosom MNC po kg tjelesne težine. Srednja vrijednost prikupljenih MNC iznosila je $4,7 \times 10^8/\text{kgTT}$, a srednja vrijednost CD34 izmjerena nakon procedure iznosila

je $3,8 \times 10^6/\text{kgTT}$.

Aferezno prikupljanje mononuklearnih ćelija za potrebe alogene transplantacije je u posmatranom periodu rađeno mnogo ređe, kako zbog još uvek nerazvijene mreže donora, tako i zbog nedostatka podudarnih donora matičnih ćelija. Ukupno su urađene 24 aferezne procedure, od kojih je 14 bilo od krvnosrodnih bliskih donora, a ostalih 10 procedura od krvno nesrodnih donora matičnih ćelija sa određenim stepenom HLA podudarnosti. Srednja vrednost prikupljenih MNC u krvi donora iznosila je $8,3 \times 10^8/\text{kgTT}$, a srednja vrednost CD34 izmjerena nakon procedure iznosila je $5,4 \times 10^6/\text{kgTT}$.

Tabela 2.

Pregled afereznih procedura urađenih za potrebe alogene transplantacije

	2005.-2008.	2009.-2012.	2013.-2016.	2017.-2021.
Akutna mijeloidna leukemija	2	2	1	5
Akutna limfocitna leukemija (AnLL)	1	1	2	6
Aplastična anemija (AAA)	0	1	3	0

Pregled afereznih procedura rađenih za potrebe autologne i alogene transplantacije prikazan je u Tabeli 3.

Tabela 3.

Pregled afereznih procedura urađenih za potrebe autologne i alogene transplantacije

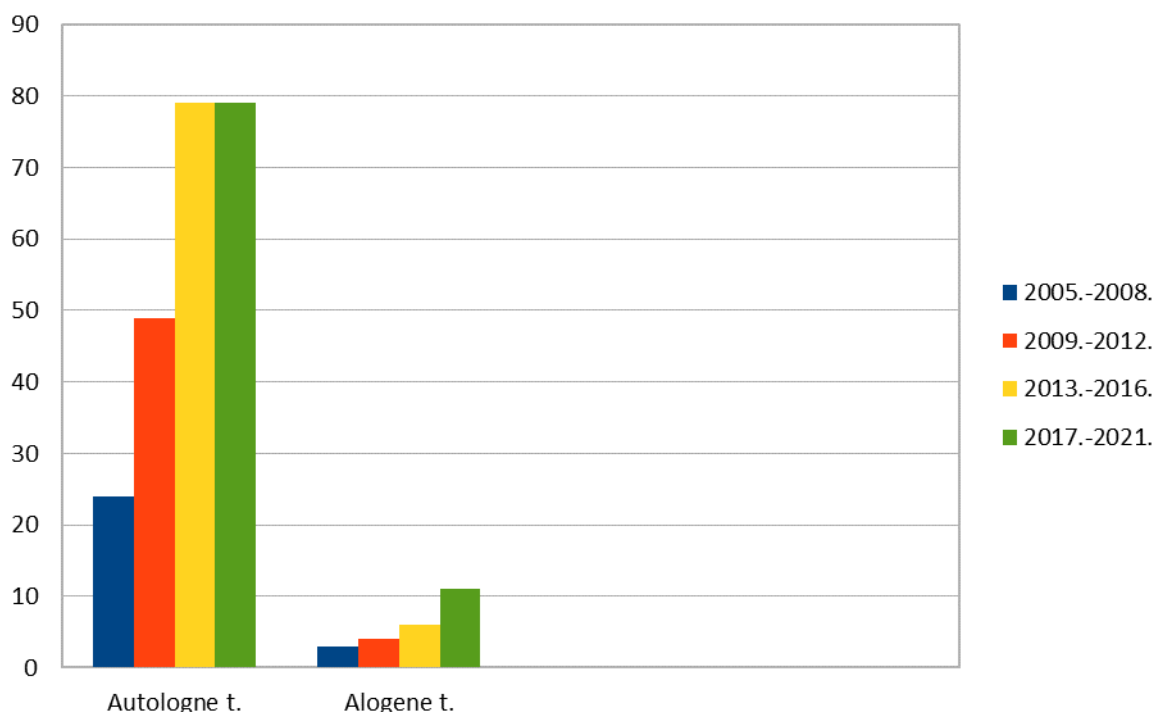
	2005.-2008.	2009.-2012.	2013.-2016.	2017.-2021.
Autologne transplantacije	24	49	78	79
Alogene transplantacije	3	4	6	11

Tokom afereznog prikupljanja ćelija svim pacijentima su praćeni vitalni znaci (krvni

pritisak, puls, telesna temperatura), te neželjene reakcije citrata. Neželjene reakcije

citrata su uglavnom opisivane kao blage reakcije u smislu trnjenja perioralnih mišića (ukupno 54 reakcije) od kojih je 1 bila teža citratna reakcija u vidu generalizovanog trnjenja mišića, a ostalih 53 (21,26%) su bile blage (trnjenje samo perioralne muskulature). Nus efekti citrata su bili izraženiji u periodu 2005.-2012. godine, kada se tokom

procedure intravenski ordinirao Ca-glukonat u dozi od 10 ml u 100-200 ml 0,9% fiziološke otopine. Neželjene reakcije citrata u periodu od 2012.-2021god. nisu evidentirane, jer se tokom cele procedure afereznog prikupljanja davao kalcijum peroralno, koji je bio dovoljan da spreči stvaranje neželjenih efekata citrata.



Grafikon 1. Pregled afereznih procedura urađenih za potrebe autologne i alogene transplantacije

Diskusija

U posljednje dve decenije zabeležen je evidentan porast boja malignih obolenja koštane loze, koji je imperativno modalitet lečenja sa MČH postavio u ravnotežu sa drugim terapijskim pristupima. Danas primena visokodozne hemioterapije sa autolognom TMČH predstavlja standardan terapijski pristup u velikom postotku hematoloških obolenja. U analiziranom periodu u našoj Ustanovi 90% afereznih procedura je urađeno za potrebe autologne transplantacije, dok samo 10 % za potrebe alogene transplantacije. To

svakako potvrđuje činjenicu da je naša zemlja još u fazi razvoja u kojoj je takođe nerazvijena i mreža donora, te evidentan nedostatak podudarnih nesrodnih davalaca MČ. Razvijena mreža tipizovanih dobrovoljnih davaoca MČH bi bila sigurna osnova i veliki doprinos pre svega pacijentima i društvu, a i samom transplantacionom timu. (5) To uveliko osuđuje pacijente na već izgubljenu bitku, kada je nesrodna transplantacija jedini mogući izbor lečenja ili na velike finansijske troškove tražeći mogućnost lečenja u razvijenijim državama.

Veliki broj studija potvrđuje da je alogena

transplantacija srodna ili nesrodna sa visokim stepenom HLA podudarnosti najbolji metod i izbor lečenja većine hematoloških obolenja, čime je moguće obezbediti potpuno izlečenje ili daleko veće preživljavanje i kvalitet života.(6) Rezultati našeg istraživanja su takođe pokazali bolji kvalitet života i dužinu preživljavanja posmatranu nakon postignutog "engrafmenta" i godišnjih kontrola u odnosu na transplantirane pacijente autolognim putem.(7,8). Uspešnost transplantacije se merila brojem CD34+ ćelija, ali i brojem MNC u perifernoj krvi.(9) Takođe broj CD34+ ćelija u afereznom produktu je bio u direktnoj korelaciji sa postizanjem engraftmenta i repopulaciji koštane srži. To se postizalo procesiranjem velikog volumena krvi, te radom u dva ili tri akta, ukoliko je broj bio na nezadovoljavajućem nivou. Prohodnost venskog katetera se pokazala od ključnog značaja za tehnički dio izvođenja procedure, gde je samo u jednom slučaju bila neophodna zamena istog. Zapravo, vaskularni pristup je omogućio procesiranje velikog volumena u optimalnom vremenskom periodu, prosečno u trajanju od 300 minuta. (10). Naši rezultati su takođe pokazali prednost izvođenja afereznog prikupljanja MCH iz periferne krvi u odnosu na koštanu srž u brzini samog oporavka, gde je oporavak tokom upotrebe prvog izbora trajao oko 14 dana, u odnosu na drugi izvor čiji je oporavak bio duži čak i do 26 dana, što je bilo u korelaciji sa ostalim studijama (11). Najteža komplikacija u posttransplantacionom periodu je bila bolest kalema protiv domaćina (GVHD), odbacivanje transplantata, koje je bilo često i nakon alogene i nakon autologne transplantacije MCH (12,13) Druge slične studije su upoređujući transplantaciju koštane srži i MNC iz periferne krvi zaključile su da su psihološki teret zbog hroničnog GVHD-a i 5-godišnje mogućnosti vraćanja normalnim aktivnostima, uključujući i povratak na

posao bili bolji u grupi pacijenata transplantiranih sa koštanom srži (14).

Sumirajući broj urađenih afereznih procedura u našoj ustanovi u dugogodišnjem radu, ohrabruje podatak da u poslednjih osam godina broj procedura se povećao za 68% u odnosu na prvih 7 godina, gde je iznosio svega 32%. Takođe, Covid 19 pandemija nije bitno uticala na izvođenje procedura iako je nedostajalo uposlenika, opreme, materijala za rad i lijekova. Taj podatak se najbolje može uvideti na grafikonu br.1, gde je uočena statistički značajna razlika.

Zaključak

1. Aferezne procedure matičnih ćelija iz periferne krvi su daleko elegantniji i savremeniji način rada u odnosu na aspiraciju koštane srži iz kosti.
2. Procesiranje velikog volumena krvi omogućava veći broj CD34+ ćelija, kojima se meri uspešnost transplantacije.
3. Adekvatan vaskularni pristup omogućava nesmetan protok krvi kroz aparat, a time i veću količinu procesirane krvi.
4. Razvoj donorske mreže davalaca MNC bio bi značajan faktor u transplantacijskoj medicini.
5. Produženje životnog veka ili potpuno izlečenje su glavni motiv za dalji razvoj i unapređenje ovog modaliteta lečenja.

Literatura:

1. Bader P, Niethammer D, Willasch A, Kreyenberg H, Klingebiel T. How and when should we monitor chimerism after allogeneic stem cell transplantation? Bone marrow transplantation. 2005; 35 (2): 107–19.
2. Maziarz RT. Blood and Marrow Transplant Manual. 2nd ed. Cham: Springer; 2015. p. 3–11, 29–33.
3. Apperley J, Carreras E, Gluckman E, Masszi T. editors. ESH-EBMT Manual. 2012,

- [Online] p. 111, 309, 311.
4. Balint B. Transplantacija matičnih ćelija ematopoeze. *Transfuziologija*. Beograd: Zavod za udžbenike I nastavna sredstva, 2005; 525-31.
 5. Howard CA, Fernandez-Vina MA, Appelbaum FR, Confer DL, Devine SM, Horowitz MM, Mendizabal A, Laport GG, Pasquini MC, Spellman SR. Recommendations for the assessment of human leukocyte antigen antigens and harmonization for allogeneic stem cell transplantation: consensus opinion of the Blood and Marrow Transplant Clinical Network (BMT CTN). *Biol blood marrow transplantation*. January 2015;21(1): 4-7
 6. Lee SJ, Klein J, Haagenson M, Baxter-Lowe LA, Confer DL, Eapen M, Fernandez-Vina M, Flomenberg N, Horowitz M, Hurley CK, Noreen H, Oudshoorn M, Petersdorf E, Setterholm M, Spellman S, Weisdorf D, Williams TM, Anasetti C. Matching HLA donors and high-resolution recipients contributes to the success of unrelated donor marrow transplants. *Blood*. 2007 15 December; 110 (13): 4576-83.
 7. Cashen A, Lopez S, Gao F, Calandra G, MacFarland R, Badel K, DiPersio J. Phase II study of plerixafor (AMD3100) plus G-CSF for autologous mobilization of hematopoietic progenitor cells in patients with Hodgkin's lymphoma. *Biol blood marrow transplantation*. November 2008;14(11): 1253-61
 8. Dominietto A, Lamparelli T, Raiola AM, Van Lint MT, Gualandi F, Berisso G, Bregante S, Di Grazia C, Soracco M, Pitto A, Frassoni F, Bacigalupo A. Transplant-related mortality and long-term graft function are significantly affected cell doses in patients undergoing allogeneic marrow transplantation. *Blood*. 2002 December 1; 100 (12): 3930-4.
 9. Passweg JR, Baldomero H, Bregni M, Cesaro S, Dreger P, Duarte RF, Falkenburg JH, Kröger N, Farge-Bancel D, Gaspar HB, Marsh J, Mohty M, Peters C, Sureda A, Velardi A, Ruiz de Elvira C, Madrigal A. European Blood and Marrow Transplant Group. Hematopoietic SCT in Europe: data and trends in 2011. *Bone marrow transplantation*. 2013; 48 (9): 1161-7. <https://doi.org/10.1038/bmt.2013.51>. PubMed PMID Stk #: 23584439; PubMed Central PMCID: PMC3763517.
 10. Toro JJ, Morales M, Loberiza F, Ochoa-Bayona JL, Freytes CO. Patterns of use of vascular access devices in patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation: results of an international study. *Cancer care support*. 2007; 15: 1375-83.
 11. Storb R, Gyurkocza B, Storer BE, Sorrow ML, Blume K, Niederwieser D, Chauncey TR, Pulsipher MA, Petersen FB, Sahebi F, Agura ED, Hari P, Bruno B, McSweeney PA, Maris MB, Maziarz RT, Langston AA, Bethge W, Vindeløv L, Franke GN, Laport GG, Yeager AM, Hübel K, Deeg HJ, Georges GE, Flowers ME, Martin PJ, Mielcarek M, Woolfrey AE, Maloney DG, Sandmaier BM. Graft-versus-host disease and transplant-versus-tumor effects after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *J Clin Oncol*. 2013 April 20; 31 (12): 1530-8.
 12. Bensinger WI, Martin PJ, Storer B, Clift R, Forman SJ, Negrin R, Kashyap A, Flowers ME, Lilleby K, Chauncey TR, Storb R, Appelbaum FR. Bone marrow transplantation compared with peripheral blood cells from HLA-identical relatives in patients with hematologic cancers. *N Engl J Med*. 2001 January 18; 344 (3): 175-81.
 13. Anasetti C, Logan BR, Lee SJ, Waller EK, Weisdorf DJ, Wingard JR, Cutler CS, Westervelt P, Woolfrey A, Couban S, Ehninger G, Johnston L, Maziarz RT, Pulsipher MA, Porter DL, Mineishi S, McCarty JM, Khan SP, Anderlini P, Bensinger WI, Leitman SF, Rowley SD, Bredeson C, Carter SL, Horowitz MM, Confer DL., Network of Clinical Trials of Blood and Marrow Transplantation. Peripheral blood stem cells relative to bone marrow unrelated donors. *N Engl J Med*. October 18, 2012; 367 (16): 1487-96.

Sunita Ćustendil

Univerzitetsko-klinički centar Tuzla, Trnovac bb, 75000 Tuzla, Federacija B I H

Tel. +38763039433, e-mail: sunitacustendil1970@gmail.com

PREOPERATIVNA ANESTEZIOLOŠKA PROCENA FUNKCIJE RESPIRATORNOG SISTEMA

Snježana Zeba^{1,2}, Katarina Mladenović^{1,2}, Goran Rondović^{1,2}

¹ *Klinika za anesteziologiju i intenzivnu terapiju, Vojnomedicinska akademija, Beograd*

² *Medicinski fakultet VMA, Univerzitet Odbrane, Beograd*

Cilj preoperativne anesteziološke procene funkcije respiratornog sistema je da se smanji rizik za nastanak perioperativnih plućnih komplikacija (PPK). U postoperativnom periodu promene u plućima mogu nepovoljno uticati na klički tok.

Različiti mehanizmi dovode do nastanka perioperativnih, a naročito postoperativnih respiratornih komplikacija. U genezi respiratornih komplikacija prepoznaje se uticaj anestezije, operacije, mehaničke ventilacije pluća, uticaj medikamenata sa depresivnim dejstvom na respiratorni centar itd. Takođe, od značaja su poremećaji funkcije drugih organa i organskih sistema.

Dodatni faktor rizika na nastanak PPK je preoperativno postojanje akutnih i hroničnih respiratornih bolesti.

Učestalost PPK posle opšte anestezije kreće se i do 25%, a zavisi od vrste hirurške intervencije i dužine trajanja operacije, te preoperativnog stanja respiratornog sistema.

Identifikacijom riziko-bolesnika i sprovođenjem adekvatne preoperativne pripreme može se smanjiti rizik od nastanka PPK.

Period između preoperativne procene respiratorne funkcije i hirurškog lečenja ne bi trebao da bude duži od šest nedelja za elektivne nekardiorakalne operacije.

Značaj adekvatne preoperativne evaluacije respiratornog sistema očituje se u smanjenju perioperativnog morbiditeta i značajnog skraćenja dužine hospitalizacije.

PREOPERATIVNA PROCENA FUNKCIJE RESPIRATORNOG SISTEMA

Preoperativni anesteziološki pregled za procenu plućne funkcije obuhvata:

1. anamnezu
2. fizikalni pregled bolesnika,
3. uvid u medicinsku dokumentaciju.

U određenim slučajevima, ali ne rutinski, potrebna je:

1. radiografija grudnog koša (RTG)
2. laboratorijske analize (vezane za respiratorni sistem)
3. funkcionalna dijagnostika

Zdravstveno stanje pacijenta i karakteristike hirurškog zahvata određuju obim preoperativnog testiranja i ispitivanja.

Preoperativnom procenom funkcije respiratornog sistema utvrđujemo funkcionalni status respiratornog sistema, procenu mogućnosti pojave postoperativnih respiratornih komplikacija, sagledavanje potrebe za dodatnom dijagnostikom i lečenjem, kao i potrebom za odlaganjem hirurške intervencije. Sve ovo utiče na smanjenje perioperativnog morbiditeta i mortaliteta.

Preoperativni anesteziološki pregled

Da bi smo procenili funkciju respiratornog sistema neophodno je u anesteziološkoj viziti uzeti pažljivu anamnezu i uraditi fizikalni pregled pacijenta. Takođe, potrebno

je proceniti faktore rizika povezane sa pacijentom i sa hirurškom procedurom.

Posebnu pažnju treba obratiti na:

- pacijente starije životne dobi
- pacijente sa prisutnim hroničnim respiratornim oboljenjima
- pušače
- pacijente koji imaju podatak o pojavi komplikacija prilikom prethodnih operacija i anestezija

Fizikalni pregled uključuje procenu opšteg stanja, način i frekvencu disanja, prisustvo dispneje i/ili cijanoze, prisustvo kašlja, produkcije sputuma, deformiteta grudnog koša. Ako je prisutna dispneja, bilo od ranije ili je novonastala, neophodna je dodatna evaluacija. Kod gojaznih osoba treba očekivati restriktivni poremećaj ventilacije. Auskultacijom pluća možemo uočiti različite poremećaje disajnog šuma. Važna je procena i detekcija mogućnosti otežanog disajnog puta.

Laboratorijski testovi

Ako se pacijenti podvrgavaju operaciji niskog rizika, a nemaju značajnu sistemsku bolest, nisu indikovani laboratorijski testovi u većem obimu od rutinskih bez obzira na starosnu dob. Kod visoko rizičnih pacijenata (ASA 3 ili ASA 4) potrebna su dodatna laboratorijska i druga ispitivanja i za nisko rizične operacije.

Kada se pacijenti podvrgavaju hirurškoj intervenciji visokog rizika potrebno je da imaju, osim kompletne krvne slike i elektrolita, dodatne laboratorijske analize (u skladu sa osnovnom bolešću) i dodatna ispitivanja vezana za procenu respiratorne funkcije.

Iako su anamneza i fizikalni pregled najznačajniji elementi preoperativne procene plućne funkcije, za procenu plućne funkcije koriste se i druge dijagnostičke metode kao što su:

- radiografija grudnog koša
- spirometrija
- gasne analize arterijske krvi
- saturacija arterijske krvi kiseonikom
- specifični scoring sistemi i dr.

Radiografija grudnog koša

Radiografija grudnog koša može otkriti bolesti pluća, pleure, srca, velikih krvnih sudova u grudnom košu, medijastinumu, bolesti zida grudnog koša i dijafragme. Iako se često rutinski naručuje kao deo preoperativne procene, njena važnost je upitna.

Meta analizom (2006. god.) kojom je analizirana vrednost rutinske preoperativne radiografije grudnog koša na osnovu studija objavljenih između 1980. i 2006. godine, autori su sagledali njen uticaj na promenu perioperativnog lečenja. Iako je patološki nalaz na radiografiji uočen kod 23% testiranih, u samo 0,1– 3% posto slučajeva je radiografija grudnog koša uticala na lečenje ili otkazivanje elektivne hirurške procedure. Kod visokog procenta pacijenata radiografija grudnog koša nije prediktivni faktor za postoperativne plućne komplikacije. Pojava postoperativnih plućnih komplikacija u navedenoj studiji bila je slična između pacijenata koji su imali preoperativni RTG (12,8%) i koji nisu (16%). Takođe, nema dovoljno naučnih dokaza o koristi primene starosne granice za rutinsku radiografiju grudnog koša.

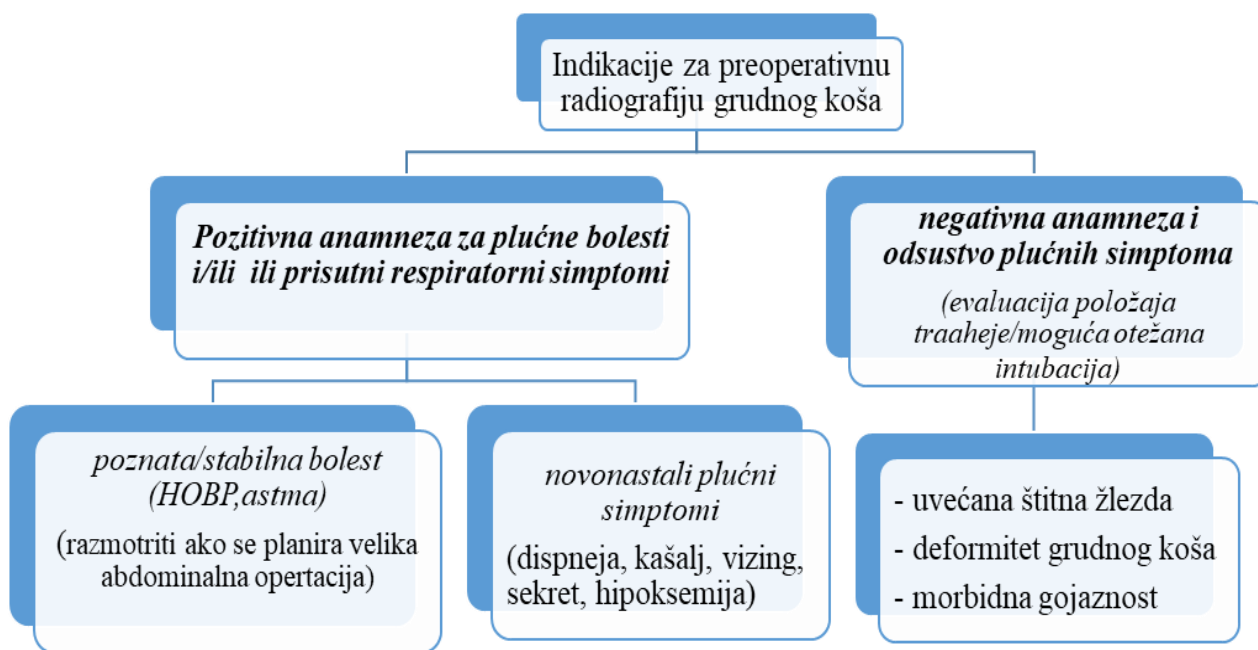
Senzitivnost rendgenskog snimka grudnog koša za dijagnozu kardiopulmonalnih oboljenja je niska kod pacijenata bez značajnih anamnestičkih podataka i bez značajnih odstupanja pri fizikalnom pregledu.

Na osnovu ovih saznanja ne preporučuje se rutinska radiografija grudnog koša jer retko menja operativno lečenje. Radiografija grudnog koša može biti značajna u prisustvu imptoma, nalaza ili kada je viđen patološki

nalaz na prethodnim radiografijama.

Prema tome, preoperativna radiografija grudnog koša je indikovana samo kada treba potvrditi ili isključiti kliničku sumnju na pleuralni izliv, atelektazu, plućni edem ili pneumoniju, što može dovesti do posledica za vreme perioperativnog postupaka i ovo su situacije koje zahtevaju odlaganje elektivnog hirurškog zahvata. Na shemi 1. je prikazano kada treba obavezno uraditi RTG.

Osim navedenog, neki autori preporučuju obaveznu radiografiju grudnog koša i kod pacijenata starijih od 65 godina, kod prisutnih kardiovaskularnih bolesti (naročito kod pojave novih KVS simptoma), kod malignih bolesti (naročito kod sumnje na pojavu metastaza u plućima), kod pacijenata u riziku od pojave plućnih bolesti (pušači, izlaganje inhalacionim toksinima) i kod svih invazivnih procedura na grudnom košu.



Šema 1. Indikacije za radiografiju grudnog koša

Testovi plućne funkcije i gasne analize

Testovima plućne funkcije može se proceniti volumen i kapacitet pluća, brzina protoka i izmena gasa u plućima. U upotrebi su od 1950. godine za procenu rizika postoperativnih plućnih komplikacija, mada korelacija između patološkog nalaza u testovima plućne funkcije i pojave perioperativnih plućnih komplikacija nije snažna, već je umerena.

U preoperativnom periodu koriste se za procenu pacijenata koji imaju dokazanu ili suspektanu respiratornu bolest. Testovi plućne funkcije su indikovani kod pacijenata sa novonastalim ili sumnjivim aktivnim stanjem na plućima zbog procene težine bolesti ili praćenja lečenja.

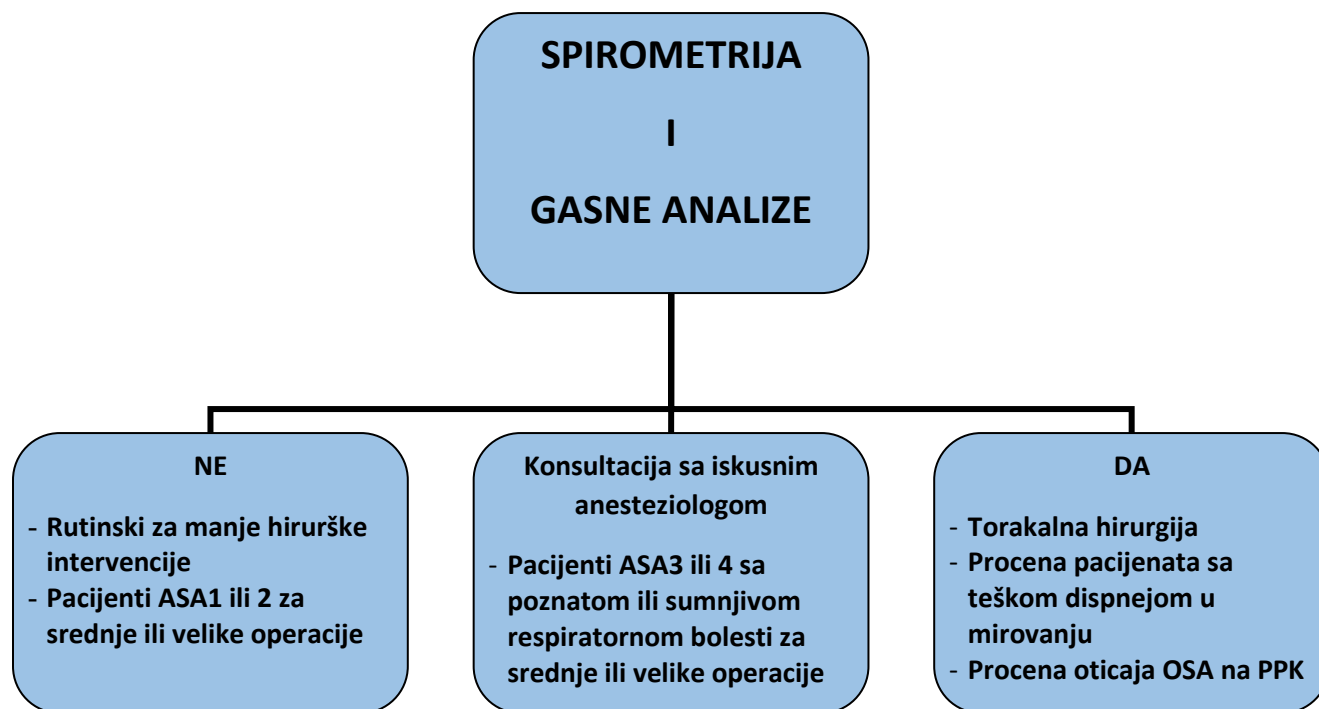
Pravilno tumačenje rezultata ovih testova može pomoći u smanjenju perioperativnog morbiditeta i mortaliteta. Njihovo izvođenje se preporučuje kod pacijenata koji se

podvrgavaju kardio-torakalnim, velikim abdominalnim ili drugim visokorizičnim operacijama i kod onih koji pripadaju ASA 3 ili ASA 4 riziko-grupi, a planirani su za operacije umerenog, pa i niskog rizika. Preporučeni testovi za procenu plućne funkcije su:

-

- spirometrija
- ergospirometrija
- pletizmografija.

Preporučeni testovi plućne funkcije su prikazani na shemi 2. Postoji i drugi testovi plućne funkcije, kao što su bronhoprotektivni i bronhodilatatorni testovi, ali se oni ređe koriste u preoperativnoj proceni.



Legenda: OSA- obstruktivna spiv-apneja; PPK-postoperativne plućne komplikacije

Šema 2. Preporučeni testovi plućne funkcije

Spirometrija

Spirometrijski test se koristi za procenu plućne funkcije. To je načešće izvođeni test u okviru funkcionalne dijagnostike pluća jer je veoma jednostavan, neinvazivan i lako se izvodi. Kod većine pacijenata kod kojih u preoperativnom periodu treba ispitati plućnu funkciju spirometrijski test je uglavnom dovoljan.

Iako je opšte poznat i priznat test za preoperativnu procenu plućne funkcije ne pre-

poručuje se rutinski u perioperativnoj proceni i u poređenju sa kliničkom procenom nije tako dobar prediktor postoperativnih plućnih komplikacija.

Razlog je što se spirometrijom procenjuje plućna funkcija u mirovanju, a ne meri kardipulmonalna rezerva, te ove testove treba pažljivo tumačiti jer zavise od napora. Vrednosti spirometrijskih parametara omogućuju razlikovanje prirode respiratornih poremećaja (opstruktivni v.s. restriktivni pore-

mećaji). U tabeli 1. su prikazane razlike u spirometrijskom nalazu kod opstruktivnih i restriktivnih bolesti.

Parametri spirometrijskog testa koje najčešće pratimo u kliničkoj praksi su:

- **FEV₁** (forsirani expiratorni volumen u prvoj sekundi, predstavlja volumen vazduha izdahnut u prvoj sekundi nakon maksimalnog inspirijuma; ima centralnu ulogu u dijagnostici i praćenju plućnih bolesti. Normalna vrednost je FEV₁ je $\geq 80\%$ od predviđene vrednosti na osnovu rase, visine, pola i starosti ili $> 75\%$ vitalnog kapaciteta (koji normalno iznosi 4,5–5 L kod zdravih, mladih, odraslih osoba). Na osnovu ovog parametra može

se stratifikovati rizik za izvođenje anestezije u 3 kategorije:

- nema rizika: ako je FEV₁ $>70\%$ (2L)
- potrebna preoperativna priprema: ako je FEV₁ $>40\%$ (1,4 L)
- neprihvatljiv operativni rizik $<40\%$ (1,4 L).
- **FVC** (forsirani vitalni kapacitet) predstavlja volumen vazduha koji se može izdahnuti manevrom forsiranog ekspirijuma nakon maksimalnog udaha. Normalna vrednost - FVC je $>81\%$, dok je vrednosti 66-88% ukazuju na lakši poremećaj, 51-65% na umereni poremećaj, a $<51\%$ ukazuje na težak poremećaj plućne funkcije.

Tabela 1.

Spirometrijski nalaz kod opstruktivnih i restriktivnih bolesti pluća

RESPIRATORNI PARAMETRI	OPSTRUKTIVNA BOLEST	RESTRIKTIVNA BOLEST
FVC	↓	↓
FEV1	normalan ili ↓	↓
FEV1/FVC	↓	normalan
FRC	normalan ili ↑	↓
TLC	normalan ili ↑	↓

- **Odnos FEV₁ i FVC** (poznatiji kao Tiffeneau index) koristi se za razlikovanje između opstruktivnih i restriktivnih poremećaja plućne funkcije. Na osnovu vrednosti ova dva parametra izvršena je klasifikacija težine opstruktivnih poremećaja na četiri stepena (tabela 2).

Ostali parametri plućne funkcije su: FEF, PEF, MMV, DLCO, TLC i FRC.

- **FEF** (forsirani ekspiratorni protok) predstavlja protok vazduha u srednjem delu forsiranog ekspirijuma i normalno iznosi 25–75% od vitalnog kapaciteta. Ukoliko je ovaj protok smanjen, to je znak rane opstrukcije i

opstrukcije malih disajnih puteva. Ako je smanjen FEF $<50\%$ od predviđenog, povećan je operativni rizik.

- **MMV** (maksimalna voljna ventilacija) odražava stanje respiratorne muskulature. Fiziološke vrednosti MVV su 150-175 L/min. Iako ovaj parameter nije specifičan predictor pojave postoperativnih plućnih komplikacija, pokazano je da je kod smanjenja MMV $<50\%$ neophodna preoperativna priprema, a ako je smanjenje $<35\%$ kontraindikovana je opšta anestezija.
- **DLCO** (difuzioni kapacitet za ugljemonoksid) predstavlja sposobnost prenosa gasa iz spoljne sredine u krv. Ako je vrednost $>75\%$

nema rizika od anestezije, dok za manje vrednosti postoji rizik.

- **VC** (vitalni kapacitet), kao statički parametar plućne funkcije, nije dovoljno senzitivni predictor za pojavu PPK.
- **TLC** (totalni kapacitet pluća) je ukupna zapremina vazduha u plućima posle

maksimalnog udaha. Predstavlja zbir vitalnog kapaciteta i rezidualnog volumena pluća.

- **FRC** (funkcionalni rezidualni kapacitet) je volume vazduha koji je ostao u plućima na kraju ekspirijuma.

Tabela 2.

Klasifikacija težine obstrukcije na osnovu FEV₁ i FVC

TEŽINA OPSTRUKCIJE	FEV ₁ /FVC	FEV ₁ (%)
normalan nalaz	$\geq 0,7$	80%–120%
lak opstruktivni poremećaj	$<0,7$	$\geq 80\%$
umeren opstruktivni poremećaj	$<0,7$	50–80%
težak opstruktivni poremećaj	$<0,7$	30–50%
veoma težak opstruktivni poremećaj	$<0,7$	$< 30\%$

Sem za torakalne hirurške procedure, gde je spirometrija obavezan deo anesteziološkog i hirurškog planiranja, preoperativno izvođenje ovog testa plućne funkcije treba razmotriti:

- kod pacijenata kod kojih se planira velika intraabdominalna hirurška intervencija, a imaju hroničnu bolest pluća
- kod dugogodišnjih pušača
- kod pacijenata sa dispejom ili netolerancijom napora koji ostaju neobjašnjeni nakon pažljive anamneze i fizikalnog pregleda
- kod pacijenata sa hroničnim respiratornim simptomima
- kod pacijenata sa fizikalnim nalazom na plućima
- kod pacijenata čija radiografija grudnog koša sugeriše hroničnu plućnu bolest

- kod pacijenata sa kifoskoliozom koji se podvrgavaju opštoj anesteziji
- kod pacijenata sa HOBP koji se podvrgavaju neurohirurškoj intervenciji
- kod pacijenata sa neuromuskularnim bolestima koji se podvrgavaju opštoj anesteziji.

Preoperativna spirometrija može biti korisna kod pacijenata sa prethodnom dijagnozom hronične opstruktivne bolesti pluća (HOBP) ili astme samo ako su pacijenti sa visokim rizikom. Spirometrijski testovi u preoperativnom periodu mogu pomoći pri dijagnozi nerazjašnjene dispneje i proceni delotvornosti bronhodilatatorne terapije kod pacijenata sa HOBP. Ako pacijenti imaju akutnu eksacerbaciju astme ili HOBP planiranu hiruršku intervenciju treba odložiti.

U slučaju astme više informacija dobijamo iz anamneze jer je astma povremena i fluktuirajuća bolest.

Kod pacijenata sa neuromuskularnom bolešću ili kifoskoliozom potrebno je izmeriti maksimalni inspiratorni i ekspiratorni pritisak. Ako je funkcionalni vitalni kapacitet $FVC < 40\%$ predviđene vrednosti i/ili maksimalni pritisak ispod $30 \text{ cmH}_2\text{O}$ postoji značajno povećan rizik od respiratorne insuficijencije nakon ekstubacije u postoperativnom periodu.

Gasne analize arterijske krvi

Gasne analize arterijske krvi omogućuju uvid

u oksigenaciju, ventilaciju i acidobazno stanje. Savremeni gasni analizatori imaju mogućnost određivanja i drugih značajnih parametara (hemoglobina, elektrolita, laktata i dr). Izvode se brzo i jednostavno, dovoljan je mali uzorak krvi i za par minuta imamo rezultate. Vrednost gasnih analiza malo utiče na perioperativni tok te se ne preporučuju rutinski za procenu respiratorne funkcije. U tabeli 3. prikazane su normalne vrednosti gasnih analiza.

Tabela 3.

Normalne vrednosti gasnih analiza

Parametar	Normalne vrednosti u arterijskoj krvi
pH	7,35-7,45
pO₂	80-100 mmHg (10.6-13.3 kPa)
pCO₂	35-45 mmHg (4.7-6 kPa)
HCO₃	24±2 mmol/L
SaO₂	>95%

Gasne analize se najčešće se zahtevaju kod pacijenata planiranih za torakalnu hiruršku intervenciju. Ova laboratorijska analiza ima mesto za sveobuhvatnu procenu pacijenata sa teškom dispnejom ili kod pacijenata sa niskom saturacijom hemoglobina kiseonikom u mirovanju na sobnom vazduhu. Takođe, može pomoći u proceni uticaja obstructivne slip apneje (OSA) na postoperativne plućne komplikacije. Sem pacijenata sa respiratornim komorbiditetom, sumnjom na hipoksemiju i hiperkapniju, kandidati za gasne analize mogu biti gojazni pacijenti koji se podvrgavaju velikim hirurškim intervencijama. Kod pacijenata sa HOBP gasne analize nam daju podatak o hroničnom zadržavanju (retenciji) CO₂, naročito ako postoji rizik za PPK. Vrednosti gasnih analiza mogu pomoći u predviđanju

postoperativnog toka i postavljanju indikacija za mehaničku ventilaciju pluća.

Rutinsko izvođenje gasnih analiza se ne preporučuje kod pacijenata planiranih za nisko-rizične operacije, kao i kod nisko-rizičnih pacijenata (ASA 1 i ASA 2), planiranih za kompleksne hirurške intervencije.

Za visoko-rizične pacijente (ASA 3 i ASA 4), donošenje odluke o potrebi za gasnim analizama bazira se na individualnoj proceni, za svakog bolesnika ponaosob.

Konsultacija pulmologa

Ako pacijenti imaju dijagnozu hronične bolesti pluća koja nije u stabilnom stanju, radi procene težine bolesti i dodatne preoperativne pripreme poželjna je konsultacija pulmologa. Ovo se naročito odnosi na paci-

jente sa neobjašnjivom dispnejom prilikom napora, hipoksemijom, hemoptizijama, plućnom hipertenzijom, slabo kontrolisanom astmom ili hroničnom opstruktivnom bolesti pluća (HOBP), patološkim nalazom na radiografiji grudnog koša, nedavnoj hospitalizaciji ili posete lekaru zbog akutnih plućnih procesa.

Odlaganje elektivne operacije

Odlaganje elektivne hirurške operacije preporučuje se za pacijente sa akutnim pogoršanjem, nedavnom infekcijom ili pogoršanjem hronične bolesti, i to za 4 do 6 nedelja od prestanka simptoma. Takođe, sve pacijente treba savetovati i dati im podršku za prestanak pušenja, najmanje četiri, a optimalno 6-8 nedelja pre planiranog operativnog lečenja. Postoje i nerespiratorna oboljenja i stanja koja direktno ili indirektno utiču na plućnu funkciju (malnutricija, gojaznost) kod kojih treba razmotriti odlaganje elektivne operacije u cilju minimiziranja postoperativnih plućnih komplikacija.

Zaključak

Procena respiratorne funkcije omogućava planiranje optimalnog ishoda hirurškog lečenja.

Najvažnija komponenta preoperativnog ispitivanja pluća je pažljiva anamneza, fizikalni pregled i uvid u medicinsku dokumentaciju. Dodatna ispitivanja plućne funkcije, kao što su spirometrija, RTG i gasne analiza arterijske krvi i dr. nisu neophodne za nisko-rizične pacijente i nisko-rizične procedure. Odluku o odlaganju elektivne hirurške intervencije donosi se kada su u pitanju akutne respiratorne infekcije ili egzacerbacija hronične plućne bolesti.

Preporučuje se prestanak pušenja najmanje četiri nedelje pre planirane operacije.

Postoperativne plućne komplikacije (PPK) rezultiraju povećanim morbiditetom, produženim boravkom u bolnici, povećanim dugoročnim mortalitetom, te povećanim troškovima lečenja.

Uvek treba imati na umu da svaki pacijent zahteva individualni pristup i procenu.

Literatura:

1. Deutsche Gesellschaft für Anesthesiologie und Intensivmedizin (DGAI). Deutsche Gesellschaft für Innere Medizin (DGIM). Deutsche Gesellschaft für Chirurgie (DGCH). Perioperative evaluation of adult patients before elective, noncardiothoracic surgery. *Anaesthesist* 2019;68(1):25-39
2. Rusoto V, Sabate S, Canet J. Development of a prediction model for postoperative pneumonia. *Eur J Anaesthesiol* 2019; 36:93-104
3. Selzer A, Sarkiss M. Preoperative Pulmonary Evaluation. *Med Clin N Am* 2019; 103(3):585-599
4. Cohn SL. Preoperative evaluation for non-cardiac surgery. *Ann Intern Med* 2016; 165 (11):81-86
5. Expert Panel on Thoracic Imaging, McComb BL, Chung JH, et al. ACR appropriateness criteria routine chest radiography. *J Thorac Imaging* 2016;31(2):w13-5
6. Pourier P, Alpert MA, Fleisher LA, et al. Cardiovascular evaluation and management of severely obese patients undergoing surgery: a science advisory from the American Heart Association. *Circulation* 2009; 120:86-95
7. Yu S, Warner DO. Surgery as a teachable moment for smoking cessation. *Anesthesiology* 2010; 112:102-107
8. Gronkjaer M, Eliassen M, Skow-Ettrup LS, et al. Preoperative smoking status and

- postoperative complications: a systematic review and meta-analysis. *Ann Surg* 2014;259(1):52-71
9. Fritsch Get et al. Abnormal pre-operative tests, pathologic findings of medical history, and their predictive value for perioperative complications. *Acta Anaesthesiol Scand* 2012; 56(3):339-350
 10. Degani-Costa LH, Faresin SM, dos Reis Falcão LF. Preoperative evaluation of the patient with pulmonary disease. *Rev Bras Anesthesiol* 2014; 64(1):22-34
 11. Myers KH, Hajek P, Hinds C, McRobbie H. Stopping smoking shortly before surgery and postoperative complications: a systematic review and meta-analysis. *Arch Intern Med* 2011; 171:983-989
 12. Miskovic A, Lumb AB. Postoperative pulmonary complications. *British Journal of Anaesthesia* 2017; 118(3):317-34
 13. Archer C, Levy AR, McGregor M. Value or routine preoperative chest x-rays: a meta-analysis. *Can J Anaesth* 1993; 40:1022-7
 14. Tao J, Kurup V. Obstructive Respiratory Diseases. In: Hines RL, Marshall KE. *Anesthesia and co-existing disease*. Seventh edition. Philadelphia: Elsevier; 2018. p.p 15-32
 15. Lakshminarasimhachar A, Smetana GW. Preoperative evaluation: estimation of pulmonary risk. *Anesthesiol Clin* 2016; 34:71-88
 16. Jamali S, Dagher M, Bilani N, Mailhac A, Habbal M, Zeineldine S, Tamim H. The Effect of Preoperative Pneumonia on Postsurgical Mortality and Morbidity: A NSQIP Analysis. *World J Surg* 2018; 42:2763-72
 17. Menings A, Doyle D, Wilston J. Preoperative assessment and premedication. In: Thompson J, Moppett I, Wiles M. Smith and Aitkenhead's *Textbook of Anaesthesia*. 7th edition. Philadelphia: Elsevier; 2019. pp 379-399
 18. Nagamatsu Y, Shima I, Hayashi A, Yamana H, Shirouzu K, Ishitake T. Preoperative Spirometry Versus Expired Gas Analysis During Exercise Testing as Predictors of Cardiopulmonary Complications After Lung Resection. *Surg Today* 2004; 34:107-110
 19. National Institute for Health and Care Excellence. Lung function tests. In: *Preoperative tests (update)*. National Institute for Health and Care Excellence; 2016. pp107-118
 20. Arozullah AM, Daley J, Henderson WG et al. Multifactorial risk index for predicting postoperative respiratory failure in men after major noncardiac surgery. The National Veterans Administration Surgical Quality Improvement Program. *Ann Surg* 2000;232: 242-53
 21. Canet J et al. Development and validation of a score to predict postoperative respiratory failure in a multicentre European cohort: a prospective, observational study. *Eur J Anaesthesiol* 2015; 32(7):458-470
 22. Smetana GW, Lawrence VA, Cornell JE: Preoperative pulmonary risk stratification for non cardiothoracic surgery: systematic review for the American College of Physicians. *Ann Intern Med* 2006;144: 581-95
 23. Antoniou SA, Antoniou GA, Koch OO, Kohler G, Pointner R, Granderath FA. Laparoscopic versus open obesity: a meta-analysis of pulmonary complications. *Dig Surg* 2015; 32:98-107
 24. Smit PR, Baig MA, Brito V, Bader F, Bergman MI, Alfonso A. Postoperative pulmonary complications after laparotomy. *Respiration* 2010; 80: 269-74
 25. Lee CZ, Kao LT, Lin HC, Wei PL. Comparison of clinical outcome between laparoscopic and open right hemicolectomy: a nationwide study. *World J Surg Oncol* 2015; 13:250
 26. Mazo V, Sabate S, Canet , et al. Prospective external validation of a predictive score for postoperative pulmonary complications. *Anesthesiology* 2014;121:219-31
 27. Baron DM, Hochrieser H, Posch M, et al. Preoperative anaemia is associated with poor clinical outcome in noncardiac sur-



- gery patients. Br J Anaesth 2014; 113: 416-23
28. Clevenger B, Richard T. Pre-operative anaemia . Anaesthesia 2015; 70:20-8
29. Canet J, Gallart L, Gomar C, et al. Prediction of postoperative pulmonary complications in a population-based surgical cohort. Anesthesiology 2010; 113:1338-50
30. Mills GH. Respiratory complications of anaesthesia. Anaesthesia 2018; 73:25-33
31. Smetana GW. Pulmonary function Testing. In Sweitzer BJ, editor. Preoperative assessment and management. 3rd edition. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2019.p. p209-11
32. Costescu F, Slinger P. Postoperative pulmonary complications. In Sweitzer BJ, editor. Preoperative assessment and management. 3rd edition. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2019.p. p205-9
33. Clavellina-Gaytan D, Velazquez-Fernandez D, Del-Villar E, et al. Evaluation of spirometric testing as a routine preoperative assessment in patients undergoing bariatric surgery. Obes Surg 2015; 25(3):530-36
34. Ferrari LR. The pediatric patient. In Sweitzer BJ, editor. Preoperative assessment and management. 3rd edition. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2019.p. p571-80

Autor za korespondenciju:

Profesor dr sc med. Snježana Zeba

Klinika za anesteziologiju i intenzivnu terapiju VMA, Beograd, ul. Crnotravska 17,
Medicinski fakultet VMA, Univerzitet Odbrane, Beograd

Tel: +381649134491

E-mail: snjezanazeba@hotmail.com

LEČENJE TRAUMOM INDUKOVANE KOAGULOPATIJE UPOTREBOM ROTEM-A

Goran Rondović^{1,2}, Rade Vuković¹, Sonja Stanković³, Filip Stojanović⁴, Snježana Zeba^{1,2}, Katarina Mladenović^{1,2}, Nataša Petković¹, Marina Vlajić⁵, Stevan Orović¹

¹ Klinika za anesteziologiju i intenzivnu terapiju, Vojnomedicinska akademija, Beograd

² Medicinski fakultet VMA, Univerzitet Odbrane Beograd

³ Opšta bolnica Adonis, Beograd

⁴ Institut za zdravstvenu zaštitu majke i deteta "dr Vukan Čupić", Beograd

⁵ Opšta bolnica Sremska Mitrovica

Sažetak:

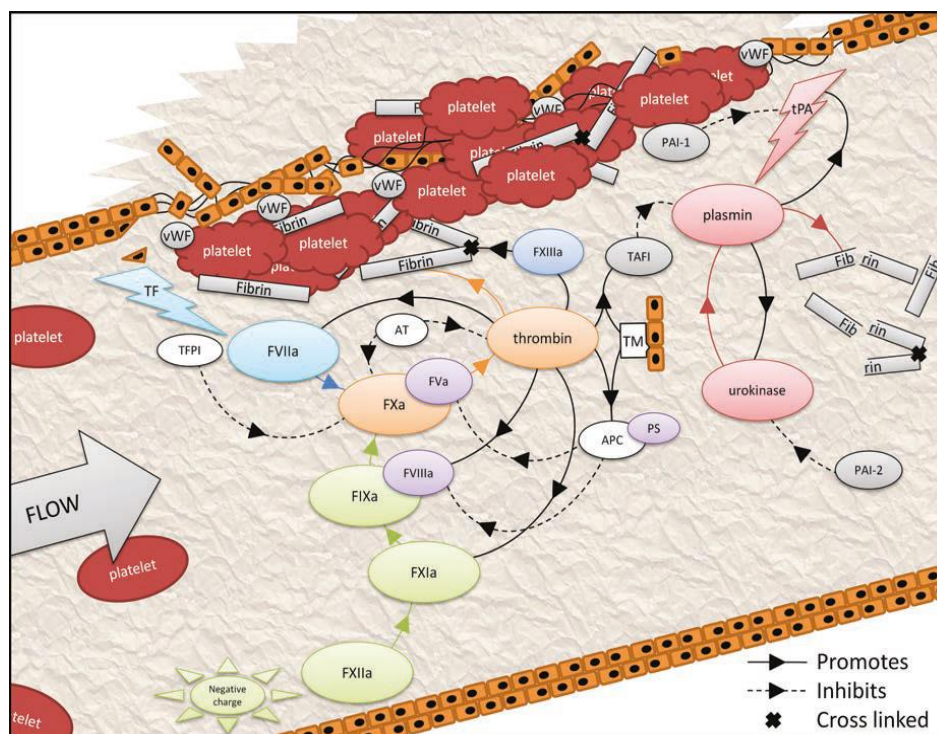
Politrauma predstavlja vodeći uzrok smrti posebno kod ljudi mlađe životne dobi a iskrvarenje je jedan od najdominantnijih uzroka rane smrtnosti kod jedne trećine povređenih pacijenata. Traumom indukovana koagulopatija (TIK) je jedan od vodećih problema akutno traumatizovanih pacijenata i jedan od najznačajnijih preventabilnih uzroka smrti. Traumom indukovana koagulopatija karakteriše se kao endogeni poremećaj hemostaze koji nastaje u prvim nekoliko minuta od povrede, udružen sa oštećenjem tkiva izazvanih teškom traumom i hemoragijskim šokom, a nezavisno od spoljašnjih faktora. TIK je kompleksan multifaktorijalan poremećaj koji je rezultat imunobiohemijskih procesa koji se dešavaju u traumatizovanim tkivima i organima. Poremećaj hemostaze se ogleda u disbalansu između zgrušavanja, antikoagulacije i fibrinolize koji nastaje kao odgovor na povredu tkiva. Adekvatna dijagnostika i brzo otkrivanje poremećaja koagulacije uz adekvatan terapijski protokol je osnov u smanjenju mortaliteta i morbiditeta kod politraumatizovanih pacijenata. ROTEM – rotacijska tromboelastografija jeste oblik brze dijagnostičke metode koja se sprovodi pored samog pacijenta i u najkraćem vremenskom periodu daje rezultate o statusu koagulacije kod traumatizovanog pacijenta. ROTEM je analiza koja se radi iz pune krvi pacijenta i prikazuje rezultate o odnosu trombocita i faktora koagulacije kao i razgradnji već postojećeg ugruška. Analizom dobijenih rezultata može se adekvatno voditi hemostatska reanimacija traumatizovanih pacijenata, postići željeni efekti i smanjiti morbiditet i mortalitet politraumatizovanih pacijenata.

Uvod

Koagulacija predstavlja dinamički proces koji se neprekidno odvija u organizmu, može se ugrubo podeliti na dva odvojena dela, primarnu i sekundarnu koagulaciju.

U primarnoj koagulaciji vodeću ulogu ima endotel krvnih sudova i trombociti koji formiraju nestabilni primarni ugrušak, dok sek-

undarnu koagulaciju karakteriše mehanizam pozitivne povratne sprege kod koje dolazi do aktivacije faktora koagulacije koji svojim krajnjim delovanjem stvaraju kao krajni produkt fibrin koji vrši stabilizaciju primarnog ugruška čime se postiže definitivna koagulacija i prestanak krvarenja (Slika 1).



Slika 1. Mehanizam pozitivne povratne sprege

Sam proces započinjanja koagulacije predstavlja ruptura krvnog zida i izlaženje određenih proteina (Von Willebrandov faktor, kolagen i tkivni tromboplastin) što dovodi do vezivanja trombocita i njihove aktivacije sa posledičnim otpuštanjem aktivacionih granula što dalje dovodi do pokretanja koagulacione kaskade. Pored ovih postoje i drugi mehanizmi koji dovode do aktivacije trombocita i pokretanja koagulacione kaskade, a to su cirkulišuća antitela, zatim određeni lekovi, proteini koji se oslobađaju iz traumatizovanog tkiva itd1.

Mortalitet kod traumatizovanih pacijenata predstavlja globalni problem usled povećanja traumatizovanih pacijenata svake godine. Nove smernice sada potenciraju „agresivnu“ upotrebu sveže smrznute plazme ili drugih komponenata krvi u kombinaciji sa transfuzijom krvi u odnosu na infuziju kristaloidima ili koloidima, što je poznatije kao „hemostatska reanimacija“. Cilj ove strategije je da spreči nastanak TIK-a kod teško

traumatizovanih pacijenata i da poveća stopa preživljavanja. 2.

Klasifikovanje koagulopatije u traumi zavisi od vremena nastanka i etiologije. Opisane su tri privremeno različite faze.

Prva faza predstavlja aktivaciju različitih koagulacionih puteva, uključujući i fibrinolitički put, koji je u vezi sa šokom i povredom tkiva. Zatim u drugoj fazi dolazi do pojave dilucione koagulopatije koja nastaje jatrogenim delovanjem i nadoknadom cirkulišućeg dela krvi i delovanjem akutno nastale acidoze i zatim dolazi do treće faze koje se odlikuje protrombičkim stanjem usled reanimacije.

Koagulopatija indukovana traumom

Koagulopatija indukovana traumom nastaje usled više različitih uzroka:

A) Potrošnja:

Koagulacioni faktori i trombociti se troše tokom pokušaja da se formira

tromb i spreči gubitak krvi kroz oštećene kapilare

B) Dilucija:

Nastaje kao posledica zamene krvi i krvnih komponenata kristaloidima i koloidima, i proporcionalna je količini datih supstituenta 3..

A) Hormonalne i citokinski indukovane promene:

Usled oštećenja tkiva dolazi do porasta stres hormona (adrenalin, noradrenalin, ADH itd.) i pojačanog stvaranja citokina. U prvoj fazi dolazi do pojačanog delovanja vazopresina koji ima za posledicu pojačanu ekspresiju Von Willebrandovog faktora i samim tim aktivaciju trombocita. Takođe vazopresin deluje na oslobađanje Weibel Palade tela, koji imaju ulogu u ekspresiji P selektina i aktivaciji tkivnog aktivatora plazminogena. Citokini koji se izlučuju u kasnijoj fazi dovode do aktivacije trombomodulina i samim tim dovode do inaktivacije trombina4..

B) Hipoksija, acidoza i hipotermija:

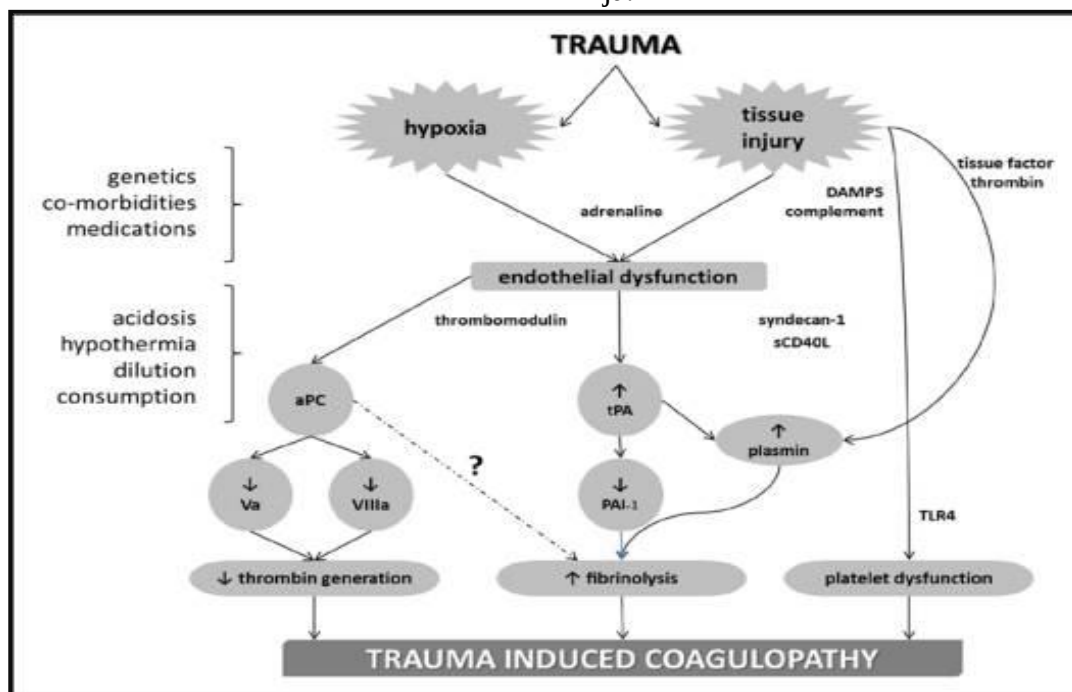
Ovakva trijada predisponira dalje krvarenje. Hipotermija i acidoza smanjuju aktivnost trombocita i koagulacionih faktora. Koagulopatija je naročito ispoljena kada pH vrednost padne ispod 7.1 i telesna temperatura padne ispod 33° Celzijusa.

A) Krvarenje:

Anemija ima značajan uticaj na hemostazu, usled poremećaja protoka krvi i sniženog hematokrita dolazi do pomeranja krvnih elemenata iz središnjeg dela krvne struje ka periferiji kapilara, usled čega dolazi do povećane interakcije između trombocita i endotela krvnog suda 5..

B) Fibrinoliza:

Usled aktivacije tkivnog plazimogena putem hormonalne i citokinske indukcije dolazi do povećane fibrinolize i porasta D-dimera. Povećani D-dimer predstavlja loš prognostički parametar za razvitak traumom indukovane koagulopatije 6.. Na slici 2 šematski je prikazana traumom indukovana koagulopatija.



Slika 2. Šematski prikaz traumom indukovana koagulopatija

DIJAGNOZA I TESTOVI

Standardizovane metode merenja koagulacije kao što su broj trombocita, zatim protrombinsko vreme (PT), parcijalno aktivirano trombotoplastinsko vreme (aPTT) i druge metode nisu adekvatni pokazatelj nastanka traumom indukovane koagulopatije iz više razloga.

Ove metode su uspostavljene radi praćenja i merenja aktivnosti vitamin K zavisnih faktora pod dejstvom lekova antagonista vitamina K i faktora IX koji se ispituju iz serumu, tako da ne dobijamo pravu sliku koagulacionog statusa, jer nemamo adekvatne odnose koagulacionih faktora sa trombocitima, kao i razgradnje. Za njihovo ispitivanje je potrebno vreme od uzorkovanja krvi do dobijanja rezultata, a ne mogu se odrediti vrednosti i aktivnost fibrinogena kao krajnjeg produkta hemostaze.

ROTEM (rotacijska tromboelastografija) kao metoda koja se sprovodi neposredno

pored pacijenta daje rezultate već posle 10-15 minuta i pokazuje adekvatnu terapiju koju je potrebno primeniti da bi se sprečio nastanak TIK-a kod politraumatizovanih pacijenata. 7.

ROTEM se sastoji iz nekoliko testova koji se izvode iz pune krvi (EXTEM, INTEM, FIBTEM, APTEM, HEPTM) koji imaju za cilj da pokažu kako se odvija koagulacija od samog započinjanja koagulacije do razgradnje ugruška.

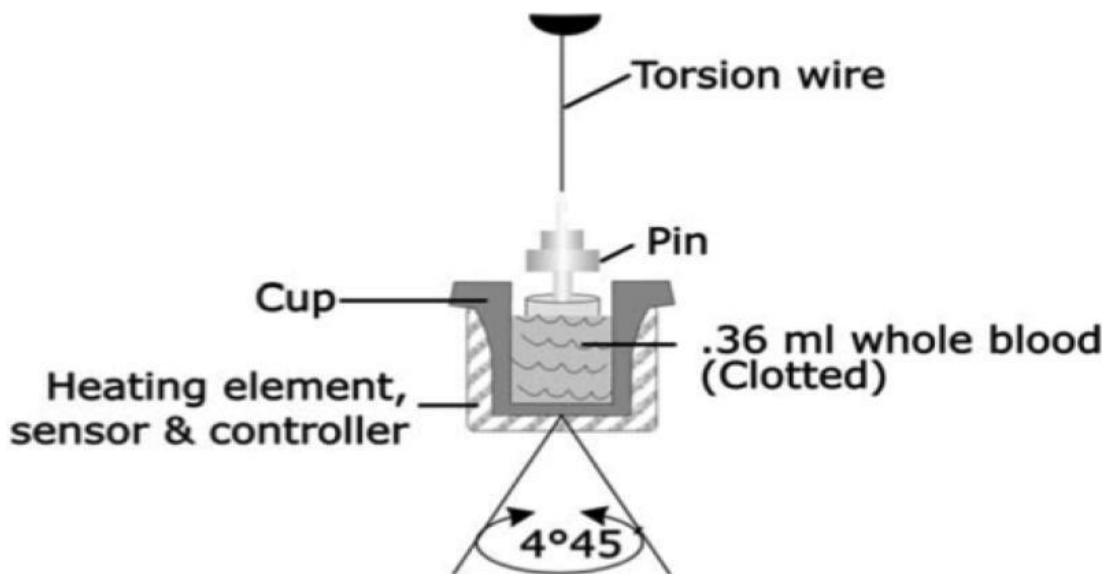
Svaki test koji se izvodi ima standardizovane mere i vrednosti za mere koje se izvode koje se u osnovi mogu podeliti na tri dela.

Vrednosti koji predstavljaju inicijaciju koagulacije CT, CFT i α ugao.

Vrednosti koje predstavljaju fazu propagacije koagulacije A5, A10 i MCF.

Vrednosti koje predstavljaju fazu razgradnje ugruška Ly 30 i Ly60.

Na slici 3 je prikazan mehanizam funkcionisanja ROTEM-a.



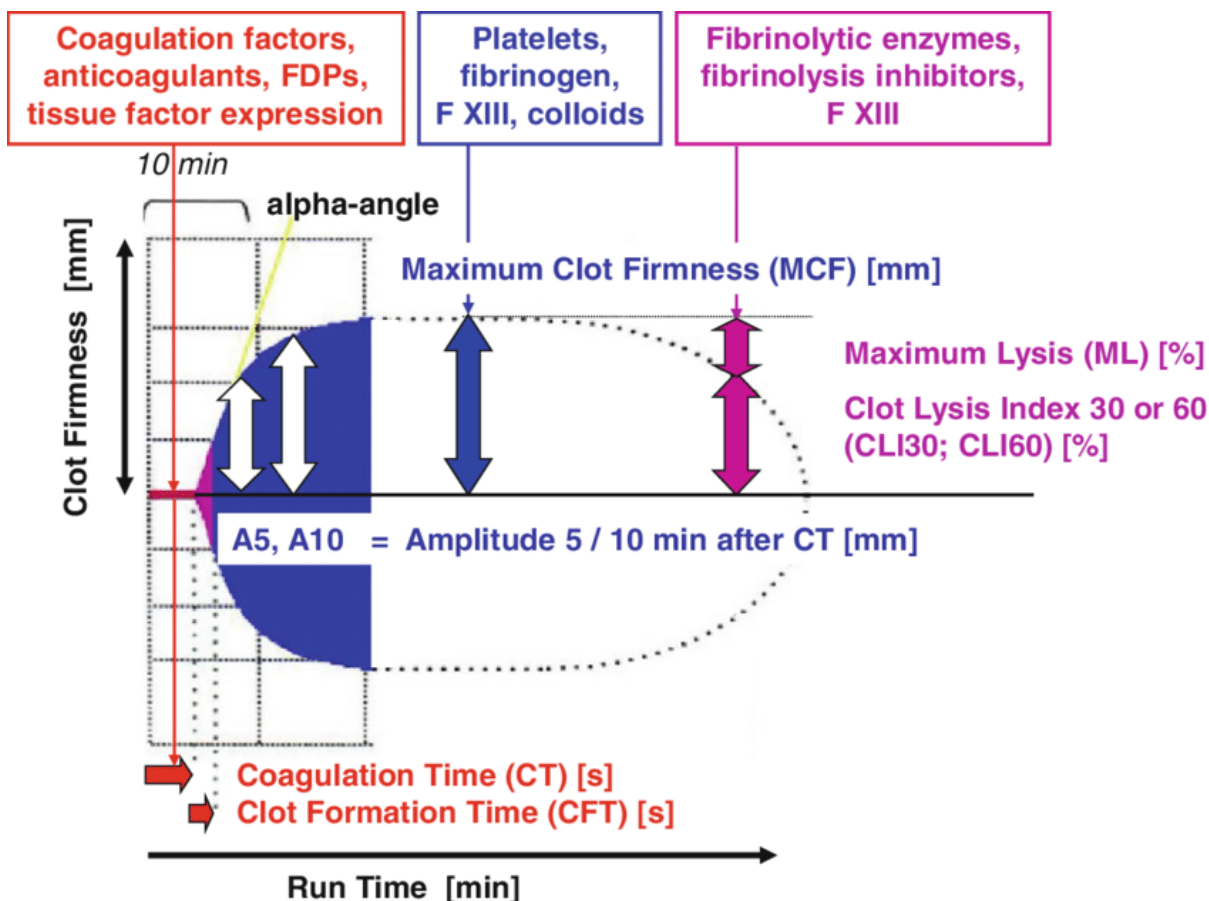
Slika 3. Mehanizam funkcionisanja ROTEM-a.

Na ovaj način stiče se utisak o hemostazi već za 10-45 minuta. Sam ROTEM se ne može koristiti kod pacijenata koji aktivno krvare, međutim kod pacijenata kod kojih je došlo do hirurškog rešavanja krvarenja, upotreba ROTEM-a ima adekvatan dijgnostički i terapijski značaj kod politraumatizovanih pacijenata, kao i kod pacijenata kod kojih je potrebno primeniti protokol za masivnu transfuziju 8..

TESTOVI KOD ROTEM-a:

I. EXTEM-predstavlja pokazatelje spojašnjeg puta koagulacije

- II INTEM - predstavlja pokazatelje utrašnjeg puta koagulacije
- III FIBTEM - predstavlja pokazatelje aktivnosti fibrinogena, kod ovog testa je dodata supstanca koja odmah ihibiše trombocite
- IV APTEM - predstavlja kontrolni test kod koga je već dodata traneksamična kiselina čime se sprečava razgradnja ugruška (kontrolni test za EXTEM)
- I. HAPTEM - predstavlja kontrolni test kod koga je već dodata heparinaza čime se sprečava delovanje heparina, i vrši adekvatna reverzija heparina (kontrolni test za INTEM)



Slika 4. Šematski prikaz procene koagulacije ROTEM-om.

HEMOSTATSKA REANIMACIJA KOD KOAGULOPATIJE IZAZVANE TRAUMOM

Cilj hemostatske reanimacije je da spreči dalje krvarenje, poboljša perfuziju tkiva i organa, spreči nastanak komplikacija i na kraju da poveća preživljavanje i smanji morbiditet.

1) Limitacija upotrebe koloida i kristaloida:

Produženje protrombinskog vremena je u direktnoj vezi sa administracijom većih količina kristaloida³ i koloida⁸. Protrombinsko vreme je bilo povećano u 40% slučajeva kod pacijenata kod kojih je ordinirano 2L tečnosti, a čak u 70 % slučajeva kod kojih je ordinirano 4L tečnosti u toku prehospitalnog zbrinjavanja.

2) Transfuzija krvi:

Transfuzija krvi tokom reanimacije traumatizovanih pacijenata predstavlja najbitniju komponentu tokom reanimacije. Povećanjem hematokrita i vrednosti hemoglobina povećava se perfuzija tkiva, smanjuje acidoza. Tokom reanimacije ciljane vrednost hemoglobina je između 7-9 g/dl

3) Sveže smrznuta plazma:

Zvanični protokoli navode administraciju sveže smrznute plazme u odnosu na transfuziju krvi u odnosu 1:1, međutim upotrebom viskoelastograma dolazi do značajno manje administracije plazme u odnosu na standardizovane testove koagulacije.

4) Trombociti:

Prema zvaničnim protokolima količina datih trombocita je u odnosu na transfuziju krvi 1:1, međutim upotrebom viskoelastograma može se adekvatno voditi reanimacija i smanjiti potreba za većim količinama trombocita.

5) Protrombinski kompleks: Protrombinski kompleks predstavlja ko-mpleks 3 ili 4

vitamin K zavisnih faktora koagulacije. Prvenstveno je izmišljen kao lek za hemofiliju A. Upotreba Protrombinskog kompleksa kod traumom indukovane koagulopatije je ispitivana samo u dve studije i njegova upotrebna vrednost nije još uvek značajno dokazana.^{9,10}

6) Traneksamična kiselina

SRASH-2 studija je dokazala upotrebnu vrednost traneksamične kiseline, usled inhibicije fibrinolize i stabilizacije već postojećeg tromba pogotovo ako se da u prvih 3 sata od povređivanja.^{11,12}

ROTEM U TIK-u

Pre standardizovane upotrebe ROTEM-a ili tromboelastograma jedini način da se uspostavi dijagnoza TIK-a je bila uz pomoć standardizovanih testova koje su u osnovi razvijene za detekciju hemofilije ili monitoring antikoagulantne terapije.

Viskoelastogrami su prvi put korišćeni kod traumatizovanih pacijenata 1990. godine ali je bilo potrebno još skoro jedna decenija da se krene u ozbiljnu analizu i upotrebu ovih testova kod politraumatizovanih pacijenata. Najveći klinički značaj koji imaju viskoelastogrami jeste vođenje adekvatne terapije i preporuka za protokol za masivnu transfuziju (MTP). Do skoro su protokoli za masivnu transfuziju bili standardizovani 1:1:1 odnosno jedna doza krvi, jedna doza sveže smrznute plazme i jedna doza trombocita.

Tapia, Mattox i saradnici³ objavili su studiju u kojoj su upoređivali 124 pacijenta sa politraumom (različiti mehanizmi i skorovi), u kojoj su koristili viskoelastični protokol za masivnu transfuziju i standardizovani protokol 1:1:1. U zavisnosti od povreda i trauma skora došli su do zaključka da standardizovani protokol nije adekvatan za sve pacijente, pogotovo za pacijente sa povredama glave.

U randomizovanoj kliničkoj studiji u kojoj su MTP bili vođeni viskoelastičnim testovima u usporedbi sa MTP vođeni standardizovanim koagulacionim testovima (INR, APTT, broj trombocita, fibrinogen, D-dimer). Ukupno 111 pacijenata je uključeno u studiju sa medijanom skora od 30, a 27% pacijenata je imalo penetrantnu povredu. Preživljavanje u grupi MTP vođenog viskoelastogramima je bilo značajnije nego kod konvencionalnog MTP (mortalitet kod TEG MTP-a je bio 19%, a kod standardizovanog MTP-a 36%). Razlika u mortalitetu se ogleda u manjem broju hemoragičnih smrtnih slučajeva kod TEG MTP-a. Više sveže smrznute plazme i trombocita je dato kod standardizovane grupe u prvih 2 sata po prijemu, dok je više krioprecipitata ukupno dato bez vremenskog okvira kod standardizovane grupe. Nema razlike u vremenu i količini datih kristaloida i doza krvi između grupa. Ovi nalazi ukazuju da se TEG MTP-om postiže bolje vođena hemostaza nego klasičnim testovima⁴. Takođe pacijenti u TEG grupi su imali više dana bez mehaničke ventilacije i manje dana provedenih u intenzivnoj nezi, što može ukazivati na adekvatnu administraciju krvi i krvnih produkata.

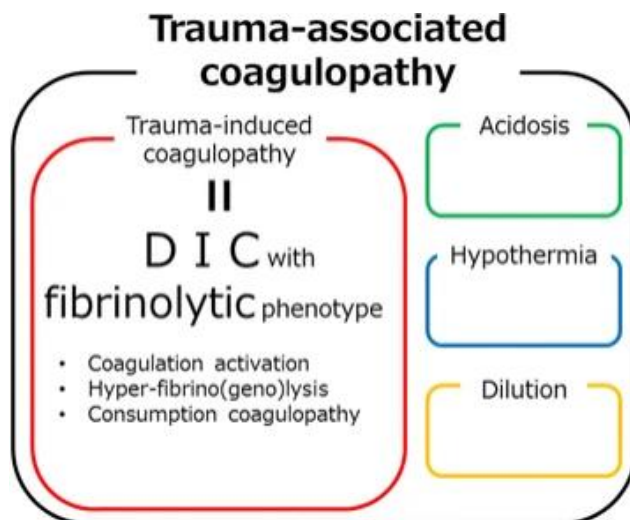
Viskoelastogrami su takođe omogućili razlikovanje fenotipa TIK-a i patofiziologije samog TIK-a u zavisnosti od komorbiditeta pacijenata i mehanizma povrede. Na osnovu analize dominantnih uzorka koji dovode do TIK-a i varijabilnosti nalaza u viskoelastogramima kod politraumatizovanih. Dva glavna faktora koji dovode do nastanka TIK-a su deplecija trombocita i fibrinogena i hiperfibrinoliza.

Kutcher and Cohen et al iz San Franciska su sprovedi sličnu studiju primenjujući podelu

na osnovu patofiziologije nastanka TIK-a. Ovi autori su prijavili dve principalne grupe, prva je usled globalne deplecije faktora koagulacije i druga usled preterane aktivacije Proteina C i hiperfibrinolize. Ovi podaci ukazuju da politraumatizovani pacijenti imaju različiti patofiziološki mehanizam nastanka TIK-a i da je potrebno individualno sagledavanje svakog pacijenta.

Kliničke studije kod pacijenata sa izraženijim hemoragičnim sindromom usled TIK-a su pokazale da je dominantniji faktor fibrinoliza nego deplecija faktora koagulacije.^{13,14} Adekvatno i pravovremena administracija antifibrinolitičkih sredstava predstavlja adekvatan i pouzdan metod za smanjenje smrtnosti kod politraumatizovanih pacijenata.

CRASH-2 studija je pokazala 1.5% benefit kada se antifibrinolitičko sredstvo daje empirijski svim pacijentima. Iako postoje određene sumnje u ovu studiju zbog toga što je traneksamična kiselina davana svim pacijentima bez ikakvih koagulacionih testova koje bi pokazale da li postoji koagulopatija i fibrinoliza koje bi dokazale efekat traneksamične kiseline. Viskoelastogrami su i dalje jedini klinički testovi koji mogu dokazati hiperfibrinolizu koja je udružena sa povećanim mortalitetom i potrebom za MTP. Iako i dalje postoje empirijski stavovi da je potrebno dati traneksamičnu kiselinu svima po dolasku, ipak individualizacije je potrebna i kod primene antifibrinolitičkih sredstava. Prema određenim studijama potreba sa traneksamičnom kiselinom je samo kod onih pacijenata kod kojih je $Ly30 > 3-5\%$ od standardizovanih vrednosti. Na slici 5 prikazana je koagulopatija udružena sa traumom.



Slika 5. Koagulopatija udružena sa traumom

OGRANIČENJA VISKOELASTOGRAMA

Razumevanje viskoelastograma je od značaja radi adekvatne kliničke i terapijske primene. Ovi testovi ne pokazuje interakciju koja se odigrava između tečne faze koagulacije i endotela krvnih sudova, ova interakcija je evidentno prisutna kod pacijenata sa koagulopatijom. Zatim, inhibicija trombocita ili njihova disfunkcija se ne može detektovati preko standardizovanih testova, osim ako se ne koristi specijalizovani testovi. Treće analiza samog nalaza je veoma zavisna od interpretacije lekara, kao i od načina skupljanja uzorka i samog rada, čime se značajno povećavaju mogućnosti za neadekvatnu analizu dobijenih rezultata 15.

Zaključak

Viskoelastični testovi koagulacije bolje prezentuju TIK i omogućavaju kliničarima podatke koje su kritične u donošenju odluka. Najveća upotrebnost vrednosti viskoelastičnih testova kod traumatizovanih pacijenata je

adekvatna primena krvi i krvnih derivata kod protokola za masivnu transfuziju.

Literatura:

1. Guyton-and-Hall-Textbook-of-Medical-Physiology-12th-Ed.
2. Spinella PC, Holcomb JB. Resuscitation and transfusion principles for traumatic hemorrhagic shock. Blood Rev 2009; 23:231–40.
3. Maegele M, Lefering R, Yucel N, Tjardes T, Rixen D, Paffrath T, et al. Early coagulopathy in multiple injury: an analysis from the German Trauma Registry on 8724 patients. Injury 2007;38:298–304.
4. Johansson PI, Sorensen AM, Perner A, Welling KL, Wanscher M, Larsen CF, et al. Disseminated intravascular coagulation or acute coagulopathy of trauma shock early after trauma? A prospective observational study. Crit Care 2011;15:R272.
5. Valeri CR, Khuri S, Ragno G. Nonsurgical bleeding diathesis in anemic thrombocytopenic patients: role of temperature, red blood cells, platelets, and plasma-

- clotting proteins. *Transfusion* 2007;47: S 206–48.
6. Sawamura A, Hayakawa M, Gando S, Kubota N, Sugano M, Wada T, et al. Disseminated intravascular coagulation with a fibrinolytic phenotype at an early phase of trauma predicts mortality. *Thromb Res* 2009;124:608–13.
 7. Levrat A, Gros A, Rugeri L, Floccard B, Negrier C, David J-S. Evaluation of rotation thrombelastography for the diagnosis of hyperfibrinolysis in trauma patients. *Br J Anaesth* 2008;100:792–7.
 8. Fenger-Eriksen C, Tønnesen E, Ingerslev J, Sørensen B. Mechanisms of hydroxyethyl starch-induced dilutional coagulopathy. *J Thromb Haemost* 2009;7: 1099–105.
 9. Schöchl H, Nienaber U, Maegele M, Hochleitner G, Primavesi G, Steitz B, et al. Transfusion in trauma: thromboelastometry-guided coagulation factor concentrate-based therapy versus standard fresh frozen plasma-based therapy. *Crit Care* 2011;15:R83.
 10. Nienaber U, Innerhofer P, Westermann I, Schöchl H, Attal R, Breitkopf R, et al. The impact of fresh frozen plasma vs. coagulation factor concentrates on morbidity and mortality in trauma-associated haemorrhage and massive transfusion. *Injury* 2011;42:697–701.
 11. CRASH-2 trial collaborators. Effects of tranexamic acid on death, vascular occlusive events, and blood transfusion in trauma patients with significant haemorrhage (CRASH-2): A randomised, placebo-controlled trial. *Lancet* 2010;376:23–32.
 12. CRASH-2 collaborators. The importance of early treatment with tranexamic acid in bleeding trauma patients: an exploratory analysis of the CRASH-2 randomised controlled trial. *Lancet* 2011;377:1096–101.
 13. Schochl H, Frietsch T, Pavelka M, Jambor C. Hyperfibrinolysis after major trauma: differential diagnosis of lysis patterns and prognostic value of thrombelastometry. *The Journal of trauma*. 2009;67(1):125–13
 14. Kashuk JL, Moore EE, Sawyer M, et al. Primary fibrinolysis is integral in the pathogenesis of the acute coagulopathy of trauma. *Annals of surgery*. 2010;252(3):434–442. discussion 443-434
 15. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4214916/>

Autor za korespondenciju:

Dr Goran Rondović,

Klinika za anesteziologiju i intenzivnu terapiju VMA, Beograd, ul. Crnotravska 17.

Tel: +381642373399,

E-mail: grondovic@gmail.com



PERIOPERATIVNA TERAPIJA BOLA KOD PACIJENATA ZAVISNIH OD OPIOIDA

Katarina Mladenović^{1,2}, Goran Rondović^{1,2}, Snježana Zeba^{1,2}

¹ Klinika za anesteziologiju i intenzivnu terapiju, Vojnomedicinska akademija, Beograd

² Medicinski fakultet VMA, Univerzitet Odbrane, Beograd

Sažetak

Pacijenti kojima je potrebna terapija akutnog bola, pa i postoperativnog akutnog bola, mogu biti zavisni od opioida, bilo kao rezultat terapijske upotrebe, uključujući i one koji su u programu odvikavanja od opioida, bilo kao rezultat zloupotrebe opioida. Kod ovih pacijenata bol je često potcenjen i neadekvatno tretiran. Kod adikcije, ponašanje neprestanog traženja leka, razlikuje ovaj pojam od jednostavne zavisnosti. Zbog malog broja randomizovanih studija, današnji vodiči prvenstveno se zasnivaju na prikazima slučajeva, restrospektivnim studijama i mišljenju eksperata. Opioidno zavisni pacijenti zahtevaju brzu i temeljnu procenu kliničkog stanja, kao i unapred pripremljenu strategiju postupanja u perioperativnom periodu. Velika većina njih je razvila toleranciju na opioidne analgetike, što podrazumeva povećanje ukupne doze opioida u odnosu na opioidno naivne pacijente. Takođe, hirurškom metodom, pacijent se može rešiti bola, te je u tom slučaju, neophodno postepeno smanjivanje doze opioida, uz postepenu titraciju. Dogovorene preporuke uključuju redovno isporučivanje predhodne doze opioida, uz dodatnu analgeziju, po mogućstvu multimodalnu, u odgovarajućoj kombinaciji kratkodelujućeg opioida, lokalne anestezije i adjuvantnih antiinflamatornih lekova. Pacijentom kontrolisana analgezija sa visokim bolus dozama opioida i kratkim lock-out intervalima, predstavlja preporučenu strategiju. Transdermalni opioidni flasteri i ugradne pumpe nastavljaju da isporučuju opioid, na šta se može dodati neopiod ili kratko delujući opioid.

Ključne reči: zavisnost, tolerancija, opioidi, adikcija, bol

Uvod

Bol je „neprijatno senzorno i emocionalno iskustvo udruženo sa aktuelnim ili potencijalnim oštećenjem tkiva ili opisano u smislu takvog oštećenja.“¹ U uslovima neadekvatne kontrole bola, takvi pacijentni pate nepotrebno. Osim toga mogu da razviju emocionalni i kognitivni odgovor koji negativno utiče na ponašanje, rehabilitaciju i

kvalitet života. Omogućavanje brzog i efektnog otklanjanja bola ostaje i nadalje humanitarno pitanje, dok dopuštanje da pacijent nadalje pati kao posledica neadekvatne kontrole bola, predstavlja kršenje fundamentalnih ljudskih prava.²⁻⁴

Poslednjih godina postoji приметна promena u stavu koja se tiče korišćenja opioida za

maligni i nemaligni hronični bol. Lekari propisuju opioide velikom broju pacijenata u skladu s njihovim potrebama.³⁻⁷ Postoji veliki broj opiodnih analgetika i sistema isporuke. Međutim, zajedno sa poboljšanom kontrolom bola i kvalitetom života, sve veći broj pacijenata se susreće sa problemom tolerancije na opioide i zavisnosti. Samo je mali broj objavljenih radova obradio terapiju akutnog bola kod pacijenata sa bolestima zavisnosti,³⁻⁵ a još manji broj je fokusiran specifično na perioperativnu terapiju bola kod opiodno-zavisnih pacijenata.^{6,7} Mnogi pacijenti koji podležu hirurškoj intervenciji i anesteziji mogu biti opiodno zavisni, ili su, u najmanju ruku, bar umereno tolerantni na opioide.⁵⁻⁷ Uzroci za razvitak zavisnosti ne podrazumevaju samo zloupotrebu korišćenja opioda, već i zakonsko propisivanje opioda.

Opiodno zavisni pacijenti, često imaju oštećenje organa, HIV infekciju, tuberkulozu, hepatitis, udružene psihološke poremećaje i specifičnu adaptaciju na lek, poput tolerancije, fizičke zavisnosti i sindroma naglog prekidanja uzimanja opioda.⁵⁻¹² Da bi se osmislila adekvatna perioperativna strategija terapije bola kod ove grupe pacijenata, moraju se najpre definisati neki pojmovi: (1) definicija zloupotrebe supstanci, fizička u odnosu na psihičku zavisnost i razvitak tolerancije; (2) klinička potvrda opiodne zavisnosti; (3) problemi preoperativne procene; (4) problemi postoperativne terapije bola. Maladaptivni obrazac korišćenja supstanci, koji vodi do klinički značajnog poremećaja ili distresa, manifestuje se putem tri, ili više od sledećih stavki i pojavljuje se bilo kada u dvanaestomesečnom periodu.

Kriterijumi zavisnosti od supstanci¹³

1) Tolerancija se definiše kao sledeće:

- a) Potreba za značajno većom količinom supstance da bi se postigao efekat intoksikacije ili željeni efekat
- b) Značajno smanjen efekat sa kontinuiranom upotrebom iste količine supstance

2) Apstinencijalna kriza se manifestuje jednim od sledećeg:

- a) Karakteristični apstinencijalni sindrom (odnosi se na A i B kriterijume za apstinenciju od specifičnih supstanci, niže navedeni)
- b) Ista (ili približno ista) supstanca se koristi da bi se izbegli ili ublažili simptomi apstinencije

3) Supstanca se koristi u većoj količini ili češće nego što je bilo nameravano

4) Postoji stalna želja ili neuspešni pokušaji da se smanji ili kontroliše upotreba supstance

5) Troši se velika količina vremena u aktivnosti vezane za nabavku supstance, njeno korišćenje, ili oporavak od njenih efekata

6) Važne socijalne, profesionalne ili rekreativne aktivnosti su napuštene ili redukovane zbog upotrebe supstance

7) Nastavlja se uzimanjem supstance uprkos tome što se imaju stalni ili povremeni fizički ili psihološki problemi koji su prouzrokovani supstancom

Kod fizičke zavisnosti: dokaz o telaranciji ili apstinenciji (stavka 1 ili 2 je prisutna)

Bez fizičke zavisnosti : nema dokaza tolerancije ili apstinencije (nisu prisutne stavke 1 ili 2)

Kriterijumi za opiodnu apstinenciju:

A. Bilo šta od sledećeg:

- 1) Prekid ili smanjenje upotrebe opioda koji su uziani u velikoj količini ili u dugom periodu
- 2) Primena opiodnog antagoniste posle perioda upotrebe opioda

B. Tri ili više od dole navedenih simptoma, koji se razvijaju u munutima ili danima nakon kriterijuma A:

- 1) Disforija
- 2) Mučnina il/ili povraćanje
- 3) Bolovi u mišićima
- 4) Lakrimacija ili rinoreja
- 5) Dilatacija pupila, piloerekcija ili preznojavanje
- 6) Dijareja
- 7) Zevanje
- 8) Groznica
- 9) Nesanica

Osnovni aspekti zloupotrebe supstanci

Kriterijumi i definicije

Zloupotreba supstanci se definiše prema kliničkim manifestacijama psihičke sa fizičkom zavisnošću ili tolerancije ili oba. Specifične definicije se mogu naći u tabeli 1^{12,13,14}. Neki termini i njihove precizne granice nisu uvek jasni, što se naročito odnosi na pojmove kao što su *navika*, *zavisnost*, *zloupotreba*, i *zloupotreba supstanci*. Ovi termini su se razvijali vremenom, u raznovrsnim istorijskim i sociokulturnim sredinama.^{12,13,15}

Fizička zavisnost

Pojam fizičke zavisnosti znači promenu u fiziološkom odgovoru kao posledica vezivanja opioda za receptor i njegove posledične aktivnosti.^{15,16} Nagli prekid oralne ili parenteralne upotrebe opioda dovodi do apstinencijalne krize ili apstinencijalnog sindroma. Ovaj sindrom se karakteriše povećanim simpatičkim i parasimpatičkim odgovorima, preko mienteričkog plexusa, hipotalamičkih i jedra moždanog stabla. Sve navedeno dovodi do hipertenzije, tahikardije, dijaforeze, abdominalnih grčeva i prolića, kao i fizioloških odgovora poput drhtanja („drhtanje mokrog psa“), zevanja i šutiranja nogama.¹⁵⁻¹⁸ Opioidno zavisni pacijenti koriste termin „hladna ćurka“, da bi

opisali pojavu hladne, blede, „gušćje“ kože, što se sve dešava kod naglog isključivanja opioda.^{14,16} Ovi simptomi su životno ugrožavajući. Trajanje apstinencijalne krize je različito, u zavisnosti od vrste opioda.

Tolerancija na opioide

Tolerancija na opioide je predvidiva farmakološka adaptacija. Kontinuirana upotreba opioda dovodi do pomeranja dozno-zavisne krive udesno, tako da je pacijentima potrebna veća doza leka da bi se održao isti farmakološki efekat. Fenomen tolerancije se odnosi na analgetski, euforički, sedativni, respiratorno depresivni, kao i efekat mučnine opioda, ali ne i na efekat mioze i motiliteta creva (opstipacije).

Verovatno najvažniji oblik tolerancije vezane za opioide je *farmakodinamska tolerancija*. Odnosi se na neuroadaptivne promene koje se dešavaju nakon dugotrajne izloženosti leku. Ovo podrazumava promene u gustini receptora i u vezivanju receptora za G protein, kao i na signalne puteve prenošenja.^{16,19,21} Ovi mehanizmi nastaju na dva nivoa. Prvi se dešava na nivou opioidnih receptora i uključuje desenzitizaciju receptora kod dugotrajnog izlaganja opioidima.²² Opioidni receptori na ćelijskoj površini bivaju postepeno desenzitivisani različitim mehanizmima kao što su: (1) smanjena transkripcija i posledično smanjenje apsolutnog broja receptora na ćelijskoj površini (nishodna regulacija); (2) smanjenje broja receptora na ćelijskoj površini putem aktivne end-ocitoze; (3) premeštanje receptora sa površine u unutrašnjost ćelije (internalizacija); (4) odvajanje opioidnog receptora od G proteina.^{16,20,22}

Drugi mehanizam farmakodinamske tolerancije podrazumeva ushodnu regulaciju cikličnog adenozin monofosfata (cAMP). Akutno, opijati inhibiraju funkcionalnu aktivnost cAMP, putem blokiranja adenil ciklaze, enzima koji katalizuje sintezu cAMP-a. Međutim,

nakon dugotrajne izloženosti opioidima, cAMP putevi se postepeno oporavljaju i razvija se tolerancija. Povećanje sinteze cAMP-a, smatra se odgovornim za stvaranje fizičke zavisnosti i simptoma apstinencijalne krize. U tom smislu, nakon naglog prestanka vezivanja opioida, dolazi do skoka cAMP-a, iznad osnovne linije. Ushodna regulacija cAMP-a,

najviše je izražena u *locus ceruleus* mozga, ali se ushodna regulacija na nivou kičmene moždine zapravo smatra opioidima indukovanu toleranciju. Druge oblasti u koj-ima se dešava ushodna regulacija cAMP-a su nucleus accumbens, ventralno tegmentno područje, peria-kveduktna siva masa, amygdala, dorzalni rogo-ovi kičmene moždine i mienterički crevni plexus.

Tabela 1.

Zloupotreba supstanci : Važne definicije¹²

Termin	Definicija
Adikcija	Uobičajen termin za aberantno korišćenje psihoaktivne substance, na način koji podrazumeva gubitak kontrole, kompulzivno uzimanje, preokupaciju ili kontinuirano uzimanje uprkos štetnom dejstvu; pežo-rativan termin, zamenjen terminom <i>poremećaj korišćenja supstanci</i> sa fizičkom i psihičkom zavisnošću
Zavisnost	1. Psihološka zavisnost : potreba za specifičnom psihoaktivnom supstancom ili zbog njenog pozitivnog efekta, ili da bi se izbegli negativni psihološki ili fizički efekti vezani za apstinenciju 2. Fizička zavisnost: Fiziološko stanje adaptacije na specifičnu psihoaktivnu supstancu koje se odlikuje pojavom apstinencijalnih simptoma koji se otklanjaju ponovnom primenom supstance
Hemijska zavisnost	Generički termin koji se odnosi na psihološku i/ili fizičku zavisnost od jedne ili više psihoaktivnih supstanci
Poremećaj korišćenja supstanci	Obuhvata dve grupe: 1. Zavisnost od supstanci ili zloupotrebu supstanci 2. Poremećaje uzrokovane supstancom (intoksikacija, apstinencijalna kriza, delirijum, psihotički poremećaji)
Tolerancija	Stanje u kome je neophodno povećanje doze psihoaktivne supstance da bi se postigao željeni efekat; unakrsna tolerancija: izazvana je ponovljenom primenom jedne psihoaktivne supstance što se odražava na drugu supstancu kojoj individua do sada nije bila izložena
Sindrom apstinencijalne krize	Početak predvidivih simptoma i znakova nakon naglog prekidanja ili smanjenja doze psihoaktivne supstance
Zavisnost od više lekova	Istovremeno uzimanje dve ili više psihoaktivnih supstanci u količini i učestalosti koja kod individue stvara značajan fiziološki psihološki i/ili sociološki distress ili poremećaj
Oporavak	Proces prevazilaženja kako fizičke tako i psihološke zavisnosti od psihoaktivne supstance
Apstinencija	Neuzimanje psihoaktivne supstance
Održavanje	Prevenција potrebe za lekom ili apstinencijalnih simptoma putem uzimanja dugodelujućih opioida (metadin, buprenorfin)
Zloupotreba supstanci	Upotreba psihoaktivnih supstanci na način koji se kosi sa sociokulturnim konvencijama

Procena bola kod opioidno zavisnih pacijenata

Postoji nekoliko opštih principa koji pomažu anesteziologu u perioperativnom vođenju opioidno zavisnih pacijenata. Prvi i najvažniji je otkriti činjenicu da pacijent koristi ili zloupotrebljava opioide; potom, prepoznati probleme vezane za fizičku i psihološku zavisnost i toleranciju na opioide i to koliki uticaj mogu imati na postoperativni tok. Ne može se dovoljno naglasiti važnost rane procene i prepoznavanja, jer, ukoliko se ovaj korak preskoči, oni koji slede postaju manje važni. 5-7, 23

Procena ima za cilj da se napravi jasna diferencija između pacijenata koji zloupotrebljavaju opioide od onih zavisnih individua sa hroničnim bolnim stajima. 15,24,25,26 Važno je otkriti pacijenta koji zloupotrebljava, dok one kojima su opiodi legitimno propisani ne bi trebalo označiti kao zavisnike. Drugim rečima, trebalo bi broj „lažno pozitivnih“ i „lažno negativnih“ sveti na najmanju moguću meru. 26,27 Isto tako, pacijenti koji imaju dobru kontrolu bola, mogu preduzimati ekstremne mere ne bi li održali adekvatno snabdevanje lekom. Iako ovo može biti indikator ponašanja zavisnika, ono u stvari odražava napore ekstremno anksiozne individue da bol održi pod kontrolom i spreči subdoziranje. 25,26,28

Postoji nekoliko opštih principa koji pomažu anesteziologu u perioperativnom vođenju opioidno zavisnih pacijenata. Prvi i najvažniji je otkriti činjenicu da pacijent koristi ili zloupotrebljava opioide; potom, prepoznati probleme vezane za fizičku i psihološku zavisnost i toleranciju na opioide i to koliki uticaj mogu imati na postoperativni tok. Ne može se dovoljno naglasiti važnost rane procene i prepoznavanja, jer, ukoliko se ovaj korak preskoči, oni koji slede postaju manje važni. 5-7, 23

Preoperativni period

Perioperativno postupanje sa pacijentom zavisnim od opioda počinje preoperativnom davanjem njihove dnevne doze održavanja ili osnovne doze opioda pre indukcije u opštu, spinalnu ili regionalnu anesteziju. Pacijentima bi trebalo reći da ujutru, na dan operacije, uzmu svoju uobičajenu dozu oralnog opioda. Budući da većina formulacija sa produženim delovanjem ima trajanje od 12h ili više analgetskog efekta, tokom trajanja operacije ostaje se na toj osnovnoj, jutarnjoj dozi. Kasnije, osnovno doziranje se može obezbediti oralno, naročito nakon ambulantne hirurgije, ili parenteralno, za one koji se oporavljaju u bolnici nakon invazivnih procedura. 5,23,24 Zavisnici koji su uključeni u metadonski program održavanja 29,30,31 ili su na programu održavanja buprenorfinom 32, trebalo bi da lekove uzmu ujutru pre operacije sa gutljajem vode. Anesteziolog ne bi trebalo da se opterećuje ponavljanjem osnovne doze opioda tokom intraoperativnog perioda, jer ovi preparati obično imaju produženu aktivnost. Ukoliko nije kontraindikovano, pacijenti bi, takođe, trebalo da ujutru pre operacije uzmu njihovu dozu inhibitora ciklooksigenaze 2, da bi se smanjio inflamatorni odgovor i da bi se pojačala opiodima izazvana analgezija. 33 Pacijenti kojim je rečeno da ne uzimaju ili koji su zaboravili da uzmu osnovnu dozu opioda, mogu biti tretirani ekvivalentnom dozom morfina ili hidromorfona, koji su preoperativno dati u obliku oralnog preparata (ukoliko vreme dozvoljava) ili intravenski, bilo na uvodu u anesteziju, bilo tokom operacije. Pacijente bi trebalo savetovati da zadrže svoj transdermalni fentanilski flaster za vreme operacije. Ako je preparat sklonjen, trebalo bi uključiti intravensku infuziju fentanila, da bi se održala osnovna plazma koncentracija. Za vreme operacije može da se stavi novi flaster, mada je neo-

phodno 6-12 sati da bi se ponovo uspostavio osnovni analgetski efekat.^{34,35}

Intravenska infuzija opioidima trebalo bi bi da se preoperativno održi, a zatim da se u postoperativnom periodu prevede u pacijentom kontrolisanu analgeziju (PCA).³⁶ Epiduralna i intratekalna opioidna infuzija koja se isporučuje putem ugrađenih sistema, održava se tokom perioperativnog perioda i koristi se kao osnova kontrole bola. Jedini izuzetak od ovog pravila su pacijenti na kontinuiranoj infuziji neopioidnog relaksanta baklofena. Trebalo bi je isključiti, ili smanjiti brzinu infuzije u toku perioperativnog perioda zbog centralnih efekata, kao i zbog relaksacije skeletne muskulature, što sve može da pojača neuromuskularnu blokadu i poveća rizik od hipotenzije i preterane sedacije.³⁷

Intraoperativni i postoperativni period

Pacijenti koji su operisani ambulantno trebalo bi da dobijaju intravenske boluse fentanila i sufentanila. Nakon buđenja, trebalo bi da nastave oralno sa opioidima u dozama većim od njihove osnovne doze opioida, u zavisnosti od invazivnosti procedure.^{23,39} Kod najvećeg broja hirurških intervencija, prekida se davanje oralnih opioida nakon uvida u anesteziju, a doze im se pretvaraju u njihove parenteralne ekvivalente.^{5,7,23,39} Morfin, hidromorfon, fentanil ili metadon trebalo bi da se tokom anestezije koriste izdašno da bi obezbedili intraoperativnu analgeziju i da bi obezbedili efektivnu posthiruršku analgeziju kao dodatak osnovnoj dozi opioida.^{7,41,72} Iako nema preciznih vodiča, smatra se uobičajeno korišćene doze lekova u toku operacije i nakon nje podležu receptorskoj nishodnoj regulaciji, te da njihove doze treba podići za 30-100%, u odnosu na opioidno naivne pacijente. 3, 5, 39 Trebalo bi imati na umu ekvivalentnost

oralnih doza u odnosu na intravenske. Većinu intravenskih i intramuskularnih doza opioida bi trebalo malo smanjiti u odnosu na oralno korišćene doze, zato što parenteralna primena zaobilazi gastrointestinalnu absorpciju i metabolizam prvog prolaza kroz jetru.^{16,38,40,41} Ovo se naročito odnosi na intravenski morfin i hidromorfon, koji imaju dva ili tri puta veću bioraspoloživost i sistemsku potenciju u odnosu na ekvivalentne oralne doze. ^{40,42} Suprotno tome, oksikodon ima veću oralnu bioraspoloživost koja dostiže 83% intravenske doze, tako da se osnovna oralna doza može smatrati gotovo jednakoj intravenskoj dozi morfina (i-1,5mg oralnog oksikodona=1mg morfina, intravenski). ^{67,43,44} Pacijenti koji su na transdermalnom fentanilu ili imaju PCA sa morfinom/hidromorfonom prevode se najjednostavnije, jer imaju osnovnu dozu opioida koja se pretvara u ekvivalentnu dozu intravenskog opioida. ⁴⁰

Bez obzira na velike individualne razlike u potrošnji opioida, intra i postoperativno treba da se prate srčana frekvencija, respiratorna frekvencija, stepen dilatacije pupila. Optimalna intraoperativna doza opioida sprečava subdoziranje i predoziranje, pri čemu su oba povezana sa lošim postoperativnim ishodom. ^{6,7,23,39}

Parenteralna analgezija za postoperativni bol

Zadovoljavajuća postoperativna analgezija efektno se postiže putem parenteralne infuzije opioida ili pomoću PCA. ^{45,46} Primena PCA u neposrednom postoperativnom periodu sprečava subdoziranje i proboj bola. Da bi se predupredila opioidna tolerancija i receptorska nishodna regulacija, trebalo bi razmotriti doze morfina veće nego uobičajeno. Osnovna infuzija bi trebalo da odgovara ili pacijentovoj satnoj oralnoj dozi ili bi trebalo dodati jedan do dva bolusa više na sat, da bi se održala osnovna doza. ⁴⁶

Kod pacijenata kod kojih nije moguće da se obezbedi adekvatna postoperativna analgezija i pored visokih doza morfina ili njegovih sintetskih derivata, trebalo bi razmotriti oralno davanje metadona. Poboljšanje analgezije ovim putem se odnosi na osobinu metadona da aktivira različit spektar subtipova μ receptora, koji još uvek nisu razvili toleranciju na morfin.⁴⁷⁻⁵⁰ Takođe analgetski efekt metadona obezbeđuje dejstvo na α adrenergičke receptore, koji je nezavisan od visokog stepena tolerancije na opioide. Končno, ispostavilo se da d-metadon blokira toleranciju na morfin i opioidima indukovanu hiperalgeziju putem antagonističkog dejstva na NMDA receptore i agonističkog na α -adrenergičke.^{48,49}

Kao dodatak analgeziji, kod ovih pacijenata se koriste i neopiodni analgetici. Adjuvansi se mogu davati, ali nema dovoljno podataka o njihovom efektu kod opioidno zavisnih pacijenata. Preporučeni neopiodni analgetici su neselektivni i selektivni nesteroidni anti-reumatici, koji su specifičniji i efektno minimizuju inflamatorni bol.^{51,52} Primena ketamina u niskoj dozi (0,5 mg/kg), takođe ima svoju primenu kao antagonista NMDA receptora.^{53,54}

Neuroaksijalna analgezija za postoperativni bol

Za razliku od blokade lokalnim anestetikom, na neuroaksijalnu opioidnu analgeziju utiče nishodna regulacija spinalnih opijatnih receptora,^{16,18} tako da se epiduralno i intratekalno doziranje povećava proporcionalno tome.^{18,56,57} U studiji Wong i sar⁵⁸, primećeno je da su pacijenti sa terminalnim tumorom male karlice koji su bili na visokim dozama parenteralnog morfina (5-20 mg svaka dva sata), zahtevali relativno velike doze intratekalnog morfina (1mg na svaka 4 sata), da bi ostvarili dobru kontrolu bola.

Ova doza intratekalnog morfina, iako 2-3 puta viša nego doza koja se koristi kod opioidno naivnih pacijenata, nije imala za posledicu preteranu sedaciju, mučninu/povraćanje ili odloženu respiratornu depresiju.

Doza opioida koja se daje intratekalno samo je mali deo osnovne doze opioida kod opioidno zavisnog pacijenta. Iako pacijenti imaju efektno olakšanje bola, plazma koncentracije i vezivanje za receptore mogu se smanjiti toliko da izazovu apstinencijalnu krizu, ukoliko se ne dodaju opiodi.¹⁹ Iz tog razloga, važno je da se održava osnovna doza opioida, bilo oralno, bilo putem intravenske PCA. Naravno, obavezan je monitoring preterane sedacije i respiratorne depresije kada se daju ovako visoke doze opioida, različitim putevima administracije.

Povećanje koncentracije epiduralno primenjenog opioida može da kompenzuje spinalnu receptorsku nishodnu regulaciju. Osnovnoj epiduralnoj infuziji mogu da se dodaju pacijentom kontrolisani epiduralni bolusi (PCEA). Lokalni anestetici kao što su 0,1% bupivakain, 0,1% levobupivakain ili 0,2% ropivakain, mogu se dodati epiduralnoj infuziji da bi omogućili selektivnu nervnu blokadu i pojačali opioidima izazvanu analgeziju.^{55,57} Trebalo bi dodati dodatne doze parenteralnog, pa i oralnog opioida da bi se dobio supraspinalni efekat i sprečila apstinencijalna kriza. Kod pacijenata koji ne dobijaju ništa per os, za postoperativni bol se koristi epiduralna analgezija, dok se osnovna doza opioida održava putem intravenske PCA, intravenskim bolusima opioida, ili u jednom gutljaju progutanim metadonom.

Regionalna analgezija za postoperativni bol.

Mišljenje eksperata je, da gde god ima prostora, kod pacijenata koji imaju toleranciju na opioide treba koristiti regionalnu anes-

teziju ili analgeziju, pogotovo za procedure na ekstremitetima.^{5,7,23,39} Tehnike koje se koriste podrazumevaju blokadu nerava i nervnih pleksusa. Prednost regionalne anestezije/analgezije je u smanjenju potrebe za parenteralnim/oralnim davanjem opioida i poboljšanje distalne perfuzije, kao rezultat simpatičke blokade. Neuralna blokada se može započeti bupivakainom ili levobupivakainom u uobičajenim dozama, a zatim se postoperativno može nastaviti sa kontinuiranom infuzijom. Pacijenti mogu da se otpuste kući sa kateterom u brahijalnom pleksusu i infuzijom lokalnog anestetika koji se daje preko pumpe za jednokratnu infuziju. Kateter može da stoji 48 sati. Druge intervencije uključuju injekciju lokalnog anestetika u zglog kolena i druge zglobove, kao i injekcije lokalnog anestetika za različite blokove kičme. Cilj je minimiziranje percepcije bola i smanjenje upotrebe oralnih ili parenteralnih opioida za osnovno doziranje kod zavisnih pacijenata.^{7,39}

Titriranje doze

Osnovno doziranje oralnih opioida nakon ambulantne hirurgije treba da bude pojačano dodatnim dozom (obično 20-50% iznad osnovne).³⁹ Oralne opioide bi zatim trebalo titrirati tako da se doza za 3-7 dana smanji na dozu pre intervencije.

Opioidno zavisnim pacijentima nikada ne treba uskratiti opioide, iako se neki zdravstveni radnici ustručavaju da primene intravenske ekvivalente kod veoma visokih osnovnih doza oralnih ili transdermalnih opioida.^{39,40} To se naročito odnosi na procedure kojima se smanjuje osnovni hronični bol. Na primer, dovoljno je dati samo 50% intravenskog ekvivalenta kod pacijenata koji su na dozama oksikodona većim od 200 mg/dan, morfina većim od 300mg/dan, ili transdermalnog fentanila većim od 150 µg/h. Doza opioida se može povećati ukoli

ko je kontrola bola nedekvatna. Osnovna doza opioida treba pažljivo da se titrira, a ne da se naglo prekine da bi se sprečila apstinencijska kriza, čak i kada je bol smanjen nakon hirurgije kičme.^{7,41} U ovom slučaju, osnovna doza može da se smanji za 50% dan nakon intervencije, a zatim da se smanjuje za 25% svakih 24-48 h zavisno od primenjenog opioida. Kada se doza smanji na ekvivalent morfina od 10-15 mg, može da se isključi.³⁹

Zaključak

Opioidno zavisni pacijenti imaju posebne potrebe u perioperativnom periodu. Anestezilog ima ključnu ulogu u obezbeđivanju osnovne doze opioida, dodatnoj primeni opioida intra- i postoperativno, kao i obezbeđivanju neopiodnih analgetika i neuralne blokade. Da bi se sprečilo subdoziranje, anestezilog treba da pažljivo titrira opioide u visokim dozama, koje bi kod opioidno navih pacijenata verovatno bile fatalne. U svakom slučaju subdoziranje mora da bude izbegnuto. Svest o problemu, primena odgovarajućih doza analgetika, kao i kontinuirani klinički monitoring, predstavljaju ključ terapije bola u ovoj specifičnoj grupi pacijenata.

Literatura:

1. International Association for the Study of Pain, Subcommittee on Taxonomy: Classification of chronic pain: Descriptions of chronic pain syndromes and definitions of pain terms. Pain 1986; (suppl 3):S1-225
2. Somerville MA: Opioids for chronic pain of non-malignant origin: Coercion or consent? Health Care Anal 1995; 3:12-4
3. Collett B-J: Chronic opioid therapy for non-cancer pain. Br J Anaesth 2001; 87:133-43



4. Streitzer J: Pain management in the opioid-dependent patient. *Curr Psychiatry Rep* 2001; 3:489–96
5. May JA, White HC, Leonard-White A, Warltier DC, Pagel PS: The patient recovering from alcohol or drug addiction: special issues for the anesthesiologist. *Anesth Analg* 2001; 92:160–1
6. Jage J, Bey T: Postoperative analgesia in patients with substance use disorders: I. *Acute Pain* 2000; 3:140–55
7. Hord AH: Postoperative analgesia in the opioid-dependent patient, *Acute Pain: Mechanisms and Management*. Edited by Sinatra RS, Hord AH, Ginsberg B, Preble LM. St. Louis, Missouri, Mosby Yearbook, 1992, pp 390–8
8. Zacny J, Bigelow G, Compton P, Foley K, Iguchi M, Sannerud C: College on Problems of Drug Dependence taskforce on prescription opioid non-medical use and abuse: Position statement. *Drug Alcohol Depend* 2003; 69:215–32
9. Cohen MJ, Jasser S, Herron PD, Margolis CG: Ethical perspectives: Opioid treatment of chronic pain in the context of addiction. *Clin J Pain* 2002; 18(suppl): S99–107
10. Nissen LM, Tett SE, Cranoud T, Williams B, Smith MT: Opioid analgesic prescribing: Use of an audit of analgesic prescribing by general practitioners and the multidisciplinary pain center at Royal Brisbane Hospital. *Br J Clin Pharmacol* 2001; 52:693–8
11. Bell JR: Australian trends in opioid prescribing for chronic non-cancer pain, 1986–1996. *Med J Aust* 1997; 167:26–9
12. Strain EC: Assessment and treatment of comorbid psychiatric disorders in opioid-dependent patients. *Clin J Pain* 2002; 18(suppl):S14–27
13. American Psychiatric Association: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th edition. Washington, D.C., American Psychiatric Association, 1994
14. Steindler EM: ASAM addiction terminology, *Principles of Addiction Medicine*, 2nd edition. Edited by Graham AW, Schultz TK. Chevy Chase, Maryland, American Society of Addiction Medicine, 1998, pp 1301–4
15. Savage SR: Addiction in the treatment of pain: Significance, recognition and treatment. *J Pain Symptom Manage* 1993; 8:265–78
16. Gustin HB, Akil H: Opioid analgesics, *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 10th edition. Edited by Hardman JG, Limbird LE. New York, McGraw-Hill, 2001, pp 569–619
17. Stoelting RK, Dierdorf SF: *Anesthesia and Co-existing Disease*, 2nd Edition. New York, Churchill Livingstone, 1988, p 731
18. Sosnowski M, Yaksh TL: Differential cross-tolerance between intrathecal morphine and sufentanil in the rat. *ANESTHESIOLOGY* 1990; 73:1141–7
19. de Leon-Casasola OA, Lema MJ: Epidural sufentanil for acute pain control in a patient with extreme opioid dependency. *ANESTHESIOLOGY* 1992; 76:853–6
20. O'Brien CP: Drug addiction and drug abuse, *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 10th edition. Edited by Hardman JG, Limbird LE. New York, McGraw-Hill, 2001, pp 621–42
21. Bohn LM, Gainetdinov RR, Lin F-T, Lefkowitz, Caron MG: -Opioid receptor desensitization by-arrestin-2 determines morphine tolerance but not dependence. *Nature* 2000; 408:720–3
22. Nestler EJ: Molecular neurobiology of addiction. *Am J Addict* 2001; 10: 201–17
23. Heit HA: The truth about pain management: The difference between a pain patient and an addicted patient. *Eur J Pain* 2001; 5(suppl A):27–9

24. Kosten TR, Rounsaville BJ, Kleber HD: Antecedents and consequences of cocaine abuse among opioid addicts: A 2.5 year follow-up. *J Nerv Ment Dis* 1988; 176: 176–81
25. Kirsh KL, Whitcomb LA, Donaghy K, Passik SD: Abuse and addiction issues in medically ill patients with pain: Attempts at clarification of terms and empirical study. *Clin J Pain* 2002; 18(suppl):S52–60
26. Dunbar SA, Katz NP: Chronic opioid therapy for nonmalignant pain in patients with a history of substance abuse: Report of 20 cases. *J Pain Symptom Manage* 1996; 11:163–71
27. Chabal C, Erjavec MK, Jacobson L, Mariano A, Chaney E: Prescription opiate abuse in chronic pain patients: Clinical criteria, incidence, and predictors. *Clin J Pain* 1997; 13:150–5
28. Compton P, Darakjian J, Miotto K: Screening for addiction in patients with chronic pain and “problematic” substance use: Evaluation of a pilot assessment tool. *J Pain Symptom Manage* 1998; 16:355–63
29. Rubenstein RB, Spira I, Wolff WI: Management of surgical problems in patients of methadone maintenance. *Am J Surgery* 1976; 131:566–9
30. Patt RB: PCA: Prescribing analgesia for home management of severe pain. *Geriatrics* 1992; 47:69–72
31. Gomar C, Carrero EJ: Delayed arousal after general anesthesia associated with baclofen. *ANESTHESIOLOGY* 1994; 81:1306–7
32. Foley RM: Opioid analgesics in clinical pain management, *Handbook of Experimental Pharmacology. Opioids II. Vol 104.* Edited by Herz A, Akil H, Simon EJ. New York, Springer Verlag, 1993, pp 697–743
33. Reisine T, Pasternak G: Opioid analgesics and antagonists, *Goodman and Gilman’s The Pharmacological Basis of Therapeutics, 9th edition.* Edited by Hardman JG, Limbird LE, Molinoff PB, Ruddon RW, Gilman AG. New York, McGraw-Hill, 1996, pp 521–55
34. Manfredi PL, Ribeiro S, Cahndler SW, Payne R: Inappropriate use of naloxone in cncr patients with pain. *J Pain Symptom Manage* 1996; 11:131–4
35. Thomas AN, Suresh M: Opiate withdrawal after tramadol and PCA (letter). *Anaesthesia* 2000; 53:826–7
36. Gonzales JP, Brogden RN: Naltrexone: A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic efficacy in the treatment of opioid dependence. *Drugs* 1988; 35:192–213
37. Saberski L: Postoperative pain management for the patient with chronic pain, *Acute Pain: Mechanisms and Management.* Edited by Sinatra RS, Hord AH, Ginsberg B, Preble LM. St. Louis, Missouri, Mosby Yearbook, 1992, pp 422–31
38. Brant JM: Opioid equianalgesic conversion: The right dose. *Clin J Oncol Nurs* 2001; 5:163–5
39. Macintyre PE: Safety and efficacy of patient-controlled analgesia. *Br J Anaesth* 2001; 87:36–46
40. Parker RK, Holtman B, White PF: Patient-controlled analgesia: Does a concurrent opioid infusion improve pain management after surgery? *JAMA* 1992; 266:1947–52
41. Boyle RK: Intra- and postoperative anaesthetic management of an opioid addict undergoing caesarean section. *Anaesth Intensive Care* 1991; 19:276–9
42. Fitzgibbon DR, Ready JB: Intravenous high dose methadone administered by patient controlled analgesia and continuous infusion for the treatment of pain refractory to high dose morphine. *Pain* 1997; 73:259–61
43. Sartain JB, Mitchell SJ: Successful use of oral methadone after failure of intrave

- nous morphine and ketamine. *Anaesth Intensive Care* 2002; 30:487–9
44. Pasternak GW: Incomplete cross tolerance and multiple mu opioid peptide receptors. *Trends Pharmacol Sci* 2001; 22:67–70
 45. Morley JS, Makin MK: The use of methadone in cancer pain poorly responsive to other opioids. *Pain Reviews* 1998; 5:51–8
 46. Davis AM, Inturrisi CE: d-Methadone blocks morphine tolerance and Nmethyl-D-aspartate-induced hyperalgesia. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 289:1048–53
 47. Trujillo KA, Akil H: Inhibition of morphine tolerance and dependence by the NMDA receptor antagonist MK-801. *Science* 1991; 251:85–7
 48. Clark JL, Kalan GE: Effective treatment of severe cancer pain of the head using low-dose ketamine in an opioid-tolerant patient. *J Pain Symptom Manage* 1995; 10:310–4
 49. Segal IS, Jarvis DJ, Duncan SR, White PF, Maze M: Clinical efficacy of oral-transdermal clonidine combinations during the perioperative period. *ANESTHESIOLOGY* 1991; 74:220–5
 50. Connor DFJ, Muir A: Balanced analgesia for the management of pain associated with multiple fractured ribs in an opioid addict. *Anaesth Intensive Care* 1998; 26:459–60
 51. Harrison DH, Sinatra RS, Morgese L, Chung JH: Epidural narcotic and patient-controlled analgesia for post-caesarean section pain relief. *ANESTHESIOLOGY* 1988; 68:454–7
 52. Epidural Neural Blockade in Clinical Anesthesia and Management, 3rd edition. Edited by Cousins MJ, Bridenbaugh PO. Philadelphia, Lippincott–Raven, 1998
 53. Wang JK, Nauss LA, Thomas JE: Pain relief by intrathecally applied morphine in man. *ANESTHESIOLOGY* 1979; 50:149–51
 54. de Leon-Casasola OA, Lema MJ: Epidural bupivacaine/sufentanil therapy for postoperative pain control in patients tolerant to opioid and unresponsive to epidural bupivacaine/morphine. *ANESTHESIOLOGY* 1994; 80:303–9
 55. Dirks J, Fredensborg BB, Christensen D, Fomsgaard JS, Flyger H, Dahl JB: A randomized study of the effects of single-dose gabapentin versus placebo on postoperative pain and morphine consumption after mastectomy. *ANESTHESIOLOGY* 2002; 97:560–4
 56. Barton SF, Langeland FF, Snabes MC, LeComte D, Kuss ME, Dhadda SS, Hubbard RC: Efficacy and safety of intravenous parecoxib sodium in relieving acute postoperative pain following gynecologic laparotomy surgery. *ANESTHESIOLOGY* 2002; 97:306–14
 57. Weinbroum AA: Dextromethorphan reduces immediate and late postoperative analgesic requirements and improves patients' subjective scorings after epidural lidocaine and general anesthesia. *Anesth Analg* 2002; 94:1547–52
 58. Wong CS, Wu CT, Yu JC, Yeh CC, Lee MM, Tao PL: Preincisional dex. tromethorphan decreases postoperative pain and opioid requirement after modified radical mastectomy. *Can J Anaesth* 1999; 46:1122–6

Autor za korespondenciju:

Asistent dr sc med. Katarina Mladenović

Klinika za anesteziologiju i intenzivnu terapiju VMA, Beograd, ul. Crnotravska 17,
Medicinski fakultet VMA, Univerzitet Odbrane, Beograd

Tel: +381641267838

E-mail: katarina.mladenovic72@gmail.com



SINDROM GORNJE ŠUPLJE VENE - JATROGENA KOMPLIKACIJA I PRINCIPI ZBRINJAVANJA

Goran Rondović^{1,2}, Rade Vuković¹, Stevan Orović¹, Nataša Petković¹,
Sonja Stanković⁴, Filip Stojanović³, Snježana Zebo^{1,2}, Katarina Mladenović^{1,2}

¹ Klinika za anesteziologiju i intenzivnu terapiju, Vojnomedicinska akademija, Beograd

² Medicinski fakultet VMA, Univerzitet Odbrane, Beograd

³ Institut za zdravstvenu zaštitu majke i deteta "dr Vukan Čupić", Beograd

⁴ Opšta bolnica Adonis, Beograd

Sažetak

Sindrom gornje šuplje vene je retko stanje koje sa razvojem različitih procedura koje zahtevaju vaskularni pristup i duže prisustvo katetera i vodiča sve više dobija na značaju. Iako rezervisano za maligna obolenja da se razvije kao komplikacija ekspanzije medijastinalnih tumora, akutno nastao sindrom gornje šuplje vene je prisutan sve više u benignim stanjima ili kao posledica jatrogenih opstrukcija. Brzo prepoznavanje akutno nastalog stanja i suportivne mere, pravilno pozicioniranje pacijenta i rano započete endovaskularne terapijske procedure povećavaju uspešnost stabilizovanja i izlečenja pacijenata sa ovim sindromom. Multidisciplinarni pristup lečenju pacijenta je standard nege. Radiografske procedure sa primenom kontrastnih sredstava omogućavaju dijagnostiku kao i određivanje stepena opstrukcije i stadijuma obolenja kao i izbor terapijskih procedura kojima će se nastaviti lečenje.

Ključne reči: gornja šuplja vena, vena azigos, sindrom gornje šuplje vene, cerebralni edem.

Uvod

Sindrom gornje šuplje vene nije više tako retko stanje. Ovaj sindrom dobija na učestalosti sa porastom broja malignih oboljenja, kao i sa sve većom potrebom da se implantiraju različiti uređaji kroz sistem vena koje su u slivu gornje šuplje vene¹. Potreba za venskim pristupom zbog sprovođenja dijalize takođe doprinosi povećanju broja slučajeva ovog sindroma. Sindrom je skup znakova i simptoma čija ispoljenost dominantno zavisi od stepena opstrukcije kao i nivoa opstrukcije koja ga uzrokuje². Do pojave sindroma gornje šuplje vene dolazi kada se razvije direktna kompresija ili

tromboza ovog venskog sistema³. On rezultira značajnim povećanjem morbiditeta i mortaliteta u pacijenata na lečenju. Znači sindroma se razvijaju onda kada se izgubi kompenzatorna sposobnost kolateralnog krvotoka da prevaziđe opstrukciju protoka u sistemu gornje šuplje vene^{1,3}. U preko 70% svih sindroma gornje šuplje vene osnovni uzrok se nalazi u malignom obolenju koje je dovelo do kompresije, infiltracije i opstrukcije sliva gornje šuplje vene⁴. Sa razvojem tehnike i usavršavanjem uređaja za podršku srčanoj radnji, procent sindroma uzrokovanih opstrukcijom i trombozom dobija na značaju. Sve veći je broj i pacijenata koji odlaze na urgentne dijalize, a kojima je

potreban brz venski pristup za sprovođenje programa terapije zamene bubrežne funkcije³. Sa razvojem kako dijagnostičkih tako i terapijskih procedura, menjaju se i usavršavaju principi lečenja sindroma gornje šuplje vene.

U velikom broju slučajeva sindrom gornje šuplje vene se razvija hronično i postupno. Time se daje na vremenu kolateralnom krvotoku da se adaptira i preuzme funkciju transporta krvi ka srcu. Ipak, u onom manjem procentu, ova opstrukcija ili prekid protoka u slivu gornje šuplje vene su akutni⁴. Tada se pritisak u venskom slivu rapidno povećava i retrogradnom venskom stazom prouzrokuje sve one simptome i znake koji čine ovaj sindrom. Direktna smrtnost od sindroma gornje šuplje vene u akutnom stanju je oko 0,3%. Ipak dužina života kod pacijenata sa medijastinalnim tumorom i posledičnim sindromom gornje šuplje vene ne prelazi 6 meseci⁵.

Anatomski prikaz venskog sistema gornje šuplje vene

Leva i desna brahicefalična vena se spajaju i formiraju sliv gornje šuplje vene. Ovaj sliv drenira krv iz gornjih partija tela, glave i vrata i gornjih ekstremiteti kao i delova grudnog koša⁶. Gornja šuplja vena je venski krvni sud dužine do 7 cm i dijametra oko 2 cm^{6,7}. Posteriorno od hrskavice prednjeg pripoja prvog rebra sa desne strane zapičinje njen put ka srcu. Pozicionirana iza drugog i trećeg međurebarnog prostora desno, a desno od aorte i traheje, uliva se sa gornje strane u desnu pretkomoru srca na nivou trećeg međurebarnog prostora⁶. Brahiocefalične vene se u nomenklaturi često označavaju kao vene anonime. Nastaju spajanjem jugularne zajedničke vene i podključne vene. Sa desne strane vena anonima je kraća u svom toku, 3 cm dužine, pozicionirana ispred brahiocefalične arterije⁷. Leva vena anonima je

duža u svom toku, 6 cm dužine, i postavljena više horizontalno ispred leve podključne arterije a iza manubrijuma sternuma. Brojne su pritoke brahicefaličnih vena⁶. U njih se ulivaju gornje interkostalne vene, vertebralne vene, unutrašnje torakalne vene kao i donje vene štitne žlezde. Značajan doprinos venskoj drenaži gornjih delova tela da je venski sistem vene azigos. Vena azigos se takođe uliva u sliv gornje šuplje vene⁸. Ova vena putuje prednjom ivicom torakalnih pršljenova sa desne strane i u gornju šuplju venu se uliva sa njene zadnje strane u visini trahealne karine⁹. Vena azigos je neparna vena i nastaje spajanjem desnih interkostalnih vena i ushodnih lumbarnih vena^{7,8,9}. U slivu vene azigos nalaze se vene hemiazigos, bronhijalne vene, perikardijalne vene, ezofagealne vene kao i posteriorne zadnje interkostalne vene. Gornja šuplja vena doprinosi minutnom volumenu srca sa 35% kod odraslih ljudi, dok taj udio kod dece ide i do 50% volumena⁶.

Učestalost sindroma gornje šuplje vene

U prošlosti sindrom gornje šuplje vene je bio uglavnom povezan sa pojavom sifiličnog aneurizmatškog proširenja aorte ili sa razvojem tuberkulotičnih medijastinalnih masa. Razvoj moderne medicine i uspešnije dijagnostifikovanje i lečenje sifilisa i tuberkuloze otklonili su ova oboljenja kao uzroke¹⁰. Napredovale su maligne bolesti. Danas maligne bolesti su uzrok sindroma gornje šuplje vene u 70 %, dok su benigne opstrukcije i tromboze, uglavnom povezane sa primenom različitih katetera i implantacijom defibrilatora i pejsmejkeza uzrok u 30% slučajeva sindroma¹¹. Postoji i mali procent pacijenata koji razvijaju sindrom gornje šuplje vene na bazi medijastinalne fibroze, a kod kojih uzrok nastanka fibroze nije povezan sa implantacijom uređaja i katete-ra¹¹.

Klinička slika i klasifikacija sindroma gornje šuplje vene

Kako smo već u uvodu pominjali, sam razvoj sindroma gornje šuplje vene može da bude postepen ali i akutan³. Mehanizam nastanka opstrukcije krvnog protoka u venskom sistemu diktiraće i razvoj simptoma i brzinu razvoja kolateralnog krvotoka. Na ozbiljnost kliničke slike i brzinu oporavka uticaće u velikoj meri i nivo na kome se razvila opstrukcija¹². Prvi simptomi koji se pojavljuju odnose se na pojavu edema u predelu glave i vrata. Distendiranje vena vrata i gornjih ekstremiteta. Pojavu edema na gornjim ekstremitetima. Nekad se ispolje i znaci edema konjunktiva sa učestalim suženjem. Simptomi napreduju ka pojavi glavobolje, zamućenosti vida i vrtoglavice ali i cijanoze u gornjim partijama^{3,4,5}. Povećavanjem pritiska u slivu gornje šuplje vene koje se proporcionalno razvija sa povećavanjem opstrukcije ili akutnim razvojem opstrukcije pogoršavaju se i simptomi a naročito neurološki. Tako dolazimo do razvoja životno ugrožavajućih edema larinksa i farinksa i mozga. Sa pojavom edema u ovim organima razvijaju se kašalj, stridor i pro-

muklost. Dok edem mozga može progredirati i ka komi. Iakovenski priliv iz sistema gornje šuplje vene doprinosi sa skoro 35% minutnom volumenu srca, hemodinamska nestabilnost se vrlo retko razvija kod sindroma gornje šuplje vene^{3,6}. Akutno nastali sindrom gornje šuplje vene može tranzitorno izazvati hipotenziju sa kratkotrajnim smanjenjem priliva krvi ka srcu. Ipak naglo povećanje pritiska u venskom sistemu gornje šuplje vene uzrokuje da se pritisak poveća u kolateralnom krvotoku i obezbedi dalji priliv krvi ka srcu iz gornjih partija tela. Pojava hemodinamske nestabilnosti uglavnom je povezana sa medijastinalnom tumorskom masom koja uzrokuje sindrom a vrši direktnu kompresiju na srčane šupljine.

Klasifikacija sindroma gornje šuplje vene je sprovedena na osnovi razvijanja simptoma i znakova opstrukcije¹². Brza orijentacija klasifikacijom pomaže u prepoznavanju stepena ugroženosti ali i donošenju odluke o vrsti terpijske intervencije¹³. Klasifikacija po Yu i sardnicima dana je u tabeli 1. Yu je u svom radu sindrom gornje šuplje vene klasifikovao u 5 kategorija.

Tabela 1.

Klasifikacija sindroma GŠV po Yu¹³

STEPEN	SIMPTOMI
0	Asimptomatska: na snimku bez nalaza
1	Blagi: edem glave i vrata
2	Umereni: edem glave i vrata sa funkcionalnim poremećajem
3	Teški: blagi ili umereni edem mozga sa/ larinegealni edem, ili narušena srčana rezerva
4	Životno ugrožavajući: težak edem mozga, laringealni edem, hemodinamska nestabilnost
5	Fatalni: smrtni ishod

GŠV – gornja šuplja vena

Dijagnostičke i terapijske procedure u sindromu gornje šuplje vene

Postavljanje dijagnoze sindroma gornje šuplje vene bazira se na prepoznavanju

kliničkih znakova i simptoma ovog sindroma.¹⁴ Primenom radiografskih procedura potvrđuje se sumnja i postavlja dijagnoza. Radiografija grudnog koša,

kompjuterizovana tomografija sa kontrastom grudnog koša i vaskularnog korita, magnetska rezonanca kao i venografija su pomoćne dijagnostičke porcedure koje doprinose dijagnostici i klasifikaciji sindroma. Primena dopler ultrazvuka je od koristi u praćenju prisustva tomboze u venskom sistemu dostupnom za ovaj pregled. Sama gornja šuplja vena kao i njen sliv zbog anatomske lokalizacije nisu pristupačne za ultrazvučnu dijagnostiku¹³. Doplerom se omogućava i praćenje položaja katetera i impantiranih uređaja.

Terapijski pristup lečenju sindroma gornje šuplje vene mora biti multidisciplinarni. Kako je i etiologija sindroma različita tako i specijalistički pristup lečenju mora uključiti u najvećem broju slučajeva i onkologe, pulmologe, torakalne i vaskularne hirurge, kardiohirurge i endovaskularne specijaliste a u životno ugrožavajućim situacijama i anesteziologe i specijaliste intenzivne medicine^{12,13}.

Inicijalno svi pacijenti sa postavljenom sumnjom na razvoj sindroma gornje šuplje vene postavljaju se u polusedeći položaj sa ciljem smanjenja pritiska u glavi¹¹.

Akutni razvoj sindroma gornje šuplje vene daje i najbrži i najagresivniji progresiju simptoma i zahteva mere intenzivnog lečenja sa ABC pristupom zbrinjavanju pacijenta. Na prvom mestu proceniti disajni put i osigurati prohodnost disajnog puta endotrahealnom intubacijom ukoliko je progresija edema intenzivnija. Obezbediti suplementaciju kiseonika i podršku ventilaciji kako bi se zadovoljile metaboličke potrebe¹². Nakon inicijalne stabilizacije prema ABC pristupu neophodno je konsultovati endovaskularnog specijalistu kako bi se razmotrio terapijski plan stentovanja ili evakuacije tromba. Pacijenta osloboditi svih venskih linija u gornjim ekstremitetima. Nadoknada volumena venskim pristupom iz sliva gornje šuplje vene pogoršava pritisak u

venskom sistemu i pogoršava simptome. Ne preporučuje se punkcija centralnih vena iz sliva gornje šuplje vene. Terapiju rastvorima sprovoditi putem venskog sistema na donjim ekstremitetima. Primena diuretika i antiedematozne terapije je u skladu sa intenzitetom simptoma i prisustvom znakova edema¹³.

Kod sindroma gornje šuplje vene etiologije maligne bolesti terapijski pristup je u skladu sa doktrinom lečenja dijagnostifikovanog maligniteta. Ovde se terapijske mere oslanjaju na usku sardanju sa onkologom¹⁴. Uz primenu svih suportivnih mera.

Hirurške intervencije kod sindroma gornje šuplje vene su rezervisane za najteže slučajeve i životno ugrožavajuća stanja u kojih je endovaskularna intervencija neizvodljiva¹⁵. By-pass hirurgija se uglavnom zasniva na venskom by-pass spoju sa jugularne vene ili vene anonime na desnu pretkomoru¹⁵. Napredak endovaskularnih procedura je omogućio bolju prognozu pacijenata sa sindromom gornje šuplje vene. Endovaskularna intervencija je postala zlatni standard i kao prva linija intervencija god životnougrožavajućih stanja. Optimizacija antikoagulantne i antiagregacione terapije u pacijenata sa sindromom gornje šuplje vene zahteva detaljno praćenje i usklađivanje sa etiologijom sindroma kao i preduzetim terapijskim merama¹⁵.

Zaključak

Iako je sam sindrom veoma retka pojava koja se u većini situacija razvija kod pacijenata sa malignim oboljenjima grudnog koša. Sindrom gornje šuplje vene kao jatrogeno nastala opstrukcija protoka krvi u venskom sistemu dobija na značaju kod pacijenata sa impantiranim kateterima ili defibrilatorima i pejsmejkerima. Ovde treba dodatno obratiti pažnju kako bi smo adekvatnom pripremom, preventivnim merama, dobrim izborom veličine katetera kao i

mesta njihove insercije sprečili nastanak sindroma gornje šuplje vene i razvoja akutnog stanja.

Literatura:

1. Rice T.W., Rodriguez R.M., Light R.W. "The superior vena cava syndrome: clinical characteristics and evolving etiology". *Medicine*(Baltimore) 2006;85:37-42.
2. Azizi A.H. Shafi I. Sheah N. Bashir R. Superior Vena Cava Syndrome. *J Am Coll Cardiol Interv.* 2020 Dec, 13 (24) 2896–2910
3. Wilson L. D., Detterbeck F. C., Yahalom J. Superior vena cava syndrome with malignant causes. *New England Journal of Medicine.* 2007;356(18):1862–1869. doi: 10.1056/nejmcp067190.
4. Irwin R.B., Greaves M., Schmitt M. "Left superior vena cava: revisited". *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2012;13:284-291.
5. Chee C.E., Bjarnason H., Prasad A. "Superior vena cava syndrome: an increasingly frequent complication of cardiac procedures". *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2007;4:226-230.
6. Nadesan T, Keough N, Suleman FE, Lockhat Z, van Schoor AN. Appraisal of the surface anatomy of the Thorax in an adolescent population. *Clin Anat.* 2019 Sep;32(6):762-769.
7. Raut MS, Das S, Sharma R, Daniel E, Motihar A, Verma A, Kar S, Maheshwari A, Shivnani G, Kumar A. Superior vena cava clamping during thoracic surgery: Implications for the anesthesiologist. *Ann Card Anaesth.* 2018 Jan-Mar;21(1):85-87.
8. Katabathina VS, Restrepo CS, Betancourt Cuellar SL, Riascos RF, Menias CO. Imaging of oncologic emergencies: what every radiologist should know. *Radiographics.* 2013 Oct;33(6):1533-53.
9. Nunnelee JD. Superior vena cava syndrome. *J Vasc Nurs.* 2007 Mar;25(1):2-5;
10. Shaheen K., Alraies M. C. Superior vena cava syndrome. *Cleveland Clinic Journal of Medicine.* 2012;79(6):410–412. doi: 10.3949/ccjm.79a.11106
11. Sfyroeras G.S., Antonopoulos C.N., Mantas G., et al. "A review of open and endovascular treatment of superior vena cava syndrome of benign aetiology". *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2017;53:238-254.
12. Lacout A., Marcy P.Y., Thariat J., Lacombe P., El Hajjam M. "Radio-anatomy of the superior vena cava syndrome and therapeutic orientations". *Diagn Interv Imaging* 2012;93:569-577.
13. Yu J.B., Wilson L.D., Detterbeck F.C. "Superior vena cava syndrome—a proposed classification system and algorithm for management". *J Thorac Oncol* 2008;3:811-814.
14. Gonzalez-Fajardo JA, Garcia-Yuste M, Florez S, Ramos G, Alvarez T, Coca JM. Hemodynamic and cerebral repercussions arising from surgical interruption of the superior vena cava. Experimental model. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1994;107:1044–9.
15. Fagedet D., Thony F., Timsit J.F., et al. "Endovascular treatment of malignant superior vena cava syndrome: results and predictive factors of clinical efficacy". *Cardiovasc Interv Radiol* 2013;36:140-149.

Autor za korespondenciju:

Dr Goran Rondović,

Klinika za anesteziologiju i intenzivnu terapiju VMA, Beograd, ul. Crnotravska 17.

Tel: +381642373399,

E-mail: grondovic@gmail.com

USTVO AUTORIMA ZA PRIPREMANJE RADA

Časopis "ANESTEZIJA, REANIMACIJA, TRANSFUZIJA" je časopis Udruženja anesteziologa, reanimatora i transfuzista Srbije registrovan kao glasilo javnog informisanja 1982. godine, u kojem se objavljuju radovi članova Udruženja, i članova drugih društava medicinskih i srodnih struka. Časopis objavljuje: originalne radove, saopštenja, prikaze bolesnika, preglede iz literature, radove iz istorije medicine, radove za praksu, vodiče kliničke prakse.

Prispeli rukopis Urednički odbor šalje recenzentima radi stručne procene. Ukoliko recenzenti predlože izmene ili dopune, kopija recenzije se dostavlja autoru s molbom da unese tražene izmene u tekst rada ili da argumentovano obrazloži svoje neslaganje s primedbama recenzenta. Konačnu odluku o prihvatanju rada za štampu donosi glavni i odgovorni urednik.

Časopis se štampa na srpskom jeziku, sa kratkim sadržajem prevedenim na engleski jezik. Radovi stranih autora se štampaju na engleskom jeziku sa kratkim sadržajem na srpskom i engleskom jeziku.

OPŠTA UPUTSTVA

Tekst rada kucati u programu za obradu teksta Word, latinicom, sa dvostrukim proredom, isključivo fontom Times New Roman i veličinom slova 12 tačaka (12 pt). Sve margine podesiti na 25 mm, veličinu stranice na A4, a tekst kucati sa levim poravnanjem i uvlačenjem sva-kog pasusa za 10 mm,

bez deljenja reči (hifenacije). Izbegavati upotrebu tabulatora i uzastopnih praznih karaktera (spejsova) radi poravnanja teksta, već za to koristiti alate za kontrolu poravnanja na lenjiru i Toolbars. Posle svakog znaka interpunkcije staviti samo jedan prazan karakter. Ako se u tekstu koriste specijalni znaci (simboli), koristiti font Symbol.

Rukopis rada dostaviti e-mail-om, odštampan jednostrano na beloj hartiji formata A4 u tri primerka, zajedno sa disketom ili diskom (CD) na koje je snimljen identičan tekst koji je i na papiru. Stranice numerisati redom u okviru donje margine, počev od naslovne strane. Podaci o korišćenoj literaturi u tekstu označavaju se arapskim brojevima u uglastim zagradama – npr. [1, 2], i to onim redosledom kojim se pojavljuju u tekstu.

Naslovna strana: Na posebnoj, prvoj stranici rukopisa treba navesti sledeće:

- **naslov rada bez skraćenica;**
- **puna imena i prezimena autora i koautora (bez titula) sa tačnom godinom rođenja svakog od njih;**
- zvaničan naziv ustanova u kojima autori rade i mesto, i to redosledom koji odgovara indeksiranim brojevima autora;
- ukoliko je rad prethodno saopšten na nekom stručnom sastanku, navesti zvaničan naziv sastanka, mesto i vreme održavanja;
- na dnu stranice navesti ime i prezime, kontakt - adresu, broj telefona, faksa i e-mail adresu jednog od autora radi korespondencije.

Autorstvo: Sve osobe koje su navedene kao autori rada treba da se kvalifikuju za autorstvo. Svaki autor treba

da je dovoljno učestvovao u radu na rukopisu kako bi mogao da preuzme odgovornost za celokupan tekst i rezultate iznesene u radu. Autorstvo se zasniva samo na:

- bitnom doprinosu koncepciji rada, dobijanju rezultata ili analizi i tumačenju rezultata, planiranju rukopisa ili njegovoj kritičkoj reviziji od znatnog intelektualnog značaja,
- završnom doterivanju verzije rukopisa koji se priprema za štampanje.

Autori treba da prilože opis doprinosa u rukopisu za svakog koautora pojedinačno. Fiansiranje, sakupljanje Podataka ili generalno nadgledanje istraživačke grupe sami po sebi ne mogu opravdati autorstvo. Svi drugi koji su doprineli izradi rada, a koji nisu autori rukopisa, trebalo bi da budu navedeni u zahvalnici s opisom njihovog rada, naravno, uz pisani pristanak.

Kratak sadržaj – SAŽETAK: Uz originalni rad, saopštenje, prikaz bolesnika, pregled iz literature, rad iz istorije medicine i rad za praksu, na posebnoj stranici treba priložiti kratak sadržaj rada obima 200-300 reči. Za originalne radove kratak sadržaj treba da ima sledeću strukturu: uvod, cilj rada, metod rada, rezultati i zaključak. Svaki od navedenih segmenata pisati kao poseban pasus, koji počinje boldovanom reči "Uvod", "Cilj rada", "Metod rada", "Rezultati" i "Zaključak". Navesti najvažnije rezultate (numeričke vrednosti) statističke analize i nivo značajnosti.

Ključne reči: Ispod kratkog sadržaja navesti ključne reči (od tri do šest). U izboru ključnih reči koristiti Medical Subject Headings – MeSH (<http://gateway.nlm.nih.gov>).

Prevod na engleski jezik: Na posebnoj stranici otkucati naslov rada na engleskom jeziku, puna imena i prezimena autora, nazive ustanova na engleskom jeziku i mesto. Na sledećoj stranici priložiti kratak sadržaj na engleskom jeziku (Abstract) sa ključnim rečima (Key words), i to za radove u kojima je obavezan kratak sadržaj na srpskom jeziku, koji treba da ima 200-300 reči. Apstrakt na engleskom treba da ima istu strukturu kao i kratak sadržaj na srpskom. Prevesti nazive tabela, grafikona, slika, shema, celokupni srpski tekst u njima i legendu.

Struktura rada: Svi podnaslovi se pišu velikim slovima i boldovano. Originalni rad treba da ima sledeće podnaslove: uvod, cilj rada, metod rada, rezultati, diskusija, zaključak, literatura.

Prikaz bolesnika čine: uvod, prikaz bolesnika, diskusija, zaključak, literatura. Ne treba koristiti imena bolesnika, inicijale ili brojeve istorija bolesti, naročito u ilustraciji. Pregled iz literature čine: uvod, odgovarajući podnaslovi, zaključak, literatura. Pregledne radove iz literature mogu objavljivati samo autori koji navedu najmanje pet autocitata (reference u kojima su ili autori ili koautori rada).

Tekst rukopisa: Koristiti kratke i jasne rečenice. Prevod pojmova iz strane literature treba da bude u duhu srpskog jezika. Sve strane reči ili sintagme za koje postoji odgovarajuće ime u našem jeziku zameniti tim nazivom. Za nazive lekova koristiti isključivo generička imena. Uredaji (aparati) se označavaju trgovačkim nazivima, a ime

i mesto proizvođača treba navesti u oblim zgradama. Ukoliko se u tekstu koriste oznake koje su spoj slova i brojeva, precizno napisati broj koji se javlja kao eksponent ili kao indeks (npr.⁹⁹Tc, IL-6, O₂, B₁₂, CD8).

Skraćenice: Koristiti samo kada je neophodno, i to za veoma dugačke nazive hemijskih jedinjenja, odnosno nazive koji su kao skraćenice već prepoznatljivi (standardne skraćenice, kao npr. DNK). Za svaku skraćenicu pun termin treba navesti pri prvom navođenju u tekstu, sem ako nije standardna jedinica mere. Ne koristiti skraćenice u naslovu. Izbegavati korišćenje skraćenica u kratkom sadržaju, ali ako su neophodne, svaku skraćenicu ponovo objasniti pri prvom navođenju u tekstu.

Decimalni brojevi: U tekstu rada decimalne brojeve pisati sa zarezom, a u tabelama, na grafikonima i drugim priložima, budući da se u njima navodi i prevod na engleskom jeziku, decimalne brojeve pisati sa tačkom (npr. u tekstu će biti 12,5±3,8, a u tabeli 12.5±3.8). Kad god je moguće broj zaokružiti na jednu decimalu.

Jedinice mere: Dužinu, visinu, težinu i zapreminu (volumen) izražavati u metričkim jedinicama (metar, kilogram, litar) ili njihovim delovima. Temperaturu izražavati u stepenima Celzijusa (°C), količinu supstance u molima (mol), a pritisak krvi u milimetrima živinog stuba (mm Hg). Sve rezultate hematoloških, kliničkih i biohemijskih merenja navoditi u metričkom sistemu prema Internacionalnom sistemu jedinica (SI).

Obim rukopisa: Celokupni rukopis rada – koji čine naslovna strana, kratak sadržaj, tekst rada, spisak literature, svi prilozi, odnosno potpisi za njih i *legenda (tabele, fotografije, grafikoni, sheme, crteži), naslovna strana i kratak sadržaj na engleskom jeziku – mora iznositi za originalni rad, saopštenje, pregled iz literature i vodič kliničke prakse do 5.000 reči, za prikaz bolesnika do 2.000 reči, za rad iz istorije medicine do 3.000 reči, za rad za praksu do 1.500 reči; radovi za ostale rubrike moraju imati do 1.000 reči.*

Provera broja reči u dokumentu može se izvršiti u programu Word kroz podmeni Tools – Word Count ili File – Properties – Statistics.

Tabele: Tabele se označavaju arapskim brojevima po redosledu navođenja u tekstu, sa nazivom na srpskom i engleskom jeziku. Tabele raditi isključivo u programu Word, kroz meni Table – Insert – Table, uz definisanje tačnog broja kolona i redova koji će činiti mrežu tabele. Desnim klikom na mišu – pomoću opcija Merge Cells i Split Cells – spajati, odnosno deliti ćelije. U jednu tabelu, u okviru iste ćelije, uneti i tekst na srpskom i tekst na engleskom jeziku – nikako ne praviti dve tabele sa dva jezika! Koristiti font Times New Roman, veličina slova 12 pt, sa jednostrukim proredom i bez uvlačenja teksta. Korišćene skraćenice u tabeli treba objasniti u legendi ispod tabele na srpskom i engleskom jeziku. Svaku tabelu odštampati na posebnom listu papira i dostaviti po jedan primerak uz svaku kopiju rada (ukupno tri primerka tabele za rad koji se predaje).

Fotografije: Fotografije se označavaju arapskim brojevima po redosledu navođenja u tekstu, sa nazivom na

srpskom i engleskom jeziku. Za svaku fotografiju dostaviti tri primerka ili tri seta u odvojenim kovertama. Primaju se isključivo originalne fotografije (crno-bele ili u boji), na sjajnom (glatom, a ne mat) papiru, po mogućstvu u formata 9×13 cm ili 10×15 cm.

Na poleđini svake fotografije staviti nalepnicu. Na njoj napisati redni broj fotografije i strelicom označiti gornji deo slike. Voditi računa da se fotografije ne oštete na bilo koji način.

Fotografije snimljene digitalnim fotoaparatom dostaviti e-mail-om, na CD-u i odštampane na papiru, vodeći računa o kvalitetu (oštrini) i veličini digitalnog zapsa. Poželjno je da rezolucija bude najmanje 150 dpi, format fotografije 10×15 cm, a format zapisa *.JPG.

Ukoliko autori nisu u mogućnosti da dostave originalne fotografije, treba ih skenirati kao Grayscale sa rezolucijom 300 dpi, u originalnoj veličini i snimiti na CD-u. Fotografije se mogu objaviti u boji, ali dodatne troškove štampe snosi autor.

Grafikoni: Grafikoni treba da budu urađeni i dostavljeni u programu Excel, da bi se videle prateće vrednosti raspoređene po ćelijama. Iste grafikone linkovati i u Word-ov dokument, gde se grafikoni označavaju arapskim brojevima po redosledu navođenja u tekstu, sa nazivom na srpskom i engleskom jeziku. Svi podaci na grafikonu kucaju se u fontu Times New Roman, na srpskom i engleskom jeziku. Korišćene skraćenice na grafikonu treba objasniti u legendi ispod grafikona na srpskom i engleskom jeziku. Svaki grafikon odštampati na posebnom listu papira i dostaviti po jedan primerak uz svaku kopiju rada (ukupno tri primerka za rad koji se predaje).

Sheme (crteži): Sheme raditi u programu Corel Draw ili Adobe Illustrator (programi za rad sa vektorima, krivama). Svi podaci na shemi kucaju se u fontu Times New Roman, na srpskom i engleskom jeziku, veličina slova 10 pt.

Korišćene skraćenice na shemi treba objasniti u legendi ispod sheme na srpskom i engleskom jeziku.

Svaku shemu odštampati na posebnom listu papira i dostaviti po jedan primerak uz svaku kopiju rada (ukupno tri primerka za rad koji se predaje).

Zahvalnica: Navesti sve one koji su doprineli stvaranju rada a ne ispunjavaju merila za autorstvo, kao što su osobe koje obezbeđuju tehničku pomoć, pomoć u pisanju rada ili rukovode odeljenjem koje obezbeđuje opštu pomoć. Finansijska i materijalna pomoć, u obliku sponzorstva, stipendija, poklona, opreme, lekova i drugo, treba takođe da bude navedena.

Literatura: Reference numerisati rednim arapskim brojevima prema redosledu navođenja u tekstu. Broj referenci ne bi trebalo da bude veći od 30, osim u pregledu iz literature, u kojem je dozvoljeno da ih bude do 50, dok za vodiče kliničke prakse broj referenci nije ograničen. Broj citiranih originalnih radova mora biti najmanje 80% od ukupnog broja referenci, odnosno broj citiranih knjiga, poglavlja u knjigama i preglednih članaka manji od 20%. Izbegavati korišćenje apstrakta kao reference, a apstrakte starije od dve godine ne citirati. Reference članaka koji su prihvaćeni za štampu treba označiti kao "u štampi" (in press) i priložiti dokaz o prihvatanju rada. Reference se citiraju prema tzv. vankuverskim pravilima

(Vankuverski stil), koja su zasnovana na formatima koja koriste National Library of Medicine i Index Medicus. Naslove časopisa skraćivati takođe prema načinu koji koristi Index Medicus (ne stavljati tačke posle skraćenica!). Za radove koji imaju do šest autora navesti sve autore. Za radove koji imaju više od šest autora navesti prva tri i et al. Stranice se citiraju tako što se navede početna stranica, a krajnja bez cifre ili cifara koje se ponavljaju (npr. od 152. do 157. stranice navodi se: 152-7).

Prilikom navođenja literature treba se pridržavati pomenutog standarda, jer je to vrlo bitan faktor za indeksiranje prilikom klasifikacije naučnih časopisa. Pravilnim navođenjem literature Srpski arhiv bi dobio na kvalitetu i bolje bi se kotirao na listi svetskih naučnih časopisa.

Primeri:

1. Članak u časopisu:

Maisch B, Seferovic PM, Ristic AD, et al. Guide lines on the diagnosis and management of pericardial diseases. Executivesummary. Eur Heart J 2004; 25(7): 587 - 610.

2. Poglavlje u knjizi:

Maisch B, Ristic AD, Funck R, et al. Dilated cardiomyopathies and congestive heart failure. In: Singal PK, Dixon IMC, Kirshenbaum LA, Dhalla NS, editors. Cardiac Remodeling and Failure. Boston-Dordrecht-London: Kluwer Academic Publishers; 2003. p.35-65.

3. Knjiga:

Seferovic PM, Spodick DH, Maisch B, editors, Maksimovic R, Ristic AD, assoc. editors. Pericardiology: Contemporary Answers to Continuing Challenges. Beograd: Nauka; 2000.

Propratno pismo:

Napomena:

Rad koji ne ispunjava uslove ovog uputstva ne može biti upućen na recenziju i biće vraćen autorima da ga dopune i isprave. Pridržavanjem uputstva za pisanje rada znatno će se skratiti vreme celokupnog procesa do objavljivanja rada u časopisu, što će pozitivno uticati na kvalitet i redovnost izlaženja časopisa.

Uz rukopis obavezno priložiti pismo koje su potpisali svi autori, a koje treba da sadrži:

► puna imena i prezimena autora (bez

**titula) sa tačnom godinom rođenja
sva kog od njih;**

► izjavu da rad prethodno nije publikovan i da nije istovremeno podnet za objavljivanje u nekom drugom časopisu i

► izjavu da su rukopis pročitali i odobrili svi autori koji ispunjavaju merila autorstva.

Propratno pismo mora biti potpisano, skenirano i u PDF ili JPG formatu poslato elektronski uz rad.

Takođe je potrebno dostaviti kopije svih dozvola za reprodukciju prethodno objavljenog materijala, upotrebu ilustracija i objavljivanje informacija o poznatim ličnostima ili imenovanje osoba koje su doprinele izradi rada.

Slanje rukopisa: Rukopis rada i svi prilozi uz rad dostavljaju se u elektronskoj formi putem e-mail-a glavnom uredniku Časopisa ili u pisanoj formi, zajedno sa CD-om na kome je snimljen identičan rad koji je u papirnoj formi. Rad se šalje preporučenom pošiljkom na adresu:

**Udrženje anestezišta, reanimatora i transfuzista Srbije,
ul. Svetog Save 39, 11000 Beograd,
sa naznakom za časopis ANESTEZIJA, REANIMACIJA, TRANSFUZIJA**

E-mail: udruzenjeart@gmail.com

Telefon glavnog urednika: 064 2400-652



Easy to use, robust, flexible ...
and now WiFi connected
throughout the hospital

Volumetric Infusion Pump



Syringe Infusion Pump



- Intuitive: Quick start within 25 seconds
- Flexible: Up to 19 possible configurations
- > 650 000 1st generation of Agilia pumps installed all over the world

**FRESENIUS
KABI**
caring for life

**FRESENIUS
KABI**
caring for life



EDIACOR



Dräger

MEDI RAY

AMICUS

Modern Medicines for All



APTUS d.o.o.



