

ČASOPIS UDRUŽENJA ANESTEZISTA
REANIMATORA I TRANSFUZISTA SRBIJE



ANESTEZIJA
REANIMACIJA
TRANSFUZIJA

BEOGRAD
2025

Časopis Udruženja anesteziologa, reanimologa i transfuzista Srbije

Glavni i odgovorni urednik: Dragoslav Itov

Uredivački odbor: Draga Udovica
Biljana Milutinović
Nikola Đorđević

Recenzenti: Akademik prof. Emeritus dr Bela Balint
VNS Mirjana Kovač
Prim. dr sc. med. Snežana Jovanović Srzentić
N sar. Prim. dr sc med. Zorana Andrić
Dr sc med. Olivera Savić
Prim.dr med. Lidija Mijović
Prof.dr sc med. Jasmina Grujić
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
N. sar. Prim dr sc med. Ana Mpmčilović
Dr spec. Zdravko Brkan
Doc. dr sc med. Goran Rondović
Dr spec. Aleksandar Vranjanac

Časopis izlazi kao dvobroj: Tiraž : 300

Štampa: ACTION PRO , Beograd

Predsednik Udruženja: Draga Udovica

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



S A D R Ź A J

**PERSONALIZED APHERESIS DESIGN –
PART ONE: THE EVIDENCE-BASED
OVERVIEW OF THERAPEUTIC
APHERETIC SYSTEMS**

Bela Balint, Mirjana Pavlovic, Sanja Toroman,
Milena Todorovic 7

**PERSONALIZED APHERESIS DESIGN –
PART TWO: CELL-MEDIATED
HEMOBIO THERAPY FOR ONCOLOGY
PATIENTS**

Bela Balint, Mirjana Pavlovic,
Milena Todorovic 23

**KLINIČKI ZNAČAJ RETKOG
PARABOMBAY FENOTIPA
PRIKAZ SLUČAJA**

Snežana Jovanović Srzentić, I.Radović,
I.Mladenović, A AlMamoori 37

**RAZVOJ MODIFIKOVANOG
PROTOKOLA PRIPREME AUTOLOGNIH
SERUM KAPI ZA OČI U
VOJNOMEDICINSKOJ AKADEMIJI**

Miodrag Jocić, Mirjana Grujić, Bela Balint 41

**DA LI JE HODGKINOV LIMFOM
POTENCIJALNO IZLEČIVA BOLEST ?**

Milena Todorović Balint, Nevena Bešević,
Andrej Pešić, Bela Balin 51

**PERIOPERATIVNO ZBRINJAVANJE
PACIJENATA NA TERAPIJI
DIREKTNIM ORALNIM
ANTIKOAGULANSIMA**

Ana Momčilović 61

**PATIENT BLOOD MANAGEMENT IN
PEDIATRIC TRANSFUSION MEDICINE**

Olivera Šerbić, Zorica Radonjić, Biljana Andrić,
Martina Blagojević69

**PATIENT BLOOD MANAGEMENT U
ORTOPEDSKOJ HIRURGIJI NA NIVOU
OPŠTE BOLNICE**

Svetislav Matić, Aleksandar Vukićević, Ljiljana
Paunović, Ljiljana Rakić, Milutin Mihajlović,
Slavka Petrić, Jelena Petrović, Nataša Živković,
Slobodan Ćosić, Anita Šutanovac,
Aleksandra Jevtić81

**PROTOKOL - AUTOLOGNA TRANSFUZIJA
- NAŠA ISKUSTVA**

Vladana Jovanović, Tamara Tasić, Vladislav
Stanković, Dušan Jovanović 93

**MONITORING CENTRALNOG VENSKOG
PRITISKA**

Ivana Tanović Nikolić, Dragan Đorđević 99

**PERIOPERATIVNA TERAPIJA
TEČNOSTIMA (PTT)**

Tanja Abazović, Katarina Mladenović,
Goran Rondović, Snježana Zeba105

**HOW TO CHOOSE ADEQUATE HEMODY-
NAMIC MONITORING DEVICES AND IN-
TERPRET MEASUREMENTS?**

Tanja Abazovic, Katarina Mladenovic,
Dragan Djordjevic, Snjezana Zeba 121



Vol. 47 1-2 2025.

ANESTEZIJA REANIMACIJA TRANSFUZIJA

PERSONALIZED APHERESIS DESIGN – PART ONE: THE EVIDENCE-BASED OVERVIEW OF THERAPEUTIC APHERETIC SYSTEMS

Bela Balint^{1,2}, Mirjana Pavlovic³, Sanja Toroman⁴, Milena Todorovic^{5,6}

¹Serbian Academy of Sciences and Arts, Department of Medical Sciences;

²University of Defense, Faculty of Medicine of the Military Medical Academy, Belgrade, Serbia;

³Department of Electrical Engineering and Computer Science, Florida Atlantic University, Boca Raton, USA.

⁴SJOG Midland Hospital, Midland, Perth, Western Australia;

⁵University Clinical Center of Serbia, Clinic for Hematology, Belgrade, Serbia;

⁶University of Belgrade, Faculty of Medicine, Belgrade, Serbia.

Abstract

Besides component support by transfusion, the term hemotherapy also involves the use of apheresis (hemapheresis) procedures and stem cell (SC) harvesting for SC-transplants and use in regenerative medicine. The goal of apheresis is collection of specific blood components, to be precise plasma and/or cells (donor apheresis – DAph) and abnormal blood components removal/replacement to achieve positive curative effect (therapeutic apheresis – TAph). TAph represents a "promptly-acting" medical "hemomodulatory-tool" with the purpose of removing altered or excessive constituents from the bloodstream. The aim of TAph is to reduce the "patients' load" of pathogenic agents responsible for the development of disease to the levels that will allow clinical improvement. Based on the criteria of what is the apheresis substrate – it is possible to classify apheresis into plasmapheresis, therapeutic plasma exchange (TPE) and donor or therapeutic cytappheresis (TC). Blood cells, plasma or plasma constituents can be replaced with normal cells, plasma or a suitable replacement fluid. TPE is an apheretic procedure providing rapid removal of plasma – one or more patient's circulating volume – regardless of which fluid (plasma or albumin with crystalloids) is used as a replacement. This article is a systematic overview of current knowledge regarding apheresis – especially TAph.

Key words: apheresis, apheretic donation, therapeutic plasma exchange, therapeutic cytappheresis

Apheresis – a simple design with essential data

Other than supportive therapy using whole blood (rarely), red blood cell (RBC), platelet (Plt) and plasma transfusions, hemotherapy includes different apheresis procedures to remove/replace altered or overproduced (ac-

cumulated) blood components – cells and plasma contents. In an extensive viewpoint, hemotherapy also involves collection, *ex vivo* manipulation and clinical use of stem cells (SCs) for SC-transplants and regenerative medicine. Thus, the objective of hemotherapy is reconstitution of a "hemobiological" (that is hematolog-

ical, immunological, hemorheological, etc.) homeostasis by recovering missing blood component(s), as well as through use of apheresis and other "hemomodifying" procedures. By doing this, the circulating blood volume is reestablished, but also the "blood-oxiform-function" (oxygen binding/transport), hemostasis and activity of "immune-response-mediators" are restored. The rationalized and "well-timed" hemotherapy is contributing to increased revival and survival of patients with some "life-threatening" conditions [1–4].

In practice, apheresis includes exfusion (transitory removal) of the part of whole blood from circulation, its *ex vivo* (extracorporeal) separation into components, collection/removal of selected constituent (plasma or specific cells) and reinfusion into bloodstream of remaining or "reconstituted" fraction of the blood. Apheresis can be used with the aim to collect blood component(s) (donor apheresis – Daph) or to achieve beneficial curative effect by treating patients – procedure known as therapeutic apheresis (TAph). This aphaeretic treatment should be combined (typically or always) with immunomodulating and other medication [2–5]. An up to date classification of "non-donor" apheresis procedures includes categorization into "conventional-TAph" and "diagnostic-apheresis" – that is collection and concentration of "minor-level" blood element(s) for superior detection and recognition of specific disease markers and/or characteristics [6].

Based on the criteria of what is the removed blood constituent – altered or with a specific "pathogenic agent" – it is possible to classify TAph into therapeutic plasma exchange (TPE) and therapeutic cytappheresis (TC). In short, TPE is a replacement of patients' plasma with an adequate substitution fluid or with normal (allogeneic) or modified autologous

plasma. The basic goal of TC is to reduce the blood cell count and cellular hyperviscosity syndrome (hemorheological repair), as well as to replace abnormal cellular division with working allogeneic cells [1–4].

Historically, apheresis begins with animal model of blood exfusion, followed by plasma collection and reinfusion of blood cells in 1914 (Abel with coworkers) [7]. According to published data, the first therapeutic "plasmapheresis" in humans was performed in 1950s (Adams JJ, et al.) [8]. Undoubtedly, positive result of TPE in the treatment of macroglobulinemia was described in the 1960s (Schwab WS, et al.) [9]. Subsequently, a beneficial effect of TC in patients with leukemia was reported (Bierman HR, et al.) [10]. The positive effect of TPE in therapy of immune-mediated disorders in 1970s was additionally published – Lockwood CM, et al. for Goodpasture's syndrome; Pinching AJ, et al. for myasthenia gravis [11, 12].

In our country, the first TAph was performed (in the Department for Transfusiology of MMA) in the late 60s of the twentieth century (by manual technique) for the treatment of multiple myeloma, while the therapeutic cytappheresis started from 1971 in the therapy of pregnancy with hyperleukocyte-leukostasis (Radovic M, et al.) [13]. The first cell separator was used in 1979 in the same apheresis center [4].

The objective of this manuscript is to provide an overview of current knowledge regarding apheresis – especially TAph. Prior to presenting the data of our aphaeretic preclinical researches and clinical studies, some generally accepted characteristics of TAph will be addressed.

Apheretic donation of blood components

Briefly, DAph could be defined as a procedure of harvesting concentrated blood components designed for therapeutic use or following *ex vivo* manipulations. The aim of DAphD-practice is to collect specific blood components – targeted blood cells, progenitors, SCs (allogeneic or autologous) with high quantity, purity and quality and/or plasma. As a result of therapeutic use of apheretic products, it is expected to achieve a superior clinical outcome of the supportive treatment and minimizing adverse events, such as alloimmunization and virus transmission [1–3].

It needs to be highlighted that apheresis procedures (including DAph too) are relatively aggressive methods, which involves direct intervention into circulatory system of person which might be followed by adverse events. To minimize them, special criteria for selection of apheretic must be applied. Thus, complete hematological work up – blood cell count, biochemistry, immunology, screening tests for coagulation – must be determined by clinical monitoring of some donors during apheresis [2–5].

Excluding quantification of harvested SCs and immunocompetent cells (they will be illustrated later) – specific details related to technical facts of DAph-practice, as well as biophysical, biochemical, cytomorphological and functional characteristics of collected targeted cells will not be presented in this review.

Therapeutic apheresis – strategy and evidence-based guidelines

TAph is a disease-modifying therapeutic approach by which it is possible to remove different qualitatively changed (abnormal) blo-

od components or to decrease excessive quantity of cellular elements. It is an effective and "promptly acting" curative blood "purification-tool" designed to reduce harmful "pathogenic substrate(s)" in the patient's bloodstream (body). Blood cells, plasma or plasma constituents can be removed and substituted with normal cells, plasma or an appropriate replacement fluid [4, 14–17].

The basic goal of evidence-based TAph practice is to reduce the "patient's load" of mentioned "pathogenic agents" responsible for the development of disease to the levels that will allow clinical recovery. Thus, using TAph procedures quantitatively or qualitatively altered blood constituents (with endogenous or exogenous pathogens) are eliminated from the circulation, while the remainder (combined with blood cells, plasma or replacement fluid) is returned to the patient's circulation [5, 14, 15].

Commonly, TAph procedures should be combined with immunosuppressive treatment and other medication. The most sensitive and vulnerable "curative-catch-22" or paradox for TAph (especially TCs) is as precise as possible determination of the most optimal treatment timing and approach – or even better, "time-frequency-intensity-continuum" of apheresis procedures [2, 14–16].

TAph is an aggressive method, with a direct intervention into patient's circulation – thus it can be associated with severe adverse events and complications (will be described in details later). To be minimized, different criteria for selection of blood component donors and patients must be applied [4, 14].

In the next part of manuscript, various categories of TAph procedures, mechanisms of their therapeutic action and confirmed indications – with concise illustration of hemomodula-

tory and other clinical effects of treatments (primarily following TPE) in our apheresis center – will be presented.

Therapeutic plasma exchange – common facts and our data

TPE is an aphaeretic procedure providing rapid effective removal of "whole" plasma (one or more patients' circulating volume) regardless of replacement fluid applied for substitution. Thus, TPE is an exchange of patients' plasma with an adequate fluid replacement (typically albumin with saline), as well as with normal allogeneic or modified autologous (by extracorporeal immunoabsorption – ECIA) plasma. Generally, the use of "selective" TPE results in reduced risk of side effects (immunomodulation or virus transmission) since "purified" autologous plasma is used as a replacement fluid [4, 17–23].

Positive clinical effects of TPE are based on the removal of unwanted (harmful) substances from circulation or replacement of insufficient (helpful) plasma constituent(s). Thus, the most im-

portant effects of TPE are removal of a pathogen(s) or altered component(s) – responsible for disease pathogenesis directly or indirectly – or recovery of deficiency of specific plasma constituents, responsible for a disorder, using "normal" plasma, as replacement fluid. Applied together with appropriate medication, this treatment commonly results in improvements in laboratory (blood parameters) and clinical presentation [13, 17–23].

Since mediators of the immune response have a significant role in the etiopathogenesis of hematological, neurological, nephrological and other immune-mediated disorders – immunomodulating agents and procedures (TPE) are commonly used as an additive therapy. The use of TPE results in: 1) alteration of the antigen-to-antibody ratio; 2) reduction of immune complex concentration in plasma; 3) systemic purification or depuration/detoxication; 4) modification of immunoinflammatory cytokines—directly or indirectly responsible for etiopathogenesis of the diseases [1, 14–23]. These common effects of TPE-treatments are summarized in Table 1.

Table 1.

Universal therapeutic effects of TPE-treatments

Removal of pathogenic agents	antigens or antibodies immune-complexes cytokines or their inhibitors paraproteins or cryoglobulins metabolic products poisons or drugs excessive normal plasma constituents
Immunomodulation	
Detoxication/depuration	
Replacement of a deficient plasma constituent	

MNFS = mononuclear-phagocytic system.

Occasionally, TPE can also be effective when antibody is not demonstrable, suggesting that current assays do not detect all pathogenic antibodies and other immunoreactions [13]. Specific drugs (applied simultaneously with TPE) along with immunosuppressive consequences mentioned, can also inhibit a "rebound" in-

crease in the rate of antibody synthesis following TPE procedures [1, 4, 18].

The confirmed and potentially/conditionally accepted indications [1, 4, 14–23] with the most important parameters of the monitoring of TPE-treatments are shown in Table 2.

Table 2.

Indications and monitoring parameters for TPE

Disorders/diseases	Observation parameters
Confirmed therapeutic benefit	
Paraproteinemia (serum hyperviscosity syndrome)	monoclonal immunoglobulins
Myasthenia gravis (crisis)	plasma viscosity level
Goodpasture's syndrome	anti-acetylcholine receptor antibody
	antiglomerular basement-membrane antibodies
Acute Guillain-Barre's syndrome	unknown
Cryoglobulinemia	cryoglobulins
TTP/HUS	unknown
Hemophilia with inhibitors	antibody against VIII coagulation factor
Cold agglutinin disease	cold agglutinin
Exogenous poisoning	amanitin, parathion, digoxin and others
Conditional/restricted healing advantage	
Familial hypercholesteremia	cholesterol
SLE	immune complexes, antinuclear antibodies
Hypersensitivity vacuities	
Cryoglobulinemic vacuities	
Primary antiphospholipid syndrome	
Fetomaternal incompatibility	immune antierythrocyte alloantibodies
Progressive glomerulonephritis	immune complexes
Pemphigus vulgaris (and pemphigoid)	antibodies against basement-membrane

TTP = Thrombotic thrombocytopenic purpura; HUS = Hemolytic uremic syndrome; SLE = Systemic lupus erythematosus.

TPE treatment is undoubtedly useful in management of patients with thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP), immune-mediated neurological disorders, Goodpasture's syndrome and some exogenous poisoning. The use of apheresis is acceptable in management of hy

percholesterolemia, cryoglobulinemia, "plasma/serum hyperviscosity syndrome" (SHVS) hypersensitivity vasculitis, some forms of glomerulonephritis, fetomaternal alloimmunization and other disorders [4, 17–23].

Finally, opinions concerning rationalization of the use of different TAph techniques (TPE or "multi-manner" apheresis – MMAph) in cancer patients are not the same. While some tumors can be treated to some degree by TPE (thymoma, multiple myeloma), the majority do not respond to TAph [3, 24].

Our clinical studies – based on more than half-century experience with apheresis – confirmed that using TPE delivered the best therapeutic response in hematological patients with TTP. TPE-treatment in this group of pa-

tients manifested with disappearance of symptoms and signs, return of renal function, increase in platelet count, long-term benefits and complete clinical remission. The number of performed TPEs in the treatment of 24 years old female patient with TTP was 35, and the total volume of the exchanged plasma was 101,6 L (replaced with 76 L cryosupernatant in combination with normal saline) [13, 16, 17]. For other hematological patients, data are classified based on the type of disease and beneficial "para-clinical", as well as clinical effects of TPEs are summarized in Table 3.

Table 3.

Advantageous clinical effects of the TPE-treatment in hematology

Hyperviscosity syndrome

- paraprotein depletion
- viscosity reduction and blood flow improvement
- hematologic, hemostasis and normalization
- renal abnormalities decrease
- disappearance of rouleaux
- regression of neurologic, visual, auditory and other disturbances

Immune-complex disease

- antigen, antibody and immune– complex removal
- stimulation of function of B-cells and T-cells
- modulation of immune-mediators
- disappearance/lessening of some symptoms and signs

Autoimmune hemolytic anemia

- lowering of titer and thermal amplitude of cold autoantibodies
- longer red cell life
- general clinical improvement

Cryoglobulinemia

- cryoglobulin reduction
- viscosity reduction and blood flow improvement
- disappearance of purpura
- neurologic function restitution
- renal function reversal

Cold agglutinin disease

- fall in cold agglutinin level
- decrease in the rate of hemolysis
- lowering of thermal amplitude of cold agglutinin

As demonstrated, TPEs applied in the treatment of our patients with SHVS resulted in reduction of plasma paraprotein level, hyperviscosity reduction and marked clinical improvement. There were beneficial therapeutic effects of TPE also in patients with circulating immune complexes. The use of TPE in the treatment of cryoglobulinemia resulted in a decrease in cryoglobulin concentration followed by improvement in renal function and other abnormalities. Patients with cold agglutinin disease had better laboratory findings (the reduction of cold agglutinins was from initial titer = 8 388 608 to the final titer = 2 048) and good clinical improvement [13, 16, 17]. Patients tolerated the intensive TPEs well, without severe adverse effects and with long-term positive clinical outcome.

In our group of patients with immune-mediated neurological disorders – myasthenia gravis (MG) and acute Guillain-Barre's syndrome or acute polyradiculoneuropathy (APRN) – positive clinical effects were manifested by recovery of the rough motor activity, disappearance of respiratory failure, improved speech, normalization in chewing and swallowing functions and disappearance of visual problems (MG setting). If the "MG-crisis" was recurred or patient's condition was exacerbated, TPEs were repeated. Results obtained for patients with APRN confirmed that there was significantly better and faster improvement, as well as recovery from neurological deficiency and peripheral nerve conduction in patients – particularly when started early in the course of disease – with combination of immunosuppressive drugs and TPE [17, 18].

In summary, it was demonstrated that there was clear evidence of beneficial effects of "conventional" TPE in treatment of immune-mediated hematological and neurological dis-

eases/disorders. TPE might limit damage to various organs, accelerate recovery and lead to an improvement of patient's general clinical status [1, 13, 17].

Selective plasma exchange – significance and our data

Conventional TPE is a useful aphaeretic method – but its "weak-point" is the absence of "depletion-selectivity". During the last decades, essential progress has been achieved with removal of the only specific "unwanted" substance (harmful pathogenic agent) from the patient's plasma, resulting in the introduction/development of series of new apheresis procedures – such as selective TPE, granulocyte adsorption and photopheresis. Selective TPE guarantees high blood purification with reduced risk of plasma constituent loss, immunomodulation and virus transmission – since in this procedure the removed plasma is substituted by "purified" (immunoadsorbed) autologous plasma [25–29].

In our earlier phase-I preclinical research, the efficacy of our original "pre-conditioning regimen" (TPE-ECIA system) for ABO-incompatible kidney transplants was evaluated. As observed, parameters of biochemistry, hemostatic activity, immunoglobulin and complement levels were practically identical in plasma samples before and after TPE plus ECIA. On the contrary, donor-specific ABO alloantibody concentrations in recipient plasma were significantly ($p < 0.01$) reduced [28]. In our phase-II clinical study was confirmed that the use of original TPE-ECIA system resulted in high anti-A/B *in vivo* depletion before surgery, i.e. kidney transplant (target antibody titer ≤ 4). Low-level antibody titer was kept in post-transplant period, without "rebound" increase in the rate of antibody synthesis – with positive peri-transplant multi-

laboratory findings and overall clinical outcome of transplants [29]. In summary, it was confirmed that the use of anti-CD20 and our original TPE plus ECIA-system with triple immunosuppression resulted in rapid ABO-antibody depletion and beneficial clinical results. There were neither side effects of apheresis, nor any intraoperative complications or graft rejection [28, 29].

The C-reactive protein apheresis (CRP-apheresis) following ST-elevation myocardial infarction (STEMI) is feasible, safe and results presented from a small cohort showed significant beneficial effects of CRP both on myocardial infarction size, and wall motion. Therefore, CRP reduction from plasma brings selective CRP-apheresis as an innovative therapeutic approach in treatment of acute myocardial infarction (AMI) [25–27].

Our clinical investigations confirmed that early performed CRP-apheresis is undoubtedly a promising innovative therapeutic approach for STEMI treatment that could provide a reduced size of infarction zone – with inferior occurrence of heart failure after AMI. Precise and complete evaluation of the efficacy and safety of this treatment require further multicenter randomized and larger clinical studies [25–27].

The original "multi-modal" or "multi-manner" apheresis

Concisely, the essence or "focal-point" of our original and innovative MMAph is simultaneously alteration or correction of more than one blood component, as well as blood structural or functional abnormality at the same time. The basic goal of MMAph is to offer the possibility of rapid returning from some "life-threatening" (irreversible) emergency to the "district" of still

unbalanced, but reversible clinical condition or crisis. This will most likely enable recovery of patient's hematological homeostasis with positive overall clinical outcome [4, 29–32].

The use of MMAph can result in 1) rapid and intensive recovery of blood oxygen-carrying capacity (without circulation overload); 2) optimization of plasma and total body fluid volume; 3) immunomodulatory effect and 4) hemorheological repair. Thus, beneficial effects of MMAph are coming from the removal of unwanted agent(s) from circulation and/or extensive enrichment of deficient blood component(s) – without overload of intravascular fluid volume [4, 29, 32].

Therapeutic cytapheresis

The use of TC is an effective "disease-modifying" therapeutic approach or curative method in which quantitatively or qualitatively altered blood cell(s) are removed from the bloodstream – while the residue is returned to the circulation. Removed cells could be substituted with normal cells (during RBC exchange – RBCX) as needed. The basic goal of "conventional" TCs is to reduce excessive blood cell quantity in organism and then alleviate or prevent signs and symptoms of "cellular hyperviscosity syndrome" (CHVS) caused by various "cytemias". Therefore, TCs (symptomatic or prophylactic) combined with immunochemotherapy regimen and other medication, result in hemobiological (hematological, immunological, hemorheological) and patient's overall clinical recovery [1, 33–42].

The start of TC treatment depends on the total quantity of blood cells within circulation, i.e. in the body, rarely from the extra-vascular versus intra-vascular cell ratio, as well as intensity (kinetics) of cell production (cytogenesis) in

the "peri-apheresis" period. The automated TC using cell separators (compared to manual technique) is faster and for the patient more appropriate, because at the same time it is synchronized with regulation of intravascular volume and replacement with normal blood cells – if it is required. Patients are typically anticoagulated by acid-citrate-dextrose formula B (ACD-B; 1.8% citrate concentration) or using 20% sodium-citrate with hydroxyethyl-starch (450 kDa), as a "rouleaux-forming-agent" (granulocytapheresis) [1, 35–42]. According to cells removed, TCs can be categorized into leukocytapheresis (TL), plateletapheresis/thrombocytapheresis (TP) and erythrocytapheresis (TE).

The aim of TL procedures is white blood cell (WBC) count reduction and hyperleukocyte-leukostasis reverse, regression of organomegaly and lymphadenomegaly and improvement in patient's clinical status (1, 33–36). TLs represent a useful "cytoreductive" therapy during stated "leukostasis crisis" when the number of circulating WBCs $\geq 150 \times 10^9/L$. In the treatment of patients with excessive number ($500 \times 10^9/L$ or more) of leukemic cells in the bloodstream, their removal by TL would have been adequate to "partial excision" of tumor mass – approximately 1.0–1.5 kg of total cell mass in the cell suspension removed [4, 33, 39].

The objective of TE treatment is to obtain a hemorheological advance in microcirculation – that is to reduce the excessive RBC count and symptoms of the CHVS. As stated, the procedures of TL and TP are typically performed by blood cell separators, which operate in a fully automatic manner and minimize inter-individual variations. For therapy of patients with polycythemia or secondary erythrocytosis usually a manual TE-techniques – with multiple plastic bags system – are used.

Besides removal of the excess of circulating RBCs from patient's blood, using TE it is possible to achieve hemorheological recovery – a reduction of CHVS with consecutive improvement of tissue perfusion and intensified oxygenation [4, 5, 36, 37].

TP is useful in the treatment of primary or essential thrombocythemia and secondary or reactive thrombocytosis until chemotherapy, anti-platelet drugs and other medication takes effect. The use of TP is indicated when the Plt count $\geq 1500 \times 10^9/L$ ("hyperthrombocytosis" or "extreme thrombocytosis" – ETC) [36, 39, 41, 42]. The existence of symptomatic-ECT – with "functionally-abnormal" Plts and/or von-Willebrand-factor multimers – increases the incidence of "thrombotic-hemorrhagic" events. Although the degree of Plt count rise and the complexity of patient clinical presentation (status) are not always causally associated – Plt quantification is practical in prediction of patient's hemostatic risk. However, for asymptomatic-ETC a broadly accepted treatment guidelines (an exact apheresis-threshold, therapeutic target Plt-count) remains still with no solution [5, 39, 41, 42].

The basic goal of "non-conventional" or "rationalized" TC procedures, such as photopheresis, adsorptive granulocytapheresis and RBCX are both: 1) cell count reduction in circulation and target tissues (adsorptive granulocytapheresis) and 2) *ex vivo* modification of functions of "disease-responsible" immunocompetent cells prior to reinfusion (photopheresis), as well as removal or exchange of abnormal cells (RBCX) [33, 35, 38, 40]. RBCX procedures are indicated for treatment of patients with abnormal (altered) RBCs and consecutive hemorheological abnormality with other hemobiological disturbances. Therefore, the reason for RBCX in the treatment of thalassemia major or β -thalassemia, malaria and

other "cell-affected" blood disorders is a replacement of altered RBCs and anemia correction, leading to frequently long-term beneficial outcomes.[1, 33, 35].

Stem cell collection by apheresis

In the following part of the manuscript some technical aspects of aphaeretic parameters (processed blood volume, collection timing, and cell yield/distribution) will be presented concisely for mononuclear cell (MNC) and SC harvesting using different apheresis protocols. The clinical aspects of the SC-transplants will not be discussed.

Immature SCs could be characterized as cells having self-renewal ability, differentiation and proliferative capacity – expansion into "more-developed-daughter" cells. The very primitive SC compartment has a potential for SC-plasticity – that is ability to "switch" into the cell lineages of "host" organ. Hematopoietic SCs and progenitors express a specific CD34 antigen (CD34⁺ cells). On the surface of very primitive SCs, the CD90 antigen (CD34⁺/CD90⁺ compartment) is typical [43, 46–49].

As mentioned, SCs provide complete, stable and long-term bone marrow (BM) repopulation with hematopoietic reconstitution following SC-transplants. More immature SCs can colonize the "host" tissue ("homing" and "trans-differentiation"). Thus, they are clinically applicable for "cell-therapy" – creating new perspectives in the fields of regenerative medicine [49–51]. Traditional SC sources are BM and peripheral blood (PB) or rarely umbilical cord blood (UCB) as an alternative source for SC collection [2–4, 43–45]. Nowadays, PB-derived SCs are used for over 80% of allogeneic and practically for all autologous SC-transplants [43, 46–49].

The SC harvesting from PB is an aphaeretic procedure – conventional (two patients' blood volume is processed) or more intensive large-volume leukapheresis (LVL) – with respect to the standardized protocol and cell yield/ viability, as well as cellular distribution. Using LVL procedures, commonly three or more patient's blood volume is processed [43, 44]. For allogeneic SC-transplants, venous access is usually established via ante-cubical veins. In autologous setting, SC collection should be performed via central-venous catheters as vascular access [2–4, 43]. Patients are anticoagulated usually by ACD-A (2.2% citrate concentration) or rarely with ACD-B (1.8% citrate concentration). Additional systemic or SC-harvest heparinization is not required [4, 44].

The standard mobilizing regimen for allogeneic SC harvesting is rHuG-CSF 5–10 µg/kgbm daily (five days) and for autologous SC collection cyclophosphamide or polychemotherapy and rHuG-CSF 12–16 µg/kgbm per day – until the "optimized timing" for cell harvesting [3, 43, 46, 47]. Some patients may be "poor responders" or "poor-mobilizers" to standard cell mobilization. An innovative SC mobilizing regimen uses plerixafor (mozobil) to obtain adequate SC yield from the PB of theses "poor-responders" [48]. There are data on an improved mobilizing regimen, with the use of plerixafor and rHuG-CSF on a higher immature SC count in the PB and a superior CD34⁺ yield in the graft or cell suspension [4, 35, 43].

Our data also confirmed the efficacy of this mobilization protocol using plerixafor (240–282 µg/kgbm subcutaneously 6 hours before CD34⁺ cell quantification) combined with rHuG-CSF (12–16 µg/kgbm, every day) [48]. Our earlier preclinical SC cryoinvestigation has also confirmed that ratio of more primitive SC

(CD34⁺/CD90⁺ subset) in PB could be also a useful mobilization predictive factor to determine optimized timing for cell harvesting and predictor of the harvest quality [46].

The commonly established timing for allogeneic SC harvesting is on the 5th day (at maximum "CD34⁺ peak") of rHuG-CSF administration [4, 35, 43]. The precise determination of the "optimal timing" for autologous SC harvesting is more complex. These patients are given higher rHuG-CSF dose combined with chemotherapy. The count of circulating CD34⁺ cells correlates with the superior CD34⁺ yield in the harvest and SC-transplant efficacy. When the number of CD34⁺ ≥ 20 –40/ μ L in PB, the possibility to collect CD34⁺ $\geq 2.5 \times 10^6$ per kgbm is approximately 60% [3, 43]. In fact, a successful SC-transplant can be expected when the yield of CD34⁺ cells is 4×10^6 /kgbm (or more likely $\geq 5 \times 10^6$ /kgbm) [4, 46–48].

As previously mentioned, the cell harvest *ex vivo* manipulations – immunomagnetic sorting (positive or negative cell selection), cryopreservation, details of therapeutic use of SC in transplants or regenerative medicine – course and overall outcome of treatments – will not be discussed in this paper.

Adverse events and side effects of apheresis

Apheresis is more or less aggressive procedure due to its direct intervention into patient's circulation. Thus, TAph might be followed by adverse events – side effects and complications. In order to minimize them, special criteria for choice of aphaeretic donors and patients are applied. In addition, specific blood tests such as blood cell count, biochemistry, coagulation profile are also required –

along with clinical follow up of the individuals selected for TAph treatment [4, 14, 43, 52].

The performance of TAph treatments is not possible without: 1) updated personal knowledge in hematology, immunology, biochemistry, hemorheology; 2) rationalized education of aphaeretic team members for treatment of acute "life-threatening" conditions; 3) clinical experience related to work with extracorporeal circulation and cardio pulmonary reanimation; 4) personnel competency to use "last-generation" of aphaeretic equipments. For that reason, therapeutic apheresis is applied only in medical centers with tertiary-level of healthcare and in the countries with developed medical services[4, 43].

The use of central-venous catheters (as vascular access) may be sometimes associated with *in situ* thrombosis. In addition, there is approximately one percent of the "central-venous catheter-related hazard" of the local infection, pneumothorax or bleeding. However, allogeneic and autologous SC donors (with central-venous catheters) usually tolerate well the use of apheresis (including intensive LVL) with no severe adverse events [3, 43, 44]. The occurrence of mild hypocalcemia symptoms – such as paresthesia, nausea and lightheadedness – due to citrate effects is common for SC. However, these adverse events are infrequent and without difficulty can be well controlled and managed. Finally, the application of SC mobilization regimens may result in donor immediate discomfort (bone pain, headache, somnolence, lethargy and flu-like symptoms) with no confirmed delayed adverse events [43, 44, 52].

Conclusions

Based on literature data and our results it is possible to conclude that application of apheresis treatment in optimized time and with appropriate intensity/frequency – along with the use of the most workable apheresis devices, protocols and systems for TPE or cytappheresis – results in high-quality and promising pathogen and excessive or altered blood cell depletion in the treatment of patients with a range of hemobiological clinical emergencies.

Overall, the results of TPE treatments, as well as within our group of immune-mediated disorders (evidence-based data) were beneficial. Procedures of TCs resulted in a significant fall of the circulating blood cell count and hemorheological improvement, as well as with replacement of abnormal cells. However, additional standardization of different apheresis protocols is required. An optimal apheresis protocol and timing for SC harvesting undoubtedly results in a higher CD34⁺/CD90⁺ cell yields and have influenced better marrow repopulation ability with rapid, complete and long-term hematopoietic reconstitution.

References

1. Winters JL, Dunbar NM. Apheresis Principles and Practice; Vol. 1: Therapeutic Apheresis, 4th edition. Bethesda: AABB Press; 2020.
2. Balint B, Pavlovic M, Abazovic Dz, Toroman S, Grubovic Rastvorcova RM, Dinić M, Todorovic Balint M. Cellular cryobiology – a review of basic concepts and "operating-design" of cryopreserved cells. *Vojnosanit Pregl* 2023; 80(11): 899–905.
3. Balint B, Pavlovic M, Todorovic M. The use of apheresis in personalized cell-mediated treatment of prostate cancer. In: Kocic G, Hadzi Djokic J, Simic T, eds. *Prostate cancer: advancements in the pathogenesis, diagnosis and personalized therapy*. Heidelberg: Springer-Nature. 2024; p. 263–293.
4. Balint B, Vucetic D, Ostojic G, Ljubenov M. *Basic of transfusion medicine with hemobiology*. Belgrade: Faculty of Medicine MMA and Defense Media Center; 2015.
5. Balint B, Pavlovic M, Todorovic M. Rapid cytoreduction by plateletapheresis in the treatment of thrombocytopenia. In: Kerrigan SW, editor. *Platelets*. London: InTech Open. 2020. p. 151–66.
6. Zikou X, Vaia D, Vasiliki P, Panagiotis C, Stavros A. Use of therapeutic apheresis methods in ICU. *Transfus Apher Sci* 2024; 63(1): 103853. doi:10.1016/j.transci.2023.103853
7. Abel JJ, Roowntree LG, Turner BB. Plasma removal with return of corpuscles (plasmapheresis). *J Pharmacol Exp Ther* 1914; 5: 628–41.
8. Adams WS, Bland WH, Bassetts H. A method of human plasmapheresis. *Proc Soc Exp Biol Med* 1952; 80: 371–7.
9. Schwab PJ, Fahey JL. Treatment of Waldenström's macroglobulinemia by plasmapheresis. *N J Engl Med* 1960; 263: 574–9.
10. Bierman HR, Marshall GJ, Kellz KH. Leukapheresis in man. III Hematologic observations in patients with leukemia and myeloid metaplasia. *Blood* 1963; 21: 164–9.
11. 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.

12. Pinching AJ, Peters DK, Newson DJ. Remission of myasthenia gravis following plasma exchange. *Lancet* 1976; ii: 1373–6.
13. Radovic M, Balint B, Tiska-Rudman Lj, Milenkovic Lj, Taseski J. Application of therapeutic plasma exchange in hematology. *Transf Sci* 1994; 15: 481–5.
14. Padmanabhan A, Connelly-Smith L, Aquilino N, Balogun RA, Klingel R, Meyer E, et al. Guidelines on the use of therapeutic apheresis in clinical practice – Evidence-based approach from the Writing Committee of the American Society for Apheresis: The eighth special issue. *J Clin Apher* 2019; 34(3): 171–354.
15. Rock G. Apheresis then and now. *Transfus Apher Sci* 2019; 58(3): 230–6.
16. Balint B and the National Apheresis Group. Apheresis in donor and therapeutic settings: recruitments vs. possibilities – a multicenter study. *Transf Apher Sci* 2005; 33: 229–37.
17. 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: 73–80.
18. Radovic M, Balint B, Jovicic A. The use of therapeutic plasma exchange for treatment of acute polyradiculoneuropathy. *Transfus Sci* 1995; 16: 167–71.
19. Garraud O. Therapeutic plasma exchange, 2019 and beyond. *Transfus Apher Sci* 2019; 58(3): 226–7.
20. 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.
21. Lozano M, Rivero A, Cid J. Plasma exchange activity in the European Union. *Transfus Apher Sci* 2019; 58(3): 278–80.
22. 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.
23. Zanatta E, Cozzi M, Marson P, Cozzi F. The role of plasma exchange in the management of autoimmune disorders. *Br J Hematol* 2019; 186(2): 207–19.
24. Hu Y, Yang H, Fu S, Wu J. Therapeutic plasma exchange: For cancer patients. *Cancer Manag Res* 2022; 14: 411–425.
25. 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.
26. 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 re-infarction. *Blood Purif* 2021; 50(3): 399–401.
27. Milosevic M, Balint B, Ilic I, Dukuljev N, Otasevic P. C-reactive protein apheresis in acute myocardial infarction. *Curr Pharm Des* 2023; 29(8): 555–8.
28. Balint B, Pavlovic M, Jevtic M, Hrvacevic R, Ostojic G, Ignjatovic Lj, Mijuskovic Z, Blagojevic R, Trkuljic M. Simple "closed-circuit" group-specific immunoadsorption system for ABO-incompatible kidney transplants. *Transf Apher Sci* 2007; 36: 225–33.
29. Balint B, Pavlovic M, Todorovic M, Jevtic M, Ristanovic E, Ignjatovic Lj. The use of simplified ex vivo immunoadsorption and "multi-manner" apheresis in ABO/H-

- mismatched kidney transplant setting – phase II clinical study. *Transf Apher Sci* 2010; 43:141–8.
30. Todorovic M, Balint B, Suvajdzic N, Pavlovic M, Petrovic M, Jevtic M, et al. Triple-way therapeutic approach for paraganglioma-dependent erythrocytosis: drugs plus surgery plus "multi-manner" apheresis. *Med Oncol* 2008; 25: 148–53.
31. Balint B, Stepic N, Todorovic M, Zolotar-evski L, Ostojic G, Vucetic D et al. Ibuprofen induced extensive toxic epidermal necrolysis – a single center experience with multidisciplinary therapeutic approach. *Blood Transfus* 2014; 12: 438-9.
32. Balint B, Todorovic-Balint M, Ljubenov M, Tarabar O, Pavlovic M, Kanjuh V. Apheretic "rescue-protocol" designed for treatment of CLL associated lifethreatening hemolytic crisis. *Transfus Apher Sci* 2015; 52(2): 256–8.
33. Balint B, Ostojic G, Pavlovic M, Hrvacevic R, Pavlovic M, Tukic Lj, et al. Cytopheresis in the treatment of cell-affected blood disorders and abnormalities. *Transf Apher Sci* 2006; 35: 25–31.
34. Balint B, Gazivoda D, Todorovic-Balint M, Lazic Z, Pavlovic M, Kanjuh V. "Triple-way" approach for the treatment of dry socket: surgery and drugs plus fibrin sealant – as a biomatrix for "ultraconcentrated" platelets. *Transf Apher Sci* 2014; 51: 221–2.
35. Cohn C, Delaney M, Johnson ST, Katz LM, Schwartz JY. Technical manual, 21th ed. Bethesda: AABB; 2023.
36. Neyrinck MM, Vrielink H. Cellular reductions by apheresis. *Transfus Apher Sci* 2019; 58(3): 293–5.
37. Parra Salinas I, Recasens Flores V, Montañés MÁ, García-Erce JA. Therapeutic erythroapheresis: Experience in patients with polycythemia vera and secondary erythrocytosis. *Med Clin (Barc)* 2020; 154 (1): 16–9.
38. Sasaki Y, Kajino H. Granulomonocytapheresis using the single-needle method for a girl with ulcerative colitis. *Case Rep Med* 2021;2021:5302885.doi: 10.1155/2021/5302885.
39. 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.
40. Azar N, Ouzegdouh M, Choquet S, Goncalves N, Leblond V. In situ off-line extracorporeal photopheresis conducted in a real-life situation at a Hemobiotherapy Department in France: A comparison of costs vs on-line procedure. *J Clin Apher* 2022; 37(1): 25–30.
41. Prakash S, Hans R, Sharma RR, Malhotra P, Marwaha N. Therapeutic thrombocytapheresis for symptomatic thrombocytosis in hemato-oncology patients. *Therap Apher Dialysis* 2018; 22(1): 93–5.
42. Almeida-Dias R, Garrote M, Cid J, Mus-tieles MJ, Alba C, Lozano M. Therapeutic thrombocytapheresis for extreme thrombocytosis after chemotherapy in essential thrombocytosis. *J Clin Apher* 2019; 34(4): 503–6.
43. Pavlovic M, Balint B. Stem cells and tissue engineering. New York: Springer; 2012.
44. Balint B, Ljubenov M, Stamatović D, Todorović M, Pavlović M, Ostojić G, et al. Stem cell harvesting protocol research in autologous transplantation setting: large volume vs. conventional cytopheresis *Vojnosanit Pregl* 2008; 65(7): 545–51.

45. Skoric D, Balint B, Petakov M, Sindjic M, Rodic P. Collection strategies and cryopreservation of umbilical cord blood. *Transfusion Medicine* 2007; 17(2): 107–13.
46. 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.
47. Todorovic Balint M, Jelicic J, Bila J, Balint B, Antic D, Trajkovic G, et al. Influence of applied CD34⁺ cell dose on the survival of Hodgkin's lymphoma and multiple myeloma patients following autologous stem cell transplants. *Vojnosanit Pregl* 2020; 77(8): 844–51.
48. Todorović Balint M, Lemajić N, Jurišić V, Pantelić S, Stanisavljević D, Kraguljac Kurtović N, Balint B. An evidence-based and risk-adapted G-CSF versus G-CSF plus plerixafor mobilization strategy to obtain a sufficient CD34⁺ cell yield in the harvest for autologous stem cell transplants. *Transl Oncol* 2024 Jan; 39: 101811. doi: 10.1016/j. tranon. 2023. 101811
49. Balint B, Stamatovic D, Todorovic M, Jevtic M, Ostojic G, Pavlovic M, et al. Stem cells in the arrangement of bone marrow repopulation and regenerative medicine. *Vojnosanit Pregl* 2007; 64(7): 481–4.
50. Obradović S, Rusović S, Balint B, Ristić–Anđelkov A, Romanović R, Baškot b et al. Autologous bone marrow-derived progenitor cell transplantation for myocardial regeneration after acute infarction. *Vojnosanit Pregl* 2004; 61(5): 519–29.
51. Trifunovic Z, Obradovic Z, Balint B, Ilic R, Vukic Z, Sisic M et al. Ischemic cardiomyopathy treated with coronary bypass surgery and concomitant intramyocardial bone marrow mononuclear cell implantation – long term follow-up study. *Vojnosanit Pregl* 2015; 72(3): 225–32.
52. Kaplan A. Complications of apheresis. *Semin Dial* 2012; 25(2): 152–8.

Corresponding author:

Academician Prof. Emeritus Bela Balint, MD, PhD
Serbian Academy of Sciences and Arts,
Kneza Mihaila 35,
11 000 Belgrade, Serbia
Email: balintbela52@yahoo.com



PERSONALIZED APHERESIS DESIGN – PART TWO: CELL-MEDIATED HEMOBIOOTHERAPY FOR ONCOLOGY PATIENTS

Bela Balint^{1,2}, Mirjana Pavlovic³, Milena Todorovic^{4,5}

¹ Serbian Academy of Sciences and Arts, Department of Medical Sciences.

² University of Defense, Faculty of Medicine of the Military Medical Academy, Belgrade, Serbia;

³ Department of Electrical Engineering and Computer Science, Florida Atlantic University, Boca Raton, USA.

⁴ University Clinical Center of Serbia, Clinic for Hematology, Belgrade, Serbia.

⁵ University of Belgrade, Faculty of Medicine, Belgrade, Serbia.

Abstract

The objective of "large-scale" or "all-inclusive" hemotherapy is reconstitution of the homeostasis (equilibrium) in the blood by standard support of deficient constituent(s), using apheretic procedures or various immunomodulatory approaches – such as monoclonal antibodies, antibody-drug conjugates, anti-cancer vaccines, as well as cell-mediated immunotherapy or hemobiotherapy (CM-HBT). During application of hemotherapy it is of essential interest to use the most optimal therapeutic protocol – with respect to each specific scenario. Apheretic approach incorporates immunocompetent cell collection, ex vivo manipulation and (re)infusion with a basic goal to obtain positive curative effect by CM-HBT. Despite the development of chimeric antigen receptor T cell (CAR-T) expertise in hematocology, solid tumors still represent a large therapeutic-challenge. It is evident that CM-HBT must develop and continue as an integral part of the treatment of cancer patients. For definite confirmation of initial clinical results, future randomized trials, with larger number of patients, are required. The aim of this article is to provide a brief overview of current knowledge regarding evidence-based practical approaches related to CM-HBT of malignant disorders.

Key words: leukapheresis, cell-mediated hemobiotherapy, dendritic cells, CAR-T cells, oncology

Introduction

Therapeutic apheresis (TAph) might be described as a disease-modifying therapeutic procedure in which abnormal (quantitatively/qualitatively altered) or excessive blood constituent(s) are removed from bloodstream – while the remaining part is returned to the patient's circulation [1–4]. Based upon the criterion of what is the removed apheresis substrate, it is possible to classify TAph into therapeutic plasma exchange (TPE) and therapeutic cytapapheresis

(TC). Blood cells, plasma or some plasma constituents can be replaced with normal cells, plasma or an appropriate replacement fluid [4–6].

According to cells removed, TC can be categorized into leukapheresis (TL), plateletapheresis (TP) and erythrocytapheresis (TE). The goal of specific TC procedures – such as photopheresis, granulocyte-monocyte adsorption, as well as red blood cell exchange

(RBCX) – are both cell depletion and "disease-responsible" cell modification or exchange [1–4]. Apheresis also includes stem cell (SC) harvesting from peripheral blood (PB) for SC-transplants or use in regenerative medicine and mononuclear cell (MNC) collection for subsequent cellular treatment(s) [5–8]. Explicitly, the final purpose of the use of "MNC-practice" is to obtain a positive clinical effect after reinfusion of *ex vivo* manipulated cells – through cell-mediated immunotherapy or hemobiotherapy (CM-HBT) [5, 9–16].

Despite the development of cell-based therapeutic expertise in hematooncology, solid tumors still represent a large challenge for this treatment. However, it is evident that CM-HBT must become and remain an integral part of the treatment of some cancers [5, 6]. Antibody-associated and/or cell-based systems (agents) offer a "framework" (pattern) for a well-designed innovative anti-tumor therapeutic strategy. Thus, monoclonal antibodies, antibody-drug conjugates, bispecific T-cell engagers (BiTEs), as well as dendritic cells (DCs) and chimeric antigen receptor (CAR) T cells (CAR-T) have been documented with a rapidly developing clinical efficacy [1, 17–26].

The aim of this paper is to provide a review of current knowledge on immunomodulatory effects of Taph and to summarize practical approaches related to CM-HBT of some malignant disorders. Mechanisms of the therapeutic action, indications, and evidence-based positive effects of these treatments will be concisely explained.

Cell apheresis for research and malignancy treatment

Briefly, the main immunocompetent cells (ICCs) are cells of non-specific and specific immunity. Non-specific immunity cells incorporate granulocytes (neutrophils, eosino-

phils or basophils) and macrophages – such as classically activated macrophages, wound-healing or alternatively-activated macrophages and "regulatory" macrophages. The population of cells of the specific immunity is formed out of T-lymphocytes and B-lymphocytes, regulatory T cells, cytotoxic T cells ($CD3^+/CD8^+$), T helper lymphocytes ($CD3^+/CD4^+$), natural killer (NK) cells, as well as myeloid-derived suppressor cells, tumor-associated neutrophils and macrophages, etc [5, 18–24].

Cell-based therapeutic systems and agents – basic remarks

Cells of the primitive ($CD34^+/CD90^+$) and/or mature ($CD34^+/CD90^-$) SC-compartments mobilized into PB are considered a more convenient source of hematopoietic SCs (HSC) than their bone marrow (BM) counterparts – especially for autologous SC-transplants. Besides going through a less invasive collection procedure than BM aspiration, SCs cell collected by apheresis ensure a more rapid hematologic recovery as a result of transplanted cell dose and cell cycle status [5, 7]. Mononuclear cell (MNC) apheresis (with presence of SC in the harvest) is a standard method for cell collection from patients' PB following mobilization (typically SC and infrequently MNC harvesting) or during steady-state hematopoiesis (lymphocytapheresis, monocytophoresis) [5–7]. MNCs can be collected also by manual technique (from blood units by cell-processing) or using automatic approach – that is with cell separators [5, 21–26]. Then, collected MNCs can be examined in experimental setting, as well as applied as a part of innovative personalized CM-HBT for oncology patients' treatment (e.g. with prostate cancer – PCa) [5, 18, 19]. In a few words, PCa

s one of the most important causes of "cancer-related mortality"

in male population [22–24]. Prostate-specific antigen (PSA) – a specific kallikrein-like serin-protease – is more or less exclusively expressed on the prostate epithelial cells. It can be discovered also in the larger part of PCa-tissues and represents a serum marker, usually used for diagnosis and monitoring of PCa [27]. There are various approaches for PCa treatment – from surgery (e.g. prostatectomy, orchiectomy), brachytherapy, radiotherapy, to chemotherapy. Androgen "deprivation treatments" (orchiectomy and/or testosterone suppression by medication) are as useful as a "first-line" therapy for PCa patients. Regardless of a beneficial initial response to these treatments, a significant part of patients relapse, and the cancer progresses into a metastatic castrate-resistant state (mCRPCa) [18–22].

Based on the potential of the immune system to detect differences between healthy (normal) and altered (cancer) cells/tissue, an innovative CM-HBT could "coexist" with mentioned therapies. Thus, various therapeutic approaches have a potential for anti-cancer effect after reinfusion of *ex vivo* manipulated or activated tumor-specific T cells [19–23]. As is known, adoptive T cell therapy and the use of anti-cancer vaccines are an explicit part of immune-mediated treatment of PCa. The use of CM-HBT (as an effective "unique tool"), more precisely the injection of monocyte-derived DCs (MoDCs) is nowadays recognized and is gaining a potential clinical application [23, 27–29]. In addition, autologous CAR-T cells or "CAR-engineered" natural killers (NK-92 cells) represent an important part of "anti-prostate-specific membrane antigen" (anti-PSMA) targeted therapy. Finally, there are "up-to-date" data concerning the application of not only autologous – but also the use of allogeneic CAR-

T cells for treatment of hemomalignancies, as well as some solid tumors (cancers) [24, 30–39].

In the following part of this article, our manual method (for experiments) and a few automated harvesting techniques using cell separators (clinical setting) and a range of *ex vivo* manipulation technologies will be briefly presented.

Manual MNC collection for research.

In the experimental setting – using our original manual processing technique – cells were separated from PB units using "buffy-coat" (BC) technique. Briefly, whole blood (450 mL) of healthy volunteers was collected into the CPD-SAGM multiple plastic bags system. Then CPD-blood was centrifuged by "heavy-spin" method ($3\,890 \times g$ for 10 min, at $4 \pm 2\,^{\circ}\text{C}$) and after that processed by "cell-processor-extractor" equipment to separate BC-units, as described previously [25, 26]. From BCs, MNCs were isolated by density-gradient centrifugation (on the "lymphocyte-separation" medium). The MNC count and characteristics were determined using flow-cytometry [5, 25]. Monocytes were purified from BC-derived cell suspension with immunomagnetic sorting (by monocyte isolation kit) following the manufacturer instructions. Predominantly immature MoDCs were generated by incubating monocytes with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) and interleukin 4 (IL-4), as well as a "cocktail" of specific proteins and immunoinflammatory cytokines in the culture medium ("cell-cultivating system"). After series of incubation in this medium, cell-free supernatant was collected for subsequent investigations – that is to determine specific cytokine levels, as described earlier [5, 25, 26].

MNC harvesting for clinical application.

In the clinical setting, the use of adoptive cellular therapy (mediated by tumor-specific T cells) could result in potent anti-cancer effects. These therapeutic approaches are intended to (re)infuse manipulated living ICCs into patients' circulation and designed to achieve both, active or passive immunity responses. The DC vaccine is a typical example of the active CM-HBT. On the contrary, the use of *ex vivo* modified T cells, such as tumor-infiltrating lymphocytes, NKs and CAR-T cells correspond to passive cellular immunotherapy [30–35].

Therefore, adoptive cell therapy – as a part of CM-HBT – could be defined as a hemomodulatory system for separation of ICCs, followed by their *ex vivo* manipulation and subsequent reinfusion into patients' bloodstream. Using this therapeutic approach, "tumor-specific" cytotoxic T cells are administered to cancer patients' circulation with the goals of recognizing, targeting and destroying tumor cells [5, 23, 30–35]. The efficacy of adoptive immunotherapy is superior when prior to the reinfusion of modified cells, an *in vivo* cytoreductive treatment ("limited myeloablation") is performed in order to reduce "intact" lymphocyte quantity (count) in the patients' PB [5, 18, 19, 36].

Anti-cancer vaccines – dendritic cell based immunotherapy

The mechanisms of central and peripheral immune tolerance are in the control of "functional" state of anti-tumor immunity when anti-tumor T cells are still present in the patient. Specific anti-cancer vaccines are developed to activate and intensify anti-tumor immunity. Cells are stimulated by proteins and peptides (derived from tumor-associated anti-

gens – TAAs) or complete (but modified) cancer cells to increase their immunogenic effectiveness. Vaccines are useful for initiation of T cell response, but not effective at inducing tumor regression [18, 22, 23, 27–29].

Anti-tumor immunotherapy incorporates the use of monoclonal antibodies, vaccines, CM-HBTs and other immunomodulatory approaches – to target (identify) and eradicate malignant cells. Immune checkpoint inhibitors – as a monoclonal antibody treatment (with CTLA4-inhibitor) inhibits a specific protein, which is a natural "blocker" of an adequate action of the immune system against cancer cells [32]. According to Hawlina et al. [23] the main question is: what is the mechanism by which an immune response (effective in normal conditions) could be "blocked" in carcinoma patients? That dilemma is still unresolved.

An alternative to adoptive immunotherapy is the vaccination strategy. The basic goal of this treatment is to achieve *in vivo* "tumor-specific" T activation, which cells will then infiltrate and finally initiate cancer cytolysis [23, 27–29]. DC-based anti-cancer therapy (vaccine strategy) can be described with beneficial therapeutic potential and safety, as well as lack of toxicity – compared with high-dose chemotherapy [18, 28, 29]. A special difficulty in PCa therapy is the possible existence of an "immunologically-cold" PCa "micro-environment" (shown later) [32].

Progress in cancer vaccines manifests in the use of patients' monocyte-derived antigen presenting cells (APCs) for better presentation of TAAs to autologous T cells. Namely, DCs are the most "sophisticated" APCs and they are unique in their ability to stimulate "naive" T cells. They can induce a "T-lymphocyte-

mediated" immune response even to antigens of low immunogenicity, such as tumor antigens. Due to their confirmed anti-tumor effects, they appear to be the attractive candidates for an innovative DC-based anti-cancer vaccination strategy [23, 28, 29].

Concisely, DCs are adapted to "internalize" proteins, proteolytically "digest" them (catabolic response), then present of resulting peptides on cell membrane and bound to major histocompatibility complex (MHC) antigens. The "expression" of "MHC-peptide-complex" is essential for T cell activation [5, 18, 22]. T cell responses are "triggered" by the interaction of T-cell receptor (TCR) and "MHC-peptide-complex" expressed on the membrane of APCs. DCs have a range of specific costimulatory molecules which initiate a cascade of biochemical events, required for complete T cell activation. Activated T cells can destroy (by cytolysis) the target tumor cells, which express stimulating antigen and the matching MHC antigen [18, 27–29]. Target cells can be different with regards to tumor biology, physiological sites (primary tumor versus metastatic locations) in the body, vascularization, as well as immunogenic and other properties. Accordingly, the main goal of physicians should be to identify an "ideal" TAA. This antigen should be critical for tumor "survival" – expressed also at distant metastatic locations, specific only for cancer cells, with promising immunogenicity [22, 23].

A considered advance in the DC isolation systems was achieved in 1990s by introduction of PB – as a more practical and "better-quality" source for monocyte collection [5, 19]. The aim of this method is production of "fully-differentiated" DCs from PB-derived monocytes (MoDCs) – using GM-CSF, IL-4 and tumor necrosis factor-alpha (TNF α) in the "cell-cultivating system" [18, 19, 23].

The efficacy of DC-based vaccines depends on following factors: 1) cell administration route/injection (intradermal, intra-nodal, intravenous, intra-lymphatic or intra-tumor); 2) the minimal immunogenic dose versus "overdose" (the optimal cell dosage is still undetermined); 3) the treatment protocol (weekly, monthly); 4) the degree of patient immunocompetence [6, 19, 28, 29].

MNC harvesting – methodological data.

In practice, for MNC apheresis there are two collection systems: 1) "two-stage" apheresis protocol and 2) "continuous-MNC-protocol" (CMNC-protocol). The first one is based on "high-centrifugal-force-density" centrifugation and elutriation process to reduce platelet (Plt) "contamination" in the harvest. The CMNC-protocol is characterized by "low-centrifugal-force-density" and continuous cell separation [5, 17, 20]. This protocol is more frequently applied due to 1) superior blood flow rate; 2) inferior harvest volume; 3) similar MNC collection efficacy for mobilized versus "non-mobilized" collections; 4) minor "contamination" with Plts [5, 6, 20]. MNC concentrates with the higher Plt "contamination" have an inferior DC yield after *ex vivo* manipulations [5, 17, 20, 37].

Typically, a single MNC collection procedure lasts 90 min to 4 hours, during which usually two times of the patient's total PB volume is processed. The volume of cell harvest is usually 150–200 mL. Patients and cell suspension are anticoagulated using ACD-A (with 2.2% citrate concentration). The final apheresis product is delivered for subsequent *ex vivo* cell manipulations [5, 17, 22, 37].

The expected target cell yield in the harvest can be determined by following param-

eters: 1) high target cell count in PB; 2) an optimized timing for cell collection; 3) appropriate patient selection; 4) optimal processed blood volume; 5) the optimization of the cell collection/removal efficacy (CRE); 6) selection of the best apheresis equipment [17, 20, 40].

According to Shi et al. [17], target cell count in PB can be increased by administration of mobilizing agents (rHuG-CSF and plerixafor). The use of plerixafor – besides enlarging of CD34⁺ count in the SC-transplant setting – increases the number of lymphocytes and monocytes in the MNC apheresis setting. Also, plerixafor may mobilize plasmotoid DC-precursors (with interferon- α producing ability), as well as NK cells – resulting with inferior GvHD incidence following SC-transplants [5, 6, 16, 17, 20].

Finally, during novel allogeneic MNC collection approach (for IM-HBT) an adequate donor selection is imperative [17, 20]. As presented, the collection efficacy was defined as the percentage of total target cells processed through cell separator that end up in the cell harvest [17]. Performing MNC apheresis, the realized collection efficacy in reports was 42–44% (with a Plt loss up to 45%) [17, 20].

As we earlier described, the CRE can be calculated as a ratio by dividing the total target cell count in the harvest (TTCC-H) with the total target cell count in the processed PB (TTCC-PPB) using the formula: CRE [%] = $(TTCC-H_{\text{harvest}} : TTCC-PPB_{\text{processed PB}}) \times 100$ [5, 40].

In our Department for Apheresis MNC harvesting was performed using Spectra-Optia system (using "CMNC-collecting-set" and appropriate software) [6]. It was an integral part of an initial segment of DC-mediated treatment of PCa patients (n = 35) with median age 71 years (range, 66–74 years), non-reactive to AIDS, hepatitis B and C markers [5, 6].

Cells were harvested from patients' PB in the steady-state hematopoiesis. Typically, peripheral (antecubital) veins were used as vascular access. Central venous catheter was applied for three patients across subclavian or jugular veins. Patients were anticoagulated by ACD-A (2.2% citrate concentration) and there was a standard (constant) ratio: ACD-A / PB = 1 / 12 [3–7, 10].

Patients' cardiac function (auscultation finding) and blood pressure were checked before cell harvesting. The same parameters were monitored at 30–45 min intervals during apheresis. The alterations in patients' mental/general status were constantly watched. Permanent checking of blood pressure and cardiac rhythm (by ECG) was indicated only in medically unstable (n = 2) patients [5, 6].

Patients' general data (including body mass and height, arterial blood pressure – AT), as well as apheresis parameters – such as apheresis duration, quantity of processed blood, cell harvest volume, anticoagulation – are summarized in the Table 1. Results are presented as mean values (MV), together with the standard deviation (SD) [5].

Table 1.

General data of our patients and apheresis parameters

Patients	Parameters	MV	SD
General data	Age	70.50	3.02
	Body mass (kg)	81.58	13.81
	Body height (cm)	174.37	6.51
	TBV (mL)	5221.44	492.68
	TPV (mL)	3028.44	285.75
	AT (range; mmHg)	180/90	120/80
Apheresis data	PBV (mL)	9684.00	2015.87
	APD (min)	115	22.5
	ACD-A (mL)	691.30	98.21
	Harvest (mL)	179.85	29.61

AT = arterial blood pressure; TBV = total blood volume; PBV = processed blood volume; APD= apheresis procedure duration; ACD-A = acid-citrate-dextrose (formula A).

As shown, the mean processed blood volume during single apheresis procedure was 9684.0 ± 2016 mL and the total volume of ACD-A used was 691.3 ± 98.2 mL on average. The volume of cell harvests was 179.9 ± 29.6 mL on average.

Laboratory parameters that were important for our original CMNC-protocol – such

as the patients' hematological data (number of red blood cells – RBCs, white red blood cells – WBCs and Plts, with levels of hemoglobin – Hb and hematocrit – Hct) are shown in the Table 2. Results obtained in this study are also presented as MV with SD [5].

Table 2.

Hematological data of our patients

Patients	Parameters	MV	SD
Hb and Hct levels	Hb (g/L)	123.67	12.01
	Hct (L/L)	0.39	0.04
Absolute cell count and cell ratio	RBC ($\times 10^{12}$)	4.20	0.36
	WBC ($\times 10^9$)	6.15	1.98
	Plt ($\times 10^9$)	226.92	73.40
	PMN (%)	64.56	8.21
	Ly (%)	23.47	7.17
	Mo (%)	5.88	1.46

Hb = Hemoglobin; Hct = Hematocrit; RBC = Red Blood Cells; WBC = White Blood Cell; Plt = Platelets; PMN = Polymorphonuclear Neutrophils; Ly = Lymphocytes; Mo = Monocytes.

In our group of patients acute/ immediate or delayed adverse events and complications

– such as hypocalcemia induced paresthesia, nausea and lightheadedness due to citrate tox-

icity – related to the apheresis procedures, were not observed [5, 6]. Finally, in this article we will not present the results of cell quantifications and calculations of the "inter-cellular" distributions in the harvest – due to mutual agreement.

Immunotherapy by chimeric antigen receptor T cells

When CARs are expressed on some cell surface – because of viral or non-viral transduction – they induce effector cells to recognize targets in the "antigen-specific-mode" [21, 24, 32]. The CAR-T cell mediated antigen recognition or identification is not "MHC-restricted", like it is TCR-mediated antigen recognition. Thus, CAR-T cells – as genetically modified T cells created by *ex vivo* engineering – do not require antigen presentation by APCs and they are competent to identify complete or intact proteins. CAR-T cell therapy – (re)directed against a range of TAAs – can be a potent instrument ("route") for cross-bridging, more precisely "bypassing" usual immune tolerance mechanism(s) [5, 24, 31–34].

CAR molecules consist of three individual components: 1) extracellular domain which identifies target TAAs; 2) transmembrane region which cross-bridges the T cell with the intracellular zone (via the previous domain) and 3) intracellular or intracytoplasmic zone which has an essential role in signal transduction for T cell activation [5, 6, 24]. Transfection of CAR molecules into T lymphocytes can be realized by viral (retroviral or lentiviral) or non-viral (mRNA electro-transfection) vectors [5, 6, 32]. CARs are categorized into some classes on the basis of 1) capacity of T lymphocyte activation in the circulation; 2) conditions for T cell activation (with or without action of costimulatory molecules); and 3) capacity to induce "T cell redirection" – resulting in an event designated as

"universal-cytokine-mediated-killing". The interleukin 12 (IL-12) mediated support in these processes improves the efficacy of circulating T cells. However, the last generation of CARs is not "IL-12-restricted". Thus, CM-HBT produces major progress in anti-cancer therapy by expansion of "CAR-based-immunotherapy" – probably using other (i.e. "non-CAR-T") ICCs [5, 6, 18, 31–35].

CAR-T cell treatments – working strategy.

In practice, the CAR-T cell therapy is beginning with the lymphocyte collection from the patients' PB by leukapheresis, typically with no administration of the rHuG-CSF or rHuG-CSF plus plerixafor – although, as we have shown, there are also opposing opinions [5, 21, 24, 38]. Then T cells undergo "CAR-engineering" through a few weeks of *ex vivo* manipulation. Precisely, T cells are genetically "advanced", that is infected with a viral vector or by non-viral CAR vector (transfection). It is a genetic modification of T cells resulting in equipment of membrane surface with CAR – to mediate the tumor cell recognition. Following cell/molecular expansion and purification procedures, *ex vivo* produced and modified (transfected) CAR-T cells are reinfused into the patients' bloodstream [5, 6, 31–35].

As stated, prior to CAR-T therapy (reinfusion of modified cells), patients must undergo lymphocyte depletion [5, 6, 41]. Following reinfusion, CAR-T cells become activated – that is, CAR interacts with specific antigen on the target cell membrane. This process will result in target cell injury or destruction (cytolysis) – but sometimes along with intensive production of immunoinflammatory cytokines [5, 24, 31–35]. Metaphorically speaking, CAR-T cells could be determined also as "living-drugs" since they

can multiply and differentiate into "long-living-memory-cells". As previously explained, opposite to the "unmodified" (normal) T cell – which uses the MHC to identify target antigens – CAR-T cell recognize targeted antigens in an "MHC-independent" mode [18, 21, 32–34].

The use of CAR-T cell therapy has shown promising results in hemomalignancies, where complete remission was obtained in about half of leukemia and lymphoma patients [6, 38, 39]. In hematooncology, CAR-T cells have potent anti-tumor activity targeting B-cell maturation antigen (it is expressed on plasma cells), as well as CD20, CD22 and CD30 antigens [5, 35, 38, 39]. For overcoming existing therapeutic limits, other effector-cells than T lymphocytes (e.g. NK-92 cells) are considered as potential candidates for "CAR-engineered" anti-cancer therapy [5, 6, 35]. Finally, there are anti-CD19 agents (clarified as CAR-T-19) which have FDA approval for treatment of relapsed or refractory B cell hemomalignancies [5, 21, 22].

Clinical data on CAR-T cell therapy of malignant solid tumors are less hopeful, with relatively minor success in the treatment of neuroblastoma or rhabdomyosarcoma patients, with particularly low complete remission rate. Several CAR-T cell products are in preclinical research or within clinical evaluation phase for PCa [5, 6, 18, 21].

It has already been pointed out that a major challenge for a beneficial CAR T-cell treatment of solid tumors is the existence of an "immunologically-cold" site ("inhibitory-milieu") – due to the action of specific cytokines and other inhibitory factors. There are studies that confirm that clinical use of transforming growth factor beta resistant CAR T-

cells could be an effective and generally safe therapeutic method [5, 42].

Summarily, immunotherapy is able to affect the treatment of some cancers and modify the recent strategy, standards and guidelines of the management of various types of malignancies. However, the patients' overall survival or their survival benefit is still questionable. The heterogenic structure cancer cells, their resistance to therapy and rising requirements for the use of personalized therapies are redirected towards the up-to-date basic and clinical investigations to combine various treatment approaches and initiate novel ones [5, 23, 41, 42].

In the fields of a cell-based medicine there are several approved categories of immunotherapy for some cancers – but it is only available to patients in the countries with developed and financially well supported medical practice. Anyway, the number of potential questions – considering an ever increasing request for the use of personalized CM-HBT versus the possibilities to guarantee effective and safe treatment in medical practice – is still higher than the number of possible answers.

Therapeutic apheresis in the treatment of cancers – common consideration

Opinions concerning reasons and justification of the use of apheresis modalities and techniques (TPE and/or "multi-manner" or "multi-modal" apheresis) in cancer patients are different. Although some tumors can be treated to some extent by TPE (thymoma, multiple myeloma), the majority do not respond to this therapy. Therefore, the treatment of cancers by apheresis is basically very limited [5, 6, 43].

When "weighing" of TPE effectiveness (advantages vs. disadvantage or inconvenience) – most authors believe that there is no clear indica-

tion for the use of this therapy for cancers. There is currently a lack of evidence-based proof and facts that TPE can reduce the tumor "mass" and improve the survival of patients with malignant tumors. Rather, the potential target of TPE treatment in these patients could be the control of clinical manifestations caused by malignant tumors and prevention of specific signs and symptoms. Accordingly, due to immunomodulatory effects of TPEs - their use could result in alteration of immune-mediated humoral or cell activities, clearance of inflammatory mediators, reduction of autoantibody titer, as well as prevention of complications and paraneoplastic syndromes [2–6, 43].

Adverse events of cell-mediated hemobiotherapy

CAR-T cells must be applied under exactly and strictly controlled conditions, due to possible adverse events. These side effects can vary from mild to severe. The most dangerous are "cytokine-storm-like" condition or cytokine release syndrome (CRS), especially in patients with a larger tumor mass. These adverse events are multi-systemic and multi-symptomatic progressive disorders with release of various biotoxins, immunoinflammatory cytokines – whose treatment may require the use of an "anti-cytokine" therapy. Thus, it is useful to application of anti-IL-6 agents – such as tocilizumab (antibody directed against the IL6-receptor) or siltuximab (antibody directed against IL-6 itself) [5, 39, 44, 45]. During CAR-T cell treatment, toxicity may be a consequence of the application of chemotherapy or IL2 (if used) and/or CAR-T cells themselves [5, 6, 39, 41].

Finally, CM-HBT is an expensive procedure for each patient, with a long-term T cell cultivation (cell expansion lasts several weeks) and they must be hospitalized to receive this immuno-

therapy. The potential use of allogeneic CAR-T cells have their own challenges – the occurrence of new possible side effects, such as GvHD, as well as risk of CAR-T cell rejection by the recipient immune-mediated mechanisms [5, 36].

Conclusion

Monoclonal antibodies, antibody-drug conjugates, CM-HBT – such as treatments with DCs or CAR-T cells – have confirmed clinical efficacy. Their role in the earlier phases of the disease is still unclear. It is reasonable to consider whether CM-HBT should be used as a "last-step" in cancer treatment or should be applied in the earlier stage (even in the "pre-chemotherapy phase") of disease – although that could be too ambitious.

The use of allogeneic CAR-T cells has the potential to overcome some practical limitations (permanent availability of cell products). Potential difference inside MHC system (donor versus patient) represents an important immune barrier in the allogeneic setting. Thus, for definite confirmation of initial clinical results, future randomized trials – with larger number of patients and procedures – are needed.

References

1. Padmanabhan A, Connelly-Smith L, Aqui N, Balogun RA, Klingel R, Meyer E, et al. Guidelines on the use of therapeutic apheresis in clinical practice – Evidence-based approach from the Writing Committee of the American Society for Apheresis: The eighth special issue. *J Clin Apher* 2019; 34(3): 171–354.
2. Rock G. Apheresis then and now. *Transfus Apher Sci* 2019; 58(3): 230–6.
3. Balint B and the National Apheresis Group. Apheresis in donor and therapeutic settings:

- recruitments vs. possibilities – a multicenter study. *Transf Apher Sci* 2005; 33: 229–37.
4. Radovic M, Balint B, Tiska-Rudman Lj, Milenkovic Lj, Taseski J. Application of the-rapeutic plasma exchange in hematology. *Transf Sci* 1994; 15: 481–5.
 5. Balint B, Pavlovic M, Todorovic M. The use of apheresis in personalized cell-mediated treatment of prostate cancer. In: Kocic G, Hadzi Djokic J, Simic T, eds. *Prostate cancer: advancements in the pathogenesis, diagnosis and personalized therapy*. Heidelberg: Springer-Nature. 2024; p. 263–293
 6. Balint B, Pavlovic M, Todorovic Balint M. Application of (cyt)apheresis for "cell-based" hemobiotherapy of immune-mediated disorders and cancers. *Mac Med Rewiev* 2023; 77(Supl 110): 36–43.
 7. Balint B, Stamatovic D, Todorovic M, Jevtic M, Ostojic G, Pavlovic M, et al. Stem cells in the arrangement of bone marrow repopulation and regenerative medicine. *Vojnosanit Pregl* 2007; 64(7): 481–4.
 8. Obradović S, Rusović S, Balint B, Ristić–Anđelkov A, Romanović R, Baškot b et al. Autologous bone marrow-derived progenitor cell transplantation for myocardial regeneration after acute infarction. *Vojnosanit Pregl* 2004; 61(5): 519–29.
 9. Balint B, Ostojic G, Pavlovic M, Hrvacevic R, Pavlovic M, Tukic Lj, et al. Cytapheresis in the treatment of cell-affected blood disorders and abnormalities. *Transf Apher Sci* 2006; 35: 25–31.
 10. Balint B, Pavlovic M, Todorovic M. Rapid cyto-reduction by plateletapheresis in the treatment of thrombocythemia. In: Kerrigan SW, editor. *Platelets*. London: InTech Open. 2020. p. 151–66.
 11. Prakash S, Hans R, Sharma Malhotra P, Marwaha N. Therapeutic thrombocytapheresis for symptomatic thrombocytosis in hemato-oncology patients. *Therap Apher Dialysis* 2017; doi: 10.1111/1744-9987.12635.
 12. Azar N, Ouzegdouh M, Choquet S, Goncalves N, Leblond V. In situ off-line extracorporeal photopheresis conducted in a real-life situation at a Hemobiotherapy Department in France: A comparison of costs vs on-line procedure. *J Clin Apher* 2022; 37(1): 25–30.
 13. Saniaba***di AR, Tanaka T, Yamamoto T, Kruis W, Sacco R. Granulomonocytapheresis as a cell-dependent treatment option for patients with inflammatory bowel disease: Concepts and clinical features for better therapeutic outcomes. *J Clin Apher* 2019; 34(1): 51–60.
 14. Balint B, Ljubenov M, Stamatović D, Todorović M, Pavlović M, Ostojić G, et al. Stem cell harvesting protocol research in autologous transplantation setting: large volume vs. conventional cytapheresis *Vojnosanit Pregl* 2008; 65(7): 545–51.
 15. 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.
 16. Todorović Balint M, Lemajić N, Jurišić V, Pantelić S, Stanisavljević D, Kraguljac Kurtović N, Balint B. An evidence-based and risk-adapted G-CSF versus G-CSF plus plerixafor mobilization strategy to obtain a sufficient CD34⁺ cell yield in the harvest for autologous stem cell transplants. *Transl Oncol* 2024 Jan; 39: 101811. doi: 10.1016/j. tranon. 2023. 101811.
 17. Shi PA. Optimizing leukapheresis product yield and purity for blood cell-based gene and immune effector cell therapy. *Curr Opin Hematol* 2020; 27(6): 415–22.

18. Steinbach C, Merchant A, Zaharie AT, Horak P, Marhold M, Krainer M. Current developments in cellular therapy for castration resistant prostate cancer: A systematic review of clinical studies. *Cancers (Basel)* 2022; 14(22): 5719. doi: 10.3390/cancers14225719
19. Butterfield LH. Dendritic cells in cancer immunotherapy clinical trials: are we making progress? *Front Immunol* 2013; 4: 454. doi:10.3389/fimmu.2013.00454.
20. 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.
21. Wolf P, Alzubi J, Gratzke C, Cathomen T. The potential of CAR T cell therapy for prostate cancer. *Nat Rev Urol* 2021; 18(9): 556–71.
22. Tjoa BA, Lodge PA, Salgaller ML, Boynton AL, Murphy GP. Dendritic cell-based immunotherapy for prostate cancer. *CA Cancer J Clin* 1999; 49(2): 117–28.
23. Hawlina S, Zorec R, Chowdhury HH. Potential of personalized dendritic cell-based immunohybridoma vaccines to treat prostate cancer. *Life (Basel)* 2023; 13(7): 1498. doi: 10.3390/life13071498
24. Yu YD, Kim TJ. Chimeric antigen receptor-engineered T cell therapy for the management of patients with metastatic prostate cancer: A comprehensive review. *Int J Mol Sci* 2021; 22(2): 640. doi: 10.3390/ijms22020640.+P”
25. Rajkovic I, Dragicevic A, Vasilijic S, Bozic B, Dzopalic T, Tomic S, Majstorovic I, Vucevic D, Djokic J, Balint B, Colic M. Differences in T-helper polarizing capability between human monocyte-derived dendritic cells and monocyte-derived Langerhans'-like cells. *Immunology* 2011; 132(2): 217–25.
26. Bufan B, Mojsilovic S, Vucicevic D, Vucevic D, Vasilijic S, Balint B, et al. Comparative effects of aspirin and NO-releasing aspirins on differentiation, maturation and function of human monocyte-derived dendritic cells in vitro. *Int Immunopharmacol* 2009; 9(7–8): 910–7.
27. Ankerst DP, Thompson IM. Sensitivity and specificity of prostate-specific antigen for prostate cancer detection with high rates of biopsy verification. *Arch Ital Urol Androl* 2006; 78(4): 125–9.
28. Sutherland SIM, Ju X, Horvath LG, Clark GJ. Moving on from Sipuleucel-T: New dendritic cell vaccine strategies for prostate cancer. *Front Immunol* 2021; 12: 641307. doi: 10.3389/fimmu.2021.641307.
29. Perica K, Varela JC, Oelke M, Schneck J. Adoptive T cell immunotherapy for cancer. *Rambam Maimonides Med J* 2015; 6(1): e0004. doi:10.5041/RMMJ.10179
30. Zhang Q, Helfand BT, Carneiro BA, Qin W, Yang XJ, Lee C, et al. Efficacy against human prostate cancer by prostate-specific membrane antigen-specific, transforming growth factor- β insensitive genetically targeted CD8⁺ T-cells derived from patients with metastatic castrate-resistant disease. *Eur Urol* 2018; 73(5): 648–52.
31. Thoma C. Prostate cancer: Developing CAR T cell therapy. *Nat Rev Urol* 2018; 15(3): 138. doi: 10.1038/nrurol.2018.4.
32. Schepisi G, Cursano MC, Casadei C, Menna C, Altavilla A, Lolli C, et al. CAR-T cell therapy: a potential new strategy against prostate cancer. *J Immunother Cancer* 2019; 7(1): 258. doi: 10.1186/s40425-019-0741-7.
33. He C, Zhou Y, Li Z, Farooq MA, Ajmal I, Zhang H, et al. Co-expression of IL-7 improves NKG2D-based CAR T cell therapy on prostate cancer by enhancing the expansion and inhibiting the apoptosis and exhaustion. *Cancers (Basel)* 2020; 12(7): 1969. doi: 10.3390/cancers12071969
34. Frieling JS, Tordesillas L, Bustos XE, Ramello MC, Bishop RT, Cianne JE, et al.

- $\gamma\delta$ -Enriched CAR-T cell therapy for bone metastatic castrate-resistant prostate cancer. *Sci Adv* 2023; 9(18): eadf0108. doi: 10.1126/sciadv.adf0108.
35. Montagner IM, Penna A, Fracasso G, Carpanese D, Dalla Pietà A, Barbieri V, et al. Anti-PSMA CAR-engineered NK-92 cells: An off-the-shelf cell therapy for prostate cancer. *Cells* 2020; 9(6): 1382. doi: 10.3390/cells9061382.
 36. Caldwell KJ, Gottschalk S, Talleur AC. Allogeneic CAR cell therapy – More than a pipe dream. *Front Immunol* 2021; 11: 618427. doi: 10.3389/fimmu.2020.618427.
 37. Glaser A, Schuler-Thurner B, Feuerstein B, Zingsem J, Zimmermann R, Weisbach V, et al. Collection of MNCs with two cell separators for adoptive immunotherapy in patients with stage IV melanoma. *Transfusion* 2001; 41(1): 117–22.
 38. Frey NV, Gill S, Hexner EO, Schuster S, Nasta S, Loren A, et al. Long-term outcomes from a randomized dose optimization study of chimeric antigen receptor modified T cells in relapsed chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2020; 38(25): 2862–71.
 39. Chohan KL, Siegler EL, Kenderian SS. CAR-T Cell Therapy: the Efficacy and Toxicity Balance. *Curr Hematol Malig Rep* 2023; 18(2): 9-18.
 40. 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.
 41. Junghans RP, Ma Q, Rathore R, Gomes EM, Bais AJ, Lo AS, et al. Phase I trial of anti-PSMA designer CAR-T cells in prostate cancer: Possible role for interacting interleukin 2-T cell pharmacodynamics as a determinant of clinical response. *Prostate* 2016; 76(14): 1257–70.
 42. Slovin SF. Immunotherapy for castration-resistant prostate cancer: has its time arrived? *Expert Opin Biol Ther* 2020; 20(5): 481–7.
 43. Hu Y, Yang H, Fu S, Wu J. Therapeutic plasma exchange: For cancer patients. *Cancer Manag Res* 2022; 14: 411-425.
 44. Ridker PM. Anticytokine agents: Targeting interleukin signaling pathways for the treatment of atherothrombosis. *Circ Res* 2019; 124(3): 437–50.
 45. Barcenas-Morales G, Jandus P, Döffinger R. Anticytokine autoantibodies in infection and inflammation: An update. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2016; 16(6): 523–9.

Corresponding author:

Academician Prof. Emeritus Bela Balint, MD, PhD
 Serbian Academy of Sciences and Arts,
 Kneza Mihaila 35,
 11 000 Belgrade, Serbia
 Email: balintbela52@yahoo.com



KLINIČKI ZNAČAJ RETKOG PARABOMBAY FENOTIPA - PRIKAZ SLUČAJA -

Snežana Jovanović Srzentić, I.Radović, I.Mladenović, A AlMamoori.

Institut za transfuziju krvi Srbije

Sažetak

Fenotip paraBombay je retka krvna grupa koji se obično otkriva kada postoji neslaganje prilikom ABO ispitivanja eritrocita i plazme/seruma. Osobe sa paraBombay krvnom grupom nemaju H antigene na eritrocitima, a imaju ABH supstancu u sekretima. Slabo izraženi ABH antigeni na eritrocitima su rezultat pasivne adsorpcije iz sekreta, a dokazuju se naprednim imunohematološkim metodima (adsorpcije, elucije, enzimskim i molekularnim tehnikama). Bez detaljnog ispitivanja ova krvna grupa može lako da se pogrešno protumači kao O, što može da ima uticaja na kvalitet i bezbednost transfuziološkog lečenja. U radu prikazujemo uspešno rešen slučaj trudnice sa paraBombay fenotipom.

Ključne reči: paraBombay, nepredne imunohematološke tehnike, bezbedno transfuziološko lečenje

Abstract

The paraBombay phenotype is a rare blood type which is usually observed when there is a discrepancy in ABO testing of red blood cells (RBCs) and plasma/serum. Individuals with paraBombay blood group do not have H antigens on RBCs, but they have ABH substance in their secretions. Weakly expressed ABH antigens on RBCs are the result of passive adsorption from secretions, and are proven by advanced immunohaematological methods (adsorption, elution, enzyme and molecular techniques). Without detailed investigation, this blood type can be easily misinterpreted as O, what could have an impact on the quality and safety of transfusion treatment.

In this paper, we present a successfully resolved case of a pregnant woman with the paraBombay phenotype.

Key words: paraBombay blood type, advanced immunohaematological techniques, safe transfusion treatment

Uvod

Bombay i paraBombay su retke krvne grupe koje su karakteristične za područje Azije, naročito Indije, gde se fenotip Bombay češće sreće, kao i za istočnoazijske zemlje, gde je paraBombay fenotip više zastupljen nego u drugim delovima sveta.^[1] Bombay i para-

Bombay fenotipovi su retki, autozomno-recesivni oblici krvnih grupa kojima nedostaje H antigen. Osobe ovih fenotipova imaju nasledne defekte u proizvodnji H supstance i nisu u stanju da proizvedu tip 2H, koji je prekursor za nastanak A i B antigena.¹ Molekulska osnova ovih fenotipova nastaje mutaci-

jom u *FUT1* (H gen) i/ili u *FUT2*, koji je takođe poznat kao sekretorni gen. Klasični Bombay fenotip je definisan potpunim odsustvom H antigena na eritrocitima i u telesnim sekretima koji je posledica postojanja “*tihih*” *FUT1* (H gen) i *FUT2* (Se gen) gena. Bitna razlika između ova dva fenotipa je da su osobe tipa paraBombay homozigoti za nefunkcionalni *FUT1* gen, dok imaju najmanje jedan funkcionalni *FUT2* i ispoljavaju hh, Se/Se ili hh, Se/se. Ove osobe su sekretori, kod kojih dolazi do formiranja H antigena u pljuvački i gastrointestinalnom ili genitourinarnom tkivu. Iz sekreta se H, A i/ili B antigeni ponekad mogu adsorbovati na površinu eritrocita. Tako osobe sa paraBombay fenotipom nose zanemarljive količine H, A i/ili B antigena na svojim eritrocitima, koji nekad, ali ne uvek, mogu da se dokažu serološkim testovima.² U literaturi je opisan mali broj slučajeva osoba sa paraBombay krvnom grupom kod kojih je postojala neusaglašenost u ispitivanju eritrocita i plazme prilikom određivanja ABO krvne grupe. ParaBombay fenotipovi su ređi od Bombay fenotipa, a taj odnos se procenjuje kao 1:15,³ Štaviše, stvarna incidencija paraBombay fenotipa je još uvek nepoznata u indijskoj populaciji.⁴ ParaBombay fenotip predstavlja izazov za svaku laboratoriju za imunohematološka ispitivanja, zbog neusaglašenog nalaza prilikom određivanja ABO krvne grupe, nedostatka H supstance na eritrocitima i mogućem prisustvu anti-HI antitela u serumu, dok pravilno razumevanje i izvođenje nestandardnih imunohematoloških analiza igraju vitalnu ulogu pri tumačenju rezultata u utvrđivanju krvne grupe i određivanju odgovarajuće transfuzijske terapije.

Prikaz slučaja

Na Odeljenju za imunohematološka ispitivanja Instituta za transfuziju krvi Srbije (ITKS), 2024. godine rešen je slučaj retkog A, paraBombay fenotipa sa anti-HI antitelom u

serumu trudnice, koja je dala uzorak za rutinsko određivanje krvne grupe i skrining antitela. Radilo se o osobi rođenoj 1981. godine, rumunske nacionalnosti, u prvoj trudnoći, koja nikada ranije nije dobijala transfuzije krvi. Lečila se od hipotireoidizma i dobijala heparin niske molekulske težine.

Da bi se smatrali validnim, rezultati ispitivanja eritrocita i seruma/plazme prilikom određivanja ABO krvne grupe treba da se slažu. U imunohematološkom ispitivanju ove krvne grupe rukovodilo se metodima opisanim u literaturi, pri čemu se pošlo od inicijalnog istraživanja razloga neusaglašenosti prilikom određivanja ABO krvne grupe uzrokovanih ili nedostajućim reakcijama ili neočekivanim pozitivnim reakcijama.⁵

U rutinskom određivanju krvne grupe na aparatu IH-500 System (BioRad), metodom u gelu na karticama ID DiaClon ABO/D+Reverse Grouping for Donors (Bio-Rad Laboratories), rezultat je pokazao negativan nalaz u ispitivanju eritrocita sa poznatim ABO test serumima, a negativnu reakciju plazme sa A₁ test eritrocitima i aglutinaciju jačine 4+ sa B test eritrocitima i plazmom, što je ukazalo na neusaglašenost rezultata u ispitivanju eritrocita i plazme. Ispitivanje manuelnim metodom na ID karticama ID DiaClon ABO/D+Reverse Grouping for Donors i ID DiaClon ABO/Rh for Newborns DVI+(Bio-Rad Laboratories), uz dodatak enzima bromelina, dalo je slabu aglutinaciju sa anti-A (± do 1+) i nešto jaču (3+) sa anti-B test reagensom. Manuelnom metodom ispitivanja ABO krvne grupe u epruveti (ABO test reagensi CE-Immundiagnostika GmbH, test eritrociti A₁ i B “in house” proizvodnja u ITKS) dobijen je slab nalaz sa anti-A (±) i nešto jači sa anti-A,B (1+) test reagensima. Lewis fenotip je bio Le(a-b+), što je pokazalo da je reč o sekretoru, dok je ispitivanje eritrocita sa anti-A₁ i anti-H lektinima pokazalo negativan nalaz. Ispitivanje plazme pokazalo je prisustvo anti-HI antitela (ABO test eritrocitima “in house” proizvodnja ITKS, ABO

test eritrocitima proizvođača Bio-Rad Laboratories, kao i O, RhD-pozitivnim eritrocitima neonatusa)⁵. Molekularna genotipizacija Fluo Gene ABO basic kitom (InnoTrain Diagnostik) ukazala je na mogućnost postojanja A1 alele. Zbog sumnje da je reč o retkoj grupi A, para-Bombay, uzorak je poslat na potvrdno testiranje u Međunarodnu referentnu imunohematološku laboratoriju u Bristolu (International Blood Group Reference Laboratory, NHS Blood and Transplant, Filton, Bristol, UK), koja je potvrdila da se radi o fenotipu paraBombay, O_h^A-sekretoru, bez prisustva H supstance na eritrocitima i postojanjem anti-H "like" antitela u plazmi (report No 145-224R, May 29th, 2024).

Diskusija

Podaci iz literature ukazuju da je paraBombay redak fenotip koji se obično otkriva kada postoji ABO neslaganje između ispitivanja eritrocita i ispitivanja plazme/seruma. Osobe sa paraBombay krvnom grupom mogu da imaju slabo izražene ABH antigene na eritrocitima koji su rezultat pasivne adsorpcije iz sekreta, a dokazuju se metodima adsorpcije i elucije ili delovanjem enzima na ispitivane eritrocite.^{4,6-7} U našem slučaju postojali su slabo izraženi A antigeni na eritrocitima, koji su dokazani ili delovanjem enzima metodom u gelu ili ABO test serumima sa ispranim eritrocitima, metodom u epruveti. Testiranje pljuvačke radi utvrđivanja sekretornog statusa ispitivane osobe igra određenu ulogu u razlikovanju Bombay od paraBombay fenotipa, jer je poznato da su nosioci paraBombay krvne grupe sekretori.⁴ Sekretorni status se takođe može odrediti utvrđivanjem prisustva Lewis(Le) antigena na eritrocitima, jer je poznato da nesekretori nemaju Lewis^b antigen, odnosno da je njihov fenotip Lewis (a+b-), dok sekretori imaju fenotip Lewis (a+b+). U našem slučaju, Lewis fenotip trudnice

bio je Le(a-b+), što je potvrdilo da je ona sekretor i da ima paraBombay fenotip.

Osobe sa paraBombay krvnom grupom mogu razviti anti-H, anti-IH ili kombinaciju ova dva antitela uz postojanje prirodnog anti-A/anti-B.⁶ Anti-H antitelo, prema literaturi, kod ovih osoba obično ima slabiju reaktivnost u poređenju sa anti-H kod Bombay fenotipa, iako može biti reaktivno i na 37°C (8). Generalno, anti-H ili anti-IH antitela mogu da imaju široku termalnu amplitudu sa reaktivnošću na 4°C, 22°C i 37°C, ali su pretežno reaktivni na nižim temperaturama. Dokazivanje ovih antitela imaju značajne implikacije u primeni transfuziološke terapije ovim pacijentima. U hitnoj situaciji, kada pacijent sa anti-H/anti-HI antitelima koja pretežno reaguju na nižim temperaturama, a ne na temperaturi tela (37°C), eritrociti ABO krvnih grupa kompatibilnih u indirektnom antiglobulinskom testu sa plazmom pacijenta mogu da budu transfundovani.^{6,9} U našem slučaju, trudnica je imala anti-HI antitelo koje je reagovalo na nižim temperaturama sa O i A₂ eritrocitima odraslih osoba, koje imaju H i I antigen, a nisu reagovali sa O eritrocitima novorođenčadi, koja nemaju I antigen, kao ni sa A₁ eritrocitima, koja nemaju H antigen. U ovom slučaju, za eventualnu transfuziju su planirani H-negativni, A₁-fenotipizirani eritrociti, ili intraoperativno spasavanje eritrocita tokom carskog reza, uz konsultaciju sa službom transfuzije u GAK "Narodni front", ali se porođaj završio bez primene transfuzione terapije.

Zaključak

Precizno i tačno utvrđivanje ABO krvne grupe značajno je u prevenciji neželjenih transfuzionih reakcija i sprovođenju bezbedne transfuzije krvi. Svaku neusaglašenost u ovom ispitivanju treba smatrati veoma važnim pitanjem koje treba rešiti. Ovaj slučaj ukazuje na važnost izvođenja naprednih, nestandardnih imunohematoloških testova (uključujući ad-

sorpciju, eluciju, enzimsku tehniku i molekularnu tipizaciju) za identifikaciju slabih A ili B podgrupa, kao i retke paraBombay krvne grupe, kada rutinskim ispitivanjem krvne grupe ABO ne može da se izvede zaključak. U slučajevima kada postoji poteškoća u potvrđivanju paraBombay fenotipa, značajna je uloga molekularnog testiranja. Slučaj potvrđuje značaj tinskog rada i stručne međulaboratoriske i multidisciplinarne interakcije u zbrinjavanju pacijenata.

Literatura

1. Patel JN, Donta AB, Patel AC, Pandya AN, Kulkarni SS. Para-Bombay phenotype: A case report from a tertiary care hospital from South Gujarat. *Asian J Transfus Sci* 2018;12:180-2.
2. Simon TL, McCullough J, Snyder EL, Solheim BG, Strauss RG, Eds. Rossi's principles of transfusion medicine. 5th ed. West Sussex, U.K.:Wiley-Blackwell Publishing, 2016:161.
3. Cohn CS, Delaney M, Johnson ST, Katz LM, Eds. AABB technical manual. 20th ed. Bethesda, MD: AABB Press, 2020: 310.
4. Joibi KF, Noor NH, Hassan MN, Ibrahimi S, Rahman WS, Yusoff SM, *et al.* Parabombay blood group: Report of a rare blood group. *Asian J Transfus Sci* 2024;18:316-9.
5. Arthur CM, Olsson ML, Stowell SR. ABO and other carbohydrate blood group systems. In: Cohn CS, Delaney M, Johnson S, *et al.*, eds. Technical manual. 21st ed. Bethesda, MD: AABB, 2023: 305-37.
6. Subramaniyan R. AB Para-Bombay phenotype: A rare blood group variant and its clinical significance. *Hematol TransfuCell Ther* 2018;40:96-7.
7. Chacko MP, Mathan A, Daniel D. Para-Bombay: A blind spot in blood grouping? *Asian J Transfus Sci* 2011;5:182-3.
8. Harmening DM. Modern Blood Banking and Transfusion Practices. FA Davis; 2018
9. Yashovardhan A, Kumar IC, Babu KS, Babu BS, Verma A, Kumar BS, *et al.* Para-Bombay phenotype: Report of a rare blood group. *J Clin Sci Res* 2012;1:141.

Corresponding author: Prim. dr sc. med. dr Snežana Jovanović Srzentić
Naučni saradnik Medicinskog fakulteta u Beogradu,
Institut za transfuziju krvi Srbije
srzentic60@yahoo.com

RAZVOJ MODIFIKOVANOG PROTOKOLA PRIPREME AUTOLOGNIH SERUM KAPI ZA OČI U VOJNOMEDICINSKOJ AKADEMIJI

Miodrag Jocić^{1,2}, Mirjana Grujčić², Bela Balint^{2,3}

¹ Institut za transfuziologiju i hemobiologiju, Vojnomedicinska akademija, Beograd, Srbija;

² Medicinski fakultet Vojnomedicinske akademije, Univerzitet odbrane, Beograd, Srbija;

³ Odeljenje medicinskih nauka, Srpska akademija nauke i umetnosti; Beograd.

Sažetak

Uvod: Autologne serum kapi (ASK) za oči su savremeni terapijski modalitet primenjen u oftalmologiji, naročito kod pacijenata sa oboljenjima prednje površine oka, koji nemaju adekvatan terapijski odgovor na tradicionalni način lečenja. ASK sadrže bioaktivne molekule kao što su faktori rasta, vitamini, citokini i drugi proteini, koji im omogućavaju izražen epiteliotropni potencijal.

Cilj: Prikaz pripreme modifikovanog protokola proizvodnje ASK razvijenog u Institutu za transfuziologiju i hemobiologiju Vojnomedicinske akademije prema mogućnostima i potrebama naše ustanove, kao i prikaz rezultate njihove primene u kliničkoj praksi.

Materijal i metode: U istraživanju je učestvovalo 18 pacijenata (10 muškaraca i 8 žena) sa sindromom suvog oka i defektima epitela rožnjače, nakon neuspešnog tradicionalnog lečenja. Svi pacijenti su testirani serološki na prisustvo markera TTI i NAT-PCR anallizama. ASK su pripremane po modifikovanom protokolu naše ustanove, koji uključuje uzorkovanje 45–90 ml venske krvi, centrifugiranje na 2300g tokom 30 minuta. Serum se razblažuje fiziološkim rastvorom do 20% koncentracije, pakuje u sterilne bočice i zamrzava na -30°C . Svaka serija ASK testira se mikrobiološki na prisustvo aerobnih i anaerobnih bakterija. Samo ASK koje su ostale sterilne se primenjuju u dozi 1–2 kapi na svaka 2–3 sata tokom tri nedelje.

Rezultati: Kod svih pacijenata došlo je do subjektivnog poboljšanja tegoba nakon primene ASK. OSDI skor smanjen je signifikantno sa $71 \pm 16,4$ na $19 \pm 15,1$ ($p < 0,01$), TBUT je značajno produžen sa prosečno $6,3 \pm 1,2$ na $9,6 \pm 2,4$ sekunde ($p < 0,001$), Schirmerov testa je značajno povećan sa $4,8 \pm 1,1$ na $8,4 \pm 3,2$ mm ($p < 0,001$) nakon primene ASK u poređenju sa rezultatima praćenja pre terapijske primene ASK. Vitalno bojenje prikazuje poboljšanje kod 90% pacijenata.

Zaključak: ASK pripremljene po modifikovanom protokolu, pokazale su visoku efikasnost i bezbednost kod pacijenata sa teškim oblicima oboljenja prednjeg oka rezistentnim na standardnu terapiju, uz značajno kliničko poboljšanje subjektivnih i objektivnih parametara.

Uvod

Autologne serum kapi (ASK) za oči predstavljaju savremeni terapijski modalitet u oftalmologiji. Primenjive su u slučajevima kada tradicionalni metodi lečenja ne daju očekivane rezultate, naročito kod pacijenata sa teškim oboljenjima prednje površine oka, kao što su

sindrom suvog oka, perzistentni defekti epitela rožnjače, hemijska ili termička oštećenja rožnjače, neurotrofni keratitis i postoperativna stanja. ASK su prvi put uvedene u kliničku praksu 1984. godine od strane Fox-a i saradnika, u pokušaju da se obezbedi surogat prirodnim suzama bez prisustva konzervansa (1). Kasniji radovi, posebno oni Tsubota i saradni-

ka, pokazali su da ASK, zahvaljujući sadržaju faktora rasta, vitamina, citokina i drugih bioloških molekula, poseduju izražen epitelni potencijal (2).

Za razliku od komercijalno dostupnih veštačkih suza koje prvenstveno imaju lubrikantnu i osmoprotektivnu funkciju, ASK imaju kompleksniji biološki sastav. One sadrže ključne komponente neophodne za reparaciju i regeneraciju epitelne barijere oka – uključujući epidermalni faktor rasta (EGF), transformišući faktor rasta beta (TGF- β), vitamin A, fibronektin, lizozim, imunoglobuline i druge proteine i lipide prisutne i u prirodnim suzama (Tabela 1). Njihovo poreklo iz autolognog seruma smanjuje rizik od imunoloških reakcija i omogućava upotrebu bez dodatka konzervansa (3-6).

Nakon inicijalnih in vitro i in vivo studija koje su potvrdile pozitivan efekat ASK na proliferaciju, migraciju i diferencijaciju epitelnih ćeli-

ja rožnjače, ova terapija je ušla u širu kliničku primenu (1, 2). Ipak, do danas ne postoji jedinstveni, standardizovani protokol za pripremu i primenu ASK. Objavljeni protokoli različitih autora pokazuju značajne varijacije u pogledu načina uzorkovanja i volumene uzeta krvi, uslova obrade, upotrebljene sile centrifugiranja, koncentracije seruma u kapima (20–100%), načina skladištenja, trajanja upotrebe i režima doziranja (3-8).

Upravo zbog toga, u Institutu za transfuziologiju i hemobiologiju Vojnomedicinske akademije razvijen je sopstveni, modifikovani protokol proizvodnje ASK, koji je prilagođen kliničkoj praksi i mogućnostima naše ustanove. Ovaj rad ima za cilj da prikaže naš protokol, sa akcentom na razloge njegovog razvoja u odnosu na postojeće preporuke i iskustva iz literature, kao i rezultate primene ASK kod oftalmoloških bolesnika lečenih na Vojnomedicinskoj akademiji.

Tabela 1.

Uporedni prikaz sastava ključnih terapijskih komponenti suza i seruma

	SUZE	SERUM
pH	7,4	7,4
Osmolaritet	298	296
EGF (ng/ml)	0,2-3,0	0,5
TGF- β (ng/ml)	2-10	6-33
NGF- β (pg/ml)	468,3	54,0
IGF (ng/ml)	0,31	105
PDGF (ng/ml)	1,33	15,4
Albumin (mg/ml)	0,023	53
Substance P (pg/ml)	157	70,9
Vitamin A (mg/ml)	0,02	46
Lizozim (mg/ml)	1,4	6
SIgA (μ g/ml)	1190	2
Fibronektin (μ g/ml)	21	205
Lactoferin (ng/ml)	1,650	266

Materijal i metode

Protokol pripreme autolognih serumskih kapi

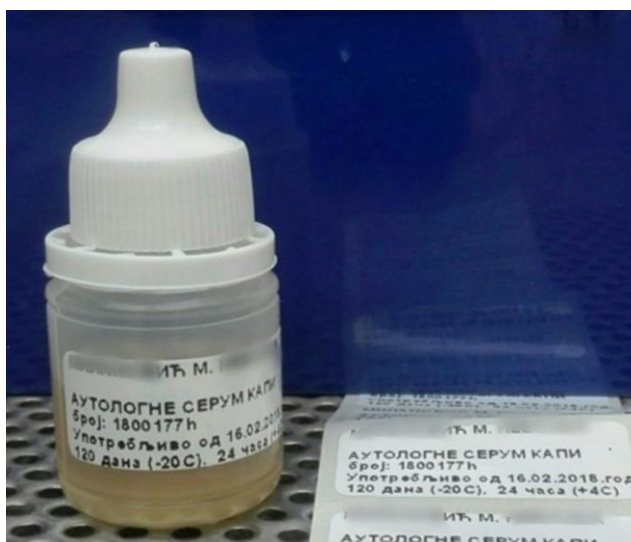
Priprema ASK u Institutu za transfuziologiju i hemobiologiju VMA sprovodi se po modifikovanom protokolu, razvijenom prema važ-

ćim transfuzijskim standardima, a u skladu mogućnostima i potrebama naše ustanove.

Uzimanje uzorka krvi vrši se ujutru, nako temeljne dezinfekcije polja venepunkcije, iz vene lakatne jame, upotrebom vaku-tajnera u epruvete bez antikoagulansa (BD

Vacutainer, CAT, 9 ml), u potrebnoj količini od 45-90 ml. Nakon koagulacije u trajanju od 1-2 sata na sobnoj temperaturi (+22 °C), krv se centrifugira na 3500 rpm (2300 g) u trajanju od 30 minuta. Dobijeni serum se pažljivo odvaja aseptičnim postupkom u komori sa laminarnim protokom vazduha. Kapi se dalje razblažuju u sterilnom fiziološkom rastvoru (0,9% NaCl) do finalne koncentracije od 20% seruma, u skladu sa preporukama iz literature koje ukazuju na optimalan balans između biološke aktivnosti i bezbednosti. Pripremljeni preparati se pakuju u jednodozne sterilne po-

ljetilenske bočice zapremine 10 ml (volumen ASK u bočici je 5 ml), bez dodatka konzervansa ili antibiotika. Bočice se označavaju kao "Autologne serum kapi", sa imenom i prezimenom pacijenta, jedinstvenim rednim brojem donacije, datumom proizvodnje, i datumom isteka u različitim uslovima čuvanja (slika 1). ASK se zatim zamrzavaju i čuvaju na -30°C do momenta izdavanja. Označena upotrebljivost seruma je do 120 dana u zamrznutom stanju, odnosno do 24 časa na temperaturi frižidera (+4°C).



Slika 1. Prikaz označavanja autoloških serum kapi za oči za svakog pacijenta

Svi pacijenti prolaze kroz standardni skrining davalaca krvi na transfuzijom prenosive infekcije (TTI), uključujući testiranje na HIV 1/2, HBV, HCV i sifilis, kao i NAT-PCR testiranje. Pored toga, svaka serija pripremljenih ASK se testira na sterilnost metodom zasejavanja na obogaćene hranjive podloge za aerobne i anaerobne bakterije (krvni agar, triptoso-agar i tioglikolat), sa praćenjem rasta tokom 5 dana inkubacije. Samo ASK koje ostanu sterilne tokom perioda ispitivanja i od davalaca krvi negativnih na merke TTI bivaju odobrene za dalju kliničku primenu.

Način primene kod pacijenata

Svako od pacijenata dobija preporuke za upotrebu. ASK se primenjuju topikalno, direktnim ukapavanjem u konjunktivalnu kesu, u dozi od 1-2 kapi na svaka 2 do 3 sata tokom dana. Terapija se sprovodi u trajanju od minimalno 3 nedelja, a u zavisnosti od kliničkog odgovora i osnovnog oboljenja, terapija se može produžiti. Najduža primena bila je tokom 6 meseci. Pacijentima se preporučuje čuvanje dobijenih bočica zamrzivaču do 120 dana, odnosno u frižideru (+4°C) tokom perioda aktivne upotrebe do maksimalno 24 časa,

uz strogo poštovanje aseptičkih mera pri aplikaciji.

U istraživanje su uključeni pacijenti nakon potpisane pisane saglasnosti, stariji od 18 godina, sa dijagnostikovanim sindromom suvog oka težeg stepena, postoperativnim oštećenjima epitela barijere ili nelečenim defektima epitela rožnjače koji su bili rezistentni na tradicionalne metode lečenja. Isključeni su pacijenti sa aktivnim infekcijama oka, istorijom alergijskih reakcija na sastojke ASK, kao i oni sa sistemskim autoimunim oboljenjima u aktivnoj fazi. Takođe, isključeni su pacijenti koji su imali neku od kontraindikacija za doniranje autologne krvi: značajne cerebrovaskularne ili kardiovaskularnih bolesti, anemiju ($Hgb \leq 11$ g/dl), aktivnu bakterijsku infekciju, pozitivnost na markere TTI (HBV, HCV, HIV i sifilis).

Priprema i klinička primena ASK je započeta tek nakon dobijanja odobrenja Etičkog komiteta i Komisije za lekove Vojnomedicinske akademije, pozitivne ocene Ministarstva zdravlja Republike Srbije za uvođenjem nove zdravstvene tehnologije, kao i u skladu sa Helsinškom deklaracijom i principima dobre kliničke prakse.

Klinička evaluacija efekata ASK sprovedena je na početku terapije i nakon završene primene. Praćeni su sledeći parametri:

- OSDI skor (Ocular Surface Disease Index) – standardizovani upitnik za procenu subjektivnih tegoba pacijenata,
- TBUT (Tear Break-Up Time) – test stabilnosti suznog filma,
- Schirmer I test bez anestezije – kvantifikacija bazalne i refleksne sekrecije suza,

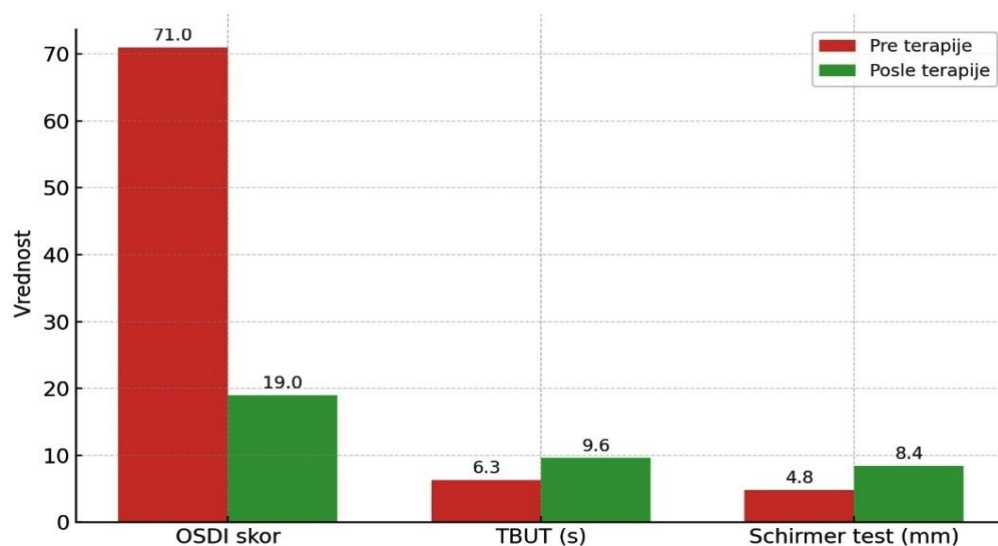
- Vitalno bojenje fluoresceinom – procena integriteta epitela rožnjače,
- Fotodokumentacija i klinički pregled biomikroskopom.

Svi podaci su statistički obrađeni korišćenjem programa SSPS (software version 20.0) metodom deskriptivne i inferencijalne statistike. Za analizu podataka korišćen je t-test za uparene uzorke kako bi se uporedili rezultati pre i posle terapije. Statistički značajni podaci ($p < 0,05$) ukazuju na poboljšanje svih parametara praćenja, uključujući subjektivne tegobe (OSDI), objektivne testove stabilnosti suznog filma i vitalnog bojenja epitela.

Rezultati

ASK su primenjene kod ukupno 18 pacijenata ($n = 18$), od kojih 10 muškaraca i 8 žena. Svi pacijenti su imali dijagnostikovan sindrom suvog oka težeg stepena ili defekt epitela rožnjače, koji su bili rezistentni na tradicionalni način lečenja. Ukupno je primenjeno 46 tretmana, pri čemu je svaki trajao 3 nedelje. Za uspešno izlečenje bilo je potrebno u proseku jedan do dva tretmana po pacijentu. Kod jednog pacijenta ASK primenjivane su u više tretmana u ukupnom trajanju od 6 meseci.

Evaluacija efikasnosti terapije bila je zasnovana na subjektivnim i objektivnim parametrima, kao i kliničkim nalazima pre i posle tretmana. Parametri praćenja uključivali su OSDI skor, TBUT, Schirmer I test, vitalno bojenje fluoresceinom, oština vida, kao i klinički pregled biomikroskopom (Grafikon 1).



Grfikon 1. Uporedni prikaz parametara pre i posle terapijske primene ASK

Svi oftalmološki pacijenti su pokazali subjektivna poboljšanja. Pre terapije, prosečan OSDI skor bio je $71 \pm 16,4$, dok je posle tretmana primenom ASK prosečan OSDI skor bio je $19 \pm 15,1$ ($p < 0,01$). Takođe, objektivni napredak je zabeležen kod 83% pacijenata ($p < 0,001$). Pre terapije, prosečno vreme TBUT iznosilo je $6,3 \pm 1,2$ sekunde. Nakon terapije, TBUT se povećao na $9,6 \pm 2,4$ sekunde, uz statistički značajno poboljšanje ($p < 0,001$).

Prosečni rezultat Schirmer testa pre terapije bio je $4,8 \pm 1,1$ mm, dok je nakon terapije, prosečan rezultat bio je $8,4 \pm 3,2$ mm, uz značajno povećanje ($p < 0,001$). Vitalno bojenje fluoresceinom, pre terapije, vitalno bojenje je pokazalo visok stepen oštećenja epitela kod 70% pacijenata. Nakon terapije, 90% pacijenata imalo je smanjenje oštećenja epitela, a samo 10% pacijenata je pokazalo minimalna oštećenja (Slika 2).



Slika 2. Prikaz potpunog oporavka pacijenta nakon terapijske primene ASK za oči kod keretopatije razvijene u sklopu šećerne bolesti

Diskusija

Primena ASK u terapiji oboljenja prednjeg oka, kao što su sindrom suvog oka i perzistentni defekti epitela rožnjače, temelji se na prirodnim supstituentima suza, što omogućava bolju podršku zarastanju oštećenog epitela. Kapi sadrže faktore rasta, vitamine i imunoglobuline koji pomažu u regeneraciji i proliferaciji ćelija rožnjače. U poređenju sa konvencionalnom terapijom, ASK pružaju efikasnu alternativu, naročito kod pacijenata sa problemima koji nisu rešivi standardnim tretmanima. Kao što su pokazali Fox i saradnici 1984. godine, primena autolognih serum kapi je bila uspešna u tretmanu sindroma suvog oka. Primena autolognih serum kapi u razblaženju 1:2 fiziološkim rastvorom poboljšala znakove i simptome kod 15 pacijenata. Kada je ovaj serum razređen u odnosu 1:200 ili je upotrebljen čist rastvarač (0.9% NaCl) nelagodnost se ponovo vratila (1). Kasnija istraživanja, poput Tsubota i saradnika izveštavaju da su simptomi, fluorescein i Roze bengal bojenja kod sindroma suvih očiju pacijenata sa Sjegrenovim sindromom značajno smanjeni nakon primene 20% ASK 6-10 puta dnevno tokom 4 nedelje. Slični nalazi su opisani i kod bolesnika sa suvim okom u sklopu GvHD, sa simptomima koji se poboljšavaju u roku od nekoliko dana, ali se bojenje defekta epitela poboljšava nakon nekoliko meseci. Tako su istraživanja Tsubote iz 1999. godine, dala dublje uvide u efekte serumskih kapi na migraciju i proliferaciju epitela rožnjače (2).

Do sada objavljeni protokoli za proizvodnju autolognih serum kapi se razlikuju u nekoliko ključnih aspekata. U nastavku se opisuju dva najčešće primenivana standardna postupka.

Standardni protokol iz Univerziteta Lübeck, Nemačka predviđa uzimanje 100 ml krvi u sterilnim uslovima u kontejnere, koji se ostavljaju da stoje 2 sata na sobnoj temperaturi u uspravnom položaju kako bi se osiguralo

potpuno zgrušavanje pre centrifugiranja na 3000 g 15 minuta. Dobijena količina seruma (30-35 ml) razređena je u odnosu 1:5 sterilnim uravnoteženim rastvorom soli (BSS) i sterilisana upotrebom specijalnog filtera (0,2 µm). Proizvedene ASK su dostupne oko 4 sata nakon venepunkcije, ali se predaje pacijentu vrši nakon seroloških i mikrobioloških testiranja. Obično se kapi primenjuju osam puta dnevno. Nova bočica se otvara svaki dan. Preporučuje se čuvanje na +4°C i da bude bačena nakon 16 sati korišćenja redovnim kućnim otpadom. Preostale bočice se čuvaju zamrznute na -20°C do 3 meseca (6, 7).

Poštujući principe dobre proizvođačke prakse Nacionalni Insitut za transfuziologiju u Engleskoj i Velsu izabrao je drugačiji pristup. Pacijenti se ocenjuju za njihovu prikladnost da doniraju prema Britanskom odboru za standarde u hematologiji (BCSH). To podrazumeva da budu u razumno dobrom zdravstvenom stanju, bez značajnih kardiovaskularnih ili cerebrovaskularnih bolesti, i bez bakterijske infekcije. Anemija (hemoglobin (Hb) <11 g / dl) je relativna kontraindikacija. Krv se sakuplja po istom postupku kao i za sve dobrovoljne davaoce krvi, osim što se krv uzima u kontejneru bez antikoagulansa. Oni pacijenti koji nisu pogodni da doniraju punu jedinicu krvi (470 ml) mogu dati manju količinu krvi između 250-400 ml. Rutinsko virološko testiranje se vrši kao za dobrovoljne davaoce krvi u Ujedinjenom Kraljevstvu (HBsAg, antitela na HCV, HIV 1/2, HTLV, HCV i sifilis,). Krv se čuva na temperaturi od +4°C dva dana da bi se krv u potpunosti koagulisala i da se ugrušak retrahuje u potpunosti. Serum se odvaja od ugruška krvi centrifugiranjem (od ukupne donacije se dobija oko 200 ml seruma), nakon čega se sterilnim konekcijom dodaje ekvivalentan volumen sterilnog fiziološkog rastvora. Razređeni serum se zatim prenosi u prostoriju sa laminarni protokom vazduha gde se po 3 ml seruma pakuju u sterilne staklene bočice sa kapaljkom označene detaljima pacijenta i

uputsvom za čuvanje. Pet bočica iz svake serije se šalje na mikrobiološko testiranje pre upotrebe. Ostale bočice se prebacuju u zamrzivač gde se razblaženi serum brzo zamrzava do temperature od -30°C . Zamrznut serum se čuva na ovoj temperaturi, dok se ne preda pacijentu. Jedna puna donacija daje oko 150 bočica. Pacijentu se daje uputstvo da bočice skladišti u zamrzivač. Vek trajanja proizvoda je 6 meseci od dana proizvodnje. Pacijenti su dobili instrukcije da koriste jednu bočicu seruma dnevno, sa frekvencom ukapavanja u zavisnosti od simptoma (obično 3-6 puta dnevno). Sav preostali serum iz bočice na kraju dana se baca (8).

Takođe, razlike u metodama proizvodnje, kao što su varijacije u procesu centrifugiranja i razblaženja, mogu značajno uticati na koncentracije faktora rasta, što je dokumentovano u istraživanjima Ebnera i saradnika. Takođe, analiza varijacija u proizvodnji, kao što je razlika u g silama pri centrifugiranju, ukazuje na mogućnost optimizacije proizvodnje seruma za bolju terapijsku efikasnost (9).

Naš modifikovani protokol nastao je kombinovanjem elemenata standardnih protokola u skladu sa mogućnostima i potrebama naše ustanove. Izvršena je preciznu optimizaciju procesa centrifugiranja, uzimajući u obzir specifične g-sile i vreme centrifugiranja kako bi se izbegla hemoliza i osigurala viša koncentracija terapijskih činovaca u serumu, kao i kontrola vremena i temperature tokom pripreme i čuvanja seruma, što može uticati na stabilnost aktivnih supstanci. Efekat centrifugiranja zavisi od centrifugalne sile G i vremena centrifugiranja uzorka. Centrifugiranje po našem protokolu od 2300 g tokom 30 minuta rezultira dobrim odvajanjem seruma i krvnog ugruška, bez izazivanja hemolize. Izražavanje sile centrifugiranja u protokolima je bolje u g silama jer pored broja obrtaja rotora u minuti (rpm) uključuje i specifičnosti centrifuge, odnosno prečnik rotora (7).

Osim toga, koncentracija i razblaženje autolognih serum kapi u različitim protokolima značajno variraju. U prospektivnoj studiji Poon i saradnici navode poboljšanje subjektivnih i objektivnih kriterijuma kod teškog sindroma suvog oka je utvđeno kod svih koji su primali 100% serum ($n = 3$), ali samo u tri od osam koji su primali 50% serum (10). Efikasnost je možda i dozno zavisna jer je u studiji Takamure, 94% pacijenata koji su koristili kapi osam puta dnevno došlo do poboljšanja simptoma u odnosu na samo 58% od onih koji su aplikovali kapi 4x dnevno. U našem protokolu vrši se razblaženje seruma u konačnoj koncentraciji od 20%, koji se primenjuje u dozi od 1-2 kapi na svaka 2 do 3 sata tokom 3 nedelje (11).

Potencijalni nedostaci serum kapi za oči su ograničena stabilnost i rizik od infekcije koji najčešće potiče od pacijenata koji sami aplikuju serum. Kontaminacija nije uočena u bočicama za nedeljnu primenu sve do četvrtog dana kada je aplikaciju vršilo stručno medicinsko osoblje. Međutim, kada su se kapi koristile u kućnim uslovima od strane pacijenata kontaminacija je češća uprkos korišćenju 0,5% hloramfenikola kao konzervansa. Dodavanje antibiotika smanjuje epiteliotropni kapacitet serum kapi za oči (10), te nije pogodna opcija za ASK i skladištenje seruma u bočicama za dnevno doziranje izgleda odgovarajuće. Uslovi za sterilnu proizvodnju, počev od temeljne dezinfekcije kože, su od najvećeg značaja. Pored toga, pre aplikacije pacijent mora biti obavešten u pisanoj formi o planiranoj terapiji, rizicima bakterijske kontaminacije, a takođe je potreban odgovarajući pristanak pacijenta. Zabeležena je i transmisija HIV uzročnika preko jedne kapi seruma u jedno oko je prijavljena kod najmanje jednog slučaja (12). Kako bi se smanjio rizik od eventualnog prenosa virusa na druge pacijente, pacijenti su testirani na markere TTI (HIV, HBV, HCV, ili sifilis) i NAT – PCR testiranjem, a pozitivni se isključuju iz procedure lečenja ASK (6-8).

Modifikovani protokol omogućava precizno doziranje i kvalitetniju proizvodnju seruma, što može poboljšati terapijske ishode, čineći ovu terapiju sigurnijom i pristupačnom našoj ustanovi. Jedno od ograničenja našeg protokola jeste period čekanja od 5 dana do pristizanja negativnih rezultata mikrobiološkog testiranja. Nedavna studija, u kojoj je upoređivan terapijski efekat 20% ASK i 20% PRP (plazma bogata trombocitima) bez dodatka antiinflamatornih lekova, pokazuju da ne postoje značajnije razlike u delotvornosti oba načina lečenja kod pacijenata sa suvim okom usled primarnog Sjögrenovog sindroma. S obzirom na kraće vreme pripreme u poređenju sa ASK, PRP bi mogao predstavljati praktičnu alternativu u lečenju kod ovih bolesnika u slučajevima koji zahtevaju brzo započinjanje terapije (13). Takođe, implementacija mikroskopske analize ćelija rožnjače pre i nakon primene seruma bi olakšalo procenu direktnog efekta na regeneraciju i proliferaciju epitela rožnjače.

Zaključak

Farmaceutske veštačke suze obično ne sadrže nutritivne komponente, dok kapi za oči izrađene od autolognog seruma imaju bi-hemijski karakter koji je bliži hemijskom sastavu suza, te obezbeđuju potrebne nutritivne komponente. Upotreba autolognog seruma u tretmanu oftalmoloških pacijenata, koji su prethodno bili rezistentni na standardnu terapiju, stalno raste zbog svoje jednostavnosti i niskih troškova. Razvoj protokola koji se mogu primenjivati u zavisnosti od mogućnosti i potreba zdravstvenih ustanova, može povećati dostupnost ASK i njihovu češću kliničku primenu.

Literatura

1. Fox RI, Chan R, Michelson JB, Belmont JB, Michelson PE. Beneficial effect of artificial tears made with autologous serum in patients with keratoconjunctivitis sicca. *Arthritis Rheum.* 1984; 27(4): 459–61.
2. Tsubota K, Goto E, Fujita H, Ono M, Inoue H, Saito I, Shimmura S. Treatment of dry eye by autologous serum application in Sjögren's syndrome. *Br J Ophthalmol* 1999; 83: 390–5.
3. Rocha EM, Pelegriño FS, de Paiva CS, Vigorito AC, de Souza CA. GVHD dry eyes treated with autologous serum tears. *Bone Marrow Transplant* 2000; 25: 1101–3.
4. Tananuvat N, Daniell M, Sullivan LJ, Yi Q, McKelvie P, McCarty DJ, Taylor HR. Controlled study of the use of autologous serum in dry eye patients. *Cornea* 2001; 20: 802–6.
5. R Lagnado 1, AJ King, F Donald, HS Dua. A protocol for low contamination risk of autologous serum drops in the management of ocular surface disorders. *Br J Ophthalmol.* 2004; 88(4): 464–5.
6. Geerling G, MacLennan S, Hartwig D. Autologous serum eye drops for ocular surface disorders. *Br J Ophthalmol.* 2004; 88(11): 1467–74.
7. Liu L, Hartwig D, Harloff S, Herminghaus P, Wedel T, Geerling G. An optimised protocol for the production of autologous serum eyedrops. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2005; 243: 706–14.
8. Voak D, Finney RD, Forman K, Kelsay P, Mitchell R, Murphy MF, et al. Guidelines for autologous transfusion and pre-operative autologous donation, British Committee for Standards in Haematology Blood Transfusion Task Force. *Transfusion Med* 1993; 3: 307–16.
9. You L, Ebner S, Kruse FE. Glial cell-derived neurotrophic factor (GDNF)-induced migration and signal transduction in corneal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42: 2496–2504.
10. Poon AC, Geerling G, Dart JK, Fraenkel GE, Daniels JT, Tighe PJ. Serum eye drops for the treatment of ocular surface diseases:

- a systematic review and meta-analysis. *Ocul Surf.* 2019; 17(4): 753–64
11. Takamura E, Shinozaki K, Hata H, Yukari J, Hori S. Efficacy of autologous serum treatment in patients with severe dry eye. In: Sullivan DA, ed. *Lacrimal gland, tear film, and dry eye syndromes 3*. Amsterdam: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2002 : 1247–50.
12. Eberle J, Habermann J, Gurtler LG. HIV-1 infection transmitted by serum droplets into the eye: a case report. *AIDS* 2000;14:206–7.
13. Min-Ji Kang, Jee Hye Lee, Jehyung Hwang, So-Hyang Chung. Efficacy and safety of platelet-rich plasma and autologous-serum eye drops for dry eye in primary Sjögren's syndrome: a randomized trial. *Randomized Controlled Trial Sci Rep.* 2023; 13(1): 19279.

Korespondencija: Prim. ass. dr sc med. Miodrag Jocić, naučni saradnik

Institut za transfuziologiju i hemobiologiju VMA

Crnotravska 17, Beograd

Tel. 065 2500 550

G-mail: jocicmiodrag@gmail.com



DA LI JE HODGKINOV LIMFOM POTENCIJALNO IZLEČIVA BOLEST?

Milena Todorović Balint^{1, 2}, Nevena Bešević¹, Andrej Pešić¹, Bela Balint^{3, 4}

¹Klinika za hematologiju, Univerzitetski Klinički Centar Srbije, Beograd;

²Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu;

³Odeljenje medicinskih nauka, Srpska akademija nauke i umetnosti;

⁴Medicinski fakultet VMA, Univerzitet odbrane, Beograd.

Sažetak

Hodgkinov limfom (HL) je neoplazma porekla zrelih B neoplastičnih limfoidnih ćelija. Primena citostatske hemioterapije uz dodatak radioterapije dovela je do značnog povećanja stope terapijskog odgovora HL u poslednjih nekoliko decenija. U prethodnih 15 godina savremeni principi lečenja uz primenu takozvane ciljane ili target terapije uz ranu procenu terapijskog odgovora (pozitronska emisija tomografija u kombinaciji sa skenerom tj. PET/CT nakon 2 ciklusa) dovela je do poboljšanja ishoda lečenja. Na taj način postiže se optimizuje broja hemioterapijskih ciklusa i smanjuje se potencijalna toksičnost. Primena inovativnih lekova kao što su brentuksimab vedotin (anti CD30 monoklonsko antitelo-konjugovano sa monometil-aureistatinom) i "check point" inhibitori kao što su nivolumab i pembrolizumab, uz transplantaciju matičnih ćelija hematopoeze predstavljaju standard lečenja za bolesnike sa relapsom i refraktarnim HL (R/R HL).

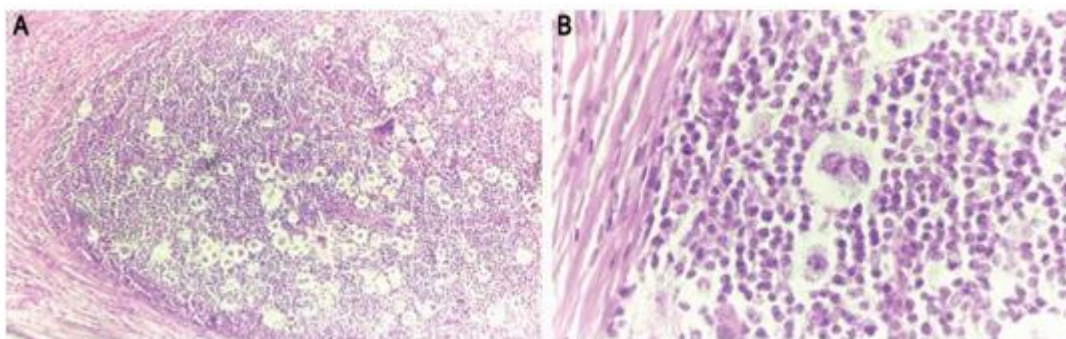
Ključne reci: Hodgkinov limfom, savremena terapija, prognoza

Uvod

Klasični Hodgkinov limfom (cHL) je maligna hronična limfoproliferativna bolest porekla limfocita germinalnog centra limfnih folikula. Bolesnici sa cHL čine 95%, a u 5% slučajeva javlja se retka forma nodularni limfocitima bogat HL. U okviru cHL postoje 4 histološka podentiteta: limfocitna predominacija, nodularna skleroza, mešovita celularnost i limfocitna deplecija. Incidenca cHL iznosi je 2,3/100.000 stanovnika godišnje i čini oko 10% svih limfoma u SAD [1]. Najčešći je limfoidni malignitet kod dece i mladih odraslih osoba u razvijenim zemljama. Češći je kod muškaraca u svim uzrastima (oko 1,2 : 1), naročito kod dece (85%). Medijana početka bolesti je 38. godina, s dva vrha incidencije, u uzrastu iz

među 15 i 34 godine i kod starijih od 60 godina. Epidemiološka istraživanja su našla povećan rizik oboljevanja od cHL kod mlade odrasle populacije s visokim socioekonomskim statusom [2].

Pojedina istraživanja upućuju na udruženost cHL s profesionalnom izloženošću pesticidima, egzogenim hemikalijama, toksinima ili životnim navikama, kao što je pušenje cigareta. Lična ili porodična istorija autoimunskih poremećaja povezana je s povećanim rizikom za nastanak cHL. Patognomonične ćelije za cHL su džinovske Rid-Sternbergove i Hodgkinove ćelije (HRS) koje ispoljavaju linijski specifičnu antigensku ekspresiju, kao rezultat gubitka transkripcionih faktora (OCT2, BOB1, PU.1) i epigenetskog prigušivanja, uz nishodnu regulaciju PAX-5 ciljnih gena (Slika 1).



Slika 1. Patohistološki prikaz biopsije Hodgkinovog limfoma tipa nodularne skleroze, svetlosna mikroskopija: A) HE x 100; B/HE x 400

Nedostatak funkcionalnih B-ćelijskih površinskih receptora, uz "izbegavanje" apoptoze, verovatno je važan mehanizam preživljavanja tumorskih ćelija. Poznato je da su u patogenezu cHL uključena i dva signalna puta: Januskinaza (JAK) STAT i nuklearni faktor- κ B (NF- κ B). Najnovija istraživanja ukazuju da i mikrosredina tumora igra značajnu ulogu u preživljavanju malignih ćelija. Kod obolelih od cHL nađen je povišeni serumski titar Epstein-Barovog virusa (*Epstein-Barr virus* – EBV), kao etiološki agens infektivne mononukleoze. Ulogu u nastanku bolesti, osim uočene povezanosti sa EBV, ima i genetska osetljivost.

Dijagnozu cHL u nešto manje od polovine bolesnika prate opšti simptomi. Temperatura iznad 38 °C, obilno noćno znojenje, gubitak telesne mase više od 10% od inicijalne (u toku 6 meseci) i svrab po koži označavaju se kao simptomatska bolest, tj. postojanje "B" simptoma. Bol u zahvaćenim limfnim žlezdama odmah nakon konzumacije alkohola interesantan je simptom i gotovo da je specifičan za HL. To se događa u manje od 10% bolesnika, a nema prognostički značaj.

Karakterističan nalaz za bolesnike sa cHL je uvećanje limfnih žlezda. Oko 60 – 70% obolelih ima uvećanje limfnih žlezda vrata i supraklavikularne regije, nešto ređe aksilarnih limfnih žlezda, dok svega 15 – 20% ima uvećanje limfnih žlezda subdijafragmalne regije ili uvećanje slezine. Bolesnici s velikom medi-

jastinalnom tumorskom masom (tzv. *bulky* masa) mogu imati suv, nadražajni kašalj, bol u grudima, dispneju, retko hemoptizije, a može da se javi i sindrom kompresije gornje šuplje vene sa oticanjem lica, nabreklošću vena vrata i gornjeg dela grudnog koša.

Napredak u lečenju HL se bazira na kombinovanoj hemioterapiji, pažljivo planiranoj radioterapiji, ciljnoj tj. *target* terapiji uz primenu visokodozne hemioterapije sa autolognom transplantacijom matičnih ćelija kod relapsa i refraktarnog HL (R/RHL). Alogena transplantacija se i kod ovog hematološkog maligniteta smatra jedinom potencijalno kurativnom metodom lečenja. Terapija vođena procenjenim terapijskim odgovorom i prilagođena kategoriji rizika u koju je bolesnik svrstan na dijagnozi dovela je do 10-godišnjeg preživljavanja od oko 80% [3]. U ranom kliničkom stadijumu (*clinical stage* – CS) I – II 5-godišnje preživljavanje (*overall survival* – OS) iznosi 96,0 – 99,4% za povoljni i nepovoljni rizik, dok za uznapredovali CS (III – IV) iznosi 56 – 89% [4]. Naravno, ostaje problem neposredne i dugotrajne toksičnosti primenjene terapije.

Uvodna terapija se bazira na stratifikaciji rizika cHL prema vodiču Evropskog udruženja medikalnih onkologa (*European Society for Medical Oncology* – ESMO), u odnosu na jasno definisane kriterijume studijskih grupa (Tabela 1).

Tabela 1.

Definicija grupa rizika cHL prema GHSG i EORTC/LYSA*

Terapijska grupa	GHSG	EORTC/LYSA
Rani (ograničeni) CS	CS I–II bez faktora rizika	CS I–II bez faktora rizika (supradijafragmalna bolest)
Intermedijerni CS	CS I, CSIIA ≥ 1 faktorom rizika CS IIB sa faktorima rizika C i/ili D, ali ne A/B	CS I–II sa ≥ 1 faktorom rizika (supradijafragmalna bolest)
Uznapredovali CS	CS IIB sa faktorima rizika A i/ili B CS III/IV	CS III–IV
Faktori rizika	A. Veliki medijastinalni tumor B. Ekstranodalna bolest C. Ubrzana sedimentacija D. ≥ 3 žlezdanih regija	Veliki medijastinalni tumor B. Godine ≥ 50 C. Ubrzana sedimentacija D. ≥ 4 žlezdanih regija

CS = klinički stadijum (*clinical stage*); GHSG = German Hodgkin Study Group; EORTC = European Organisation for Research and Treatment of Cancer; LYSA = Lymphoma Study Association

Standardno uvodno lečenje se najčešće bazira na polihemioterapijskom protokolu ABVD (adriamycin, bleomycin, vinblastine i dacarbazine). U slučaju uznapredovalog cHL lečenje se može započeti i intenzivnijim protokolom nemačke studijske grupe escBEA-COPP (bleomycin, etoposide, adriamycin, cyclophosphamide, vincristine, procarbazine, prednisolone). Dodatak tzv. ciljnih ili *target* lekova navedenim kombinacijama doveo je do smanjenja toksičnosti uz povećanu efikasnost. Tako umesto bleomycina protokolu AVD je pridodat brentuximab vedotin (BV) koji predstavlja anti-CD30 monoklonsko antitelo kombinovano sa antitubulskim agensom monometil auristatinom-E. Naime, antigen CD30 koji se eksprimira na HRS ćelijama kod cHL je meta ovog biološkog leka [5]. Drugi pristup je upotreba antitela koja blokiraju imunske kontrolne tačke (lekovi tzv. *check point* inhibitori), da bi se prekinula interakcija HRS ćelija,

koje prekomerno ekspimiraju ligande programirane ćelijske smrti (PDL)-1 ili PDL-2 kao rezultat amplifikacije broja kopija, i makrofaga povezanih sa tumorom koji nose PD-L1, sa okolnim T-limfocitima koji ekspimiraju PD1 receptor. Čini se da ovo dovodi do iscrpljivanja i HRS ćelija i makrofaga veoma brzo, bez dokaza o adaptivnom imunskom odgovoru. Navedeni mehanizam dejstva se odvija kod HL i donekle je drugačiji od onog koji se viđa kod solidnih tumora, gde efekti *check point* inhibitora više zavise od ekspanzije aktivnog citotoksičnog T-ćelijskog odgovora [6].

Pristupi lečenju su stratifikovani prema stepenu zahvaćenosti koji definiše klinički stadijum bolesti tj. anatomska lokalizacija bolesti određena Ann Arbor klasifikacijom. Prema navedenoj klasifikaciji vrši se tzv. stažiranje bolesti na I – IV CS (Tabela 2).

Tabela 2.

Klinički stadijumi HL prema Ann-Arbor klasifikaciji

Stadijum I	Uvećanje jedne limfne žlezde ili limfnih žlezda jedne regije ili lokalizovana zahvaćenost jednog vanžlezdanog tj. ekстранodalnog regiona
Stadijum II	Zahvaćenost limfnih žlezda u dva ili više regiona na jednoj strani dijafragme ili lokalizovana ekстранodalna lokalizacija u dva ili više regiona na istoj strani dijafragme
Stadijum III	Zahvaćenost limfnih žlezda dva ili više regiona i/ili zahvatanje organa izvan limfnog sistema sa obe strane dijafragme
Stadijum IV	Difuzno i diseminovano zahvatanje jednog ili više ekstralimfatičnih organa hematogenom diseminacijom (ekстранodalna bolest) sa ili bez dodatnog zahvatanja limfnog tkiva
A	Bez B simptoma
B	B-simptomi (temperatura > 38°C i/ili noćno znojenje i/ili gubitak težine)

Takođe se uzima u obzir i to u koju je kategoriju bolesnik svrstan shodno faktorima rizika pomenutih studijskih grupa [7].

Lečenje pacijenata koji mogu da podnesu intenzivno lečenje

Principi lečenja cHL koji mogu da podnesu intenzivno lečenje su vođeni stepenom anatomske zahvaćenosti, faktorima rizika i ranom procenom terapijskog odgovora.

Rani stadijum bolesti

Rani stadijum cHL koji karakteriše zahvaćenost limfnih žlezda na jednoj strani dijafragme, dalje je podeljen prisustvom ili odsustvom opštih ili B simptoma, ubrzanom sedimentacijom, velikom ili bulky tumorskom masom ili zahvaćenošću više limfnih žlezda (Tabela 3).

Tabela 3.

Prognostički faktori u ranom stadijumu Hodgkinovog limfoma: ukoliko je prisutan ≥ 1 faktor rizika bolest je nepovoljne prognoze (rani nepovoljni stadijum)

EORTC	GSHG
Medijastinalna masa > 1/3 torakalnog prečnika	Bulky medijastinalna masa
Godine ≥ 50	Ekстранodalna lokalizacija
SE ≥ 50 bez simptoma, ≥ 30 kod B simptoma	SE ≥ 50 bez simptoma, ≥ 30 kod B simptoma
≥ 4 regije limfnih žlezda	≥ 3 regije limfnih žlezda

GSHG = German Hodgkin Study Group; EORTC = European Organisation for Research and Treatment of Cancer

Kombinovana hemioterapija uz zračenje daje najveće šanse za izlečenje, ali prepoznavanje odložene toksičnosti radioterapije uslovilo je savremeni pristup lečenju koji je prilagođen terapijskom odgovoru procenjenom uz korišćenje FDG-PET/CTa. Primena inicijalnog PET/CTa bitna je za procenu inicijal-

nog stadijuma i procenu svih metabolički aktivnih lezija koje povećano vezuju specifični radiofarmak (*fluoro deoxy-glucosa* – FDG). PET/CTa nakon 2 ciklusa hemioterapije (tzv.interim PET2) služi za procenu odgovora, te ukoliko je nalaz uredan, omogućava da se radioterapija, koja može imati odložene štetne

efekte, izostavi. Generalno FDG PET/CT pokazuje stepen metaboličke aktivnosti tumorskog tkiva koje vezuje radiofarmak FDG, a ta se aktivnost gradiuira pomoću Deauville skora (DS) sa vrednošću od 1 – 5. Vrednost DS od 4 – 5 ukazuje na metabolički aktivnu bolest. Studije su pokazale da postoji interakcija između početne težine bolesti, efikasnosti hemoterapije i negativne prediktivne vrednosti interim PET/Cta: teška bolest i manje intenzivna hemoterapija čine relaps verovatnijim uprkos negativnog nalaza PET/Cta.

U ranom povoljnom stadijumu cHL konvencionalni pristup bazira se na rezultatima studije HD10 GHSG, a to je primena 2 ciklusa ABVD i 20Gy radioterapije po tipu zahvaćenog polja (*involved site* radioterapija – ISRT), uz obazrivost kod radioterapije koja može sa sobom nositi odložen rizik od kardiovaskarnih komplikacija [8]. Drugi pristup je PET-om vođen pristup prema EORTC/LYSA/FIL H10 studijama. On podrazumeva da se nakon inicijalna 2 ciklusa ABVD, ukoliko je PET2 negativan primeni još 1 ciklus ABVD uz 20 Gy ISRT [9]. Ukoliko je PET2 pozitivan terapija se eskalira na 2 ciklusa escBEACOPP i 30 Gy ISRT [10]. Peto-godišnje preživljavanje ovih pacijenata iznosi 98%.

U slučaju ranog nepovoljnog stadijuma bolesti lečenje se sprovodi sa 4 ciklusa ABVD ili sa 2 ciklusa escBEACOPP +2 ciklusa ABVD, ukoliko se ne koristi PET2 [11]. Drugi pristup je uz korišćenje PET2, što podrazumeva da ako je nakon 2 ciklusa ABVD PET2 negativan, primenjuju se još 2 ciklusa ABVD i 30 Gy radioterapije po tipu ISRT, a ukoliko je PET2 pozitivan, još 2 ciklusa escBEACOPP i 30 Gy RT po tipu ISRT [10].

Uznapredovala bolest

Kod pacijenata koji imaju uznapredovali cHL potrebno je maksimalno intenzivno lečenje polihemioterapijom, uz potrebu da se učini balans između delotvornosti i toksičnosti

primenjenih lekova. Standardni protocol ABVD ipak ima niži stepen remisija u odnosu na escBECOPP, ali je istovremeno manje toksičan. U kontekstu toga tri studije su ispitivale značaj interim PET/CT-a da bi utvrdile koja bi terapijska strategija bila optimalna. Engleska studijska grupa nazvana kao *Risk Adapted Therapy for Advanced Stage Hodgkin Lymphoma* (RATHL) primenjuje deeskalaciju sa ABVD na AVD (isključenje bleomycina zbog plućne toksičnosti) ukoliko je nakon 2 ciklusa ABVD negativan PET/CT, a eskalaciju na escBEACOPP ukoliko je tada PET/CT pozitivan [12]. Nasuprot tome, studija LYSA AHL2011 (*Lymphoma Study Association Advanced HL*) nakon 2 ciklusa escBEACOPP ukoliko je PET/CT negativan podrazumeva deeskalaciju u na ABVD, a nastavak inicijalnog protokola u slučaju pozitivnosti istog [13].

Studija nemačke grupe GHSG (*German Hodgkin Study Group*) H18, podrazumeva primenu escBEACOPP, uz redukciju na ukupno 4 primenjena ciklusa istog protokola, ukoliko je interim PET/CT negativan [14]. Sve tri studije su pokazale da je deeskalacija terapije bila adekvatna opcija nakon negativnog interim PET/CT (PET2), ali su bolesnici sa uznapredovali HL koji su započeli lečenje znatno intenzivnijim protokom escBEACOPP imali bolju kontrolu bolesti, ukoliko im je PET2 bio negativan i to: u RATHL studiji 5-godišnji period do progresije bolesti (*Profession Free Survival* – PFS) iznosio je 81,6%, u LYSA AHL11 studiji 88,4%, dok je u GHSG H18 bio 91,7% [14]. Kod pacijenata koji imaju uznapredovali HL u III/IV kliničkom stadijumu u studiji ECHELON-1 pokazana je prednost primene incijalne terapije sa bretuksimab vedotinom (BV) umesto bleomycina: BV-AVD u odnosu na ABVD [15]. Naime, 6-godišnji PFS je bio 83,2% vs. 74,5% (HR) 0.68 (0.53 – 0.86) i ukupno preživljavanje 94,9% vs. 90,6% (HR) 0.53 (0.34–0.83) u korist primene BV-AVD. Takođe, obzirom na visoku toksičnost protoko-

la BEACOPP u studiji GHSG HD21 kod pacijenata sa uznapredovalim cHL, isti je poređen sa protokolom BreCADD (brentuximab vedotin, etoposide, cyclophosphamide, doxorubicin, dacarbazine, dexamethasone) u koji je inkorporiran BV (brenuximab vedotin) umesto bleomycina. Rezultati ukazuju da je BreCADD je značajno efikasniji od BEACOPP-a i dovodi do dužeg 4-godišnjeg PFS, smanjujući rizik od progresije, recidiva ili smrti za trećinu [16].

Studija koja ispituje u prvoj terapijskoj liniji uznapredovalog cHL sekvencijalnu primenu *check point* inhibitora pembrolizumaba i AVD protokola pokazuje slične rezultate kao i primena 4 ciklusa nivolumaba (N) koji je praćen sa 6 ciklusa N-AVD, gde je 9-mećni PFS 92% [17, 18]. Studija nazvana kao *South West Oncology Group* (SWOG) poredila je rezultate uvodnog lečenja uznapredovalog cHL protokolima N-AVD vs BV-AVD [19]. Postoji nešto bolje PFS u grupi pacijenata koji su primali N-AVD.

Lečenje pacijenata kojima je nepodobno za intenzivno lečenje

Bolesnici kojima je nepodobno intenzivno uvodno lečenje su stariji od 60 godina ili imaju značajne komorbiditete. Kod njih može biti izražena bleomicinska plućna toksičnost, kao i kardiotoksičnost koju uzrokuju antraciklini (adriamycin). U takvim situacijama se može sprovesti redukcija doza citostatika, ali oni mogu na taj način samo 50% bolesnika uvesti u remisiju [20]. Primena mono *target* terapije lekom BV pokazala je u studiji faze II kod pacijenata iznad 60 godina medijanu PFS od samo 7,4 meseca, dok je u ECHELON-1 studiji kombinacija BV-AVD dovela do 5-godišnjeg PFS od 67,1% [21, 22]. Potencijalni problem bi bila polineuropatija koju uopšteno uzrokuje

BV, ali je kod starijih osoba ona izraženija. U ovoj studiji teška polineuropatija gradusa 3-4 se javila kod manje od petine pacijenata. Dizajn ove sekvencijalne studije je primena 2 ciklusa BV, potom 6 ciklusa AVD i nakon toga još 4 ciklusa BV kod pacijenata sa povoljnim terapijskim odgovorom.

Takozvane *chemo-free* terapije tj. kombinacije *target* lekova bez citostatika (pr. BV-Nivolumab) do 8 primenjenih ciklusa predstavljale bi povoljniju opciju [23]. Stopa kompletnih remisija iznosila je 48%, a medijana PFS 18,3 meseca. Međutim febrilna neutropenija i polineuropatija kod starijih ljudi često onemogućavaju blagovremnu primenu terapije u punim dozama uz dovoljan broj terapijskih ciklusa.

Lečenje pacijenata sa recidivom i refraktarnom bolešću

Uvodnom terapijom postiže se remisija kod oko 60% pacijenata sa cHL, dok kod trećine njih dolazi do recidiva bolesti, a nažalost oko 10% pacijenata ispoljava rezistenciju. Tih 40% pacijenata predstavlja grupu visokog rizika za lečenje i standard je kod njih visokodozna hemioterapija sa autolognom transplantacijom matičnih ćelija (auto-SCT, autologous stem cell transplantation). Ona omogućava da oko 50% pacijenata bude izlečeno, i dovodi do 5-godišnjeg PFS koji iznosi 60-75% [24].

Smernice u lečenju R/R HL dalo je Evropsko udruženje medikalnih onkologa (*European Society for Medical Oncology* – ESMO) i one su prikazane na tabeli 4 [25]. Cilj koji se želi postići nakon primene terapije spašavanja ili *salvage* terapije kod R/R HL (hemioterapijski protokoli DHAP, IGEV ili ICE) je negativan PET pre autologne transplantacije.

Tabela 4.

Terapija R/R cHL

Bolesnici	Terapija
Većina pacijenata sa R/R cHL	Visokodozna hemioterapija sa auto-SCT
Visoko-rizični bolesnici	Visokodozna hemioterapija sa tandem auto-SCT
Bolesnici sa ≥ 1 faktorom rizika*	Konsolidacija sa BV nakon visokodozne hemioterapije sa auto-SCT
Bolesnici sa jednom PET + limfnom žlezdom nakon salvage terapije	Radioterapija pre visokodozne hemioterapije sa auto-SCT
Bolesnici sa neuspjehom nakon auto-SCT	BV kao opcija
Bolesnici sa rekurentnom bolešću	Anti PD-1 [¥]
Bolesnici sa neuspjehom nakon visokodozne hemioterapije sa auto-SCT	Allo-SCT ^{¥¥}
Bolesnici sa multiplim relapsima	Kliničke studije
	Palijativna hemioterapija na bazi gemcitabina i/ili regionalna radioterapija

*Allo-SCT = alogena transplantacija matičnih ćelija; *Primarno progresivna bolesti, rani relaps < 12 meseci nakon završetka uvodne terapije i ektranodalna (EN) bolest u relapsu; ¥Nakon HDT sa auto-SCT i BV; ¥¥ Za mlade hemioosenzitivne bolesnike u dobrom opštem stanju*

Konvencionalna *salvage* hemioterapija daje niske stope kompletnih remisija do 20%, a remisija predstavlja preduslov za uspjeh autologne transplantacije. Matabolički odgovor se evaluira uz pomoć pretrasplantaconog PET-/CTa. Obzirom da konvencionalna *salvage* terapija nije optimalna, a i toksična je, u liječenju onih pacijenata koji nisu postigli adekvatan terapijski odgovor na ≥ 2 linije, primjenjuje se BV kao vrsta salvage mono terapije. Kod pacijenata koji ispolje relaps nakon BV, indikovano je primeniti nivolumab. Takođe, značajne su i kombinacije ciljnih lekova kao što su BV i *check point* inhibitori sa *salvage* protokolima u smislu kombinacija npr. BV-ICE, ili takozvanih *chemo-free* kombinacija: nivolumab+BV+/- ipilimumab. Ukoliko se desi relaps nakon autologne transplantacije, terapijski pristup je veliki izazov. Stoga je u cilju prevencije relapsa u takvoj situaciji indikovana primena leka BV kao monoterapije konsolidacije kod visokorizičnih bolesnika nakon autologne transplantacije. Faktori rizika koji bolesnika svrstavaju u kandidata za konsolidaciju lekom BV nakon autologne transplantacije

ije definisani su nakon AETHERA studije i to su: refraktarna bolest, relaps u prvih godinu dana, vanžlezdana lokalizacija bolesti i B simptomi u relapsu pre transplantacije, $\geq$ primenjene *salvage* terapije u relapsu, nepostizanje kompetne remisije nakon poslednje salvage terapije. Primena konsolidacije nakon autologne transplantacije dovela je do značajnog produženja PFS kod pacijenata koji su je primali u odnosu na one koji nisu, a taj produžen PFS sa BV je zadržan i posle 5 godina praćenja. Takođe, bilo je 30% manje neželjenih događaja kod pacijenata koji su primali BV [26].

Ipak, kada se desi relaps nakon autologne transplantacije, opcija bi bila primena *check point* inhibitora nivolumaba što je pokazano u studiji CheckMate [27]. U celokupnoj grupi bolesnika lečenih nivolumabom nakon autologne transplantacije 5-godišnje preživljavanje iznosilo je 71.4%, sveukupna stopa odgovora bila je oko 70%, a medijana PFS iznosila je oko 14 meseci, uz dobar bezbednosni profil leka. Ipak, kada se desi relaps nakon autologne transplantacije, jedina potencijalno

kurativna terapijska opcija jeste alogena transplantacije, kao i kod ostalih visokorizičnih hematoloških maligniteta. Ona je skopčana sa mortalitetom vezanim za samu proceduru koji iznosi i do 20%, te se mora definisati profil bolesnika koji će se lečiti na taj način. Idealno bi da HL bude u stanju remisije pred alogenu transplantaciju da bi smanjili rizik od brojnih komplikacija. Kondicioni režimi tj. pretransplantacioni protokoli koji se takođe prilagođavaju samom bolesniku i mogu biti mijeloablativni, a ređe redukovanog intenziteta. U odnosu na tip donora haploidentična transplantacija zbog kalem protiv limfoma (*Graft Versus Limfoma* – GvL) efekta može da pruži zadovoljavajuću kontrolu bolesti i da uvede bolesnika u dugotrajnu i stabilnu remisiju. Ako i nakon alogene transplantacije dođe do recidiva bolesti, terapijski pristup je veoma izazovan. Infuzija donorskih limfocita (DLI) daje stopu odgovora od oko 20%, i potrebno je da se kombinuje sa lekovima kao što su BV, Bendamustin ili BV+Bendamustin. Nakon primene DLI, kao vida adoptivne imunoterapije, postoji rizik i od razvoja bolesti kalema protiv domaćina (*Graft versus Host Disease* – GvHD) [28].

Zaključak i buduće smernice

Lečenje cHL predstavlja konstatni izazov i dalje, obzirom da postoji značajan udeo visokorizičnih pacijenata sa recidivom i refraktarnom bolešću. Takođe, tu su i stariji bolesnici i oni koji imaju značajne komorbiditete, kod kojih bi primena *chemo-free* protokola bila najbolja opcija. Takođe, i pored klasičnih ciljnih lekova, postoje i potuno novi agensi koji obuhvataju antitelo-lek sa metom na CD25 antigen, bispecifična antitela koja se vezuju za CD30 antigen na membrani HRS ćelija i za receptor NK ćelija CD16, kao i CAR-T ćelijske terapije usmerene ka CD30 antigenu [28]. Ipak, zbog mogućih ozbiljnih neželjenih efekata nakon primene ovakvog

vida lečenja, balansiranje između koristi i rizika i dalje je izazov.

Literatura

1. Ansell SM. Hodgkin lymphoma: 2025 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol.* 2024; 99(12):2367-2378.
2. Todorović Balint M. Hodgkinov limfom. U *Interna medicina Medicinski fakultet Univerzitet u Beogradu*, Urednik Seferović PM. 787-789.
3. Lim SH, Johnson PWM. Optimizing therapy in advanced-stage Hodgkin lymphoma. *Blood.* 2018;131(15):1679-1688.
4. Hasenclever D, Diehl V. A prognostic score for advanced Hodgkin's disease. International Prognostic Factors Project on Advanced Hodgkin's Disease. *N Engl J Med.* 1998;339(21):1506-14.
5. Younes A, Connors JM, Park SI, et al. Brentuximab vedotin combined with ABVD or AVD for patients with newly diagnosed Hodgkin's lymphoma: a phase 1, open-label, dose-escalation study. *Lancet Oncol.* 2013;14(13):1348-1356.
6. Reinke S, Brockelmann PJ, Iaccarino I, et al. Tumor and microenvironment response but no cytotoxic T-cell activation in classic Hodgkin lymphoma treated with anti-PD1. *Blood.* 2020;136(25): 2851-2863.
7. Lister TA, Crowther D, Sutcliffe SB, Glatstein E, Canellos GP, Young RC, et al. (November 1989). "Report of a committee convened to discuss the evaluation and staging of patients with Hodgkin's disease: Cotswolds meeting". *Journal of Clinical Oncology.* 7 (11): 1630–1636.
8. Engert A, Plütschow A, Eich HT, et al. Reduced treatment intensity in patients with early-stage Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med.* 2010;363(7):640-652.
9. Fuchs M, Goergen H, Kobe C, et al. Positron emission tomography guided treatment

- in early-stage favorable Hodgkin lymphoma: final results of the international, randomized phase III HD16 trial by the German Hodgkin study group. *J Clin Oncol.* 2019;37(31):2835-2845.
10. André MPE, Girinsky T, Federico M, et al. Early Positron Emission Tomography Response-Adapted Treatment in Stage I and II Hodgkin Lymphoma: Final Results of the Randomized EORTC/LYSA/FIL H10 Trial. *J Clin Oncol.* 2017;35(16):1786-1794.
 11. von Tresckow B, Plütschow A, Fuchs M, et al. Dose-intensification in early unfavorable Hodgkin's lymphoma: final analysis of the German Hodgkin Study Group HD14 trial. *J Clin Oncol.* 2012;30(9):907-13.
 12. Johnson P, Federico M, Kirkwood A, et al. Adapted treatment guided by interim PET scan in advanced Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med.* 2016;374(25):2419-2429.
 13. Casasnovas RO, Bouabdallah R, Brice P, et al. PET-adapted treatment for newly diagnosed advanced Hodgkin lymphoma (AHL2011): a randomised, multicentre, non-inferiority, phase 3 study. *Lancet Oncol.* 2019;20(2):202-215.
 14. Borchmann P, Goergen H, Kobe C, et al. PET-guided treatment in patients with advanced-stage Hodgkin's lymphoma (HD18): final results of an open-label, international, randomised phase 3 trial by the German Hodgkin Study Group. *Lancet.* 2018;390(10114): 2790-2802.
 15. Vijenthira A, Chan K, Cheung MC, Prica A. Cost-effectiveness of first-line treatment options for patients with advanced-stage Hodgkin lymphoma: a modelling study. *Lancet Haematol.* 2020;7(2): e146-e56.
 16. Ansell SM, Radford J, Connors JM, et al. Overall survival with brentuximab vedotin in stage III or IV Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med.* 2022;387(4):310-320.
 17. Allen PB, Lu X, Chen Q, et al. Sequential pembrolizumab and AVD is highly effective at any PD-L1 expression level in untreated Hodgkin lymphoma. *Blood Adv.* 2023;7(12): 2670-2676.
 18. Ramchandren R, Domingo-Domènech E, Rueda A, et al. Nivolumab for newly diagnosed advanced-stage classic Hodgkin lymphoma: safety and efficacy in the phase II CheckMate 205 study. *J Clin Oncol.* 2019;37(23):1997-2007.
 19. Herrera AF, Hongli Li, Sharon M, Et al. SWOG S1826: A Phase III, Randomized Study of Nivolumab Plus AVD or Brentuximab Vedotin Plus AVD in Patients with Newly Diagnosed Advanced Stage Classical Hodgkin Lymphoma. *Blood* 2020; 136(1): 23-24.
 20. Evens AM, Helenowski I, Ramsdale E, et al. A retrospective multi center analysis of elderly Hodgkin lymphoma: outcomes and prognostic factors in the modern era. *Blood.* 2012;119(3):692-695.
 21. Gibb A, Pirrie SJ, Linton K, et al. Results of a UK National Cancer Research Institute Phase II study of brentuximab vedotin using a response-adapted design in the first-line treatment of patients with classical Hodgkin lymphoma unsuitable for chemotherapy due to age, frailty or comorbidity (BREVITY). *Br J Haematol.* 2021;193(1): 63-71.
 22. Evens AM, Connors JM, Younes A, et al. Older patients (aged ≥ 60 years) with previously untreated advanced-stage classical Hodgkin lymphoma: a detailed analysis from the phase III ECHELON-1 study. *Haematologica.* 2022;107(5):1086-1094.
 23. Cheson BD, Bartlett NL, LaPlant B, et al. Brentuximab vedotin plus nivolumab as first-line therapy in older or chemotherapy-ineligible patients with Hodgkin lymphoma (ACCRU): a multicentre, single arm, phase 2 trial. *Lancet Haematol.* 2020;7(11):e808-e15.
 24. Linch DC, Winfield D, Goldstone AH, et al. Dose intensification with autologous

- bone-marrow transplantation in relapsed and resistant Hodgkin's disease: results of a BNLI randomised trial. *Lancet*. 1993;341 (8852):1051-1054.
25. Eichenauer, D.A. et al. Hodgkin lymphoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology* 2018; 29 (4): 19–29.
26. Moskowitz CH, Walewski J, Nademanee A, et al. Five-year PFS from the AETHERA trial of brentuximab vedotin for Hodgkin lymphoma at high risk of progression or relapse. *Blood*. 2018;132(25):2639-2642.
27. Armand P, Engert A, Younes A, et al. Nivolumab for Relapsed/Refractory Classic Hodgkin Lymphoma After Failure of Autologous Hematopoietic Cell Transplantation: Extended Follow-Up of the Multicohort Single-Arm Phase II CheckMate 205 Trial. *J Clin Oncol*. 2018;36(14):1428-1439.
28. Mohty R, Dulery R, Bazarbachi AH, et al. Latest advances in the management of classical Hodgkin lymphoma: the era of novel therapies. *Blood Cancer J*. 2021;11(7):126. doi: 10.1038/s41408-021-00518-z.

Korespondencija: Prof. dr Milena Todorović Balint

Klinika za hematologiju, Univerzitetski klinički centar Srbije
Dr Koste Todorovića 2,
11 000 Beograd, Srbija
Email: bb.lena@gmail.com

PERIOPERATIVNO ZBRINJAVANJE PACIJENATA NA TERAPIJI DIREKTNIM ORALNIM ANTIKOAGULANSIMA

Ana Momčilović^{1,2}

¹Zavod za transfuziju krvi Niš; ²Toplička akademija strukovnih studija

Sažetak

Direktni oralni antikoagulansi (DOAK) predstavljaju grupu antikoagulantnih lekova koji se široko primenjuju u prevenciji i lečenju brojnih kardiovaskularnih i cerebrovaskularnih tromboembolijskih bolesti.

Perioperativno zbrinjavanje pacijenata koji su na terapiji DOAK zasnovano je na poznavanju farmakokinetike leka, proceni rizika krvarenja i rizika za tromboembolijske komplikacije. U slučaju elektivnih procedura primenjuju se standardizovani protokoli, koji u zavisnosti od procenjenog stepena rizika od krvarenja podrazumevaju odlaganje sledeće doze leka ili isključivanje leka pre i posle hirurške intervencije. Imajući u vidu brzo smanjenje antikoagulantnog efekta DOAK i povećan rizik od krvarenja, primena niskomolekularnog heparina se ne preporučuje sem u slučaju procedura visokog rizika. U slučaju hitnih stanja neophodno je odrediti laboratorijski nivo DOAK i što pre neutralizovati ili redukovati antikoagulantni efekat leka primenom specifičnih lekova koji imaju reverzno dejstvo ili koncentrata protrombinskog kompleksa (PCC). Dalja istraživanja treba usmeriti u pravcu usvajanja standardizovanih protokola u hitnim stanjima, opravdanosti primene niskomolekularnog heparina kod pacijenata sa visokim rizikom od tromboembolije i lekova sa reverznim delovanjem na DOAK.

Ključne reči: direktni oralni antikoagulansi, krvarenje, hitna stanja

PERIOPERATIVE MANAGEMENT OF PATIENTS ON DIRECT ORAL ANTICOAGULANT THERAPY

Abstract

Direct oral anticoagulants (DOAC) represent a group of anticoagulant drugs that are widely used in the prevention and treatment of numerous cardiovascular and cerebrovascular thromboembolic diseases.

Perioperative management of patients on DOAC therapy is based on knowledge of drug pharmacokinetics, assessment of bleeding risk and risk of thromboembolic complications. In the case of elective procedures, standardized protocols are applied, which, depending on the estimated degree of risk of bleeding, include postponing the next dose of the drug or DOAC cessation before and after the surgical intervention. Taking into account the rapid reduction of the anticoagulant effect of DOAC and the increased risk of bleeding, the use of low-molecular-weight heparin is not recommended except in the case of high-risk procedures. In case of emer-

gencies, it is necessary to determine the laboratory level of DOAC and neutralize or reduce the anticoagulant effect of the drug as soon as possible by using specific drugs that have a reverse effect or prothrombin complex concentrate (PCC). Further research should be directed towards the adoption of standardized protocols in emergency situations, the justification for the use of low-molecular-weight heparin in patients with a high risk of thromboembolism and drugs with a reverse action on DOAC.

Key words: direct oral anticoagulants, bleeding, emergent conditions

Direktni oralni antikoagulansi

Direktni (novi) oralni antikoagulansi (DOAK, NOAK) predstavljaju grupu antikoagulantnih lekova koji su odobreni i uvedeni 2010. godine, a sada već široko primenjeni u kliničkoj praksi širom sveta, ali i u našoj zemlji (1). Vrlo brzo su postali efikasna, bezbedna i pristupačna zamena antagonistima vitamina K (AVK) (varfarin, acenokumarol) koji su bili zlatni standard u antikoagulantnoj terapiji, te su poslednjih godina DOAK vodeći u prevenciji i lečenju brojnih kardiovaskularnih i cerebrovaskularnih tromboembolijskih bolesti. Statistički podaci pokazuju da preko 30 miliona pacijenata u svetu danas koristi DOAK, kao i da se godišnje taj broj povećava za više od pola miliona (2,3).

DOAK direktno inhibišu specifične proteine unutar koagulacijske kaskade i prema mehanizmu dejstva se dele u dve grupe: direktne inhibitore FXa, kao što su rivoroksaban, apiksaban, edoksaban, betriksaban i direktne inhibitore trombina, kao što je dabigatran. U poređenju sa antagonistima vitamina K ovi lekovi pokazuju brojne prednosti, kao što su smanjeni rizik krvarenja, predvidljivi farmakokinetički i farmakodinamski efekat, širok terapijski opseg, primena u fiksnoj dozi koja ne zahteva stalno praćenje efekta terapije, lakše je pridržavanje propisanoj terapiji, smanjene su potencijalne interakcije sa hranom i drugim lekovima, a početak delovanja, kao i uklanjanje efekta ovih lekova je brzo (4). Maksimalni efekat dejstva postiže se 2-3 sata nakon uz-

imanja leka, dok je vreme eliminacije 8-12 sati kod pacijenata sa očuvanom bubrežnom funkcijom (klirens kreatinina preko 30 ml/min), 10-14 sati za dabigatran kod pacijenata čiji je klirens kreatinina ispod 50 ml/min, odnosno 18-24 sata kod pacijenata sa klirensom kreatinina ispod 30 ml/min (1-5).

Danas se DOAK najčešće primenjuju u prevenciji moždanog udara kod pacijenata sa ne-valvularnom atrijskom fibrilacijom, u lečenju venskog tromboembolizma, kao tromboprofilaksa nakon velikih ortopedskih intervencija, kao i u prevenciji aterotrombotičnih događaja u sklopu akutnog koronarnog sindroma (6). S druge strane, ove lekove ne smeju uzimati pacijenti sa ugrađenim mehaničkim srčanim zaliscima, antifosfolipidnim sindromom i atrijskom fibrilacijom udruženom sa reumatskim oboljenjem srca, kod kojih se preporučuje isključivo primena klasičnih AVK. Obzirom da ne postoje podaci o njihovoj bezbednosti za fetus i novorođenče, DOAK se ne preporučuju trudnicama jer prolaze kroz placentu, ali i dojiljama jer su prisutni u majčinom mleku. Takođe, treba biti posebno oprezan u njihovoj primeni kod pacijenata u starijem životnom dobu (preko 80 godina), kod pacijenata male telesne mase (manje od 60kg) i sa težim oboljenjima jetre i bubrega (klirens kreatinina manji od 50 ml/min) (7-9).

Krvarenje kod pacijenata na DOAK

Kao i kod drugih antikoagulantnih lekova, krvarenje je najčešća komplikacija pri-

mene DOAK, ali se javlja mnogo ređe i u manjem obimu. U poređenju sa AVK, značajno je smanjen rizik intrakranijalnog i fatalnog krvarenja (2-4% pacijenata godišnje), dok se kod 10-12% pacijenata javlja klinički značajno krvarenje manjeg stepena (10). Smrtni ishod koji nastupa unutar 30 dana od velikog krvarenja uzrokovano ovim lekovima javlja se u 7-20%, sa najvećom stopom kod pacijenata sa hemoragičnim moždanim udarom koji povećava stopu smrtnosti čak 30 puta (11).

Lečenje krvarenja koje je uzrokovano primenom DOAK podrazumeva obavezan prekid terapije, mere potpore i reanimacije (infuzija kristaloida i vazopresora, transfuzija eritrocita ukoliko je koncentracija hemoglobina manja od 7 gr/dl, transfuzija trombocita), upotrebu hemostatskih agenasa (dezmodipresin, traneksamična kiselina) i specifičnih lekova koji imaju reverzno dejstvo (idarucizimab za dabigatran, andeksanet alfa za apiksaban, edoksaban i rivoroksaban) (12).

Preoperativna priprema pacijenata na terapiji DOAK

Preoperativna priprema pacijenata koji su na terapiji DOAK ima za cilj da smanji rizik od krvarenja u perioperativnom periodu sa jedne strane, a sa druge da smanji rizik od tromboembolijskih komplikacija koje mogu nastati zbog prekida antikoagulantne terapije. Najpouzdaniji način određivanja efekta DOAC kod pacijenta pre intervencije, a time i pripreme pacijenta za intervenciju jesu pouzdani laboratorijski testovi kojima se određuje nivo DOAK tj. njihov rezidualni antikoagulantni efekat. To su anti-Xa (ng/ml) za apiksaban, edoksaban i rivoroksaban i razblaženo trombinsko vreme (dTT) i ekarinsko vreme koagulacije (ECT), oba izražena u sekundama, za dabigatran (10). No, obzirom da ovi testovi nisu široko u upotrebi, najznačajniji faktori su poznavanje poluživota i vremena eliminacije

leka, postojanje komorbiditeta (smanjena bubrežna funkcija, malignitet, trombocitopenija), postojanje podataka o prethodnim krvarenjima i procena rizika krvarenja koji je udružen sa vrstom intervencije i vrstom anestezije koja je planirana. Precizna i pažljiva priprema pacijenta dovodi do pojave komplikacija u niskom stepenu (rizik velikih krvarenja je 2%, sistemska embolija i moždani udar kod 1% pacijenata) (13,14).

Prvi korak u preoperativnoj pripremi pacijenata je određivanje stepena rizika od krvarenja i gradiranje intervencija u kategorije minimalnog rizika od krvarenja, niskog do umerenog rizika i visokog rizika (10). U intervencije minimalnog rizika od krvarenja spadaju male stomatološke intervencije (rutinsko čišćenje i popravka zuba, vađenje neimpaktiranih zuba), operacija katarakte, dermatološke procedure, koronarna angiografija korišćenjem radijalnog arterijskog pristupa, ugradnja "pace-maker"-a i endoskopske procedure bez biopsije tkiva. Brojna ispitivanja su pokazala da u slučaju ovih intervencija nije potrebno prekidati terapiju DOAK, te da je incidenca pojave krvarenja 0,7-2,1%. Svakako se ovim pacijentima preporučuje da se doza DOAK odloži za 4-6 sati nakon intervencije, odnosno da se za lekove koji se uzimaju u jednoj dnevnoj dozi odloži uzimanje leka na dan intervencije do uveče, dok se za lekove koji se uzimaju u dve dnevne doze preporučuje izostavljanje jutarnje doze leka. U slučaju postojanja individualnog rizika od većeg krvarenja DOAK treba obustaviti na dan intervencije (10,15,16).

U intervencije niskog do umerenog rizika za krvarenje spadaju složene stomatološke intervencije (hirurško i višestruko vađenje zuba, parodontalne intervencije), endoskopske procedure sa biopsijom tkiva, punkcija koštane srži i limfnih čvorova, koronarna angiografija korišćenjem femoralnog arterijskog pristupa, abdominalna, intratorakalna, vaskularna i opšta hirurgija, ortopedske procedure i operacije oka. U slučaju ovih intervencija po-

trebno je prekinuti DOAK jedan dan pre intervencije, što odgovara intervalu od 30-36 sati između poslednje uzete doze leka i izvođenja intervencije (3 vremena poluživota). To znači da pacijenti koji uzimaju apiksaban, edoksaban i rivoroksaban izostavljaju jednu dozu leka, dok pacijenti koji uzimaju dabigatran izostavljaju dve doze leka. Pacijenti koji imaju oslabljenu bubrežnu funkciju (klirens kreatinina manji od 50 ml/min) a uzimaju dabigatran izostavljaju lek još jedan dan dodatno pre intervencije (10,17,18).

U intervencije visokog rizika za krvarenje ubrajaju se oralni hirurški zahvati, ugradnja implanta, presađivanje kostiju, neurohirurške, kardiohirurške i velike vaskularne operacije, resekcija pluća, onkološka hirurgija, velike ortopedske intervencije, rekonstruktivna plastična hirurgija i sve procedure u kojima se primenjuje neuraksijalna anestezija (spinalna ili epiduralna). Pacijenti koji se podvrgavaju ovim vrstama intervencija a uzimaju apiksaban, edoksaban i rivoroksaban izostavljaju lek dva dana pre intervencije, što odgovara intervalu od 60-68 sati između poslednje uzete doze leka i izvođenja intervencije (5 vremena poluživota). Pacijenti koji će biti podvrgnuti neuraksijalnoj anesteziji, a uzimaju ove lekove isključuju DOAC 3 dana pre intervencije. S druge strane, pacijenti koji uzimaju dabigatran, izostavljaju lek 3-4 dana pre intervencije u zavisnosti od klirensa kreatinina (4-8 doza dabigatrana), sa preporukom da pacijenti koji imaju oslabljenu bubrežnu funkciju sa klirensom kreatinina između 30 i 50 ml/min izostavljaju lek još dva dana dodatno pre intervencije. Pacijenti koji će biti podvrgnuti neuraksijalnoj anesteziji, a uzimaju dabigatran isključuju lek 4 dana pre intervencije (10,14, 19,20).

Primena niskomolekularnog heparina (NMH) u perioperativnom periodu kod pacijenata koji uzimaju DOAK je diskutabilna, za razliku od klasičnog preklapanja terapije i obavezne primene heparina kod pacijenata

koji uzimaju AVK. Antikoagulantni efekat DOAK se mnogo brže smanjuje i gubi, što isključuje potrebu za primenom NMH, posebno imajući u vidu podatke iz literature koji pokazuju da primena NMH povećava rizik od krvarenja, što odlaže postoperativno uvođenje DOAK i potencijalno povećava rizik arterijske tromboembolije. U slučajevima intervencija visokog rizika preporučuje se primena profilaktičkih doza NMH (5000 IU dalteparina, ili 40 mg enoksaparina ili 4500 IU tinzaparina dnevno) posle 24 sata od intervencije najduže 2-3 dana pre ponovnog uvođenja DOAK (21,22).

Hitna hirurška stanja

Hitne hirurške intervencije predstavljaju stanja u kojima je potrebno što pre neutralizovati ili redukovati antikoagulantni efekat DOAK i na taj način omogućiti njihovo izvođenje u najkraćem vremenskom roku. Rizik od krvarenja kod pacijenata koji uzimaju DOAK u takvim stanjima je visok (17-23%), dok je rizik arterijske ili venske tromboze 7-16% (10,23).

Za razliku od elektivnih procedura za koje su usvojeni protokoli i standardi, u hitnim stanjima to nije slučaj. Zbrinjavanje pacijenata koji su na terapiji DOAK podrazumeva u prvoj liniji specifična laboratorijska testiranja kojima se meri antikoagulantni efekat leka (anti-Xa (ng/ml) za apiksaban, edoksaban i rivoroksaban, dTT i ECT (sek) za dabigatran). Ovi testovi su pouzdani i brzi, rezultati se dobijaju za manje od 30 minuta, ali u velikom broju medicinskih centara nisu dostupni. Ukoliko je moguće odrediti rezidualni nivo DOAK preporučuje se bezbedno izvođenje hirurških procedura kod svih pacijenata kod kojih je anti-Xa manji od 50 ng/ml, odnosno dTT manje od 50 sekundi, dok se kod pacijenata kod kojih je anti-Xa jednak ili veći od 50 ng/ml, odnosno dTT veće od 50 sekundi preporučuje primena lekova koji postižu reverzno

dejstvo DOAK, ili ukoliko je moguće odložiti hiruršku proceduru preporučuje se ponovno merenje nivoa DOAK posle 8-12h i postupanje u skladu sa dobijenim vrednostima testova (24,25). Ukoliko testiranja nisu dostupna značajan je podatak o vremenu uzimanja poslednje doze DOAK, pa se preporučuje izvođenje procedure ukoliko je pacijent poslednju dozu DOAK uzeo pre više od 48 sati, dok se za pacijente koji su poslednju dozu uzeli u periodu manjem od 48 sati preporučuje primena lekova za postizanje reverznog dejstva DOAK. U tu svrhu primenjuju se idarucizimab za dabigatran, andeksanet alfa za apiksaban, edoksaban i rivoroksaban, kao i koncentrat protrombinskog kompleksa (PCC) i aktivirani PCC (50 IU/kg), koji nemaju specifično dejstvo već se mogu koristiti za neutralizaciju efekta svih DOAK (26,27).

Postoperativno uvođenje DOAK

Uvođenje DOAK nakon hirurške intervencije zasniva se na proceni rizika od krvarenja koje je posledica same intervencije ili iz drugih uzroka i proceni lokalne hemostaze, uključujući gubitak krvi na mestu hirurškog reza i na drenovima. Obzirom da DOAK postižu svoj antikoagulantni efekat brzo treba biti posebno obazriv kod pacijenata koji su bili podvrgnuti intervencijama visokog rizika, kao i kod pacijenata sa komorbiditetima i faktorima rizika za postoperativno krvarenje (28). U slučaju intervencija niskog i umerenog rizika pacijent može uzeti sledeću dozu DOAK već prvog dana nakon intervencije, odnosno nakon 24 sata od njenog završetka, dok se kod intervencija visokog rizika preporučuje uvođenje DOAK 48-72 sata nakon intervencije, uz primenu profilaktičkih doza nismolekularnog heparina u međuvremenu (13,29).

Zaključak

Perioperativno zbrinjavanje pacijenata koji su na terapiji DOAK zasnovano je na poznavanju farmakokinetike leka, proceni rizika krvarenja i rizika za tromboembolijske komplikacije. U slučaju elektivnih procedura primenjuju se standardizovani protokoli, dok je u slučaju hitnih stanja neophodno odrediti nivo DOAK i što pre neutralizovati ili redukovati antikoagulantni efekat leka. Dalja istraživanja treba usmeriti u pravcu usvajanja protokola u hitnim stanjima i procedurama sa visokim rizikom od krvarenja, opravdanosti primene NMH kod pacijenata sa visokim rizikom od tromboembolije i lekova sa reverznim delovanjem na DOAK.

Literatura

1. Chen A, Stecker E, A Warden B. Direct Oral Anticoagulant Use: A Practical Guide to Common Clinical Challenges. *J Am Heart Assoc* 2020; 9(13): e017559. doi: 10.1161/JAHA.120.017559.
2. Mahase E. NHS England drive sees almost half a million people started on anticoagulant drugs *BMJ* 2023; 383 :p2567 doi: 10.1136/bmj. p2567.
3. Navar AM, Kolkailah AA, Overton R, Shah NP, Rousseau JF, Flaker GC, Pignone MP, Peterson ED. Trends in Oral Anticogulant Use Among 436 864 Patients With Atrial Fibrillation in Community Practice, 2011 to 2020. *J Am Heart Assoc* 2022; 11(22):e026723. doi: 10.1161/JAHA. 122. 026723.
4. Sciria CT, Maddox TM, Marzec L, et al. Switching warfarin to direct oral anticoagulants in atrial fibrillation: insights from the NCDR PINNACLE registry. *Clin Cardiol* 2020;43(7): 743-751. <https://doi.org/10.1002/clc.23376>
5. Rose DK, Bar B. Direct Oral Anticoagulant Agents: Pharmacologic Profile, Indications,

- Coagulation Monitoring, and Reversal Agents. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 2018; 27(8): 2049-2058. doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.
6. Wadsworth D, Sullivan E, Jacky T, Sprague T, Feinman H, Kim J. A review of indications and comorbidities in which warfarin may be the preferred oral anticoagulant. *J Clin Pharm Ther* 2021; 46(3): 560-570. doi: 10.1111/jcpt.13343.
7. Bejjani A, Khairani CD, Assi A, et al. When direct oral anticoagulants should not be standard treatment: JACC state-of-the-art review. *J Am Coll Cardiol* 2024; 83(3):444-465. doi:10.1016/j.jacc. 2023. 10.038.
8. Ferri N, Colombo E, Tenconi M, Baldessin L, Corsini A. Drug-drug interactions of direct oral anticoagulants (DOACs): from pharmacological to clinical practice. *Pharmaceutics* 2022; 14(6):1120. doi: 10.3390/pharmaceutics14061120.
9. Wheelock KM, Ross JS, Murugiah K, Lin Z, Krumholz HM, Khera R. Clinician trends in prescribing direct oral anticoagulants for US Medicare beneficiaries. *JAMA Netw Open* 2021; 4 (12):e2137288. doi:10.1001/jamanetworkopen.2021. 37288.
10. Douketis JD, Spyropoulos AC. Perioperative Management of Patients Taking Direct Oral Anticoagulants: A Review. *JAMA* 2024;32(10):825-834.doi:10.1001/jama. 2024.12708.
11. Chai-Adisaksopha C, Hillis C, Isayama T, Lim W, Iorio A, Crowther M. Mortality outcomes in patients receiving direct oral anticoagulants: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Thromb Haemost* 2015; 13(11): 2012-20. doi: 10.1111/jth.13139.
12. De Marco F, Valli G, Ancona C, Ruggieri MP. Management of bleeding in patients on direct oral anticoagulants in emergency department: where we are and where we are going. *Eur Heart J Suppl* 2023; 25 (Suppl C): C15-C19. doi: 10.1093/eurheartjsupp/suad004.
13. Douketis JD, Spyropoulos AC, Anderson JM, Arnold DM, Bates SM, Blostein M, et al. The Perioperative Anticoagulant Use for Surgery Evaluation (PAUSE) Study for Patients on a Direct Oral Anticoagulant Who Need an Elective Surgery or Procedure: Design and Rationale. *Thromb Haemost* 2017; 117(12):2415-2424. doi: 10.1160/TH17-08-0553.
14. Douketis JD, Spyropoulos AC, Murad MH, Arcelus JJ, Dager WE, Dunn AS, et al. Perioperative Management of Antithrombotic Therapy: An American College of Chest Physicians Clinical Practice Guideline. *Chest* 2022; 162(5):e207-e243. doi: 10.1016/j.chest.2022.07.025.
15. Nakamura K, Naito S, Sasaki T, et al. Uninterrupted vs. interrupted periprocedural direct oral anticoagulants for catheter ablation of atrial fibrillation: a prospective randomized single-centre study on post-ablation thrombo-embolic and haemorrhagic events. *Europace* 2019; 21(2):259-267. doi:10.1093/europace/euy148.
16. Shaw JR, Li N, Abdulrehman J, et al. Periprocedural management of direct oral anticoagulants in patients with atrial fibrillation and active cancer. *J Thromb Haemost* 2023; 22(3): 727-737. doi: 10.1016/j.jtha.2023.10.028.
17. Birnie DH, Healey JS, Wells GA, et al. Continued vs. interrupted direct oral anticoagulants at the time of device surgery, in patients with moderate to high risk of arterial thrombo-embolic events (BRUISE CONTROL-2). *Eur Heart J* 2018; 39(44): 3973-3979. doi:10.1093/eurheartj/ehy413.
18. Sheikh MA, Kong X, Haymart B, et al. Comparison of temporary interruption with continuation of direct oral anticoagulants for low bleeding risk procedures.

- Thromb Res 2021; 203: 27-32. doi: 10.1016/j.thromres.2021.04.006.
19. Shah S, Nayfeh T, Hasan B, Urtecho M, Firwana M, Saadi S, et al. Perioperative Management of Vitamin K Antagonists and Direct Oral Anticoagulants: A Systematic Review and Meta-analysis. *Chest* 2023; 163(5): 1245-1257. doi: 10.1016/j.chest.2022.11.032.
20. Spyropoulos AC, Al-Badri A, Sherwood MW, Douketis JD. Periprocedural management of patients receiving a vitamin K antagonist or a direct oral anticoagulant requiring an elective procedure or surgery. *J Thromb Haemost* 2016; 14(5):875-85. doi: 10.1111/jth.13305.
21. D'Astous J, Liederman Z, Douketis JD. Venous thromboembolism prophylaxis in high-risk orthopedic and cancer surgery. *Postgrad Med* 2021; 133(sup1): 20-26. doi:10.1080/00325481.2021.1891751.
22. Douketis JD, Hasselblad V, Ortel TL. Bridging anticoagulation in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med* 2016; 374(1): 93-94. doi:10.1016/j.j vs. 2015.11.010.
23. Douketis JD, Healey JS, Brueckmann M, et al. Urgent surgery or procedures in patients taking dabigatran or warfarin: analysis of perioperative outcomes from the RELY trial. *Thromb Res* 2016; 139:77-81. doi:10.1016/j.thromres.2016.01.004.
24. Godon A, Gabin M, Levy JH, et al; GIHP-NACO Study Group. Management of urgent invasive procedures in patients treated with direct oral anticoagulants: an observational registry analysis. *Thromb Res* 2022; 216: 106-112. doi:10.1016/j.thromres.2022.06.005.
25. Baugh CW, Levine M, Cornutt D, et al. Anticoagulant reversal strategies in the emergency department setting: recommendations of a multidisciplinary expert panel. *Ann Emerg Med* 2020; 76(4): 470-485. doi:10.1016/j.annemergmed. 2019.09.001.
26. Cuker A, Burnett A, Triller D, et al. Reversal of direct oral anticoagulants: guidance from the Anticoagulation Forum. *Am J Hematol* 2019; 94(6): 697-709. doi: 10.1002/ajh.25475.
27. Majeed A, Ågren A, Holmström M, et al. Management of rivaroxaban- or apixaban-associated major bleeding with prothrombin complex concentrates: a cohort study. *Blood* 2017; 130(15): 1706-1712. doi:10.1182/blood-2017-05- 782060.
28. Tafur AJ, Clark NP, Spyropoulos AC, et al. Predictors of bleeding in the Perioperative Anticoagulant Use for Surgery Evaluation study. *J Am Heart Assoc* 2020; 9(19):e017316. doi: 10.1161/ JAHA.120.017316.
29. Squizzato A, Poli D, Barcellona D, Ciampa A, Grandone E, Manotti C, et al. Scientific Reviewer Committee. Management of DOAC in Patients Undergoing Planned Surgery or Invasive Procedure: Italian Federation of Centers for the Diagnosis of Thrombotic Disorders and the Surveillance of the Antithrombotic Therapies (FCSA) Position Paper. *Thromb Haemost* 2022; 122(3):329-335. doi: 10.1055/a-1715-5960

Korespondenca:**Prim. dr sc med. Ana Momčilović, naučni sar.**

Zavod za transfuziju krvi Niš

bul dr Zorana Đinđića 48, Niš

e-mail: drana.antic@gmail.com



PATIENT BLOOD MANAGEMENT IN PEDIATRIC TRANSFUSION MEDICINE

Olivera Šerbić¹, Zorica Radonjić¹, Biljana Andrić¹, Martina Blagojević¹

¹ Blood Transfusion Department, Institute for Mother and Child Health Care of Serbia "Dr Vukan Čupić" Belgrade

Abstract

Given the risks of blood transfusions, the decision to transfuse pediatric patients requires careful risk-benefit assessment, considering the unique aspects of each developmental stage of children. Due to significant anatomical, physiological, and hematological differences, adult patient blood management (PBM) strategies are not directly applicable to children. Therefore, pediatric-specific PBM guidelines addressing patient physiology and disease are essential. Preoperative risk stratification for hemorrhage and evaluation of transfusion need are crucial. A comprehensive PBM program must incorporate age- and weight-appropriate protocols for preoperative anemia, perioperative bleeding, and massive transfusion, specifically tailored for preterm and term neonates. The paper emphasizes the importance of autologous transfusions (taking blood from donor children as well as giving autologous doses of blood/erythrocytes from umbilical cord blood), blood cell saving, and PBM recommendations for specific surgeries. Successful pediatric PBM relies on an interdisciplinary approach, continuous education, quality control, and consistent monitoring of institutional practices, ultimately ensuring the best possible care for pediatric patients.

Key words: Anaemia, Autologous Blood Transfusion, Newborns, Children, Surgery, Hemostasis

Introduction

Patient blood management (PBM) represents both a global and an institutional approach to maintaining the patient's blood homeostasis. It includes the diagnosis and adequate treatment of preoperative anaemia, reduction of blood loss, intraoperative surgical techniques and anesthetic strategies for blood conservation, and postoperative support of the anemic patient while avoiding the use of transfusion. Patient safety is at the center of PBM, and the approach is based on the timely and multidisciplinary application of evidence-based medical concepts.

The beginnings of PBM date back to 1899, when blood saving in gynecological operations was first promoted at the International Medical Congress in Australia in the Obstetrics and Gynecology session [1].

Due to their specificity, the pediatric population, especially newborns and prematurely born children with low body weight, are associated with more frequent use of allogeneic blood (during surgical interventions and a stay in intensive care units) than adult patients. This is why special pediatric guidelines for PBM have been created that emphasize the difference in emergency care for children compared to adults. The purpose of this manu-

script is to bring the principles of PBM closer to all doctors who decide on the use of blood as a treatment modality, and to medical workers who work on the care of children's patients, to show possible options that will replace the use of allogeneic blood, and by reviewing new literature and currently valid guides, to make available the information needed to form their own PBM procedures and protocols applicable in their environment. The paper is divided into sections according to the basic postulates of PBM, where the differ-

ences of certain groups of pediatric patients and the specificities required by certain surgical interventions and emergency conditions are highlighted (Table 1).

There are three basic postulates of PBM that we apply before, during and after surgical operations:

1. Optimise red cell mass
2. Minimise blood loss and bleeding
3. Harness and optimise physiological reserve of anaemia

Table 1.

Preoperative PBM

- Correction of preoperative anaemia and optimization of hemoglobin
- Preoperative assessment of coagulation and risk stratification for bleeding
- Suspension of antiplatelet and anticoagulant therapy
- Administration of antifibrinolytics
- Collection of autologous blood

Intraoperative PBM

- surgical techniques to reduce bleeding
- anesthetic techniques for blood conservation:
 - prevention of hypothermia
 - maintenance of optimal cardiac output
 - maintenance of optimal ventilation and oxygenation
 - controlled induced hypotension
 - application of pharmacological and hemostatic agents (recombined FVIIa, prothrombin complex concentrate, fibrinogen concentrate)
- autologous transfusions: reinfusion of autologous blood normovolemic hemodilution blood cell saving
- restrictive strategy for allogeneic blood

Postoperative PBM

- maintenance of normothermia
- monitoring of postoperative bleeding and its management
- postoperative blood cell saving
- maintenance of hemostasis (treatment of coagulopathy, application of anticoagulant th)
- reduction of iatrogenic blood losses
- treatment of anemia without transfusion
- transfusion protocols based on POC methods
- restrictive mode of administration of transfusions

Elements of perioperative PBM in pediatrics

PBM = Patient Blood Management; POC = Point of Care, th therapy

Preoperative PBM

As part of preoperative preparation, it is necessary to determine the cause of anaemia in the patient. The approach to an anemic ne-born depends on its gestational age and the specificity of erythropoiesis, which goes from fetal, hepatic erythropoiesis, in which there is fetal hemoglobin (Hb F) with high affinity for oxygen (O₂), to adult-type erythropoiesis, which takes place in the bone marrow and with hemoglobin of low affinity for O₂ (HbA).

The diagnostic procedure should include all etiological factors of anemia:

- A)** blood loss (which can occur intrauterine, during childbirth due to various obstetric reasons or due to congenitally altered blood vessels or disorders of coagulation factors).
- B)** increased destruction of erythrocytes due to immune (Rh, ABO and incompatibility of rare blood groups), non-immune reasons (membrane and enzyme defects of erythrocytes, hemoglobinopathy) and acquired diseases (infections, DIK).
- C)** reduced production of erythrocytes (Diamond-Blackfan anaemia, Osteopetrosis). This includes two physiological anemias, anaemia of premature babies and physiological anaemia of childhood [2].

Anaemia of prematurity (AOP) represents an increase in physiological anaemia in infants born with less than 32 weeks of gestation, defined by an inappropriately low number of reticulocytes for the degree of anaemia (hyporegenerative bone marrow), a shortened half-life of erythrocytes and an inappropriately low concentration of erythropoietin (EPO) for the degree of anaemia. A low erythropoi-

etin concentration can result from reduced production or increased catabolism of EPO. Risk factors for AOP are gestational age, small for gestational age (SGA) children, the mother's low hemoglobin (Hb) during pregnancy and delivery, and many blood samples taken from premature infants.

In the physiological anaemia of childhood, which is transitory and manifests between 6 and 10 weeks of life, erythropoiesis is suppressed. The hemoglobin level starts to improve from 10 to 12 weeks due to increased EPO concentration. When establishing the diagnosis, it is essential to take a good family history that may indicate congenital dyserythropoietic anaemia and other genetic etiological factors. The obstetric anamnesis of the mother about the course and complications of pregnancy and childbirth follows. Physical examination of the newborn is always followed by laboratory analyses: complete blood count with differential formula, erythrocyte indices (MCV; MCH; MCHC), reticulocyte count and peripheral blood smear, and direct and indirect antiglobulin test.

The prevention of anaemia begins in the delivery room, with late clamping of the umbilical cord and the use of fetal blood from the placenta for laboratory analysis [2,3]. It continues by implementing measures that reduce blood loss, such as reducing the number of phlebotomies and using micro blood samples for diagnostics [4]. In newborns with anaemia, screening tests for iron deficiency are necessary. Iron supplementation is started with reduced ferritin (<100 mg/L) and reduced transferrin saturation (<20%). If the operative intervention is urgent, iron is replenished intravenously; if not, it is given per os [5]. Another therapeutic option is the use of erythropoiesis-stimulating agents (ESA), erythropoietin (EPO), and the newer darbepoetin, which has the advantage of being administered once a week and for which a

more favorable therapeutic outcome has been established in the long-term follow-up of the patient. The combined administration of iron and SAE is used in infants with very low birth weight (VLBW), less than 1000g, to shorten the response time to ESA. The effect of EPO requires several weeks of administration, so the therapy should be started early enough, at least 21 days before surgery. The use of ESA is not routine because of the side effects it causes, the appearance of unwanted neovascularization, and the development of retinopathy. If a deficiency of folic acid and vitamin B12 is determined in a newborn, they should be introduced into therapy along with iron. Premature infants and newborns have a high prevalence of anaemia and thrombocytopenia, so a careful assessment is needed to determine whether there is a benefit to transfusion or a greater risk of transfusion [6,7].

The hemostasis system in a newborn is also significantly different from that in adults. The term developmental hemostasis means the process of dynamic maturation of the hemostasis system and its maturation from a state of deficiency at birth (immaturity of the synthetic function of the liver, which causes a deficit of coagulation factors, reduced vitamin K, hyporeactive platelets, immature vascular endothelium) into a competent adult system of hemostasis. However, due to the high values of hematocrit (Htc) and mean corpuscular volume (MCV) of erythrocyte, the reduction of natural anticoagulants, and the increased level of von Willebrand factor (vWF), the hemostasis system in newborns is balanced as mild prothrombotic [8,9].

When prolonged, hemostasis screening tests, prothrombin time (PT), and activated partial thromboplastin time (aPTT) have no predictive value for bleeding and should always be viewed against age-appropriate reference values. Point of care (POC) global hemostasis tests (Rotem, TEG, ClotPro) for

which reference values for newborns have been published [10,11,12] provide better insight into the overall evaluation of hemostasis. The mentioned POC devices register changes in the viscoelastic properties of blood (during coagulation, the blood loses its viscous properties and gains elastic properties). In the last few years, viscoelastic tests based on ultrasound waves have been used to monitor hemostasis disorders in newborns with congenital heart defects in preoperative preparation and during cardiac surgery. Resonance viscoelastometry (Quantra, Quantra plus, Sonoclot). Ultrasound waves (UW) pulse through the blood sample; as the blood coagulates, the coagulum becomes tighter, so the frequency of the UW oscillations increases [13]. Also, reference ranges of normal values are given for platelet function tests (Multiplate, PFA 100), while the number of platelets in newborns is the same as in adults. Children are not often on antiplatelet therapy, and vitamin K antagonists are less often used with direct oral anticoagulants. Suppose there is information that any of these types of treatment is being used. In that case, it is necessary to assess its effect and the risk of bleeding before surgery, reverse oral anticoagulant therapy (OAT), or transfer the patient to low molecular weight heparin (LMWH) [14,15].

Preoperative hemoglobin optimization must be carried out using erythrocyte concentrate transfusions in patients who did not respond to the applied iron therapy [16,17]. The hemoglobin value at which it is necessary to apply erythrocyte transfusion in VLBW newborns was evaluated by a multicenter randomized controlled trial ETTNO (Effect of Transfusion Thresholds on Neurocognitive Outcomes) [18]. The value depends not only on the gestational age but also on the clinical condition of the newborn: the severity of the underlying disease, the use and duration of

invasive ventilation, and total parenteral nutrition [19,20].

Since 2015, specific Centers for treating and caring for newborns with VLBW in Europe have applied cord blood transfusions, which have advantages over adult blood. Adult erythrocytes contain HbA, immunocompetent residual leukocytes, microvesicles, exosomes, and soluble mediators. Cord blood contains Hb F, immunotolerant residual leukocytes, and soluble HLA-G molecules with immunomodulatory functions. Umbilical cord blood (UCB) was administered as autologous (blood from one's placenta) in premature infants and newborns and as an allogeneic transfusion. No hemolysis, larger coagulum, or post-transfusion bacterial infections were recorded during the administration of UCB. Also, after the administration of autologous UCB, there was no need for allogeneic erythrocytes. Two studies (Valencia and Sao Paulo) proved that autoUCB/erythrocyte transfusions are a more physiological source of erythrocytes for VLBW infants than allogeneic adult erythrocytes. After them, autoUCB was included in the blood components routinely produced in their transfusion institutions [21]. It is recommended to take autologous UCB for those newborns who will undergo surgery immediately after birth due to intrauterine-diagnosed malformations. It is possible to fractionate UCB and prepare autologous umbilical cord erythrocytes, which can be stored in appropriate additive solutions for up to 14 days [22,23,24].

In strategies for optimal utilization, ie, reduction of consumption of blood reserves, it is necessary to mention the use of antifibrinolytics. Antifibrinolytics can be used preoperatively and intraoperatively, prophylactically, or therapeutically, per os, IV, and topically. They are often used in cardiac, liver, and major orthopedic operations. In severe hemorrhage and hemorrhagic shock, tranexamic acid is given via IV. Application of ϵ -

Aminocaproic acid reduces total perioperative blood loss [7,25,26].

Autologous donation

Preoperative PBM for older children also includes the procedure of autologous blood collection. Based on the estimated blood loss and patient-specific tolerable blood loss, the amount of blood to be conserved is formulated. The patient's own blood within PBM is a unique and valuable resource and must, therefore, be properly conserved and stored. Children do not routinely give pre-deposits of blood; one of the possible indications is the donation of bone marrow for another, related, diseased child undergoing a hematopoietic stem cell transplant. There are still no guidelines regarding preoperative autologous donation (PAD) in pediatric bone marrow donors. According to the Center for International Blood and Marrow Transplant Research (CIBMTR), if the bone marrow collection exceeds 1500 ml, PAD is planned; for every next 600 ml, another dose of autologous blood is taken. A donor is considered to benefit from PAD only if >27% of his blood volume is taken during bone marrow collection, otherwise no pre-deposit should be taken [27].

The child donor of autologous transfusion is prepared by receiving iron preparations per os. According to the preparation protocols for adults, iron is administered IV (iron carboxymaltose) 7 days before bone marrow collection, vitamin B12 subcutaneously, and folic acid per os until 15 days after the administration of PAD. Thus, prepared donors participated in Autologous Transfusion REquirements in Bone Marrow Harvest: The ATREMA Study. The study showed no difference 7 days after bone marrow collection in the blood count and Hb values between donors who received PAD and those who did not but received iron supplements.

The problem is the application of allogeneic blood to the donor in addition to the PAD, which happens if the PAD exceeds 20 ml/kg of the donor's body weight, as well as not returning the taken pre-deposit of blood [28].

In a survey of 18 Italian transplant centers, five-year data on PAD donor children were presented. On average, the donors were 9.7 years old, their body weight was 36 kg, and Hb 125 g/l was the minimum for taking a pre-deposit. Children between 6 and 14 years of age could receive iron IV (iron gluconate only) at the doctor's discretion. About 15% of bone marrow donors did not give PAD. When deciding on a pre-deposit collection, the fact that pediatric patients/donors tolerate anaemia better than adults without adverse events should be considered [29].

Intraoperative PBM

Pediatric surgeons prevent bleeding in the operative field using surgical techniques: early placement of ligatures, thermocautery, and lasers. They reduce the number of drains placed locally and apply Surgicel gauze and fibrin glue, and in the last ten years, platelet-rich plasma (PRP) [30].

Anesthesiologists should use non-invasive techniques to monitor blood gases, Hb, and other analytes [31]. Also, their strategies enable maximum oxygen delivery to tissues and reduce its consumption. In the case of massive bleeding, they apply a protocol for massive transfusions [32,33,34,35] and use concentrates of coagulation factors. As a consequence of massive transfusions, coagulopathy of massive bleeding sometimes develops. For its prevention, protocols for children with life-threatening bleeding that imitate whole blood have been introduced since 2015. Blood components are administered 1:1:1, one dose of erythrocytes, one frozen fresh plasma (FFP), and one platelet concentrate. After that, the selection of blood

components is targeted according to the results of POC testing [36].

Pediatric patients are more susceptible to perioperative hypothermia (body temperature lower than 36°C) because they have a reduced weight-to-surface ratio, lower subcutaneous fat stores, and more significant heat loss from the head compared to adults. They require an active approach to maintaining normothermia. Hypothermia is associated with more significant bleeding, a greater number of allogeneic transfusions, and surgical field infection, and body temperature should be maintained $\geq 36.5^{\circ}\text{C}$ [34].

Decreasing the patient's mean arterial pressure below normal is intended to limit or correct blood loss from the operative field. In pediatric surgery, controlled hypotension (CHT) should be balanced to achieve a positive effect with the adverse effect of reducing the perfusion of the spinal cord and other organs. The use of CHT in orthopedic surgeries for scoliosis in children has been described [37].

Acute normovolemic hemodilution (ANH) represents the removal of the patient's blood immediately after introduction to anesthesia. Maintenance of normal blood volume is carried out using crystalloid and colloid solutions, with reinfusion usually at the end of the operation. Storing autologous blood at room temperature keeps platelets and coagulation factors functional. Children up to 6 months old are prohibited from taking pre-deposit ANH because they cannot compensate for the acute blood deficit. There is not much data on the performance of ANH in children; the only benefit shown was its application in cardiac surgery, while its application in orthopedics did not give the expected results [38].

Intraoperative blood saving

Intraoperative blood saving should be planned for surgical procedures that carry a risk

of major bleeding. Blood collected from the operative field is mixed with an anticoagulant (citrate or heparin), filtered to remove debris and leukocytes, centrifuged, washed in saline, and returned to the patient as washed erythrocytes [39]. Devices for autotransfusion - cell saver (CS) have special pediatric washing programs. The amount of erythrocytes obtained and Htc are far more important parameters than the volume because the device efficiency is evaluated by calculating the recovery of erythrocytes. The volume of processed returned blood/erythrocytes depends on the dilution degree and the reservoir's initial blood volume. Today's CSs work with minimal initial amounts of erythrocytes (about 50 ml). The latest centrifugal CS, the SAME™ device (Smart Autotransfusion for ME; i-SEP), can simultaneously prepare autologous erythrocytes and platelets whose quality exceeds allogeneic blood components [36]. Despite this, the use of CS is limited in children younger than 6 months. The Association of Anesthesiologists, in its blood-saving guide, recommended that CS be used in children if their body weight is >10 kg and their blood loss is >8 ml/kg [36,39].

Postoperative PBM

In the postoperative period, the PBM strategies started before and intraoperatively are continued. The need for erythrocytes, which preoperatively was adapted to the type of surgery (Maximum Surgical Blood Order Schedule - MSBOS protocols), should now be following the patient's needs (Patient Specific Blood Ordering System - PSBOS). According to personalized medicine principles, the patient receives a specific blood component (filtered, irradiated, washed, phenotyped, and cytomegalovirus negative) at the request of a clinician who adheres to a restrictive blood administration strategy [40].

If it exists, anaemia must be treated with therapeutic modalities, including iron, EPO, vitamin K, B12, and folic acid. Blood is saved from drains from the area of clean wounds [36]. Special PBM guides have been issued based on the specifics of the patient and the types of surgical procedures in children, e.g., cardiac surgery [41], operations in patients with hemophilia [42], neuroblastomas [43], craniosynostosis [44], and femoral and pelvic osteotomies [45]. Most PBM guidelines recommend that the Hb value at which erythrocyte transfusion is applied postoperatively in pediatric intensive care units should be 70g/l and lower. Apart from erythrocytes [46,47], recommendations have also been issued for the use of FFP [48] and platelets [49,50], depending on the gestational age of children treated in intensive care units. Exposure to multiple donors should always be minimized by dividing the dose of erythrocytes into smaller portions of the appropriate volume for the pediatric patient.

Postoperatively, antiplatelet and anticoagulant therapy that had been suspended is re-introduced, or the patient is transferred to his treatment after receiving another anticoagulant therapy for a few days, e.g., returns to OAT after treatment with LMWH (bridging therapy). Pediatric patients do not often need this type of therapy. Still, if necessary, new guidelines recommend direct oral anticoagulants (DOAC) in the prevention and treatment of venous thrombosis [51], but also as perioperative anticoagulant therapy [52].

The principles of PBM, which are widely applied to adults, are still not entirely accepted by doctors who care for pediatric patients, and in the institutions where they are, errors that are repeated in practice and that could easily be eliminated have been noted. First is the failure to recognize preoperative anaemia in children, thereby missing or delaying its treatment. The second is the insufficient information of parents and

guardians of children about therapeutic options and techniques that enable surgical interventions to be performed without the use of blood. Third is followed by insufficient use of intraoperative blood saving, untimely recognition of massive blood loss in children, and failure to adhere to the regimen of restrictive administration of blood components in hemodynamically stable infants and children [53].

Conclusion

Anaemia and the use of blood transfusion are independent factors of poor outcome of patient treatment. Many pediatric patients receive unnecessary transfusions of blood components. That is why it is necessary in pediatric patients to introduce the concept of timely treatment of anaemia, reduction of blood loss, replacement of allogeneic blood with drugs and therapeutic agents, and maintenance of hemostatic balance, all achieved by applying PBM procedures. It is necessary to follow the latest developments in PBM methods and strategies and their implementation in daily practice to replace conventional ways of treating surgical pediatric patients. PBM should be introduced in all three phases of surgical care (before, during, and after surgery) and multidisciplinary, including anesthesiologists, intensivists, transfusion specialists, surgeons, neonatologists, pediatricians, and emergency medicine specialists. Popularizing PBM enables parents to choose the safest ways to treat their children.

Literature

1. Thomson A, Farmer S, Hofmann A, Isbister J, Shander A. Patient blood management - a new paradigm for transfusion medicine? *ISBT Sci Ser.* 2009; 4(n2):423-35. doi: 10.1111/j.1751-2824.2009.01251.x.
2. Colombatti R, Sainati L, Trevisanuto D. Anemia and transfusion in the neonate. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2016; 21(1):2-9. doi: 10.1016/j.siny.2015.12.001.
3. Kitaoka H, Shitara Y, Kashima K, et al. Risk factors for anemia of prematurity among 30-35-week preterm infants, *Fukushima J Med i.* 2023;69(2):115-23
4. Lews AE, Kappel SS, Hussain S, Sangild PT, Zachariassen G, Aunsholt L. Trial-related blood sampling and red blood cell transfusions in preterm infants. *Acta Paediatr.* 2023; 112: 2486–92. doi.org/10.1111/apa.16948
5. Juul S, German K. Iron supplementation for infants in the NICU: What preparation, how much, and how long is optimal? *Semin Fetal Neonatal Med.* 2025; 101612. Online ahead of print.
6. Ohls RK, Bahr TM, Peterson TG, Christensen RD. A practical guide to reducing/eliminating red blood cell transfusions in the neonatal intensive care unit. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2024; 101545. Epub ahead of print.
7. Theissen A, Folléa G, Garban F, et al. Perioperative Patient Blood Management (excluding obstetrics): Guidelines from the French National Authority for Health, *Anaesth Crit Care Pain Med.* 2024; 43 (5):101404. Epub 2024 Jul 9.
8. Davenport P, Sola-Visner M. Hemostatic Challenges in Neonates. *Neonates Front Pediatr.* 2021; 9:627715. doi: 10.3389/fped.2021.627715.
9. Sokou R, Iacovidou N, Parastatidou S, Konstantinidi A. Filling the knowledge gap of neonatal hemostasis. *Front Pediatr.* 2023; 10:1110481. doi: 10.3389/fped.2022.1110481.
10. Katsaras GN, Sokou R, Tsantes AG, et al. The use of thromboelastography (TEG) and rotational thromboelastometry (ROTEM) in neonates: a systematic review. *Eur J Pediatr.* 2021;180(12):3455-70.doi:10.1007/s00431-021-04154-4.
11. Manzoni F, Raymo L, Bronzoni VC, et al. The value of thromboelastography to neonatology. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2025Feb25:101610.doi:10.1016/j.siny.2025.101610. Epub ahead of print. PMID: 40021372.
12. Laukova K, Petrikova V, Poloniova L, Babulicova L, Wsolova L, Thorsten H. Determination of reference ranges for the Clot-

- Pro® thromboelastometry device in paediatric patients. *Br J Anaesthesia*. 2023; 130(2):183-90.
13. Tumber S, Stondell C, Wilson M, Yang NT, Tafoya S. Reference values in healthy children using the Quantra Hemostasis Analyzer, a novel point of care viscoelastic testing device. *Paediatr Anaesth*. 2022; 32(12):1370-71. doi: 10.1111/pan.14563.
 14. Halimeh S, Angelis Gd, Sander A, et al. Multiplate whole blood impedance point of care aggregometry: preliminary reference values in healthy infants, children and adolescents. *Klin Padiatr*. 2010; 222(3):158-63. doi: 10.1055/s-0030-1249081.
 15. Lippi G, Manzato F, Franchini M, Brocco G, Florenziani G, Guidi G. Establishment of reference values for the PFA-100 platelet function analyzer in pediatrics. *Clin Exp Med*. 2001; 1(1):69-70. doi:10.1007/pl00012239.
 16. Manapurath R, Taneja S, Bhandari N, Chowdhury R. Treatment strategies for non-responders to oral iron and folic acid treatment in anemic children: – A systematic review. *PLOS Glob Public Health* 2025; 5(3): e0003870.doi.org/10.1371/journal.pgph.0003870
 17. Scrivens A, Reibel NJ, Heeger L, et al. Survey of transfusion practices in preterm infants in Europe. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2023; 108(4):360-66. doi: 10.1136/archdischild-2022-324619.
 18. Franz AR, Engel C, Bassler D, et al. Effects of Liberal vs Restrictive Transfusion Thresholds on Survival and Neurocognitive Outcomes in Extremely Low-Birth-Weight Infants: The ETTNO Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2020; 324(6):560-70.
 19. Kim YJ, Yoon SA. Risk factors associated with anemia of prematurity requiring red blood cell transfusion in very low birth weight infants: a retrospective study. *BMC Pediatr* 2024;24:623. doi.org/10.1186/s12887-024-05102-5.
 20. Saito-Benz M, Flanagan P, Berry MJ. Management of anaemia in pre-term infants. *Br J Haematol*,2020;188:354-66. doi.org/10.1111/bjh.16233
 21. González EG, Casanova MA, Samarkanova D, Aldecoa-Bilbao V, Teresa-Palacio M, Busquets EF. Feasibility of umbilical cord blood as a source of red blood cell transfusion in preterm infants. *Blood Transfus*. 2021; 19(6):510-17. doi: 10.2450/2020.0169-20.
 22. Bahr TM, Christensen TR, Ilstrup SJ, Ohls RK, Christensen RD. Term umbilical cord blood, fully tested and processed, as the source of red blood cell transfusions for extremely-low-gestational age neonates. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2024; 19:101546. doi: 10.1016/j.siny.2024.101546. Epub ahead of print.
 23. Bianchi M, Giannantonio C, Spartano S, Fioretti M, Landini A, Molisso A. Allogeneic umbilical cord blood red cell concentrates: an innovative blood product for transfusion therapy of preterm infants. *Neonatology*. 2015; 107(2):81-6. doi: 10.1159/000368296. Epub 2014 Nov 15.
 24. Bianchi M, Papacci P, Valentini CG, Barbagallo O, Vento G, Teofili L. Umbilical cord blood as a source for red-blood-cell transfusion in neonatology: a systematic review. *Vox Sang*. 2018; 113(8):713-25. doi: 10.1111/vox.12720.
 25. American Society of Anesthesiologists Task Force on Perioperative Blood Management. Practice guidelines for perioperative blood management: an updated report by the American Society of Anesthesiologists Task Force on Perioperative Blood Management*. *Anesthesiology*. 2015; 122(2):241-75. doi: 10.1097/ALN.0000000000000463.
 26. Goobie SM, Faraoni D. Tranexamic acid and perioperative bleeding in children. *Current Opinion in Anaesthesiology*. 2019; 32(3):343-52.
 27. Farhadfar N, Murthy HS, Logan BR, et al. Impact of autologous blood transfusion after bone marrow harvest on unrelated donor's health and outcome: a CIBMTR analysis. *Bone Marrow Transplant* 2020; 55: 2121-31. doi: 10.1038/s41409-020-0911
 28. Valentini CG, Innocenti I, Pellegrino C, Draisci G, Teofili L. Autologous transfusion requirements in bone marrow harvest: results

- of the aTrema study. *Blood Transfus* 2024; 22: 90-2 doi: 10.2450/BloodTransfus.669
29. Del Fante C, Masiello F, Vaglio S, et al. A survey on preoperative autologous blood donation policy in bone marrow stem cell donors in Italy. *Blood Transfus* 2023; 21:337-44. doi: 10.2450/2022.0134-22.2.
 30. Di Mitri M, D'Antonio S, Collautti E, Di Carmine A, Libri M, Gargano T, Lima M. Platelet-Rich Plasma in Pediatric Surgery: A Comprehensive Review. *Children (Basel)*. 2024;11(8):971.doi: 10.3390/children11080971.
 31. Downey LA. Patient Blood Management in Pediatric Anesthesiology. *Curr Anesthesiol Rep*. 2021;11:477–82. doi.org/10.1007/s40140-021-00481-2
 32. Goobie SM, Gallagher T, Gross I, Shander A. Society for the advancement of blood management administrative and clinical standards for patient blood management programs. 4th edition (pediatric version). *Paediatr Anaesth*. 2019; 29(3):231-36. doi: 10.1111/pan.13574.
 33. Arsenault V, Lieberman L, Akbari P, Murto K. Canadian tertiary care pediatric massive hemorrhage protocols: a survey and comprehensive national review. *Can J Anesth/J Can Anesth* 2024; 71:453–64. doi.org/10.1007/s12630-023-02641-w
 34. National Blood Authority (NBA) (2016). Patient Blood Management Guidelines: Module 6 – Neonatal and Paediatrics. NBA, Canberra, Australia.
 35. Vlaten A. Pediatric massive hemorrhage— are we all following similar protocols? *Can J Anesth/J Can Anesth* 2024; 71: 443–46. doi.org/10.1007/s12630-023-02640-x
 36. Goobie SM, Faraoni D. Perioperative paediatric patient blood management: a narrative review. *Br J Anaesthesia*, 2025; 134 (1):168-79.
 37. McVey MJ, Lau W, Naraine N, et al. Perioperative blood conservation strategies for pediatric scoliosis surgery. *Spine Deform*. 2021; 1289–302. doi.org/ 10.1007/s43390-021-00351-1
 38. Uchida S, Kinoshita H, Takekawa D. et al. Acute normovolemic hemodilution reduced the frequency and amount of perioperative allogeneic blood transfusion in pediatric and adolescent scoliosis surgery: a retrospective observational study. *J Anesth* 2022;36:484–92.doi.org/10.1007/s00540-022-03078-z
 39. Seyfried T, Breu A, Gruber M, Reipert J, Hansen E. Processing of small volumes in blood salvage devices. *Transfusion*. 2014; 54:2775-81. doi: 10.1111/trf.12765.
 40. Guzman JP, Resurreccion LL, Gepte MP. Use of Maximum Surgical Order Schedule (MSBOS) among pediatric patients to optimize blood utilization. *Ann Pediatr Surg* 2019; 15(1):1 – 5.
 41. Faraoni D, Meier J, New HV, Van der Linden PJ, Hunt BJ. Patient Blood Management for Neonates and Children Undergoing Cardiac Surgery: 2019 NATA Guidelines. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2019;33(12):3249-63.doi: 10.1053/j.jvca.2019.03.036.
 42. Lowell AE, Calgi MP, Caruso JJ, Man LM, McNeil JS. Perioperative Management of Hemophilia Patients. *Curr Anesth Rep* 2024; 14:354–65.
 43. Kumba C. Patient Blood Management in Craniostomosis Surgery. *Open J Modern Neurosurg*.2021;11,211-22. doi.org/10.4236/ojmn.2021.114025
 44. Kumba C. Neuroblastoma in Children: Intraoperative Goal Directed Therapy, Intraoperative And Postoperative Outcomes. *Open J Inter Med*. 2021; 11(4):220-30. doi: 10.4236/ojim.2021.114018.
 45. Kumba C, Gaume M, Barbarian A, Péjin Z. Intraoperative Goal-Directed Therapies in Femoral and Pelvic Osteotomies in Children and In-Hospital Postoperative Outcomes *Open J Orthoped*. 2021; 11(11): 327-34. doi: 10.4236/ojo.2021.1111031.
 46. Houben NAM, Fustolo-Gunnink S, Fijnvandraat K, et al. Red Blood Cell Transfusion in European Neonatal Intensive Care Units, 2022 to 2023. *JAMA Netw Open*. 2024;7(9):e2434077.doi: 10.1001/jamanetworkopen.2024.34077.
 47. Raasveld SJ, de Bruin S, Reuland MC, et al. Red Blood Cell Transfusion in the Intensive

- Care Unit. JAMA. 2023; 330(19):1852-61. doi: 10.1001/jama.2023.20737.
48. Houben NAM, Fustolo-Gunnink S, Fijnvandraat K, et al. Plasma transfusions in neonatal intensive care units: a prospective observational study. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed. 2025; fetalneonatal-2024-327926. doi: 10.1136/archdischild-2024-327926. Epub ahead of print.
49. Houben NAM, Lopriore E, Fijnvandraat K, Caram-Deelder C, Carrascosa MA, Beuchée A. Platelet transfusion in neonatal intensive care units of 22 European countries: a prospective observational study. Lancet Reg Health Eur. 2024; 47:101086. doi: 10.1016/j.lanepe.2024.101086.
50. Christensen RD, Bahr TM, Davenport P, et al. Implementing evidence-based restrictive neonatal intensive care unit platelet transfusion guidelines. J Perinatol. 2024; 44(10):1394-401. doi: 10.1038/s41372-024-02050-x.
51. Bosch A, Olivieri M, Holzhauer S. The Use of DOACs in Pediatrics: Current Therapeutic and Prophylactic Indications, Cardiac Indications, and Real-World Evidence—A Review, Hämostaseologie. 2025; 45 (1): 89-101. doi: 10.1055/a-2486-6735
52. Furman K, Giustini A, Branstetter J, Woods G, Downey LA. A review of the perioperative management of direct oral anticoagulants for pediatric anesthesiologists. Pediatr Anesth. 2024; 34: 1200-12. doi:10.1111/pan.14983
53. Tan GM, Murto K, Downey LA, Wilder MS, Goobie SM. Error traps in Pediatric Patient Blood Management in the Perioperative Period. Paediatr Anaesth. 2023; 33(8):609-19. doi: 10.1111/pan.14683.

Corresponding author: **Prim dr sc. med. Olivera Šerbić, N. Sar.**
Radoja Dakića 6-8, 11000 Beograd
Tel.: 011/3108-177
Mob tel. +38136449105
Mail: olivera.serbic@imd.org.rs
sovicaoki@gmail.co



PATIENT BLOOD MANAGEMENT U ORTOPEDSKOJ HIRURGIJI NA NIVOU OPŠTE BOLNICE

Svetislav Matić¹, Aleksandar Vukićević², Ljiljana Paunović², Ljiljana Rakić²,
Milutin Mihajlović¹, Slavka Petrić¹, Jelena Petrović¹, Nataša Živković¹,
Slobodan Ćosić¹, Anita Šutanovac¹, Aleksandra Jevtić¹

¹Odeljenje Bolnička banka krvi-klinička transfuzija, OB Valjevo;

²Odeljenje Ortopedije i traumatologije OB Valjevo

Sažetak

Operativno lečenje osteoartroza je neophodno kada konzervativno lečenje ne daje rezultate ili je oštećenje hrskavice toliko da remeti normalno functionisanje pacijenta. Sistem Patient Blood Management (PBM) koristi brojne intervencije zasnovane na dokazima koji se primenjuju pre, za vreme i posle hiruške intervencije, a koji imaju za cilj izbegavanje anemije, smanjenje gubitaka krvi, smanjenje alogene transfuzije i poboljšanje oporavka pacijenta. Prema dizajnu studije biće uključeno 54 pacijenata kojima je ugrađena unilateralna proteza kuka u Opštoj bolnici Valjevo, u periodu od 15.07 do 15.12.2022 uz primenu aparata za spašavanje krvi istovremenu primenu antifibrinolitika kao i preoperativne pripreme laboratorijskim i Point of Care (POC) ispitivanjem kao standardne procedure. Prosečna preoperativna vrednost hb bila $139,037 \pm 15,639$ g/l a da je posleoperativna srednja vrednost hb istog dana $124,980 \pm 15,841$ g/l a prvog sledećeg dana $115,220 \pm 13,809$. Dokazana je statistička razlika unutar grupa za sve hematoloske parametre izmedju sva tri merenja i iznosila je $p < .001$. Naši rezultati pokazuju statističku korelaciju izmedju vrednosti TRAP testa i zapreminskog udela trombocita u punoj krvi (Pct) $p = 0.23$, takođe statistički je dokazana korelacija izmedju vrednosti fibrinogena dobijenog standarnim laboratorijskim analizama i parametra MCF u FIB testu, $p = 0.04$. Prime-na koncepta PBM i parametara koje smo ispitivali uspela je da dokaže našu hipotezu da je moguće sprečiti postoperativnu anemiju u manjem obimu bez primene krvi i komponenata krvi.

Abstract

Surgical curation of osteoarthrosis is necessary when conservative treatment gives no result or damage of cartilage is so high that prevent normal function of patient. Patient Blood Management (PBM) system uses numerous evidence-based interventions which are applied before, during and after surgical interventions and their goal is to prevent anemia, lower blood loss, lower allogeneic transfusions and better recovery of patient. Study design includes 54 patients with unilateral hip prosthesis in General Hospital Valjevo from 15.07-15.12.2022 with cell saver machine, use of antifibrinolytics and preoperative preparation with laboratory and Point of care (POC) tests as standard procedure. Average values of hemoglobin were preoperatively $139,037$

$\pm 15,639$ g/l, immediately after intervention $124,980 \pm 15,841$ g/ and on first postoperative day $115,220 \pm 13,809$. We have showed that there is statistically significant difference between results of hematological parameters which was $p < 0.001$. Our results have show that there is correlation between TRAP test and values of plateletcrit Pct $p=0.23$. Also, there is corelation between fibrinogen values as standard result and MCF value in FIB test and it was $p=0.04$. Implementation of PBM concept have proved our hypothesis that it is possible to prevent postoperative anemia in smaller scale without applying allogeneic red blood cells or blood components.

Uvod

Osteoartroza je progresivno, degenerativno oboljenje zglobova, najčešće kuka i kolena. Oštećenje hrskavice može biti uzrokovano povredom, starenjem ili opterećenjem telesnom težinom (1). Operativno lečenje je neophodno kada konzervativno lečenje ne daje rezultate ili je oštećenje hrskavice toliko da remeti normalno funkcionisanje pacijenta. Glavni simptom osteoartroze je bol i nemogućnost pokreta tako da se pacijenti sa umanjnim sposobnostima u zglobu kolena sami javljaju ortopedu. Tokom operacije se zamenjuju oštećeni delovi hrskavice sa vetačkim delovima od metala i plastike i ovaj zahvat se naziva totalna artroplastika.

Ortopedska hirurgija kolena spada u velike izazove, praćena je velikim gubicima krvi i samim tim doprinosi pojavi postoperativne anemije. Ukoliko je kod pacijenta već definisana anemija, izgledi za brz oporavak se umnogome umanjiju.

Još od 2010. godine Svetska Zdravstvena Organizacija (SZO) je dala preporuke za racionalnu upotrebu krvnih produkata korišćenjem alternativnih rešenja i uvođenje u rutinski rad programa Patient Blood Management (PBM). Na 63. skupštini SZO usvojena je rezolucija WHA 63.12 za „Dostupnost, sigurnost i kvalitet krvnih produkata“ koja traži od SZO da omogući zemljama članicama dostupnost treninga i podrške na sigurnoj i racionalnoj upotrebi krvi i uvođenje u rad sistema PBM (2,3).

Prema definiciji udruženja za napredno upravljanje i korišćenje krvi (Society for Advanced Blood Management-SABM), PBM je „Pravovremena primena hiruških i medicinskih mera zasnovanih na dokazima, koji održavaju nivo hemoglobina, optimizuju hemostazu i smanjuju krvarenje u cilju poboljšanja pacijentovog oporavka“(4).Sistem PBM koristi brojne intervencije zasnovane na dokazima koji se primenjuju pre, za vreme i posle hiruške intervencije, a koji imaju za cilj izbegavanje anemije, smanjenje gubitaka krvi, smanjenje alogene transfuzije i poboljšanje oporavka pacijenta (5).

Koncept Patient Blood Managementa uključuje preoperativnu, intraoperativnu i postoperativnu strategiju. Svaki od ovih segmenta ima vodiče i preporuke kojima se mogu smanjiti rizici od primene alogene krvi, poboljšati lečenje pacijenata i smanjiti troškove lečenja.

PBM predstavlja multimodalnu i multidisciplinarnu strategiju koja se sprovodi koristeći različite tehnike i mere i primenjuje se za lečenje pojedinačnog pacijenta.

Primenom koncepta Patient blood Management (PBM) moguće je smanjiti zahteve za alogenom krvi i doprineti bržem oporavku pacijenta (6).

Otkrivanje i lečenje preoperativne anemije treba biti što pre, a najkasnije 14 dana pre planirane operacije (7), po mogućnosti i do 30 dana pre planiranog hiruškog zahvata (8). Pacijenti sa rizikom od krvarenja većim od 500ml su u većem riziku od transfuzije krvi i trebaju biti ispitani za rizike od anemije i na otklanjanje uzroka anemije pre planirane hiruške inter-

vencije (9). Usvojene su strategije za korekciju anemije, prilagođavanje antikoagulantne i antitrombocitne terapije prila-godjene pacijentu i kliničkom stanju (10).

Najčešće bolesti koje zahtevaju antikoagulantnu terapiju su : embolija pluća, cerebrovaskularne bolesti, duboke venske tromboze, atrijalna fibrilacija, ugrađeni veštački zalisci na srcu (11).Kada se uz ove bolesti pridruži ortopedska odnosno hiruška intervencija, posebna pažnja se mora posvetiti regulisanju ove terapije i pravovremenoj pripremi pacijenta. Rizici od krvarenja i tromboze se moraju uzeti u obzir, kao i predstojeća hiruška intervencija. Radi koristi za pacijenta u regulisanje ove terapije, trebalo bi uključiti multidisciplinarni tim. Pored hirurga i anesteziologa, važnu ulogu u određivanju prave doze i dužine trajanja terapije ima transfuziolog (12).

Terapija antitrombocitnim lekovima , takodje zahteva pažljiv pristup i perioperativno doziranje. Kod primene aspirina, kao monoterapije, osim pri velikim hiruškim zahvatima koje imaju veliki rizik ka krvarenju, terapija se nastavlja do 24h pre operacije (13). Kod operacija sa rizikom za krvarenje većim od 500 ml ova terapija se ukida 5 dana pre intervencije. Kod dvojne terapije antitrombocitnim lekovima, najbolje je bar 24 h pre hiruške intervencije uraditi neki od testova funkcije trombocita i na osnovu rezultata planirati dalju terapiju (6).

U intraoperativnom delu PBM akce-nat je na primeni hiruških tehnika kojima se smanjuje krvarenje, primeni antifibrinolitika i primene aparata za intraoperativno spasavanje krvi (14). Prateći rezultate publikacija i njihove dokaze, SZO je uvrstila traneksamičnu kiselinu (TXA) na listu esencijalnih lekova (15). Na osnovu brojnih dokaza, usvojeno je opšte mišljenje da je davanje TXA naročito u prva tri sata posle povrede ili operacije uključeno u brojne terapijske protokole širom sveta u cilju manjeg krvarenja (16).

Primenom metode za intraoperativno spašavanje krvi (ISK) i adekvatnim hiruškim tehnikama moguće je uticati na smanjenje zahteva za primenom krvi za vreme operativnog zahvata i postoperativno (17) .Ovako pripremljeni ertrociti ne izazivaju imunološke reakcije, imaju bolji kvalitet od eritrocita koji se skladište u bankama krvi i mogu biti veoma isplativi ako se koriste kod izabranih pacijenata (18) .

Postoperativne mere PBM se bave tolerancijom na anemiju, restriktivnim pris-tupom ka transfuziji alogene krvi, što manjem uzimanju uzoraka krvi za analize i primenom lekova koji smanjuju ili zaustavljaju krvarenje (19) .

Cilj rada: Da pokaze da li primena koncepta PBM sto ukljucuje hematološku , hemostatsku obradu i testove funkcije trombocita kao preoperativnu pripremu doprinosi sprečavanju postoperativne anemije

Materijal i metode: Istraživanje će se sprovedi kao retrospektivna observaciona studija. Prema dizajnu studije biće uključeno 54 pacijenata kojima je ugrađena unilateralna proteza kuka u Opštoj bolnici Valjevo, u periodu od 15.07 do 15.12.2022 uz primenu , aparata za spašavanje krvi istovremenu primenu antifibrinolitika kao i preoperativne pripreme laboratorijskim i POC (Point of care) ispitivanjem. Traneksamična kiselina je davana u dve doze 1g neposredno pre uvođenja u anesteziju i 1 g u 16h istog dana. Uzorci krvi za određivanje krvne slike i testova hemostaze su dobijeni punkcijom periferne vene. Uzorci su uzimani u 16 h na dan pre operacije, na dan operacije u 16h i prvog postoperativnog dana u 08h. Standardne laboratorijske analize su rađene u biohemijskoj laboratoriji na aparatu Abbot Ruby® za krvne slike metodom protočne citometrije a analize hemostaze na aparatu IL Top 350. Testovi impedantne agregometrije radjeni su na aparatu Multiplate®(Roche, Switzerland) a viskoelastični testovi na aparatu

ClotPro® (Enicor, Germany) uzimani su neposredno pre operacije. Za sve ispitanike, klinički i laboratorijski podaci, i ishodi lečenja su sakupljeni iz elektronske istorije bolesti - sistem Heliant i operativnih protokola službe ortopedije i transfuzije. U toku istraživanja analizirani su sledeći podaci:

- Demografske karakteristike koje su se odnosile na (pol, godine ispitanika),
 - Laboratorijski parametri (hematološke vrednosti: broj leukocita, trombocita, vrednosti hemoglobina i hematokrita), hemostazni parametri (PT, APTT, fibrinogen),
 - Parametri agregacije trombocita ASPI, ADP TRAP
 - Parametri viskoelastičnih testova Clot pro EX test i FIB test
 - Količina spasene krvi za vreme operacije
- Ni jedan pacijent u ispitivanoj studiji nije primao alogenu krv niti komponente krvi.

Statistička metodologija

U radu će od mera deskriptivne statistike biti korišćene: aritmetička sredina, medijana, standardna devijacija, minimalne i maksimalne vrednosti, kao i procenti. Od metoda inferencijalne statistike koristiće se: jednofaktorska numerička analiza varijansi ANOVA za ponovljena merenja i linearna jednostruka regresija. Prihvaćeni nivo značajnosti za statističke hipoteze je $p < 0.05$. Za statističku analizu podataka je korišćen statistički paket SPSS 22.0 (IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0. Armonk, NY)

Rezultati:

U tabeli 1 prikazane su demografske karakteristike ispitanika u odnosu na pol. U grupi od 54 ispitanika 53.8 % je bilo muškog pola, a 46.2 % ženskog pola

Tabela 1.

Distribucija pacijenata po polu

Grupa	POL		UKUPNO
	Muški (N,%)	Ženski (N,%)	
Ukupno	29 (53.8%)	25 (46.2%)	54 (100%)

U tabeli 2 prikazani su rezultati za starosnu dob ispitanika. Starosna dob bolesnika kretala se od 46 do 79 godina, prosečno 65,72 (SD 6.99)

Tabela 2.

Distribucija pacijenata po godinama. $\bar{x}$ (srednja vrednost), MdN (medijana), Sd (standardna devijacija), Min (minimalna vrednost), Max (maksimalna vrednost).

statistički pokazatelji	$\bar{x}$	MdN	Sd	Min	Max
starost (ukupan uzorak)	65,72	67,50	6,99	46	79

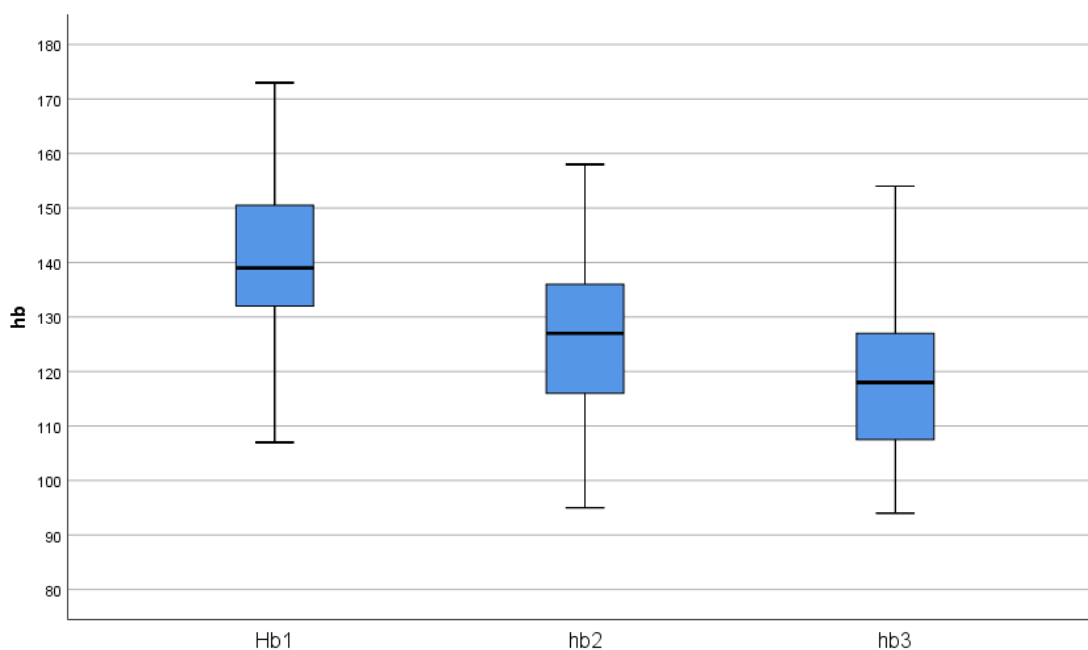
Tabela 3.

Aritmetičke sredine i standardne devijacije parametara hb, hct, le i tr u tri merenja. Testiranje razlike u krvnoj slici pre operacije (1), postoperativno istog dana (2) i postoperativno narednog dana (3).

Parametar	Preoperativno (1)	Postoperativno (2)	Postoperativno sutradan (3)	P vrednost: razlika I zmeđu merenja 1, 2 i 3
hb	139,037 ± 15,639	124,980 ± 15,841	115,220 ± 13,809	<.001
hct	41,768 ± 4,494	37,048 ± 4,787	34,411 ± 3,794	<.001
le	7,423 ± 2,223	12,839 ± 3,256	9,265 ± 2,540	<.001
tr	231,166 ± 62,842	198,851 ± 48,911	180,314 ± 45,309	<.001

Na grafikonu 1 se uočava da je prosečna preoperativna vrednost hb bila 139,037 ± 15,639 g/l a da je posleoperativna srednja vrednost hb istog dana 124,980 ± 15,841g/l. Srednja vrednost hemoglobina prvog sledećeg dana

115,22 ± 13,809. Dokazana je statisticka razlika unutar grupa za sve hematoloske parametre izmedju sva tri merenja i iznosila je $p < .001$.



Grafikon 1. Prosečne i ukupne vrednosti hemoglobina preoperativno i postoperativno

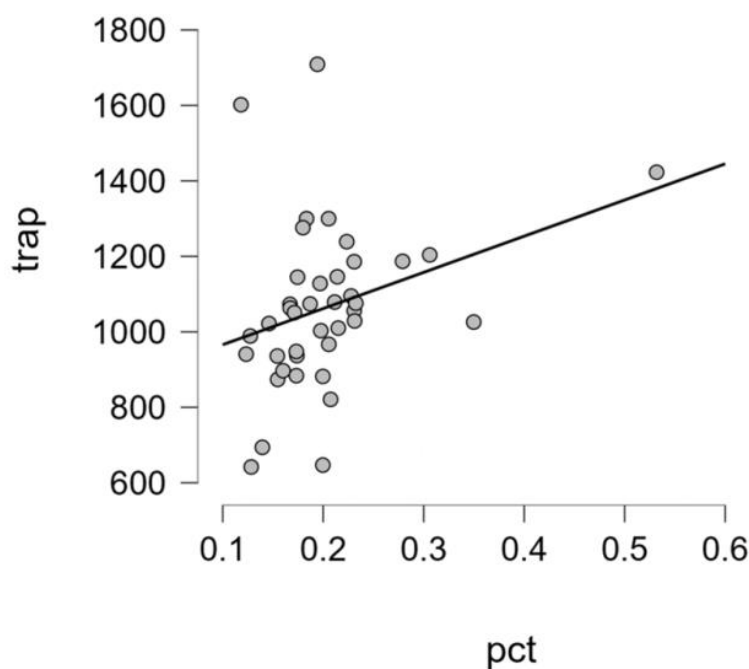
U tabeli 4 su prikazane vrednosti broja, velicine i zapreminskog odnosa u uzorku krvi, kao i vrednosti testova impedantne agregometrije ASPI, ADP i TRAP.

Tabela 4.

Srednje, minimalne i maksimalne vrednosti parametara aspi, adp, trap, tr1, mpv1 i pct sa referentnim vrednostima za date parametre.

Parametar	Srednja vrednost	Min	max
Aspi (790-1410)	807,600	178,000	1412,000
Adp (548-1167)	741,150	434,000	1368,000
Trap (923-1509)	1064,025	642,000	1709,000
Tr 1	231,166	127,000	497,000
Mpv 1	9,092	6,600	13,300
PCT (tr x mpv /10 000)	0,202	0,118	0,532

Na grafikonu 4 je prikazan odnos vrednosti TRAP i zapreminskog udela trombocita (Pct) u punoj krvi. Rezultati statističkog testiranja pokazuju statističku poveznost od $p=0.04$ što je manje od 0.05 i dokazuje statistički značajnu povezanost



Grafikon 4. Povezanost parametra trap i pct ($r=.313$; $p=0.4$)

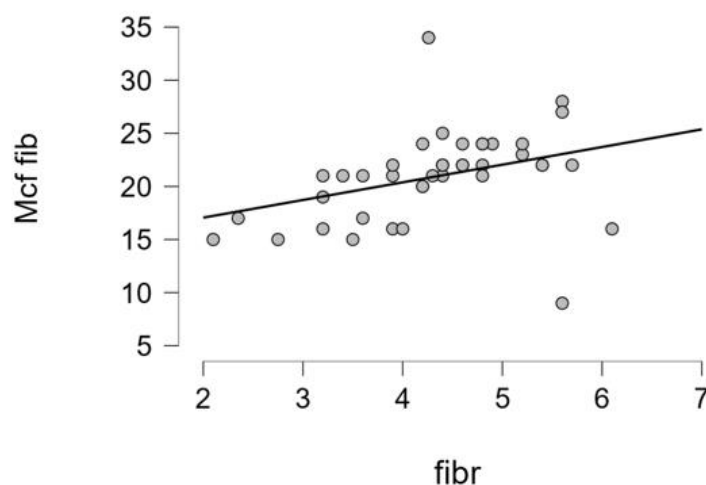
U tabeli 4. prikazane su vrednosti testova hemostaze standardnih laboratorijskih analiza (PT, APTT i fibrinogen) koji su mereni preoperativno i vrednosti viskoelastičnih testova, takodje mereni preoperativno.

Tabela 4.

Srednje, minimalne i maksimalne vrednosti parametara Ct EX, PT (INR), MCF EX, APTT, Mcf FIB, Fibrinogen sa referentnim vrednostima za date parametre.

Parametar	Srednja vrednost	Min	max
Ct EX (38-65)	59,375	29,000	87,000
PT (INR) (0,8-1,2)	1,006	0,880	1,210
MCF EX (53-68)	60,500	35,000	71,000
APTT (25-35)	30,223	25,500	53,700
Mcf FIB (9-27)	20,925	9,000	34,000
Fibrinogen	4,327	2,100	6,100

Na grafikonu 6, statistički je dokazana povezanost vrednosti fibrinogena radjenog kao standardni biohemijski parametar i maksimalne čvrstoce krvnog ugruska (MCF) analize FIB test. Rezultat $p=0.23$ govori u prilog statistički značajne povezanosti



Grafikon 6. Povezanost parametra MCF FIB i fibr ($r=.358$; $p=.023$, $p<.05$)

Tabela 5.

Distribucija kolicine spasene krvi

□ x (srednja vrednost), MdN (medijana), Sd (standardna devijacija), Min (minimalna vrednost), Max (maksimalna vrednost).

statistički pokazatelji	x	MdN	Sd	Min	Max
spaseno krvi	161,851	125,500	78,735	116,000	376,000

Diskusija

Naše istraživanje ukazuje na pozitivan efekat primena mera PBM koji se ogleda u tome sto pacijenti ne primaju alogenu krv a postoperativna anemija je prisutna kod malog broja pacijenata.

Ortopedska hirurgija je najzahvalnija hiruška grana za pripremu pacijenta za operativni zahvat i otklanjanje preoperativne anemije (20). Srednja vrednost preoperativnog hemoglobina, u uzorku pacijenata u uvoj studiji iznosila je 139 ± 15 g/l što govori da su pacijenti bili dobro pripremljeni, tj bez pokazatelja anemije i bez nadoknade krvi i krvnih derivata postoperativno, što u ranijim istraživanjima radjenim u našoj ustanovi nije bio slučaj (21).

U studiji *Patel* i sar. postoperativni pad u srednjim vrednostima hemoglobina bio 31 g/l (22). U studiji rađenoj u nasoj ustanovi tokom 2019 postoperativni pad srednjih vrednosti hemoglobina bio je 30 g/l (23). U tekucem istrazivanju ista vrednost iznosila je 24 g/l a postoperativna srednja vrednost hemoglobina je bila 115 g/l.

U grupu Point of Care (POC) testova spadaju svi testovi koji se mogu izvesti iz cele krvi neposredno pored ili blizu bolesničke postelje, sa što manje pipetiranja ili tretiranja uzorka (24) POC testiranje u laboratorijskoj medicini je definisano kao testiranje koje zahteva samo jedan korak pipetiranja. U perioperativnoj medicini, termin POC se odnosi na sve testove koji se izvode van centralne laboratorije, često od strane osoblja koje nije laboratorijski edukovano, u jedinicama intenzivne nege ili operacionoj sali, u cilju što brže i što efikasnije primene ciljane terapije. (25)

Agregaciju trombocita karakteriše akumulacija trombocita koji formiraju trombocitni čep. Ova osobina je povezana sa krajnjim fazama koagulacione kaskade i delimično se preklapa sa fazom aktivacije trombocita (26). Koncept impedantne agregometrije (MEA) iz

uzoraka cele krvi opisan je od strane istraživača Cardinal i Flower krajem XX veka (27). Tehnička unapređenja na uređaju Multiplate®, omogućavaju da metoda MEA bude korišćena kao POC metoda za ispitivanje funkcije trombocita. Sadrži 5 kanala za ispitivanje, automatsku pipetu i računar koji pretvara rezultate električnog otpora (impedanse) u rezultate razumljive za interpretaciju. Svaka kiveta za analize je za jednokratnu upotrebu i poseduje dva para elektroda presvučenih srebrom na fiksnoj razdaljini. **ASPI test** koristi arahidonsku kiselinu kao agonist. Osetljiv je za receptore COX $\frac{1}{2}$ i koristi se kod procene efikasnosti acetil-salicilne kiseline i blokade trombocitne funkcije od strane nesteroidnih antiinflamatornih lekova (NSAIL). **ADP test** koristi ADP kao agonist. Osetljiv je na funkciju trombocita u odnosu na blokadu ADP(P_2Y_{12}) receptora. Agonist za aktivaciju trombocita preko GpIIa/IIIb receptora je TRAP-6 (Thrombin receptor activating peptide-6). Rezultati naše studije pokazuju da su vrednosti sva tri testa kod pacijenta bile u okviru referentnih vrednosti. Vrednosti manje od referentnih ukazuju na druge uzroke smanjene funkcije kao što je trombocitopenija, ili stanja i primena drugih lekova prilikom izvođenja ovog testa (28). Naši rezultati pokazuju statističku korelaciju izmedju vrednosti **TRAP** testa i zapreminskog udela trombocita u punoj krvi (Pct) $p = 0.23$.

Jedna od glavnih fizičkih osobina krvi je viskoznost i tendencija ka formiranju krvnog ugruška. Kombinovanjem naziva ove dve osobine nastao je termin viskoelastičnost. Autor Hellmut Hartert je prvi opisao metode tromboelastografije sredinom XX veka (29). U drugoj deceniji ovog veka usavršavanjem postojećih metoda nastao je aparat Clot pro® koji se koristi za ispitivanje viskoelastičnih osobina krvnog ugruška. Pored poznatih testova za uvid u čvrstocu ugruska preko spoljašnjeg (**EX test**), unutrašnjeg puta koagulacije (**IN test**), procene koncentracije i polimer-

izacije fibrinogena i njegovog doprinosa u krvnom ugrušku (**FIB**), prisutne hiperfibrinolize (**AP test**) i uticaja leka nefrakcionisanog heparina (**HI test**), ovaj aparat ima mogućnost otkrivanja prisustva direktnih antikoagulantnih lekova (DOAC) preko testova **RVV testa** i **ECA testa**, i detektuje prisustvo i dejstvo traneksamične kiseline (**TPA test**). Rezultati dobijeni u ovoj studiji pokazuju da su rezultati EX i FIB testa bili u okviru referentnih vrednosti. Statistički je dokazana korelacija između vrednosti fibrinogena dobijenog standardnim laboratorijskim analizama i paaetra najveće čvrstine krvnog ugruška (Maximum Clot Firmness) MCF u FIB testu, $p=0.04$. Trenutno vazeće preporuke Evropskog udruženja za anesteziologiju (ESA), preporučuju primenu testova za funkciju trombocita i testova viskoelastometrije u sklopu preoperativne pripreme i korigovanja deficita ukoliko postoje kao i primenu ovih testova u intra- i postoperativnom periodu. (6) Uz uvid u funkcionalnu hemostazu preko testova viskoelastometrije nije bilo potrebe za primenom komponenata krvi kao što su zamrznuta sveža plazma i krioprecipitat.

Ograničenja studije su da je radjena u jednom centru, retrospektivni dizajn, relativno mali broj pacijenata. Ohrabrujemo i druge autore da svojim radom provere naše podatke i objave svoje u radu na sličnim temama i interesovanjima.

Zaključak

Aдекватnom preoperativnom pripremom, primenom svih raspoloživih testova preoperativno, primenom metode intraoperativnog spašavanja krvi i antifibrinolitičke terapije, kao i postoperativnim restriktivnim pristupom transfuzije krvi primena koncepta PBM i parametara koje smo ispitivali uspela je da dokaže našu hipotezu da je moguće sprečiti postoperativnu anemiju u manjem obimu bez primene jedinica krvi i komponenata krvi. U budućnos-

ti treba obratiti pažnju na primenu preparata intravenskog gvožđa u perioperativnom periodu kojim bi se u potpunosti izbegla pojava postoperativne anemije a time i bolji oporavak pacijenata.

Reference

1. Felson DT. An update on the pathogenesis and epidemiology of osteoarthritis. *Radiol. Clin. North Am.* 2004; 42: 1–9.
2. https://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/wha63/a63_r12-en.pdf
3. World Health Organisation Global Forum for Blood Safety: Patient Blood Management: Priorities for Action. [cited 2017 May 21]. Available from: http://www.who.int/bloodsafety/collaboration/who_gfbs_2011_03_priorities_for_action.pdf?ua=1h
4. What is patient blood management (PBM)? Available at: <http://www.sabm.org/> [Accessed: March 03, 2019].
5. Kietaihl, S. "Facilitating the Implementation of Perioperative Patient Blood Management: Education, Infrastructure, Process Descriptions, Quality Indicators and Patient Information." *Austin J. Anesthesia and Analgesia*. 2019, 7, 1079.
6. Kozek-Langenecker SA, Ahmed AB, Afshari A, Albaladejo P, Aldecoa C, Barauskas G, et al. Management of severe perioperative bleeding: guidelines from the European Society of Anaesthesiology: First update 2016. *Eur J Anaesthesiol*. 2017;34:332–395
7. Goodnough LT, Maniatis A, Earnshaw P, et al. Detection, evaluation, and management of preoperative anaemia in the elective orthopaedic surgical patient: NATA guidelines. *British Journal of Anaesthesia* 2011; 106: 13–22.
8. Munoz M, Acheson AG, Auerbach M, et al. International consensus statement on the peri-operative management of anaemia and

- iron deficiency. *Anaesthesia* 2017; 72: 233–247.
9. Ashworth A, Klein AA "Cell salvage as part of a blood conservation strategy in anaesthesia." *British journal of anaesthesia* 2010 ; 105.4: 401-416.
10. Muñoz M, Gómez-Ramírez S, Kozek-Langeneker S, et al. 'Fit to fly': overcoming barriers to preoperative haemoglobin optimization in surgical patients. *Br J. Anaesth.* 2015;115(1):15-24
11. Pathak V, J. Erin A, Grant M. "Management of anticoagulant and antiplatelet therapy in patients undergoing interventional pulmonary procedures." *European Respiratory Review*, 2017, 26:145 .
12. Shah, A., A. J. R. Palmer, and A. A. Klein. "Strategies to minimize intraoperative blood loss during major surgery." *Journal of British Surgery*, 2020, 107.2: e26-e38.
13. Korte, W., Cattaneo, M., Chassot, P.G., Eichinger, S., von Heymann, C. Et al., Peri-operative management of antiplatelet therapy in patients with coronary artery disease: joint position paper by members of the working group on Perioperative Haemostasis of the Society on Thrombosis and Haemostasis Research (GTH), the working group on Perioperative Coagulation of the Austrian Society for Anesthesiology, Resuscitation and Intensive Care (OGARI) and the Working Group Thrombosis of the European Society for Cardiology (ESC). *Thrombosis & Haemostasis*, 2011, 105, 743–749.
14. Bisbe E, Moltó L. Pillar 2: minimising bleeding and blood loss. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol.* 2013, 27(1):99-110.
15. available at: (http://www.who.int/selection_medicines/committees/expert/18/applications/tranexamic/en).
16. Franchini, Massimo, and Pier Mannuccio Mannucci. "The never ending success story of tranexamic acid in acquired bleeding." *Haematologica*, 2020, 105.5, 1201.
17. Spahn, Donat R., Manuel Muñoz, Andrew A. Klein, Jerrold H. Levy, and Kai Zcharowski. "Patient Blood Management Effectiveness and Future Potential." *Anesthesiology* 2020, Vol. 133, 212–222.
18. Sikorski, R.A.; Rizkalla, N.A.; Yang, W.W.; Frank, S.M. Autologous blood salvage in the era of patient blood management. *Vox Sang.* 2017, 112, 499–510.
19. Zacharowski K, Spahn DR. Patient blood management equals patient safety. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol.*, 2016, 30(2), 159-169.
20. Goodnough LT, Maniatis A, Earnshaw P et al. Detection, evaluation, and management of preoperative anaemia in the elective orthopaedic surgical patient: NATA guidelines. *British Journal of Anaesthesia* 2011; 106: 13–22.
21. Matic S., Simic S, Mihajlovic M. The post-operative use of allogenic blood in orthopaedic surgery with and without the cell saver, NATA poster presentation, Porto; 2014.
22. Patel NK, Johns W, Vedi V et al. Tourniquet and tranexamic acid use in total knee arthroplasty. *Arthroplasty Today* 2020; 6(2): 246–250.
23. Matić S, Vuković M, Vukićević A. Using of Intraoperative Cell Salvage and Tranexamic Acid as Protective Factor for Postoperative Anemia Appearance in Patients with Total Hip or Knee Arthroplasty. *Surgeries.* 2021; 2(3):308-319. <https://doi.org/10.3390/surgeries2030031>
24. Israels SJ (2015) Laboratory testing for platelet function disorders. *Int J Lab Hematol.*, 2015, 37(1):18–24
25. van Werkum JW, Harmsze AM, Elsenberg EH, et al. The use of the VerifyNow system to monitor antiplatelet therapy: a review of the current evidence. *Platelets.* 2008, 19(7):479–88.

26. D.A. Vorchheimer, R. Becker, Platelets in atherothrombosis, Mayo Clin. Proc., 2006, 81, 59-68,
27. Cardinal DC, Flower RJ , The electronic aggregometer: a novel device for assessing platelet behavior in blood. J Pharmacol Methods, 1980, 3:135–158
28. Albanyan, A; Al-Musa, A; AlNounou, R; Al Zahrani, H; Nasr, R; AlJefri, A; Saleh, M; Malik, A; Masmali, H; Owaidha, T (2015). "Diagnosis of Glanzmann thrombasthenia by whole blood impedance analyzer (MEA) vs. light transmission aggregometry". International Journal of Laboratory Hematology. 2015 , 37(4)): 503–508
29. Hartert H. Blutgerinnungsstudien mit der Thrombelastographie; einem neuen Untersuchungs verfahren [Blood clotting studies with Thrombus stressography; a new Investigation procedure]. Klin Wochenschr., 1948, 26(37-38):577-83. German.

Korespodenca:**Prim. dr Svetislav Matić, MD, MSc**

Opšta Bolnica Valjevo

Sindelićeva 62, 14000 Valjevo, Srbija

Tel : +381641429633

e-mail : **maticsv@gmail.com**



PROTOKOL - AUTOLOGNA TRANSFUZIJA

- Naša iskustva -

Vladana Jovanović, Tamara Tasić, Vladislav Stanković, Dušan Jovanović

Služba za snabdevanje krvlju i produktima od krvi, ZC Vranje

Uvod:

U fokusu *Patient Blood Management-a* je smanjenje primene alogenih komponenata krvi.

Transfuzija alogene krvi nosi veće rizike nego transfuzija autologne krvi.

Transfuziološko zbrinjavanje pacijenata sopstvenom krvlju obuhvata procedure koje podrazumevaju – prikupljanje, procesuiranje, čuvanje i transfundovanje sopstvene krvi.

Strategije prikupljanja autologne krvi su:

1. Preoperativno prikupljanje autologne Krvi (PAK)
2. Intraoperativno i postoperativno spasavanje krvi (ISK)
3. Akutna normovolemijska hemodilucija (ANH)
4. Izdvajanje autologne plazme, trombocita afereznim procedurama.

Najznačajnije prednosti autologne transfuzije: smanjena mogućnost imunizacije na strane antigene, nemogućnost prenošenja infekivnih agenasa, izbegavanje imunoloških reakcija, smanjenje potreba za alogenom krvlju.

Autologna krv je najbezbednija krv za pacijenta, jer se njenom primenom eliminiše rizik od mnogobrojnih neželjenih efekata(1).

Prednosti autologne transfuzije

- Sprečavanje transmisije agenasa infektivnih bolesti,
- Sprečavanje imunizacije na antigene eritrocita, leukocita, trombocita i proteina plazme,

- Sprečavanje nastajanja neželjenih reakcija, posebno alergijskih, febrilnih, bolesti kalem protiv domaćina,
- Dopunjavanje u nadoknadi krvnih produkata,
- Obezbeđivanje kompatibilne krvi bolesnicima koji su već senzibilisani i imaju multipla aloantitela, retke krvne grupe
- Ekonomičnost, jer jedinica autologne krvi ima realno nižu cenu u odnosu na alogenu transfuziju, Kostna srž davaoca se stimuliše za eritropoezu(2).

Nedostaci autologne transfuzije

- Neželjene reakcije koje se sreću kod davalaca u toku davanja krvi (2-5%),
- Potencira odlaganje termina intervencije zbog vremena potrebnog za kolekciju dovoljnog broja jedinica krvi i nepotrebne kolekcije jedinica krvi za one operativne procedure za koje se najčešće transfuzije samo planiraju, ali ne i primenjuju(2).

Preoperativna autologna kolekcija krvi (PAK)

- Najčešće korišćena strategija autologne transfuzije koja je posebno namenjena elektivnim hirurškim procedurama u kardiovaskularnoj hirurgiji, ortopedskoj, urološkoj, grudnoj, neurohirurgiji, ginekologiji i transplantacionoj hirurgiji, gde se očekuje upotreba alogene krvi u više od 10% slučajeva PAK se preporučuje bolesniku koji ispunjava sledeće uslove:
- Hb veći od 110 g/L (od 120-150 g/L),
- Hct veći od 0,33

- Dobro opšte zdravstveno stanje,
- Odsustvo simptoma i znakova bakterijemije,
- Terapija bez antibiotika,
- Stabilizovana koronarna i karotidna bolest,
- Najmanje 72 sata do operacije i
- Saglasnost pacijenta(3).

Kriterijumi za preoperativnu donaciju krvi

Kriterijumi za izbor pacijenata za donaciju autologne krvi su manje striktni u odnosu na kriterijumme za izbor dobrovoljnih davalaca krvi.

Okvirna starosna granica za autolognu transfuziju je 10 – 75 godina.

Osobe sa telesnom masom manjom od 50kg takodje mogu dati autolognu krv

Maksimalni volumen uzete krvi izračunava se po formuli:

$$TT : 50 * 450ml$$

Odraslom bolesniku preporučuje se uzimanje 450 mL krvi, odnosno, 10-12% od njegove cirkulišuće krvi. Krv se obično uzima u dvostruke kese sa CPDA-1. Postupak se ponavlja na 5-7 dana uz obavezno proveravanje opšteg stanja, kardiovaskularnog sistema, hematoloških parametara (Hb, Hct) i uz ordiniranje preparata gvožđa. Oralno gvoždje-2-3mg/kgTT/-dnevno, ili intravensko-200mg u 100ml fiziološkog rastvora na 2-3dana. Poslednje uzimanje krvi trebalo bi da bude najmanje 72 sata pre hirurške procedure. Deca starija od 10 godina, takođe se mogu planirati za PAK, uz prethodno dobijen pristanak roditelja. Količina uzete krvi se određuje na osnovu njihove telesne mase.

Svaka jedinica autologne krvi čuva se do primene u predviđenim uslovima, Er na +4C, a plazma na -30C. Na etiketi kese se označavaju sledeći osnovni podaci: autologna krv, odeljenje, prezime i ime bolesnika, krvna grupa ABO i Rh sistema, datum konzervacije, ukupna količina krvi i rok upotrebe. Preopera-

tivni plan za sve elektivne hirurške procedure je 2 do 6 nedelja.

Autologna transfuzija nameće se kao izbor kod pacijenata:

1. sa retkim krvnim grupama
2. sa više puta evidentiranim težim transfuzionim reakcijama
3. koji su imunizovani na više eritrocitnih antigena
4. kod trudnica koje su imunizovane na eritrocitne antigene ploda
5. kod kojih je otkriveno antitelo visoke učestalosti u populaciji
6. kod pacijenata sa IgA deficijencijom(4)

Kontraindikacije

maligne bolesti krvi, poremećaji koagulacije, septična stanja, stanja srčane dekompenzacije, diseminovane metastaze, teži oblici respiratorne insuficijencije, nesolidni maligni tumori, teška aortna stenoza. Poseban oprez kod hipertenzije i hipotenzije kao i nestabilna angina pectoris, kod osoba starije životne dobi koje često nose kateter ili imaju penetrirajuće promene na koži, kao i oprez kod dece i trudnica(4).

Administracija autologne krvi

Autolgne komponente se čuvaju pod istim uslovima kao i alogene ali odvojeno od alogenih komponenti.

Prateća dokumentacija podrazmeva:

- protokol autologne krvi koji sadrži: genralije pacijenta, krvnu grupu i rezultat testiranja na transmisivne bolesti, podatke o pregledu (pregled srca, pluća, pritisak, teledna težina, rezultati krvne sike i osnovne biohemijske analize)
- lista autologne krvi gde se upisuje: datum planirane intervencije, ime lekara koji je indikovao autolgnu transfuziju, podatke o primeni krvi/komponenata krvi.

Sve jedinice koje nisu upotrbljene ne mogu se dati drugom pacijentu(3).

PREOPERATIVNA PRIPREMA – bolnički pacijent

1. ORDINIRAJUĆI LEKAR (HIRURG, ORTOPEĐ, UROLOG, GINEKOLOG):

- postavlja indicaciju za planirani operativni zahvat po tipu i vrsti operacije
- daje procenu o broju potrebnih jedinica krvi za planirani operativni zahvat
- precizira prvi mogući termin operacije (dve do šest nedelja)
- obaveštava pacijenta o mogućnosti davanja autologne krvi

2. GLAVNA SESTRA ODELJENJA:

- organizuje laboratorijska ispitivanja (SE,KKS,ispitivanje hemo staze,biohemija,pregled urina,krvna grupa)
- EKG,RTG pulmo/cor
- mišljenje interniste
- dostavlja transfuziologu sve navedeno

3.TRANSFUZIOLOG:

- postavlja indicaciju za preoperativnu autolognu transfuziju u pismenoj formi sa ličnim potpisom pacijenta da je "saglasan da daje sopstvenu krv za sopstvenu operaciju"
- vrši pregled pacijenta i daje nalog za uzimanje krvi. Transfuziološki nalaz sadrži termin uzimanja jedne ili više jedinica krvi i do-zu(e)
- transfuzista uzima krv i uvodi u pisani protokol koji sadrži: opšte podatke o pacijentu: ime,ime roditelja, prezime, datum rođenja, oznaka krvne grupe(ABO I Rh D), dijagnozu, vrednosti lab.parametara(5)

PREOPERATIVNA PRIPREMA – ambulantni pacijent

1. ORDINIRAJUĆI LEKAR:

- postavlja indicaciju za planirani operativni zahvat po tipu i vrsti operacije
- daje procenu o broju potrebnih jedinica krvi za planirani operativni zahvat
- precizira prvi mogući termin operacije (dve do šest nedelja)
- obaveštava pacijenta o mogućnosti davanja autologne krvi
- upućuje u bolničku transfuziološku službu

2.TRANSFUZIOLOG:

- postavlja indicaciju za preoperativnu autolognu transfuziju u pismenoj formi ispod nalaza ordinirajućeg lekara
- obaveštava pacijenta o mogućnostima organizovanja i uzimanja autologne krvi. Vršiti pregled i daje nalog za uzimanje krvi
- transfuzista uzima krv i uvodi u pisani protokol koji sadrži: opšte podatke o pacijentu: ime,ime roditelja, prezime, datum rođenja, oznaka krvne grupe(ABO I Rh D), dijagnozu, vrednosti lab.parametara(5).

PLAN PRIKUPLJANJA I SKLADIŠTENJE AUTOLOGNE KRV

U optimalnim uslovima prvo prikupljanje se planira tri do četiri nedelje pre prijema u ustanovu, a svako sledeće se ponavlja u intervalu od sedam dana.

Posle prvog prikupljanja autologne krvi pacijentu se savetuje uzimanje preparata gvoždja i folne kiseline. Pred svaku narednu venepunkciju proveravati najvažnije hematološke parametre: KKS,koncentracija hemoglobina (Hgb) I hematokrit(Hct).

Od poslednje prikupljene jedinice autologne krvi do hirurškog zahvata potrebno je da

prodje minimum 72 sata(vreme potrebno za obnavljanje intravaskularnog volumena).

Svaka jedinica krvi se centrifugira, plazma odvaja u transfer kesu i zamrzava na -30°C , a eritrociti se skladište u frižideru za krv na $+4^{\circ}\text{C}$ (3).

Cilj

Cilja našeg rada je da ukažemo na značajno smanjenje potrošnje alogene krvi i komponentata kod elektivnih procedura u ortopediji u ZC Vranje primenom preoperativne autologne donacije. U cilju obezbeđivanja dovoljnih količina krvi za elektivne procedure u ZC Vranje, bolnička banka krvi je pokrenula program preoperativne autologne donacije pre svega za pacijente na odeljenju ortopedije

Rezultati

U cilju obezbeđivanja dovoljnih količina krvi za elektivne procedure u ZC Vranje, bolnička banka krvi je pokrenula program preoperativne autologne donacije pre svega za pacijente na odeljenju ortopedije.

U periodu od septembra do decembra 2024. godine izvedeno je 25 procedura preoperativne

autologne donacije. Indikaciju za autolognu transfuziju postavlja ordinirajući lekar. U okviru pripreme pacijentu su uradjene kks i osnovne biohemijske analize kao i pregled interniste/kardiologa. Nakon toga ekipa iz bolničke banke krvi na čelu sa transfuziologom izvodi proceduru autologne donacije koja se sastoji od uzimanja namneze, pregleda pacijenta, pregleda medicinske dokumentacije. Pacijent potpisuje saglasnost za izvodjenje procedure i pristupa se uzimanju 450ml venske krvi u dvostruke kese. Uz to uzima se i uzorak za testiranje na krvlju transmisivne bolesti. Pacijentu se ordinira hidratacija i preparati gvoždja sa folnom kiselinom.

U grupi pacijenata gde je izvršena procedura preoperativne autologne donacije uzimana je po jedna jedinica autologne krvi koja je zatim procesuirana i odvajana je plazma koja se zamrzava na -30°C dok se deplazmatisana krv čuva u frižideru za krv na $+4^{\circ}\text{C}$ odvojeno od alogenih jedinica.

Za 25 procedura preoperativne autologne donacije od kojih su 17 bile ugradnja proteze kuka i 8 ugradnja proteze kolena izdato je 25 jedinica autologne krvi i 5 jedinica autologne SSP, kao i 7 jedinica alogene krvi i 4 jedinice alogene SSP(tabela 1.).

Tabela 1.

Autol. krv	Autol. depl. Er.	Autol. SSP	Alogeni depl.Er.	Alogena SSP
Proteza kuka	17	2	2	1
Proteza kolena	8	3	5	3
ukupno	25	5	7	4

U grupi pacijenata kod kojih nije izvršena procedura preoperativne autologne donacije krvi, a koji su imali ortopedsku intervenciju ugradnje proteze kuka ili kolena u drugoj polovini 2024. bilo je 19 pacijenata kod kojih je uradjena ugradnja proteze kuka i 6 pacije

nata kod kojih je izvršena ugradnja proteze kolena

Za 25 procedura u 2024.godini gde nije uzimana autologna krv utrošeno je 34 jedinica alogene deplazmatisane krvi i 9 jedinica alogene SSP(tabela 2.).

Tabela 2.

Pacijenti bez auto-logne krvi	Alogeni depl.Er.	Alogena SSP
Proteza kuka	20	3
Proteza kolena	14	6
Ukupno	34	9

Analizom podataka došli smo do rezultata da je primenom ove metode smanjena upotreba alogene krvi za 79.5% ili 27jedinica. Takodje smanjena je upotreba sveže smrznute plazme za 55,5% ili 5 jedinica

Zaključak:

Primenom autologne krvi značajno se smanjuje primena alogene krvi. Primenom autologne krvi se izbegava pojava raznih posttransfuzionih neželjenih reakcija, i primetan je brži postoperativni oporavak pacijenata smanjena mogućnost imunizacije na strane antigene, nemogućnost prenošenja infekivnih agenasa, i primetan je brži postoperativni oporavak pacijenata.

Literatura:

1. Kovač M, Balint B, Bogdanović G., urednici. Bazična i klinička transfuziologija, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, Akademska misao, Beograd 2020;503-509.
2. Ivanjko I. Prednosti primjene autologne transfuzije u odnosu na klasičnu transfuziju, Zdravstveno veleučilište, Zagreb2015; Završni rad
3. Balint B, Vučetić D, Ostojić G, Ljubenov M, Osnovi Transfuziologije sa hemobiologijom, Medicinski fakultet VMA, Beograd 2014; 29-31.
4. Vanderlinde FS, Heal JM, Blumberg N. Autologous transfusion, BMJ 2002;772-775.
5. Budišin Ž, Jovanović I, Transfuziološko zbrinjavanje sopstvenom krvlju-Savremeni dijagnostički i terapijski stavovi u pedijatriji i dečijoj hirurgiji. Dani univerzitetske dečije klinike 2015. www.google.rs

Korespondenca: Dr Vladana Jovanović

ZC Vranje, Služba za snabdevanje krvlju i produktima od krvi
Jovana Jankovića Lunge 1, 17500, Vranje, Srbija
www.vace@gmail.com



MONITORING CENTRALNOG VENSKOG PRITISKA

Ivana Tanović Nikolić, Dragan Đorđević

Klinika za anesteziologiju i intenzivnu terapiju, Vojnomedicinska akademija, Beograd

Uvod

FIZIOLOGIJA VENSKOG PRILIVA U SRCE

Glavna funkcija venskog sistema je povratak krvi u srce sa periferije, takođe velike vene su i rezervoar cirkulatornog volumena kr-vi. Funkcionalno krvotok se deli na sistemski i plućni krvotok, više od 70% krvi se nalazi u sistemske venske cirkulaciji, od toga su tri četvrtine u malim venama i venulama. Plućne vene sadrže malu količinu krvi i pritisak u levoj pretkomori ima mali uticaj na funkciju srca.

Vene imaju komplijansu koja je 30 puta veća od arterija, i ova funkcija im omogućava velike promene u volumenu krvi bez povećanja transmuralnog pritiska. Ova karakteristika čini venski sistem idealnim rezervorom krvi, koji može da održava punjenje desnog srca uprkos značajnim varijacijama u cirkulatornom volumenu. U venama splanhične cirkulacije nalazi oko 20-33% ukupnog volumena krvi.

Tabela 1.

Distribucija volumena krvi u krvnim sudovima	
Struktura	% ukupnog volumena krvi
Venski sistem	64%
Arterijski sistem	13%
Kapilari	7%
Plućna cirkulacija	9%
Srce	7%

Hagen-Poiseuille zakon je vrlo bitan u razumevanju venskog priliva (VR, eng. Venous return) i minutnog volumena srca (CO, eng. cardiac output). Ovaj zakon kaže da je protok tečnosti (Q) u zatvorenom sistemu (krvni sud) proporcionalan razlici pritisaka (P1–P2) pod eljenim sa otporom (R – rezistencija) u sistemu. Kada je u pitanju venski priliv (VR) u srce, P1 je vrednost srednjeg sistemskog pritiska (Pms, eng. mean systemic pressure), P2 je vrednost pritiska u desnoj pretkomori (Pra, eng. right atrial pressure), dok je R otpor venskom protoku krvi

(Vr, eng. venous resistance). Srednji sistemski pritisak punjenja predstavlja pritisak meren bilo gde u sistemske cirkulaciji, pošto je protok krvi zaustavljen klemovanjem velikih krvnih sudova srca (eksperimentalno meren kod životinja i iznosi oko 7 mm Hg po Gajtonu). Što je veća razlika između srednjeg pritiska punjenja i pritiska u desnoj pretkomori (normalno iznosi 0 mm Hg po Gajtonu) – to je veći venski priliv. Razlika između ova dva pritiska se naziva gradijent pritiska za venski priliv.

$$VR = \frac{P_{ms} - P_{RA}}{R_v}$$

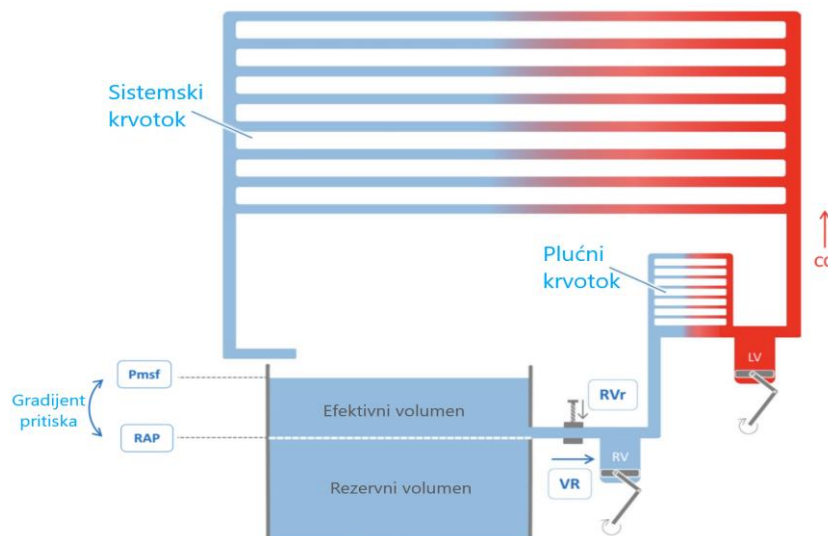
Jednačina venskog priliva (VR) krvi u srce

Treba naglasiti da je minutni volumen srca (CO) jednak venskom prilivu (VR), kao i da vrednost arterijskog pritiska i arterijska cirkulacija (osim dostave krvi u venski deo cirkulacije) nemaju uticaj na venski povratak u desno srce.

U razumevanju venskog priliva u srce, pored srednjeg sistemskog pritiska (Pms) bitni su i efektivni (eng. stressed volume) i rezervni volumen (eng. unstressed volume). Rezervni volumen se definiše kao volumen koji puni cirkulatorni sistem do nivoa bez povećanja transmuralnog pritiska. Efektivni

volumen je ona količina krvi, koja kada se doda reze-rvnom volumenu, generiše transmuralni pritis-ak. Znači, samo deo ukupnog volumena krvi doprinosi srednjem pritisku punjenja (Pms) u cirkulaciji. Rezervni volumen predstavlja veliki rezervoar krvi koja se može ubaciti u vensku cirkulaciju preko alfa-adrenergičke venske konstrikcije.

Efektivni volumen čini 20-30% ukupnog volumena krvi ili 1,5 l. U normalnim uslovima, srednji pritisak punjenja iznosi 8-10 mm Hg.



Slika 1 – Faktori koji utiču na venski priliv u srce VR - venous return, Pmsf - mean systemic filling pressure, RAP - Right arterial pressure RVr - resistance to venous return RV - right ventricle LV - left ventricle

CENTRALNI VENSKI PRITISAK

Centralni venski pritisak predstavlja pritisak u gornjoj veni kavi, odnosno pritisak u desnoj pretkomori. Služi za merenje pritiska

punjenja desne komore (eng. *filling pressure*) i za procenu funkcije desnog srca. Predstavlja ekvilibrijum između venskog priliva krvi u srce i srčane funkcije..

Meri se plasiranjem centralnog venskog katetera preko v.jugularis int. ili v.su-bclavie, čiji je vrh smešten neposredno iznad ušća gornje šuplje vene u desnu pretkomoru (obavezna radiološka provera vrha katetera - PA snimak pluća i srca).

Vrlo je važna tačna tehnika merenja ovog pritiska. Po pravilu, geometrijski centar desne pretkomore treba uzeti kao osnovni nivo za merenje CVP. Pretvarač pritiska se „zeruje“ (vrednost nula) u odnosu na atmosferski pritisak u nivou desne pre-tkomore, što se može odrediti spuštanjem vertikalne linije dužine oko 5 cm, počevši od nivoa grudne kosti do tačke spoja grudne kosti i drugog rebra. U praksi tačka merenja se nalazi na spoju srednje aksilarne linije i četvrtog interkostalnog prostora ili petog rebra desno. Merenje centralnog venskog pritiska je moguće samo u horizontalnom odnosno ležećem položaju pacijenta.

Normalne vrednosti centralnog venskog pritiska su 0-5 mm Hg. U razmatranju

vrednosti CVP, treba imati u vidu da on zavisi od ukupnog volumena krvi, kapaciteta venskog bazena, stanja srčanih valvula (trikuspidalna i mitralna valvula), komplijanse desne komore i od plućnog arterijskog pritiska. Takođe, CVP može biti pod uticajem torakalnog, perikardnog i abdominalnog pritiska. Zato, klinička interpretacija pojedinačne vrednosti CVP može biti znatno komplikovana.

Niska vrednost CVP može biti normalna, ali može pratiti i hipovolemiju. Visok CVP je uvek abnormalan, i može ukazati na lošu funkciju srca, povećani ukupni volumen krvi ili na oba poremećaja. Povišene vrednosti CVP su udružene sa razvojem disfunkcije organa, naročito akutne bubrežne insuficijencije i kongestije splanhikusa. Iako je CVP „statička“ mera, praćenje trenda promena, kao i drugih hemodinamskih parametara (ehokardiografija, monitoring minutnog volumena srca) može dati korisne kliničke podatke.

Tabela 2.

Faktori koji utiču na vrednost centralnog venskog pritiska

NIZAK CVP		VISOK CVP	
1.	Hipovolemija, dehidracija,	1.	Hipervolemija
2.	Snižen vaskularni tonus	2.	Slabost desnog srca
-	Vazodilatatori	3.	Bolesti valvula
-	Disfunkcija simpatikusa	4.	Embolija pluća
-	Neuroaksijalna anestezija	5.	Plućna hipertenzija
		6.	Povećan intratorakalni pritisak
		7.	Intraabdominalna hipertenzija
		8.	Povećani vaskularni tonus

INDIKACIJE ZA PLASIRANJE CENTRALNOG VENSKOG PRITISKA

- Centralni venski kateter ima višestruku name-nu:
- merenje centralnog venskog pritiska (CVP)
 - administracija tečnosti (ne i za brzu nadoknadu cirkulišućeg volumena!),
 - primena kaustičnih lekova i totalne pare

nteralne ishrane,

- primena vazoaktivnih lekova,
- pristupni put za hemodijalizu,
- insercija elektroda za transkutani pejsing
- put za aspiraciju kod vazdušne embolije (operacije u zadnjoj lobanjskoj jami)

- savremeni kateteri imaju ugrađenu elektodu za merenje saturacije mešane venske krvi (ScvO₂)

Centralni venski pritisak nije direktni pokazatelj cirkulišućeg volumena krvi i ne može se koristiti u vođenju i proceni nadoknade volumena odnosno terapije tečnostima (eng. fluid responsiveness)

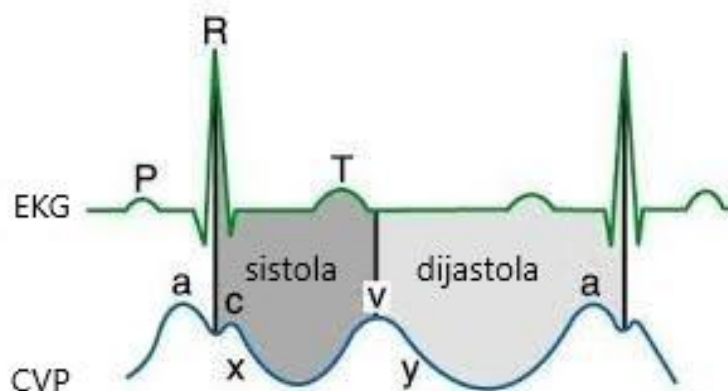
MORFOLOGIJA TALASA CENTRALNOG VENSKOG PRITISKA

Oblik krivulje centralnog venskog pritiska prati EKG zapis tokom srčanog ciklusa. Postoje 3 pozitivna talasa (a,c,v) i 2 negativna otklona (x,y). Značaj praćenja krivulje je u dijagnostici morfoloških promena na trikuspidalnoj valvuli (trikuspidalna stenoza i insuficijencija) i ranom

prepoznavanju supraventikularnih tahikardija (atrijalna fibrilacija, idioventrikularni ritam).

Talas a je najprominentniji u krivulji i označava kontrakciju pretkomora i javlja se odmah nakon P talasa na EKG. Talas c nastaje nakon slabljenja talasa a zbog prolapsa trikuspidalne valvule tokom rane (izovolumetrijske) kontrakcije desne komore. Talas v nastaje na kraju sistole komore, i predstavlja fazu punjenja pretkomora.

Negativni otkon x nastaje zbog pomeranja trikuspidalne valvule nadole tokom sistole i pada pritiska u pretkomori. Otklon y nastaje zbog otvaranja trikuspidalne valvule tokom dijastole, kada krv iz desne prekomore otiče brzo u desnu komoru tokom rane dijastole.



Slika 2. – Grafički zapis centralnog venskog pritiska i EKG tokom srčanog ciklusa

Zaključak

Plasiranje centralnog venskog katetera i merenje centralnog venskog pritiska je jedan od najčešće korišćenih metoda invazivnog hemodinamskog monitoringa. Iako je CVP “statička” mera, praćenje trenda promena, kao i drugih hemodinamskih parametara (ehokardiografija, monitoring minutnog

volumena srca) može dati korisne kliničke podatke. Centralni venski pritisak se ne može se koristiti u vođenju i proceni nadoknade cirkulatornog volumena odnosno terapije tečnostima kod kritično obolelih pacijenata. Povišene vrednosti CVP su udružene sa razvojem disfunkcije organa, naročito akutne bubrežne insuficijencije i kongestije splanhikusa.

Literatura:

1. Funk DJ, Jacobsohn E, Kumar A. The role of venous return in critical illness and Shock – part I: Physiology. CCM 2013; 4(1): 255-262
2. Funk DJ, Jacobsohn E, Kumar A. The role of venous return in critical illness and shock – part II: Shock and Mechanical ventilation. CCM 2013; 4(2): 573-579
3. Kelly CR, Rabbani L. Pulmonary-artery catheterization. N Engl J Med 2013; 369: e35
4. De Backer D, Vincent JL. Should we measure the central venous pressure to guide fluid management. Ten answers to ten questions. Critical Care 2018; 22: 43
5. Persichini R, Lai C, Teboul JL, Adda I, Guerin L, Monnet X. Venous return and mean systemic filling pressure: physiology and clinical applications. Critical Care 2022; 26: 150
6. Smetkin A., Kuzkov V. Central venous pressure. In book M. Kirov, Kuzkov V, Saugel B. Advanced hemodynamic monitoring: basics and new horizons. Springer Nature Switzerland AG 2021

Korespondenca: Dr Ivana Tanović Nikolić

Klinika za anesteziologiju i intenzivnu terapiju, Vojnomedicinska akademija,
Crnotravska 17, 11000, Beograd, Srbija
Tel : +381656695208
e-mail : tanatane@yahoo.com



PERIOPERATIVNA TERAPIJA TEČNOSTIMA (PTT)

Tanja Abazović¹, Katarina Mladenović², Goran Rondović², Snježana Zeba²

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

2. Klinika za anesteziologiju i intenzivnu terapiju, Vojnomedicinska akademija, Beograd
Medicinski fakultet VMA, Univerzitet odbrane, Beograd

Sažetak

U perioperativnom periodu, intravenska terapija tečnostima je sastavni deo perioperativnog lečenja. Cilj perioperativne terapije tečnostima je da obezbedi adekvatan intravaskularni volumen za održavanje minutnog volumena srca i perfuziju tkiva, te da održi balans elektrolita i acidobaznu ravnotežu. PTT treba da bude zasnovana na individualnom pristupu lečenja pacijenta, uzimajući u obzir vrstu hirurške intervencije i stanje pacijenta. Faktori koji su važni za procenu statusa pacijenta uključuju intravaskularni volumen, akutne i hronične komorbiditete. Iako se terapija tečnostima u perioperativnom periodu smatra neophodnom za poboljšanje perioperativnog ishoda, sve je više dokaza da je neodgovarajuća primena tečnosti (nefiziološki sastav tečnosti, neodgovarajući volumen ili neadekvatna brzina), neefikasna, skupa i doprinosi komplikacijama. Primena naprednog hemodinamskog monitoringa, pomaže da individualizujemo terapiju tečnostima. U novije vreme se pokušava status tečnosti proceniti ispitivanjem mikro- cirkulacije i razmatra se značaj prepoznavanja mogućnosti koherencije između makro- i mikro- cirkulacije. Iako je perioperativna primena tečnosti doživela značajne promene i razvoj, i dalje postoji veliki disparitet u praksi među kliničarima. Većina kliničara terapiju tečnostima sprovodi na osnovu kliničke procene i po navici, bez razumevanja uticaja tečnosti na endotel krvnih sudova. Neadekvatna perioperativna primena tečnosti udružena je sa povišenim postoperativnim morbiditetom i mortalitetom.

Ključne reči: perioperativna terapija tečnostima, hemodinamski monitoring, strategije za optimalan intravaskularni volumen

Uvod

Perioperativna terapija tečnostima ima dva cilja: da obezbedi adekvatan intravaskularni volumen za održavanje minutnog volumena srca i perfuziju tkiva i da spreči poremećaje elektrolita i acidobazne ravnoteže (1). Uloga anesteziologa je da izabere odgovarajuću tečnost, da odredi optimalan volumen i brzinu kojom će se primeniti. Da bi ovo bilo moguće, neophodno je poznavanje fiziologije bilansa tečnosti i elektrolita, odgovarajući izbor tečnosti za nadoknadu, primena hemodinamskog

monitoringa, te primena perioperativnih strategija za optimalni status volumena.

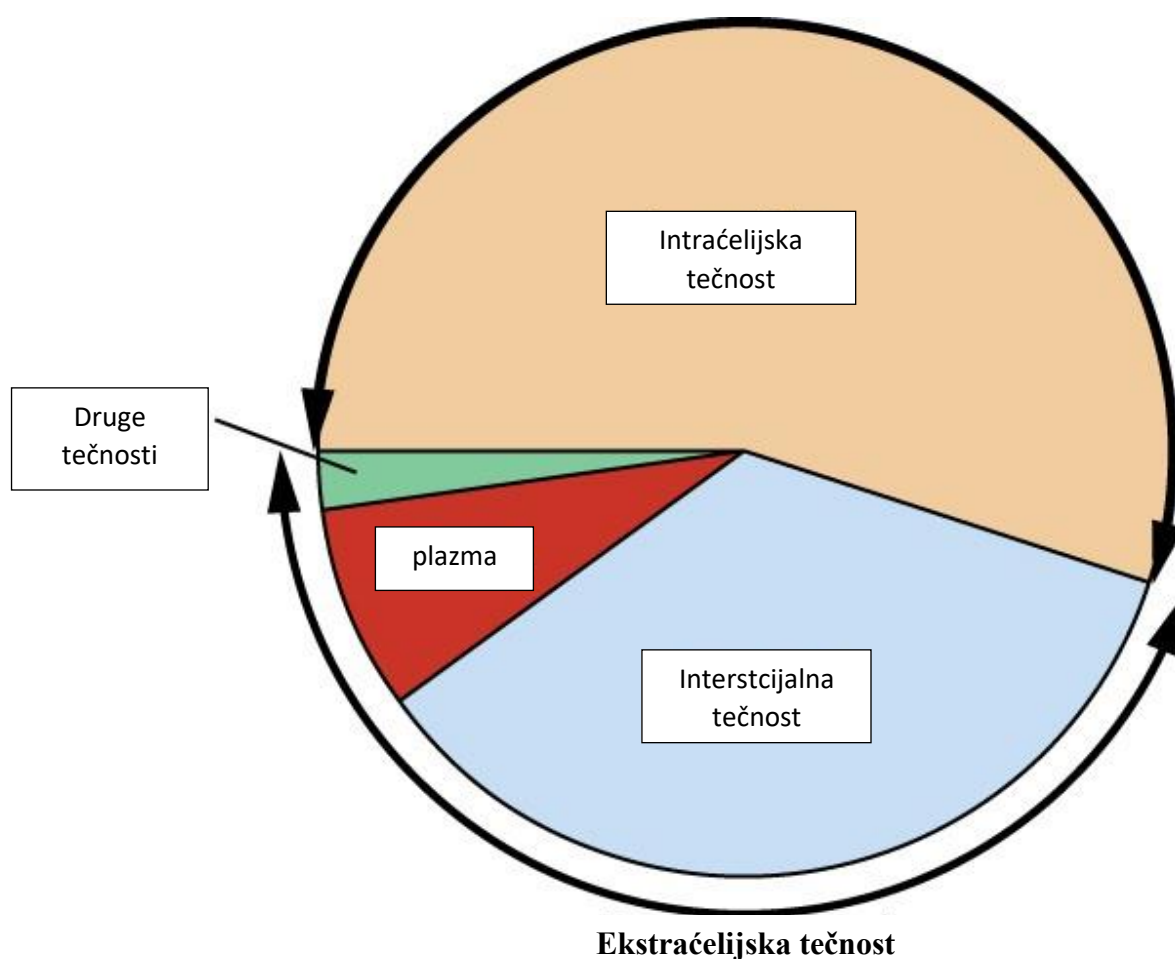
Telesna voda čini oko 60% telesne težine. Smeštena je u dva glavna odeljka (kompartmenta): intraćelijski (~ 55%) i ekstraćelijski (~ 45%) kompartment. Intravaskularno se nalazi samo 7,5% ukupne telesne vode (Slika 1).

Preko endotelne membrane, pomoću Starlingovih (Starling) sila i endotelne permeabilnosti odvija se transkapilarno pomeranje tečnosti. Hidrostatski pritisak (pritisak koji potiskuje tečnost iz krvnog suda u intersticijum) je najjači pokretač kretanja tečnosti. Kako tečnost

prolazi kroz kapilarni sloj, kapilarni hidrostatski pritisak opada (P_c) u odnosu na intersticijski hidrostatski pritisak (P_i), dok se onkotski kapilarni pritisak povećava u odnosu na intersticijski onkotski pritisak. Onkotski pritisak plazme potiče od proteina, prevashodno albumina i povlači tečnost iz intersticijuma u krv.

Endotelnu membranu prekriva glikokaliks.

Glikokaliks je tanak sloj sličan gelu i uključen je u regulaciju endotelne permeabilnosti (2). In travenska terapija tečnostima i drugi uzroci koji dovode do povećanja intravaskularnog hidrostatskog pritiska mogu degradirati sloj glikokaliksa posebno kod pacijenata sa sepsom ili drugih bolesti koje su povezane sa mikrovaskularnom disfunkcijom (3,4).



Slika 1. Distribucija ukupne telesne vode

U većini slučajeva, elektroliti se kreću slobodno kroz endotelnu membranu, te tako ne proizvode značajne osmotske sile u ravnoteži transkapilarne tečnosti. Glavna uloga elek-

trolita je u pomeranju tečnosti između intraćelijskog i ekstraćelijskog odeljka. Poznavanje normalnog sastava elektrolita u intravaskularnom, intraćelijskom i ekstravaskularnom odeljku je veoma važno za izbor

tečnosti za nadoknadu koje pomažu u održavanju relativne ravnoteže elektrolita i distribuciju vode između odeljaka (Tabela 1).

Tabela 1.

Normalan sastav tečnosti

ELEKTROLITI	PLAZMA	INTRACELULARNA TEČNOST	EKSTRACELULARNA TEČNOST
Na (mmol/L)	142	10	140
K (mmol/L)	4	150	4,5
Mg (mmol/L)	2	40	2
Ca (mmol/L)	5	1	5
Hlor (mmol/L)	103	103	117
Bikarbonati (mmol/L)	25	7	28

Izbor tečnosti za nadoknadu

Još uvek ne postoji konsenzus koja je infuziona tečnost idealna za primenu. Razumevanje sastava infuzionih tečnosti olakšava izbor (Tabela 2).

Tabela 2

	Fiziološki rastvor	Ringer laktat	Ringer acetat- glukonat (Plasma - Lyte)	Hydroxyethyl Starch 6% 130-0.4 (Voluven)	Gelatin (Gelofusine)	Albimin 5%	Albumin 20%
Na (mmol/L)	154	130	140	154	154	140-160	48-100
K (mmol/L)	0	4	5				
Ca (mmol/L)	0	3	0				
Mg (mmol/L)	0	0	3				
Hlor (mmol/L)	154	109	98	154	120	~130	
Bikarbonati (mmol/L)	0	0	0				
Laktati (mmol/L)	0	28	0				
Acetat (mmol/L)	0	0	27				
Glukonat (mmol/L)	0	0	23				
Osmolaritet (mmol/L)	308	275	294	308	274		
SID	0	27	50	0	34		

Dostupne infuzione tečnosti, koje se primenjuju za nadoknadu, mogu se svrstati u dve grupe: kristaloidi i koloidi.

Kristaloidni rastvori sadrže mešavinu elektrolita i vode. Mogu se podeliti prema sastavu (balansirani i nebalansirani) i toničnosti (hipotonični, izotonični i hipertonični).

Rastvori kod kojih je odnos elektrolita sličan onima u plazmi zovu se balansirani, za raz-

liku od nebalansiranih rastvora kao što je fiziološki rastvor (5). Toničnost rastvora će uticati na osmolarnu ravnotežu, a samim tim i na put kretanja vode.

Da bi se održala jednaka osmolarnost intracelijskog i ekstraćelijskog kompartmenta, hipotonične tečnosti će pomerati vodu ka intracelijskom kompartmentu, dok će hipertone

tečnosti pomerati vodu ka ekstraćelijskom kompartmentu

Fiziološki rastvor (0.9% NaCl)

Normalni slani rastvor, tzv. fiziološki rastvor (0.9% NaCl) je hipertoničan, ima veću koncentraciju natrijuma i hlora od fizioloških vrednosti. Prema Stjuartovom pristupu, acido-bazni status plazme se zasniva na tri parametra: razlika jakih jona (SID), parcijalnom pritisku ugljen dioksida u arterijskoj krvi (PaCO_2) i ukupnom anjonskom naelektrisanju svih slabih kiselina plazme (Atot). U ovom pristupu bikarbonati ne definišu acido-bazne poremećaje.

SID- predstavlja razliku između jakih katijona (Na^+ , K^+ , Ca^{++} , Mg^{++}) i jakih anijona (Cl^- , laktati, keto-kiselina, sulfata).

Dok je SID plazme oko 40, SID normalnog fiziološkog rastvora je 0. Infuzija rastvora sa SID-om nižim od plazme će dovesti do smanjenja SID-a u plazmi i metaboličke acidoze zbog relativnog povećanja koncentracije Cl^- na račun bikarbonata (HCO_3^-) (1).

Nadoknada volumena sa rastvorima sa niskim SID-om, kao što je fiziološki rastvor, neizbežno će dovesti do hiperhloremijske metaboličke acidoze. Dalje posledice acidoze indukovane fiziološkim rastvorom uključuju rizik od povećanja K^+ u plazmi zbog promena u ćeliji. Primena fiziološkog rastvora može povećati nivo K^+ u plazmi više ili slično od primene balansirano rastvora koji sadrži malu koncentraciju K^+ (6).

Upotreba fiziološkog rastvora je takođe povezana sa većom incidencom akutnog oštećenja bubrega kod kritično obolelih pacijenata, pojave koagulopatije, povećanog rizika za inflamaciju i veći postoperativni morbiditet (7).

Povećanje koncentracije hlora (Cl^-) u plazmi nakon infuzije fiziološkog rastvora može dovesti do akutnog oštećenja bubrega zbog vazokonstrikcije glomerularne aferentne arte-

riole što potencijalno smanjuje protok kroz bubreg.

Balansirani kristaloidni rastvori

Balansirani rastvori, kao što je Ringer laktat i Plasma-Lyte, sadrže različite količine elektrolita koji oponašaju koncentraciju u plazmi. Da bi se održala elektroneutralnost rastvora, većina rastvora sadrži anjonski pufer (laktat, acetat ili glukonat). Metabolizmom laktat i acetat se konvertuju u bikarbonate u plazmi. Zbog ovog alkalizirajućeg efekta Ringer laktat i Plasma-Lyte imaju očekivano veći SID (8).

Kod pacijenata kod kojih se infunduje veća količina Plasma-Lyte može doći do značajnog smanjenja jona ionizirajućeg kalcijuma (Ca^{++}) zbog helirajućeg efekta acetata ovog rastvora. Zato je potrebno pažljivo praćenje jonizovanog kalcijuma.

Drugi kristaloidni rastvori

Hipertoni fiziološki rastvor (3% NaCl) primenjuje se u hitnim stanjima kod pacijenata sa intrakranijalnom hipertenzijom. Intravaskularne promene koje se dešavaju kao rezultat visoke osmolarnosti su privremene. Primena ovog rastvora uključuje rizik za hipernatriemiju i tromboflebitis perifernih vena.

Petoprocenatna glukoza (5% glukoza) se često koristi kao parenteralna alternativa enteralnog uzimanja vode. Intravenski primenjena 5% glukoza se odmah metaboliše. Zbog rizika za nastanak hiperglikemije i hiponatriemije, upotreba ovog rastvora je pogodna samo za korekciju simptomatskih hipernatriemija (intraceljska dehidracija) kod pacijenata koji ne mogu da enteralno unose vodu.

Koloidi

Koloidni rastvori sadrže supstance velike molekulske težine.

Zbog povećanja onkotskog pritiska plazme, očekuje se da koloidni rastvori održavaju duže volumen od kristaloidnih rasvora. To praktično znači, da bi se održala ista količina intravaskularnog volumenada bila bi potrebna manja količina koloidnog rastvora u poređenju sa kristaloidnim rastvora. Međutim, kod kritično obolelih pacijenata kod kojih je povećana vaskularna permeabilnost, intravaskularni poluživot koloida može biti kraći od očekivanog (9).

Albumini

Albumini čine do 50% proteina u plazmi i čine 70% do 80% onkotskog pritiska (10). Iako se smatraju fiziološkim ekspanderom plazme (intravaskularni odeljak), najveća apsolutna količina se nalazi u odeljku intersticijalne tečnosti. Koncentracija intersticijalnog albumina u većini tkiva se kreće od 1.5 do 3 g/dL. Koncentracija albumina u plazmi iznosi 3.5 do 5 g/dL. Albumini koji se daju intravenski mogu da prolaze u intersticijalni odeljak, a njihov transfer je mnogo brži kada se degradira sloj glikokaliksa i poveća vaskularna permeabilnost. Potencijalna korist od primene albumina u hirurškoj populaciji, na osnovu dosadašnjih studija, je uglavnom nepoznata, a cena je mnogo veća nego kristaloida. Pošto se albumin prerađuje iz komponenata ljudske krvi, treba imati na umu da neki pacijenti koji su Jehovini svedoci možda neće prihvatiti da ga prime za nadoknadu cirkulatornog volumena.

Na našem tržištu, uobičajeno dostupni su 5% i 20% albumini za nadoknadu.

Sintetski koloidi

Sintetski koloidi su velike molekule sa bazom skroba, dekstrana ili želatina. Veličina ovih molekula omogućava im duže ostajanje u intravaskularnom prostoru od kristaloidnih

tečnosti. Razlikuju se u molekularnoj težini i molarnim supstitucijama da bi se promenila rastvorljivost (11). Npr. proizvodi hidroksietil skroba mogu se identifikovati po tri karakteristike: koncentraciji (%), molekularnoj težini i molarnoj supstituciji (6% HES 130/0.4). Primena sintetskih koloida, za nadoknadu, i dalje ostaje kontroverzna. Uočeno je da je upotreba HES-a kod kritično obolelih pacijenata bila povezana sa povećanim mortalitetom i povećanim oštećenjem bubrega u poređenju sa upotrebom kristaloida (12, 13). U istraživanju iz 2020. kod pacijenta koji su bili podvrgnuti velikim abdominalnim hirurškim intervencijama za koje se smatralo da imaju visok rizik za razvoj postoperativne akutne bubrežne insuficijencije (AKI) nije bilo razlike u mortalitetu kod pacijenata koji su primili HES u poređenju sa pacijentima koji su primili fiziološki rastvor. Međutim, pacijenti koji su primali HES imali su veći rizik od nastanka akutne bubrežne insuficijencije. Shodno rezultatima istraživanja, autori ne podržavaju upotrebu HES-a za nadoknadu u ovoj hirurškoj populaciji (14). Što se tiče bezbednosti i neželjenih efekata različitih sintetskih koloidnih rastvora uočena je povećana incidenca anafilaktičkih reakcija i pruritusa u poređenju sa davanjem albumina (15).

Kod kardiohirurških pacijenata koji su primali HES postojala je veća povezanost sa postoperativnom koagulopatijom i kliničkim krvarenjem. Takođe, razvoj koagulopatije kod zdravih dobrovoljaca, kritično obolelih i pacijenata nakon hirurške intervencije povezan je sa primenom HES-a (15-18). Ovaj efekat je verovatno uzrokovan smanjenjem faktora VIII i von Willebrandovog (von Willebrand) faktora u cirkulaciji i poremećenom funkcijom trombocita.

Hemodinamski monitoring reagovanja na tečnosti

Za poboljšanje udarnog i minutnog volumena srca kod pacijenata obično se primenjuje intravenski bolus tečnosti. Ako je povećanje udarnog ili minutnog volumena veće od 10% do 15% vrednosti pre bolusa, smatra se da pacijent reaguje na tečnost (da je responder). Mnogi faktori mogu uticati na reagovanje na tečnost: srčani ritam, položaj pacijenta, intratorakalni pritisak, respiratorni rad (19).

Uticaj ventilacije sa pozitivnim pritiskom na intratorakalni pritisak i preload (predopterećenje srca) može biti izuzetno značajan u proceni reagovanja na tečnost. Kada je pacijent na mehaničkoj ventilaciji sa pozitivnim pritiskom, venski povratak u srce će se prolazno smanjiti, uzrokujući smanjenje udarnog volumena nekoliko sekundi kasnije.

Uobičajeni surogati udarnog volumena uključuju varijaciju pulsnoг pritiska (PPV) i varijaciju sistolnog pritiska (SPV), koje se lako mere intraarterijskim kateterom (ovakav način procene udarnog volumena se više primenjuje u operacionoj sali nego u jedinici intenzivnog lečenja). SPV vrednost veća od 10 mmHg i vrednost PPV veća od 13% korišćene su za predviđanje reakcije na tečnost kod kritično obolelih pacijenata na mehaničkoj ventilaciji (20). SPV i PPV su najtačniji u predviđanju reakcije na tečnost kod pacijenata sa regularnim ritmom (regularan EKG), respiratornim volumenom od 8-10 ml/kg na MV, položajem na leđima i bez stanja koja menjaju intratorakalni pritisak (npr. laparoskopija) (21).

Kada vrednosti SPV i PPV ostanu u srednjem opsegu (npr. PPV od 9 do 13%), onda je pozitivan odgovor na tečnost manje jasan. Drugi uobičajeni uslovi koji utiču na tačnost odgovora SPV i PPV u predviđanju reagovanja na tečnost su: ventilacija malim

respiratornim volumenom (koji smanjuje SPV i PPV i može da da lažno negativne vrednosti), i insuficijencija desnog srca (može da da lažno pozitivne vrednosti).

Napredak u tehnologiji je omogućio procenu udarnog volumena korišćenjem neinvazivnog, sopstvenog pulsnoг oksimetra i uređaja za arterijske talase (Flo Trac, LidCO). Ovi uređaji mogu da procene udarni volumen i njegove promene nakon bolusa tečnosti kako bi procenili reakciju na tečnosti.

Test pasivnoг podizanja nogu može predvideti reakciju na tečnost kod kritično obolelih pacijenata. Hirurški uslovi mogu onemogućiti njegovu upotrebu (22).

Centralni venski pritisak

Merenje centralnog venskog pritiska (CVP) ne koristi se za procenu statusa volumena i predviđanje reagovanja na tečnost. CVP je statički surogat marker za preload (predopterećenje srca), ali na njega mogu uticati ukupna srčana funkcija, MV, položaj pacijenta i venska komplikacija. Iako je povišeni CVP verovatno znak srčane i venske kongestije i povezan je sa povećanim rizikom od oštećenja bubrega, ukupna prediktivna vrednost reakcije na tečnost sa CVP-om je loša (23).

Perioperativne strategije primene tečnosti za optimalni status intravaskularnog volumena

Ne postoji konsenzus o idealnom pristupu za perioperativnu primenu tečnosti kojim bi se optimizovao status intravaskularnog volumena i smanjio post-operativni morbiditet.

Još 1960. godine izveden je iz pedijatrijske literature jedan pristup procene deficita tečnosti. Za određivanje potrebe za tečnošću koja bi održavala cirkulatorni volumen korišćeno je pravilo “4-2-1”. Primenom ovog

pravila, ukupna količina tečnosti za održavanje se izračunava na osnovu težine pacijenata u kilogramima po sledećoj jednačini: 4 ml/kg/h za prvih 10 kg + 2 ml/kg/h za drugih 10 kg + 1 ml/kg/h za ostatak težine. Npr. pacijentu od 70 kg biće potrebno 110 ml/kg/h ($4 \times 10 + 2 \times 10 + 1 \times 50 = 40 + 20 + 50$).

Pored navedenog, kliničar bi izračunao deficit tečnosti iz pacijentovog statusa ništa na usta (NPO), čemu se dodaje intraoperativni gubitak krvi i drugi nevidljivi gubici. Koristeći ovu metodu bilo je pacijenta koji su intraoperativno dobili > 5L tečnosti (24).

Strategija primene tečnosti se zatim promenila ka cilju "neto-nula", nulti bilans, nakon što je jedno istraživanje, kod pacijenata koji su bili podvrgnuti elektivnoj kolorektalnoj hirurškoj proceduri, pokazalo povećanje postoperativnog morbiditeta kod pacijenata koji su randomizovani na standardni intraoperativni i postoperativni režim tečnosti, u poređenju sa restriktivnim režimom sa ciljem nepromenjene telesne težine (25).

ERAS (Društvo za poboljšani oporavak posle operacije) konsenzus iz 2016.god. dao je umerene preporuke za održavanje nultog bilansa tečnosti (26). Primenjeni ERAS protokoli su prijavili smanjenu dužinu boravka u bolnici i stopu ponovnog prijema, posebno za elektivnu kolorektalnu hirurgiju. Ono što nije bilo dobro je neujednačeni pristup intraoperativnoj primeni tečnosti u različitim ustanovama. Npr. neke ustanove su preporučile da ukupan unos tečnosti bude manji od 2 L, drugi su preporučili korišćenje bolusa tečnosti od 250 ml kao dodatak bazalnoj brzini infuzije ($< 10 \text{ ml/kg/h}$) da bi se postigla diureza $> 0,5 \text{ ml/kg/h}$, a neki su preporučivali boluse tečnosti na osnovu minutnog volumena srca (Kuper protokol) (27).

Zbog pojave veće učestalosti akutnog oštećenja bubrega (AKI) kod restriktivne intraoperativne strategije primene tečnosti, sprovedeno je veliko međunarodno istraž-

ivanje među pacijentima koji su bili podvrgnuti velikim abdominalnim hirurškim procedurama sa povećanim rizikom od komplikacija (RELIEF studija). U toj studiji pacijenti su nasumice raspoređeni na liberalni režim primene intravenske tečnosti (bolus od 10 ml/kg tečnosti na uvodu u anesteziju, a zatim infuzija od 8 ml/kg/h intraoperativno do 100 kg) ili restriktivni režim primene intravenske tečnosti (bolus od 5 ml/kg sa infuzijom od 5 ml/kg/h intraoperativno). Iako je stopa preživljavanja bez invaliditeta nakon godinu dana bila ista u obe grupe, AKI je bio češći u restriktivnoj grupi u komparaciji sa liberalnom grupom (28).

U svetlu novih dokaza primene tečnosti u perioperativnom periodu, Inicijativa za perioperativni kvalitet (*Perioperative Quality Initiative POQI*) je sazvala međunarodni multiprofesionalni stručni sastanak kako bi se konsenzusom donele preporuke zasnovane na dokazima za primenu tečnosti kod pacijenata koji su podvrgnuti hirurškoj intervenciji od preoperativnog perioda do otpusta iz bolnice za sve vrste elektivnih i hitnih hirurških procedura (29). Date su preporuke za primenu tečnosti kod velikih elektivnih nekardiohirurških procedura, kardiopulmonalnog bajpasa, procedura u torakalnoj hirurgiji, neurohirurgiji, manjih nekardiohirurških intervencija i kod kritično obolelih. Sumirane preporuke sa Svetskog kongresa Perioperativne medicine zasnovane na dokazima (EBPOM) iz 2023. prikazane su u daljem tekstu.

Preporuke

Velike elektivne nekardiohirurške procedure

(I) Preporučuje se da vreme preoperativnog gladovanja bude kratko (2 sata za bistru tečnost), da bi se smanjila žeđ i sprečila preoperativna dehidracija (jaka preporuka, dokazi umerenog nivoa).

Preoperativno gladovanje i priprema creva pre hirurške intervencije mogu uzrokovati intravaskularnu hipovolemiju i izazvati žeđ i nelagodnost. Na osnovu meta-analiza 38 randomizovanih kontrolisanih istraživanja (RCT) i nedavne nacionalne kohortne studije na 22766 anestezioloških procedura, zaključeno je da skraćivanje preoperativnog gladovanja nije povezano sa povećanim rizikom od aspiracije (30,31). Takođe, nekoliko drugih studija i meta-analiza je pokazalo da izostanak mehaničke pripreme creva pre kolorektalne hirurgije nije bio povezan sa povećanom stopom infekcije rane ili curenjem anastomoze (32). Trenutne Američke i Evropske smernice podržavaju da pacijenti koji su zakazani za elektivnu hiruršku intervenciju piju bistru tečnost (uključujući vodu, sok bez pulpe, čaj ili kafu bez mleka) do 2 sata pre hirurške intervencije (33,34).

(II) Preporučuje se intraoperativna primena adekvatnog volumena tečnosti, sa ciljem da se postigne pozitivan bilans od 1-2 L (jaka preporuka, visok nivo dokaza).

(III) Ne preporučuje se rutinska intraoperativna primena albumina ili sintetskih koloida za terapiju tečnostima (jaka preporuka, nizak nivo dokaza za albumine i visok nivo dokaza za sintetske koloide).

(IV) Preporučuje se upotreba puferovanih kristaloidnih rastvora u odsustvu hipohloremije (slaba preporuka, umeren nivo dokaza).

(V) Kod transplatacije bubrega preporučuje se upotreba puferovanih kristaloidnih rastvora u odnosu na primenu 0,9% fiziološkog rastvora (snažna preporuka, visok nivo dokaza).

Primaoci transplantiranog bubrega su u riziku od odložene funkcije grafta (*delayed graft function* – DGF). Odložena funkcija grafta je stanje koje se definiše kao potreba za dijalizom u prvoj nedelji nakon transplatacije (35). Odložena funkcija grafta je povezana sa lošijim ishodom, uključujući povećan rizik od akutnog odbacivanja, otkazivanja grafta i

smrtnog ishoda (36). Različite studije su pokazale različite rezultate u odnosu na prednost puferovanih kristaloida naspram 0,9% fiziološkog rastvora kod ove populacije pacijenata. Međutim, naknadna multicentrična studija koja je ispitivala povezanost između puferovanih kristaloida i 0,9% fiziološkog rastvora i incidence DGF kod 808 pacijenata pokazala je da je među primaocima bubrega od preminulog donora bubrega, puferovani kristaloidni rastvori su smanjili incidencu DGF u poređenju sa 0,9% fiziološkim rastvorom (37).

Kardiopulmonalni bajpas

(I) Ne preporučuje se rutinska upotreba albumina ili sintetskih koloida za punjenje pefuzione mašine – kola za kardiopulmonalni bajpas -CPB (jaka preporuka, umeren nivo dokaza).

(II) Ne preporučuje se upotreba prekomerne (>30 ml/kg) ultrafiltracije tokom kardiopulmonalnog bajpasa (slaba preporuka, umereni nivo dokaza).

Torakalna hirurgija

(I) Preporučuje se da u prva 24 časa nakon hirurške intervencije resekcije pluća nema pozitivnog bilansa tečnosti (slaba preporuka, veoma niski nivo dokaza).

Liberalna primena intravenskih tečnosti tokom operacije resekcije pluća može povećati ekstravaskularnu vodu u plućima i doprineti stvaranju plućnog edema što povećava rizik od postoperativnog akutnog oštećenja pluća i drugih plućnih komplikacija (npr. Pneumonija, atelektaza). Ovi događaji mogu dovesti do produžene primene mehaničke ventilacije, akutnog respiratornog distres sindroma (ARDS), dužeg boravaka u jedinici intenzivnog lečenja i bolnici, te povećanja stope mortaliteta čak 50% (38). Na osnovu pregleda 14 publikacija koje se smatraju

najboljim dokazom, veći volumen intravenske tečnosti bio je povezan sa značajno povećanim rizikom za postoperativno oštećenje pluća. Iz ovoga proizlazi preporuka autora o brzini intraoperativne primene tečnosti od 1-2 ml/kg/h i izbegavanje pozitivnog intraoperativnog bilansa tečnosti >1,5 L (39). Takođe je uočeno da intraoperativna primena većih količina tečnosti i transfuzija krvi predstavljaju faktor rizika za postoperativno akutno oštećenje pluća (40). Ovi pacijenti su imali duži boravak u jedinici intenzivnog lečenja, duže trajanje mehaničke ventilacije i veći postoperativni mortalitet. Analiza studija kod pacijenata koji su bili podvrgnuti hirurškoj intervenciji resekcije pluća ili ezofagotomiji, pokazala je incidencu postoperativnog AKI od 5,1% (41). Nije bilo veze između restriktivne primene tečnosti i rizika za AKI, ali intraoperativna primena sintetskih koloida je bila povezana sa postoperativnim AKI. Slični rezultati su nađeni u kohortnoj studiji od 1129 pacijenata koji su bili podvrgnuti operaciji resekcije pluća (42). Incidencija postoperativnog AKI-a je bila 5,9%, a intraoperativna primena HES-a bila je povezana sa rizikom od AKI. Druge studije su potvrdile da restriktivni protokol primene tečnosti tokom hirurške intervencije resekcije pluća rezultiraju perioperativnom oligurijom, ali nisu povezani sa povećanim rizikom od postoperativnog AKI (43). U studiji sprovedenoj na 40 pacijenata koji su bili podvrgnuti hirurškoj resekciji pluća, gde je cilj bila normovolemija u kombinaciji sa zaštitnom strategijom ventilacije pluća, nisu uočene promene u ekstravaskularnom sadržaju vode u plućima u poređenju sa preoperativnim stanjem (44). Primenom ERAS protokola kod pacijenata podvrgnutih torakalnoj hirurškoj intervenciji, dat je naglasak na normovolemiju i rano obnavljanje enteralnog unosa nakon operacije (45). Na osnovu ovih podataka preporuka je da se izbegne pozitivan bilans tečnosti u prva

24 časa nakon hirurške intervencije resekcije pluća.

Neurohirurgija

(I) Ne preporučuje se upotreba albumina kod neurohirurških pacijenata (jaka preporuka, umereni nivo dokaza).

(II) Ne preporučuje se upotreba hipotoničnih rastvora kod neurohirurških pacijenata (jaka preporuka, umereni nivo dokaza)

(III) Preporučuje se upotreba 0.9% fiziološkog rastvora kao prva linija terapije tečnostima kod pacijenata sa traumatskom povredom mozga (slaba preporuka, umereni nivo dokaza).

(IV) Ne preporučuje se upotreba albumina kod pacijenata sa traumatskom povredom mozga (jaka preporuka, umereni nivo dokaza).

O perioperativnoj primeni tečnosti u neurohirurgiji postoji mali broj podataka i nedostatak randomizovanih kontrolisanih studija (RCT), tako da se većina dostupnih podataka zasniva na mišljenju stručnjaka ili na uputstvima profesionalnih društava. Primarni cilj terapije tečnostima tokom neurohirurgije je održavanje normalnog volumena krvi, optimizacija cerebralnog krvotoka i izbegavanje smanjenja osmolarnosti plazme. I kod pacijenata koji se podvrgavaju hitnoj hirurškoj intervenciji i kod onih koji se podvrgavaju elektivnoj hirurškoj intervenciji često je prisutna hipovolemija zbog smanjenog preoperativnog unosa tečnosti ili preoperativne upotrebe osmotskih diuretika. Osmolarnost primenjenih intravenskih tečnosti ima direktan uticaj na kretanje vode između plazme i moždanog tkiva, sadržaj cerebralne vode i rizik od edema (46). Stoga se hipotonični rastvori kao što su Hartmanov rastvor (Ringer laktat) obično izbegavaju, a prednost se daje 0.9% fiziološkom rastvoru. Puferisani izotonični rastvori (npr. Plasmalite) se smatraju boljima jer nisu povezani sa

hiperhloremičnom metaboličkom acidozom ili neželjenim efektima na bubrege.

Nije dokazano da primena visokih doza albumina kod akutnog ishemijskog moždanog udara ima neuroprotektivni efekat, zasnovan na mogućem smanjenju veličine infarkta i ublažavanju cerebralnog edema. Međutim, ispitivanja su pokazala šestostruko veću stopu edema pluća kod pacijenata lečenih albuminima (47).

Zbog većeg mortaliteta, ne preporučuje se primena albumina za lečenje pacijenata sa traumatskom povredom mozga (48).

Kod pacijenata sa SAH-om, hipervolemija koja bi se mogla primeniti radi poboljšanja cerebralne perfuzije, ne samo da povećava rizik od cerebralnog edema, već pogoršava ishod lečenja, povećava rizik od disfunkcije ekstracerebralnih organa, pre svega pluća (49). Slični rezultati istraživanja, koji se odnose na davanje tečnosti i pozitivan bilans tečnosti, su prikazani kod pacijenata sa akutnim oštećenjem mozga. Prospektivna studija efikasnosti dve opservacione kohortne studije (CENTER-TBI u Evropi i OzENTER-TBI u Australiji) pokazala je veći mortalitet i lošiju funkcionalnost kod pacijenata sa višim srednjim dnevnim bilansom tečnosti i unosom tečnosti (50).

Manja nekardijalna hirurška intervencija u opštoj anesteziji

(I) Preporučuje se blago pozitivan bilans tečnosti kod manjih nekardijalnih hirurških intervencija da bi se smanjila učestalost postoperativne mučnine i povraćanja (slaba preporuka, nizak nivo dokaza).

Kod pacijenata koji su podvrgnuti hirurškim intervencijama u opštoj anesteziji incidenca postoperativne mučnine i povraćanja (PONV) je 30 %. Međutim, kod pacijenata sa faktorima rizika ili koji su podvrgnuti određenim procedurama kao što je laparoskopska

hirurška procedura, zatim holecistektomija, ginekološka i barijatrijska hirurgija incidenca PONV ide i do 80%. Sve ovo može uticati na rizik od postoperativnih komplikacija (dehidracija, dehiscencija rane, poremećaj elektrolita, aspiracija) (51).

Postoji mnogo intraoperativnih faktora rizika za PONV koji se mogu modifikovati (primena azot-oksida, opiodi, hipovolemija, neostigmin). Iako preventivna procena rizika i njihov tretman predstavljaju kamen temeljac za ublažavanje PONV, efikasnost antiemetika je varijabilna, te je neophodan multimodalni pristup (52).

Kritično oboleli

(I) Preporučuje se upotreba puferovanih kristaloidnih rastvora u odsustvu hipohloremije (jaka preporuka, visok nivo dokaza).

(II) Ne preporučuje se upotreba sintetskih koloida (jaka preporuka, visok nivo dokaza).

(III) Ne preporučuje se rutinska upotreba albumina (jaka preporuka, visok nivo dokaza).

(IV) Preporučuje se primena strategije za tečnosti koje minimiziraju rizik od akumulacije tečnosti i sugerise se održavanje intravaskularne normovolemije (slaba preporuka, umereni nivo dokaza).

(V) Ne preporučuje se hipervolemija kod pacijenata sa subarahnoidalnim krvarenjem (slaba preporuka, umereni nivo dokaza).

Postoje dva velika istraživanja koja ukazuju da je primena sintetskih koloida u jedinici intenzivnog lečenja opasna, i stoga se ne preporučuje njihova upotreba (12,13). Što se tiče primene albumina, mogu se primeniti u određenim okolnostima ako kliničari smatraju da bi mogli biti korisni, ali se ne preporučuje njihova rutinska primena (53).

Zaključak

Primena određene strategije za perioperativnu nadoknadu tečnosti i optimalna primena tečnosti zavisi od individualnog hemodinamskog statusa pacijenta. Primena ERAS protokola daje jaku preporuku za korišćenje naprednog hemodinamskog monitoringa (arterijska linija i monitoring udarnog volumena srca) kod visoko-rizičnih pacijenata koji su podvrgnuti velikoj hirurškoj intervenciji sa velikim gubitkom intravaskularne tečnosti. Preporuka je da se koristi ciljana terapija tečnostima (*goal-directed fluid therapy* - GDFT), optimizacija udarnog i minutnog volumena srca. Uočeno je da primena tečnosti rukovođena GDFT-om smanjuje postoperativni morbiditet i boravak u JIL-u.

Mnoge studije GDFT-a uključuju ranu primenu inotropa kod perzistentno niskog udarnog volumena uprkos odgovarajućoj primeni tečnosti.

Opšte preporuke za perioperativnu primenu tečnosti su: koristiti balansirane kristaloidne rastvore umesto fiziološkog rastvora, izbegavati rastvore hidroksetil skroba zbog potencijalne nefrotoksičnosti, razmisliti o primeni albumina (potencijalna korist nejasna, a cena je znatno veća nego kristaloida), izbegavati preopterećenje tečnostima, ali imati na umu da je restriktivna upotreba tečnosti povezana sa povećanim rizikom od AKI, razmisliti o primeni naprednog hemodinamskog monitoringa kao bi se procenilo reagovanje na tečnost i usmerilo davanje tečnosti kod pacijenata sa visokim rizikom koji se podvrgavaju velikoj hirurškoj intervenciji.

Literatura

1. Chiu C, Legrand M. Fluid management. Miller's Basics of Anesthesia. Elsevier; 2023. 8th ed.
2. Weinbaum S, Tarbell JM, Damiano ER. The structure and function of the endothelial glycocalyx layer. Annu Rev Biomed Eng. 2007;9:121-67. doi: 10.1146/annurev.bioeng.9.060906.151959. PMID: 17373886.
3. Uchimido R, Schmidt EP, Shapiro NI. The glycocalyx: a novel diagnostic and therapeutic target in sepsis. Crit Care. 2019 Jan 17;23(1):16. doi: 10.1186/s13054-018-2292-6. PMID: 30654825; PMCID: PMC6337861.
4. Hippensteel JA, Uchimido R, Tyler PD, Burke RC, Han X, Zhang F, McMurtry SA, Colbert JF, Lindsell CJ, Angus DC, Kellum JA, Yealy DM, Linhardt RJ, Shapiro NI, Schmidt EP. Intravenous fluid resuscitation is associated with septic endothelial glycocalyx degradation. Crit Care. 2019 Jul 23;23(1):259. doi: 10.1186/s13054-019-2534-2. PMID: 31337421; PMCID: PMC6652002.
5. Heming N, Moine P, Coscas R, Annane D. Perioperative fluid management for major elective surgery. Br J Surg. 2020 Jan;107(2):e56-e62. doi: 10.1002/bjs.11457. PMID: 31903587.
6. Young JB, Utter GH, Schermer CR, Galante JM, Phan HH, Yang Y, Anderson BA, Scherer LA. Saline versus Plasma-Lyte A in initial resuscitation of trauma patients: a randomized trial. Ann Surg. 2014 Feb;259(2):255-62. doi: 10.1097/SLA.0b013e318295feba. PMID: 23732264.
7. Soussi S, Ferry A, Chaussard M, Legrand M. Chloride toxicity in critically ill patients: What's the evidence? Anaesth Crit Care Pain Med. 2017 Apr;36(2):125-130. doi: 10.1016/j.accpm.2016.03.008. Epub 2016 Jul 28. PMID: 27476827.
8. Chaussard M, Dépret F, Saint-Aubin O, Benyamina M, Coutrot M, Jully M, Oueslati H, Fratani A, Cupaciu A, Poniard A, Asehnoune K, Dimby SF, Mebazaa A, Houze P, Legrand M. Physiological response to fluid resuscitation with Ringer

- lactate versus Plasmalyte in critically ill burn patients. *J Appl Physiol* (1985). 2020 Mar 1;128(3):709-714. doi: 10.1152/japplphysiol.00859.2019. Epub 2020 Feb 6. PMID: 32027547.
9. Bark BP, Persson J, Grände PO. Importance of the infusion rate for the plasma expanding effect of 5% albumin, 6% HES 130/0.4, 4% gelatin, and 0.9% NaCl in the septic rat. *Crit Care Med*. 2013 Mar;41(3):857-66. doi: 10.1097/CCM.0b013e318274157e. PMID: 23318490.
 10. Caraceni P, Tufoni M, Bonavita ME. Clinical use of albumin. *Blood Transfus*. 2013 Sep;11 Suppl 4(Suppl 4):s18-25. doi: 10.2450/2013.005s. PMID: 24333308; PMCID: PMC3853979.
 11. Westphal M, James MF, Kozek-Langenecker S, Stocker R, Guidet B, Van Aken H. Hydroxyethyl starches: different products--different effects. *Anesthesiology*. 2009 Jul;111(1):187-202. doi: 10.1097/ALN.0b013e3181a7ec82. PMID: 19512862.
 12. Myburgh JA, Finfer S, Bellomo R, et al. Hydroxyethyl starch or saline for fluid resuscitation in intensive care. *N Engl J Med*. 2012;367(20):1901-11. doi: 10.1056/NEJMoa1209759.
 13. Perner A, Haase N, Guttormsen AB, et al. Hydroxyethyl starch 130/0.42 versus Ringer's acetate in severe sepsis. *N Engl J Med*. 2012;367(2):124-34. doi: 10.1056/NEJMoa1204242.
 14. Futier E, Garot M, Godet T, et al. Effect of hydroxyethyl starch vs saline for volume replacement therapy on death or postoperative complications among high-risk patients undergoing major abdominal surgery: The FLASH Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2020;323(3):225-236. doi: 10.1001/jama.2019.20833.
 15. Barron ME, Wilkes MM, Navickis RJ. A systematic review of the comparative safety of colloids. *Arch Surg*. 2004 May;139(5):552-63. doi: 10.1001/archsurg.139.5.552. PMID: 15136357.
 16. Kapiotis S, Quehenberger P, Eichler HG, Schwarzinger I, Pärtan C, Schneider B, Lechner K, Speiser W. Effect of hydroxyethyl starch on the activity of blood coagulation and fibrinolysis in healthy volunteers: comparison with albumin. *Crit Care Med*. 1994 Apr;22(4):606-12. doi: 10.1097/00003246-199404000-00016. PMID: 7511495.
 17. Falk JL, Rackow EC, Astiz ME, Weil MH. Effects of hetastarch and albumin on coagulation in patients with septic shock. *J Clin Pharmacol*. 1988 May;28(5):412-5. doi: 10.1002/j.1552-4604.1988.tb05751.x. PMID: 2455740.
 18. Trumble ER, Muizelaar JP, Myseros JS, Choi SC, Warren BB. Coagulopathy with the use of hetastarch in the treatment of vasospasm. *J Neurosurg*. 1995 Jan;82(1):44-7. doi: 10.3171/jns.1995.82.1.0044. PMID: 7529301.
 19. Wheeler AP, Bernard GR, Thompson BT, et al. Pulmonary-artery versus central venous catheter to guide treatment of acute lung injury. *N Engl J Med*. 2006;354(21):2213-2224. doi:1056/NEJMoa061895.
 20. Marik PE, Cavallazzi R, Vasu T, Hirani A. Dynamic changes in arterial waveform derived variables and fluid responsiveness in mechanically ventilated patients: a systematic review of the literature. *Crit Care Med*. 2009 Sep;37(9):2642-7. doi: 10.1097/CCM.0b013e3181a590da. PMID: 19602972.
 21. Mathis MR, Schechtman SA, Engoren MC, Shanks AM, Thompson A, Kheterpal S, Tremper KK. Arterial Pressure Variation in Elective Noncardiac Surgery: Identifying Reference Distributions and Modi-

- lying Factors. *Anesthesiology*. 2017 Feb;126(2):249-259. doi: 10.1097/ALN.0000000000001460. PMID: 27906705; PMCID: PMC5243154.
22. Bentzer P, Griesdale DE, Boyd J, MacLean K, Sirounis D, Ayas NT. Will This Hemodynamically Unstable Patient Respond to a Bolus of Intravenous Fluids? *JAMA*. 2016 Sep 27;316(12):1298-309. doi: 10.1001/jama.2016.12310. PMID: 27673307.
 23. Eskesen TG, Wetterslev M, Perner A. Systematic review including re-analyses of 1148 individual data sets of central venous pressure as a predictor of fluid responsiveness. *Intensive Care Med*. 2016 Mar;42(3):324-332. doi: 10.1007/s00134-015-4168-4. Epub 2015 Dec 9. PMID: 26650057.
 24. Holte K, Kehlet H. Fluid therapy and surgical outcomes in elective surgery: a need for reassessment in fast-track surgery. *J Am Coll Surg*. 2006 Jun;202(6):971-89. doi: 10.1016/j.jamcollsurg.2006.01.003. PMID: 16735213.
 25. Brandstrup B, Tønnesen H, Beier-Holgersen R, et al. Effects of intravenous fluid restriction on postoperative complications: comparison of two perioperative fluid regimens: a randomized assessor-blinded multicenter trial. *Ann Surg*. 2003;238(5):641-8. doi: 10.1097/01.sla.0000094387.50865.23. PMID: 14578723.
 26. Feldheiser A, Aziz O, Baldini G, et al. Enhanced Recovery After Surgery (ERAS) for gastrointestinal surgery, part 2: consensus statement for anaesthesia practice. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2016;60(3):289-334. doi: 10.1111/aas.12651.
 27. Kuper M, Gold SJ, Callow C, Quraishi T, King S, Mulreany A, Bianchi M, Conway DH. Intraoperative fluid management guided by oesophageal Doppler monitoring. *BMJ*. 2011 May 24;342:d3016. doi: 10.1136/bmj.d3016.
 28. Myles PS, Bellomo R. Restrictive or Liberal Fluid Therapy for Major Abdominal Surgery. *N Engl J Med*. 2018 Sep 27;379(13):1283. doi: 10.1056/NEJMc1810465.
 29. Ostermann M, Auzinger G, Grocott M, et al. Perioperative fluid management: evidence-based consensus recommendations from the international multidisciplinary PeriOperative Quality Initiative. *Br J Anaesth* 2024;133 (6): 1263e1275. doi: 10.1016/j.bja.2024.07.038
 30. Brady M, Kinn S, Stuart P. Preoperative fasting for adults to prevent perioperative complications. *Cochrane Database Syst Rev*. 2003;(4):CD004423. doi: 10.1002/14651858.CD004423. PMID: 14584013.
 31. Schmitz A, Kuhn F, Hofmann J, Habre W, Erb T, Preuss M, Wendel-Garcia PD, Weiss M, Schmidt AR. Incidence of adverse respiratory events after adjustment of clear fluid fasting recommendations to 1 h: a prospective, observational, multi-institutional cohort study. *Br J Anaesth*. 2024 Jan;132(1):66-75. doi: 10.1016/j.bja.2023.10.009. Epub 2023 Nov 11. PMID: 37953199.
 32. Güenaga KF, Matos D, Wille-Jørgensen P. Mechanical bowel preparation for elective colorectal surgery. *Cochrane Database Syst Rev*. 2011 Sep 7;2011(9):CD001544. doi: 10.1002/14651858.CD001544.pub4. PMID: 21901677; PMCID: PMC7066937.
 33. Practice Guidelines for Preoperative Fasting and the Use of Pharmacologic Agents to Reduce the Risk of Pulmonary Aspiration: Application to Healthy Patients Undergoing Elective Procedures: An Updated Report by the American Society of Anesthesiologists Task Force on Preoperative Fasting and the Use of Pharmacologic Agents to Reduce the Risk of Pulmonary

- Aspiration. *Anesthesiology*. 2017 Mar;126(3):376-393. doi: 10.1097/ALN.0000000000001452. PMID: 28045707.
34. Smith I, Kranke P, Murat I, Smith A, O'Sullivan G, Søreide E, Spies C, in't Veld B; European Society of Anaesthesiology. Perioperative fasting in adults and children: guidelines from the European Society of Anaesthesiology. *Eur J Anaesthesiol*. 2011 Aug;28(8):556-69. doi: 10.1097/EJA.0b013e3283495ba1. PMID: 21712716.
 35. Mallon DH, Summers DM, Bradley JA, Pettigrew GJ. Defining delayed graft function after renal transplantation: simplest is best. *Transplantation*. 2013 Nov 27;96(10):885-9. doi: 10.1097/TP.0b013e3182a19348. PMID: 24056620.
 36. Wu WK, Famure O, Li Y, Kim SJ. Delayed graft function and the risk of acute rejection in the modern era of kidney transplantation. *Kidney Int*. 2015 Oct;88(4):851-8. doi: 10.1038/ki.2015.190. Epub 2015 Jun 24. PMID: 26108067.
 37. Collins MG, Fahim MA, Pascoe EM, et al. Balanced crystalloid solution versus saline in deceased donor kidney transplantation (BEST-Fluids): a pragmatic, double-blind, randomised, controlled trial. *Lancet*. 2023 Jul 8;402(10396):105-117. doi: 10.1016/S0140-6736(23)00642-6. Epub 2023 Jun 18. Erratum in: *Lancet*. 2023 Jul 1;402(10395):26. doi: 10.1016/S0140-6736(23)01315-6. PMID: 37343576.
 38. Arslantas MK, Kara HV, Tuncer BB, Yildizeli B, Yuksel M, Bostanci K, Bekiroglu N, Kararmaz A, Cinel I, Batirel HF. Effect of the amount of intraoperative fluid administration on postoperative pulmonary complications following anatomic lung resections. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2015 Jan;149(1):314-20, 321.e1. doi: 10.1016/j.jtcvs.2014.08.071. Epub 2014 Sep 18. PMID: 25304302.
 39. Evans RG, Naidu B. Does a conservative fluid management strategy in the perioperative management of lung resection patients reduce the risk of acute lung injury? *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2012 Sep;15(3):498-504. doi: 10.1093/icvts/ivs175. Epub 2012 May 22. PMID: 22617510; PMCID: PMC3422923.
 40. Kim HJ, Cha SI, Kim CH, Lee J, Cho JY, Lee Y, Kim GJ, Lee DH. Risk factors of postoperative acute lung injury following lobectomy for nonsmall cell lung cancer. *Medicine (Baltimore)*. 2019 Mar;98(13):e15078. doi: 10.1097/MD.00000000000015078. PMID: 30921242; PMCID: PMC6456112.
 41. Ahn HJ, Kim JA, Lee AR, et al. The risk of acute kidney injury from fluid restriction and hydroxyethyl starch in thoracic surgery. *Anesth Analg* 2016;122: 186-93.
 42. Ishikawa S, Griesdale DE, Lohser J. Acute kidney injury after lung resection surgery: incidence and perioperative risk factors. *Anesth Analg*. 2012 Jun;114(6):1256-62. doi: 10.1213/ANE.0b013e31824e2d20. Epub 2012 Mar 26. PMID: 22451594.
 43. Egal M, de Geus HR, van Bommel J, Groeneveld AB. Targeting oliguria reversal in perioperative restrictive fluid management does not influence the occurrence of renal dysfunction: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Anaesthesiol*. 2016 Jun;33(6):425-35. doi: 10.1097/EJA.0000000000000416. PMID: 26840829.
 44. Assaad S, Kyriakides T, Tellides G, Kim AW, Perkal M, Perrino A. Extravascular Lung Water and Tissue Perfusion Biomarkers After Lung Resection Surgery Under a Normovolemic Fluid Protocol. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2015 Aug;29(4):977-83. doi:

- 10.1053/j.jvca.2014.12.020. Epub 2014 Dec 18. PMID: 25922205.
45. Batchelor TJP, Rasburn NJ, Abdelnour-Berchtold E, Brunelli A, Cerfolio RJ, Gonzalez M, Ljungqvist O, Petersen RH, Popescu WM, Slinger PD, Naidu B. Guidelines for enhanced recovery after lung surgery: recommendations of the Enhanced Recovery After Surgery (ERAS®) Society and the European Society of Thoracic Surgeons (ESTS). *Eur J Cardiothorac Surg*. 2019 Jan 1;55(1):91-115. doi: 10.1093/ejcts/ezy301. PMID: 30304509.
 46. Albaharna H, Alqurashi A, Alshareef M, Alromaih S, Alrasheed AS, Alroqi A, Ajlan A, Alsaleh S. Impact of Concurrent Chronic Rhinosinusitis on Complication Rates after Endonasal Endoscopic Skull Base Surgery: A Single-Center Experience. *J Neurol Surg B Skull Base*. 2022 Aug 25;84(5):507-512. doi: 10.1055/s-0042-1755602. PMID: 37671295; PMCID: PMC10477013.
 47. Martin RH, Yeatts SD, Hill MD, Moy CS, Ginsberg MD, Palesch YY; ALIAS Parts 1 and 2 and NETT Investigators. ALIAS (Albumin in Acute Ischemic Stroke) Trials: Analysis of the Combined Data From Parts 1 and 2. *Stroke*. 2016 Sep;47(9):2355-9. doi: 10.1161/STROKEAHA.116.012825. Epub 2016 Jul 26. PMID: 27462118; PMCID: PMC4995121.
 48. Cooper DJ, Myburgh J, Heritier S, Finfer S, Bellomo R, Billot L, Murray L, Vallance S; SAFE-TBI Investigators; Australian and New Zealand Intensive Care Society Clinical Trials Group. Albumin resuscitation for traumatic brain injury: is intracranial hypertension the cause of increased mortality? *J Neurotrauma*. 2013 Apr 1;30(7):512-8. doi: 10.1089/neu.2012.2573. Epub 2013 Mar 21. PMID: 23194432; PMCID: PMC3636581.
 49. Treggiari MM, Rabinstein AA, Busl KM, Caylor MM, Citerio G, Deem S, Diringier M, Fox E, Livesay S, Sheth KN, Suarez JJ, Tjoumakaris S. Guidelines for the Neurocritical Care Management of Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *Neurocrit Care*. 2023 Aug;39(1):1-28. doi: 10.1007/s12028-023-01713-5. Epub 2023 May 18. PMID: 37202712.
 50. Wiegers EJA, Lingsma HF, Huijben JA, Cooper DJ, Citerio G, Frisvold S, Helbok R, Maas AIR, Menon DK, Moore EM, Stocchetti N, Dippel DW, Steyerberg EW, van der Jagt M; CENTER-TBI; OzENTER-TBI Collaboration Groups. Fluid balance and outcome in critically ill patients with traumatic brain injury (CENTER-TBI and OzENTER-TBI): a prospective, multicentre, comparative effectiveness study. *Lancet Neurol*. 2021 Aug;20(8):627-638. doi: 10.1016/S1474-4422(21)00162-9. PMID: 34302787.
 51. Nowak H, Wolf A, Rahmel T, Oprea G, Grause L, Moeller M, Gyarmati K, Mittler C, Zagler A, Lutz K, Loeser J, Saller T, Tryba M, Adamzik M, Hansen E, Zech N. Therapeutic Suggestions During General Anesthesia Reduce Postoperative Nausea and Vomiting in High-Risk Patients - A *Post hoc* Analysis of a Randomized Controlled Trial. *Front Psychol*. 2022 Jul 15;13:898326. doi: 10.3389/fpsyg.2022.898326. PMID: 35910976; PMCID: PMC9337244.
 52. Kranke P. General multimodal or scheduled risk-adopted postoperative nausea and vomiting prevention: just splitting hairs? *Br J Anaesth*. 2015 Feb;114(2):190-3. doi: 10.1093/bja/aeu344. Epub 2014 Oct 10. PMID: 25303990.
 53. Annane D, Siami S, Jaber S, Martin C, Elatrous S, Declère AD, Preiser JC, Outin H, Troché G, Charpentier C, Trouillet JL, Kimmoun A, Forceville X, Darmon M, Lesur O, Reignier J, Abroug F, Berger P, Clec'h C, Cousson J, Thibault L, Chevret S; CRISTAL Investigators. Effects of fluid resuscitation with colloids vs crystalloids on mortality in critically ill patients presenting with hypovolemic shock: the CRISTAL randomized trial. *JAMA*. 2013 Nov 6;310(17):1809-17. doi: 10.1001/jama.2013.280502. Erratum in: *JAMA*. 2013 Mar 12;311(10):1071. Régnier, Jean [corrected to Reignier, Jean]; Clec'h, Christophe [corrected to Clec'h, Christophe]. PMID: 24108515.

Korespondenca: Dr Tanja Abazović
Klinika za anesteziologiju i intenzivnu terapiju,
Vojnomedicinska akademija, Beograd, Srbija
 e-mail : abazovic.tanja1@gmail.com



HOW TO CHOOSE ADEQUATE HEMODYNAMIC MONITORING DEVICES AND INTERPRET MEASUREMENTS?

Tanja Abazovic¹, Katarina Mladenovic^{1,2}, Dragan Djordjevic^{1,2}, Snjezana Zeba^{1,2}

¹Clinic of anesthesiology and intensive therapy, Military Medical Academy, Belgrade

²Faculty of Medicine of the Military Medical Academy, University of Defense, Belgrade

It is not always straightforward to determine which hemodynamic monitoring is appropriate for the patient in any type of circulatory shock. It depends, among other things, on the question that should be answered. There are many questions that will arise in such complex and critically ill patients. Initial questions are regarding the type of shock. Then adequate initial treatment should be started. Hemodynamic monitoring could help to make decisions about starting vasopressors with fluid therapy as well as choosing the correct dose of these potent drugs.

Arterial blood pressure is a crucial part of basic hemodynamic monitoring and provides a lot of information. As systemic vascular resistance is not routinely measured, decisions regarding vasopressor use should be made according to diastolic arterial pressure, which is physiologically related to arterial tone. This pressure is influenced by heart rate, but apart from that, it is determined by vasomotor tone. So, in this regard, diastolic pressure is much more precise in comparison to systemic vascular resistance. Arterial pulse pressure is the difference between systolic and diastolic arterial pressure, and it is physiologically related to stroke volume.

One can determine a few important things by looking at the arterial pressure profile. For instance, in a septic profile, there is pronounced vasodilation with diastolic pressure lower than 40 mmHg and preserved pulse pressure; this hemodynamic profile promotes vasopressor infusion. On the other hand, hypovolemic and cardiogenic profiles are associated with vasocon-

striction and therefore high diastolic pressure, but in these circumstances pulse pressure is low, which is an indicator of low stroke volume. So, arterial pressure contains a lot of hemodynamic information, provided that all the numbers are taken into consideration.

However, further data on cardiac output is required. We cannot solely rely on pulse pressure for stroke volume assessment because it is measured at the peripheral level; it is not aortic pulse pressure. Peripheral arterial pressure is determined by the compliance and resistance of the arterial system between the aortic valve and the peripheral artery.

The correlation between pulse pressure and cardiac output (or cardiac index) changes with various therapeutic measures. An observational study was conducted to determine the degree to which the systemic arterial pulse pressure can be used to assess cardiac output in order to evaluate the effects of norepinephrine and a fluid challenge (1). Authors demonstrated that the fluid-induced changes in cardiac output were roughly correlated with the changes in pulse pressure because, in these patients, arterial resistance was not changed. However, the changes in pulse pressure were unable to detect the changes in cardiac output induced by norepinephrine in the other group of patients. Another study showed that even changes in mean arterial pressure (MAP) do not reliably track changes in cardiac output after fluid challenge in patients with septic shock (2). Therefore, it is essential to monitor cardiac output directly in such complex critically ill patients.

If there is a patient with circulatory failure, basic intensive care unit (ICU) monitoring is necessary, which includes an arterial (A) line and central venous (CV) line along with echocardiography. If there is improvement after initial treatment with volume expansion and small doses of vasopressors, this hemodynamic monitoring is sufficient. If not, doses of vasopressors should be increased, and additional hemodynamic monitoring devices should be used. Cardiac output should be monitored in the ICU patients who resist initial expansion and low doses of noradrenaline. Blood pressure monitoring is not enough.

The question is, which monitoring devices should we proceed with? Not all devices are the same. Essentially, there are three groups of devices. Invasive devices include pulmonary artery (PA) catheter and transpulmonary thermodilution; minimally invasive devices include uncalibrated pulse contour analysis and esophageal Doppler and finally, there are non-invasive devices like bioimpedance and volume clamp devices.

Uncalibrated pulse contour analysis is based on the fact that, if there is arterial pressure, software can analyze the waveform and a shape of arterial pressure curve that is called "pulse contour". It is based on the general principle that the amplitude of the systolic part of the arterial curve is proportional to cardiac output and arterial compliance. One benefit of this type of cardiac output calculation is that it is continuous and real-time. Measurements of cardiac output obtained by transpulmonary thermal or lithium dilution are used to calibrate the initial estimation of cardiac output by pressure waveform analysis in "calibrated" devices (3). This continuous estimation by pulse contour analysis (PCA) is not reliable when arterial resistance changes. The percentage of error should be below 30% to indicate the reliability of the measurement. If the patients have normal systemic vascular resistance (SVR), the percentage of error is 26%, if there is low SVR, percentage of error rises

to 46%, and if the patients have high SVR, there is highest percentage of error of 61%. This was demonstrated in the study of 40 patients undergoing cardiac surgery and in whom phenylephrine was administered. Investigators compared FloTrack/Vigileo device versus pulmonary artery catheter (PAC) measurement of cardiac output (4). Similar results were demonstrated in patients undergoing liver transplantation (5). Uncalibrated arterial pressure waveform analysis had low reliability if resistance changes; the lower the SVR, the larger the bias.

Non-invasive devices are attractive yet rather unreliable. Volume clamp devices ("finger cuffs") are based on photoplethysmography, which measures the diameter of the finger arteries. The pneumatic cuff inflates and relaxes to keep the diameter constant. The pressure in the cuff is used to estimate the arterial pressure and, on top of that, the pulse contour analysis estimates cardiac output. A meta-analysis, which included 16 studies with the finger-cuff method analysis regarding cardiac output measurement reliability, demonstrated overall percentage of error of 43% (6). However, study heterogeneity was high. In normal subjects and in patients before surgical intervention, the percentage of error was acceptable, lower than 30%. But in ICU patients, the percentage of error was much higher, between 44% and 57% which is completely unacceptable.

Another non-invasive method is bioimpedance (Starling device). Low-intensity current is sent to the thorax through four electrodes. The principle is that the difference in phase between the inward and outward current demonstrates the volume of the thorax. This difference in phase is called reactance. From beat to beat, the volume of the thorax changes because of aortic volume, so the stroke volume is measured. When stroke volume is multiplied by heart rate, cardiac output is measured. As with volume clamp devices, reliability of bio

actance as a hemodynamic monitoring in critically ill patients is very low.

Minimally invasive monitoring devices (uncalibrated pulse contour analysis and esophageal Doppler) as well as non-invasive monitoring devices (volume clamp devices and bioreactance) are cheaper and provide less information. These devices could be used in operating rooms, in high-risk, non-cardiac surgical patients.

For the critically ill patients in intensive care units, invasive, expensive hemodynamic monitoring devices that provide more information are necessary: transpulmonary thermodilution (TPTD) and PA catheter (PAC). TPTD devices and the PA catheter are reliable in this patient population. This invasive hemodynamic monitoring can help answer many questions in critically ill patients. Should we start using vasopressors and at which dose do we do? How much is cardiac output and is it adequate? How is the cardiac preload? Should we give fluids or not? Is there a right ventricular (RV) dysfunction? How is the left ventricular (LV) contractility?

Cardiac output is measured by both types of invasive devices, TPTD or PAC, in a reliable way. With PAC, it is the Stewart-Hamilton principle, with a thermodilution curve; a cold bolus is injected, and cardiac output is obtained. This method of cardiac output measurement is reliable but intermittent; more precisely it is semi-continuous and reflects changes of the last 5 to 10 minutes. Finally, it is not very precise.

For transpulmonary thermodilution, a standard central venous catheter (CVC) and a thermistor-tipped arterial (usually femoral) catheter are needed (7). When the cold bolus is injected through the CVC, the same Stewart-Hamilton principle is applied, with a thermodilution curve, and cardiac output is obtained. This hemodynamic monitoring is reliable, intermittent, and not very precise, just like PAC. However, a big advantage of TPTD is that on top of that there is calibrated pulse contour analysis. So, the big difference between PAC and TPTD is

that TPTD devices measure cardiac output with a continuous estimation, which is very precise, calibrated and it is better than PAC for assessment of preload responsiveness, for example. Recalibration is needed if there is a delay from the previous one for more than 1 hour, if there is a significant change in vasomotor tone due to vasopressors for instance. In summary, TPTD measurement of cardiac output is continuous, very precise due to pulse contour analysis and requires regular calibration.

The next question is whether cardiac output is adequate. To assess that, SvO₂ and PCO₂ indices should be monitored. Both PAC and TPTD devices can be used; however, PAC is very reliable and TPTD devices are less reliable in this regard.

Assessment of cardiac preload can be achieved with both PAC and TPTD devices. But different parameters are monitored for this purpose: with PAC, it is pulmonary artery occlusion pressure (PAOP), and with TPTD devices it is global end-diastolic volume. The pulmonary artery occlusion pressure is obtained after inflating the distal balloon of the PAC in a large branch of the PA (about 10 mm in size). With TPTD devices, the global end-diastolic volume of all four cardiac chambers is obtained by software logarithmic transformation of the thermodilution curve.

When to give fluids and when not to is a key question in fluid therapy for patients with circulatory shock. A PA catheter can provide PAOP for resolution of this dilemma, but it is much better to use TPTM devices for this purpose. These devices can provide information regarding dynamic tests of fluid responsiveness in order to decide to give fluids and information regarding extravascular lung water and permeability in order to decide NOT to give fluids. Lung permeability in critically ill patients is elevated, sometimes slightly, and in patients with ARDS highly. Any given value of PAOP/CVP does not indicate lung water worsening, so PAC is of limited usage in these circumstances. However, extravascu

lar lung water (EVLW) is a direct indicator of lung edema (8).

If the critically ill patient has respiratory dysfunction with a low $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ ratio, it may be due to atelectasis or lung edema. It is essential to differentiate between these two conditions for all kinds of reasons. Therapeutic options are completely different. TMTD devices are ideal mode of monitoring in these patients because they provide EVLW values. For instance, the $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ ratio can be 110 in two patients. If this low P/F ratio is due to atelectasis in one patient, EVLW will be normal, around 10 mL/kg. In the other patient, with the same low P/F ratio, EVLW may be high, more than 20 mL/kg, so lung edema is the reason for respiratory dysfunction.

Lung water as well as the lung permeability index provided by TPTD devices can be crucial if there is a hypotensive, mechanically ventilated patient. If both EVLW and permeability index are normal (10 mL/kg and 4, respectively), volume expansion should be considered to stabilize the patient. However, if these two values are high (20 mL/kg and 8, respectively), doses of vasopressors should be increased. Regarding the assessment of the right ventricular function, there is a clear advantage in using PAC. It is the only way that pulmonary vascular resistance (PVR) can be measured. Additionally, the right ventricular ejection fraction (RVEF) can be determined. This is a direct assessment of the right ventricular function. If there is right ventricular dysfunction, and TPTD devices are used, they will demonstrate low cardiac output (CO) and high central venous pressure (CVP). These parameters are much less direct regarding the right ventricular function assessment.

Finally, if there is left ventricular systolic dysfunction, with PAC, lower CO and higher PAOP can be determined. If TPTM devices are used, lower global ejection fraction will be demonstrated.

The PAC, also known as a Swan-Ganz catheter, is better for assessing the

right ventricular function and SvO_2 , but it is more invasive than TPTD devices such as PiCCO. TPTD devices are better for assessing fluid responsiveness and, therefore, the risk of fluid infusion. Invasive monitoring of circulatory function in critically ill patients will provide a plethora of hemodynamic parameters. Apart from basic ones [like heart rate (HR), arterial pressure (AP), central venous pressure (CVP), pulse pressure variation (PPV), stroke volume variation (SVV), cardiac output (CO), and cardiac index (CI)], more sophisticated and advanced parameters can be determined. This includes TPTD-derived global end-diastolic volume index (GEDVI), which is an indicator of preload, with normal values of 680-800 mL/m²; extravascular lung water (EVLW), which is an indicator of lung water, with normal values of 7-10 mL/kg; and pulmonary vascular permeability index (PVPI), which is an indicator of lung permeability, with normal values less than 3.

Additionally, cardiac function index (CFI) is the ratio between CO and GEDV: $\text{CFI} = \text{CO}/\text{GEDV}$, expressed in min^{-1} , an indicator of cardiac contractility. Essentially, CFI is the ratio of CI and preload, with normal values of 4.5-6.5 min^{-1} . Global ejection fraction (GEF) is defined as the ratio of the stroke volume (SV) to the quarter of the GEDV: $\text{GEF} = \text{SV}/(\text{GEDV}/4)$, expressed as a percentage. Essentially, GEF is the ratio of stroke volume and preload, with normal values of 25-35%.

Bearing in mind that all monitoring devices are only as good as the clinician who interprets the resulting parameters, the importance of hemodynamic monitoring cannot be overstated. Caring for critically ill patients without it would be like flying blind.

References:

1. Monnet X, Letierce A, Hamzaoui O, Chemla D, Anguel N, Osman D, Richard C, Teboul JL. Arterial pressure allows monitoring the changes in cardiac output

- induced by volume expansion but not by norepinephrine. *Crit Care Med.* 2011 Jun;39(6):1394-9.
2. Pierrakos C, Velissaris D, Scolletta S, Heenen S, De Backer D, Vincent JL. Can changes in arterial pressure be used to detect changes in cardiac index during fluid challenge in patients with septic shock? *Intensive Care Med.* 2012 Mar;38(3):422-8.
 3. Jozwiak M, Monnet X, Teboul JL. Pressure Waveform Analysis. *Anesth Analg.* 2018 Jun;126(6):1930-1933.
 4. Suehiro K, Tanaka K, Funao T, Matsuura T, Mori T, Nishikawa K. Systemic vascular resistance has an impact on the reliability of the Vigileo-FloTrac system in measuring cardiac output and tracking cardiac output changes. *Br J Anaesth.* 2013 Aug;111(2):170-7.
 5. Biais M, Nouette-Gaulain K, Cottenceau V, Vallet A, Cochard JF, Revel P, Sztark F. Cardiac output measurement in patients undergoing liver transplantation: pulmonary artery catheter versus uncalibrated arterial pressure waveform analysis. *Anesth Analg.* 2008 May;106(5):1480-6.
 6. Saugel B, Hoppe P, Nicklas JY, Kouz K, Körner A, Hempel JC, Vos JJ, Schön G, Scheeren TWL. Continuous noninvasive pulse wave analysis using finger cuff technologies for arterial blood pressure and cardiac output monitoring in perioperative and intensive care medicine: a systematic review and meta-analysis. *Br J Anaesth.* 2020 Jul;125(1):25-37.
 7. Monnet X, Teboul JL. Transpulmonary thermodilution: advantages and limits. *Crit Care.* 2017 Jun 19;21(1):147.
 8. Jozwiak M, Teboul JL, Monnet X. Extravascular lung water in critical care: recent advances and clinical applications. *Ann Intensive Care.* 2015 Dec;5(1):38

Corresponding author: Dr Tanja Abazovic

Clinic of anesthesiology and intensive therapy, Military Medical Academy, Belgrade
Crnotravska 17, 11000, Belgrade, Serbia
e-mail : abazovic.tanja1@gmail.com

UPUTSTVO 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 Uređivački 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 alatke 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 rukopis 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 originale 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 ilustracijama. 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. Uređaji (aparati) se označavaju trgovačkim nazivima, a ime i mesto proizvođača treba navesti u obliku zagrada. Ukoliko se u tekstu koriste oznake koje su spoj slova i brojeva, precizno napisati broj koji se javlja kao eksponent ili kao indeks (npr. ^{99}Tc , 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 grafikoni 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–m, kilogram–kg, litar–l) 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 (glatkom, 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 prodaje).

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 prodaje).

Zahvalnica: Naveći 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 po dršku. 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, Dhalala 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:

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: reprodukovanje 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 anestezista, 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**

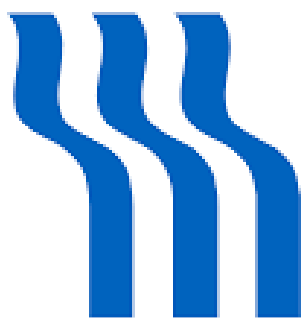
E-mail glavnog urednika: **dragoslavitev@gmail.com**

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.

ZAHVALJUJEMO NA POMOĆI U ORGANIZACIJI KONGRESA
GRATITUDE FOR HELP IN ORGANIZING THE CONGRESS

GENERALNI SPONZOR KONGRESA



**FRESENIUS
KABI**

ZLATNI I SREBRNI SPONZOR KONGRESA



VICOR



Labena

OSNIVAČI UDRUŽENJA



POKROVITELJ KONGRE



