

Združenje hematologov Slovenije (ZHS)



Združenje za transfuzijsko medicino Slovenije (ZTMS)



Sekcija medicinskih sester in zdravstvenih tehnikov v hematologiji (SMSZT)

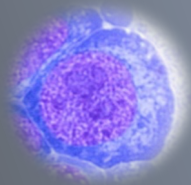


Hematološko laboratorijsko združenje (HLZ)



Zbornik povzetkov april 2026

Podčetrtek 10. – 11. April 2026



Strokovno srečanje Združenja hematologov Slovenije, Združenja za transfuzijsko
medicino Slovenije, Sekcije medicinskih sester in zdravstvenih tehnikov v hematologiji in
Hematološkega laboratorijskega združenja

Zbornik povzetkov april 2026

Podčetrtek, 10.-11. april 2026

Strokovno srečanje Združenja hematologov Slovenije, Združenja za transfuzijsko medicino Slovenije, Sekcije medicinskih sester in zdravstvenih tehnikov v hematologiji in Hematološkega laboratorijskega združenja.

Zbornik povzetkov april 2026

Strokovni recenzenti: Matevž Škerget, Boštjan Jovan, Alenka Dobrovoljc, Marko Cukjati, Tadej Furlan, Katarina Reberšek, Helena Podgornik, Martina Fink, Primož Poženeš, Polonca Mali, Irena Bricl, Marjeta Maček

Uredili: Matevž Škerget, Boštjan Jovan, Marko Cukjati, Hermina Čibej

Založilo: Združenje hematologov Slovenije

Za založbo: Matevž Škerget

Spletna stran: www.zhs.si

Ljubljana 2026

Kataložni zapis o publikaciji (CIP) pripravili v Narodni in univerzitetni knjižnici v Ljubljani
COBISS.SI-ID 274941443
ISBN 978-961-95890-8-3 (PDF)

Vsebina

Žilni katetri in presaditev krvotvornih matičnih celic (SMSZT)	4
Osrednji venski katetri.....	4
Priporočila za oskrbo periferno uvedenega osrednjega venskega katetra	10
Vstavev varne atravmatske igle v vensko valvulo (VAP) ali port.....	17
Dokumentacija pri avtologni in alogenski presaditvi krvotvornih matičnih celic	20
Proces iskanja darovalca krvotvornih matičnih celic.....	24
Postopki zbiranja avtolognih krvotvornih matičnih celic.....	27
Hemofilija in spremljanje kakovosti življenja pri novi obliki zdravljenja	32
Zdravstvena nega bolnikov s kroničnim GVHD: od simptomov do podpore.....	36
Zdravstvena nega bolnika z akutnim GVHD po alogenski presaditvi krvotvornih matičnih celic	38
Spremembe krvnih skupin po alogeni presaditvi krvotvornih matičnih celic.....	40
Izzivi pri akutni mieloični levkemiji (ZHS)	43
Sekundarna AML; mesto CPX-351 in azacitidina+venetoklaksa.....	43
Zdravljenje bolnikov, primernih za intenzivno terapijo; izbira onkraj DA 3+7	46
Indukcijsko zdravljenje akutne promielocitne levkemije z velikim tveganjem.....	49
Mesto alogenične presaditve v prvi remisiji pri AML z vmesnim tveganjem	52
Virusne okužbe in transfuzijska medicina (ZHS + ZTM)	56
Pridobivanje in uporaba virusno specifičnih limfocitov (VSL), trenutni trendi in slovenske izkušnje.....	56
Virusno specifični T-limfociti: sodoben pristop in klinične izkušnje	61
Pomen presejalnega testiranja krvodajalcev na okužbo z virusom hepatitisa E	65
Varnost ali tveganje: vpliv obdelave krvnih pripravkov na prenos povzročiteljev	69
Sindromi imunske oslabelosti (ZHS)	73
Kdaj pomisliti na primarno okvaro imunosti in kaj testirati	73
Imunska oslabelost pri bolnikih z diseminiranim plazmocitomom	79
Imunska oslabelost pri kronični limfocitni levkemiji	83
Vpliv alogenske presaditve krvotvornih matičnih celic na imunski sistem	88

Sindromi odpovedi kostnega mozga (ZHS, HLZ)	92
Histologija kostnega mozga pri aplastični anemiji in hipocelularnem mielodisplastičnem sindromu	92
Prirojeni sindromi odpovedi kostnega mozga	95
Molekularno-genetsko ozadje hMDS/AA	99
Vloga optičnega genomskega mapiranja pri genetskih opredelitvah MDS	102
Določanje PNH klona s pretočno citometrijo	105
Zdravljenje aplastične anemije pri odraslih bolnikih	108
Zagotavljanje kontrole kakovosti (HLZ)	115
Vpliv nove zakonodaje na delo v laboratorijski medicini	115
Pomen zunanje kontrole kakovosti v medicinskih laboratorijih: od izbire sheme do izboljševanja kakovosti	119
Diagnostika akutne promielocitne levkemije (HLZ)	123
Klinična obravnava bolnikov z akutno promielocitno levkemijo	123
Citomorfološke in imunofenotipske značilnosti akutne promielocitne levkemije	127
Vloga genetskih preiskav pri APL	130
Likvorska diagnostika (HLZ)	133
Onkološka likvorska diagnostika – pogled nevrologa	133
Meningoencefalitisi pri onkoloških bolnikih: osnovne preiskave likvorja in uporabnost novih bioloških označevalcev	140
Maligna infiltracija likvorja	143
Infiltracija centralnega živčevja	146
Malaria (HLZ)	148
Laboratorijska diagnostika malarije – krvni razmaz in gosta kaplja	148
Kako smo preživeli poletje (ZTM)	154
Izzivi preskrbe s krvjo zaradi virusa Zahodnega Nila (WNV)	154
Krvodajalstvo skozi sezono: denga in čikungunja	158
Slepi potnik – malaria	162
Huda oblika malarije v enoti intenzivne terapije – prikaz primera	166
Poročilo Službe za hemovigilanco za leto 2025	170

Odpoklic krvi in komponent krvi - ko pokliče krvodajalec oz. ko pokliče klinik (ZTM)	173
Postopki in pomisleki ob odpoklicu komponent krvi.....	173
Ko pokliče klinik - prikaz primera Transfuzijskega centra Splošne bolnišnice Celje	178
Odpoklic krvi in komponent krvi ob naknadni informaciji krvodajalca: prikaz primera okužbe z boreliozo.....	183
Od neskladja v rutini do serijskega odpoklica vrečk za polno kri	186
Transfuzijska medicina in transplantacije (ZTM)	190
Razširitev testiranj za spremljanje imunološkega statusa bolnikov po presaditvi srca	190
Uporaba krvnih komponent pri presaditvah solidnih organov: desetletna retrospektivna analiza v nacionalnem transplantacijskem centru	193
Sindrom potujočih limfocitov – pregled in predstavitev primerov	197
Primer senzibilizacije po presaditvi krvotvornih matičnih celic.....	201
Izzivi pri določitvi plodovega <i>RHD</i> pri nosečnicah po transplantaciji organov	205
Himerizem v sistemu ABO, Rh in HLA pri krvodajalcu	208

Žilni katetri in presaditev krvotvornih matičnih celic (SMSZT)

Osrednji venski katetri

Belkisa Burnic, dipl. ms.
Univerzitetni klinični center Ljubljana
belkisa.burnic@kclj.si

Uvod

Osrednji venski kateter OVK je dolga, tanka, prožna in votla cevka, katere konica je vstavljena v distalni del zgornje votle vene ali v desni atrij. Na ta način omogoča neposreden dostop do centralnega krvnega obtoka. OVK ima ključno vlogo pri oskrbi življenjsko ogroženih bolnikov, saj omogoča varno apliciranje terapij, ki niso primerne za periferni venski dostop. Med takšne terapije sodijo hipertonične infuzije z osmolarnostjo nad 900 mOsm na liter, kemoterapija, zlasti aplikacija vesikantov, zelo kisle raztopine s pH pod 5 in zelo bazične raztopine s pH nad 9, pa tudi tekočine, ki jih je treba aplicirati pri visokih hitrostih ali velikih volumnih.

OVK se uporablja tako v diagnostične kot terapevtske namene. Indikacije za uvedbo vključujejo bolnike, ki potrebujejo kratkoročni ali dolgotrajni žilni dostop, denimo bolnike na oddelkih intenzivne terapije, hemodializi, pri zdravljenju raka ali pri dolgotrajni parenteralni oziroma antibiotični terapiji.

Uporaba OVK je pri teh terapijah varna, ker je konica katetra nameščena v področju z izjemno visokim pretokom krvi, kjer se infundirane raztopine hitro razredčijo in tako ne poškodujejo žilne stene. Izbira najprimernejšega mesta vstavljanja je odvisna od anatomskih značilnosti bolnika, predvidenega trajanja uporabe katetra, tehnične izvedljivosti posega ter ocene tveganja za okužbo.

Mesta vstavitve osrednjih venskih katetrov

Osrednji venski kateter (OVK) se najpogosteje uvede v velike centralne vene, in sicer notranja ali zunanja vratna vena (vena jugularis interna ali vena jugularis externa), podključnična vena (vena subclavia) ter v določenih primerih tudi dimeljska oziroma stegenska vena (vena femoralis).

Periferno uveden centralni venski kateter (PICC) se uvaja v vene na področju nadlakti, najpogosteje v komolčne vene in v veno na nadlakti, kot so kubitalna vena, vena cephalica, vena basilica in vena brachialis. Te vene omogočajo zanesljivo napredovanje katetra v centralni venski sistem.

Periferno uvedeni centralni kateter s podkožnim prekatom (VAP / PORT) se praviloma uvaja v jugularno veno, podključnično veno ali aksilarno veno. Kadar so te poti kontraindicirane, je mogoča tudi uvedba preko femoralne vene.

Namen vstavitve osrednjega venskega katetra

Osrednji venski kateter se uporablja pri številnih diagnostičnih in terapevtskih postopkih, kadar je potreben zanesljiv, stabilen in trajen dostop do centralnega krvnega obtoka. Med najpogostejše indikacije sodijo merjenje centralnega venskega pritiska ter vnos večjih količin tekočine v žilni obtok, zlasti pri bolnikih z izrazito dehidracijo ali potrebo po vzdrževanju elektrolitskega ravnovesja. OVK omogoča tudi dajanje zdravil, ki lahko poškodujejo periferne vene, kot so hipertonične raztopine, citostatiki, vazopresorji in visoko koncentrirane raztopine kalijevega klorida.

Poleg tega se uporablja za transfuzijo krvi in krvnih derivatov ter za popolno parenteralno prehrano, pri kateri je nujen dostop z visokim pretokom in ustrezno hemodilucijo. OVK je potreben tudi pri vstavljanju prekovenskega srčnega spodbujevalnika, omogoča pogosto in zanesljivo jemanje vzorcev krvi ter predstavlja rešitev pri bolnikih s slabim stanjem perifernih ven. Pomembna indikacija je tudi hemodializno zdravljenje, kjer je potreben stabilen in visoko pretočen centralni žilni dostop.

Vrste OVK

Poznamo različne vrste venskih katetrov z različnim številom (od ena do pet) dovodov (krakov, lumnov, svetlin), vsak krak ima ločen vhod in izstopišče. Posamezni vstopni kraki se med seboj razlikujejo po barvah in lokaciji izstopišča distalni je praviloma rjave barve in ima izstopišče na konci katetra in je namenjen merjenju osrednjega venskega tlaka. Proksimalni krak je praviloma bele barve in je namenjen jemanju krvi, saj tako na rezultate ne vplivajo zdravila, ki jih bolnik prejema. Vsi kraki so namenjeni tako kontinuirani kot intermitentni aplikaciji terapije, izstopišča so med sabo ločena kar preprečuje mešanje infuzijskih raztopin in zdravil ter njihovo kemično reakcijo.

Osrednji venski katetri so radiopačni in izdelani iz različnih materialov, med katerimi so teflon, polietilen, silikon in poliuretan. Na voljo so v različnih dolžinah in so namenjeni kratkotrajni ali dolgotrajni uporabi, odvisno od potreb bolnika in terapevtskega načrta.

Pri izbiri mesta vstavljanja katetra je potrebno upoštevati nujnost posega, stabilnost bolnika ter predvideno trajanje uporabe. Za večino posegov se zaradi večje varnosti priporoča ultrazvočno vodstvo. Smernice Centers for Disease Control and Prevention priporočajo uporabo mest na zgornjem delu telesa pred femoralnim dostopom, saj je tako mogoče zmanjšati tveganje za

okužbe, zlasti pri katetrih, ki ostanejo vstavljeni dalj časa. Pri tem je potrebno upoštevati tudi bolnikove posebnosti, kot sta respiratorna prizadetost ali motnje strjevanja krvi.

Osrednje venske katetre razvrščamo glede na način vstavitve, trajanje uporabe in terapevtski namen:

Netunelirani osrednji venski katetri: namenjeni so akutnim in kratkotrajnim potrebam ter se vstavljajo v jugularno, subklavijsko ali femoralno veno.

Tunelirani osrednji venski katetri, kot so Hickmanovi in Broviacovi katetri: vstavljeni so skozi podkožni tunel, kar zmanjšuje tveganje za okužbo in omogoča srednje do dolgotrajno uporabo.

Periferno vstavljeni centralni katetri (PICC): uvedejo se skozi periferno veno na roki in vodijo do centralnega krvnega obtoka. Primerni so za uporabo od nekaj tednov do več mesecev.

Periferno uvedeni centralni katetri s podkožnim prekatom: namenjeni so kroničnemu dostopu, pogosto pri onkoloških bolnikih. Omogočajo varen dostop preko igle skozi kožo, brez zunanjih komponent in z nizkim tveganjem za okužbe.

Zapleti pri OVK

Zapleti, povezani z osrednjim venskim katetrom, se lahko pojavijo v zgodnji ali pozni fazi po vstavitvi. Med zgodnje zaplete sodijo nezmožnost vstavitve katetra in neustrezen potek njegovega položaja, kar lahko zahteva takojšna korekcijo. Pogosti zgodnji zapleti so tudi nenamerna punkcija arterije, pnevmotoraks ali hematotoraks, ki nastaneta zaradi poškodbe struktur v prsnem košu. Med akutne zaplete prištevamo še zračno embolijo, ki lahko nastane ob nepravilnem rokovanju z odprtim sistemom ali ob nezadostnem tesnjenju brezigelnih konektov.

Pozni zapleti se razvijejo po daljšem času uporabe katetra. Mednje sodijo flebitis ter intravenska zamašitev katetra, ki je lahko posledica oborin v lumnu ali zaradi tvorbe fibrinskih oblog. Med pozne mehanske in trombotične zaplete uvrščamo tudi zatekanje tekočine ob mestu vboda ter nastanek strdkov v ali ob katetru, tromb v svetlini katetra ali trombozo vene, v kateri kateter poteka. Eden najpomembnejših poznih zapletov je okužba, ki lahko prizadene izhodno mesto, potek podkožnega tunela ali povzroči sistemsko katetrsko okužbo krvi.

Okužbe povezane z OVK

Osrednji venski katetri predstavljajo neposredno povezavo med zunanjim okoljem in krvnim obtokom, zato so lahko pomemben vir bolnišničnih okužb. Okužbe krvi, povezane s katetri, sodijo med najresnejše zaplete pri uporabi OVK, saj lahko hitro vodijo v sepsu in druge življenjsko

ogrožajoče zaplete. K njihovem nastanku so bolj dovzetni bolniki, ki so slabo prehranjeni ali telesno oslabei, saj imajo zmanjšano imunsko odpornost. K oslavljeni imunosti pomembno prispevajo tudi akutne ali kronične bolezni, poškodbe ter stres, zato je dosledno upoštevanje aseptične tehnike pri rokovanju s katetrom izjemno pomembno.

Na tveganje za pojav okužbe, povezane z OVK, vpliva več dejavnikov. Med najpomembnejše sodijo dolžina hospitalizacije, mesto vstavitve katetra, kakovost higienskega režima, doslednost uporabe aseptičnih postopkov, število vstopnih poti, dolgotrajno vztrajanje katetra v žili, kolonizacija izhodnega mesta ter morebitna kontaminacija priključnih delov sistema. Možni viri kontaminacije so bolnikova lastna kožna flora, mikroorganizmi na rokah zdravstvenega osebja, nepravilno rokovanje s svetlino katetra, kontaminiran kateter ob vstavitvi, okužene infuzijske raztopine ali priključki ter kolonizacija vstopnega mesta. Redkeje lahko okužba nastane tudi hematogeno iz drugega žarišča.

Za preprečevanje okužb, povezanih z OVK, je ključnega pomena dosledno upoštevanje pisnih navodil za vstavljanje katetra, skrbna in pravilna zdravstvena nega izhodnega mesta ter pravilno odstranjevanje različnih vrst žilnih katetrov. Prav tako so bistveni dosledno izvajanje higienskih standardov in striktno upoštevanje načel aseptične tehnike pri vseh posegih, povezanih z osrednjim venskim katetrom.

Vstavitvev OVK

Pred vstavitvijo osrednjega venskega katetra je ključna temeljita ocena bolnika, ki vključuje pregled koagulacijskega statusa zaradi ocene tveganja za krvavitev ter preverjanje morebitnih alergij na lokalne anestetike ali antiseptike. Od bolnika je treba pridobiti informirano soglasje oziroma soglasje pooblaščenih oseb. Postopek, morebitna tveganja, koristi in alternativne možnosti morajo biti razloženi na bolniku razumljiv način.

Enako pomembna je ustrezna priprava bolnika na poseg. Pred uvedbo OVK je treba kožo temeljito higiensko očistiti. Če ima bolnik daljše lase, mu nadenemo zaščitno kapo. Kadar je področje vstavitve poraščeno, je treba dlake odstraniti z električnim strižnikom z nastavki za enkratno uporabo, saj britje zaradi poškodb povrhnjice poveča tveganje za bakterijsko kolonizacijo in okužbo. Vzpostavitev aseptičnega polja je ključna za preprečevanje okužb; osebje mora opraviti higieno rok ter uporabiti sterilne rokavice, masko, kapo in plašč, kot to zahtevajo maksimalni zaščitni ukrepi.

Postopek se izvaja v operacijskem ali drugem ustreznem aseptičnem okolju. Bolnik mora biti med posegom neprekinjeno nadzorovan z monitorjem. Najpogosteje ga namestimo v hrbtni položaj, po potrebi tudi v Trendelenburgov položaj, pri katerem je vzglavje spuščeno za približno 15 stopinj. Tako se poveča centralni venski tlak, kar omogoča bolj vidne in polne vene ter zmanjša tveganje za vdor zraka v žilni sistem in posledično zračno embolijo.

Priprava kože vključuje razkuževanje širokega območja okoli mesta vstavitve z raztopino 2% klorheksidinijevega diglukonata v 70% alkoholu. Razkužilo se mora pred namestitvijo sterilnih pokrival popolnoma osušiti, saj le popolnoma suha koža zagotavlja optimalen antiseptični učinek. Lokalna anestezija se po pripravi kože injicira podkožno na mestu punkcije, da zmanjša bolnikovo nelagodje.

Najvarnejši in najučinkovitejši način vstavitve OVK je Seldingerjeva tehnika, ki poteka z uporabo vodilne žice in pod ultrazvočnim nadzorom, kar močno poveča natančnost in varnost posega. Ko je kateter pravilno nameščen, ga zdravnik stabilizira z brezšivnim pritrdilnim sistemom, vbodno mesto sterilno prekrije z netkanimi zloženci in ga zaščiti s polprepustnim obližem. Po vstavitvi je treba potek katetra, položaj konice in stanje pljučnega parenhima preveriti z rentgenskim slikanjem.

Preveza OVK

Preveza osrednjega venskega katetra je aseptični postopek, ki preprečuje okužbe, ohranja funkcionalnost katetra in omogoča zgodnje odkrivanje zapletov, kot so rdečina, izcedek ali bolečina. Priporočljivo je uporabljati prosojne polprepustne obloge s klorheksidinijevo vpojno blazinico, ki omogočajo stalen vizualni nadzor vbodnega mesta, učinkovito preprečujejo vstop zunanjih kontaminantov ter dokazano zmanjšujejo pojavnost okužb. Hkrati zagotavljajo takojšnje protimikrobno delovanje.

Preveza osrednjega venskega katetra je aseptični postopek, ki se izvaja v rednih intervalih. Standardno se obloga menja vsakih sedem dni, v primeru da postane mokra, ohlapna, umazana ali krvava se obloga zamenja takoj. Če je na vbodnem mestu nameščen netkani zloženelec, prekrit s polprepustnim transparentnim filmom, je zaradi večjega zadrževanja vlage in možnosti razvoja mikroorganizmov prevezo potrebno opraviti vsaka dva dni. Biopatch, obloga iz hidrofilne pene s klorheksidin glukonatom v obliki obročaste vpojne blazinice, se namesti okoli katetra za zaščito pred lokalno okužbo in okužbo krvi ter se menja vsakih sedem dni.

Pri prevezi vedno uporabimo aseptično tehniko in sterilni set, če ni kontraindikacij vbodno mesto očistimo z 2% klorheksidinom. Po razkuževanju se vstopnega mesta ne dotikamo, s katetrom čim manj manipuliramo, mesto vstavljanja redno opazujemo, prevezo zabeležimo v dokumentaciji, ob znakih okužbe pa takoj obvestimo zdravnika.

Na vse krake osrednjega venskega katetra namestimo brezigelne konektorje, ki jih zaščitimo z alkoholnimi pokrovčki. Ti vsebujejo gobico, prepojeno s 70% izopropilnim alkoholom, ki omogoča neprekinjeno dezinfekcijo in preprečevanje okužb do sedem dni. V kolikor pokrovček odstranimo ga zamenjamo z novim.

Prebrizgavanje OVK

Prebrizgavanje OVK je pomemben postopek za ohranjanje njegove prehodnosti. S tem preprečujemo nastanek strdkov in biofilma ter odstranimo ostanke zdravil ali krvi in tako zmanjšujemo tveganje za trombozo in okužbo. Kateter pravilno prebrizgavamo s prednapolnjeno 10 ml brizgo 0,9% fiziološke raztopine ali več, uporabljamo pulzno tehniko, kar zagotavlja pravilno delovanje katetra.

Zaključek

Osrednji venski kateter je nepogrešljiv medicinski pripomoček sodobne klinične prakse, saj omogoča zanesljiv in varen venski dostop za aplikacijo zdravil, tekočin, parenteralne prehrane ter hemodinamsko spremljanje pri zahtevnih bolnikih. Kljub številnim prednostim je njegova uporaba povezana tudi z resnimi potencialnimi zapleti, kot so okužbe, tromboze in mehanske poškodbe, zato zahteva visoko stopnjo strokovne usposobljenosti ter dosledno upoštevanje uveljavljenih kliničnih protokolov.

Ključno vlogo pri zmanjševanju tveganja zapletov ima ustrezno in kontinuirano izobraževanje zdravstvenega osebja ter poučevanje bolnikov o pravilni skrbi za kateter. Uporaba standardiziranih postopkov, preverjenih tehnik in nadzorovanih praks bistveno pripomore k zmanjšanju pojavnosti okužb ter izboljšanju kliničnih izidov.

Uspešna in varna uporaba osrednjega venskega katetra temelji na kombinaciji strokovnega znanja, natančne izvedbe postopkov ter doslednega upoštevanja smernic. Le s takšnim pristopom je mogoče doseči največjo korist za bolnika ob hkratni minimizaciji tveganj, ki jih prinaša centralni venski dostop.

Literatura

1. Grokipedia. Central venous catheter [Internet]. Dostopno na: https://grokipedia.com/page/Central_venous_catheter
2. International Journal of Critical Illness & Injury Science. Catheter-related bloodstream infections [Internet]. Jan–Mar 2026;16(1). Dostopno na: https://journals.lww.com/ijci/fulltext/2014/04020/catheter_related_bloodstream_infections.10.aspx
3. Klinični center Ljubljana. Interni standard: Osrednji venski kateter – OVK; ST UKCL 0011; e-verzija 1.0. Ljubljana: UKCLJ.
4. Rode M. Kakovost oskrbe osrednjih venskih katetrov pri kirurških pacientih: diplomsko delo. Jesenice: Fakulteta za zdravstvo; 2016.

Priporočila za oskrbo periferno uvedenega osrednjega venskega katetra

Leon Slemenšek

Klinični oddelek za otroško hematologijo in onkologijo, Pediatrična klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana

leon.slemensek@kclj.si

Uvod

Na Kliničnem oddelku za otroško hematologijo in onkologijo Pediatrične klinike v Ljubljani so se z razvojem sodobnih pristopov k zdravljenju malignih bolezni postopoma uvajale različne vrste osrednjih venskih katetrov. Sprva so se najpogosteje uporabljali klasični osrednji venski katetri (CVK), osrednji venski katetri s podkožnim prekatom, imenovani PORT in tunelirani osrednji venski katetri tipa Hickman-Broviac.

V zadnjem desetletju so se z razvojem ultrazvočno vodene tehnike vstavitve in oblikovanjem specializiranih timov za žilne pristope začeli uveljavljati tudi periferno uvedeni osrednji venski katetri (v nadaljevanju PICC katetri). Prvi PICC kateter je bil v medicinski literaturi opisan leta 1975. V klinični praksi so ga začeli uporabljati predvsem za dajanje totalne parenteralne prehrane pri bolnikih, ki so potrebovali dolgotrajni venski pristop. Na Kliničnem oddelku za otroško hematologijo in onkologijo Pediatrične klinike v Ljubljani je bil prvi PICC kateter vstavljen leta 2015, s čimer se je začela uporaba tega pristopa tudi v pediatrični onkologiji. PICC kateter ima pomembno vlogo pri dajanju kemoterapije, antibiotikov, bioloških zdravil, parenteralne prehrane, krvnih pripravkov, vnosu večjih količin tekočine in odvzemu krvi za laboratorijske preiskave. Običajno se vstavi v večje vene nadlakti, najpogosteje v veno baziliko, veno cefaliko ali brahialno veno. Vstavitvev običajno poteka do zgornje vene kave, pri čemer je priporočena končna lega konice katetra v spodnji tretjini zgornje vene kave.

V klinični praksi so na voljo standardni PICC katetri, primerni za običajne pretoke in visokopretočni PICC katetri, ki omogočajo hitrejšo preteko ter so primerni tudi za varno dajanje kontrastnih sredstev z visokotlačnimi injektorji. Pri njihovi uporabi je treba vedno upoštevati tehnične specifikacije in omejitve proizvajalca.

Priporočila za oskrbo PICC katetra

Splošna načela

- Pri rokovanju s katetri je priporočljivo dosledno upoštevati aseptično tehniko dela.

- Pri manipulaciji s PICC katetrom se priporoča, da tudi bolnik nosi zaščitno obrazno masko, zlasti kadar ne more obrniti glave stran od mesta vstavitve katetra ali ob kašljanju oziroma kihanju.
- S tem se zmanjša tveganje za kontaminacijo katetra z respiratornimi virusi.
- Pri rokovanju s PICC katetrom se uporaba škarij odsvetuje zaradi tveganja za mehansko poškodbo katetra.

Razkuževanje in rokovanje z brezigelnimi priključki

- Za razkuževanje brezigelnih priključkov (konektorjev) se priporoča uporaba 2 % klorheksidinijevega glukonata v 70 % etanolu ali 70 % izopropilnega alkohola.
- Mednarodne smernice priporočajo katero koli od omenjenih raztopin kot del dobre klinične prakse.
- Brezigelne priključke je priporočljivo razkuževati vsaj 15 sekund s tehniko ožemanja.
- Dosledno upoštevanje ustreznega čas sušenja po razkuževanju je ključno za zmanjšanje mikrobne obremenitve in tveganja za vnos mikroorganizmov v krvni obtok. Pri 70 % izopropilnem alkoholu traja sušenje približno 5 sekund, medtem ko je pri klorheksidinu na osnovi alkohola približno 20 sekund. Vendar so časi sušenja v klinični praksi odvisni od vlažnosti in temperature v negovalnem okolju.
- Brezigelnih priključkov se praviloma ne menjava pogosteje kot na 96 ur (v klinični praksi običajno enkrat tedensko).
- Prej jih je priporočljivo zamenjati v primeru odvzema hemokultur, ob vidni prisotnosti krvi v notranjosti, v primeru, da se odvijajo ali v primeru okvare.
- Priporoča se uporaba razkužilnih pokrovčkov na vseh brezigelnih priključkih.
- Učinkovita dezinfekcija nastopi približno 60 sekund po namestitvi.
- Če razkužilnega pokrovčka ne odvijemo, razkužilo učinkuje do 7 dni.
- Namenjeni so enkratni uporabi.

Prebrizgavanje PICC katetra

- Priporoča se uporaba prednapoljenih brizg z 0,9 % raztopino natrijevega klorida (v nadaljevanju 0,9 % NaCl) za prebrizgavanje PICC katetra.
- Prednapolnjene brizge izboljšujejo varnost bolnikov, zmanjšujejo tveganje za bakterijsko kontaminacijo in spodbujajo dobro klinično prakso izpiranja osrednjih venskih katetrov.
- Za prebrizgavanje katetrov se priporoča uporaba 10 ml brizg.
- Manjše brizge se odsvetuje, saj ustvarjajo višji tlak, kar lahko privede do poškodbe katetra.
- Uporaba brizg z manjšim volumnom je lahko sprejemljiva le, če imajo enak notranji premer kot 10 ml brizge.
- Pred in po vsaki uporabi je potrebno PICC kateter prebrizgati z do 10 ml 0,9 % NaCl.
- Pri infundiranju popolne parenteralne prehrane, krvnih derivatov ali kontrastnih sredstev se priporoča prebrizganje katetra z 20 ml 0,9 % NaCl.
- Med prebrizgavanjem katetra z 0,9 % NaCl se uporablja pulzna tehnika »push - pause«, pri kateri se raztopina vbrizgava po 1 ml z zelo kratkimi premori med posameznimi potiski (okrog 0,4 sekunde).
- Ta tehnika zmanjšuje tvorbo koagulov in ostankov zdravil na steni katetra ter poveča izpiralni učinek.
- S tehniko pozitivnega pritiska pred vbrizganjem zadnjega ml 0,9 % NaCl ali zapiralnega sredstva v kateter istočasno zapremo stišček na katetru. Na ta način preprečimo vračanje krvi v lumen katetra.
- Pri PICC katetrih brez stiščka se pozitiven tlak ustvari tako, da brizgo odstranimo, medtem ko še vedno rahlo pritiskamo na bat brizge. Tako dodatno preprečimo vračanje krvi v lumen katetra in zmanjšamo tveganje za okluzijo.
- Pri PICC katetrih, ki niso v uporabi, se prebrizgavanje običajno izvaja enkrat tedensko ali prej, če pride do povratka krvi v lumen katetra.
- Pri nekaterih PICC katetrih se refluks krvi v lumen katetra pojavlja pogosteje, zato je v takih primerih priporočljivo pogostejše prebrizgavanje za ohranjanje prehodnosti katetra.
- Pri 2 Fr PICC katetrih se priporoča prebrizgavanje vsaj enkrat dnevno za ohranjanje stalne prehodnosti katetra.

Zapiranje (zaklepanje) PICC katetra

- Pri otrocih ni na voljo dovolj raziskav o učinkovitosti zaklepanja PICC katetra s heparinom. Čeprav bi prehod s heparina na 0,9 % NaCl zmanjšal stroške in, kar je najpomembnejše, zmanjšal tveganja za nenamerno dajanje prevelikega odmerka heparina, trenutne raziskave ne podpirajo popolne opustitve heparina.
- Za zapiranje PICC katetra in ohranjanje njegove prehodnosti se poleg 0,9 % NaCl lahko uporabijo različna zapiralna sredstva:

HEPARIN 0,5-100 IE/ml v 0,9 % NaCl (nikoli se ne uporablja nerazredčen heparin),

T-EDTA 4 % (tetrasodium ethylenediaminetetraacetate, KiteLock™) - varen za uporabo pri otrocih; kliničnih izkušenj pri otrocih <5 kg ni,

Taurolidin (Taurospet®),

TauroLock™.

Fiksacija PICC katetra

- Po vstavitvi PICC katetra se na vstopno mesto običajno nanese cianoakrilatno lepilo, ki zmanjšuje možnost krvavitve in tako podaljšuje čas do prve preveze. Poleg tega ima protimikrobni učinek in dodatno stabilizira kateter na mestu vstavitve.
- Cianoakrilatno lepilo se običajno spontano odluči v nekaj dneh. Aktivno mehansko odstranjevanje ni priporočljivo zaradi tveganja za poškodbo kože, razen če je lepilo že delno odstopilo.
- V primeru obstojnega ostanka cianoakrilatnega lepila se lahko za mehčanje robov uporabi majhna količina sterilnega parafinskega olja, ki se nanese na robove lepila. Priporočljivo je počakati 1-2 minuti, da se lepilo zmehta.
- Za stabilizacijo in zmanjšanje tveganje za premik PICC katetra se priporoča uporabo brezšivnega obliža ali podkožnega fiksaterja.
- Menjava brezšivnega obliža je priporočljiva vsakih 7 dni oziroma prej, če je obliž umazan, vlažen ali je popustil.
- Podkožni fiksater je na voljo za katetre velikosti od 3 do 12 Fr in lahko ostane na mestu vstavitve do odstranitve katetra. Njegova glavna prednost je, da dodatno zmanjša tveganje za premik katetra.

Preveza mesta vstavitve PICC katetra

- Preveza se izvaja na 7 dni, kadar je vstopno mesto PICC katetra prekrito s sterilnim transparentnim polprepustnim obližem, oziroma prej, če se obliž odlepi, je vidno umazan, poškodovan ali so prisotni izločki.
- Če je vstopno mesto prekrito z zložencem (npr. zaradi krvavitve ali izcedka), je priporočljivo prevezo opraviti najpozneje po dveh dneh.
- Pri odstranjevanju obliža je priporočljiva uporaba pršila za lažje in neboleče odstranjevanje lepil, saj zmanjšuje nelagodje in tveganje za poškodbo kože.
- Obliž odstranjujemo v smeri proti vstopnemu mestu in se izogibamo hitremu vlečenju.
- Kadar je potrebno neposredno dotikanje mesta vstavitve katetra, je priporočljiva uporaba sterilnega zloženca ali sterilnih rokavic.
- Če pride do delnega izvleka PICC katetra, ga ni priporočljivo potiskati nazaj v žilo, saj bi to povečalo tveganje za okužbo, mehansko poškodbo vene ali katetra ter zmanjšalo varnost infuzijske terapije.
- Za razkuževanje vstopnega mesta in njegove okolice se v klinični praksi najpogosteje uporablja 2 % klorheksidinijev glukonat v 70 % etanolu, saj ima močno antimikrobno delovanje in zmanjšuje tveganje za okužbe.
- Pri bolnikih z alergijo na klorheksidin ali s poškodovano oziroma razdraženo kožo se uporaba 2 % klorheksidinijevega glukonata v 70 % etanolu odsvetuje, saj lahko povzroči draženje ali alergijsko reakcijo.
- V takih primerih se pogosto uporabljajo razkužila na vodni osnovi, ki so varnejša za občutljivo kožo in ne vsebujejo klorheksidina.
- Vstopno mesto PICC katetra pokrivamo s sterilnim transparentnim polprepustnim obližem.
- Pred namestitvijo obliža se lahko uporabi zaščitni film za kožo.
- Še posebej pri onkoloških bolnikih se priporoča uporaba obližev z vpojno hidrogelno blazinico, prepojeno z 2 % klorheksidinom, saj zmanjšujejo tveganje za okužbo. Uporaba teh obližev se odsvetuje pri bolnikih z alergijo na klorheksidin, pri poškodovani ali občutljivi koži ter pri dojenčkih mlajših od dveh mesecev.

Priklop in odklop infuzijskega sistema

- Pri bolnikih, katerih je PICC kateter priklopljen na infuzijski sistem in ga je treba za krajši čas odklopiti ter nato ponovno priklopiti (npr. zaradi določene preiskave ali lažjega transporta), za zapiranje katetra zadostuje 0,9 % NaCl.

- Pri bolnikih, ki prejemajo venozno terapijo večkrat dnevno, ni priporočljivo infuzijskega sistema odklapljati in ponovno priklapljati po vsaki terapiji.
- Vsaka dodatna manipulacija s katetrom ali infuzijskim sistemom povečuje tveganje za kontaminacijo priključkov.
- Infuzijske sisteme, namenjene intermitentnim infuzijam je priporočljivo zamenjati vsakih 24 ur. Enako priporočilo velja tudi za infuzijske sisteme, ki se uporabljajo pri dajanju lipidnih raztopin.

Izobraževanje bolnika in svojcev

Vstopno mesto PICC katetra je priporočljivo vsakodnevno vizualno pregledati in spremljati morebitne znake okužbe, kot so lokalna rdečina, bolečina, oteklina, izcedek ali povišana telesna temperatura. Pozorni moramo biti tudi na znake tromboze, kot so enostranska oteklina roke, občutek napetosti in bolečina. Poleg tega je priporočljivo preverjati, ali je prišlo do povratka krvi v lumen katetra, ter zagotoviti, da obliž ni odlepljen, poškodovan ali prepojen.

Ob tuširanju ali kopanju je priporočljivo celotno mesto vstavitve katetra zaščititi z vodoodporno zaščito, da se prepreči omočenje in posledično povečanje tveganja za okužbo.

Zaključek

Z razvojem sodobne medicine se je povečala potreba po zanesljivih osrednjih venskih pristopih. PICC kateter omogoča varen, dolgotrajen in zanesljiv venski dostop. Pravilna tehnika vstavitve, dosledno rokovanje, natančna oskrba ter dobro poznavanje možnih zapletov omogočajo varno in učinkovito uporabo PICC katetrov v klinični praksi.

Literatura

1. Hoshal VL. Total intravenous nutrition with peripherally inserted silicone elastomer central venous catheters. *Arch Surg.* 1975 (May); 110(5):644-6.
2. Klinični oddelek za otroško hematologijo in onkologijo. Interni informacijski sistem Clinical. Posegi. Univerzitetni klinični center Ljubljana. Dostopano 24. marca 2026.
3. Nickel B, Gorski L, Kleidon T, Kyes A, DeVries M, Keogh S, Meyer B, Sarver MJ, Crickman R, Ong J, Clare S, Hagle ME. Infusion Therapy Standards of Practice, 9th Edition. *J Infus Nurs.* 2024;47(1S Suppl 1):S1-S285.
4. Pittiruti M, Scopettuolo G. The GAVeCeLT manual of PICC and Midline. Indication, insertion, management. Milano: Edra S.p.A.; 2017.

5. Trivedi A, Barton A, Aguado V, Aquino-Guerrero M, Darvill A, Gill A, Hodson J, Sherman J, Wignell A. Guidance for vascular access device flushing and locking in paediatric patients. London: NHS London Procurement Partnership; 2025.

Vstavitev varne atravmatske igle v vensko valvulo (VAP) ali port

Milena Drnovšek

Splošna bolnišnica Novo Mesto

milena.drnovsek@sb-nm.si

Osrednji venski kateter s podkožnim prekatom ali VAP. Namen in uporaba venske valvule je aplikacija sistemske terapije, antibiotikov, hipertoničnih raztopin, parenteralne prehrane, zdravil, infuzij in krvnih derivatov ter odvzem krvi za laboratorijske preiskave, pri čemer je po vseh teh postopkih potrebno prebrizgavanje venske valvule. Predviden čas za izvedbo aktivnosti je 10 do 20 minut.

Aktivnosti ZN lahko po nacionalnem protokolu babiške in zdravstvene nege izvede diplomirana medicinska sestra ali študent zdravstvene nege pod nadzorom mentorja.

Pripomočki potrebni za vstavitev atravmatske igle v vensko valvulo

- sterilni set (šest tamponov, sterilna kompreska z odprtino, sterilna pinceta ali pean, dva preklana zloženca)
- razkužilo za čiščenje vbodnega mesta po standardu (2 % klorheksidin v 70 % izopropilnem alkoholu)
- varna atravmatska igla ustrezne dolžine in debeline
- brezigelni konekt
- 20 ml brizgalka
- sterilna fiziološka raztopina 100 ml
- vbodna igla za sterilno fiziološko raztopino
- sterilne kirurške rokavice
- zaščitna kirurška maska
- polprepusten prozoren obliž za prekrivanje vbodnega mesta
- ledvička
- razkužilo za roke
- koš za neinfektivne odpadke iz zdravstva

Opis posega vstavitve atravmatske igle v vensko valvulo

Poseg izvajamo v dobro osvetljenem prostoru, brez motečih sočasnih aktivnosti, pri čemer zagotovimo zasebnost, ustrezno razsvetljavo in preprečevanje prenosa okužb, povezanih z zdravstvom. Pacientu razložimo postopek ter ga namestimo v polsedeč ali hrbtni položaj, odvisno od lege venske valvule, ter si zagotovimo njegovo privolitev in sodelovanje. Pripravimo vse potrebne pripomočke, preverimo datum sterilnosti in ustvarimo pogoje za nemoten, aseptičen potek dela. Pred pričetkom pregledamo pacientovo knjižico »Venska valvula (dnevnik aktivnosti)«, priporočeno dolžino varne atravmatske igle ter posebnosti pri predhodni oskrbi.

Pregledamo mesto vstavitve in otipamo vensko valvulo. Ocenimo stanje kože, velikost in obliko komore, lego venske valvule ter globino silikonskega septuma glede na površino kože. Okvir igelnega nastavka mora biti pravilno prilegajoč koži.

Postopek začnemo z razkuževanjem in pripravo ustrezno velikega aseptičnega polja. Asistent aseptično odpre 20-mililitrsko brizgalko in jo poda izvajalcu, nato odpre 100-mililitrsko stekleničko sterilne fiziološke raztopine z vbodno iglo ter jo ponudi izvajalcu. Izvajalec z 20-mililitrsko sterilno brizgalko aspirira fiziološko raztopino in jo odloži na sterilni set za vensko valvulo. Asistent sterilno odpre varno atravmatsko iglo in jo poda izvajalcu, ki jo vzame iz ovoja. Izvajalec na napolnjeno brizgalko namesti infuzijski podaljšek varne atravmatske igle, iz sistema iztisne zrak ter zapre stiček na podaljšku, s čimer prepreči zračno embolijo ter lepljenje krvi na stene igle.

Izvajalec otipa silikonski septum pod kožo, ga stabilizira s tremi prsti in varno atravmatsko iglo zbode pravokotno na podlago silikonskega septuma tako, da začuti dno rezervoarja venske valvule. Po odprtju stička z napolnjeno 20-mililitrsko brizgalko aspirira kri v infuzijski podaljšek ter preveri prehodnost in delovanje vstavljene igle.

Pri prebrizgavanju z 20 ml fiziološke raztopine uporabimo tehniko s prekinitvami, saj s tem zagotovimo prehodnost valvule in preprečimo nalaganje fibrinskih oblog na steni katetra. Ob vbrizgavanju zadnjega mililitra fiziološke raztopine hkrati zapremo stiček na infuzijskem podaljšku, ustvarimo pozitiven tlak in preprečimo vdor krvi v konico katetra. Varno atravmatsko iglo fiksiramo s polprepustnim prozornim obližem, ki omogoča nadzor nad vbodnim mestom ter prepreči izpad igle. Na podaljšek igle namestimo brezigelni konekt.

Vstavitve dokumentiramo v knjižico »Venska valvula (dnevnik aktivnosti)« in s tem zagotovimo sledljivost, kakovost ter kontinuiteto zdravstvene nege.

Diplomirana medicinska sestra, ki izvaja poseg, mora imeti ustrezna teoretična in praktična znanja. Varno atravmatsko iglo vedno zbadamo v smeri urinega kazalca, približno 3 mm stran od prejšnjega vboda. Dolžino igle izberemo tako, da se okvir igelnega nastavka pravilno prilega koži, debelina igle pa mora ustrezati terapiji, ki jo pacient prejema. Če okvir ne leži ob koži, podložimo

enega do dva preklana zloženca iz seta, da preprečimo premikanje in izpad igle; po potrebi okoli igle namestimo klorheksidinski disk. Zdravnik se lahko odloči za vstavev venske valvule, primerne za MR ali CT, kar je dokumentirano v pacientovi knjižici; v tem primeru uporabimo posebno varno atravmatsko iglo (»power injectable«), ki prenese večje pritiske.

Pri prebrizgavanju venske valvule ne uporabljamo brizgalk manjših od 10 ml, saj manjše brizgalke ustvarijo višji tlak, kar lahko povzroči poškodbo, premik ali dekonekcijo katetra. Pri prebrizgavanju uporabljamo push-pause tehniko ter ob koncu posega ustvarimo pozitiven pritisk s pomočjo brizgalke in stiščka, da preprečimo vdor krvi v konico katetra.

V primeru odsotnosti refluksa krvi pacient spremeni položaj telesa (na levi ali desni bok), globoko vdihne ali zakašlja. Če refluksa kljub temu ne dobimo, kontaktiramo zdravnika ali izkušeno diplomirano medicinsko sestro, ki dobro pozna rokovanje z valvulami. Varno atravmatsko iglo z brezigelnim konektom menjamo vsakih sedem dni. Pred in po vsaki aplikaciji preverimo refluks krvi ter aktivno prebrizgamo vensko valvulo z 20 ml sterilne fiziološke raztopine s tehniko s prekinitvami in pozitivnim pritiskom, kar dokumentiramo. Če pacient ne prejema več zdravljenja, je potrebno vensko valvulo prebrizgati na osem tednov, da se zagotovi njena prehodnost. Vse aktivnosti, povezane z vensko valvulo, dokumentiramo v knjižico »Venska valvula (dnevnik aktivnosti«).

Literatura

1. Onkološki inštitut Ljubljana. Standardni postopki medicinskih sester v zvezi z venskim podkožnim prekatom – venska valvula. Ljubljana: Onkološki inštitut Ljubljana; 2007.
2. Onkološki inštitut Ljubljana. Venska valvula – dnevnik aktivnosti. Umičević S, odgovorna urednica. Ljubljana: Onkološki inštitut Ljubljana; 2021.
3. Smiths Medical. Navodila za uporabo. Smiths Medical; 2025.
4. Zbornica zdravstvene in babiške nege Slovenije – Zveza strokovnih društev medicinskih sester, bobic in zdravstvenih tehnikov Slovenije. Nacionalni protokol aktivnosti zdravstvene in babiške nege: vstavev varne atraumatske igle v vensko valvulo. Ljubljana: Zbornica zdravstvene in babiške nege Slovenije; 2023.

Dokumentacija pri avtologni in alogenski presaditvi krvotvornih matičnih celic

Irena Katja Škoda Goričan,
Univerzitetni klinični center Ljubljana, Interna klinika, KO za hematologijo
irena.skoda@kclj.si

Zdravljenje s presaditvijo krvotvornih matičnih celic (PKMC) je večstopenjski postopek, ki obsega predpripravo, zdravljenje ter doživljenjsko spremljanje uspešnosti zdravljenja. Predpriprava vključuje izvedbo preiskav za oceno primernosti kandidata, predstavitev postopka presaditve, razgovor ter uvrstitev na čakalno listo za presaditev krvotvornih matičnih celic. Za vključitev bolnika na čakalno listo je potrebno sodelovanje zaposlenih na Kliničnem oddelku za hematologijo (KOH), v perifernih bolnišnicah, na Onkološkem inštitutu ter na Zavodu RS za transfuzijsko medicino (ZTM). Bolnikova dokumentacija se do presaditve vodi v njegovi osebni mapi, ki se nahaja v pisarni koordinatorja za presaditve.

Dokumentacijo pošljete po pošti na naslov:

Klinični oddelek za hematologijo
Koordinator za presaditve
Univerzitetni klinični center Ljubljana
Zaloška 7
1000 Ljubljana

Datum razgovora z zdravnikom in medicinsko sestro določimo v dogovoru z bolnikom po prejemu dokumentacije. Soglasje bolniki podpišejo na KOH po uradnem razgovoru.

Za mladoletno ali opravično nesposobno osebo privolitev podpiše starš, skrbnik oziroma pooblaščen oseba ter zdravnik na Kliničnem oddelku za hematologijo.

Predstavitev bolnika

	Avtologna PKMC	Alogenska PKMC
OB 1556 Prijava na postopek presaditve KMC	X	X
Dekurzus bolezni* (periferne bolnišnice in Onkološki Inštitut (OI), za KOH so podatki v Hipokratu)	X	X
Izpis iz registra SRHN (za bolnike z Desiminiranim plazmocitomom (DP) iz perifernih bolnišnic)	X	
Izvid seroloških preiskav** : HBsAg, anti-HBc, anti-HCV, anti-HIV+p24Ag, anti-Treponema pallidum	X	X
Izvid seroloških preiskav** : anti-HAV IgG in IgM, anti-HBe in anti-HBs, anti-CMV IgG in IgM, anti-Toxoplasma IgG in IgM.		X
Izvid krvne skupine ABO in RhD	X	X
Izvid EKG***	X	X
Izvid UZ srca***	X	X
Izvid spirometrije***	X	X
Izvid difuzijske kapacitete (DLco)***	X	X
Izvid citogenetike ob diagnozi (velja le za periferne bolnišnice, za KOH so podatki v Hipokratu)	X	X
Izvid histološkega izvida ob diagnozi (velja samo za OI)	X	X
Hemogram z DKS	X	X
Biokemične preiskave : elektroliti, testi za oceno jetrne in ledvične funkcije	X	X
Proteinogram ((za bolnike z DP)	X	
Potrdilo o e-napotnici (velja za periferne bolnišnice in OI)	X	X

* točna diagnoza (vključno histološka, imunološka in klinična klasifikacija), datum ugotovitve bolezni, dosedanje zdravljenje (datum začetka, vrsta in število krogov zdravljenja) ter stanje bolezni pred zbiranjem KMC;

**do 30 dni stari izvidi;

***do 3 mesece stari izvidi.

Razgovor

	Avtologna PKMC	Alogenska PKMC
OB 7363 Izjava o poučenosti in soglasje za zdravljenje z alogensko PKMC in DLI		X
OB 7364 Izjava o poučenosti in soglasje za darovanje avtolognih KMC in zdravljenje z avtologno PKMC	X	
OB 1555 Privolitev za posredovanje medicinskih podatkov registru EBMT	X	X
OB 1561 Razgovor MS z bolnikom pred sprejemom za zdravljenje s PKMC/CAR-T	X	X
Zahtevak za terapevtsko storitev in procesiranje celic za klinično uporabo (obrazec Zavoda za transfuzijsko medicino (ZTM))	X	

- Test nosečnosti (za ženske v rodni dobi; do 7 dni pred stimulacijo oz. kondicioniranjem)

- Psihološka ocena (opcijsko)

Od datuma izvida seroloških preiskav do pričetka zbiranja celic kostnega mozga ne sme preteči več kot mesec dni.

Bolnik ob razgovoru prejme navodila:

- NP 0537 Kratka navodila bolniku pred presaditvijo krvotvornih matičnih celic
- NP 1390 Obsevanje celega telesa
- NP 0533 Skrb za ustno votlino
- NP 0539 Kratka navodila bolnikom ob sprejemu v bolnišnico
- NP 1379 Navodila in informacije svojcem ob sprejemu
- NP 1546 Navodila sorodnim darovalcem krvotvornih matičnih celic (alogenska sorodna PKMC)
- NP 1399 Cepljenje bolnikov po presaditvi celic kostnega mozga (v hematološki ambulanti)

Uvrstitev na čakalno listo

	Avtologna PKMC	Alogenska PKMC
Izvid zbiranja KMC	X	
Izvid potrditvene HLA tipizacije		X
OB 1557 Izjava o poučenosti in soglasje za darovanje KMC (samo v primeru sorodne presaditve)		X
OB 7363 Izjava o poučenosti in soglasje za zdravljenje z alogensko PKMC in DLI		X
OB 7364 Izjava o poučenosti in soglasje za darovanje avtolognih KMC in zdravljenje z avtologno PKMC	X	

Dodatna dokumentacija:

Napotnice za/od ZTM-oddelek za terapijske storitve (OTS):

- Naročilnica za eritrocitne imunohematološke preiskave
- Naročilnica za tipizacijo HLA in ugotavljanje tkivne skladnosti (alogenska PKMC)
- Zahtevek za terapijsko storitev in procesiranje celic za klinično uporabo (pred prvim pregledom na ZTM)
- Poročilo o odvzemu in obdelavi celičnega pripravka (po zbiranju na ZTM, poslano po elektronski pošti na KOH)
- Naročilnica za izdajo celičnih pripravkov (ob sprejemu na presaditev na KOH, poslano po cevni pošti na OTS)

Literatura

1. Pravilnik o načinu delovanja in pogojih za razvoj nacionalnega programa zdravljenja s presaditvijo krvotvornih matičnih celic in o načinu delovanja registra nesorodnih dajalcev krvotvornih matičnih celic. Uradni list RS. 2003;75/2003, 56/2015.
2. Pravilnik o darovanju in pridobivanju človeških tkiv in celic. Uradni list RS. 2008;70/2008, 67/2014, 79/2014.
3. Sureda A, Corbacioglu S, Greco R, Kröger N, Carreras E, editors. The EBMT Handbook: Hematopoietic Cell Transplantation and Cellular Therapies. Cham: Springer International Publishing; 2024. doi:10.1007/978-3-031-44080-9.
4. SOP 0223. Uvrščanje bolnikov na čakalno listo in sprejem. [interni dokument].

Proces iskanja darovalca krvotvornih matičnih celic

Sendi Montanič, Sabina Kunilo Jamnik

Zavod Republike Slovenije za transfuzijsko medicino, Šljajmerjeva ul. 6, 1000 Ljubljana

sendi.montanic@ztm.si, sabina.kunilo@ztm.si

V sedemdesetih letih prejšnjega stoletja je postajala presaditev krvotvornih matičnih celic (PKMC) vse bolj uspešen način zdravljenja predvsem levkemij in sorodnih malignih krvnih bolezni. Želja pomagati bližnjemu z darovanjem krvotvornih matičnih celic (KMC) pa žal vedno ne zadostuje za uspešno presaditev. Predpogoj za darovanje je namreč, da med prejemnikom in darovalcem ni neskladnosti v tkivnih antigenih imenovanih humani levkocitni antigeni (HLA). Slednje nosimo na večini svojih celic, vendar iz zgodovinskih razlogov poimenovanje »levkocitni antigeni« ohranjamo, saj so jih prvič odkrili prav na levkocitih. Skupek tkivnih antigenov ali genskih različic HLA vsake osebe imenujemo tip HLA. Dve naključni osebi, ki nista v sorodu, imata zelo redko enak tip HLA, torej je verjetnost, da bosta tkivno skladni, majhna. Lahko pa pričakujemo, da si bosta osebi iste rase, še bolj pa narodnosti med seboj bolj podobni, kot osebi različnih ras ali narodnosti.

Neskladnost v tkivnih antigenih HLA (Human Leukocyte Antigens) je tako bila eden izmed poglavitnih razlogov, da veliko bolnikov ni imelo primerne darovalca. Zato ne preseneča dejstvo, da so starši dečka Simona Bostica, ki mu je življenje lahko rešila le presaditev KMC, prišli na zamisel, da bi iskali darovalca tudi med nesorodniki. Zdravniki so staršema Londončana Simona povedali, da nihče izmed družinskih članov ni primeren darovalec KMC zanj in da njihov sin lahko preživi le s pomočjo presaditve KMC. Simonova mati Elisabeth je v obupu poiskala pomoč pri medijih, da bi spodbudili možne darovalce. V dveh mesecih se je prijaviло več tisoč ljudi, da bi jih testirali in ugotovili ali so primerni darovalci za Simona. Zgodilo se je neverjetno, eden izmed njih je bil res ustrezen in leta 1973 so v Angliji pri Simonu opravili prvo uspešno presaditev KMC nesorodnega darovalca na svetu. Na podlagi Simonove izkušnje je že naslednje leto v Angliji začel nastajati prvi register nesorodnih darovalcev KMC Anthony Nolan Bone Marrow Donors, ki ga je ustanovila mati obolelega Anthony-ja, ki je upala, da bo Simonova izkušnja lahko pomagala tudi Anthony-ju. Postopoma so podobni registri začeli nastajati tudi drugod po svetu. Da bi bolnikom dali čim večjo možnost najti tkivno skladnega darovalca, so se leta 1988 na pobudo prof. Jona van Rooda posamezni registri združili v svetovni register Bone Marrow Donors Worldwide (BMDW), danes World Marrow Donor Association (WMDA). Gre za organizacijo, ki vodi zbirko tipov HLA nesorodnih darovalcev in enot popkovnične krvi z vsega sveta in deluje na neprofitni osnovi kateraga sedež je v Leidnu na Nizozemskem. Danes WMDA združuje več kot 44 milijonov nesorodnih darovalcev in enot popkovnične krvi.

Slovenski register prostovoljnih nesorodnih darovalcev KMC Slovenija Donor (SD) je bil ustanovljen konec leta 1991 na pobudo prof. dr. Mateje Bohinjec v okviru Centra za tipizacijo tkiv

pri Zavodu Republike Slovenije za transfuzijsko medicino v Ljubljani (ZTM). Leta 1992 je postal polnopravni član svetovnega registra. Na Hematološkem oddelku Univerzitetnega kliničnega Centra (UKC) v Ljubljani so leta 2002 opravili prvo presaditev kostnega mozga nesorodnega darovalca, pri kateri je sodeloval tudi register Slovenija Donor, ki ga danes sestavlja skoraj 25000 darovalcev in nekaj več kot 300 enot popkovnične krvi.

V slovenskem transplantacijskem programu, tako kot tudi drugje v svetu, bolniku najprej iščemo ustreznega darovalca v njegovi ožji, če je potrebno tudi v njegovi širši družini. Kadar poznamo tipe HLA staršev in potomcev, lahko s pomočjo družinske analize ugotovimo vzorec dedovanja v družini, tako da določimo gene HLA, ki jih je posameznik podedoval od matere (prvi haplotip) in od očeta (drugi haplotip). Teoretično lahko identičnega sorojenca pričakujemo v 25% družin z dvema otrokoma. Za približno 75% bolnikov, ki v družini nimajo ustreznega darovalca KMC, iščemo tkivno skladnega nesorodnega darovalca. Bolniku in možnemu nesorodnemu darovalcu določimo tip HLA na visoki stopnji ločljivosti. Ujemanje v 10 od 10 alelov HLA-A, B, C, DR in DQ močno izboljša preživetje bolnika. Idealni darovalec je monozigotni dvojček, temu sledi glede na gene HLA bolniku identičen sorojenec, naslednja izbira je sorodni in za njim nesorodni darovalec s čim boljšim ujemanjem v genih HLA.

Iskanje nesorodnega darovalca KMC za slovenske bolnike vedno pričnemo v domačem registru, nadaljujemo pa v WMDA. Iskanje ustreznega darovalca med več kot 44 milijoni vpisanih v svetovnem registru je lahko hitro ali zelo zapleteno in dolgotrajno, vedno pa je podprto z računalniškim programom, ki ga zagotavlja WMDA in kasneje posamezni registri, od koder so možni izbrani darovalci. Pri slovenskih bolnikih s tipi HLA, ki se pogosto pojavljajo v populaciji oseb evropskega izvora, je iskanje darovalca navadno zelo hitro. Zapleti pa se pojavijo pri bolnikih z redkim tipom HLA. Največ slovenskih darovalcev je darovalo ravno za slovenske bolnike. Eden izmed razlogov za to so značilni vzorci tipov HLA, ki jih opazimo v slovenski populaciji. Zato ima naš nacionalni register prav poseben pomen.

Darovalci v WMDA, ki so iz različnih nacionalnih registrov, imajo tipe HLA določene na različnih stopnjah ločljivosti tipizacije, nekaj jih ima visoko, nekaj nizko, nekaj pa vmesno stopnjo. Hitrost, s katero lahko za določenega bolnika najdemo darovalca je tako odvisna tudi od stopnje ločljivosti tipizacije darovalca v registru. Nižja kot je stopnja ločljivosti tipizacije, več časa bomo porabili za dodatne manjkajoče tipizacije HLA, ki jih naročamo pri registru iz katerega je darovalec. Pri nepopolno tipiziranih darovalcih nam je v veliko pomoč znanje populacijske genetike sistema HLA. Predvideti moramo, pri katerem darovalcu lahko pričakujemo, da se bodo manjkajoči deli tipa HLA skladali z bolnikovim. Veliko podporo pri tem nam nudijo računalniški programi. Predvsem ameriški nacionalni register daje svoje programe brezplačno na razpolago vsem drugim registrom. Zaključimo lahko, da je medsebojno povezovanje in sodelovanje med registri, ključnega pomena za uspešno in hitro pot do bolniku ustreznega darovalca.

Literatura

1. Dehn J, Spellman S, Hurley CK, Shaw BE, Barker JN, Burns LJ, et al. Selection of unrelated donors and cord blood units for hematopoietic cell transplantation: guidelines from the NMDP/CIBMTR. *Blood*. 2019;134(12):924-934.
2. Little AM, Akbarzad-Yousefi A, Anand A, Diaz Burlinson N, Dunn PPJ, Evseeva I, et al. BSHI guideline: HLA matching and donor selection for haematopoietic progenitor cell transplantation. *Int J Immunogenet*. 2021;48(2):75-109.
3. Sureda A, et al. *The EBMT handbook*, 2024.

Postopki zbiranja avtolognih krvotvornih matičnih celic

Sara Kos

Univerzitetni klinični center Ljubljana

sara.kos@kclj.si

Krvotvorna matična celica (KMC), hematopoetska matična celica ali hemocitoblast je multipotentna matična celica, iz katere nastajajo vse krvne celice, tako mieloične (monociti, makrofagi, granulociti, rdeče krvničke, megakariociti/krvne ploščice) kot limfocitne (limfociti T in B, naravne celice ubijalke). Glede na to delimo KMC na multipotentne matične celice mieloične vrste (MMC-M) ter multipotentne matične celice limfatične vrste (MMC-L). Krvotvorne matične celice so primitivne pluripotentne celice s sposobnostjo samoobnovitve in diferenciacije v vse vrste krvnih celic.

Krvotvorne matične celice se pri odraslih nahajajo v kostnem mozgu (predvsem v medenici, prsnici, rebrih, proksimalnih delih nadlahti in stegenice). Matične celice, ki smo jih zbrali iz kostnega mozga, so bile dolgo edini dostopni vir za zdravljenje. Krvotvorne matične celice lahko odvzamemo neposredno iz kostnega mozga kolčnice ali jih po mobilizaciji ujamemo iz perifernega krvnega obtoka. Bolnik pred odvzemom iz krvnega obtoka prejme citokine, na primer granulocitne kolonije spodbujajoči faktor (G-CSF), ki spodbudijo, da se matične celice sprostijo iz kostnega mozga v krvni obtok. Zaradi zamudnosti postopka klasičnega zbiranja iz kostnega mozga, splošne anestezije in možnih zapletov (okužb) na mestu odvzema se je hitro uveljavilo zbiranje krvotvornih matičnih celic iz periferne krvi. Ta način se je najprej uveljavil pri avtolognih presaditvah, kasneje pa tudi pri alogeničnih. Danes pri odraslih opravimo več kot 90% presaditev z matičnimi celicami zbranimi iz periferne venske krvi, še vedno pa uporabljamo matične celice iz kostnega mozga pri alogenični presaditvi pri otrocih. KMC se v velikem številu nahajajo tudi v posteljici (placenti) in popkovnični krvi. Celice zberejo po rojstvu placentne iz popkovnične vene. Postopek je povsem nenevaren tako za otroka kot mamo. Celice lahko hranijo v javni banki in so tako namenjene za alogenično presaditev kateregakoli bolnika, lahko pa jih starši hranijo v komercialni banki za potencialno kasnejšo uporabo pri svojem otroku. Ker je število matičnih celic zbranih iz placentne za zdravljenje odraslih bolnikov praviloma premajhno, tak vir uporabljamo pri odraslih le izjemoma.

Zbiranje krvotvornih matičnih celic mora potekati v skladu s standardnimi operativnimi postopki, ki zagotavljajo maksimalno varnost dajalca in zadostno število zbranih krvotvornih matičnih celic. Za izvedbo zbiranja je odgovoren zdravnik, ki vodi postopek zbiranja.

KMC imajo na svoji površini CD 34+ imunološki označevalec. Mobilizacija oz. zadostno število CD34+ celic v periferni krvi je pogoj za zbiranje matičnih celic iz periferne krvi. Ciljna vrednost se razlikuje glede na vrsto presaditve (avtologna ali alogenska), vir KMC in same bolezni. Za popolno obnovo hemopoeze pri prejemniku zadošča manj kot 10 % "darovalčevega kostnega mozga" ali 2×10^6 CD 34 pozitivnih KMC/kg prejemnikove teže. Mobilizacijo izvedemo z uporabo G-CSF, torej rastnega dejavnika, ki spodbuja razmnoževanje granulocitne celične linije. Ta postopek uporabljamo tako pri zdravih darovalcih kot pri bolnikih. Pri bolnikih lahko izvedemo tudi kemomobilizacijo, to je postopek, kjer pred začetkom stimulacije z G-CSF uvedemo še kemoterapijo. Za ta postopek se odločimo pri bolnikih po predhodnem neuspešnem zbiranju samo z G-CSF. V določenih primerih, ko ne dosežemo zadostnega števila CD34+ celic iz periferne krvi, lahko uporabimo pleriksafor, to je zdravilo, ki pospešuje mobilizacijo. Pleriksafor lahko uporabimo v kombinaciji samo z G-CSF ali skupaj s kemomobilizacijo. Ob zadostnem porastu CD34+ celic gre darovalec na zbiranje (levkaferozo), ki poteka na Zavodu za transfuzijsko medicino (ZTM) na Oddelku za terapevtske storitve (OTS).

Slab mobilizator je darovalec z:

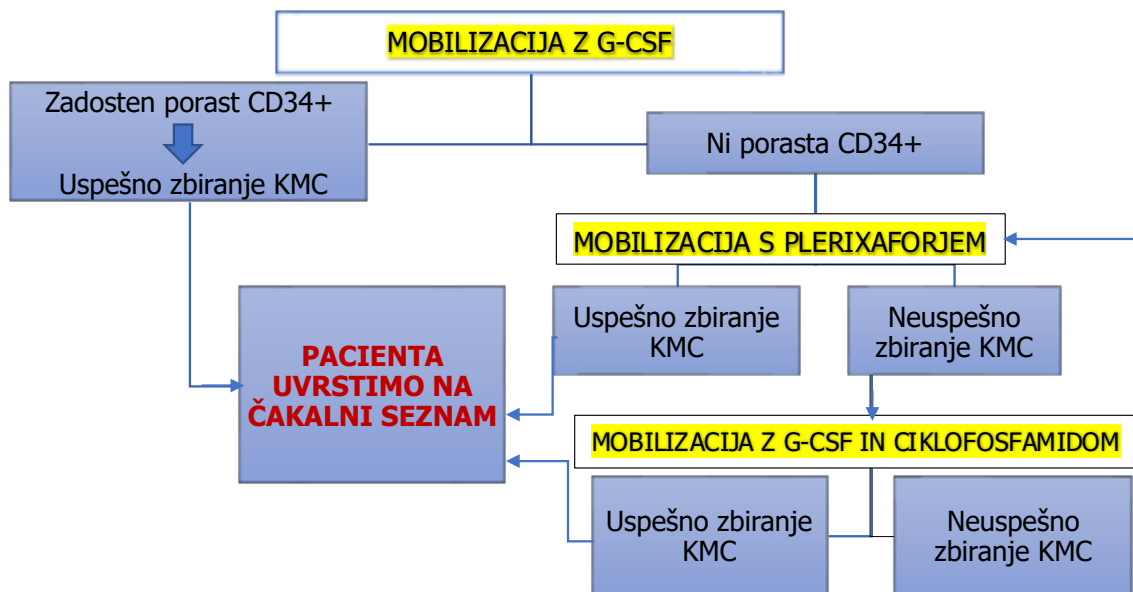
- neuspelo predhodno mobilizacijo,
- nezadostnim zbranim številom perifernih KMC za eno presaditev krvotvornih matičnih celic (PKMC) ali
- nezadostno ravno celic CD34+ v krvi za pričetek zbiranja v postopku mobilizacije.

Dejavniki, povezani z manj uspešno mobilizacijo:

- predhodna kemoterapija: vrsta, število ciklov, trajanje zdravljenja,
- predhodno obsevanje kostnega mozga,
- nizko število trombocitov pred mobilizacijo,
- zdravljenje s purinskimi analogi (fludarabin) in/ali z alkilirajočimi agensi (melfalan) in/ali z lenalidomidom,
- limfomski infiltrat v kostnem mozgu in/ali
- nizko število CD34+ med mobilizacijo (je premo sorazmerno številu CD34+ pri levkaferezi; < 10 celic/ μ L)

Način mobilizacije, datum zbiranja, ciljno število celic za presaditev in število predvidenih presaditev določi in predpiše specialist hematolog.

Shema mobilizacije z G-CSF, plerixaforjem in ciklofosfamidom



Mobilizacija KMC z G-CSF

Mobilizacija z G-CSF (filgrastim) je običajno prva izbira pri darovalcih za avtologno PKMC. Darovalec za avtologno presaditev prevzame zdravilo filgrastim v lekarni na podlagi izdanega e-recepta, uporablja se generično zdravilo. Darovalec si filgrastim v obliki subkutane injekcije aplicira vsak dan zjutraj ob isti uri (običajno ob 6. uri). Na dan pričakovanega porasta CD34+ celic v periferni krvi (mobilizaciji), to je na 4. ali 5. dan po začetku aplikacije G-CSF, določamo število CD34+ celic. Pomembno je, da se zdravilo aplicira eno uro pred odvzemom krvi za določitev števila CD34+ celic oz. dve uri pred začetkom zbiranja. Darovalec za avtologno PKMC pride na zbiranje že 4. ali 5. dan mobilizacije, po potrebi lahko z mobilizacijo nadaljujemo še 1-2 dni. Zdravnik darovalca na razgovoru obvesti o pričakovanih sopojavaх filgrastima. Ti so gripi podobni simptomi (bolečine v mišicah in kosteh, glavobol, lažja slabost in splošna utrujenost). Za lajšanje simptomov naj po potrebi uporablja protibolečinska zdravila, npr. paracetamol, in se izogiba zdravilom, ki vplivajo na strjevanje krvi (npr. Aspirin). V primeru hujše bolečine v trebuhu, prsnem košu ali drugih resnih sopojavaх se preko telefonskega pogovora posvetuje s hematologom. Simptomi navadno izzvenijo v dnevu do dveh po zadnjem odmerku zdravila.

Ob določitvi datuma odvzema PKMC koordinator za presaditve o načrtovanem zbiranju obvesti osebje Zavoda za transfuzijsko medicino (ZTM), oddelek za terapevtske storitve (OTS), Specializirani hematološki laboratorij (SHL) in sprejemno pisarno hematološke ambulante.

Na dan zbiranja se darovalec ob sedmi uri zjutraj zgasi v sprejemni pisarni hematološke ambulate za oddajo vzorca krvi za določitev števila CD34+ celic, po odvzemu bolnik odide na OTS, ZTM, kjer čaka na pričetek zbiranja. SHL obvesti hematologa, ki je odgovoren za darovalca in transfuziologa na OTS o številu krvotvornih matičnih celic, na podlagi izvida se odločijo ali bo darovalec pričel z zbiranjem ali se prestavi zbiranje na naslednji dan ob dodatni mobilizaciji.

V primeru da je število celic CD34+ v periferni krvi:

$\geq 20 \times 10^6/L$: darovalec prične z zbiranjem.

$10-20 \times 10^6/L$: za zbiranje se odločimo glede na lastnosti darovalca in predvideni načrt zdravljenja.

$< 10 \times 10^6/L$: nadaljnja mobilizacija z G-CSF ali z G-CSF + plerixafor

Mobilizacija KMC s ciklofosfamidom in G-CSF

Bolnika sprejmemo v bolnišnico praviloma na četrtek in mu vstavimo periferno vstavljen osrednji venski kateter. Postopek pričnemo v petek po predhodni hidraciji (z dodanim kalijem v infuzijski raztopini). Tekom hidracije spremljamo diureze in jih merimo na štiri ure. V primeru zmanjšanih diurez ($< 200 \text{ mL/h}$) apliciramo 20 mg Edemida i.v. Bolnik prejme tudi zaščito sečil pred toksičnim učinkom ciklofosfamida v obliki mesne (2-merkaptotetansulfonat natrija), ki jo apliciramo istočasno v dveh infuzijah. Prvo infuzijo apliciramo v 30 minutah, drugo bolnik prejema 24 ur. 30 minut pred pričetkom infuzije mesne bolniku apliciramo antiemetik (setronon; v primeru večjega tveganja za emezo dodamo tudi deksametazon), 30 minut po pričetku infuzije prve doze mesne sledi ciklofosfamid. Popoldne istega dne kontroliramo elektrolite in jih po potrebi korigiramo. Dan po prejemu ciklofosfamida, bolniku preverimo krvno sliko in elektrolite ter ga odpustimo iz bolnišnice. Doma profilaktično prejema levofloksacin in flukonazol do zbiranja krvotvornih matičnih celic. Na peti dan po ciklofosfamid bolnik začne z dnevnimi jutranjimi aplikacijami G-CSF ob isti uri. Na enajsti dan po kemoterapiji oziroma sedmi dan zdravljenja z G-CSF pričakujemo uspešno mobilizacijo. Bolnik se ob 7.00 zgasi v hematološki ambulanti na odvzem krvi za določitev števila CD34+ celic in nato odide na zbiranje.

Mobilizacija KMC z dodatkom plerixaforja

Za mobilizacijo KMC z dodatkom plerixaforja se odločimo, kadar zbiranje z G-CSF ali G-CSF s ciklofosfamidom ni bilo uspešno oz. pri pričakovani težji mobilizaciji. Postopek zbiranja začnemo z G-CSF, vsak dan zjutraj ob isti uri. Prvi pregled krvi za določitev števila celic CD34+ je 4. oz. 5. dan. V primeru, da je bolnik slab mobilizator, mu še isti dan, zvečer ob 22. uri predpišemo še plerixafor. Naslednje jutro prejme G-CSF prične z zbiranjem. Nadaljevanje mobilizacije s plerixaforjem in z G-CSF lahko nadaljujemo še tri dni. Pri vrednostih očistka kreatinina $\leq 50 \text{ mL/min}$, zmanjšamo odmerek plerixaforja za eno tretjino.

Mobilizacija KMC s citarabinom in drugimi kemoterapijami

Obstaja tudi možnost kemomobilizacije med kemoterapijskim zdravljenjem z različnimi protokoli. Ta oblika mobilizacije se najpogosteje uporablja pri bolnikih z limfomom. V tem primeru bolnik po končanem zadnjem ciklu zdravljenja začne prejemati filgrastim in nato prične z zbiranjem. V določenih primerih se odločimo za mobilizacijo s citarabinom, v tem primeru citarabin ne služi kot zdravljenje, temveč kot sredstvo za kemomobilizacijo, podobno kot ciklofosamid.

Zaključek

Učinkovita mobilizacija in zbiranje krvotvornih matičnih celic zahtevata natančno načrtovanje, dosledno izvajanje strokovnih postopkov ter stalno presojo hematologa glede optimalnega pristopa za posameznega darovalca ali bolnika. Uspešnost mobilizacije KMC je odvisna od številnih dejavnikov, med drugim od predhodnih zdravljenj in bolnikovega zdravstvenega stanja, zato je izbor metode mobilizacije vedno individualno prilagojen. Uporaba G-CSF, kemomobilizacije in pleriksatorja omogoča pridobitev zadostnega števila CD34+ celic tudi pri darovalcih ali bolnikih z večjimi izzivi pri mobilizaciji. Celoten proces zahteva natančno načrtovanje, multidisciplinarno sodelovanje in dosledno upoštevanje strokovnih smernic, kar zagotavlja varnost darovalca ter optimalne pogoje za uspešno zdravljenje prejemnika.

Literatura

1. Krašna, M., Maličeva, E., Jež, M., Nunar Perko, A. in Cukjati, M. (2014). Kakovost odmrznjenih pripravkov krvotvornih matičnih celic za presaditev. Zdravniški vestnik, 84(6), str. 432-438.
2. Pravilnik o postopkih zbiranja, shranjevanja in uporabe krvotvornih matičnih celic. Uradni list RS, ŠT. 104/03 IN 56/16. Objavljeno 27.10.2003.
3. Rener, K. (2013). Zdravljenje hematoloških bolnikov s presaditvijo krvotvornih matičnih celic. Sodobni pristopi pri zdravljenju s krvjo, celicami in tkivi, str. 97-100.
4. Standardni operativni postopek 0220. Mobilizacija KMC. Ljubljana: Univerzitetni klinični center Ljubljana.

Hemofilija in spremljanje kakovosti življenja pri novi obliki zdravljenja

Tina Sobotič, Irena Preložnik Zupan,
Klinični oddelek za hematologijo, Univerzitetni klinični center Ljubljana
tina.sobotic@gmail.com; irena.zupan@kclj.si

Hemofilija in sodobni cilji zdravljenja

Hemofilija je redka dedna motnja strjevanja krvi, ki nastane zaradi pomanjkanja koagulacijskih faktorjev. Najpogostejši obliki bolezni sta hemofilija A, pri kateri gre za pomanjkanje faktorja VIII (FVIII), in hemofilija B, pri kateri je prizadet faktor IX. Pri bolnikih so pogoste krvavitve v sklepe in mišice, kar lahko vodi v kronično hemofilno artropatijo, funkcionalno omejenost in zmanjšano kakovost življenja.

Osnovni cilj sodobne obravnave bolnikov s hemofilijo danes je preprečevanje krvavitev ter ohranjanje funkcionalnega statusa in kakovosti življenja. Z uvedbo profilaktičnega nadomeščanja manjkajočih koagulacijskih faktorjev so se zdravstveni izidi bolnikov v zadnjih desetletjih pomembno izboljšali. Sodobni terapevtski pristopi bolnikom omogočajo večjo samostojnost, boljšo telesno zmogljivost ter daljšo pričakovano življenjsko dobo. Profilaktično zdravljenje, ki je danes standard v razvitih državah, omogoča življenje z minimalnimi omejitvami in predstavlja pomembno merilo uspešnosti zdravljenja (1,2).

Kljub pomembnemu napredku pa hemofilija ostaja kronična bolezen, ki vpliva na telesno, psihološko in socialno funkcioniranje bolnikov. Zato je poleg preprečevanja krvavitev vse večji poudarek namenjen tudi spremljanju z zdravjem povezane kakovosti življenja.

Z zdravjem povezana kakovost življenja pri bolnikih s hemofilijo

Z zdravjem povezana kakovost življenja (angl. health-related quality of life, HRQoL) predstavlja multidimenzionalni koncept, ki vključuje fizične, psihološke in socialne vidike zdravja. Pri bolnikih s hemofilijo je lahko kakovost življenja zmanjšana zaradi kroničnih bolečin, omejene mobilnosti, ponavljajočih se krvavitev ter psihosocialnih dejavnikov, kot sta strah pred krvavitvami in omejena telesna aktivnost.

Spremljanje HRQoL postaja vse pomembnejši del klinične obravnave bolnikov s hemofilijo, saj omogoča celovitejšo oceno uspešnosti zdravljenja. Poleg kliničnih kazalnikov, kot sta pogostost krvavitev in stopnja poškodbe sklepov, HRQoL omogoča vpogled v subjektivno zaznavanje zdravja, vsakodnevno funkcionalnost in socialno vključevanje bolnikov. Tak pristop je še posebej pomemben pri uvajanju novih terapevtskih pristopov, saj omogoča oceno njihovega širšega vpliva na življenje bolnikov (1).

Profilaktično zdravljenje hemofilije

Tradicionalno je bila profilaksa opredeljena kot redno intravensko dajanje koncentrata FVIII z namenom vzdrževanja minimalne ravni faktorja nad 1 %. Vendar so novejša raziskava pokazale, da takšna raven pri vseh bolnikih ne zagotavlja popolne zaščite pred krvavitvami. Subklinične krvavitve lahko namreč povzročajo postopno napredovanje hemofilne artropatije skozi celotno življenjsko obdobje.

Raziskave so pokazale tudi, da vsak dvig izhodiščne ravni FVIII za 1 % zmanjša pogostost krvavitev, spontane krvavitve pa so redke pri ravneh FVIII nad približno 15 % (2). Ti podatki so spodbudili razvoj novih terapevtskih pristopov, katerih cilj je doseči stabilnejšo hemostazo in boljšo zaščito pred krvavitvami.

Nova oblika zdravljenja: emicizumab

Pomemben napredek v zdravljenju hemofilije predstavlja uvedba nefaktorskega zdravila emicizumab. Gre za rekombinantno humanizirano bispecifično monoklonsko protitelo, ki povezuje aktivirani faktor IX in faktor X ter tako funkcionalno nadomešča aktivirani faktor VIII v procesu strjevanja krvi (2).

Emicizumab ima razpolovni čas približno 28 dni in omogoča subkutano aplikacijo enkrat tedensko, enkrat na dva tedna ali enkrat na štiri tedne. Tak način uporabe predstavlja pomembno prednost v primerjavi z intravenskim dajanjem koncentratov FVIII, ki je pogosto potreben večkrat tedensko.

Hemostatski učinek emicizumaba ustreza približno 15-odstotni aktivnosti FVIII. Zdravilo je namenjeno profilaktičnemu zdravljenju in ni indicirano za zdravljenje akutnih krvavitev. Prebojne krvavitve se pri bolnikih brez inhibitorjev zdravijo z rekombinantnim FVIII, pri bolnikih z inhibitorji pa z obvodnimi zdravili, kot je rekombinantni faktor VIIa (2).

Rezultati registracijskih kliničnih raziskav (HAVEN 1–4) so pokazali izrazito zmanjšanje pogostosti krvavitev pri bolnikih, zdravljenih z emicizumabom, tako pri bolnikih z inhibitorji kot tudi pri tistih brez inhibitorjev. Poleg izboljšanja kliničnih izidov so raziskave pokazale tudi pomembno izboljšanje več dimenzij kakovosti življenja, vključno s telesnim zdravjem, mobilnostjo in zadovoljstvom z zdravljenjem (3).

Poleg zdravila emicizumab so v razvoju ali v klinični uporabi tudi druga nefaktorska zdravila, kot so fitusiran (siRNA, ki zmanjšuje antitrombin), concizumab in marstacimab (monoklonsko protitelo proti inhibitorju poti tkivnega faktorja, TFPI), ki predstavljajo nove možnosti profilaktičnega zdravljenja hemofilije (2).

Vpliv novih oblik zdravljenja na kakovost življenja

V zadnjih letih številne raziskave potrjujejo, da nove nefaktorske terapije pomembno izboljšujejo kakovost življenja bolnikov s hemofilijo. Profilaktično zdravljenje z emicizumabom pomembno zmanjša pogostost krvavitev in s tem tudi kronične bolečine ter omejitve v telesni aktivnosti. Posledično se izboljšajo telesna funkcionalnost, socialna vključenost in splošno zaznana zdravje bolnikov.

Pomemben dejavnik izboljšanja kakovosti življenja predstavlja tudi zmanjšanje terapevtskega bremena. Subkutano dajanje zdravila in redkejše odmerjanje bistveno zmanjšata potrebo po pogostih intravenskih aplikacijah, kar je za bolnike in njihove družine pomembna razbremenitev.

Sodobni pristopi zdravljenja hemofilije se zato vse bolj usmerjajo v individualizirano terapijo, katere cilj ni zgolj preprečevanje krvavitev, temveč tudi izboljšanje celostnega življenjskega funkcioniranja bolnikov. V tem kontekstu ima spremljanje HRQoL pomembno vlogo pri oceni učinkovitosti novih terapevtskih pristopov ter pri načrtovanju dolgoročne obravnave bolnikov (3-5).

Perspektive prihodnjega zdravljenja

Z razvojem novih nefaktorskih terapij in naprednih bioloških zdravil se spreminja tudi koncept profilaktičnega zdravljenja hemofilije. Svetovna zveza za hemofilijo (WFH) profilakso danes opredeljuje kot redno dajanje nadomestnega zdravila (intravenozno, subkutano ali na drug način) z namenom preprečevanja krvavitev skozi celotno življenjsko obdobje bolnika (2).

Dolgoročni cilj sodobnega zdravljenja hemofilije je doseči stabilno hemostazo, preprečiti poškodbe sklepov in bolnikom omogočiti aktivno življenje ter kakovost življenja, primerljivo s splošno populacijo.

Literatura

1. Bago M, Butković A, Kotnik BF, Prga I, Vrca VB, Salek SZ, Zupan IP. Health-related quality of life in patients with haemophilia and its association with depressive symptoms: a study in Croatia and Slovenia. *Psychiatr Danub*. 2021;33(3):334–341.
2. Srivastava A, Santagostino E, Dougall A, Kitchen S, Sutherland M, Pipe SW, et al. WFH guidelines for the management of hemophilia, 3rd edition. *Haemophilia*. 2020;26(Suppl 6):1–158.
3. Skinner MW, Négrier C, Paz-Priel I, Chebon S, Jiménez-Yuste V, Callaghan MU, et al. The effect of emicizumab prophylaxis on long-term physical health in persons with

haemophilia A without factor VIII inhibitors in the HAVEN 3 and HAVEN 4 studies. *Haemophilia*. 2021;27(5):854–865.

4. Hermans C, et al. Patient-reported outcomes and quality of life in haemophilia A treated with emicizumab. *Haemophilia*. 2023.
5. Chowdary P, et al. Long-term outcomes and quality of life in patients with haemophilia A receiving emicizumab prophylaxis. *Haemophilia*. 2024.

Zdravstvena nega bolnikov s kroničnim GVHD: od simptomov do podpore

Zvonimir Kralj
Klinični bolnišnični center Zagreb
zvonimirkralj555@gmail.com

Kronična bolezen presadka proti prejemniku (kronični GVHD) predstavlja enega najpomembnejših dolgoročnih zapletov po alogenski presaditvi krvotvornih matičnih celic. Gre za kompleksen, imunološko posredovan proces, ki lahko prizadene več organskih sistemov ter pomembno vpliva na funkcionalni status in kakovost življenja bolnikov. Klinična slika kroničnega GVHD je izjemno raznolika in lahko vključuje spremembe na koži, sluznici ustne votline, očeh, jetrih, prebavnem sistemu, pljučih, mišično-skeletnem sistemu ter genitalni sluznici. Pravočasno prepoznavanje simptomov, sistematično spremljanje bolnikov in ustrezna podpora oskrba so ključni za preprečevanje zapletov in izboljšanje izidov zdravljenja.

Medicinske sestre imajo nepogrešljivo vlogo pri zgodnjem zaznavanju sprememb, stalni oceni simptomov ter izvajanju individualizirane zdravstvene nege. Njihova naloga je prepoznati zgodnje znake prizadetosti posameznih organskih sistemov, oceniti resnost simptomov ter pravočasno obvestiti ostale člane zdravstvenega tima. Medicinska sestra izvaja tudi podporne ukrepe, kot so nega kože in sluznic, vzdrževanje ustne in očesne higijene, spremljanje respiratornih simptomov, preprečevanje okužb ter nadzor nad uporabo in neželenimi učinki imunosupresivne terapije, zlasti kortikosteroidov. Pomemben del vloge medicinske sestre je tudi edukacija bolnikov in njihovih družin o simptomih bolezni, možnih zapletih ter pomenu doslednega jemanja terapije in rednih kontrolnih pregledov.

Cilj prispevka je predstaviti najpogostejše klinične manifestacije kroničnega GVHD ter poudariti vlogo medicinske sestre pri pravočasnem prepoznavanju simptomov in zagotavljanju celovite podporne oskrbe. Poseben poudarek je namenjen praktičnim vidikom ocene bolnika, multidisciplinarnemu sodelovanju ter pomenu edukacije in psihosocialne podpore bolnikom, ki živijo s kroničnimi zapleti po presaditvi.

S pregledom aktualnih priporočil in primerov iz klinične prakse bodo na izobraževanju predstavljene ključne intervencije, ki jih medicinske sestre lahko izvajajo v vsakodnevnem delu z namenom izboljšanja kakovosti življenja bolnikov s kroničnim GVHD. Sistematičen in proaktiven pristop k zdravstveni negi omogoča pravočasno prepoznavanje težav, učinkovitejšo komunikacijo znotraj multidisciplinarnega tima ter boljšo dolgoročno podporo bolnikom po presaditvi.

Literatura

1. Mary E. D. Flowers, Paul J. Martin, How we treat chronic graft-versus-host disease, American Society of Hematology, Blood. 2015
2. National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: IIa. The 2020 Clinical Implementation and Early Diagnosis Working Group Report, Carrie L Kitko, Joseph Pidala, Hélène M. Schoemans, Transplantation and Cellular Therapy, Volume 27, Issue 7, July 2021, Pages 545-557
3. Patient-reported treatment response in chronic graft-versus-host disease, Hildegard T. Greinix, Haematologica, Vol. 109 No. 1, January 2024
4. Jane M Fall-Dickson, Steven Z Pavletic, Jacqueline W Mays, Mark M Schubert, Oral Complications of Chronic Graft-Versus-Host Disease, JNCI Monographs, Volume 2019, Issue 53, August 2019
5. Management of Chronic Graft-Versus-Host Disease, Melissa Baker, Phyllis McKiernan, Clinical Journal of Oncology Nursing. 2011, August 2011, Volume 15, number 4, pages 429 - 432
6. Toward Better Response Assessment of Cutaneous Chronic Graft-Versus-Host Disease: A Report from the National Institutes of Health Consensus Project Task Force, Alina Markova, Stephanie J. Lee, Badri Modi, Transplantation and Cellular Therapy, 2026
7. Task Force position statement on standardized terminology & guidance for graft-versus-host disease assessment, Schoemans HM, Lee SJ, Ferrara JL, Wolff D, Bone Marrow Transplant; 53(11):1401-1415, November 2018

Zdravstvena nega bolnika z akutnim GVHD po alogenski presaditvi krvotvornih matičnih celic

Job Rexal Perez Gaddi
Klinični bolnišnični center Zagreb
job98rexal@gmail.com

Presaditev krvotvornih matičnih celic (PKMC) je kompleksen medicinski postopek, ki se uporablja pri zdravljenju hudih hematoloških bolezni, kot so levkemija, limfomi in aplastična anemija. Poznamo več vrst presaditev – avtologno, alogeno in singeno – izbira pa je odvisna od vrste bolezni ter razpoložljivosti ustreznega darovalca. Postopek presaditve vključuje več faz: pripravo bolnika, iskanje primerne darovalca, kondicioniranje (intenzivna kemoterapija in/ali obsevanje) ter infuzijo matičnih celic.

Akutna bolezen presadka proti gostitelju (aGVHD) je zaplet, ki se pojavi po alogenski presaditvi, ko imunske celice darovalca prepoznajo tkiva prejemnika kot tuja in sprožijo vnetni imunski odziv. Običajno se razvije v prvih 100 dneh po presaditvi in najpogosteje prizadene kožo, jetra in prebavni sistem. Najzgodnejši znak je prizadetost kože, ki se kaže kot makulopapularni izpuščaj, eritem, srbenje in luščenje. Prizadetost jeter se kaže s povišanimi jetrnimi encimi in bilirubinom, kar lahko vodi v zlatenico in okvaro jetrne funkcije. GVHD prebavnega sistema se kaže z navzeo, bolečinami v trebuhu, izgubo telesne teže in drisko, kar lahko povzroči dehidracijo in elektrolitsko neravnovesje.

Zdravstvena nega bolnikov z aGVHD je usmerjena v zgodnje prepoznavanje simptomov, preprečevanje zapletov in podporno zdravljenje. Medicinske sestre imajo ključno vlogo pri stalnem ocenjevanju stanja kože, prebavnih težav, vnosa in izločanja tekočin ter spremljanju jetrnih funkcij. Redno spremljanje vitalnih znakov, pogostosti odvajanja blata in laboratorijskih vrednosti omogoča pravočasno prepoznavanje poslabšanja.

Ukrepi za preprečevanje okužb in napredovanja bolezni so ključni zaradi imunosupresije in splošnega stanja bolnika. Ti vključujejo strogo higieno, izolacijske ukrepe, neutropenično dieto, varno rokovanje s hrano, ustrezno hidracijo, nego kože, izogibanje škodljivim UV-žarkom ter dosledno jemanje predpisanih zdravil po odpustu iz bolnišnice. Psihološka podpora in izobraževanje sta izjemno pomembna elementa celostne oskrbe bolnika. Ustrezna edukacija bolnika in družine mora biti načrtovana po vsakem bolnišničnem zdravljenju. Psihološka podpora je pomembna tudi zaradi izolacije in morebitne anksioznosti med hospitalizacijo. Kontrolni pregledi v dnevni bolnišnici, pogovori s psihologom ter uporaba izobraževalnih spletnih strani in brošur lahko pomembno prispevajo k podpori bolnika.

Zaključno je vloga medicinske sestre v tem procesu izjemno pomembna – ne le v tehničnem in kliničnem smislu, temveč tudi pri zagotavljanju humane, sočutne in na bolnika usmerjene oskrbe.

Literatura

1. The EBMT Handbook: Hematopoietic Cell Transplantation and Cellular Therapies, European Society for Blood and Marrow Transplantation, Springer, 2024
2. Franković S., Zdravstvena njega odraslih, Medicinska naklada, Zagreb, 2010
3. Labar B., Bogdanić V., Transplantacija koštane srži, Jugoslavenska medicinska naklada, Zagreb, 1985
4. EBMT Textbook for Nurses: Haematopoietic Stem Cell Transplantation and Cellular Therapy, European Society for Blood and Marrow Transplantation, Springer
5. Know GVHD, Understanding GVHD, available at: <https://www.know-gvhd.com>
6. Justiz Vaillant AA, Modi P, Mohammadi O., Graft-Versus-Host Disease. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2026 Jan–. PMID: 30855823
7. Cancer Research UK, Preventing graft versus host disease (GVHD), available at: <https://www.cancerresearchuk.org>
8. Penack O, Marchetti M, Aljurf M, Arat M, Bonifazi F, Duarte RF, Giebel S, Greinix H, Hazenberg MD, Kröger N, Mielke S, Mohty M, Nagler A, Passweg J, Patriarca F, Ruutu T, Schoemans H, Solano C, Vrhovac R, Wolff D, Zeiser R, Sureda A, Peric Z. Prophylaxis and management of graft-versus-host disease after stem-cell transplantation for haematological malignancies: updated consensus recommendations of the European Society for Blood and Marrow Transplantation. *Lancet Haematology*. 2024;11(2):e147-e159.

Spremembe krvnih skupin po alogeni presaditvi krvotvornih matičnih celic

Polona Frelih Klanšček

Klinični oddelek za hematologijo, Univerzitetni klinični center Ljubljana

polona.klanscek@kclj.si

Uvod

Presaditev krvotvornih matičnih celic (PKMC) je eden najzahtevnejših terapevtskih posegov v sodobni medicini. Bolnikom, ki bi brez ustreznega zdravljenja pogosto umrli, omogoča realno možnost preživetja in dolgoročnega okrevanja. Postopek izvajamo pri bolnikih z malignimi hematološkimi boleznimi z neugodnim predvidenim potekom, spremljajo pa ga številni zapleti, predvsem okužbe, imunske reakcije in toksičnost, zato predstavlja tudi veliko finančno in organizacijsko obremenitev za zdravstveni sistem.

Slovensko poimenovanje presaditev krvotvornih matičnih celic zajema različne vire krvotvornih matičnih celic (KMC), ki jih lahko pridobimo iz kostnega mozga, periferne krvi ali popkovnične krvi novorojenca. S PKMC lahko številne rakave in nerakave bolezni krvi in kostnega mozga ozdravimo ali pa bolnike za daljše obdobje uspešno zazdravimo. Ključ do uspeha postopka sta izjemna regeneracijska sposobnost KMC ter njihova heterogena diferenciacijska zmožnost, saj lahko ponovno vzpostavijo celoten hematopoetski in imunski sistem.

V Sloveniji je bila prva PKMC izvedena leta 1989, kar predstavlja pomemben mejnik v razvoju sodobne hematologije in transplantacijske medicine.

Vrste presaditev celic kostnega mozga:

Pri avtologni PKMC je vir krvotvornih matičnih celic (KMC) sam bolnik. Najpogosteje jo izvajamo pri bolnikih z diseminiranim plazmocitomom, redkeje pri bolnikih z akutnimi levkemijami, kjer je osnovni pogoj za zbiranje KMC popolna hematološka, citološka in molekularna remisija.

Za alogensko PKMC mora imeti bolnik ustreznega darovalca KMC. Darovalca iščemo na podlagi skladnosti v antigenih glavnega histokompatibilnostnega kompleksa (HLA). Zaradi velikega polimorfizma HLA antigenov uspemo v registrih ali znotraj družine najti primerne darovalca pri približno 80–90 % bolnikov, ki so kandidati za alogensko presaditev. Tipizacija vključuje HLA antigene razreda I (HLA-A, -B, -C) ter razreda II (HLA-DR, -DQ). Pri vseh bolnikih najprej iščemo popolnoma skladnega HLA darovalca (10/10); kadar ga ne najdemo, so sprejemljiva tudi delna neskladja v enem ali dveh parih antigenov (9/10 oziroma 8/10), vendar slabša skladnost poveča tveganje za zaplete po PKMC.

Če je darovalec enojajčni dvojček, govorimo o singenični PKMC. Zaradi popolne genetske in tkivne skladnosti pri tej obliki ne pričakujemo reakcije presadka proti gostitelju (GvHD), zato je postopek po učinku podoben avtologni presaditvi.

V zadnjih letih se vse pogosteje uporablja tudi haploidentična alogenska PKMC. Najpogostejši darovalci so otroci ali drugi sorodniki, ki se ujemajo v enem haplotipu. Prednost haploidentične presaditve je predvsem v tem, da je darovalca mogoče najti zelo hitro, postopki tipizacije pa so preprosti in časovno nezahtevni, kar je ključnega pomena pri bolnikih, pri katerih je potrebna hitra izvedba presaditve.

Krvne skupine in PKMC

Krvna skupina je oznaka za razvrščanje krvi na podlagi prisotnosti ali odsotnosti specifičnih antigenov na površini rdečih krvničk. V rdečih krvničkah in krvnem serumu se nahajajo različne snovi – antigeni in protitelesa – ki lahko ob medsebojnem neujemanju povzročijo zlepljanje (aglutinacijo) tujih rdečih krvničk. Za aglutinacijo sta potrebna specifični antigen, imenovan aglutinogen, na eritrocitih in ustrezno protitelo, imenovano aglutinin, v serumu.

Antigeni so lahko beljakovine, ogljikovi hidrati ali glikoproteini. Ker se dedujejo, določajo posameznikove krvne lastnosti, sorodne antigene pa združujemo v sisteme krvnih skupin. Med najpomembnejše sodijo sistemi ABO in Rh, ki predstavljajo temelj transfuzijske medicine. Rh faktor je beljakovina na površini rdečih krvničk; približno 85 % ljudi je Rh-pozitivnih, kar pomeni, da ta antigen imajo, Rh-negativni omenjenega faktorja nimajo. Poznavanje Rh statusa je ključno pri transfuzijah krvi zlasti v nosečnosti, saj lahko neujemanje med Rh-negativno materjo in Rh-pozitivnim plodom sproži imunski odziv, ki lahko vodi v hemolitično bolezen novorojenčka.

Pri presaditvah krvotvornih matičnih celic imajo pomembno vlogo sistemi ABO in humani levkocitni antigeni (HLA). Pri presaditvah organov je ABO združljivost praviloma ključnega pomena, vloga HLA pa manj izrazita. Pri alogenski PKMC pa je ravno obratno, saj je metoda razvita na osnovi HLA identičnih matičnih celic, medtem ko neujemanje v sistemu ABO praviloma ne predstavlja ovire za izvedbo presaditve.

Po presaditvi krvotvornih matičnih celic se krvna skupina prejemnika postopoma spremeni v krvno skupino darovalca, če sta bili pred posegom različni. Kostni mozeg deluje kot "tovarna" vseh krvnih celic, zato presajene matične celice sčasoma začnejo proizvajati celice z darovalčevim genetskim zapisom, vključno z njegovo krvno skupino. Sprememba ni takojšnja; v prehodnem obdobju, ki traja nekaj tednov do mesecev, ima bolnik v obtoku mešanico lastnih in darovalčevih krvnih celic, zato je v tem času pri transfuzijah potrebna posebna previdnost. Spremeni se lahko tudi Rh-faktor, kadar je darovalec Rh-pozitiven, prejemnik pa Rh-negativen.

Po presaditvi postane prejemnik nosilec dveh dednih zapisov. Kadar analiziramo DNK iz krvi, bo rezultat pokazal profil darovalca, medtem ko bo DNK iz drugih tkiv, kot sta slina ali lasje, kazal bolnikov izvorni dedni zapis. To stanje imenujemo himerizem.

Literatura

1. Kimura F. Impact of ABO-blood group incompatibility on the outcome of recipients of bone marrow transplants from unrelated donors in the Japan Marrow Donor Program. 2008.
2. Sever M, Zver S. Bolnik po presaditvi krvotvornih matičnih celic v ambulanti družinskega zdravnika. 2020.
3. Sureda A, Corbacioglu S, Greco R, Kröger N, Carreras E. The EBMT Handbook. 2024.
4. Seebach JD. ABO Blood Group Barrier in Allogeneic Bone Marrow Transplantation Revisited. 2005.

Izzivi pri akutni mieloični levkemiji (ZHS)

Sekundarna AML; mesto CPX-351 in azacitidina+venetoklaksa

Mojca Dreisinger

Oddelek za hematologijo in hematološko onkologijo, UKC Maribor

mojca.dreisinger@ukc-mb.si

Uvod

Sekundarne akutne mieloične levkemije (s-AML) predstavljajo posebno klinično in biološko entiteto z izrazito neugodnimi prognostičnimi značilnostmi. Mednje uvrščamo s terapijo povezano oz. povzročeno AML (t-AML), ki nastane kot posledica predhodnega zdravljenja z alkilirajočimi citostatiki, inhibitorji topoizomerase II ali obsevanjem, ter AML z mielodisplastičnimi spremembami (AML-MRC), ki je opredeljena z značilnimi citogenetskimi in morfološki spremembami in AML, ki se razvije na podlagi predhodnega mielodisplastičnega sindroma ali drugih mieloidnih neoplazem. Sekundarne oblike predstavljajo približno 20–30 % vseh primerov AML, njihova incidenca pa narašča s starostjo, saj je večina bolnikov starejših od 65 let. Zaradi pridruženih bolezni in krhkosti je pri starejših bolnikih velikokrat onemogočeno intenzivno zdravljenje in več zapletov, kar lahko vodi k slabšim izidom zdravljenja.

Zdravljenje

V zadnjem desetletju se je terapevtski pristop s-AML bistveno spremenil. Liposomalna kombinacija citarabina in daunorubicina (CPX-351) predstavlja enega ključnih napredkov na področju intenzivne kemoterapije. V randomizirani raziskavi faze III pri bolnikih, starih med 60 in 75 let, s t-AML ali AML-MRC je CPX-351 v primerjavi s standardnim režimom DA3+7 dosegel statistično značilno izboljšanje celokupnega preživetja (9.56 vs 5.95 mesecev; $p=0.003$) ter višje stopnje popolne remisije (47.7% vs 33.3%; $p=0.016$). Pomembno je tudi, da je večji delež bolnikov po zdravljenju s CPX-351 imel alogensko presaditev krvotvornih matičnih celic (PKMC), kar predstavlja ključen korak k preživetju in ozdravitvi teh bolnikov.

Za bolnike, ki niso primerni za intenzivno zdravljenje, je kombinacija venetoklaksa in azacitidina postala nov standard zdravljenja. Klinična raziskava VIALE-A je pokazala, da kombinacija pomembno izboljša stopnjo remisij in celokupno preživetje v primerjavi z azacitidinom samim. Čeprav so bolniki, zdravljeni s to kombinacijo, praviloma starejši in z več komorbidnostmi kot tisti, zdravljeni s CPX-351, rezultati kažejo na klinično učinkovitost ob sprejemljivi toksičnosti. Prednost tega režima je možnost ambulantnega zdravljenja in manj neželenih sopojev.

Edina prospektivna raziskava, ki neposredno primerja uporabo intenzivne kemoterapije in kombinacijo azacitidin/venetoklaks pri bolnikih, ki so sicer primerni za intenzivno zdravljenje, je PARADIGM študija. Rezultati študije so pokazali, da kombinacija venetoklaks in azacitidina dosega višje stopnje odgovora, s stopnjo celokupnih odgovorov 88 % v primerjavi s 62 % pri intenzivni kemoterapiji. Še pomembnejši je podatek, da je v skupini, zdravljeni z venetoklaksom in azacitidinom, kar 61 % bolnikov imelo alogensko PKMC, medtem ko je bil ta delež v skupini z intenzivno kemoterapijo 40 %. Ti rezultati predstavljajo pomemben premik v razumevanju vloge indukcijskega zdravljenja, saj lahko tudi manj intenzivni režimi učinkovito služijo kot most do presaditve. Nezanemarljivo je tudi, da so bolniki zdravljeni z azacitidinom/venetoklaksom navajali boljšo kvaliteto življenja, manj depresij in so bili manj časa hospitalizirani. Nekatere retrospektivne analize nakazujejo, da je CPX-351 primerna izbira za mlajše bolnike, pri katerih je cilj doseči remisijo in nadaljevati zdravljenje z alogensko PKMC, vendar kombinacija azacitidin/venetoklaks omogoča prav tako učinkovito zdravljenje in bolniki dosegajo primerljivo preživetje, če se zdravljenje nadaljuje z alogensko PKMC. V zadnjem času se preučujejo tudi kombinirani pristopi, kot je dodajanje venetoklaks k CPX-351, pri čemer zgodnji rezultati kažejo visoke stopnje remisij, vendar so potrebne dodatne raziskave za opredelitev varnosti in dolgoročnih koristi.

Manjšina bolnikov s s-AML ima glede na ELN točkovnik ugodno obliko levkemije (CBF, NPM1) ali vmesno obliko z normalnim kariotipom. Za te bolnike se priporoča zdravljenje s standardno intenzivno kemoterapijo DA3+7 (lahko tudi v kombinaciji z gemtuzumabom ozogamicinom).

Alogenska PKMC ostaja edini dokazano kurativni pristop pri s-AML. Z izbiro kondicioniranja (RIC vs MAC), boljšimi protokoli zdravljenja, boljšem obvladovanju GVHD, se je preživetje bolnikov po alogenski PKMC izboljšalo in se starostna meja za postopek pomika vse do 75. leta starosti. Še posebej pri s-AML in neugodni citogenetiki je za dolgotrajno preživetje bolnikov ključna alogenska PKMC in ne toliko izbira indukcijskega zdravljenja. Podatki kažejo, da ni razlike med celokupnim preživetjem, če bolniki dosežejo remisijo z intenzivno kemoterapijo (CPX-351) ali zdravljenjem po shemi azacitidin/venetoklaks. Zaradi manjše toksičnosti slednjega je v nekaterih retrospektivnih podatkih preživetje teh bolnikov celo nekoliko boljše kot če so prejeli intenzivnejše terapije.

Ob vse večjih možnostih zdravljenja v ospredje stopa tudi vprašanje kakovosti življenja. Pri starejših bolnikih s s-AML ni vedno cilj zgolj podaljšanje preživetja, temveč tudi ohranjanje funkcionalne neodvisnosti, zmanjšanje hospitalizacij ter obvladovanje simptomov bolezni in neželenih učinkov zdravljenja. Intenzivno zdravljenje, kot je CPX-351, je povezano z večjo toksičnostjo, dolgotrajnejšimi citopenijami in potrebo po bolnišničnem zdravljenju, medtem ko lahko zdravljenje z azacitidinom/venetoklaksom omogoča bolj ambulantno obravnavo. Pri izbiri zdravljenja je nujno pretehtati dobrobit za bolnika, podaljšanjem preživetja in vplivom na kakovost življenja bolnika.

Zaključek

Sekundarna AML ostaja bolezen z neugodnim potekom, vendar so novi terapevtski pristopi pomembno izboljšali možnosti zdravljenja. Individualiziran pristop, ki vključuje oceno primernosti za intenzivno zdravljenje, uporabo sodobnih kombinacij zdravil ter pravočasno napotitev na alogensko PKMC, predstavlja temelj sodobne obravnave teh bolnikov. Ob tem ne smemo pozabiti, da mora biti odločanje vedno usmerjeno tudi v ohranjanje kakovosti življenja.

Literatura

1. Lancet JE, Uy GL, Newell LF, et al. CPX-351 versus 7+3 cytarabine and daunorubicin chemotherapy in older adults with newly diagnosed high-risk or secondary acute myeloid leukaemia: 5-year results of a randomised, open-label, multicentre, phase 3 trial. *Lancet Haematol.* 2021 Jul;8(7):e481-e491.
2. DiNardo CD et al. Azacitidine and venetoclax in previously untreated acute myeloid leukemia. *N Engl J Med.* 2020;383:617-629.
3. Matthews AH, Perl AE, Luger SM, et al. Real-world effectiveness of CPX-351 vs venetoclax and azacitidine in acute myeloid leukemia. *Blood Adv.* 2022; 12; 6(13):3997-4005.
4. Green SD, Wang ES. How I treat secondary acute myeloid leukemia. *Blood.* 2025; 145 (12): 1260–1272.
5. Döhner H, Wei AH, Appelbaum FR, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2022 recommendations from an international expert panel on behalf of the ELN. *Blood.* 2022;140(12):1345-1377.
6. Martínez-Cuadrón D, Megías-Vericat JE, Serrano J, et al. Treatment patterns and outcomes of 2310 patients with secondary acute myeloid leukemia: a PETHEMA registry study. *Blood Adv.* 2022;6(4):1278-1295.
7. Pratz KW, DiNardo CD, Arellano M, et al. Long-Term Outcomes of Stem Cell Transplant in Older Patients With Acute Myeloid Leukemia Treated With Venetoclax-Based Therapies. *Am J Hematology.* 2026: 926–929.
8. Lancet JE, Uy GL, Newell LF, et al. CPX-351 versus 7+3 cytarabine and daunorubicin chemotherapy in older adults with newly diagnosed high-risk or secondary acute myeloid leukaemia: 5-year results of a randomised, open-label, multicentre, phase 3 trial. *Lancet Haematol.* 2021;8(7):e481-e491.
9. Uy GL, Newell LF, Lin TL, et al. Transplant outcomes after CPX-351 vs 7 + 3 in older adults with newly diagnosed high-risk and/or secondary AML. *Blood Adv.* 2022;6(17):4989-4993.
10. Fathi A, Perl A, Fell G, et al. Results from Paradigm - a phase 2 randomized multi-center study comparing azacitidine and venetoclax to conventional induction chemotherapy for newly diagnosed fit adults with acute myeloid leukemia. *Blood* 2025; 146 (Supplement 1): 6.

Zdravljenje bolnikov, primernih za intenzivno terapijo; izbira onkraj DA 3+7

Saša Anžej Doma
KO za hematologijo, UKC Ljubljana
sasa.anzej.doma@kclj.si

Od 1970-ih let velja kombinacija antraciklina in citarabina, tako imenovani režim 3 + 7 za standardno zdravljenje pri bolnikih z akutno mieloblastno levkemijo (AML), ki so primerni za intenzivno terapijo, pri čemer dosežemo remisijo pri približno 70 % bolnikov, mlajših od 60 let. Uspešnost doseganja remisije z indukcijsko kemoterapijo (KT) je eden najpomembnejših prognostičnih dejavnikov preživetja. Sprva so bili preizkušani različni antraciklini in različni odmerki v 3+7 »osnovi«, kasneje tudi vpliv dodatka drugih zdravil (purinski analogi); zaenkrat standard, ki ga priporočajo ELN smernice, ostaja daunorubicin 60 mg/m² 3 dni (ali idarubicin 12 mg/m² 3 odmerki) in citarabin 100-200 mg/m²/d 7 dni. Od 2017 pa so bile razvite in odobrene nove tarčne terapije, ki se dodajajo standardni KT.

Ena izmed njih je gemtuzumab ozogamicin (GO), monoklonsko protitelo proti CD33, povezano s citotoksičnim sredstvom. Metaanalize so pokazale, da dodatek GO izboljša preživetje predvsem pri bolnikih z ugodnim ali srednjim citogenetskim tveganjem. Zdravilo povezano s toksičnostjo za kostni mozeg (daljša trombocitopenija) in jetra (večja pojavnost venookuzivne bolezni). ELN2022 smernice priporočajo dodatek GO predvsem pri AML z ugodnim citogenetskim tveganjem (t.i. core-binding factor levkemije), ugoden vpliv na EFS pa naj bi imelo zdravilo tudi pri *NPM1*-mutirani, *FLT3*-ITD negativni AML. GO običajno dodamo 1.,4. in 7.dan v indukcijski KT in nato še na 1. dan v 1 ali 2 konsolidacijskih KT.

Pri AML s *FLT3* mutacijo osnovni KT dodajamo zaviralce *FLT3*. Midostaurin, zaviralec prve generacije (učinkovit proti *FLT3 ITD* in *TKD* mutaciji), se je začel uporabljati na podlagi rezultatov študije RATIFY. Ta je pokazala, da 14-dnevni dodatek midostaurina standardni indukcijski in konsolidacijski KT ter še leto dni vzdrževalnega zdravljenja izboljša celokupno preživetje mlajših bolnikov (18-60 let) z AML s *FLT3* mutacijo. Njegova učinkovitost je bila kasneje potrjena tudi pri starejših bolnikih. Drugi odobren (vendar v Sloveniji še ne na voljo) *FLT3* zaviralec je quizartinib, ki deluje le na *FLT3-ITD* pozitivno AML in je v raziskavi QuANTUM-First pokazal izboljšanje celokupnega preživetja glede na skupino s placebom. Zdravilo se prav tako dodaja indukcijski 3+7 in konsolidacijski KT, vzdrževanje pa lahko traja do 3 leta.

Poseben pristop predstavlja zdravilo CPX-351, liposomska formulacija daunorubicina in citarabina, namenjena predvsem bolnikom z sekundarno AML ali AML, povezano z mielodisplazijo. Zdravilo je bilo odobreno na osnovi raziskave 309 bolnikov (60–75 let), kjer se je izkazalo za superiorno v primerjavi s standardom 3+7 v smislu daljšega celokupnega preživetja **(9,6 vs. 6,0 mesecev) in višjih stopenj doseganja remisije (47,7 % vs. 33,3 %), ob tem primerljive**

toksičnosti. Vendar je zdravljenje s CPX-351 povezano z daljšim časom aplazije. Kasnejše analize so pokazale, da koristi niso enake pri vseh genetskih podtipih (npr. pri mutaciji *TP53* ni prednosti). Raziskava s CPX-351 tudi ni vključevala bolnikov z blastno fazo mieloproliferativnih neoplazem, zato korist tega zdravila pri tej skupini ostaja nejasna.

Venetoklaks je pomembno novejšo zdravilo, BCL-2 inhibitor; spodbuja apoptozo levkemičnih celic. Trenutno je s strani Evropske agencije za zdravila odobren za bolnike z AML, ki niso primerni za intenzivno kemoterapijo, v kombinaciji s hipometilacijskim zdravilom. V zadnjih letih se je pokazalo, da določene podskupine mlajših, fit bolnikov, prav tako lahko profitirajo od take terapije oz. je izhod lahko celo boljši, kot če so zdravljeni intenzivno (z DA3+7 ali CPX-351). Na dolgoročen izhod namreč pomembno vpliva nadaljevanje zdravljenja z alogensko presaditvijo krvotvornih matičnih celic, ki pa lahko sledi tudi neintenzivnemu zdravljenju, ko enkrat dosežemo remisijo bolezni.

Številne raziskave kažejo še posebej visoke stopnje popolnih remisij in MRD-negativnosti pri kombinacijah venetoklaksa z intenzivno KT. Največ podatkov imajo raziskovalci iz MD Anderson Cancer Center, kjer so kombinacije intenzivne KT (npr. FLAG-IDA ali CLIA) z venetoklaksom dosegle zelo visoke stopnje odgovora (CRc približno 90–95%) ter visoko stopnjo MRD-negativnosti (okoli 80–90%), tudi pri bolnikih z neugodnim tveganjem po ELN 2022 klasifikaciji, čeprav izidi v tej skupini ostajajo slabši. Vendar so ti režimi, vključno s kombinacijami z drugimi purinskimi analogi, povezani z izrazito mielosupresijo in povečanim tveganjem za okužbe, zato njihova uporaba zunaj kliničnih raziskav za zdaj še ni rutinsko priporočena.

V zadnjem času potekajo tudi številne raziskave z inhibitorji menina, ki delujejo pri AML s preureditvijo *KMT2A* in *NPM1*-mutirano AML. Čeprav so bili inhibitorji menina sprva preizkušani pri relapsu/rezistentni AML, se zdravila počasi premikajo tudi v prvo linijo.

Pomembno področje razvoja predstavljajo tudi zaviralci mutacij *IDH1* in *IDH2*, ki jih najdemo pri približno 15-20% bolnikov z AML. Pri nas je odobren ivosidenib za zdravljenje odraslih bolnikov z AML z **mutacijo *IDH1*** v kombinaciji z azacitidinom pri bolnikih, ki niso primerni za standardno indukcijsko KT. V teku so raziskave, ki kažejo na dobro učinkovitost IDH inhibitorjev skupaj z intenzivno kemoterapijo, pa tudi v kombinacijah z venetoklaksom in hipometilacijskimi zdravili (t.i.«trojčki»).

Literatura

1. Shimony S, Stahl M, Stone RM. Acute Myeloid Leukemia: 2025 Update on Diagnosis, Risk-Stratification, and Management. *Am J Hematol.* 2025; 100: 860-891.
2. Döhner H, Wei AH, Appelbaum FR, Craddock C, DiNardo CD, Dombret H, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2022 recommendations from an international expert panel on behalf of the ELN. *Blood.* 2022; 140(12):1345-1377.

3. Lambert J, Pautas C, Terré C, Raffoux E, Turlure P, Caillot D, et al. Gemtuzumab ozogamicin for de novo acute myeloid leukemia: final efficacy and safety updates from the open-label, phase III ALFA-0701 trial. *Haematologica*. 2019;104(1):113-119.
4. Stone RM, Mandrekar SJ, Sanford BL, Laumann K, Geyer S, Bloomfield CD, et al. Midostaurin plus Chemotherapy for Acute Myeloid Leukemia with a FLT3 Mutation. *N Engl J Med*. 2017;377(5):454-464.
5. Erba HP, Montesinos P, Kim HJ, Patkowska E, Vrhovac R, Žák P, et al. Quizartinib plus chemotherapy in newly diagnosed patients with FLT3-internal-tandem-duplication-positive acute myeloid leukaemia (QuANTUM-First): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet*. 2023;401(10388):1571-1583.
6. Lancet JE, Uy GL, Cortes JE, Newell LF, Lin TL, Ritchie EK, et al. CPX-351 (cytarabine and daunorubicin) Liposome for Injection Versus Conventional Cytarabine Plus Daunorubicin in Older Patients With Newly Diagnosed Secondary Acute Myeloid Leukemia. *J Clin Oncol*. 2018;36(26):2684-2692.
7. DiNardo CD, Jen WY, Takahashi K, Kadia TM, Loghavi S, Daver NG, et al. Long term results of venetoclax combined with FLAG-IDA induction and consolidation for newly diagnosed and relapsed or refractory acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2025;39(4):854-863.
8. Kadia TM, Reville PK, Borthakur G, Yilmaz M, Kornblau S, Alvarado Y, et al. Venetoclax plus intensive chemotherapy with cladribine, idarubicin, and cytarabine in patients with newly diagnosed acute myeloid leukaemia or high-risk myelodysplastic syndrome: a cohort from a single-centre, single-arm, phase 2 trial. *Lancet Haematol*. 2021;8(8):e552-e561.
9. Shimony, S, Bewersdorf, JP, Shallis, RM, Liu Y, Schaefer EJ, Zeidan AM, et al. Hypomethylating agents plus venetoclax compared with intensive induction chemotherapy regimens in molecularly defined secondary AML. *Leukemia*. 2024; 38, 762–768.

Indukcijsko zdravljenje akutne promielocitne levkemije z velikim tveganjem

Tajda Starman, Matija Rozman

Klinični oddelek za hematologijo, Univerzitetni klinični center Ljubljana

tajda.starman@kclj.si

Akutna promielocitna levkemija (APL) je podtip akutne mieloične levkemije (AML), za katero je značilna uravnotežena recipročna translokacija genov PML na kromosomu 15 in RARA na kromosomu 17 (v redkih primerih pride do drugih preureditev gena RARA). Posledica je nastanek fuzijskega gena PML::RARA, ki zaustavi normalno mieloično diferenciacijo na ravni promielocita, kar vodi v razvoj levkemije. Značilna klinična slika vključuje nenormalne vrednosti levkocitov, trombocitopenijo, porabnostno koagulopatijo in krvavitve. Na podlagi vrednosti levkocitov in trombocitov bolnike razvrstimo v skupine tveganja: v skupino z visokim tveganjem uvrščamo bolnike z levkociti $>10\,000/\mu\text{L}$, bolnike z levkociti $\leq 10\,000/\mu\text{L}$ pa dodatno razdelimo v skupino z vmesnim tveganjem (trombociti $<40 \times 10^9/\text{L}$) in nizkim tveganjem (trombociti $\geq 40 \times 10^9/\text{L}$). Večina smrti pri bolnikih z APL nastopi v prvem mesecu po diagnozi, po nekaterih podatkih pa do 35% smrti pride že pred uvedbo zdravljenja. Zato sta ključna hitra prepoznavna boleznin zdravljenje s tretioninom (all-trans-retinoic acid = ATRA), ki spodbuja diferenciacijo mieloičnih celic. Za začetek zdravljenja zadostuje citološki pregled periferne krvi, kjer lahko najdemo hipergranulirane (tipične) ali hipogranulirane promielocite (za to obliko je bolj značilno tudi visoko število levkocitov). APL predstavlja manjši delež (10-15%) vseh akutnih levkemij, bolniki pa so v povprečju mlajši z mediano starosti okoli 40 let.

Zdravljenje APL je sprva temeljilo na kemoterapiji (KT) z antraciklini. V 80. letih 20. stoletja je prišlo do prve uporabe ATRA v monoterapiji, pri čemer pa so beležili zgodnje relapse. Kasneje se je uveljavila kombinacija ATRA/KT, kar je vodilo v večji delež popolnih remisij (complete remission = CR) in manj relapsov. Uporaba arzenijevega trioksida (ATO) za zdravljenje APL se je, tako kot uporaba ATRA, začela na Kitajskem, v zahodnem svetu pa je bil ATO nato uveden za zdravljenje relapsne/refraktorne APL. Na podlagi študij APL0406 in AML17 (primerjava ATRA/ATO in ATRA/KT - idarubicin) se je kasneje kot standard zdravljenja bolnikov z nizkim in vmesnim tveganjem uveljavila kombinacija ATRA/ATO, ki delujeta sinergistično - ATRA spodbuja diferenciacijo, ATO pa inducira apoptozo levkemičnih celic. Tak pristop omogoča visoko stopnjo dolgotrajnih remisij pri bolnikih z vmesnim in nizkim tveganjem ob manjši hematološki in genotoksičnosti.

Pri bolnikih z visokim tveganjem je večja umrljivost med indukcijskim zdravljenjem povezana z levkocitozo, diseminirano intravaskularno koagulacijo in krvavitvami. Potrebno je ustrezno podporno zdravljenje koagulopatije z vzdrževanjem ciljnih vrednosti fibrinogena, PČ-INR in

trombocitov. Ob zdravljenju z ATRA obstaja, predvsem pri bolnikih z visokim tveganjem in levkocitozo, večje tveganje za razvoj diferenciacijskega sindroma (DS), ki se kaže s povišano telesno temperaturo, porastom telesne teže perifernimi edemi, dispnejo, intersticijskimi pljučnimi infiltrati, plevralnim ali perikardialnim izlivom, hipotenzijo in akutno ledvično odpovedjo. Pri visoko tveganih bolnikih pride v poštev tudi profilaktično zdravljenje s kortikosteroidi in citoredukcija s hidrokisečnino ob hiperlevkocitozi.

Za nadzor levkocitoze se je pri bolnikih z visokim tveganjem skozi zgodovino uveljavilo zdravljenje z ATRA/KT. V študiji AMPL4, ki je vključevala tudi bolnike z visokim tveganjem, so v indukciji uporabljali kombinacijo ATRA/ATO/KT (idarubicin 2., 4., 6. in 8. dan indukcije), s čimer so pri tej podskupini dosegli 91% CR, 87% celokupno preživetje (overall survival = OS), 95% 5-letno preživetje brez bolezni (disease-free survival = DFS), poročali pa so o 9% zgodnji umrljivosti. Bolniki so prejeli konsolidacijo z ATRA/ATO in vzdrževalno zdravljenje z ATRA, metotreksatom (MTX) in 6-merkaptopurinom (6MP). Različne študije so preučevale dodatek gemtuzumaba ozogamicina (GO) k ATRA/ATO priključen gemtuzumab ozogamicin (GO) z namenom zmanjšanja citotoksičnosti in kardioksičnosti. V študijah skupin MD Anderson in UK AML working group so bolniki z visokim tveganjem prejeli ATRA/ATO/GO ob indukciji, v konsolidaciji so prejeli zgolj ATRA/ATO, vzdrževalnega zdravljenja niso prejeli. V študiji MD Anderson je bila zgodnja smrtnost 4%, 5-letno preživetje brez napredovanja bolezni (progression-free survival = PFS) 89%, OS 86%, v študiji AML working group pa je bilo 4-letno OS 89%. Opravljena je bila tudi študija ECOG/SWOG, kjer je bil GO ATRA/ATO prav tako dodan v indukciji, bolniki z visokim tveganjem so prejeli še konsolidacijo (2 ciklusa ATO v monoterapiji, 2 ciklusa ATRA/daunorubicin, 2 ciklusa GO v monoterapiji) in vzdrževalno zdravljenje (ATRA, 6MP in MTX). CR, 3-letno PFS ter OS so bili 85%, 93% in 88%.

Tudi podatki projekta Harmony APL, kjer so bili vključeni pacienti iz več Evropskih raziskav in registrov (tudi tisti z APL z visokim tveganjem), so pokazali boljše izide pri zdravljenju z ATRA/ATO v primerjavi z ATRA/KT, vendar je bila zgodnja umrljivost še vedno višja pri bolnikih z visokim tveganjem in pri starejših.

Pomemben napredek predstavlja randomizirana študija faze III APOLLO, ki je vključevala 135 bolnikov (133 po izključitvi dveh bolnikov) z APL z visokim tveganjem med 18. in 65. letom starosti, s funkcionalnim statusom po ECOG 0-3. Primerjala je zdravljenje z ATRA/ATO in nizkodoznim idarubicinom (68 bolnikov) z zdravljenjem z ATRA/KT - antraciklinsko kemoterapijo (65 bolnikov).

V prvi skupini so bolniki prejeli ATRA 45 mg/m², razdeljeno v dva odmerka, idarubicin 12 mg/m² 1. in 3. dan ter ATO 0,15 mg/kg 1x dnevno od 5. dne dalje, do dosežene CR ali CRi, nato pa še 4 konsolidacijske cikle ATRA+ATO. V drugi skupini so bolniki prejeli indukcijo z ATRA 45 mg/m², razdeljeno v dva odmerka, do CR ali CRi, idarubicin 12 mg/m² 1., 3., 5. in 7. dan, nato pa 3 konsolidacijske kroge (1. ATRA, idarubicin, citarabin; 2. mitoxantron; 3. idarubicin, citarabin) 7 ciklov vzdrževalnega zdravljenja (6MP, MTX, ATRA). Primarni končni izid je bil preživetje brez dogodkov (event-free survival = EFS), pri čemer so bili kot dogodki definirani neuspešnost doseči

CR ali CRi v 60 dneh, pozitiven MRD po zadnji konsolidaciji, hematološki relaps, molekularni relaps, smrt ali sekundarna mielodisplazija. Mediana časa spremljanja je bila 37 mesecev. 2-letni EFS je v skupini, zdravljeni z ATO/ATRA in nizkodoznim idarubicinom doseglo 88% bolnikov, v skupini, zdravljeni z ATRA in antraciklinsko kemoterapijo pa 71% bolnikov. Po 7,8 oz. 12,1 mesecih po doseženi popolni remisiji je do molekularnega relapsa prišlo pri 1 bolniku (1,5%), zdravljene z ATO/ATRA in nizkodoznim idarubicinom ter pri 8 bolnikih (12,3%), zdravljenih z ATRA in antraciklinsko kemoterapijo. V prvi skupini je do resnih stranskih učinkov prišlo pri 32% bolnikov, v drugi pa pri 68%, od tega do DS v 19% in 34%. Dvoletna kumulativna incidenca relapsa je bila v prvi skupini 1,8%, v drugi pa 17%. Statistično pomembnih razlik v dvoletnem celokupnem preživetju ni bilo (93% vs. 87%; $p=0.33$).

Kombinacija ATRA in ATO z dodatkom nizkodoznega idarubicina v indukciji se je izkazala za učinkovito zdravljenje bolnikov z APL z visokim tveganjem. Omogoča dober nadzor bolezni ter manj relapsov in ugodnejši profil neželenih učinkov, vključno z manjšo pojavnostjo diferenciacijskega sindroma, v primerjavi s kombinacijo ATRA in antraciklinska kemoterapija. Na podlagi rezultatov študije APOLLO se ta pristop uveljavlja kot nova terapevtska strategija, z možnostjo nadaljnega zmanjševanja klasične kemoterapije v prihodnosti.

Literatura

1. Yilmaz M, Kantarjian H, Ravandi F. Acute promyelocytic leukemia current treatment algorithms. *Blood Cancer J.* 2021 Jun 30;11(6):123.
2. Platzbecker U, Adès L, Montesinos P, et al. on behalf of the SAL, AMCL-CG, AML-SG, OSHO, PETHEMA, HOVON and GIMEMA study groups. Arsenic Trioxide and All-Trans Retinoic Acid Combination Therapy for the Treatment of High-Risk Acute Promyelocytic Leukemia: Results From the APOLLO Trial. *J Clin Oncol.* 2025, 43: 3160-3169.
3. Sanz MA, Barragán E. History of Acute Promyelocytic Leukemia. *Clin Hematol Int.* 2021 Jul 19;3(4):142-152.
4. Russell N. Modern treatment of acute promyelocytic leukemia. *Haematologica* 2026;111(2):437-438.

Mesto alogenične presaditve v prvi remisiji pri AML z vmesnim tveganjem

Klara Šlajpah, dr. med.
KO za hematologijo, UKC Ljubljana
klara.slajpah@kclj.si

Uvod

Mesto alogenične presaditve krvotvornih matičnih celic (PKMC) v prvi popolni remisiji (CR1) pri akutni mieloični levkemiji (AML) z vmesnim tveganjem ostaja eno osrednjih odprtih vprašanj sodobne hematologije. Dokazi podpirajo individualiziran, z minimalno preostalo boleznijo (MRD) voden pristop in ne rutinske PKMC pri vseh bolnikih z vmesnim tveganjem. Čeprav PKMC ostaja najučinkovitejše zdravljenje po doseženi remisiji, je treba njeno korist ovrednotiti skupaj z umrljivostjo brez ponovitve bolezni (NRM), umrljivostjo zaradi presaditve (TRM), razpoložljivostjo darovalca, starostjo, pridruženimi boleznimi in možnostjo učinkovitega reševalnega zdravljenja v primeru ponovitve bolezni.

Priporočila Evropskega združenja za transplantacijo (EBMT) iz leta 2025 navajajo, da se PKMC v CR1 priporoča za večino primerov AML z vmesnim tveganjem, opredeljenih po merilih Evropskega združenja za levkemije (ELN), hkrati pa poudarjajo, da razmerje med tveganjem in koristmi ni odvisno le od genetike bolezni, temveč tudi od odziva na začetno zdravljenje in MRD statusa po indukciji.

Presaditev v CR1

Randomizirane študije in analize na podlagi razpoložljivosti darovalca so pokazale, da PKMC v CR1 zmanjša tveganje za ponovitev bolezni in izboljša preživetje brez ponovitve bolezni (DFS), vendar ne vpliva pomembno na celokupno preživetje (OS), saj je del bolnikov v primeru ponovitve bolezni, mogoče pozdraviti z reševalno PKMC. V študiji ETAL-1, edini sodobni randomizirani študiji, ki je neposredno primerjala PKMC v CR1 s konsolidacijsko kemoterapijo, pri kateri je bila PKMC predvidena šele ob relapsu, je PKMC v CR1 pomembno zmanjšala število ponovitev bolezni in izboljšala DFS. Dvoletni DFS je bil 69 % pri PKMC v primerjavi s 40 % pri kemoterapiji, incidenca ponovitve v dveh letih pa je bila 20 % v primerjavi z 58 %. Kljub temu OS ni bil boljši, predvsem zato, ker so bili v kemoterapevtski skupini vsi bolniki presajeni ob relapsu. Ti podatki kažejo, da lahko pri dobro izbranih bolnikih transplantacijo odložimo do relapsa, hkrati pa potrjujejo, da PKMC ostaja najučinkovitejša terapija za dolgoročno remisijo bolezni. Omejitve študije je, da je bila zaključena predčasno, uporabljena je bila starejša opredelitev tveganja na podlagi citogenetike, vključevala je bolnike, ki bi bili danes v skladu z ELN 2017/2022 razvrščeni v prognostično ugodno skupino, poleg tega MRD ni bil sistematično vključen v odločanje. Rezultatov

ETAL-1 zato ni mogoče neposredno prenesti v sodobno obravnavo AML z vmesnim tveganjem, kjer odločitev vse bolj temelji na molekularno-genetskih preiskavah, MRD in dostopu do alternativnih darovalcev, kot je haploidentična presaditev.

MRD vodeno zdravljenje

Sodobna priporočila ELN 2025 dajejo MRD ključno vlogo pri odločanju o zdravljenju. Različne študije so pokazale, da pozitiven MRD po indukciji ali konsolidaciji opredeljuje bolnike z izrazito večjim tveganjem za ponovitev bolezni in slabšim preživetjem. Nasprotno pa imajo bolniki z negativnim MRD pogosto ugodne izide kljub konsolidaciji brez PKMC, zlasti če je na voljo dosledno spremljanje MRD in v primeru relapsa pravočasna reševalna PKMC. Pri bolnikih z ELN vmesnim tveganjem, ki dosežejo optimalen MRD odgovor, je odločitev o PKMC individualna, bolniki, ki so MRD pozitivni, pa imajo največjo korist od zgodnje napotitve na PKMC.

Ta način odločanja podpira več pomembnih raziskav. V študiji HOVON-SAKK 132 so bili bolniki s pozitivnim MRD praviloma zdravljeni s PKMC, MRD negativni bolniki pa s konsolidacijo brez PKMC. Pri MRD negativnih bolnikih ni bilo pomembne razlike v OS glede na zdravljenje z ali brez PKMC, kar podpira možnost deeskalacije terapije pri izbrani skupini bolnikov. V netransplantacijski skupini je bilo več relapsov, vendar je bilo več bolnikov uspešno ozdravljenih s PKMC, kar podpira koncept PKMC v CR2, če imamo na voljo dobro spremljanje. Podobne ugotovitve kažejo tudi GIMEMA AML1310 ter druge na MRD temelječe raziskave, v katerih so imeli MRD pozitivni bolniki največ koristi od PKMC, medtem ko so MRD negativni lahko dosegli izide, podobne tistim v ugodni prognostični skupini, tudi brez PKMC v CR1. Pri odločanju ni pomemben samo MRD status, ampak tudi dinamična ocena odziva na zdravljenje. Bolniki, ki so MRD pozitivni po treh cikliih imajo pomembno več relapsov in slabše preživetje.

Bolniki s FLT3-ITD mutacijo

Pri bolnikih s FLT3-ITD mutacijo je odločanje še bolj kompleksno. Glede na ELN 2022 je AML s FLT3-ITD mutacijo uvrščena v skupino z vmesnim tveganjem, vendar je ta podskupina biološko zelo heterogena. Prognoza ni odvisna samo od prisotnosti FLT3-ITD, ampak nanjo vpliva tudi sočasna prisotnost mutacije NPM1, globina remisije, MRD status pred PKMC in odziv na zdravljenje s FLT3 zaviralci (FLT3i). Starejši algoritmi so upoštevali FLT3 alelna razmerje, novejši podatki pa kažejo, da ima MRD vodena ocena tveganja, zlasti z ultra občutljivo metodo sekvenciranja naslednje generacije (UHS-NGS) za FLT3-ITD in molekularno spremljanje NPM1, večji pomen. Bolniki s FLT3-ITD, zlasti tisti z nemutiranim NPM1 ali pozitivnim FLT3-ITD MRD po dveh cikliih intenzivnega zdravljenja, veljajo za bolnike z višjim tveganjem za ponovitev bolezni in so praviloma kandidati za PKMC. Vendar pa vsi bolniki s FLT3-ITD ne potrebujejo nujno presaditve v CR1. Analiza študije AML17/AML19, v katero je bilo vključenih 737 bolnikov z AML z mutacijo NPM1, je pokazala, da

je bil MRD NPM1 v periferni krvi po indukcijskem zdravljenju po dveh ciklih boljši pokazatelj potrebe po PKMC v CR1 kot sočasna prisotnost FLT3-ITD mutacije same. MRD pozitivni bolniki so imeli jasno korist od transplantacije (3-letni OS 61 % proti 24 %; HR 0,39), medtem ko MRD negativni niso imeli koristi v OS, tudi če so bili FLT3-ITD pozitivni (79 % proti 82 %). Če je na voljo natančno molekularno spremljanje in učinkovito reševalno zdravljenje (npr. FLT3i) lahko pri določenih bolnikih s FLT3-ITD, ki so v globoki molekularni remisiji PKMC verjetno odložimo. Grob in sod. so pokazali, da je MRD za FLT3-ITD po indukcijskem zdravljenju močan neodvisni napovednik ponovitve bolezni in OS. To neposredno podpira nedavno priporočilo ELN 2025, da je potrebno po dveh ciklih zdravljenja in pred PKMC oceniti MRD FLT3-ITD z UHS-NGS. Na mesto presaditve vplivajo tudi FLT3i. Midostaurin in quizartinib izboljšata globino odgovora in zmanjšata tveganje za ponovitev bolezni. Naknadna analiza študije QuANTUM-First je pokazala, da sta bila tako quizartinib kot tudi PKMC v CR1 neodvisno povezana z boljšim OS. Optimalna strategija je tako verjetno kombinacija FLT3i in presaditve pri ustrezno izbranih bolnikih, pri čemer sta vzdrževanje po presaditvi in MRD spremljanje vse pomembnejša. Študije dodatno kažejo, da je kombinacija ELN tveganja in pretransplantacijskega MRD veliko bolj informativna kot sama genetska klasifikacija.

Zaključek

PKMC ostaja osrednja strategija pri AML z vmesnim tveganjem, vendar ne kot univerzalen pristop za vse bolnike. Največ koristi imajo bolniki s perzistentnim MRD, neustreznim molekularnim odgovorom, FLT3-ITD preostalo boleznijo ali drugimi biološko neugodnimi značilnostmi. Nasprotno je pri izbranih MRD negativnih bolnikih smiselno konsolidacijsko zdravljenje s kemoterapijo in dolgoročno MRD spremljanje, pri čemer se presaditev prihrani za primer ponovitve bolezni. Odločitev je torej individualna in temelji na oceni ELN tveganja, MRD statusu, molekularnem profilu, globini remisije, splošni telesni zmogljivosti bolnika, razpoložljivosti darovalca in uspešnosti reševalnega zdravljenja v primeru relapsa. Odločilno vprašanje ni več samo ali ima bolnik AML z vmesnim tveganjem, ampak ali je remisija biološko dovolj visoko tvegana da upraviči PKMC v CR1.

Literatura

1. Bornhäuser M, Schliemann C, Schetelig J, Röllig C, Kramer M, Glass B, et al. Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation vs Standard Consolidation Chemotherapy in Patients With Intermediate-Risk Acute Myeloid Leukemia: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncol.* 2023 Apr 1;9(4):519–26.

2. Grob T, Sanders MA, Vonk CM, Kavelaars FG, Rijken M, Hanekamp DW, et al. Prognostic Value of FLT3 -Internal Tandem Duplication Residual Disease in Acute Myeloid Leukemia. *J Clin Oncol*. 2023;41(4):756–65.
3. Tettero JM, Ngai LL, Bachas C, Breems DA, Fischer T, Gjertsen BT, et al. Measurable residual disease-guided therapy in intermediate-risk acute myeloid leukemia patients is a valuable strategy in reducing allogeneic transplantation without negatively affecting survival. *Haematologica*. 2023;108(10):2794–8.
4. Cloos J, Valk PJM, Thiede C, Döhner K, Roboz GJ, Wood BL, et al. 2025 Update on MRD in Acute Myeloid Leukemia: A Consensus Document from the ELN-DAVID MRD Working Party. *Blood J*. 2025;147(11):1147–67.
5. Othman J, Potter N, Ivey A, Jovanovic J, Runglall M, Freeman SD, et al. Postinduction molecular MRD identifies patients with NPM1 AML who benefit from allogeneic transplant in first remission. *Blood*. 2024;143(19):1931–6.
6. Kayser S, Schlenk RF. All patients with AML and FLT3/ITD should be transplanted in first remission. Also in the era of tyrosine kinase inhibitors? – the PRO. *Haematologica*. 2026;
7. Russell NH, Lewis KD. All patients with acute myeloid leukemia and FLT3-ITD should be transplanted in first remission. Also in the era of tyrosine kinase inhibitors? – the CON. *Haematologica*. 2026;

Virusne okužbe in transfuzijska medicina (ZHS + ZTM)

Pridobivanje in uporaba virusno specifičnih limfocitov (VSL), trenutni trendi in slovenske izkušnje

Primož Požnenel

Zavod RS za transfuzijsko medicino, Šlajmerjeva 6, 1000 Ljubljana
primoz.poznenel@ztm.si

Uvod

V zadnjih letih se je uporaba VSL najbolj uveljavila pri bolnikih po alogenski transplantaciji KMC, ki imajo na zdravljenje neodzivne virusne okužbe. Glavni razlogi so nadpovprečna klinična učinkovitost, ugoden varnostni profil ter večja dostopnost pripravka VSL na račun hitrejših protokolov za proizvodnjo.

Druga pomembna skupina, ki prejema VSL, so bolniki po transplantaciji solidnih organov. Izziv predstavlja relativna imunska kompetentnost teh bolnikov pri uporabi alogenskih VSL delno skladnega darovalca, kar vodi do slabše ekspanzije in perzistence celic po aplikaciji. Kljub temu je učinkovitost VSL predvsem proti okužbam s CMV in EBV v tej skupini bolnikov dobra.

Pojavljajo pa se tudi prvi komercialni celični produkti. Leta 2022 je EMA sprostila uporabo prvega »off the shelf« produkta VSL za zdravljenje okužb z EBV po alogenski transplantaciji KMC (EBV-PTLD).

Izbor, testiranje darovalca, odvzem celic T

Darovalec za VSL mora izpolnjevati enake kriterije kot darovalec za krvotvorne matične celice. Zbrati želimo celice CD3+, ki se nahajajo v populaciji mononuklearnih celic periferne krvi, zato izvedemo krajšo limfoferozo nestimuliranega darovalca.

Pred začetkom postopka je potrebna potrditev antigenov HLA darovalca. Na ZTM smo do sedaj vedno uporabili sorodnega haploidentičnega darovalca.

Nujno moramo potrditi tudi prekuženost darovalca z virusom, proti kateremu pripravljamo celice T. Z določanjem protiteles IgG proti povzročitelju virusne okužbe pri bolniku (npr. anti-CMV IgG, anti-EBNA IgG, anti-VCA IgG, anti-BK...) posredno potrdimo najverjetnejšo prisotnost virusno specifičnih spominskih celic T, ki bodo v nadaljevanju postopka reagirale na virusne peptide. Zaenkrat rutinsko ne določamo prisotnosti virusno specifičnih celic T v periferni krvi darovalca.

Določitev bi bila najbolj smiselna takrat, ko bi imeli večje število možnih darovalcev in bi lahko višjo koncentracijo celic T v periferni krvi uporabili kot odločilni kriterij za izbor darovalca. Kljub temu, da se celice po aplikaciji bolniku lahko intenzivno pomnožijo in še ni jasne »minimalne doze« VSL, ki doseže učinek, stremimo k temu, da je v končnem produktu čim več virusno specifičnih celic T.

Zagotavljanje skladnosti v sistemu HLA med darovalcem VSL in prejemnikom je veliko manjši izziv kot pri darovalcu KMC. Znano je, da visoka stopnja skladnosti HLA med darovalcem in prejemnikom ni bistvena. Nasprotno, zadošča že ujemanje v enem samem antigenu HLA, če le-ta lahko predstavi bistvene antigene virusa. To daje močno podlago za vzpostavitev celičnih bank vnaprej pripravljenih virusno specifičnih limfocitov T.

Novejše študije o zamrznjenih VSL kažejo, da po hranjenju v tekočem dušiku in odmrzovanju ne izgubijo klinične učinkovitosti. Ponekod v tujini že imajo vzpostavljene banke VSL tretjih oseb oz. darovalcev (t.i. third party donors).

Imunoselekcija (CCS – angl. Cytokine Capture System)

Celice darovalca v zaprtem sistemu aktiviramo s sintetičnimi peptidi izranega virusa, ki jih predstavijo antigen predstavitvene celice. Spominske celice T CD3+, ki so se že srečale z virusom, začnejo sproščati IFN- γ . Tega ujamemo na površini celic z bispecifičnim protitelesom, ki ima vezano mikrokroglico s kovinskim delcem. V magnetnem polju izvedemo pozitivno selekcijo tistih celic T, ki so sprostile IFN- γ . Te celice ustrezajo virusno specifičnim celicam. Ker ločevanje ni popolnoma specifično se v končnem pripravku nabirajo tudi druge celice T – IFN- γ negativne. Te celice imajo potencial, ker niso specifične za virus, da v prejemniku sprožijo GVHD, ker lahko reagirajo na druge prejemnikove antigene v tkivih. Zato je odmerik IFN- γ negativnih celic v pripravku nadzorovan in omejen.

Pregled študij in indikacije

VSL po alogenski transplantaciji KMC

EBMT priporoča uporabo virusno specifičnih limfocitov T v drugi liniji zdravljenja potransplantacijske limfoproliferativne bolezni zaradi EBV (EBV-PTLD).

V preteklosti so VSL uporabljali pretežno za zdravljenje že močno razvitih virusnih okužb, ki so bile odporne na zdravljenje. Kasneje pa so jih z uspehom začeli uporabljati tudi kot profilakso pri rizičnih bolnikih. Največ bolnikov je v ta namen prejelo CMV in EBV specifične limfocite T.

Za zdravljenje hemoragičnega cistitisa, katerega povzročitelj je virus BK, se v nekaterih centrih poslužujejo uporabe alogenskih BK specifičnih limfocitov zdravega darovalca. Celice se v

prejemniku po antigenski stimulaciji namnožijo in vztrajajo do 12 tednov. Terapija je obetavna saj so v študijah faze II dosegli odziv v 81-92%.

Glavne ovire zdravljenja z VSL ostajajo visoka cena, zahtevnost proizvodnje in čas do pripravka. Zaradi učinkovite kontrole apliciranih celičnih doz, ki zajema tudi aloreaktivne celice T, so hujši stranski učinki terapije redki. Pojav GVHD je možen, vendar je ponavadi blage stopnje (I-II).

Trenutno je v teku mednarodna prospektivna multicentrična študija (faza III), ki bo ugotavljala klinično učinkovitost aplikacije VSL pri okužbah s CMV, EBV in adenovirusom po alogenski transplantaciji (NCT04832607).

VSL so danes pomemben del zdravljenja rezistentnih virusnih okužb v obdobju po alogenski transplantaciji KMC, ko celična imunost iz presadka še ni vzpostavljena. Kljub pomembnemu napredku še vedno ne znamo izluščiti celičnih pripravkov z visokim terapevtskim potencialom. Zelo dobro je raziskana povezava med preživetjem celic T, proliferativnim potencialom ter celično učinkovitostjo na drugi strani. V študiji iz leta 2025 (Smith) so in vitro in na modelu in vivo analizirali EBV specifične limfocite T z uporabo različnih omik in ugotovili številne karakteristike celic, ki bi lahko vplivale na funkcijo in klinično učinkovitost. Poleg tipičnih (degranulacija, proliferacija) so identificirali številne druge kot so heterogenost T celičnih receptorjev, nivo izražanja efektorskih molekul ter markerja CD28 (kostimulacija) in CD49d (migracija v možgane in povečana aktivacija spominskih celic). Ta nova odkritja bodo v prihodnje omogočila pripravo bolj učinkovitih pripravkov VSL.

VSL po transplantaciji solidnega organa

Pri bolnikih s transplantiranim solidnim organom je imunska situacija drugačna kot pri prejemnikih KMC. Ponavadi so bolj imunsko kompetentni, kar predstavlja težavo zaradi potencialne zavrnitve infundiranih celic ter posledične slabše učinkovitosti. VSL, ki jih trenutno uporabljajo za zdravljenje, so namnoženi avtologni bolnikovi, ali pa jih daruje alogenski darovalec.

Vpliv imunosupresivne terapije na delovanje infundiranih VSL je še vedno nejasno. Ne vemo, kakšno je zavorno delovanje na infundirane celice, po drugi strani pa težko ocenimo, koliko je zvečana obstojnost infundiranih celic zaradi zavornega delovanja imunosupresije na zavrnitev HLA neskladnih celic. Večina VSL, ki jih uporabljajo za te bolnike, so usmerjeni proti EBV, CMV, adenovirusu in virusu BK. Rezultati klinične študije faze II iz leta 2024 (Khoury) nedvomno kažejo, da je zdravljenje z VSL v populaciji bolnikov, ki so prejeli solidni organ, varno. Zdravljenje je minilo brez infuzijskih reakcij, CRS ali GVHD. Odzivnost na zdravljenje, ki so jo dosegli, je bila 45% za BK virus, 65% za CMV in 60% za EBV (PTLD). Gre za največjo in prvo tovrstno študijo na tej populaciji bolnikov do sedaj.

Izkušnje ZTM

Na OTS pripravljamo VSL od leta 2021. Naša metoda za selekcijo VST je CCS, ki jo izvajamo na platformi Prodigy. Populacija prejemnikov VSL je bila precej heterogena – 2 pediatrična bolnika (eden s primarno imunsko pomanjkljivostjo, drugi po presaditvi ledice); 3 odrasli po alogenski transplantaciji KMC. Vsi pripravki VST so bili predpisani in uporabljeni v okviru sheme bolnišnična izjema (angl. hospital exemption).

Prvi bolnik s pomanjkanjem ARPC1B je v obdobju pred načrtovano presaditvijo KMC prejel 5 infuzij VSL zaradi EBV-PTLD. Pri vseh treh bolnikih po alogenski presaditvi KMC zaradi akutne mieloične levkemije (AML) je bila regeneracije celične imunosti upočasnjena, obenem pa so bili odporni na konvencionalna protivirusna zdravljenja. Izdani VSL so bili specifični za SARS-CoV-2 ter bispecifični za CMV/adenovirus, za BKvirus in EBV. Zadnji bolnik je imel nefropatijo presajene ledvice zaradi virusa BK. Do sedaj je prejel 4 infuzije BK specifičnih limfocitov T. Vsi darovalci za omenjene VSL so bili haploidentični. Bolniki so se zdravili na Pediatrični kliniki in na KO za hematologijo UKC Ljubljana.

Zaključek

VSL predstavljajo napredno celično zdravljenje za izbrano populacijo bolnikov po transplantaciji KMC ali solidnega organa, ki imajo moteno celično imunost in nekontrolirano virusno okužbo. Zdravljenje zahteva multidisciplinarni pristop, ker gre za zahtevne bolnike, ki prejmejo alogenski celični pripravek, katerega proizvodnja predstavlja velik logistični, tehnološki in regulatorni izziv. V Sloveniji smo sodeč po številu zdravljenih bolnikov in številu infundiranih pripravkov ter pridobljenih izkušnjah že izven uvajalne faze zdravljenja in se lahko posvetimo vzpostavljanju sistema, ki bo omogočil še boljše in zgodnejše vključevanje bolnikov, ki bi lahko imeli korist od zdravljenja z VSL.

Literatura

1. McCormack-Spivey S, Wilhelm J, Ikegami S. Duration of cryopreservation of third-party viral specific T-Cells (TP-VSTs) does not influence clinical efficacy. *Transplantation and cellular Therapy*, official publication of the American society for transplantation and cellular therapy, 32S131.
2. Djassemi N, Hanisch B, Motta C. Harnessing virus-specific T cells: expanding therapeutic strategies across diverse populations. *Blood Adv* (2025) 9 (23): 5965–5975.
3. Sureda A, Corbacioglu S, Greco R, *The EBMT Handbook 2024*

4. Green A, Rubinstein JD, Grimley M. Virus-Specific T Cells for the Treatment of Systemic Infections Following Allogeneic Hematopoietic Cell and Solid Organ Transplantation. *J Pediatric Infect Dis Soc* 2024 Feb 28;13(Supplement_1):S49-S57.
5. Lammers FCS, Bonifacius A, Tischer-Zimmermann S. Antiviral T-Cell Frequencies in a Healthy Population: Reference Values for Evaluating Antiviral Immune Cell Profiles in Immunocompromised Patients. *J Clin Immunol* 2022 Apr;42(3):546-558.
6. Smith C, Dasari V, Srihari S. A multidimensional workflow profiling of allogeneic virus-specific T cell therapies reveals potency-linked signatures. *Nat Commun* 17, 350 (2026).
7. Ruby Khoury R, Grimley MS, Nelson AS. Third-party virus-specific T cells for the treatment of double-stranded DNA viral reactivation and posttransplant lymphoproliferative disease after solid organ transplant. *Am J Transplant* 2024 Sep;24(9):1634-1643.

Virusno specifični T-limfociti: sodoben pristop in klinične izkušnje

Simona Ivančan¹, Nina Battelino², Gašper Markelj³

1) Klinični oddelek za hematologijo in onkologijo, Pediatrična klinika, UKC Ljubljana

2) Klinični oddelek za nefrologijo, Pediatrična klinika, UKC Ljubljana

3) Klinični oddelek za alergologijo, revmatologijo in imunologijo, Pediatrična klinika, UKC Ljubljana
simona.ivancan@kclj.si

Virusne okužbe po alogenski presaditvi krvotvornih matičnih celic (PKMC) ter pri bolnikih z imunsko pomanjkljivostjo ostajajo pomemben vzrok obolenosti in umrljivosti. Najpogosteje gre za reaktivacije citomegalovirusa (CMV), Epstein–Barrovega virusa (EBV), adenovirusa (AdV) in BK virusa (BKV), ki se pojavljajo predvsem v obdobju nepopolne T-celične rekonstitucije, ko učinkovit imunski nadzor še ni vzpostavljen. V tem obdobju so okužbe pogosto težje potekajoče, dolgotrajne in slabše odzivne na standardno zdravljenje, kar pomembno vpliva na izid zdravljenja ter dolgoročno prognozo.

Kljub razpoložljivim protivirusnim zdravilom ostajajo pomembne omejitve, saj je njihova učinkovitost pri bolnikih z izrazito limfopenijo pogosto nezadostna. Dolgotrajno zdravljenje je povezano pomembno toksičnostjo, predvsem mielosupresijo in nefrotoksičnostjo, ter z razvojem virusne odpornosti. V klinični praksi to pomeni, da se pogosto znajdemo v situaciji, ko kljub optimalni uporabi virostatikov ne dosežemo ustreznega nadzora nad virusno replikacijo, kar vodi v progresijo bolezni, podaljšano hospitalizacijo in povečuje umrljivost.

Virusno specifični T-limfociti (VSL) predstavljajo sodoben in ciljan terapevtski pristop, ki omogoča ponovno vzpostavitev imunskega nadzora nad virusnimi okužbami. Njihovo delovanje temelji na prepoznavanju virusnih antigenov, predstavljenih na HLA molekulah okuženih celic, ter sprožitvi usmerjenega citotoksičnega odziva CD8⁺ T-limfocitov ob podpori CD4⁺ celic. Na ta način omogočijo selektivno odstranitev okuženih celic ter vzpostavitev imunskega spomina, kar pomembno zmanjšuje tveganje za ponovne reaktivacije. Prednost tega pristopa je njegova specifičnost, odsotnost dodatne sistemske toksičnosti ter učinkovitost tudi v primerih virusne odpornosti na virostatike.

Priprava virusno specifičnih T-limfocitov je tehnološko zahteven, vendar standardiziran proces, ki poteka v specializiranih laboratorijih. Postopek vključuje izolacijo perifernih mononuklearnih celic darovalca, njihovo stimulacijo z virusnimi antigeni ter selekcijo celic, ki specifično prepoznajo virusne epitope. Sledi njihova ekspanzija in kontrola kakovosti, ki vključuje preverjanje viabilnosti, sterilnosti in funkcionalne aktivnosti. Pomembna omejitev ostaja čas priprave, ki lahko traja več

dni do tednov, kar v klinični praksi pomeni, da terapija ni vedno na voljo v kritičnem trenutku. Zaradi tega se v zadnjih letih razvijajo tudi vnaprej pripravljene, hitreje dostopne, delno HLA-ujemajoči t.i. pripravki tretjih oseb.

Za uspešno obravnavo bolnikov je ključnega pomena redno spremljanje virusnega bremena z molekularnimi metodami ter sočasna ocena imunske rekonstitucije. Tak pristop omogoča zgodnje prepoznavanje bolnikov z visokim tveganjem za zaplete in pravočasno uvedbo zdravljenja. Po priporočilih EBMT in drugih mednarodnih strokovnih združenj se VSL uporabljajo predvsem pri bolnikih z napredujočo ali na zdravljenje neodzivno viremijo, pri EBV povezanem posttransplantacijskem limfoproliferativnem sindromu, pri adenovirusnih okužbah pri hudi imunski pomanjkljivosti ter pri BK-virusni nefropatiji. Uporaba je smiselna tudi pri izbranih bolnikih z okužbo s SARS-CoV-2.

Podatki iz literature kažejo, da je učinkovitost zdravljenja z VSL visoka, zlasti pri EBV povezanih zapletih, kjer pogosto dosežemo hiter klinični odziv in regresijo bolezni. Pri CMV je učinkovitost nekoliko nižja, vendar še vedno klinično pomembna, podobno velja za adenovirusne okužbe in BK-virusno nefropatijo. Ključno je, da zdravljenje uvedemo pravočasno.

Naše klinične izkušnje potrjujejo te ugotovitve, hkrati pa poudarjajo kompleksnost zdravljenja v realnem kliničnem okolju. Pri bolniku z EBV povezanim posttransplantacijskim limfoproliferativnim sindromom smo po aplikaciji EBV-specifičnih limfocitov opazili hitro znižanje virusnega bremena in regresijo bolezni, s kliničnim izboljšanjem, ki je trajalo več mesecev. Pri bolniku z BK-virusno nefropatijo po presaditvi ledvice je zdravljenje vodilo v stabilizacijo funkcije presadka in izrazito znižanje virusnega bremena, brez pomembnih neželenih učinkov, ob kasnejši reaktivaciji pa smo terapijo uspešno ponovili. Po drugi strani pa pri bolnici po alogenski PKMC s sočasnimi reaktivacijami več virusov in izrazito imunsko oslabelostjo kljub uporabi VSL nismo bili uspešni, kar nakazuje omejitve pri najkompleksnejših bolnikih..

Podatki iz EBMT registrov dodatno potrjujejo, da je uspešnost zdravljenja tesno povezana s časom uvedbe terapije. Zgodnja uporaba VSL ob naraščajočem virusnem bremenu omogoča boljši virološki odziv, zmanjšanje virusne replikacije in preprečevanje razvoja organskih zapletov. Bolniki, zdravljeni v presimptomatski fazi, imajo boljše preživetje in manj zapletov. Pomemben dejavnik uspešnosti je tudi stopnja HLA ujemanja ter funkcionalna kakovost celičnega produkta, kar poudarja pomen ustrezne izbire darovalca. Dodatno EBMT poudarja vlogo standardiziranega spremljanja virusnega bremena in imunskega statusa kot ključnega elementa pri odločitvi za zdravljenje. Vse bolj se uveljavlja koncept preemptivnega zdravljenja z VSL, ki omogoča intervencijo še pred klinično manifestacijo bolezni. Tak pristop predstavlja pomemben premik od reaktivnega k proaktivnemu zdravljenju virusnih zapletov po presaditvi ter izboljšuje klinične izide.

V prihodnje pričakujemo širšo uporabo virusno specifičnih T-limfocitov tudi izven transplantacijskega okolja, zlasti pri bolnikih s primarnimi imunskimi pomanjkljivostmi ter pri onkoloških bolnikih z dolgotrajno limfopenijo. Pomemben razvojni korak predstavljajo univerzalni predpripravljeni pripravki, ki bi lahko bistveno izboljšali dostopnost zdravljenja in skrajšali čas do uvedbe terapije. Raziskave potekajo tudi na področju optimizacije izbire darovalcev in časovne umestitve terapije.

Zdravljenje z virusno specifičnimi T-limfociti predstavlja pomemben korak v smeri ciljanega imunskega zdravljenja in pomembno dopolnjuje obstoječe terapevtske možnosti. Uspešnost zdravljenja je tesno povezana s pravočasno uvedbo, dostopnostjo ustreznih celic ter splošnim imunskim statusom bolnika, zato ostaja ključno zgodnje prepoznavanje ogroženih bolnikov ter dobra organizacija multidisciplinarne obravnave.

Klinična uporaba VSL se je v zadnjem desetletju razširila tudi zaradi razvoja multivirusnih produktov, ki hkrati ciljajo več povzročiteljev, kot so CMV, EBV in adenovirus. Takšni pripravki omogočajo širši spekter zaščite pri bolnikih z globoko imunosupresijo in zmanjšujejo potrebo po več zaporednih terapijah. Pomembno je tudi, da je tveganje za pojav reakcije presadka proti gostitelju pri uporabi VSL nizko, kar potrjuje njihovo varnost v primerjavi z nespecifičnimi celičnimi pristopi. V večini študij je incidenca GVHD po aplikaciji VSL nizka ali primerljiva s standardno terapijo, kar dodatno podpira njihovo uporabo v klinični praksi.

Pomemben vidik predstavlja tudi izbira vira celic. Poleg darovalcev presadka se vse pogosteje uporabljajo banke tretjih oseb, ki omogočajo hitro dostopnost delno HLA-ujemajočih VSL. Tak pristop skrajša čas do zdravljenja in je še posebej pomemben pri hitro napredujočih okužbah. V zadnjih letih so bile razvite tudi metode za hitro selekcijo IFN-gama pozitivnih celic, ki omogočajo pripravo produkta v krajšem času brez dolgotrajne ekspanzije.

Farmakodinamika VSL kaže, da se po infuziji celice lahko razmnožujejo in vztrajajo v organizmu več tednov do mesecev, kar omogoča dolgotrajnejši protivirusni učinek. Trajanje je odvisno od imunskega statusa bolnika in virusnega bremena. Ponovne infuzije so v nekaterih primerih potrebne, zlasti pri kroničnih ali ponavljajočih se okužbah.

Kljub obetavnim rezultatom ostajajo odprta vprašanja glede optimalnega odmerjanja, časovne umestitve in izbire bolnikov. Različni protokoli uporabljajo različne doze celic, kar otežuje neposredno primerjavo rezultatov. Prav tako ostaja izziv standardizacija proizvodnje med centri. Ekonomika zdravljenja je dodatni dejavnik, saj je priprava individualnih produktov draga, vendar se s širšo uporabo in razvojem centraliziranih bank pričakuje znižanje stroškov.

V prihodnosti bodo ključne randomizirane študije, ki bodo natančneje opredelile mesto VSL v terapevtskih algoritmi. Pričakujemo tudi integracijo z drugimi imunoterapijami ter uporabo genetsko modificiranih T-celic za povečanje učinkovitosti in specifičnosti. Poleg tega napredek na

področju analitike omogoča natančnejše spremljanje T-celičnega repertoarja in funkcionalnosti po infuziji, kar odpira možnosti za personalizirano zdravljenje. Uporaba visokozmogljive sekvenciranja in naprednih imunoloških testov omogoča boljše razumevanje odziva na zdravljenje in optimizacijo nadaljnjih intervencij. Takšen pristop bo v prihodnje verjetno postal standard v centrih z visoko stopnjo kompleksnosti. Nadaljnje sodelovanje med centri, izmenjava podatkov in vključevanje v mednarodne registre bodo ključni za izboljšanje kakovosti dokazov in standardizacijo klinične uporabe VSL ter izboljšanje dolgoročnih kliničnih izidov bolnikov.

Literatura

1. Doubrovina E, Oflaz-Sozmen B, et al. Adoptive immunotherapy with virus-specific T lymphocytes for Epstein–Barr virus-associated post-transplant lymphoproliferative disease. *Blood*. 2016;127(20):2476–2485.
2. Houghtelin A, Bollard CM. Virus-specific T cells for the immunocompromised patient. *Immunol Cell Biol*. 2017;95(4):364–372.
3. Ljungman P, de la Camara R, et al. Guidelines for the management of cytomegalovirus infection in patients with haematological malignancies and after stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2020;55(11):2071–2089.
4. Papadopoulou A, Gerdemann U et al. Activity of broad-spectrum T cells as treatment for adenovirus, EBV, CMV, BK virus, and HHV6 infections after HSCT. *Sci Transl Med*. 2014;6(242):242ra83.
5. Prockop SE, Vickers MA et al. Adoptive immunotherapy with virus-specific T cells. *Semin Hematol*. 2023;60(1):58–67.
6. Lee YH, Hwang HS et al. BK virus-specific T-cell therapy for BK virus nephropathy after kidney transplantation. *Transplantation*. 2022;106(3):e237–e245.
7. Styczynski J, Ljungman P et al. Management of viral infections in patients after hematopoietic stem cell transplantation: 2024 update of the EBMT guidelines. *Bone Marrow Transplant*. 2024;59(6):789–812.

Pomen presejalnega testiranja krvodajalcev na okužbo z virusom hepatitisa E

Klara Železnik

Zavod Republike Slovenije za transfuzijsko medicino

klara.zeleznik@ztm.si

Uvod

Virus hepatitisa E (HEV) je RNA virus, ki se v blatu nahaja brez ovojnice, v krvi pa je obdan z lipidno psevdoovojnico, kar vpliva na infektivnost. Opisanih je osem genotipov, za okužbe ljudi pa so najpomembnejši genotipi HEV-1 do HEV-4. Epidemiološko se med seboj pomembno razlikujejo. HEV-1 in HEV-2 sta značilna predvsem za države v razvoju, prenašata se fekalno-oralno, najpogosteje z onesnaženo pitno vodo, povzročata akutne okužbe, prenos s transfuzijo pa ni opisan. Nasprotno pa sta HEV-3 in HEV-4 zoonotska virusa, ki se prenašata predvsem z uživanjem premalo termično obdelanega mesa in mesnih izdelkov, redkeje z neposrednim stikom z okuženimi živalmi ali njihovimi izločki. HEV-3 je glavni povzročitelj avtohtonih okužb v Evropi, medtem ko je HEV-4 pogostejši v Aziji.

V evropskem prostoru je najpogostejši povzročitelj akutnega virusnega hepatitisa HEV-3. Večina okužb pri imunokompetentnih posameznikih poteka asimptomatsko ali z blagimi nespecifičnimi simptomi. Ocena je, da je približno 70 % okužb brez kliničnih znakov. Poseben izziv predstavlja dejstvo, da lahko viremija pri imunokompetentni okuženi osebi traja približno dva meseca, pri čemer je prisotna že v preikterični fazi bolezni. To pomeni, da lahko kri darujejo tudi asimptomatski okuženi krvodajalci. Klinični pomen okužbe je bistveno večji pri imunsko oslabljenih bolnikih, saj lahko le-ta preide v kronično obliko oz. poslabša osnovno jetrno bolezen. Po ocenah se kronična okužba razvije pri približno 50–60 % okuženih prejemnikov organov. Opisane so tudi zunajjetrne manifestacije bolezni. Prisotnost protiteles IgG anti-HEV ne zagotavlja vedno zaščite pred ponovno okužbo.

V literaturi je opisan prenos HEV s transfuzijo eritrocitov, trombocitov, granulocitov, sveže zmrznjene plazme, krioprecipitata in tudi SD plazme. Virus kaže odpornost na nekatere postopke patogene redukcije, ki se uporabljajo v transfuzijski medicini (topilo/detergent, psoralen/UV-A). Prvi potrjen prenos HEV s transfuzijo je bil opisan leta 2002 na Japonskem, kmalu so sledili primeri v evropskih državah. Tveganje prenosa je povezano z virusnim bremenom v darovani krvi, količino plazme v komponenti, imunskim statusom prejemnika in s prisotnostjo protiteles IgG anti-HEV pri darovalcu in prejemniku.

Rezultati in diskusija

V evropskem prostoru je epidemiologija HEV heterogena, vendar rezultati epidemioloških študij kažejo, da so okužbe v populaciji bolj razširjene, kot se je sprva predvidevalo. Podatki o seroprevalenci IgG anti-HEV in prevalenci HEV RNA-pozitivnih enot se med državami in tudi znotraj držav močno razlikujejo. Ob tem je potrebno upoštevati tudi zelo pomembne metodološke razlike pri testiranju IgG anti-HEV (občutljivost in specifičnost testa) in HEV RNA (testiranje zlitij ali posameznih donacij). Povprečna prevalenca HEV RNA-pozitivnih krvodajalcev v Evropski uniji je približno 1 na 3100. Nekatere države so že uvedle obvezno rutinsko presejalno testiranje darovane krvi na HEV RNA (Japonska, Združeno kraljestvo, Irska, Nizozemska, Nemčija, Švica, Luksemburg, Avstrija, Francija), druge pa še vedno ocenjujejo stroškovno učinkovitost takšnih programov glede na lokalno epidemiološko situacijo oz. testiranje izvajajo samo pozamezne transfuzijske ustanove v državi (Španija, Malta, Slovaška, Poljska, Portugalska). Zanimiva je ocena angleškega statističnega modela, ki kaže, da je pri običajni prehrani tveganje okužbe s HEV s hrano večje kot tveganje transfuzijskega prenosa, pri čemer transfuzijsko tveganje preseže prehransko šele po približno 13 transfuzijah, prejetih od krvodajalcev iz iste geografske regije.

V Sloveniji je seroprevalenca protiteles IgG anti-HEV pri krvodajalcih nizka in stabilna. V študiji izvedeni leta 2019 smo ugotavljali 7,4 % seroprevalenco, v študiji iz leta 2024 pa 7,3%, kar kaže na stabilno stopnjo prekuženosti krvodajalcev. Prevalenca HEV RNA-pozitivnih donacij je nižja kot v večini evropskih držav, za katere so na voljo podatki, in je bila leta 2024 nižja kot leta 2019 (1 : 4.464 napram 1 : 1.858). Na podlagi grobe ocene tveganja je v Sloveniji verjetnost s transfuzijo prenesene simptomatske okužbe ocenjena na približno 1 na 240.300 transfundiranih enot, kar pomeni približno en primer na 2 do 3 leta. Verjetnost hudega poteka okužbe, kot je neozdravljiv kronični hepatitis E, pa je ocenjena na približno 1 na 1.171.463 transfundiranih enot, kar pomeni približno en primer na 12 do 13 let.

Glavno vprašanje pri uvajanju presejalnega testiranja na prisotnost HEV RNA pri krvodajalcih je razmerje med stroški, logistično izvedljivostjo in dejanskim izboljšanjem varnosti bolnikov. Iz tujine poznamo dva osnovna pristopa: univerzalno testiranje vseh krvodajalcev in selektivno testiranje za rizične skupine bolnikov ali posameznih vrst pripravkov. Selektivno testiranje zahteva jasne klinične smernice za transfuzijo HEV RNA-negativne krvi in vzdrževanje dveh ločenih zalog krvi, kar predstavlja ogromen logistični izziv. Univerzalno testiranje zagotavlja enako oskrbo za vse bolnike, zmanjšuje možnost napak, razbremeni osebje, poenostavi logistiko in se je na primerih iz tujine izkazalo za stroškovno učinkovitejše.

Pomembna dilema obstaja tudi glede metode testiranja. Testiranje zlitij vzorcev je cenejše, vendar manj občutljivo in zmanjša verjetnost zaznave nizkih koncentracij HEV RNA. Po ocenah lahko testiranje zlitij 96 vzorcev prepreči približno 80 % s transfuzijo prenesenih okužb, testiranje zlitij 24 vzorcev pa približno 90 %. Individualno testiranje posameznega odvzema je bolj občutljivo, vendar dražje, a omogoča zaznavanje nizke viremije (ki pa je lahko pod infektivno dozo) in uporabo kombiniranih presejalnih testov.

Zaključek

Na podlagi razpoložljivih epidemioloških podatkov in ocen tveganja je mogoče zaključiti, da je tveganje prenosa okužbe s HEV v Sloveniji nizko, vendar ni zanemarljivo. O odločitvi glede uvedbe presejalnega testiranja bo odločal Razširjen strokovni kolegij (RSK) za transfuzijsko medicino, pri čemer bo upošteval tudi mnenji RSK za infektologijo in RSK za javno zdravje. RSK za infektologijo je že podprl smiselnost uvedbe univerzalnega presejalnega testiranja krvodajalcev, dajalcev celic in tkiv s testiranjem posameznega odvzema s kombiniranim testom in za dvoletno prehodno obdobje, ki bi mu sledila ocena stanja. Mnenja RSK za javno zdravje na dan oddaje prispevka še nismo prejeli. Logistično-organizacijske zmožnosti transfuzijskega sistema in razvoj kombiniranih presejalnih testov (s sočasnim določanje nukleinskih kislin več virusov) govorijo v prid univerzalnemu testiranju posameznih odvzemov.

Literatura

1. Haase JA, Schlienkamp S, Ring JJ, Steinmann E. Transmission patterns of hepatitis E virus. *Curr Opin Virol.* 2025;70:101451.
2. Bi H, Yang R, Wu C, Xia J. Hepatitis E virus and blood transfusion safety. *Epidemiol Infect.* 2020;29;148:e158,1-9.
3. Singson S, Shastry S, Sudheesh N, Chawla K, Madiyal M, Kandasamy D, et al. Assessment of Hepatitis E virus transmission risks: a comprehensive review of cases among blood transfusion recipients and blood donors. *Infect Ecol Epidemiol.* 2024;14(1):2406834.
4. Mättö J, Putkuri N, Rimhanen-Finne R, Laurila P, Clancy J, Ihalainen J, et al. Hepatitis E Virus in Finland: Epidemiology and Risk in Blood Donors and in the General Population. *Pathogens.* 2023;12(3):484.
5. Cheung CKM, Wong SH, Law AWH, Law MF. Transfusion-transmitted hepatitis E: What we know so far? *World J Gastroenterol.* 2022;28(1):47-75.
6. Sommer-Strunck NM, Plümers R, Vollmer T, Rupp J, Glessing P, Görg S, et al. Low transmission rate of hepatitis E virus by transfusion of hepatitis E virus RNA-positive blood products. *Transfus Med Hemother.* 2026;53:3–12.
7. Gallian P, Lhomme S, Morel P, Gross S, Mantovani C, Hauser L, et al. Risk for Hepatitis E Virus Transmission by Solvent/Detergent–Treated Plasma. *Emerging Infectious Diseases,* 2020,26 (12),2881-2886.
8. Department of Health and Social Care. Executive summary: hepatitis E virus transmission by blood transfusion – review of current screening effectiveness [spletna stran]. London: GOV.UK; 8. december 2025 [citirano 12. februar 2026]. Dostopno na: <https://www.gov.uk/government/publications/sabto-hepatitis-e-virus-hev-screening-review-and-recommendations/executive-summary-hepatitis-e-virus-transmission-by-blood-transfusion-review-of-current-screening-effectiveness>.

9. Hoad VC, Seed CR, Fryk JJ, Harley R, Flower RLP, Hogema BM, et al., Hepatitis E virus RNA in Australian blood donors: prevalence and risk assessment. *Vox Sang.* 2017;112: 614-621.

Varnost ali tveganje: vpliv obdelave krvnih pripravkov na prenos povzročiteljev

Urška Dolinar
Zavod RS za transfuzijsko medicino
urska.dolinar@ztms.si

Izvleček

Transfuzijska medicina je v zadnjem stoletju doživela izjemen razvoj, zlasti na področju varnosti krvnih pripravkov. Namen prispevka je prikazati ključne mejnike pri zmanjševanju tveganja za prenos okužb s transfuzijo ter oceniti vpliv sodobnih postopkov obdelave krvi, kot so serološko testiranje, testiranje nukleinskih kislin (NAT), levkoredukcija in patogenska redukcija. Kljub pomembnemu zmanjšanju tveganja ostajajo določeni izzivi, povezani z novimi patogeni in omejitvami obstoječih metod. Prispevek poudarja potrebo po stalnem prilagajanju transfuzijske prakse.

Abstract

Transfusion medicine has undergone significant development over the past century, particularly in the field of blood safety. This article presents key milestones in reducing the risk of transfusion-transmitted infections and evaluates the impact of modern blood processing methods, including serological testing, nucleic acid testing (NAT), leukoreduction, and pathogen reduction. These approaches have substantially decreased the residual risk of transmitting major viral to extremely low levels. However, despite these advances, certain risks remain, particularly those associated with emerging pathogens, diagnostic window periods, and the limitations of current technologies. The article highlights the importance of a multi-layered safety strategy and emphasizes the need for continuous surveillance, research, and adaptation in transfusion practice.

Uvod

Od prve transfuzije v Sloveniji leta 1926 se je transfuzijska medicina razvila v visoko regulirano medicinsko dejavnost. Razvoj varnostnih ukrepov je bil tesno povezan s pojavom s krvjo prenosljivih okužb. Danes transfuzijska praksa temelji na večplastnem pristopu k zmanjševanju tveganj, kjer se prepletajo znanost izbora varnega krvodajalca, laboratorijsko testiranje in tehnološka obdelava krvnih komponent.

Izbor krvodajalca

Skrben izbor krvodajalcev ostaja temelj varne transfuzije. Ključno vlogo pri iskrenem odnosu in podajanju resničnih informacij nosi neplačano, anonimno, prostovoljno krvodajalstvo, v Sloveniji od leta 1953. Pred vsako donacijo potencialni krvodajalci od leta 1999 izpolnijo vprašalnik o zdravstvenem stanju, potovalnih navadah in tveganem vedenju. Omejitve darovanja po potovanjih ali bivanju na endemičnih območjih za okužbe dodatno zmanjšujejo tveganje za prenos povzročiteljev.

Uvedba laboratorijskega testiranja

Prvi sistematični ukrep za preprečevanje prenosa okužb je bilo serološko testiranje na sifilis leta 1960. Temu so sledili leta 1970 serološko testiranje na hepatitis B (HBV), leta 1986 testiranje na virus humane imunopomanjkljivosti (HIV) in leta 1993 testiranje na hepatitis C (HCV).

Leta 2000 smo uvedli testiranje za HCV RNA z metodo PCR, ki je znatno skrajšala diagnostično okno, ko je krvodajalec že kužen, serološki test pa negativen. Leta 2007 smo uvedli testiranja nukleinskih kislin (NAT) za HBV DNK ter HCV in HIV RNA, kar predstavlja revolucijo v varnosti krvi. NAT neposredno zaznava virusno RNA ali DNA, kar bistveno skrajša diagnostično okno – za HIV s približno 22 dni na 5–6 dni, za HCV s 70 dni na 3–5 dni. V državah z uvedenim NAT je rezidualno tveganje za prenos HIV in HCV padlo pod 1 na 1.000.000 enot. V lanskem letu smo uvedli presejalni NAT na Virus Zahodnega Nila (WNV) za čas sezone od 1. junija do 30. novembra.

Ločevanje krvi in aseptični sistemi

Komponentna terapija od leta 1965 v Sloveniji omogoča ciljno zdravljenje bolnikov. Eritrocitni koncentracije, trombociti in plazma imajo različne indikacije in zahteve glede shranjevanja.

Leto 1986 smo začeli shranjevati krvne komponente v plastičnih vrečkah v zaprtih sistemih. Tak način dela izniči tveganje bakterijske kontaminacije. Tekom odvzema prvi del krvi preusmerimo v ločeno vrečko. Tako odstanimo kožni čep, ki je najpogostejši vir bakterijske kontaminacije trombocitnih koncentratov. Ta preprost ukrep je pomembno zmanjšal incidenco septičnih transfuzijskih reakcij. To kri uporabimo za presejalno testiranje.

Levkoredukcija in obsevanje komponent

Levkoredukcija, uvedena leta 2000, pomeni odstranitev levkocitov iz krvnih komponent s filtracijo. Filtri tretje generacije zmanjšajo število levkocitov pod 10^6 na enoto, kar preprečuje ali zmanjšuje

febrilne nehemolitične transfuzijske reakcije (za približno 50 %), zmanjšanje tveganja za prenos citomegalovirusa (CMV), ki se nahaja v levkocitih, zmanjšanje tveganja aloimunizacijo na HLA-antigene in posledično refraktarnost.

Leta 2006 smo v Sloveniji uvedli obsevanje komponent. Z obsevanjem zmanjšamo TA- GvHD.

Patogenska redukcija

Patogenska redukcija (PR) predstavlja proaktiven pristop k inaktivaciji širokega spektra povzročiteljev, vključno s tistimi, ki jih rutinsko testiranje ne zazna ali testi niti še ne obstajajo. Od leta 2008 v Sloveniji uporabljamo sistem amotosalen/UVA (INTERCEPT), ki uporablja sintetični derivat psoralena amotosalen. Molekule se vgradijo v nukleinske kisline, UVA-svetloba povzroči ireverzibilno navzkrižno povezovanje, kar onemogoči replikacijo. Študije so pokazale učinkovito inaktivacijo (log redukcijski faktor $\geq 4,0$) za 25 ovojničastih virusov, 6 neovojničastih virusov in 4 vrste parazitov. Francija je leta 2017 uvedla 100-odstotno PR za vse trombocitne koncentrate, s čimer so znižali incidenco bakterijskih transfuzijskih okužb z 1/92.687 na 1/1.645.295 enot, smrtnih primerov zaradi bakterijske kontaminacije po uvedbi PR ni bilo. Dodatna prednost je inaktivacija levkocitov, kar lahko nadomesti obsevanje krvnih pripravkov za preprečevanje boleznih presadka proti gostitelju (TA-GvHD). Kljub vsem ukrepom preostala tveganja ostajajo. Neovojničasti virusi (hepatitis A, hepatitis E, parvovirus B19) so manj občutljivi na PR. Nekateri bakterijski sevi, zlasti sporogene vrste *Bacillus* in toksin-producirajoči *Staphylococcus aureus*, lahko uidejo inaktivaciji.

Zaključek

Napredek v transfuzijski medicini je v zadnjih desetletjih bistveno zmanjšal tveganje za prenos okužb s transfuzijo. Kombinacija selekcije krvodajalcev, naprednega testiranja, levkoredukcije in patogene redukcije predstavlja sodoben standard varnosti. Kljub temu popolna varnost ostaja nedosegljiv cilj. Nenehno spremljanje novih tveganj in uvajanje inovativnih rešitev sta ključna za nadaljnji razvoj stroke. Ravnovesje med varnostjo in tveganjem tako ostaja dinamičen proces, ki zahteva stalno evolucijo transfuzijske vede. Razvoj novih tehnologij odpira vprašanje stroškovne učinkovitosti in dostopnosti. Prihodnje strategije bodo morale uravnotežiti: maksimalno varnost, zadostno razpoložljivost krvnih pripravkov in ekonomsko vzdržnost sistema.

Literatura

1. Rahen Potokar U, Levičnik Stezinar S. Pomen mikrobiologije v transfuzijski medicini, In: Petrovec M, ur. Zbornik prispevkov: 10. Baničevi dnevi: 2018 Nov 23-24; Postojna, Slovenija. V Ljubljana: Sekcija za klinično mikrobiologijo in bolnišnične okužbe SZD; 2018. p. 87–93.
2. Bricl I, Lampreht N, Potočnik M. Ur. Življenje teče – publikacija ob 60. obletnici transfuzijske medicine v Sloveniji. Ljubljana: Zavod RS za transfuzijsko medicino; 2004. [cited 2025 Mar 26]. Available from: <http://www.ztm.si/uploads/publication/1110.pdf>.
3. Lanteri MC, Santa-Maria F, Laughunn A, Girard YA, Picard-Maureau M, Payrat JM, et al. Inactivation of a broad spectrum of viruses and parasites by photochemical treatment of plasma and platelets using amotosalen and ultraviolet A light. *Transfusion*. 2020;60(6):1319–31.
4. Richard P, Pouchol E, Sandid I, Aoustin L, Lefort C, Chartois AG, et al. Implementation of amotosalen plus ultraviolet A-mediated pathogen reduction for all platelet concentrates in France: Impact on the risk of transfusion-transmitted infections. *Vox Sang*. 2024;119(3):212–8.
5. García-Otálora MA, McDonald C, Bearne J, Brown B, Cheng A, Humbrecht C, et al. Platelet component safety in the era of new advancements in bacterial screening and pathogen reduction: A congress report of the 2024 ISBT Transfusion-Transmitted Infectious Diseases Working Party, Bacteria Subgroup. *Vox Sang*. 2025;120(8):846–57.
6. Andreu G, Boudjedir K, Meyer N, Carlier M, Drouet C, Py JY, et al. Platelet Additive Solutions and Pathogen Reduction Impact on Transfusion Safety, Patient Management and Platelet Supply. *Transfus Med Rev*. 2025;39(1):1–13.
7. Cukjati M, Rajić V, Paro Panjan D, Premru-Sršen T, Štucin Gantar I, Grošelj-Grenc M, et al. Smernice za preprečevanje prenosa CMV s transfuzijo krvnih komponent. *Zdrav Vestn*. 2013;82(6): p. 367–77.

Sindromi imunske oslabelosti (ZHS)

Kdaj pomisliti na primarno okvaro imunosti in kaj testirati

Mark Kačar

Univerzitetna klinika za pljučne bolezni in alergijo Golnik

mark.kacar@klinika-golnik.si

Področje hematologije se je v zadnjem desetletju korenito spremenilo, saj so preboji v molekularni genetiki in imunologiji razkrili, da so številna stanja, ki so bila nekoč obravnavana kot primarne hematološke bolezni, dejansko manifestacije prirojenih okvar imunosti (POI). Prirojene okvare imunosti, za katere je bila tradicionalno značilna predvsem nagnjenost k ponavljajočim se in nenavadnim okužbam, danes razumemo kot širši spekter motenj, kjer imunska disregulacija, avtoimunost in limfoproliferacija pogosto prevladujejo nad infekcijskim fenotipom.¹ Specialist hematologije je pogosto prvi zdravnik, ki se sreča z bolnikom z neprepoznano POI, saj se te bolezni pogosto predstavijo z avtoimunskimi citopenijami, kronično limfadenopatijo ali splenomegalijo.² Razumevanje epidemiološkega ozadja, patofizioloških mehanizmov običajne spremenljive imunodeficiencie (CVID) in njenih fenokopij, kot so avtoimunski limfoproliferativni sindrom (ALPS), sindrom aktivirane PI3K-delta (APDS) in X-vezani limfoproliferativni sindrom (XLP), je ključno za pravilno usmerjanje diagnostičnega procesa in uvedbo tarčnega zdravljenja, ki lahko bistveno izboljša prognozo teh bolnikov.³

Epidemiološki pregled prirojenih okvar imunosti

Čeprav se vsaka posamezna bolezen znotraj skupine POI uvršča med redke bolezni, je skupna prevalenca POI ocenjena na približno 1 na 1.200 oseb. Najpogostejša klinično pomembna oblika POI v odrasli dobi je CVID (ang. Common Variable Immune Deficiency), čigar prevalenca v zahodnih populacijah je med 1:25.000 in 1:50.000.

V Sloveniji se podatki o bolnikih s POI zbirajo v nacionalnem registru, ki ga vodi Klinični oddelek za alergologijo, revmatologijo in klinično imunologijo Pediatrične klinike v Ljubljani v sodelovanju z drugimi centri. Po podatkih iz leta 2015 je bilo v Sloveniji registriranih 247 bolnikov s 50 različnimi tipi POI.⁴ Čeprav je register primarno nastajal v pediatričnem okolju, je 22 % registriranih bolnikov odraslih, kar poudarja potrebo po kontinuirani obravnavi in prehodu v internistično hematološko-immunološko oskrbo.⁴ Slovenski podatki razkrivajo, da ima kar 29 % bolnikov s POI neinfektivne zaplete, med katerimi prevladujejo avtoimunost (22 %) in limfoproliferativne ali granulomatozne spremembe (12 %).⁴ Pomembno je izpostaviti, da diagnostični zamik pri teh boleznih ostaja velik

problem; pri CVID lahko traja od 4 do 15 let od pojava prvih simptomov do končne diagnoze, kar bolnike izpostavlja nepotrebnim zapletom in neučinkovitim terapijam.

Delež bolnikov s hematološkimi boleznimi in okvaro imunosti

Vprašanje, kolikšen delež bolnikov, ki se zdravijo pri hematologu zaradi avtoimunskih citopenij ali limfoproliferativnih sindromov, ima v ozadju POI, je ključnega pomena za klinično prakso. Sodobne prospektivne študije kažejo, da je ta delež presenetljivo visok. V kohorti 104 bolnikov z avtoimunskimi citopenijami (AIC) je bilo ugotovljeno, da ima kar 51 % bolnikov dokazano osnovno POI.¹ Od teh je bila pri 26 % bolnikov potrjena monogenetski vzrok (najpogosteje zaradi mutacij CTLA4, NFKB1, FAS in delnega sindroma DiGeorge).¹

Skrito POI so najpogosteje odkrili pri bolnikih z Evansovim sindromom in avtoimunsko hemolitično anemijo (AIHA). Podatki kažejo, da ima do 62,5 % bolnikov z AIHA in 61,5 % bolnikov z Evansovim sindromom pridruženo imunsko pomanjkljivost.¹ Evansov sindrom, ki ga definira sočasen ali zaporeden pojav AIHA in imunske trombocitopenije (ITP), se danes pogosto ne obravnava več kot samostojna bolezen, temveč kot klinični "opozorilni znak" za imunsko disregulacijo, zlasti pri ALPS ali CVID.¹³

Hematološka manifestacija	Delež bolnikov z osnovno POI (%)	Ključne povezane diagnoze POI
Evansov sindrom	50 % - 61,5 %	ALPS, CVID, CTLA4 haploinsuficienca, LRBA deficit
Avtoimunska hemolitična anemija (AIHA)	62,5 %	CVID, RAG deficit, delni DiGeorgeev sindrom
Imunska trombocitopenija (ITP)	30 % - 50 %	CVID, ALPS, WAS, APDS

V slovenskem registru je bila avtoimunost prisotna pri vseh bolnikih z motnjami imunske disregulacije in pri 38 % bolnikov s protitelesnimi pomanjkljivostmi.⁴ Ti podatki jasno kažejo, da bi morali hematologi obravnavati kronično, na zdravljenje odporno ali ponavljajočo se avtoimunsko

citopenijo kot indikacijo za osnovno imunološko obravnavo.² Poleg tega je tveganje za maligna obolenja, zlasti limfome, pri teh bolnikih dramatično povečano. Bolniki s CVID imajo 30-krat večje tveganje za razvoj limfoma v primerjavi s splošno populacijo, pri bolnikih z ALPS ali drugimi imunskimi pomanjkljivostmi pa je tveganje za razvoj Hodgkinovega ali ne-Hodgkinovega limfoma prisotno skozi celotno življenje.³

CVID - klinični kameleon

CVID predstavlja najpogostejšo simptomatsko obliko primarnih protitelesnih pomanjkljivosti. Ne gre za enotno bolezen, temveč za sindrom, ki ga zaznamujejo hipogamaglobulinemija, zmanjšana tvorba specifičnih protiteles po cepljenju ali naravni okužbi ter povečana nagnjenost k okužbam, avtoimunosti in limfoproliferaciji.³

Diagnostični kriteriji ESID zahtevajo znižanje nivoja serumskega IgG (vsaj 2 standardni deviaciji pod povprečjem za starost) ter sočasno znižanje nivoja IgA in/ali IgM.⁷ Poleg laboratorijskih izvidov je nujna klinična korelacija, ki vključuje povečano dovzetnost za okužbe ali znake imunske disregulacije, ter izključitev sekundarnih vzrokov hipogamaglobulinemije.⁷ Čeprav je hipogamaglobulinemija osrednja značilnost, približno 30 % do 50 % bolnikov s CVID razvije avtoimunske manifestacije, ki so lahko prva predstavitev bolezni, včasih še pred pojavom resnih okužb.

Hematološke manifestacije CVID vključujejo predvsem ITP, AIHA in Evansov sindrom. Zanimiv patofiziološki paradoks pri CVID je dejstvo, da bolniki kljub hudi hipogamaglobulinemiji ohranijo sposobnost tvorbe avtoprotiteles proti krvnim celicam. To nakazuje na globoko motnjo v imunski toleranci in ne le na preprosto pomanjkanje produkcije protiteles. Poleg citopenij se pri CVID pogosto pojavlja tudi benigna limfoproliferacija, ki se kaže kot splenomegalija, limfadenopatija ali granulomatozna-limfocitna intersticijska pljučna bolezen (GLILD).

Fenokopije CVID z limfoproliferacijo in avtoimunostjo

Z napredkom molekularne diagnostike smo ugotovili, da se pod klinično sliko CVID pogosto skrivajo specifične genetske bolezni, ki jih imenujemo fenokopije. Te bolezni zahtevajo drugačen terapevtski pristop in imajo specifične diagnostične markerje.

Avtoimunski limfoproliferativni sindrom (ALPS)

ALPS je prva genetsko opredeljena POI, ki neposredno povezuje motnjo apoptoze z limfoproliferacijo in avtoimunostjo. Nastane zaradi mutacij v genih poti FAS/FASL, ki so ključni za programirano celično smrt limfocitov po končanem imunskem odzivu.³

Klinično se ALPS običajno pojavi v zgodnjem otroštvu s kronično limfadenopatijo in splenomegalijo, ki sta lahko zelo izraziti in pogosto vodita do sumov na malignost.⁵ Najpogostejši hematološki zaplet so avtoimunske citopenije, zlasti ITP in AIHA, ki se pogosto pojavljajo sekvenčno. Za razliko od CVID bolniki z ALPS običajno niso nagnjeni k resnim bakterijskim okužbam, njihovi nivoji imunoglobulinov pa so pogosto povišani (hipergamaglobulinemija), razen v redkih primerih, ko se razvije sekundarna hipogamaglobulinemija.³

Ključni diagnostični marker za ALPS je povišanje dvojno negativnih T-celic (CD4-CD8- TCR $\alpha\beta$). Delež nad 10 % vseh T limfocitov močno govori v prid ALPS.³ Dodatni specifični biomarkerji vključujejo povišan serumski vitamin B12.³

Sindrom aktivirane PI3K-delta (APDS)

APDS je motnja, ki nastane zaradi mutacije v genih *PIK3CD* ali *PIK3R1*, kar vodi v stalno aktivacijo signalne poti PI3K/AKT/mTOR v limfocitih. To povzroča pospešeno diferenciacijo celic T v efektorske celice, ki so nagnjene k izčrpanosti, in motnje v zorenju celic B.

APDS je klasična fenokopija CVID, saj se bolniki pogosto predstavijo s hipogamaglobulinemijo in nagnjenostjo k okužbam dihal. Vendar pa so za APDS značilni tudi izrazita limfoproliferacija (povečani tonzili, bezgavke, splenomegalija) in povečana dovzetnost za okužbe s herpesvirusi (EBV, CMV). Laboratorijsko bolniki z APDS pogosto kažejo povišane vrednosti IgM ob nizkih vrednostih IgG in IgA, kar jih lahko uvršča tudi v skupino sindromov hiper-IgM.³

X-vezani limfoproliferativni sindrom (XLP)

XLP je redka, a izjemno nevarna POI, ki se kaže skoraj izključno pri moških. Poznamo dva tipa: XLP1 (mutacije v genu *SH2D1A/SAP*) in XLP2 (mutacije v genu *XIAP*). Osrednja značilnost obeh tipov je patološki imunski odziv na okužbo z virusom EBV.

XLP se lahko predstavi na tri načine: kot fulminantna infekcijska mononukleuza s hemofagocitno limfohistiocitozo (HLH), kot progresivna hipogamaglobulinemija (ki simulira CVID) ali kot razvoj B-celičnih limfomov. Pri bolniku z nepojasnjeno hipogamaglobulinemijo in anamnezo hudega poteka okužbe z EBV ali družinsko anamnezo zgodnjih smrti moških sorodnikov je nujno izključiti XLP. Za definitivno diagnozo XLP so potrebne genetske preiskave.⁸

Preiskava	Klinični pomen	Najdbe pri POI
Serumski IgG	Kvantitativna ocena humoralne imunitete	< 2 SD pod povprečjem za starost
Serumski IgA/IgM/IgE	Diferenciacija med selektivno pomanjkljivostjo in CVID	Pogosto znižana raven pri CVID
Specifična protitelesa (npr. pnevmokok, tetanus)	Funkcionalna ocena produkcije protiteles	Nezadosten porast (<2x od predcepilne vrednosti)
Limfocitne populacije	Ocena števila poglavitnih populacij	Odsotni B limfociti kažejo na agamaglobulinemijo, sočasne abnormalnosti T limfocitov na CID
Limfocitna diferenciacija	Ocena zorenja limfocitov B	Povišan delež nezrelih ali nepreklopljenih, znižan delež preklopljenih limfocitov B so značilni za motnje humoralne imunosti.
Izohemaglutinini	Hitra ocena protitelesnega odziva na polisaharide	Odsotni pri hudih defekti

Diagnostični protokol pri sumu na primarno okvaro imunosti

Obravnava pacienta s sumom na primarno hipogamaglobulinemijo v hematološki ambulanti zahteva sistematičen pristop, ki se začne z izključitvijo sekundarnih vzrokov. Sekundarna hipogamaglobulinemija je v hematologiji pogosta in je lahko posledica osnovne bolezni (KLL, limfomi, multipli mielom) ali zdravljenja (rituksimab, kemoterapija, zaviralci BTK).⁷

Vloga genetskega testiranja in personalizirana medicina

Končna potrditev večine POI danes temelji na molekularni genetiki. Uporaba panelov NGS, ki vključujejo več sto genov, povezanih s POI, je postala zlati standard v diagnostiki kompleksnih hematoloških primerov.² Genetska diagnoza ni pomembna le za razumevanje bolezni, temveč neposredno določa izbiro tarčnega zdravljenja pri določenih oblikah POI.

V hematologiji to pomeni premik od nespecifične imunosupresije (npr. kortikosteroidi) k natančnim terapevtskim posegom. Primeri vključujejo uporabo sirolimusa (zaviralec mTOR) pri ALPS, kjer zdravilo specifično zavira kopičenje patoloških DNT celic in zmanjšuje limfoproliferacijo.³ Pri APDS so na voljo specifični zaviralci PI3K δ , kot je leniolisib, ki neposredno ciljajo na osnovni biokemični defekt.³ Pri motnjah poti CTLA4/LRBA pa lahko uporabljamo fuzijski protein abatacept, ki uspešno zavira dezinhibirani imunski sistem teh pacientov.³

Zaključek

Prepoznavanje POI v hematološki praksi je nujno za izboljšanje kliničnih izidov. Visoka prevalenca POI med bolniki z Evansovim sindromom in drugimi AIC zahteva rutinsko presejanje teh pacientov z meritvami imunoglobulinov in analizo limfocitnih podskupin. CVID ostaja najpogostejša diagnoza, vendar je prepoznavanje njegovih fenokopij, kot so ALPS, APDS in XLP, ključno zaradi možnosti tarčnega zdravljenja in preprečevanja usodnih zapletov, kot sta HLH ali maligni limfom.

Prihodnost diagnostike leži v tesnejšem sodelovanju med hematologi, kliničnimi imunologi in genetiki ter v širši dostopnosti naprednih funkcionalnih testov in genetskega testiranja. Le s celostnim razumevanjem imunskega ozadja hematoloških manifestacij lahko bolnikom ponudimo optimalno oskrbo, ki temelji na bioloških osnovah njihove bolezni. S tem se hematologija preobraža v vedo, ki ne zdravi le simptomov citopenij, temveč posega v same temelje imunskega sistema.

Literatura

1. Diagnosis and Management of Primary Immunodeficiency Practice Parameter
2. Inborn Errors of Immunity in Pediatric Hematology and Oncology ..., accessed March 30, 2026, <https://www.mdpi.com/2077-0383/14/17/6295>
3. Autoimmune-lymphoproliferative immunodeficiencies (ALPID) - PMC, accessed March 30, 2026, <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10841637/>
4. Autoimmune and Inflammatory Manifestations in 247 Patients with ..., accessed March 30, 2026, <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27582173/>
5. Autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS) - Immune Deficiency Foundation, accessed March 30, 2026, <https://primaryimmune.org/understanding-primary-immunodeficiency/types-of-pi/autoimmune-lymphoproliferative-syndrome-alps>
6. Diagnostic criteria for common variable immunodeficiency - ESID, accessed March 30, 2026, https://esid.org/wp-content/uploads/2024/04/cvid_diagnostic-crit.doc
7. Primary Immunodeficiencies and Hematologic Malignancies: A Diagnostic Approach - PMC, accessed March 30, 2026, <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8971519/>

Imunska oslabelost pri bolnikih z diseminiranim plazmocitomom

Barbara Skopec, Stefan Đorđević

KO za hematologijo, Interna klinika, Univerzitetni Klinični Center Ljubljana

Barbara.skopec@kclj.si

Uvod

Diseminirani plazmocitom (DP) je novotvorba plazmatk, ki predstavlja približno 1–2 % vseh rakov in 10–15 % vseh hematoloških malignomov. Okužbe so pogost zaplet pri bolnikih z DP. Pojavljajo se bistveno pogosteje kot pri splošni populaciji in predstavljajo enega od glavnih vzrokov obolevnosti in umrljivosti pri teh bolnikih. Imunska oslabelost in posledično povečano tveganje za okužbe so povezani z motnjami v delovanju imunskega sistema, ki so posledica same narave bolezni in tudi njenega zdravljenja.

Imunska pareza

Imunska pareza je pojav, za katerega je značilno znižanje koncentracij poliklonskih imunoglobulinov v serumu in odraža supresijo normalne humoralne imunosti. Gre za zmanjšane serumske ravni tistih imunoglobulinov, ki niso del produkcije monoklonskega (M) proteina. Prisotna je pri vseh podtipih DP, vendar se pogosteje pojavlja pri bolnikih z IgG tipom M-proteina. Nedavne raziskave kažejo, da je imunska pareza pri DP tesno povezana z osjo BCMA–BAFF/APRIL. BCMA, transmembranski glikoprotein iz družine receptorjev TNF, je visoko izražen na plazmatkah in uravnava njihovo preživetje, proliferacijo ter produkcijo imunoglobulinov. Proteolitična cepitev BCMA z γ -sekretazo vodi v nastanek topnega BCMA (sBCMA), ki z vezavo na BAFF in APRIL kompetitivno zavira signalizacijo preko membranskega BCMA. Posledično je motena diferenciacija in funkcija plazmatk, kar se klinično odraža kot zmanjšana sinteza poliklonskih imunoglobulinov in razvoj imunske pareze.

Imunosupresija povzročena z zdravlili

Monoklonska protitelesa

Daratumumab povzroča imunosupresijo pri DP predvsem z deplecijo CD38-pozitivnih imunskih celic, zlasti naravnih celic ubijalk (NK) in normalnih B-celic, ter s poglobljanjem humoralne imunopareze. Najizrazitejši učinek je deplecija NK celic, deloma zaradi mehanizma fratricida, posredovanega preko protitelesno odvisne celične citotoksičnosti (ADCC). To je povezano s povečanim tveganjem za okužbe in virusne reaktivacije. Kljub

temu ima tudi imunostimulacijske učinke, saj z eliminacijo imunosupresivnih celičnih populacij spodbuja ekspanzijo in klonalnost CD8+ T-celic.

Zaviralci proteasoma

Zaviralci proteasoma (bortezomib, karfilzomib, iksazomib) dodatno poglobljajo imunsko disfunkcijo z zaviranjem T-celične imunosti, moteno funkcijo dendritičnih celic in okvarjeno predstavitvijo antigenov preko MHC razreda I. Bortezomib pomembno zmanjša skupno število T limfocitov in premakne ravnovesje Th1/Th2 v smer Th2 prevlade, pri čemer incidenca okužb doseže vrh že v prvem ciklu zdravljenja. Poleg tega lahko preživele plazmocitomske celice prispevajo k imunosupresivnemu mikrookolju z večjim izločanjem proinflammatoryh citokinov (IL-6 in IL-8).

Imunomodulatorna zdravila

Imunomodulatorna zdravila (lenalidomid, pomalidomid in talomid) predstavljajo temeljno zdravljenje MM z neposrednimi protitumorskimi in imunomodulatornimi učinki. Kljub temu lahko prispevajo k imunosupresiji in povečanemu tveganju za okužbe pri bolnikih z že prisotno imunoparezo. Delujejo preko vezave na cereblon (CRBN), kar spremeni aktivnost E3 ubikvitin ligaznega kompleksa in vodi v razgradnjo transkripcijskih faktorjev IKZF1 in IKZF3, ključnih za preživetje plazemskih celic ter regulacijo B- in T-celične funkcije. Njihovi učinki vključujejo neposredno citotoksičnost, antiangiogeno delovanje, motenje interakcij z mikrookoljem ter modulacijo imunskega odziva z aktivacijo T- in NK-celic, povečanim izločanjem IL-2 in IFN- γ ter zaviranjem regulatornih T-celic.

Kortikosteroidi

Deksametazon deluje imunosupresivno preko zaviranja transkripcijskega faktorja NF- κ B ter širokega vpliva na adaptivno in prirojeno imunost. Zavira aktivacijo in proliferacijo T-celic in inducira limfopenijo (predvsem CD4+ T-celic). Kljub temu da povzroča nevtrofilijo (povečano število krožečih nevtrofilcev), deksametazon okvari njihovo funkcijo z zaviranjem kemotakse, adhezije na endotelij, ekstravazacije, fagocitoze, oksidativnega izbruha, degranulacije in sproščanja dušikovega oksida. Nastane paradoks povečane, a funkcionalno okvarjene populacije nevtrofilcev. Hkrati oslabi funkcijo makrofagov in dendritičnih celic, kar vodi v zmanjšano fagocitozo, okvarjeno predstavitvev antigenov in oslABLJENO protivirusno ter protitumorsko imunost.

Bispecifična protitelesa

Povzročajo izrazito, večfaktorsko imunosupresijo, ki vključuje hipogamaglobulinemijo, deplecijo B-celic, limfopenijo in funkcionalno izčrpanost T-celic. Bispecifična protitelesa, usmerjena proti BCMA (teklistamab, elranatamab, linvoseltamab), povzročajo posebej izrazito prizadetost humoralne imunosti, saj je BCMA izražen na malignih in normalnih plazmatkah, vendar ne na zgodnjih predhodnikih B-celic. Posledično pride predvsem do deplecije plazmatk in zmanjšane produkcije imunoglobulinov, medtem ko zgodnje B-celične populacije ostajajo relativno ohranjene. Nasprotno pa bispecifiki, usmerjeni proti GPRC5D (talketamab), manj vplivajo na zgodnje B-celične populacije, kar lahko pojasni nekoliko nižjo incidenco okužb.

Profilaksa in dodatni ukrepi

Pri bolnikih je preprečevanje in pravočasno zdravljenje okužb ključni del celostne obravnave. V primerih hude nevtropenije je indicirana uporaba granulocitnega rastnega faktorja (G-CSF), ki spodbuja tvorbo nevtrofilcev in zmanjšuje tveganje za okužbe. Ob pojavu okužbe je potrebno takojšnje zdravljenje s širokospektralnimi antibiotiki, saj lahko pri imunsko oslabljenih bolnikih okužbe hitro napredujejo. Poleg tega je v prvih treh mesecih zdravljenja smiselna profilaktična uporaba antibiotikov (levofloksacin). Pomemben del preventive je tudi zaščita pred oportunističnimi okužbami. Za preprečevanje okužbe s *Pneumocystis jirovecii* se priporoča uporaba kombinacije sulfametoksazol–trimetoprim, predvsem pri bolnikih, ki prejemajo BCMA-usmerjene imunoterapije, ali pri tistih s hudo limfopenijo. Za preprečevanje reaktivacije herpes zoster virusa se priporoča protivirusna profilaksa z aciklovirjem ali valaciclovirjem. To velja zlasti za bolnike, ki se zdravijo z zaviralci proteasoma, anti-CD38 protitelesi ali BCMA-usmerjenimi zdravili. Uporaba intravenskih imunoglobulinov (IVIG) ni rutinsko priporočena, temveč je omejena na izbrane primere. Indikacije vključujejo nizke vrednosti IgG (pod 400–500 mg/dL), ponavljajoče hude okužbe (ki so zahtevale hospitalizacijo), ali zdravljenje z BCMA-usmerjenimi bispecifičnimi T-celičnimi zdravili, kjer je tveganje za okužbe izrazito povečano. Cepljenje ima pomembno vlogo pri zmanjševanju tveganja za okužbe. Priporočena so cepljenja proti gripi, virusu varicella-zoster, SARS-CoV-2 in pnevmokoknim okužbam. Pri bolnikih s pogostimi okužbami lahko razmislimo tudi o cepljenju proti respiratornemu sincicijskemu virusu.

Zaključek

Imunska pareza je pri DP zelo pogosta, zlasti pri starejših bolnikih in pri tistih z višjimi koncentracijami M-proteina, ter predstavlja ključen dejavnik povečane dovzetnosti za okužbe.

Zdravljenje DP z zdravili močno vpliva na imunski system. Terapije zmanjšujejo število in funkcijo imunskih celic, kar poudarja pomen spremljanja imunskega statusa bolnikom in uporabe profilaktičnih ukrepov za preprečevanje okužb.

Literatura

1. Wang H, Chen J. Immunoparesis in multiple myeloma: a current overview. *Front Oncol.* 2025;15:1628144. doi:10.3389/fonc.2025.1628144.
2. Chahin M, Branham Z, Fox A, Leurinda C, Keruakous AR. Clinical considerations for immunoparesis in multiple myeloma. *Cancers (Basel).* 2022;14(9):2278. doi:10.3390/cancers14092278.
3. Geng C, Yang G, Wang H, Wu Y, Leng Y, Zhou H, Zhang Z, Jian Y, Chen W. Deep and partial immunoparesis is a poor prognostic factor for newly diagnosed multiple myeloma patients. *Leuk Lymphoma.* 2021;62(4):883–890. doi:10.1080/10428194.2020.1855345.
4. Raje NS, Anaissie E, Kumar SK, Lonial S, Martin T, Gertz MA, Krishnan A, Hari P, Ludwig H, O'Donnell E, Yee A, Kaufman JL, Cohen AD, Garderet L, Wechalekar AF, Terpos E, Khatry N, Niesvizky R, Yi Q, Joshua DE, Saikia T, Leung N, Engelhardt M, Mothy M, Branagan A, Chari A, Reiman AJ, Lipe B, Richter J, Rajkumar SV, Miguel JS, Anderson KC, Stadtmauer EA, Prabhala RH, McCarthy PL, Munshi NC. Consensus guidelines and recommendations for infection prevention in multiple myeloma: a report from the International Myeloma Working Group. *Lancet Haematol.* 2022;9(2):e143–e161. doi:10.1016/S2352-3026(21)00283-0.
5. Pierceall WE, Amatangelo MD, Bahlis NJ, Siegel DS, Rahman A, Van Oekelen O, Neri P, Young M, Chung W, Serbina N, Parekh S, Agarwal A, Thakurta A. Immunomodulation in pomalidomide, dexamethasone, and daratumumab-treated patients with relapsed/refractory multiple myeloma. *Clin Cancer Res.* 2020;26(22):5895–5902. doi:10.1158/1078-0432.CCR-20-1781.

Imunska oslabelost pri kronični limfocitni levkemiji

Jasmina Hauptman Faletič

Oddelek za hematologijo in hematološko onkologijo, Univerzitetni klinični center Maribor

jasmina.hauptmanfaletic@ukc-mb.si

Uvod

Kronična limfocitna levkemija (KLL) je najpogostejša levkemija pri odraslih in je povezana z izrazito imunsko disfunkcijo, ki je prisotna že ob diagnozi in se z napredovanjem bolezni ter zdravljenjem še pogloblja. Okužbe predstavljajo vodilni vzrok obolevnosti in pomemben vzrok smrti pri teh bolnikih (30 – 60% smrti). Imunska oslabelost vključuje motnje humoralne, celične in prirojene imunosti ter je dodatno potencirana s staranjem imunskega sistema. Klinično se to kaže predvsem s povečano dovzetnostjo za okužbe, ki lahko pomembno vplivajo na potek bolezni in kakovost življenja bolnikov.

Patofiziologija imunske oslabelosti

Humoralna imunost:

Maligni B-limfociti izločajo imunosupresivne citokine, kot sta interlevkin-10 in TGF- β , ter preko celičnih interakcij zavirajo normalne imunske odzive. Signalizacija preko B-celičnega receptorja dodatno spodbuja preživetje tumorskih celic in prispeva h kronični aktivaciji ter funkcionalni izčrpanosti imunskega sistema (sistemska imunosupresija).

Hipogamaglobulinemija je ena najznačilnejših imunskih motenj pri KLL. Eden ključnih dejavnikov je okvarjena tvorba poliklonskih imunoglobulinov zaradi nepravilnega delovanja neklonalnih CD5⁻ B-limfocitov. Te celice, ki so odgovorne za fiziološko produkcijo protiteles, so v prisotnosti levkemičnega klona funkcionalno zavrte.

Pomembno vlogo ima tudi moten razredni preklon imunoglobulinov (zlasti v IgG in IgA), ki je posledica nepravilne interakcije med CD40 na B limfocitu in ligandom CD40L na T celicah ter zmanjšane izražanja CD40L. Posledično je aktivacija B-celic neustrezna, kar vodi v okrnjeno diferenciacijo v plazmatke in zmanjšano produkcijo funkcionalnih protiteles.

Na ravni kostnega mozga levkemične B-celice zavirajo preživetje plazmatk preko interakcije med receptorjem CD95 (Fas) na plazmatkah in njegovim ligandom CD95L na tumorskih celicah, kar vodi v povečano apoptozo teh celic. To dodatno zmanjšuje sposobnost organizma za tvorbo imunoglobulinov.

Poleg kvantitativnega zmanjšanja imunoglobulinov je pomembna tudi kvalitativna okvara protiteles, kar pomeni slabšo afiniteto in funkcionalnost. To pojasnjuje, zakaj imajo bolniki lahko okužbe tudi pri relativno ohranjenih IgG vrednostih. Znižane koncentracije imunoglobulinov (zlasti IgG, lahko IgA) vodijo v zmanjšano sposobnost tvorbe protiteles in oslavljen odziv na antigene, vključno s cepivi. Ta motnja je neposredno povezana s povečanim tveganjem za bakterijske okužbe, zlasti okužbe dihal, gastrointestinalnega trakta, kože.

Celična imunost: T-celična izčrpanost in imunoregulacija

T-limfociti so številčno pogosto ohranjeni ali celo povečani, vendar funkcionalno okvarjeni. KLL celice aktivno oblikujejo imunosupresivno mikrookolje z izločanjem in izražanjem številnih inhibitornih signalov, ki pomembno zavirajo celično posredovano imunost. Povečano je izražanje molekule CD200 na površini levkemičnih celic, ki preko vezave na svoj receptor na imunskih celicah spodbuja diferenciacijo CD4⁺ T-limfocitov v regulatorne T-celice (Treg).

Treg celice nato izražajo visoke ravni inhibitornih molekul, kot so CTLA-4, CD270 in PD-L1. Z vezavo na svoje receptorje na efektorskih T-celicah te molekule zmanjšujejo proliferacijo, aktivacijo in efektorsko funkcijo T-limfocitov. Posledično pride do funkcionalne izčrpanosti T-celic, zmanjšane citotoksične aktivnosti in nadzora nad virusnimi ter oportunističnimi patogeni. To povečuje tveganje za okužbe, kot je herpes zoster.

Prirojena imunost

Fagocitna komponenta prirojene imunosti je pri KLL funkcionalno okvarjena. Nevtrofilci in monociti lahko ohranijo sposobnost fagocitoze, vendar je njihova znotrajcelična mikrobicidna aktivnost zmanjšana. Opisano je zmanjšano nastajanje pomembnih encimov, kot so mieloperoksidaza, lizocim in β -glukuronidaza, ki sodelujejo pri razgradnji patogenov v fagolizosomu. Zlasti zmanjšana aktivnost mieloperoksidaze vodi v oslavljen nastanek reaktivnih kisikovih zvrsti, kar bistveno zmanjša baktericidno učinkovitost fagocitov.

Moten je lahko tudi kemotaktični odziv nevtrofilcev, kar pomeni slabšo migracijo teh celic na mesto okužbe. Kombinacija okvarjene migracije in zmanjšane sposobnosti uničenja patogenov vodi v neučinkovit zgodnji imunski odziv, kar omogoča lažji razvoj in širjenje okužb.

Pomemben del prirojene imunosti predstavlja tudi sistem komplementa, ki je pri bolnikih s KLL pogosto funkcionalno oslavljen (40% bolnikov). Zmanjšana aktivacija komplementa

dodatno prispeva k slabši opsonizaciji mikroorganizmov (C3b) in s tem k zmanjšani učinkovitosti fagocitoze. To ima za posledico slabše odstranjevanje patogenov, zlasti inkapsuliranih bakterij.

NK celice so pogosto številčno ohranjene ali celo relativno povečane, vendar je njihova funkcija pomembno okvarjena. Ključna motnja se kaže v zmanjšani citotoksični aktivnosti, kar pomeni, da NK celice slabše prepoznavajo in uničujejo tarčne celice. Ta funkcionalna okvara je posledica več mehanizmov, vključno z motenim ravnovesjem med aktivacijskimi (zmanjšano izražanje NKG2D, NKp30 in NKp46) in inhibitorskimi receptorji na površini NK celic.

Vpliv zdravljenja na imunski sistem

Kemoterapija in kemoimunoterapija povzročata mielosupresijo, nevtropenijo in dolgotrajno limfopenijo. Purinski analogi, zlasti fludarabin, so povezani z izrazito T-celično imunosupresijo in povečanim tveganjem za oportunistične okužbe, kot je Pneumocystis jirovecii pljučnica.

Monoklonska protitelesa proti CD20, kot je rituksimab, povzročajo dolgotrajno deplecijo B-celic in hipogamaglobulinemijo ter zmanjšujejo odziv na cepljenje. Povečano je tudi tveganje za virusne reaktivacije (hepatitisi,..).

Tarčna zdravila, kot je ibrutinib, lahko dolgoročno izboljšajo nekatere vidike imunskega sistema z zmanjšanjem tumorske mase, vendar vplivajo tudi na funkcijo T-celic. Venetoklaks pogosto povzroča nevtropenijo, kar zahteva skrbno spremljanje bolnikov.

Terapija imunske oslabelosti ter preventiva

Nadomestno zdravljenje z imunoglobulini (IVIG) je priporočeno pri bolnikih z izrazito hipogamaglobulinemijo in ponavljajočimi se bakterijskimi okužbami. Ena najpomembnejših zgodnjih študij je bila dvojno slepa, randomizirana raziskava, ki je vključevala 84 bolnikov s KLL z visokim tveganjem za okužbe. Bolniki so prejeli intravenske imunoglobuline (IVIG) v odmerku 400 mg/kg TT na 3 tedne ali placebo. Rezultati so pokazali statistično značilno zmanjšanje bakterijskih okužb v skupini z imunoglobulini (23 proti 42 epizodam; $p = 0,01$) ter podaljšanje časa do prve resne okužbe. Učinek je bil posebej izrazit pri bolnikih, ki so zdravljenje prejeli eno leto.

Podobne rezultate so pokazale tudi druge randomizirane študije, ki so potrdile, da preventivna aplikacija IVIG zmanjšuje predvsem bakterijske okužbe, medtem ko na virusne okužbe nima pomembnega vpliva. Pomembno je, da nobena od teh študij ni pokazala izboljšanja celokupnega preživetja.

Jasna indikacija za uvedbo profilaktične terapije obstaja pri bolnikih z IgG < 4 g/L v kombinaciji s ponavljajočimi se ali hudimi bakterijskimi okužbami, zlasti okužbami dihal. Standardni odmerki vključujejo 0,2–0,4 g/kg telesne mase na 3 do 4 tedne pri intravenski aplikaciji ali pogostejše subkutane odmerke. Cilj zdravljenja je zmanjšanje pogostosti okužb, ne pa nujno normalizacija koncentracije IgG.

Cepljenje je ključni preventivni ukrep. Priporočeno je cepljenje proti gripi, COVID-19 in pnevmokoknim okužbam. Najboljši učinek dosežemo pred začetkom zdravljenja, vendar je cepljenje priporočeno tudi kasneje. Živa cepiva so kontraindicirana.

Antibiotična profilaksa je indicirana pri bolnikih z visokim tveganjem. Najpogosteje se uporabljajo fluorokinoloni, vendar je njihova uporaba povezana z razvojem rezistence in neželenimi učinki.

Protivirusna profilaksa je priporočena pri bolnikih, ki prejemajo terapije z izrazitim vplivom na B- ali T-celično imunost, kot so anti-CD20 protitelesa ali venetoklaks. Profilaksa je usmerjena predvsem v preprečevanje reaktivacije herpes simplex (HSV) in varicella zoster (VZV), pri čemer se najpogosteje uporabljata aciklovir ali valaciklovir. Posebno pozornost zahteva reaktivacija hepatitisa B pri bolnikih, zdravljenih z anti-CD20 terapijo, zato je presejanje pred začetkom zdravljenja nujno, pri ogroženih bolnikih pa je indicirana tudi protivirusna profilaksa.

Pljučnica, povzročena s *Pneumocystis jirovecii*, predstavlja pomembno oportunistično okužbo pri bolnikih s KLL. Profilaksa s trimetoprim – sulfometoksazolom je potrebna pri bolnikih, ki prejemajo dolgotrajno zdravljenje s kortikosteroidi, kombinirane imunosupresivne režime ali terapije, ki izrazito prizadenejo T-celično imunost.

Invazivne glivične okužbe so pri bolnikih s KLL redkejše kot pri nekaterih drugih hematoloških malignomih, vendar se lahko pojavijo pri bolnikih z izrazito imunosupresijo, zlasti ob dolgotrajni nevtropeniji ali intenzivnem zdravljenju. Flukonazol se uporablja predvsem za preprečevanje okužb s kandido, medtem ko imajo azoli širšega spektra (npr. posakonazol) vlogo pri preprečevanju invazivnih plesni.

Zaključek

Imunska oslabelost pri KLL je kompleksna in večplastna ter predstavlja ključni dejavnik, ki vpliva na potek bolezni. Vključuje interakcijo med boleznijo, zdravljenjem in staranjem imunskega sistema. Z optimalnim pristopom je mogoče pomembno zmanjšati tveganje za okužbe in izboljšati izide zdravljenja. Ključno vlogo pri obravnavi bolnika imajo preventivni ukrepi, selektivna uporaba imunoglobulinov ter individualiziran pristop k zdravljenju.

Literatura

1. Hallek M. Chronic lymphocytic leukemia: 2023 update on diagnosis, risk stratification and treatment. *Am J Hematol*. 2023.
2. Eichhorst B, et al. ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up of CLL. *Ann Oncol*. 2021.
3. NCCN Guidelines for Chronic Lymphocytic Leukemia/Small Lymphocytic Lymphoma. Version 2024.
4. Forconi F, Moss P. Perturbation of the normal immune system in CLL. *Blood*. 2015.
5. Mauro FR, et al. Infectious complications in chronic lymphocytic leukemia. *Hematol Oncol*. 2016.
6. Gale RP, Chapel HM, Bunch C, Rai KR, Foon K, Courter SG, Tait D. Intravenous immunoglobulin for the prevention of infection in chronic lymphocytic leukemia. A randomized, controlled clinical trial. *N Engl J Med*. 1988 Oct 6;319(14):902-7.
7. Carrillo de Albornoz S, Zhang X, Arnolda R, et al. Immunoglobulin use, survival, and infection outcomes in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood Adv*. 2025;9(20):5367–5377. doi:10.1182/bloodadvances.2025015867
8. Sun C, Wiestner A. Targeted therapies in CLL. *Blood*. 2018.
9. Parry HM, et al. COVID-19 vaccines in patients with CLL. *Blood*. 2021.

Vpliv alogenske presaditve krvnotvornih matičnih celic na imunski sistem

Novak Polona, Sever Matjaž
Univerzitetni klinični center Ljubljana
Polona.novak@kclj.si

Predhodna kemoterapija, kondicioniranje, okužbe inducirajo obsežno tkivno poškodbo, ki sproži sproščanje endogenih signalov nevarnosti (DAMP) in aktivacijo prirojenega imunskega sistema. Nastalo proinflamatorno okolje pomembno prispeva k aktivaciji antigen-predstavljalajočih celic (APC) in predstavlja začetni korak v patogenezi akutne GVHD. Intenzivnost tega zgodnjega vnetnega odziva je povezana z nadaljnjim potekom imunske rekonstitucije in tveganjem za zaplete.

Imunska rekonstitucija po aloPKMC poteka fazno in heterogeno. Najhitreje se obnovi prirojena imunost, pri čemer nevtrofilci običajno dosežejo funkcionalno raven v nekaj tednih, NK celice pa predstavljajo prvo limfoidno populacijo z efektorsko aktivnostjo. Zgodnja NK-celična rekonstitucija je bila povezana z boljšim preživetjem in nižjo nerelapsno smrtnostjo, kar poudarja njihov pomen v zgodnji protitumorski obrambi. Poleg tega imajo NK celice pomembno vlogo pri reakciji presadka proti levkemiji (GVL), zlasti v kontekstu KIR-neujemanja, kjer lahko selektivno uničijo tumorske celice brez indukcije GVHD.

Obnova adaptivne imunosti je bistveno počasnejša in kompleksnejša. T-celična rekonstitucija poteka preko dveh komplementarnih poti: periferne ekspanzije zrelih darovalčevih T-limfocitov ter timusno odvisne de novo diferenciacije. Sodobne raziskave poudarjajo, da je ravnovesje med tema mehanizmoma ključno za kvalitativno ustrezno obnovo. Pri odraslih bolnikih je timična involucija pomemben omejitveni dejavnik, kar vodi v zmanjšano diverziteteto T-celičnega odziva in povečano dovzetnost za oportunistične okužbe ter relaps bolezni.

Pomembno je poudariti, da kvantitativna obnova T-celic ne odraža nujno njihove funkcionalne sposobnosti. Nedavne longitudinalne analize so pokazale razhajanje med številom imunskih celic in njihovo funkcionalno sposobnostjo, kar ima pomembne klinične posledice za oceno imunskega okrevanja.

Aloreaktivnost poteka po dveh glavnih poteh: direktni in indirektni T-celični aloprepoznavnosti, pri čemer vsaka vključuje različne vire antigenov in različne T-celične populacije.

Direktna T-celična aloreaktivnost

Direktna pot temelji na prepoznavi intaktnih, neskladnih HLA-peptidnih kompleksov, ki so izraženi na površini alogenskih celic. Zanje so sposobne tako naivne kot spominske T celice. Aloreaktivni

TCR prepoznajo tuje HLA molekule, ki nosijo t. i. alopeptide – peptide raznolikega, večinoma neznanega izvora, ki sestavljajo širok spekter imunopeptidoma. Ta navzkrižna prepoznavna je izjemno učinkovita, kar pojasnjuje močan alogeni odziv tudi pri sicer omejenem številu neskladnih epitopov.

Indirektna T-celična aloreaktivnost

Indirektna pot vključuje procesiranje neskladnih HLA molekul darovalca v peptidne fragmente, ki se nato predstavijo v vezavnem mestu lastnih HLA molekul prejemnika. Ti peptidi so znani kot PIRCHE (Predicted Indirectly ReCognizable HLA Epitopes). Indirektna pot je pomembna predvsem pri kroničnih in poznih imunoloških zapletih, saj aktivira T celice preko klasične predstavitve antigenov v kontekstu lastnega HLA.

Posebna oblika: prepoznavna minor histokompatibilnostnih antigenov

Posebna kategorija indirektna aloreaktivnosti je usmerjena proti peptidom, ki ne izvirajo iz HLA, temveč iz drugih polimorfnih genov. Ti peptidi, predstavljeni na lastnih HLA molekulah, so minor histokompatibilnostni antigeni (mHAg). V HLA-ujemajočih presaditvah so mHAg edine tarče T-celične aloreaktivnosti. Ker gre za nove, prej neprepoznane peptide, jih praviloma prepoznavajo naivne T celice, kar pojasnjuje, zakaj lahko GVHD nastane tudi ob popolni HLA skladnosti.

B-celična rekonstitucija zaostaja za T-celično in je pogosto funkcionalno okrnjena. Motena diferenciacija v plazmatke ter nepopolna vzpostavitev germinalnih centrov vodita v hipogamaglobulinemijo in zmanjšano specifično protitelesno odzivnost. Ta pomanjkljivost je še posebej izrazita pri bolnikih s kronično GVHD, kjer so opisane tudi motnje v regulaciji B-celične homeostaze in povečane ravni BAFF, povezane z avtoimunskimi fenomeni.

GVHD ostaja osrednji imunopatološki zaplet aloPKMC. Akutna oblika je posledica aloreaktivnosti darovalčevih T-limfocitov, ki prepoznajo alogenske antigene prejemnika. V zadnjih letih se poudarja tudi vloga prirojene imunosti in tkivne mikrookolice pri iniciaciji bolezni. Kronična GVHD pa predstavlja kompleksno sindromsko entiteto, ki vključuje tako T- kot B-celične mehanizme ter fibroproliferativne procese, kar jo umešča na presečišče med aloimunostjo in avtoimunostjo.

Dolgotrajna aktivacija darovalčevih T-celic v kontekstu aGVHD vodi v progresivno funkcionalno izčrpanje, ki se fenotipsko kaže z izražanjem inhibitornih receptorjev, kot so PD-1, TIM-3 in LAG-3. Takšne T-celice izgubijo sposobnost proliferacije, produkcije efektorskih citokinov (npr. IFN- γ) in citotoksične aktivnosti. Posledično je okrnjeno prepoznavanje virusnih in drugih patogenih antigenov, kar vodi v povečano dovzetnost za oportunistične okužbe.

Hkrati aGVHD prizadene primarne in sekundarne limfoidne organe. Poškodba timusa zavira de novo diferenciacijo naivnih T-celic, kar dodatno omejuje obnovo TCR repertoarja. Prav tako je prizadeta struktura limfnih vozlov in vranice, kar moti učinkovito predstavitev antigenov in sodelovanje med T- in B-limfociti. Posledica je zmanjšana imunološka raznolikost in izguba sposobnosti generiranja specifičnega imunskega odziva. V takšnem okolju postanejo virusne reaktivacije in diseminirane okužbe pogoste in klinično izjemno pomembne. CMV, EBV, adenovirus predstavljajo tipične primere oportunističnih patogenov pri bolnikih z izrazito imunsko pomanjkljivostjo po aloPKMC. Pri bolnikih s hudim aGVHD lahko pride do nenadzorovane replikacije virusa, ki vodi v diseminirano bolezen z multiorgansko prizadetostjo, vključno z enteritisom, hepatitisom in pljučnico. Ključni patogenetski mehanizem je nezadostna virusno-specifična T-celična imunost, ki v normalnih pogojih omogoča nadzor nad temi virusi.

V zadnjem času se vse več pozornosti namenja tudi vlogi mikrobioma. Disbioza črevesne mikrobiote, ki je posledica kondicioniranja in antibiotične terapije, pomembno vpliva na imunsko homeostazo ter je povezana s povečanim tveganjem za GVHD in slabšimi transplantacijskimi izidi.

Na molekularni ravni je imunska rekonstitucija regulirana z več signalnimi osmi, med katerimi izstopata IL-7/IL-7R za T-celično homeostazo ter BAFF za B-celično preživetje. Identifikacija teh poti odpira možnosti za ciljno terapevtsko modulacijo imunskega sistema.

Literatura

1. Hill JA, Seo SK. How I prevent infections in patients receiving hematopoietic cell transplantation. *Blood*. 2020;136(6):644–56. doi:10.1182/blood.2019004045
2. Zeiser R, Blazar BR. Acute graft-versus-host disease — biologic process, prevention, and therapy. *N Engl J Med*. 2021;385(4):337–47. doi:10.1056/NEJMra2027523
3. Shouval R, Fein JA, Labopin M, Kröger N. Immune reconstitution after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation and its clinical implications. *Bone Marrow Transplant*. 2021;56(10):2277–89. doi:10.1038/s41409-021-01320-5
4. Ruggeri L, Capanni M, Urbani E, et al. NK cell alloreactivity and allogeneic hematopoietic stem cell transplantation outcomes. *Front Immunol*. 2022;13:832423. doi:10.3389/fimmu.2022.832423
5. Ogonek J, Kralj Juric M, Ghimire S, et al. Immune reconstitution after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Front Immunol*. 2020;11:1577. doi:10.3389/fimmu.2020.01577
6. Sarantopoulos S, Ritz J. Aberrant B-cell homeostasis in chronic GVHD. *Front Immunol*. 2021;12:710584. doi:10.3389/fimmu.2021.710584
7. Perales MA, Ceberio I, Armand P. Reduced-intensity conditioning and allogeneic transplantation: current perspectives. *J Clin Oncol*. 2021;39(17):1895–905. doi:10.1200/JCO.20.03382

8. Peled JU, Gomes ALC, Devlin SM, et al. Microbiota as predictor of mortality in allogeneic hematopoietic-cell transplantation. *N Engl J Med.* 2020;382(9):822–34. doi:10.1056/NEJMoa1900623
9. Luznik L, O'Donnell PV, Symons HJ, et al. Post-transplantation cyclophosphamide for tolerance induction in HLA-haploidentical transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2020;26(3):e71–7. doi:10.1016/j.bbmt.2019.10.028
10. Hakim FT, Memon SA, Cepeda R, et al. Age-dependent incidence, time course, and consequences of thymic renewal in adults after stem cell transplantation. *J Clin Invest.* 2021;131(5):e142567. doi:10.1172/JCI142567

Sindromi odpovedi kostnega mozga (ZHS, HLZ)

Histologija kostnega mozga pri aplastični anemiji in hipocelularnem mielodisplastičnem sindromu

Biljana Grčar Kuzmanov
Onkološki inštitutu Ljubljana
bkuzmanov@onko-i.si

Aplastična anemija (AA) je motnja krvotvornih matičnih celic, ki povzroči izgubo progenitornih celic, zmanjšano število ali odsotnost vseh krvnih celic v kostnem mozgu in zmanjšano število krvnih celic v periferni krvi v dveh ali več celičnih linijah (rdečih krvničkah, belih krvničkah in/ali trombocitih).

Izraz aplastična anemija običajno pomeni zmanjšano število vseh celic v kostnem mozgu (panhipoplazijo) z zmanjšanim številom krvničk na periferiji (citopenije) v vsaj dveh krvotvornih linijah.

Aplastična anemija je idiopatska v približno polovici primerov, sicer pa ima lahko različne etiologije, vključno z:

- neposredno poškodbo krvotvornih matičnih celic njihovih predhodnikov (kemikalije, zdravila, ionizirajoče sevanje);

- nenormalnim mikrokoljem kostnega mozga,

- imunsko posredovanim mehanizmom; ali

- kombinacijo zgoraj naštetih.

Obstajajo tudi dedovane motnje odpovedi kostnega mozga zaradi genetskih mutacij (npr. Fanconijeva anemija, Shwachman-Diamondov sindrom, prirojena diskeratoza).

Patofiziologija pridobljene aplastične anemije ni znana, čeprav je najbolj priljubljen model nepravilno reguliranega imunskega sistema, ki vodi do samoreaktivnega uničenja krvotvornih matičnih celic in progenitornih celic (Hematopoietic stem and progenitor cells - angl, HSPC) s strani T-limfocitov pri genetsko dovzetnem gostitelju. Poleg imunske komponente naj bi k bolezenskemu procesu prispevale tudi notranje okvare krvotvornih matičnih celic in progenitornih celic (HSPC) in nenormalna funkcija mikrokolja kostnega mozga.

Pridobljena aplastična anemija (pAA) je imunsko posredovano stanje zmanjšane celičnosti ali odsotnost krvotvornih elementov kostnega mozga, ki je po okrevanju kostnega mozga močno povezana s klonalno hematopoezo. Več kot 70 % bolnikov z AA razvije somatske mutacije v svojih krvotvornih celicah. V nasprotju z drugimi stanji, povezanimi s klonalno hematopoezo, kot sta mielodisplastični sindrom (MDS) ali klonalna hematopoeza nedoločene potenciala (clonal hematopoiesis of indeterminate significance – angl. CHIP) pri starejših, so glavne spremembe pri AA tesno povezane z njeno imunsko patogenezo.

Čeprav citogenetskih nepravilnosti pri AA običajno ne najdemo, se pri AA lahko dokažejo prehodne klonalne citogenetske nepravilnosti, kot je prisotnost trisomije 8, vendar le ta ne loči dokončno AA od hipoplastičnega MDS. Skoraj 40 % bolnikov z AA nosi somatske mutacije v genu PIGA, ki se kažejo kot klonalne populacije celic s fenotipom paroksizmalne nočne hemoglobinurije, 17 % bolnikov z AA pa ima izgubo alelov HLA razreda I. Med 20 % in 35 % bolnikov z AA ima somatske mutacije, povezane s hematološkimi malignomi, najznačilneje v genih ASXL1, BCOR in BCORL1.

Med dejavniki tveganja za razvoj MDS pri AA so trajanje bolezni, pridobitev somatskih mutacij z visokim tveganjem in starost ob pojavu AA. Novi podatki kažejo, da več alelov HLA razreda I ne le predisponira k razvoju AA, ampak lahko tudi predisponira k klonalni evoluciji pri bolnikih z AA.

Hipoplastični mielodisplastični sindrom (hMDS) je mieloidna neoplazma s citopenijo in displazijo, za katero je značilno znatno zmanjšana celičnost kostnega mozga, prilagojena starosti, ugotovljena na biopsijskem vzorcu. hMDS predstavljajo približno 10–15 % vseh MDS. Bolniki so običajno mlajši od tistih z drugimi tipi MDS, vendar starejši od tistih z aplastično anemijo. Etiologija ni znana.

hMDS povzroča selektivna prednost rasti somatsko mutiranih klonalnih krvotvornih matičnih celic ali njihovih predhodnikov. Zmanjšano celičnost lahko povzroči imunski napad limfocitov T na hematopoetske matične celice ali njihove predhodnike, pri čemer oligoklonalna ekspanzija CD8+ T limfocitov prekomerno proizvaja IFN- γ in/ali TNF- α . Prisotno je pomembno prekrivanje s paroksizmalno nočno hemoglobinurijo in aplastično anemijo. Kadar se mutacija PIGA dokaže v odsotnosti resničnih značilnosti MDS, je prednostna razvrstitev kot paroksizmalna nočna hemoglobinurija. Posamezniki z mutacijami zarodne linije genov GATA2, DDX41, genov za Fanconijevo anemijo ali genov za telomerazni kompleks lahko razvijejo hipoplastičen mielodisplastični sindrom (hMDS) ter akutno mieloično levkemijo (AML).

Histološka preiskava kostnega mozga pri AA je potrebna takrat, ko je potrebno izključiti morebitnega hipocelularnega mielodisplastičnega sindroma. Pri AA morfološko gre za hipocelularen kostni mozeg, lahko je prisotna diseritropoeza. Pogosto so odstoni megakariociti ter CD34+ mieloblasti. Spremembe v stromi (pomnožitev zrelih mastocitov, zvišano število zrelih

limfocitov in plazmatk, limfoidni agregati...). Včasih (zlasti ob kaheksiji različnih vzrokov) je prisotna želatinozna degeneracija strome/intersticija.

Za razliko od AA so spremembe pri hMDS podobne, a vseeno najdemo razlike. Pri hMDS je zmanjšana celularnost (manj kot 30% za mlajše od 70 let ter manj kot 20% za starejše od 70 let), prisotne so displastične spremembe v eni ali v več krvotvornih linijah. Megakariociti so redki, lahko so prisotni mikromegakariociti. Blasti se zdužujejo v manjših skupkih po 3-5 celic v intersticiju – (atypical localisation of immature precursors-ALIP). Retikulinska fibroza je redka. Lahko je povečan delež sideroblastov (če je delež >15% je potrebno pomisliti na MDS z mutacijo gena SF3B1). Včasih, kljub klinični prezentaciji, je kostni mozeg lahko fokalno hipercelularen, z razrastjo eritropoeze, lahko z blago izraženimi znaki displazije, vendar sta mielo in megakaripoeza okrnjeni. V teh primerih je potrebno preveriti obstoj klona paroksizmalne nočne hemoglobinurije.

Razlikovanje aplastične anemije od hipocelularnega MDS je zelo težavno brez kliničnega spremljanja.

Literatura

1. Durrani J, Maciejewski JP. Idiopathic aplastic anemia vs hypocellular myelodysplastic syndrome. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2019 Dec 6;2019(1):97-104. doi: 10.1182/hematology.2019000019. PMID: 31808900; PMCID: PMC6913491.
2. Ali Afsari, Lekidelu Taddesse-Heath, Aplastic Anemia Versus Hypoplastic Myelodysplastic Syndrome: A Diagnostic Dilemma, *American Journal of Clinical Pathology*, Volume 150, Issue suppl_1, October 2018, Page S93, <https://doi.org/10.1093/ajcp/aqy097.224>
3. Li H, Zhou C, Shen Y, Xu M, Wu D, Ye B. Research progress on the hematopoietic microenvironment in aplastic anemia. *Eur J Haematol*. 2023;111(2):172-180. doi:10.1111/ejh.13991

Prirojeni sindromi odpovedi kostnega mozga

Simona Ivančan

Klinični oddelek za hematologijo in onkologijo, Pediatrična klinika, UKC Ljubljana

simona.ivancan@kclj.si

Prirojeni sindromi odpovedi kostnega mozga (PSOKM) predstavljajo heterogeno skupino redkih dednih boleznih, za katere so značilne motnje v nastajanju, diferenciaciji in preživetju hematopoetskih matičnih celic. Posledica teh motenj je nezadostna tvorba ene ali več krvnih celičnih linij, kar se klinično najpogosteje izraža kot citopenija različne stopnje. Poleg hematoloških nepravilnosti so pogosto prisotne tudi prirojene razvojne anomalije, ki lahko prizadenejo različne organske sisteme. Zaradi svoje kompleksnosti in klinične raznolikosti PSOKM predstavljajo pomemben diagnostični in terapijski izziv v sodobni hematologiji, hkrati pa tudi pomemben model za razumevanje temeljnih mehanizmov hematopoeze.

Ocenjena skupna incidenca PSOKM znaša približno 1 : 5.000 do 1 : 10.000 prebivalcev, vendar je dejanska pojavnost verjetno višja, saj blažje ali atipične oblike boleznih pogosto ostanejo neprepoznane. Klinični potek je izrazito heterogen. Pri nekaterih bolnikih se bolezen manifestira že v zgodnjem otroštvu s hudo pancitopenijo in pridruženimi prirojenimi nepravilnostmi, pri drugih pa poteka dolgo časa subklinično in se odkrije šele ob laboratorijskih odstopanjih ali razvoju zapletov. Poseben diagnostični izziv predstavljajo bolniki, pri katerih se bolezen kaže zgolj kot izolirana ali blaga citopenija.

Za pravočasno prepoznavo PSOKM je ključna visoka stopnja kliničnega suma. Na te bolezni moramo pomisliti pri vsakem bolniku z nepojasnjeno citopenijo, zlasti če so prisotne dodatne značilnosti, kot so zastoj v rasti, displastični znaki, kožne spremembe ali družinska obremenjenost s hematološkimi boleznimi. Vedeti moramo, da se PSOKM pogosto klinično prekrivajo s pridobljenimi oblikami odpovedi kostnega mozga, predvsem z aplastično anemijo in mielodisplastičnim sindromom. Napačna opredelitev lahko vodi v neustrezno zdravljenje, zlasti pri uporabi imunosupresivne terapije ali standardnih kemoterapevtskih protokolov, ki jih bolniki s prirojenimi sindromi pogosto slabše prenašajo.

Klinični pomen PSOKM je tesno povezan z njihovim povečanim tveganjem za razvoj malignih boleznih. Najpogosteje gre za mielodisplastični sindrom (MDS) in akutno mieloično levkemijo (AML), ki se lahko razvijeta že v otroštvu ali zgodnji odrasli dobi. Pri določenih sindromih so pogostejši tudi solidni tumorji, predvsem ploščatocelični karcinomi glave in vratu ter anogenitalnega področja. Tveganje za maligno preobrazbo je posledica genomske nestabilnosti, ki omogoča kopičenje somatskih mutacij in klonalno evolucijo hematopoetskih celic. Klinično to pomeni potrebo po strukturiranem in dolgotrajnem spremljanju bolnikov, vključno z rednim hematološkim nadzorom in usmerjenim presejanjem za solidne tumorje.

Na molekularni ravni PSOKM vključujejo tri glavne patogenetske skupine. Motnje popravljanja DNA, značilne za Fanconijevo anemijo, vodijo v okvare mehanizmov popravljanja medverižnih povezav DNA, kar povzroča kromosomsko nestabilnost in povečano občutljivost na citotoksične dejavnike. Telomeropatije, kot je dyskeratosis congenita, so posledica okvar v vzdrževanju telomer, kar vodi v njihovo skrajševanje in prezgodnjo celično smrt, zlasti v hitro delečih se tkivih. Motnje nastajanja ribosomov, kot pri Diamond-Blackfanovi anemiji in Shwachman-Diamondovem sindromu, vplivajo na sestavljanje ribosomov in translacijo proteinov s tarčno prizadetostjo krvotvornih matičnih celic. Kljub različnim mehanizmom je skupni imenovalec teh bolezni okrnjena sposobnost vzdrževanja učinkovite hematopoeze ter povečana dovzetnost za poškodbe genetskega materiala krvotvorne matične celice.

Klinična slika PSOKM je raznolika. Hematološke manifestacije vključujejo izolirane ali kombinirane citopenije, ki so lahko stabilne ali progresivne. Pri nekaterih bolnikih prevladuje makrocitna anemija, pri drugih nevtropenija ali trombocitopenija. Pridružene so lahko prirojene anomalije skeleta, kožne spremembe, okvare ledvic, srca in drugih organov. Pomembno je poudariti, da odsotnost teh znakov ne izključuje diagnoze, zato je potrebno nanjo pomisliti tudi pri bolnikih z izoliranim odstopanjem v parametrih krvne slike.

Osnovne preiskave vključujejo krvno sliko z diferencialno belo krvno sliko, pregled kostnega mozga ter izključitev sekundarnih vzrokov citopenij, kot so okužbe, avtoimunske bolezni ali toksični vplivi. Ključnega pomena so specifične diagnostične metode. Testi lomljivosti kromosomov omogočajo prepoznavo motenj popravljanja DNA, merjenje dolžine telomer je pri diagnostiki telomeropatij, molekularno-genetske analize omogočajo opredelitev mutacij v številnih genih, povezanih s PSOKM. Uporaba sekvenciranja naslednje generacije je bistveno izboljšala diagnostično natančnost in omogočila tudi identifikacijo novih, redkih genetskih oblik bolezni, tudi tistih, ki so klinično manj izražene.

Pri obravnavi bolnikov s PSOKM je ključno razlikovati med prirojenimi in pridobljenimi oblikami odpovedi kostnega mozga zaradi prilagoditve zdravljenja. Bolniki s prirojenimi sindromi pogosto slabše prenašajo standardne kemoterapijo, zato jim moramo zdravljenje prilagoditi. Zahtevnejša je tudi izbira ustreznega darovalca krvotvornih matičnih celic in kondicioniranja v sklopu presaditve krvotvornih matičnih celic, saj so bolniki pogosto bolj občutljivi na toksične učinke le-tega.

Zdravljenje PSOKM je podporno in terapevtsko. Podporno zdravljenje vključuje transfuzije krvnih derivatov, uporabo rastnih faktorjev in preprečevanje ter zdravljenje okužb. Presaditev krvotvornih matičnih celic ostaja edino dokončno zdravljenje večin PSOKM. Odločitev zanjo temelji na potrjeni genetski diagnozi, kliničnem poteku bolezni ter oceni tveganja za zaplete, vključno z razvojem malignih bolezni. Pomemben del obravnave predstavlja tudi dolgoročno spremljanje bolnikov v specializiranem hematološkem centru.

PSOKM predstavljajo pomemben model za razumevanje povezave med genetskimi okvarami, odpovedjo kostnega mozga in razvojem malignih bolezni. Raziskave na tem področju omogočajo razvoj novih diagnostičnih pristopov in ciljanih terapevtskih strategij. Zaradi kompleksnosti teh bolezni je za optimalno obravnavo bolnikov nujen multidisciplinaren pristop, ki vključuje hematologe, klinične genetike, pediatre in druge specialiste glede na prizadetost tarčnih organov. Tabela 1 prikazuje ključne prirojene sindrome odpovedi kostnega mozga, njihovo patogenezo, klinične značilnosti, diagnostiko in zdravljenje.

Tabela 1:

Sindrom	Osnovni patogenetski mehanizem	Klinične značilnosti	Ključna diagnostika	Tveganje za malignom	Zdravljenje
Fanconijeva anemija	Okvara popravljanja DNA (interstrand crosslink repair)	Pancitopenija, prirojene anomalije, nizka rast	Test lomljivosti kromosomov (DEB/MMC), genetska analiza	Zelo visoko (MDS, AML, SCC)	PKMC
Dyskeratosis congenita	Motnje vzdrževanja dolžine telomer	Kožne spremembe, distrofija nohtov, levkoplakija, citopenije	Dolžina telomer (flow-FISH), genetska analiza	Visoko (MDS/AML, solidni tumorji)	PKMC zmanjšana intenzivnost
Sindrom Shwachman-Diamond	Motnje nastajanja ribosomov	Nevtropenija, pankreatična insuficienca, skeletne anomalije	Genetska analiza	Povečano (MDS/AML)	G-CSF, PKMC
Anemija Diamond-Blackfan	Ribosomop. (motena sinteza proteinov)	Makrocitna anemija, prirojene anomalije	Kostni mozeg (eritroidna aplazija), genetska analiza	Povečano (MDS/AML, solidni tumorji)	Glukokort, transfuzije, PKMC
GATA2 deficienca	Okvara transkrip. faktorja GATA2	Nevtropenija, limfopenija, okužbe, limfedem	Genetska analiza (GATA2)	Visoko (MDS/AML)	PKMC
Kongenitalna nevtropenija	Mutacije (najpogosteje ELANE)	Huda nevtropenija, ponavljajoče okužbe	Genetska analiza (ELANE in drugi geni)	Povečano (AML)	G-CSF, PKMC

Literatura

1. Alter BP. Inherited bone marrow failure syndromes. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2007;29–39.
2. Dokal I, Vulliamy T. Inherited aplastic anaemia and bone marrow failure syndromes. Blood Rev. 2008;22(3):141–53.
3. Shimamura A, Alter BP. Pathophysiology and management of inherited bone marrow failure syndromes. Blood Rev. 2010;24(3):101–22.
4. Dokal I, Tummala H, Vulliamy T. Inherited bone marrow failure in the pediatric patient. Blood. 2022 Aug 11;140(6):556-570
5. Lipton JM, Ellis SR. Diamond-Blackfan anemia. Hematol Oncol Clin North Am. 2009;23(2):261–82.
6. Shimamura A. Shwachman-Diamond syndrome. Semin Hematol. 2006;43(3):178–88.
7. Townsley DM, Dumitriu B, Young NS. Bone marrow failure and the telomere syndromes. Blood. 2014;124(18):2775–83.
8. Vlachos A, Muir E. Diamond-Blackfan anemia. Blood. 2010;116(19):3715–23.
9. Skokowa J, Dale DC, Touw IP, Zeidler C, Welte K. Severe congenital neutropenia. Nat Rev Dis Primers. 2017;3:17032.
10. Dokal I. Dyskeratosis congenita. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2011;480–6.

Molekularno-genetsko ozadje hMDS/AA

Helena Podgornik

Klinični oddelek za hematologijo, UKC Ljubljana, Zaloška 7, Ljubljana

helena.podgornik@kclj.si

V zelo heterogeni skupini bolezni, ki jih uvrščamo med mielodisplastične novotvorbe (MDS), je hipocelularni MDS (hMDS) redka podvrsta, ki se pojavlja pri približno 10% bolnikov z MDS. Označuje ga izrazito zmanjšanje celularnosti v kostnem mozgu (KM), ki je, tako kot pri aplastični anemiji (AA), manjša od 30%. Ta kriterij torej povezuje ti dve bolezni na citomorfološki ravni, obenem imata lahko tudi zelo podobno klinično sliko (citopenije), čeprav zelo različen patogenetski mehanizem. Genetske preiskave imajo pri MDS že dolgo uveljavljeno diagnostično in napovedno vlogo, krepí se tudi njihov terapevtski pomen. V predloženem prispevku predstavljám, kako lahko genetske preiskave pripomorejo k prepoznavanju in morebitnem ločevanju obeh bolezni ter kako lahko pomagajo pri klinični obravnavi bolnikov z AA.

Etiologiji AA in MDS sta načeloma povsem različni. Medtem ko je AA po definiciji nemaligna bolezen, povezana s T-celično imunsko posredovanim uničenjem hematopoetske matične celice (HSCT), kar vodi v odpoved KM, je MDS klonalna bolezen, ki jo vodi selektivna prednost mutirane HSCT pri razrasti oziroma preživetju. Ta dva različna mehanizma se lahko pri teh dveh boleznih tudi prepletata. Za AA je značilna zarodna prisotnost specifičnih HLA alelov, ki povečujejo tveganje za AA in težo njenega poteka. Prekrivanje entitet na genetski ravni povzroča izbor določenih podtipov HLA, ki so odgovorni za večjo pojavnost somatskih sprememb in posledično klonalne hematopoeze pri AA. Po drugi strani pa hMDS zaznamuje pomembna vpletenost patogenetskih sprememb imunskega sistema, kjer sta si obe bolezni znova zelo podobni.

Citogenetske spremembe najdemo pri približno polovici bolnikov z MDS, medtem ko pri AA prevladuje normalen kariotip in ob postavitvi diagnoze preureditve najdemo le pri približno 3% bolnikov. Za AA precej specifične preureditve vključujejo področje kratkega kraka kromosoma 6, kjer se nahajajo zapisi za MHC s številnimi lokusi HLA. To kromosomsko področje prizadenejo predvsem delecije, kar vodi v izgubo heterozigotnosti (LOH). Ker se z LOH izgubijo tisti haplotipi, ki so tarča imunskega napada, to pomeni prednost pri ohranjanju hematopoeze. Te spremembe se pogosteje pojavljajo pri mlajših bolnikih z AA in so povezane z manjšo verjetnostjo prehoda v MDS/AML. Za MDS najznačilnejše izgube (-5/del(5q)) in pridobitve (+8) ter kompleksen kariotip, so pri AA redki. Pogosteje pa najdemo monosomijo 7, ki se pri AA praviloma pojavlja kot osamljena najdba tako v kariotipu kot tudi brez prisotnih različic v genih, kar je pri MDS redko. Takšna najdba je lahko v pomoč pri ločevanju med MDS in AA. Ker je obenem močno povezana s prehodom AA v MDS/AML, prisotnost monosomije 7 predstavlja tudi močan dejavnik tveganja. Pri prepoznavanju citogenetskih sprememb na ravni kromosoma, je treba izpostaviti težavnost

izvedbe preiskav. Pri AA je citogenetsko analizo težko opraviti zaradi majhne količine celic, slabe kakovosti vzorca in slabe rasti celic na gojišču.

Glede na izvorno klonalno poreklo, je prisotnost somatskih sprememb pri MDS pričakovano večja kot pri AA. Vendar somatske spremembe najdemo pri ~70% bolnikov z AA, manj pri otrocih (~60%) in več pri starejših bolnikih (~80%). Praviloma je alelna frekvenca različic nižja kot pri MDS, zato govorimo o klonalni hematopoezi (CH). Avtoimuni napad, ki pri AA vodi v aplazijo KM zelo izčrpa zalogo HSCT. Po imunosupresivni terapiji sledi dolgo obdobje okrevanja, pri nekaterih bolnikih tudi ponovitve bolezni, v katerem imajo celice, ki se uspejo izogniti avtoimunemu napadu, kompetitivno prednost. Prednost imajo tudi celice, ki z mutacijo pridobijo prednosti v proliferaciji ali preživetju. To selektivno spodbuja CH pri AA.

Najpogostejši somatski spremembi pri AA sta mutacija v genu *PIGA* ter izguba alelov HLA razreda I. *PIGA* je gen, ki zapisuje encim, ki je ključen za sintezo sidra GPI. Njegova inaktivacija je pomembna pri imunskem napadu na HSCT. Delecije alelov HLA pa, tako kot na citogenetski ravni, vodijo v LOH. Spremembe področja 6p najdemo pri približno 10% bolnikov z AA, zelo redko pa pri MDS.

Ostale somatske različice največkrat najdemo v genih, povezanih z epigenetsko modifikacijo, kot so *ASXL1*, *BCOR*, *BCORL1* in *DNMT3A*, ki jih najdemo pri 25~40% bolnikov, skupaj pa predstavljajo 77% vseh različic, najdenih pri AA. Med njimi so najpogostejše različice v genih *ASXL1* in *DNMT3A*, ki sodita med najpogostejše mutirane gene pri krvnih novotvorbah. Ker pri bolnikih s hMDS različice največkrat najdemo v skoraj enakem naboru genov (*TET2*, *DNMT3A* in *ASXL1*), redko pa tudi v *PIGA*, sama najdba različic ni diagnostično specifična.

Pri bolnikih z AA najdemo v poečanem deležu še različice v genih *TERC* in *TERT*, ki sta neposredno vključena v vzdrževanje aktivnosti telomeraze. Prekomerno krajšanje telomer, t.i. izčrpavanje telomer, ki je posledica mutacij v teh genih ali monosomije 7, je še eden od pomembnih dejavnikov patogeneze AA.

Tanjšanje kortikalne kosti, pancitopenija in hipoplazija pri AA nastajajo zaradi povečanega maščobnega dela kot posledice aktivnosti genov, vključenih v adipogenezo, in zmanjšane osteogeneze (*TRADD*, *PRKAB2*, *LEP*, *SLC2A1* in *SOCS3*). Teh genov pri rutinski diagnostiki navadno ne analiziramo.

Pri MDS je diagnostični algoritem jasno določen in ključen tako za postavitve diagnoze kot za celovito opredelitev napovedi. V skladu s točkovnikom IPSS-M vključuje standardno citogenetsko analizo in NGS. Pri AA je uporabnost genetskih informacij manj opredeljena, vendar morata biti obe preiskavi del rutinske obravnave bolnika, kar predstavljam v nadaljevanju.

NGS je nujen zaradi določitve različic v nekaterih genih. Različice v genih *DNMT3A*, *ASXL1*, *BCOR* in *TP53* so ključne pri prepoznavanju spremljajoče CH in prehoda v MDS/AML. Ugotovili so, da je prisotnost za MDS značilnih somatskih različic povezana s trajanjem AA, dolžino telomer ter

napredovanjem v AML/MDS. Med bolniki z AA, ki napredujejo v MDS/AML, so skoraj izključno tisti s predhodno zaznamanimi somatskimi različicami. Prisotnost teh je lahko opozorilni znak. Večje tveganje za prehod v MDS/AML so dokazali pri bolnikih z AA, ki so somatske mutacije pridobili kasneje v poteku bolezni, kot tudi pri vseh bolnikih z monosomijo 7, ki jo določimo s kariotipizacijo. Različice v *ASXL1* in *DNMT3A* predstavljajo večje tveganje, saj jih povezujejo z odpornostjo na imunosupresivno zdravljenje. Različice v *TERT* in *TERC* povezujejo z večjim tveganjem ponovitve bolezni po imunosupresivnem zdravljenju. Različice v genu *PIGA* so po drugi strani napovedno ugodne, ker celic s to mutacijo limfociti T ne prepoznajo in imajo zato daljše preživetje, kar prispeva k ohranjanju hematopoeze. Pri razlikovanju med hMDS in AA se lahko delno opremo tudi na alelno frekvenco različic, ki je pri zaznavanju istih različic pri AA praviloma nižja.

Razlikovanje med AA in hMDS je zahtevno, saj bolezni delita številne klinične značilnosti, kot je zmanjšana celularnost KM, klonalne spremembe ter odziv na imunosupresivno zdravljenje. Čeprav genetske preiskave lahko pripomorejo k postavitvi diagnoze pri prekrivajočih se entitetah, somatske mutacije le redko definirajo bolezen neodvisno od kliničnega konteksta. To velja tudi za hMDS ter AA. Čeprav pri prepoznavanju bolezni nimajo največje vloge, lahko pomagajo pri oceni tveganja za preobrazbo bolezni v MDS/AML, ki prizadene 15-20% bolnikov z AA. Pomagajo lahko tudi pri opredelitvi tveganja glede odzivnosti na imunosupresivno zdravljenje, obenem pa se že izvajajo klinične študije za uporabo tarčnih zdravil. Zato bo tovrstna diagnostika v prihodnje še pomembnejša.

Literatura

1. Burceaga F, Cárdenas A, Ortega J, Galván E. Genetic Mutations Driving Aplastic Anemia: A Focus on Key Allelic Changes. *Eur J Haematol.* 2025;114(6):914-923.
2. Babushok DV. A Brief, but Comprehensive, Guide to Clonal Evolution in Aplastic Anemia, *Hematology. ASH. Education Program* 2018: 457–466,
3. Ogawa S: Clonal Hematopoiesis in Acquired Aplastic Anemia, *Blood.* 2016;128: 337–347,
4. Durrani J, Groarke EM. Clonality in Immune Aplastic Anemia: Mechanisms of Immune Escape or Malignant Transformation, *Sem. Hematol.* 2022,59: 137–142,
5. Townsley,DM, Dumitriu B, Young NS. Bone Marrow Failure and the Telomeropathies, *Blood* 2014;18: 2775–2783,
6. Sun L, Babushok DV. Secondary myelodysplastic syndrome and leukemia in acquired aplastic anemia and paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood.* 2020;136(1):36-49.
7. Tanaka TN, Bejar R. MDS overlap disorders and diagnostic boundaries. *Blood.* 2019;133(10):1086-1095.

Vloga optičnega genomskega mapiranja pri genetskih opredelitvah MDS

Veronika Mikolič

Specializirani hematološki laboratorij, Klinični oddelek za hematologijo, UKC Ljubljana
veronika.mikolic@kclj.si

Mielodisplastični sindrom (MDS) je heterogena skupina bolezni krvotvornih matičnih celic, za katero je značilna velika genetska raznolikost, ki vključuje vse od točkovnih mutacij do ponavljajočih se strukturnih sprememb. Njihova identifikacija pri bolnikih z MDS ima pomembno vlogo pri diagnostiki, prognostični oceni in odločitvah o zdravljenju. Standardna citogenetska in molekularno genetska diagnostična obravnava MDS vključuje preiskave kariotipizacije, FISH in NGS. Kariotipizacija omogoča odkrivanje večjih kromosomskih sprememb, vendar je omejena z nižjo ločljivostjo in pogojem, da se celice aktivno delijo. FISH je tarčno usmerjena metoda, ki ne omogoča celostnega pregleda genoma, medtem ko NGS učinkovito zaznava mutacije na ravni nukleotidov, vendar omejeno opredeljuje večje strukturne spremembe. Zaradi teh omejitev ostaja pri standardni diagnostični obravnavi MDS del genetskih sprememb neodkrit.

Optično genomsko mapiranje (OGM) se v zadnjih letih uveljavlja kot citogenomska metoda za analizo strukturnih sprememb v genomu, ki ne temelji na sekvenciranju. Tehnologija temelji na analizi zelo dolgih molekul DNA, ki so encimsko označene na specifičnih sekvenčnih motivih. Fluorescenčno označene molekule DNA se linearizirajo znotraj nanokanalov, nato pa se optično prebere značilen vzorec oznak. Na podlagi odstopanj v razporeditvi in medsebojnih razdaljah teh oznak je mogoče z visoko ločljivostjo zaznati širok spekter strukturnih sprememb, vključno z delecijami, duplikacijami, insercijami, inverzijami, translokacijami, spremembami v številu kopij in kompleksnimi ter kriptičnimi preureditvami. V primerjavi s kariotipizacijo OGM zagotavlja bistveno višjo ločljivost, poleg tega pa za izvedbo analize ne zahteva aktivno delečih se celic. Preiskava OGM omogoča celosten pregled genoma, kar predstavlja prednost pred FISH. V kombinaciji z NGS omogoča celovito genetsko karakterizacijo, saj združuje analizo strukturnih preureditev in točkovnih mutacij.

Objavljene raziskave zadnjih let so pokazale, da OGM bistveno izboljša zaznavanje strukturnih sprememb in sprememb v številu kopij pri MDS. Rezultati potrjujejo, da OGM z veliko zanesljivostjo prepozna večino preureditev in sprememb, zaznanih s standardnimi citogenetskimi metodami. Kljub temu OGM ni zanesljiv pri analizi hematoloških vzorcev z nizko infiltracijo tumorskih celic, pri detekciji sprememb, prisotnih v majhnih klonih in pri prepoznavanju sprememb v visoko ponavljajočih se genomskih regijah, kot sta telomerna in centromerna področja. V več študijah so poročali, da je OGM spregledal posamezne citogenetske spremembe, ki so bile pri kariotipizaciji zaznane le pri 2–3 metafazah.

Torres-Hernández in sodelavci so pri bolnikih z MDS in AML pokazali, da OGM omogoča natančnejšo razčlenitev kompleksnih kariotipov in zanesljivo opredelitev markerskih kromosomov. Analiza rezultatov OGM je razkrila dodatne spremembe in pogosto tudi višjo raven kompleksnosti, kot je bila razvidna s kariotipizacijo. V tej raziskavi so bili vsi kariotipi, ki jih s standardnimi metodami ni bilo mogoče ustrezno oceniti, uspešno opredeljeni z uporabo OGM. Yang in sodelavci so v študiji, ki je vključevala 101 bolnikov z novo odkritim MDS, pokazali, da OGM razkrije kriptične strukturne spremembe, ki jih s kariotipizacijo ni mogoče prepoznati. Z OGM so v tej študiji zaznali 383 klinično pomembnih strukturnih različic, od tega je bilo 51 % kriptičnih. Med temi kriptičnimi spremembami so bile tudi preureditve gena *MECOM*, fuzijski gen *NUP98::PRRX2* ter delne tandemske duplikacije gena *KMT2A*. Pri 16 % bolnikov z normalnim kariotipom so odkrili klinično pomembne strukturne spremembe, ki jih standardne citogenetske metode predhodno niso zaznale.

V splošnem študije poročajo o dodatnih klinično pomembnih najdbah po analizi OGM pri približno 20–40 % bolnikov v primerjavi s standardnimi diagnostičnimi metodami. Dodatne genetske spremembe, odkrite z OGM, lahko bistveno vplivajo na razvrstitev bolnikov v napovedne skupine tveganja. V več neodvisnih raziskavah je vključitev OGM pri MDS pokazala dodatne ali kriptične citogenetske spremembe, ki so pri približno 10–20 % bolnikov privedle do spremembe prognostične razvrstitve. Identifikacija kompleksnih ali dodatnih preureditev pogosto pomeni slabšo prognozo in lahko vpliva na odločitev za bolj agresivno zdravljenje.

Zaradi naraščajočega števila dokazov o uporabnosti OGM pri obravnavi hematoloških bolnikov so strokovnjaki, združeni v mednarodnem konzorciju za OGM (ICOGM), oblikovali priporočila za vključitev metode v diagnostiko hematoloških malignih bolezni. ICOGM poudarja, da OGM predstavlja robustno preiskavo za detekcijo strukturnih sprememb celotnega genoma, ki lahko pomembno dopolni ali v določenih primerih nadomesti obstoječe standardne citogenetske pristope. V smernicah predlagajo uporabo OGM v okviru začetne diagnostike v kombinaciji s standardnimi diagnostičnimi pristopi ali kot dodatni test v primerih, ko standardne metode ne zagotovijo zadostnih oziroma zanesljivih informacij. Kot metoda druge izbire ima OGM dodano vrednost v več scenarijih: (1) v primerih neuspešne kariotipizacije ali nezadostnega števila metafaz, (2) pri bolnikih z normalnim kariotipom, (3) pri razjasnjevanju kompleksnih ali nejasno opredeljenih sprememb, zaznanih s citogenetskimi preiskavami, ter (4) pri identifikaciji klinično pomembnih, vendar z rutinskimi metodami nezaznanih genetskih sprememb. Na podlagi trenutnih dokazov konzorcij priporoča vključitev OGM kot dodatno ali ustrezno alternativo standardnim citogenetskimi metodam v diagnostični obravnavi MDS, zlasti v primerih, kjer standardne metode ne identificirajo značilnih genetskih sprememb ali kjer tehnične omejitve preprečujejo zanesljivo analizo.

Pri vpeljavi metode v rutinsko diagnostiko ostajajo izzivi, vključno s stroški, potrebo po standardizaciji analize in interpretaciji podatkov ter integraciji z obstoječimi diagnostičnimi pristopi. Dodatno velja poudariti, da za OGM niso primerni že obstoječi arhivirani vzorci, kot so

izolirana DNA iz rutinskih vzorcev za molekularno genetske preiskave ali fiksirane celice, pripravljene za citogenetsko analizo. Uporaba teh vzorcev ni mogoča, saj se postopek izolacije DNA za OGM bistveno razlikuje in zahteva drugačno obravnavo izvornega biološkega materiala.

Uvedba OGM v rutinsko diagnostiko predstavlja pomemben korak k bolj natančni in celoviti diagnostični obravnavi bolnikov z MDS. Visoka ločljivost metode in njena sposobnost vpogleda v strukturne spremembe celotnega genoma omogočata natančnejšo identifikacijo klinično pomembnih preureditev. To prispeva k boljši diagnostični opredelitvi in zanesljivejši oceni napovednega pomena. Hkrati preiskava omogoča prepoznavanje kompleksnih in kriptičnih genomskih sprememb, kar odpira možnosti za boljše razumevanje bolezni in bolj personaliziran pristop k obravnavi bolnikov.

Literatura

1. Balducci E, Kaltenbach S, Villarese P, et al. Optical genome mapping refines cytogenetic diagnostics, prognostic stratification and provides new molecular insights in adult MDS/AML patients. *Blood Cancer J.* 2022;12(9):126.
2. Iriando J, Gómez A, Zubicaray J, et al. Optical Genome Mapping as a New Tool to Overcome Conventional Cytogenetics Limitations in Patients with Bone Marrow Failure. *Genes (Basel).* 2024;15(5):559.
3. Torres-Hernández N, Mora E, García-Ruiz C, et al. Optical genome mapping as a high-resolution tool for uncovering cytogenetic complex and cryptic alterations in a cohort of patients with MDS and AML. *NPJ Precis Oncol.* 2026;10(1):85.
4. Yang H, Garcia-Manero G, Sasaki K, et al. High-resolution structural variant profiling of myelodysplastic syndromes by optical genome mapping uncovers cryptic aberrations of prognostic and therapeutic significance. *Leukemia.* 2022;36(9):2306-2316.
5. Kanagal-Shamanna R, Puiggros A, Granada I, et al. Integration of Optical Genome Mapping in the Cytogenomic and Molecular Work-Up of Hematological Malignancies: Expert Recommendations From the International Consortium for Optical Genome Mapping. *Am J Hematol.* 2025;100(6):1029-1048.
6. Levy B, Kanagal-Shamanna R, Sahajpal NS, et al. A framework for the clinical implementation of optical genome mapping in hematologic malignancies. *Am J Hematol.* 2024;99(4):642-661.

Določanje PNH klona s pretočno citometrijo

Katarina Reberšek

Specializirani hematološki laboratorij, Klinični oddelek za hematologijo, UKC Ljubljana

katarina.rebersek@kclj.si

Paroksizmalna nočna hemoglobinurija (PNH) je redka motnja hematopoetskih matičnih celic, ki nastane zaradi somatske mutacije gena *PIG-A* (»phosphatidylinositol glycan complementation class A«), ki se nahaja na X kromosomu. Zaradi mutacije v genu pride do delne ali popolne nezmožnosti tvorbe glikozilfosfatidilinozitol (GPI)-sidra, preko katerega so različni antigeni pripeti na celično membrano. Med antigeni, ki so preko GPI sidra pripeti na celično membrano, sta CD55 in CD59, ki predstavljata zaščito pred kompleментом. Pomanjkanje CD55 in CD59 na krvnih celicah vodi do povečane občutljivosti celic za napad, posredovan s kompleментом, kar povzroča lizo eritrocitov ter aktivacijo granulocitov, monocitov in trombocitov. Tako je za PNH značilna kronična, nenadzorovana aktivacija komplemента, kar vodi do intravaskularne hemolize in vnetnega protrombotičnega stanja.

Majhne populacije celic PNH pogosto najdemo pri bolnikih z aplastično anemijo (AA) in pri nekaterih podskupinah mielodisplastičnega sindroma (MDS). Povezava med PNH in sindromi odpovedi kostnega mozga nakazuje, da selekcijski pritisk za klonsko razrast PNH posreduje bolnikov imunski sistem, vendar pa mehanizem še ni pojasnjen. Klinično ti bolniki običajno ne kažejo znakov hemolize, vendar je prisotnost majhnih klonov pri AA povezana z boljšim odzivom na imunosupresivno zdravljenje. Bolnike z AA je potrebno spremljati v določenih časovnih intervalih zaradi morebitnega napredovanja v klasično obliko PNH.

Pretočna citometrija ima pomembno vlogo pri diagnostiki in spremljanju bolnikov s PNH. Pri bolnikih s klasično obliko PNH in pri bolnikih z AA ter MDS za zaznavo celic PNH uporabljamo enako kombinacijo protiteles. Uporabljajo se monoklonska protitelesa, ki so usmerjena proti antigenom (imunološki celični označevalci), katerih odsotnost na celični membrani je značilna zanjo. Antigene lahko določamo na membrani eritrocitov, trombocitov ali levkocitih (nevtrofilni granulociti in monociti). Kot najprimernejše se je izkazalo določanje na levkocitih (nevtrofilni granulociti in monociti). Pri določanju antigenov na eritrocitni membrani pa je potrebna previdnost, ker zaradi hemolize lahko določimo antigene le na normalnih eritrocitih.

Za zaznavo celic PNH na nevtrofilnih granulocitih uporabimo stopenjsko zamejevanje, nevtrofilne granulocite prepoznamo na osnovi izražanja CD15, populacijo PNH med nevtrofilnimi granulociti prepoznamo kot dvojno negativne dogodke za CD24 in FLAER (»fluorescently labeled aerolysin«).

Za zaznavo celic PNH na monocitih uporabimo stopenjsko zamejevanje, monocite prepoznamo na osnovi izražanja CD64, populacijo PNH med monociti prepoznamo kot dvojno negativne dogodke za CD14 in FLAER.

Za zaznavo celic PNH na eritrocitih uporabimo karakteristike velikosti in CD235a, populacijo PNH med eritrociti prepoznamo glede na intenziteto fluorescence CD59, odčitamo delež eritrocitov, ki so povsem negativni za CD59 (tip III), delež šibko pozitivnih za CD59 (tip II) in delež z normalno izraženo fluorescenco CD59 (tip I). Vsota deležev eritrocitov tipa II in tipa III predstavlja celice PNH med eritrociti.

Za zaznavo celic PNH pri bolnikih s klasično obliko PNH in pri bolnikih z AA ter MDS uporabljamo enako kombinacijo protiteles. Vendar pa je potrebno pri vzorcih, ki vsebujejo le majhno število celic PNH, povečati število analiziranih dogodkov. Splošno sprejeto najmanjše število dogodkov, ki je potrebno za zanesljivo zaznavo populacije PNH in določitev meje zaznave (LOD), je 20 celic PNH; najmanjše število dogodkov, ki je potrebno za zanesljivo kvantifikacijo populacije PNH in določitev spodnje meje kvantifikacije (LLOQ), pa je 50 celic PNH. Če zaznamo več kot 50 celic PNH, v izvid izdamo kvantitativen rezultat. Če zaznamo več kot 20 celic PNH, vendar manj kot 50 celic PNH, izdamo izvid kot "zaznali smo redke celice s PNH fenotipom, vendar pod mejo kvantifikacije". Priporočljiva LOQ za eritrocite je 0,01%, za doseg take občutljivosti je potrebno analizirati vsaj 100.000 eritrocitov; priporočljiva LOQ za nevtrofilne granulocite je 0,1%, za doseg take občutljivosti moramo analizirati vsaj 50.000 nevtrofilcev; priporočljiva LOQ za monocite je 0,5%, za doseg take občutljivosti moramo analizirati vsaj 10.000 monocitov.

V izvidu navedemo LOQ oziroma LOD za nevtrofilne granulocite, monocite oziroma eritrocite ter diagnostične označevalce, ki jih uporabimo v testiranju za PNH. V izvidu navedemo tudi opredelitev, če je klon PNH prisoten oziroma, če klon PNH ni prisoten. Pri tem uporabimo terminologijo poročanja klona PNH v skladu s CSLI H52-A2; in sicer za populacijo PNH > 1% »klon PNH«, za populacijo PNH 0.1% - 1% »majhna populacija celic PNH« ali »majhen klon PNH« ter za populacijo PNH <0.1% »redke celice s pomanjkanjem GPI« ali »redke celice s PNH fenotipom«. Če so celice PNH prisotne, podamo tudi velikost klona PNH med eritrociti, in sicer velikost celotnega klona PNH, velikost klona tipa II in tipa III.

Literatura

1. Dezern AE, Borowitz MJ. ICCS/ESCCA consensus guidelines to detect GPI-deficient cells in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) and related disorders part 1 - clinical utility. *Cytometry B Clin Cytom.* 2018;94(1):16-22.
2. Sutherland DR, Illingworth A, Marinov I, Ortiz F, Andreasen J, Payne D, et al. ICCS/ESCCA consensus guidelines to detect GPI-deficient cells in paroxysmal nocturnal

hemoglobinuria (PNH) and related disorders part 2 - reagent selection and assay optimization for high-sensitivity testing. *Cytometry B Clin Cytom.* 2018;94(1):23-48.

3. Illingworth A, Marinov I, Sutherland DR, Wagner-Ballon O, DeVecchio L. ICCS/ESCCA consensus guidelines to detect GPI-deficient cells in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) and related disorders part 3 - data analysis, reporting and case studies. *Cytometry B Clin Cytom.* 2018;94(1):49-66.
4. Oldaker T, Whitby L, Saber M, Holden J, Wallace PK, Litwin V. ICCS/ESCCA consensus guidelines to detect GPI-deficient cells in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) and related disorders part 4 - assay validation and quality assurance. *Cytometry B Clin Cytom.* 2018;94(1):67-81.
5. Raza A, Ravandi F, Rastogi A, Bubis J, Lim SH, Weitz I, et al. A prospective multicenter study of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria cells in patients with bone marrow failure. *Cytometry B Clin Cytom.* 2014;86(3):175-82.
6. Illingworth AJ, Marinov I, Sutherland DR. Sensitive and accurate identification of PNH clones based on ICCS/ESCCA PNH Consensus Guidelines-A summary. *Int J Lab Hematol.* 2019;41:73-81.

Zdravljenje aplastične anemije pri odraslih bolnikih

Karla Rener, Gaja Cvejić Vidali
UKC Ljubljana, Zaloška cesta 2, 1000 Ljubljana
Karla.rener@kclj.si

Uvod

Aplastična anemija (AA) je redka in heterogena imunsko-pogojena krvna bolezen za katero je značilna pancitopenija s hipocelularnim kostnim mozgom brez prisotnosti bolezenske infiltracije ali fibroze kostnega mozga.

Ločimo pridobljene in dedne oblike (npr. Fanconijeva anemija, prirojena diskeratoza). V ožjem kliničnem smislu se izraz aplastična anemija najpogosteje nanaša na pridobljeno imunsko posredovano obliko pri mladostnikih in odraslih. Nezdravljenja bolezen je povezana s hudimi okužbami, krvavitvami in odvisnostjo od transfuzij. Z uvedbo imunosupresivnega zdravljenja v kombinaciji z agonistom trombopoetskega receptorja (eltrombopaga) in presaditve krvotvornih matičnih celic (PKMC) se je stopnja preživetja pomembno izboljšala.

Kriteriji za diagnozo AA

Za postavitev diagnoze morata biti izpolnjena vsaj dva od naslednjih kriterijev: koncentracija hemoglobina (Hb) < 100 g/L, število trombocitov < $50 \times 10^9/L$ in število nevtrofilcev < $1,5 \times 10^9/L$. Število retikulocitov nam pomaga opredeliti stopnjo resnosti bolezni po Camitta kriterijih, ki so prikazani v tabeli 1.

Stopnja AA	Značilnosti kostnega mozga	Laboratorijski kriteriji (vsaj dva izmed treh)
Huda SAA	Celularnost kostnega mozga <25 % (ali 25–50 % z <30 % preostalih hematopoetskih celic)	Nevtrofilci < $0,5 \times 10^9/L$ Trombociti < $20 \times 10^9/L$ Retikulociti < $60 \times 10^9/L$
Zelo huda VSAA	Kot pri hudi AA	Nevtrofilci < $0,2 \times 10^9/L$ (ostali kriteriji kot pri hudi AA)
Zmerna NSAA	AA, ki ne izpolnjuje kriterijev za hudo ali zelo hudo AA	AA, ki ne izpolnjuje kriterijev za hudo ali zelo hudo AA

SAA-angl. Severe aplastic anemia, VSAA-angl. Very severe aplastic anemia, NSAA-angl. Non severe aplastic anemia

Tabela 1. Stopnje aplastične anemije glede na Camitta kriterije

Vzroki AA

Večina bolnikov (70–80 %) zbolijo zaradi **pridobljene AA**, povzročene zaradi imunskega uničenja ali zaviranja hematopoetskih matičnih celic. V ozadju delujeta vsaj dva znana avtoimuna mehanizma poškodbe in sicer napad, posredovan s T-limfociti, ter zaviranje rasti in apoptoze pod vplivom citokinov. To vodi v izčrpanje in hipocelularnost kostnega mozga, preživijo pa lahko redki kloni z mutacijami ali pomanjkanjem glikozilfosfatidilnega sidra (GPI, PNH klon) kar odraža selektivni pritisk imunskega sistema. Ta imunska narava pojasnjuje učinkovitost antitimocitnega globulina in ciklosporina pri zdravljenju.

Sekundarni vzroki vključujejo izpostavljenost zdravilom (citostatiki, kloramfenikol, antikonvulzivi itd.), strupene snovi (benzen), virusom (seronegativni hepatitis, parvovirus B19) in sevanju. Dedne vzroke kot so Fanconijeva anemija, telomeropatije (prirojena diskeratoza), Shwachman-Diamondov sindrom in druge je ključno prepoznati, da izberemo ustrezno zdravljenje. Zanje velja, da jih običajno odkrivamo pri otrocih in mladih odraslih.

Diagnostične preiskave

Za potrditev pridobljene idiopatske AA moramo izključiti druge vzroke odpovedi kostnega mozga. V diagnostičnem postopku opravimo osnovne preiskave krvi (krvna slika, DKS, retikulociti), preverimo pomanjkanje vitamin B12 in folne kisline, serologijo na hepatitise A/B/C/E, EBV, CMV, HIV ter parvoB19 in imunoserologijo revmatskih bolezni. Za dokončno diagnozo opravimo preiskave kostnega mozga, zlasti pomembne so histologija kostnega mozga (potreben je kvaliteten vzorec) ter genetske preiskave. Bistvenega pomena je, da ločimo med AA in hipocelularnim mielodisplastičnim sindromom (MDS).

Približno 50–60 % bolnikov z aplastično anemijo ima prisoten PNH (paroksizmalna nočna hemoglobinurija) klon, zato vedno testiramo tudi PNH klon z uporabo pretočne citometrije.

Po postavitvi diagnoze bolnika povprašamo o možnih sorojencih, saj je pri SAA in VSAA potrebno začeti iskati sorodnega darovalca krvotvornih matičnih celic (KMC).

Klinična slika in epidemiologija bolezni

Večina bolnikov prepoznamo zaradi simptomov, povezanih s citopenijami (npr. okužb, krvavitve in/ali utrujenosti), lahko pa so tudi asimptomatski. Pojavnost bolezni ima dvofazno porazdelitev, z vrhovi med 10. in 25. letom ter po 60. letu starosti. Incidenca v Evropi znaša 2–3 primere na milijon prebivalcev letno.

Zdravljenje

Zdravljenje zahteva skrbno načrtovanje in je lahko dolgotrajno. Strategija "watch and wait" se pogosto uporablja na začetku, če je pancitopenija blaga (NSAA). Nasprotno, pa je v primeru transfuzijske odvisnosti ali pri hudih citopenijah, zdravljenje potrebno uvesti brez odlašanja. Pred uvedbo zdravljenja je potrebo obvladati morebitne okužbe in krvavitve.

Pri SAA in VSAA se ob prisotnosti sorodnega skladnega darovalca pri mladih bolnikih svetuje zgodnja alogenska presaditev krvotvornih matičnih celic (PKMC); v odsotnosti darovalca ali v starejših starostnih skupinah je standard postala kombinirana imunosupresija na osnovi konjskega antitimocitnega globulina (ATG), ciklosporina (CSA) in eltrombopaga. Pri zelo hudih oblikah (absolutni nevtrofilci $<0,2 \times 10^9/L$) sta potrebna okrepljen nadzor nad okužbami in pogosto hitrejše usmerjanje k presaditvi.

V zadnjem desetletju kliničnih preizkušanj je dodatek eltrombopaga k standardni imunosupresiji povečal stopnjo, hitrost in globino hematoloških odzivov pri predhodno nezdravljenih bolnikih. Hkrati so bila posodobljena tudi priporočila glede izbire PKMC v prvi liniji zdravljenja in možnosti izbire haploidentične PKMC, v primeru neustreznega darovalca.

Prvi red zdravljenja hude (SAA) in zelo hude stopnje AA (VSAA)

Standardno zdravljenje pri novo diagnosticiranih mlajših bolnikih s SAA je **imunosupresivno zdravljenje** na osnovi ATG s ciklosporinom in eltrombopagom ali sorodna alogenska **PKMC**, če ima bolnik skladnega sorodnega darovalca. Čeprav se celokupno preživetja po PKMC z leti izboljšuje in se je zgornja starostna meja za alogensko PKMC dvignila, o odločitvi za zdravljenje s PKMC pomembno odločajo pridružene bolezni in bolnikova telesna zmogljivost.

Pri mlajših bolnikih < 40 let, ki sorodnega darovalca nimajo, smernice svetujejo imunosupresivno zdravljenje ali presaditev z nesorodnim skladnim darovalcem oz. kot alternativna možnost s haploidentičnim darovalcem. Pri bolnikih > 40 let, pa so si smernice enotne, da je pri tej skupini bolnikov sprva indicirano imunosupresivno zdravljenje, ne glede na prisotnost skladnega sorodnega darovalca.

Kombinacija anitimocitnega imunoglobulina (ATG) skupaj s ciklosporinom (CSA) in eltrombopagom je kot zdravljenje prvega reda indicirana za bolnike, ki niso primerni za PKMC ali nimajo skladnega sorodnega darovalca in so starejši od 40 let. ATG lahko privede do višjega deleža umrljivosti zaradi okužb, krvavitev ali kardiovaskularnih stranskih učinkov, zato je pri bolnikih nad 60 let potrebna previdnost pri uvedbi zdravljenja.

Prvi red zdravljenja pri zmerni obliki AA (NSAA)

Imunosupresivno zdravljenje je indicirano tudi pri bolnikih z NSAA, ki imajo aktiven živjski slog in so odvisni od transfuzij, se soočajo s krvavitvami in pogostimi okužbami.

Imunosupresivna terapija (odmerki in trajanje zdravljenja)

Konjski ATG: 40 mg/kg/d 4 zaporedne dni iv. Za preprečevanje stranskih učinkov, povezanih z infuzijo in za preprečevanje serumske bolezni se sočasno uporablja prednisolon.

Ciklosporin (CSA): od D1 5 mg/kg/d za doseganje ravni zdravila v plazmi od 150–200 µg/L. S CSA je treba nadaljevati do ustreznega porasta citarnih vrednosti. Po 12 mesecih zdravljenja se lahko začne postopno zmanjševanje odmerka (25 mg vsakih 2–3 mesece). Spremljati je potrebno ledvično delovanje in medsebojno delovanje zdravil (posakonazol).

Eltrombopag: se daje peroralno v odmerku 150 mg/d od D14 dalje do 6 mesecev oziroma do 3 mesecev pri bolnikih, ki so dosegli popolno remisijo po 3 mesecih.

Uporaba drugih imunosupresivnih zdravil kot so mikofenolat mofetil, sirolimus, kortikosteroidi in ciklofosfamid se ne priporoča za zdravljenje AA. Alemtuzumab pride v poštev pri neodzivni/ponovljeni AA, kadar drugi cikel ATG ni mogoč ali v prisotnosti ledvične okvare, saj je učinkovit kot monoterapija brez dodajanja CSA. Določene smernice priporočajo uporabo alemtuzumaba, v kolikor bolnik ni primeren za alogensko PKMC. Odgovor na imunosupresivno terapijo se začne povprečno po 3–4 mesecih. Kriteriji odgovora so prikazani v tabeli 2. Pri SAA je delež odgovorov po 6 mesecih 50–70 %, pri zelo VSAA pa nižji, približno 23 %.

Stopnja odziva	Huda AA	Blaga AA
Brez odziva	Še vedno izpolnjuje kriterije za hudo bolezen	Krvne vrednosti so slabše ali ne izpolnjujejo spodnjih kriterijev
Delni odziv	Neodvisnost od transfuzij, ne izpolnjuje več kriterijev za hudo bolezen	Neodvisnost od transfuzij (če je bila prej odvisna) ali podvojitvev ali normalizacija vsaj ene vrste krvnih celic ali povečanje izhodiščne vrednosti: Hemoglobin >30 g/L (če je bil sprva <60) Nevtrofilci >0,5 × 10 ⁹ /L (če so bili sprva <0,5) Trombociti >20 × 10 ⁹ /L (če so bili sprva <20)
Popolni odziv	Hemoglobin normalen glede na starost in spol Nevtrofilci >1,5 × 10 ⁹ /L Trombociti >150 × 10 ⁹ /L	Hemoglobin normalen glede na starost in spol Nevtrofilci >1,5 × 10 ⁹ /L Trombociti >150 × 10 ⁹ /L

Tabela 2. Kriteriji za odziv na imunosupresivno terapijo AA

Alogenska PKMC

Pri vseh bolnikih, ki so potencialni kandidati za PKMC, moramo opraviti HLA tipizacijo že ob diagnozi, temu sledi iskanje sorodnih darovalcev.

Po prejemu vseh izvidov je potrebno potrditi diagnozo AA in izključiti klonalno evolucijo v MDS (mielodisplastični sindrom) ali PNH (paroksizmalna nočna hemoglobinurija), saj to vpliva na izbiro režima kondicioniranja. Prav tako je ključnega pomena, da se ne spregleda prirojene AA, da se prepreči neprimerna izbira morebitnega družinskega darovalca.

Za mlade in odrasle bolnike, mlajše od 40 let, je zdravljenje prve izbire za SAA, alogena PKMC s skladnim sorodnim darovalcem, če je darovalec na voljo. Bolnike stare med 40 in 60 let je pred morebitno PKMC potrebno dodatno skrbno oceniti na podlagi pridruženih bolezni.

O PKMC s skladnim nesorodnim darovalcem pri odraslih je treba razmisliti po neuspehu enega cikla imunosupresivnega zdravljenja in kot primarni postopek za mlade odrasle z resnimi okužbami, v kolikor je na voljo primeren darovalec.

Alternativna možnost, ki se v zadnjih letih vse bolj uporablja, je haploidentična PKMC, katere rezultati so se ob izboljšanju protokolov za preprečevanje zavrnitvene reakcije presadka proti gostitelju ter boljšem podpornem zdravljenju v zadnjih letih pomembno izboljšali. Ta oblika PKMC omogoča večjo dsotopnost darovalcev.

Preživetje odraslih bolnikov po PKMC je odvisno od starosti, vendar je med 30. in 50. letom celokupno preživetje (OS) 70–90 %. Preživetje se je v zadnjih letih izboljšalo, zlasti pri presaditvah skladnih nesorodnih darovalcev in po haploidentičnih presaditvah.

PNH

Prisotnost klonov PNH zahteva ločeno spremljanje in v primeru klinično pomembne hemolize/tromboze uvedbo specifične terapije za PNH.

Podporno zdravljenje

Transfuzije koncentriranih eritrocitov in trombocitov predstavljajo temelj podporne terapije pri bolnikih z AA. Namenjene so premostitvi obdobja hude citopenije ter zmanjšanju simptomov in tveganja zapletov. Priporočila se prilagajajo posameznikovemu kliničnemu stanju, ne le laboratorijskim vrednostim. Običajno se uporablja restriktivni prag za transfuzijo eritrocitov pri hemoglobinu pod 70–80 g/L.

Pri trombocitopeniji se svetujejo profilaktične transfuzije, ko število trombocitov pade pod $10 \times 10^9/L$, oziroma pod $20 \times 10^9/L$ pri aktivnem krvavenju ali prisotnosti vročine. Za asimptomatske

bolnike s kronično trombocitopenijo profilaktične transfuzije niso priporočljive. Smiselno je razmisliti tudi o uporabi traneksamične kisline. Težave se pojavijo, če se razvije imunska neodzivnost na trombocitno plazmo; v takih primerih se priporoča uporaba HLA-skaldnih trombocitov, če so na voljo.

Krvni pripravki naj bodo filtrirani z odstranjenimi levkociti, kar zmanjša možnost prenosa CMV in tveganje za aloimunizacijo. Pri kandidatih za ATG ali PKMC morajo biti pripravki obsevani. Darovalci naj ne bodo družinski člani, saj to lahko povzroči senzibilizacijo in oteži morebitno kasnejšo presaditev.

Bolniki, ki so transfuzijsko odvisni, potrebujejo kelacijo železa, da preprečimo sekundarno hemakromatozo.

Okužbe zaradi dolgotrajne in vztrajne nevtropenije ostajajo glavni vzrok smrti pri AA, zato je protimikrobno zdravljenje ključni del terapije. Pri hudi nevtropeniji so potrebni antibiotiki in protiglivična profilaksa, ob prisotnosti okužbe pa širokospektralna protimikrobna terapija, prilagojena kliničnemu stanju bolnika in lokalni epidemiološki situaciji.

Zaključek

V zadnjih letih so se možnosti zdravljenja AA pomembno izboljšale. Prvi red zdravljenja ostaja kombinacija ATG, CSA in eltrombopaga ali PKMC v primeru skladnega sodornega darovalca. Sočasno so k izboljšanju preživetja prispevali podporni ukrepi, ki vključujejo transfuzije, protimikrobno profilakso oz. uspešno obvladovanje okužb in nadzor zapletov. Celovit, individualno prilagojen pristop, omogoča boljše dolgoročne izide in večje upanje za bolnike s to redko in heterogeno boleznijo.

Literatura

1. Kulasekararaj A, Cavenagh J, Dokal I, Foukaneli T, Gandhi S, Garg M, et al. Guidelines for the diagnosis and management of adult aplastic anaemia: A British Society for Haematology Guideline. *Br J Haematol.* 2024;204(3):784–804. <https://doi.org/10.1111/bjh.19236>
2. Daria V. Babushok, Amy E. DeZern, Carlos M. de Castro, Zora R. Rogers, David Beenhouwer, Michael S. Broder, Suzanne R. Fanning, Sarah N. Gibbs, Rabi Hanna, Jaroslaw P. Maciejewski, Bart L. Scott, Srinivas K. Tantravahi, Marcin W. Wlodarski, Irina Yermilov, Bhumika J. Patel; Modified Delphi panel consensus recommendations for management of severe aplastic anemia. *Blood Adv* 2024; 8 (15): 3946–3960. doi: <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2023011642>

3. Sureda A, Corbacioglu S, Greco R, Kröger N, Carreras E. The EBMT handbook: hematopoietic cell transplantation and cellular therapies. Switzerland: Springer International Publishing; 2024. <https://doi.org/10.1007/978-3-031-44080-9>
4. Newburger P. Acquired aplastic anemia: Pathogenesis, clinical manifestations, and diagnosis In: UpToDate, Connor RF (Ed), Wolters Kluwer. (Accessed on March 16 2026.)
5. ASH draft recommendation for Aplastic Anemia (https://www.hematology.org/-/media/hematology/files/clinicians/guidelines/aplastic-anemia-public-comment-supplementary-file_updated.pdf)

Zagotavljanje kontrole kakovosti (HLZ)

Vpliv nove zakonodaje na delo v laboratorijski medicini

Metka Krašna

Specializirani hematološki laboratorij, Klinični oddelek za hematologijo, UKC Ljubljana

metka.krasna@kclj.si

Pregled zakonodaje vključuje novosti v obdobju od leta 2024 do 2026, ki vplivajo na delo v laboratorijski medicini. Pregled ne zajema zakonodaje, ki vpliva na kadrovsko področje, plače, vodenje zavodov, javno naročanje, informacijsko varnost, varovanje osebnih podatkov in okolja, čeprav tudi to pomembno vpliva na laboratorijsko delo, ker brez virov, osebja, reagentov in opreme ni mogoče izvajati preiskav in izdajati izvidov. Zakonodaja se nenehno spreminja, teoretično v dobrobit ljudi – v našem primeru pacientov. Če pa se kasneje izkaže, da so spremembe poslabšale stanje, se zakonodaja ponovno prilagodi.

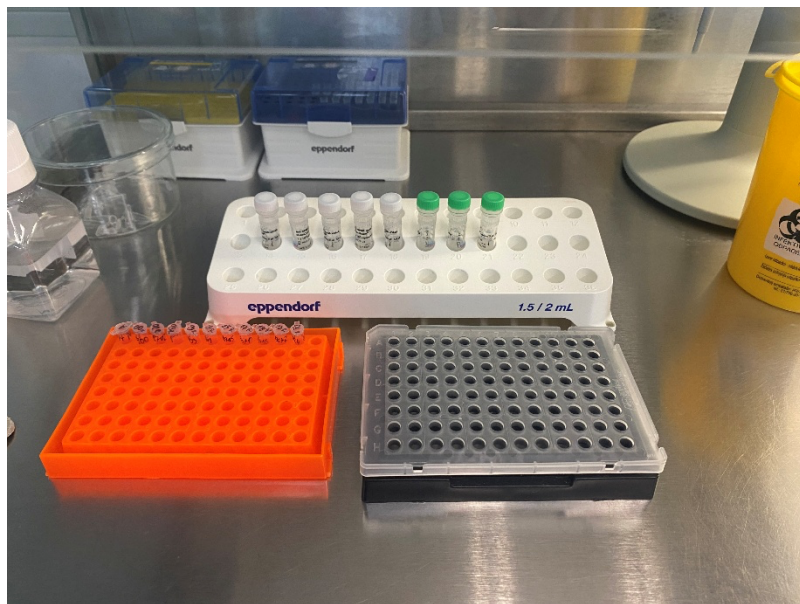
Ministrstvo za zdravje na podlagi Pravilnika o pogojih, ki jih morajo izpolnjevati laboratoriji za izvajanje preiskav na področju laboratorijske medicine, podeljuje dovoljenje za delo posameznemu laboratoriju. To je temelj zagotavljanja kakovosti v laboratorijski medicini v Sloveniji. Zbornica Laboratorijske medicine Slovenije na podlagi Pravilnika o strokovnem nadzoru s svetovanjem v dejavnosti laboratorijske medicine pa dodatno izvaja strokovne nadzore pri posameznih (fizičnih) izvajalcih v laboratorijski medicini. Z novim zakonom o medicinskih pripomočkih in zakonom o zagotavljanju kakovosti v zdravstvu pa lahko laboratorijsko delo nadzorujejo tudi inšpektorji Javne agencije RS za zdravila in medicinske pripomočke (JAZMP) in nadzorniki Javne agencije RS za kakovost v zdravstvu (JAKZ).

Uredba EU o standardih kakovosti in varnosti za snovi človeškega izvora, namenjene za uporabo na ljudeh, (Uredba SoHO – Substances of Human Origin) nadomešča stare direktive o krvi, tkivih in celicah s ciljem poenotiti varnostne in kakovostne standarde za vse snovi človeškega izvora (SČI) (kri, tkiva, celice) v celotni EU. Vpliva predvsem na ustanove in laboratorije, ki delujejo na področju transfuzijske medicine in na ustanove za preskrbo s tkivi in celicami za zdravljenje, kot so aferezni centri, centri za zbiranje kostnega mozga, banke popkovnične krvi, matičnih celic, tkivne banke (kosti, koža, roženice), centri za oploditve z biomedicinsko pomočjo. Uredba se bo začela uporabljati od 7.8.2027.

Pravilnik o spremembi Pravilnika o obveznem testiranju krvi in komponent krvi uvaja obvezno testiranje na okužbe z virusom Zahodnega Nila (WNV) (Označevalec: * WNV RNA). Testiranje se izvaja pri krvodajalcu pri vsaki enoti odvzete krvi in komponente krvi za aferezo ter pri darovalcu tkiv in darovalcu organov. Testiranje se izvaja v sezoni aktivnosti komarjev vektorjev, to je v obdobju od 1. junija do 30. novembra.

Zakon o zagotavljanju kakovosti v zdravstvu naslavlja predvsem delo v bolnišnicah, domovih, kjer poteka neposredno delo s pacienti, zato je beseda »laboratorij« v zakonu omenjena zgolj enkrat - v definiciji izvajalcev zdravstvene dejavnosti. Laboratorijem nalaga spremljanje kazalnikov kakovosti, ki si jih sami določijo, saj jih zakon in JAKZ podrobno ne določata. Primeri nekaterih kazalnikov kakovosti v laboratoriju: delež predanalitičnih napak, delež v predvidenem času izvedenih preiskav, delež uspešnih zunanjih kontrol, delež popravkov izvidov, uspešnost poročanja kritičnih vrednosti znotraj časovnega okvirja. Zakon laboratorijem nalaga tudi spremljanje in poročanje JAKZ o opozorilnih nevarnih dogodkih (OND), ki privedejo ali bi lahko privedli do smrti ali resnih fizičnih ali psihičnih poškodb za zdravje pacientov. Zakon ne našteva posameznih vrst OND, le te pa določa JAKZ na svoji spletni strani: pacientova nepričakovana smrt, večja stalna izguba pacientove telesne funkcije, samomor pacienta v zdravstveni ustanovi, zamenjava novorojenčka, hemolitična transfuzijska reakcija po transfuziji krvi ali krvnih produktov zaradi neskladja glavnih krvnih skupin, kirurški poseg na napačnem pacientu ali napačnem delu telesa, sum kaznivega dejanja.

Primeri takih incidentov (zapletov, neskladij, odstopov) v laboratoriju: zamenjava vzorca, kontaminacija vzorca z drugim in nesporočen izvid, ki vodi v resno fizično ali psihično škodo za pacientovo zdravje. Zakon določa, da laboratorij oziroma zdravstvena ustanova obvesti JAKZ v največ 72 urah po seznanitvi z OND preko obrazcev, ki so objavljeni na spletni strani JAKZ.



Slika 1: Specializirani hematološki laboratorij. Priprava vzorcev za preiskave s kvantitativnim PCR.

Zakon o medicinskih pripomočkih je nastal kot posledica dveh Uredb 2017/746/EU o in vitro diagnostičnih medicinskih pripomočkih (IVDR) in 2017/745/EU o medicinskih pripomočkih (MDR).

Zakon na novo opredeljuje »interne medicinske pripomočke« kot »in house« preiskave oziroma laboratorijsko razvite preiskave (LDT- laboratory developed tests), ki so razvite in uporabljene znotraj laboratorija oziroma zdravstvene ustanove. To so pogosto specialne daljše laboratorijske preiskave, pri katerih se uporablja reagente ali opremo, ki niso registrirani kot IVD ali pa se uporablja reagente drugače od navodil proizvajalca (IFU- instruction for use). Tak laboratorij mora objaviti izjavo s seznamom vseh »internih preiskav« o proizvodnji in uporabi internih pripomočkov znotraj zdravstvene ustanove, da glede varnosti in učinkovitosti sledijo Uredbi (EU) 2017/746 o in vitro diagnostičnih medicinskih pripomočkih. Zakon tudi določa, da mora laboratorij izvajati »interne preiskave« skladno z zahtevami mednarodnega standarda ISO 15189. Laboratoriji oziroma ustanove, ki proizvajajo interne pripomočke, morajo imenovati odgovorno osebo za skladnost z zakonodajno in odgovorno osebo za vigilanco in registrirati »proizvodnjo internih medicinskih pripomočkov« pri JAZMP preko obrazca, ki je naveden na njihovi spletni strani. Vsi laboratoriji morajo vzpostaviti sledljivost reagentov, opreme, uporabljene pri preiskavah, z uporabo UDI (Unique Device Identification) identifikatorjev, ki so navedeni na pripomočku, in vzpostaviti sistem za vigilanco medicinskih pripomočkov, ki omogoča poročanje o vsakem sumu resnega zapleta s pripomočkom ter poročati prej kot v 48 urah po odkritju zapleta preko spletnih obrazcev na JAZMP. Pripomoček z napako, ki bo predmet preiskave, je potrebno shraniti in omogočiti dostop proizvajalcu ali distributerju pripomočka. V skladu z ISO 15189:2023 mora laboratorij, ki izvaja laboratorijsko razvite preiskave izven izvirnega validiranega merilnega območja, le te validirati in izmeriti merilno negotovost preiskave.

Zakon o digitalizaciji zdravstva

Ta zakon ureja vzpostavitev in vzdrževanje javne centralne informacijsko-komunikacijske infrastrukture na področju zdravstva v Sloveniji, obdelavo podatkov in zbirke podatkov. Povezale naj bi se vse zbirke zdravstvenih podatkov, ki že obstajajo v Sloveniji: laboratorijski izvidi, eRecept, eNaročanje, radiološki posnetki, register raka, register nalezljivih bolezni, register cepljenja, zbirke podatkov o redkih boleznih, zbirka ZZS, različne zbirke NIJZ, centralni register prebivalstva, evidence izvajalcev zdravstvene dejavnosti... , najmanj 31 različnih zbirk podatkov.

Zakon uvaja »Centralni elektronski zdravstveni zapis« - CeZZ, ki bo zamenjal »centralni register podatkov o pacientih« - CRPP in določa, da morajo biti vsi izvidi v elektronski obliki posredovani v CeZZ. Laboratoriji se morajo, zato prilagoditi, da se bodo podatki o rezultatih preiskav lahko prenašali v elektronski obliki in brali v CeZZ.

Literatura

1. Pravilnik o pogojih, ki jih morajo izpolnjevati laboratoriji za izvajanje preiskav na področju laboratorijske medicine (Uradni list RS, št. 64/04, 1/16, 56/19 in 131/20) z dne 11. 6. 2004.

2. Pravilnik o strokovnem nadzoru s svetovanjem v dejavnosti laboratorijske medicine Uradni list RS, št. 53/17 z dne 25. 9. 2017.
3. UREDBA (EU) 2024/1938 EVROPSKEGA PARLAMENTA IN SVETA z dne 13. junija 2024 o standardih kakovosti in varnosti za snovi človeškega izvora, namenjene za uporabo na ljudeh, ter o razveljavitvi direktiv 2002/98/ES in 2004/23/ES.
4. Pravilnik o spremembi Pravilnika o obveznem testiranju krvi in komponent krvi, Uradni list RS, št. 92/24 z dne 15.10.2024.
5. Zakon o zagotavljanju kakovosti v zdravstvu – ZZKZ. Uradni list RS, št. 102/24 z dne 3. 12. 2024.
6. Zakon o medicinskih pripomočkih - ZMedPri-1. Uradni list RS, št. 40/25 z dne 4. 6. 2025.
7. Zakon o digitalizaciji zdravstva - ZDigZ. Uradni list RS, št. 100/25 z dne 4. 12. 2025.
8. SIST EN ISO 15189:2023. Medicinski laboratoriji – Zahteve za kakovost in kompetentnost.

Pomen zunanje kontrole kakovosti v medicinskih laboratorijih: od izbire sheme do izboljševanja kakovosti

Klešnik Katarina, Jerin Aleš

Univerzitetni klinični center Ljubljana , Klinični inštitut za klinično kemijo in biokemijo

Povzetek

Zunanja kontrola kakovosti (EQA) je ključen element zagotavljanja kakovosti v medicinskih laboratorijih, saj omogoča objektivno oceno analitične uspešnosti ter primerljivost rezultatov med laboratoriji. V prispevku so predstavljeni ključni vidiki EQA, od izbire sheme, izvajanja analiz in interpretacije rezultatov do ukrepanja ob odstopanjih. Poseben poudarek je na komutabilnosti kontrolnih materialov, uporabi statističnih kazalnikov, kot je z-vrednost, ter sistematičnem izboljševanju kakovosti. EQA je pomembno orodje za prepoznavanje sistemskih napak in izboljševanje laboratorijskih procesov, kar prispeva k večji zanesljivosti izvidov in varnosti pacientov.

Uvod

Zagotavljanje kakovosti laboratorijskih rezultatov je temelj varne zdravstvene oskrbe. Klinične odločitve, diagnoze in spremljanje terapije temeljijo na laboratorijskih izvidih, zato mora laboratorij zagotavljati visoko stopnjo zanesljivosti, sledljivosti in primerljivosti rezultatov.

Eden ključnih elementov sistema kakovosti je zunanja kontrola kakovosti oziroma programi medlaboratorijskih primerjav (angl. External Quality Assessment, EQA; Proficiency Testing, PT). Sodelovanje v programih zunanje kontrole kakovosti v Sloveniji ni le priporočljivo, temveč obvezno, saj ga zahtevajo nacionalni predpisi za pridobitev dovoljenja za delo medicinskega laboratorija.

Zahteva po spremljanju analitične uspešnosti z medlaboratorijskimi primerjavami je vključena tudi v standard ISO 15189:2023, ki določa zahteve za kakovost in kompetentnost medicinskih laboratorijev ter poudarja nadzor kakovosti za vse preiskave, vključno s tistimi, ki se izvajajo z napravami za testiranje ob bolniku (point-of-care testing, POCT).

Zunanja kontrola kakovosti omogoča objektivno oceno analitične uspešnosti s primerjavo rezultatov med laboratoriji, ki uporabljajo enake ali primerljive metode, ter prepoznavanje sistemskih odstopanj, metodoloških razlik in napak v laboratorijskem procesu. Predstavlja

pomembno orodje za stalno izboljševanje kakovosti, saj analiza rezultatov EQA omogoča uvajanje korektivnih in preventivnih ukrepov.

Izbira ustrezne sheme zunanje kontrole kakovosti

Ustrezna izbira programa zunanje kontrole kakovosti je ključna za zagotavljanje relevantnih in uporabnih rezultatov. Pred vključitvijo v shemo mora laboratorij oceniti več dejavnikov.

Ustreznost matriksa kontrolnega vzorca je bistvena. Material mora biti čim bolj podoben realnim pacientovim vzorcem in pokrivati klinično relevantno koncentracijsko območje analitov. Posebno pozornost je treba nameniti komutabilnosti kontrolnega materiala, ki pomeni, da se vzorec pri različnih analitskih metodah obnaša kot klinični vzorci pacientov. Le komutabilni materiali omogočajo zanesljivo primerjavo rezultatov med laboratoriji in metodami ter prispevajo k oceni analitične točnosti. Če material ni komutabilen, se lahko pojavi matriksni učinek, zato je interpretacija rezultatov omejena predvsem na primerjavo z laboratoriji z enakim analiznim sistemom.

Pri izbiri sheme je pomemben tudi način vrednotenja rezultatov. Primerjava se lahko izvaja znotraj skupin enakih analiznih sistemov (peer group) ali med različnimi metodami. Primerjava znotraj istega sistema omogoča natančnejšo oceno delovanja laboratorija, medtem ko primerjava med metodami daje vpogled v standardizacijo in sledljivost rezultatov. Najbolj informativne so sheme, ki omogočajo oba pristopa.

Pomemben vidik je tudi organizator EQA sheme, ki mora izponjevati zahteve ISO/IEC 17043, saj to zagotavlja kakovost materialov in vrednotenja rezultatov. Laboratorij mora upoštevati tudi pogostost kontrol ter logistične vidike, kot so stabilnost vzorcev, transport in časovni okvir analize, saj vplivajo na zanesljivost rezultatov.

Izvajanje analize EQA vzorca

Pravilno izvajanje analize EQA vzorca je ključno za zagotavljanje realne ocene laboratorijskega procesa. Osnovno načelo je, da mora laboratorij EQA vzorec obravnavati enako kot rutinski pacientov vzorec. To pomeni, da mora biti vzorec vključen v običajni analitični proces, brez dodatnih optimizacij ali ponovitev, ki se sicer ne izvajajo pri rutinskih analizah.

V praksi se pojavljajo različne napake pri obravnavi EQA vzorcev. Ena najpogostejših je analiza vzorca izven rutinskega delovnega procesa, na primer z uporabo posebnih nastavitvev instrumenta ali dodatnih ponovitev meritev. Takšen pristop lahko umetno izboljša rezultat in ne odraža dejanske analitične uspešnosti laboratorija.

Pogoste so tudi administrativne napake, kot so napačen vnos rezultata, zamenjava enot ali napačno zaokroževanje decimalnih mest. Pomemben vidik je tudi sledljivost dokumentacije, ki mora omogočati rekonstrukcijo celotnega analitičnega procesa, vključno z uporabljenimi reagenti, kalibracijami in kontrolnimi materiali, kar olajša pojasnjevanje morebitnih odstopanj.

Interpretacija rezultatov zunanje kontrole kakovosti

Rezultati programov EQA so običajno predstavljeni v obliki statističnih kazalnikov, ki omogočajo primerjavo posameznega laboratorija z drugimi udeleženci. Eden najpogosteje uporabljenih kazalnikov je z-vrednost (z-score), ki predstavlja odstopanje rezultata laboratorija od ciljne vrednosti glede na standardni odklon skupine.

Interpretacija rezultatov mora upoštevati tudi metodološke skupine, saj lahko različne analitične metode kažejo sistematične razlike v rezultatih. Analiza poročila EQA omogoča laboratoriju vpogled v lastno analitično uspešnost ter primerjavo z drugimi laboratoriji, ki uporabljajo enako ali podobno metodo.

Poleg ocene posameznega rezultata je pomembno spremljanje trendov skozi čas. Ponavljajoča se odstopanja lahko kažejo na sistematične težave, kot so neustrezna kalibracija, nestabilnost reagentov ali metodološke omejitve analizne metode.

Ukrepanje ob odstopanju

Ko laboratorij prejme rezultat, ki odstopa od sprejemljivih meja, je potrebno izvesti sistematično analizo vzrokov. Prvi korak je preverjanje morebitnih administrativnih napak, kot so napačen vnos podatkov ali zamenjava enot. Če administrativna napaka ni vzrok odstopanja, je potrebno analizirati analitični proces.

Analitična preiskava lahko vključuje preverjanje kalibracije instrumenta, pregled kontrolnih materialov, preverjanje reagentov in pregled delovanja analiznega sistema. V nekaterih primerih je potrebno oceniti tudi morebitne sistemske vzroke, kot so metodološke omejitve ali pomanjkljivo usposabljanje osebja

Za identifikacijo temeljnega vzroka se pogosto uporablja analiza osnovnega vzroka (*root cause analysis*), ta omogoča sistematično identifikacijo dejavnikov, ki so prispevali k odstopanju.

PDCA pristop k izboljševanju kakovosti

Zunanja kontrola kakovosti predstavlja pomembno orodje za stalno izboljševanje laboratorijskih procesov in podpira pristop PDCA (Plan–Do–Check–Act). V skladu z ISO 15189:2023 mora biti v

laboratorijih vzpostavljen sistem stalnega izboljševanja, pri čemer se PDCA pogosto uporablja kot okvir za strukturirano upravljanje izboljšav. V fazi načrtovanja (Plan) laboratorij analizira rezultate EQA in določi vzroke odstopanj ter korektivne ukrepe. V fazi izvajanja (Do) se ukrepi implementirajo, npr. z izboljšanjem kalibracij ali posodobitvijo postopkov. Faza preverjanja (Check) vključuje oceno učinkovitosti ukrepov z EQA ali interno kontrolo kakovosti. V fazi delovanja (Act) se uspešne izboljšave vključijo v sistem vodenja kakovosti.

Zaključek

Zunanja kontrola kakovosti je nepogrešljiv del sistema zagotavljanja kakovosti v medicinskih laboratorijih, saj omogoča primerljivost rezultatov ter večjo zanesljivost laboratorijskih izvidov. Učinkovitost EQA je odvisna od ustrezne izbire sheme, pravilne obravnave vzorcev in sistematične interpretacije rezultatov. Ključno je tudi ustrezno ukrepanje ob odstopanjih, vključno z analizo vzrokov in uvedbo korektivnih ukrepov. Uporaba EQA kot orodja za stalno izboljševanje procesov prispeva k višji kakovosti laboratorijskih storitev in večji varnosti pacientov.

Literatura

1. Pravilnik o pogojih, ki jih morajo izpolnjevati laboratoriji za izvajanje preiskav na področju laboratorijske medicine. Ur I RS. 2004;64:8129.
2. Sciacovelli L, Plebani M. External quality assessment programs in the context of ISO 15189 accreditation. *Clin Chem Lab Med.* 2018;56(10):1644-1652.
3. Sandberg S, Miller WG, Panteghini M, et al. Recommendations for setting a criterion and assessing commutability of sample materials used in external quality assessment/proficiency testing schemes. *Clin Chem.* 2023;69(11):1227-1238.
4. International Organization for Standardization, International Electrotechnical Commission. Conformity assessment — General requirements for proficiency testing. ISO/IEC 17043:2010. Geneva: ISO/IEC; 2010.
5. Badrick T. Evidence-based quality management in laboratory medicine. *Clin Biochem Rev.* 2013;34(2):83-93.
6. Blasutig IM, et al. External quality assessment practices in medical laboratories: results of an IFCC global survey. *Clin Chem Lab Med.* 2023;61(5):820-828.
7. Slovenski inštitut za standardizacijo(SIST). SIST EN ISO 15189:2023 – Medicinski laboratoriji – Zahteve za kakovost in kompetentnost (ISO 15189:2022). Ljubljana: Slovenski inštitut za standardizacijo; 2023.

Diagnostika akutne promielocitne levkemije (HLZ)

Klinična obravnava bolnikov z akutno promielocitno levkemijo

Luka Čemažar

Klinični oddelek za hematologijo, UKC LJ

luka.cemazar@kclj.si

Uvod

Akutna promielocitna levkemija (APL) je posebna podskupina akutnih mieloičnih levkemij (AML), ki jo opredeljuje prisotnost translokacije $t(15;17)(q24.1;q21.2)$ in nastanek fuzijskega gena PML::RAR α . Ekspresija fuzijskega proteina PML::RAR α povzroči diferenciacijsko blokado in značilno klinično sliko. APL je redka oblika levkemije in predstavlja približno 5 % vseh na novo odkritih primerov AML. Bolezen je kljub temu povezana z dobro prognozo, saj 3-letno celokupno preživetje (OS) presega 90 %. Kljub ugodni dolgoročni prognozi pa se največ zapletov in smrtnih dogodkov zgodi ravno v prvih dveh tednih od postavitve diagnoze, predvsem na račun motenj v strjevanju krvi.

Za APL je značilna edinstvena klinična slika ter izrazita občutljivost na zdravljenje s tretinoinom, ki spada v skupino retinoidov (angl. all-trans retinoic acid, ATRA), le temu pa najpogosteje dodamo v terapijo zdravljenja APL arzenov trioksid (As_2O_3). Kombinirano zdravljenje se je izkazalo za izjemno učinkovito pri tem podtipu AML, pri drugih tipih se namreč še vedno primarno uporablja klasična kemoterapija z dodatkom tarčnih zdravil. Za pravilno izbiro terapije je zato ključna hitro postavljena diagnoza, saj moramo zdravljenje začeti čim prej, ker je največ zapletov prisotnih že ob sami prezentaciji bolezni.

Klinična slika in podporno zdravljenje

Pri večini bolnikov s klasično hipergranulirano obliko APL ugotavljamo pancitopenijo (anemijo, levkopenijo in trombocitopenijo), pri čemer so splošni simptomi podobni tistim pri drugih podtipih AML. Ti vključujejo izčrpanost, splošno utrujenost, težko dihanje, povišano telesno temperaturo ter pogoste ali dolgotrajnejše okužbe.

Za APL pa je posebej značilna koagulopatija, ki se lahko kaže kot krvavitve ali tromboze. Krvavitve v centralni živčni sistem so posebej nevarne, saj so življenjsko ogrožajoče. Mehanizem koagulopatije še ni popolnoma pojasnjen; najverjetneje gre za preplet znakov diseminirane intravaskularne koagulacije (DIK) in hiperfibrinolize. Pri bolnikih lahko na koži opazimo podplutbe,

petehije, na ustni sluznici pa vlažno purpuro. Prisotne so lahko tudi krvavitve iz veznic ali nosu (epistaksa).

Pomembni so podporni ukrepi za urejanje hemostaze. V prvih 10 dneh se priporoča vzdrževanje števila trombocitov nad $30 \times 10^9/L$ (oziroma nad $50 \times 10^9/L$ pri APL z visokim tveganjem) ter transfuzije koncentriranih eritrocitov za ohranjanje hemoglobina nad 90 g/L. Motnje hemostaze je treba popravljati z dodajanjem fibrinogena, da koncentracija fibrinogena v serumu ostane nad 1,5 g/L, ter s sveže zmrznjeno plazmo v primeru izrazito podaljšanih koagulacijskih časov. Pri tem je nujno skrbno spremljanje morebitnih znakov in simptomov tromboze. Uporaba rekombinantnega faktorja VIIa je omejena na bolnike z refraktarno koagulopatijo, pri katerih so prisotne potencialno življenjsko ogrožajoče krvavitve.

Za preprečevanje diferenciacijskega sindroma v terapijo dodamo kortikosteroide (metilprednizolon v ekvivalentu prednizona 0.5mg/kg prvih 14 dni)

Stratifikacija in zdravljenje APL

Bolnike z APL lahko razdelimo v prognostične skupine glede na izhodiščne vrednosti v krvni sliki. Nizko tveganje imajo bolniki z levkociti $\leq 10 \times 10^9/L$ in trombociti nad $40 \times 10^9/L$, pri katerih je pričakovano triletno preživetje približno 98 %. Srednje tveganje vključuje bolnike z levkociti $\leq 10 \times 10^9/L$ in trombociti $\leq 40 \times 10^9/L$, s triletnim preživetjem okoli 89 %. Visoko tveganje opredeljujejo levkociti nad $10 \times 10^9/L$, triletno preživetje pa je približno 70 %.

Specifično zdravljenje APL temelji na kombinaciji ATRA, As_2O_3 ter klasične kemoterapije, predvsem antraciklinov. ATRA je kot rečeno predhodno derivat retinojske kisline, ki odpravi blokado diferenciacije promielocitnih blastov in omogoči njihovo dozorevanje v zrele nevtrofilne granulocite. Najpomembnejši zaplet zdravljenja je sindrom diferenciacije, med specifične neželene učinke pa sodi tudi psevdotumor cerebri, ki nastane zaradi povišanega intrakranialnega tlaka.

As_2O_3 je ena ključnih učinkovin pri zdravljenju APL. Deluje predvsem proapoptotsko, hkrati pa spodbuja tudi delno diferenciacijo levkemičnih celic. ATO cilja na PML-del fuzijskega proteina, medtem ko ATRA deluje na RARA-del; kombinacija obeh zdravil sinergistično vodi v razgradnjo fuzijskega proteina in posledično apoptozo levkemičnih blastov. Pri približno polovici bolnikov se na začetku zdravljenja z ATO pojavi hiperlevkocitoza. Potencialno nevaren neželeni učinek je sindrom diferenciacije, zato je potrebno skrbno klinično spremljanje. Med zdravljenjem se lahko pojavijo elektrokardiografske spremembe, predvsem podaljšanje intervala QTc, ter elektrolitske motnje, ki zahtevajo nadomeščanje kalija in magnezija. Pogosti, večinoma nenevarni neželeni učinki vključujejo jetrno disfunkcijo, slabost in bruhanje.

Kemoterapija ostaja pomemben del zdravljenja, predvsem pri bolnikih z visokim tveganjem. Celice APL so zelo občutljive na antracikline, zlasti idarubicin, dodatek srednjih do visokih odmerkov citarabina pa pri bolnikih z visokim tveganjem zmanjša verjetnost ponovitve bolezni.

Gemtuzumab ozogamicin je konjugat protitelesa proti CD33 in citotoksičnega kaliheamicina, ki povzroča dvojne prelome DNA. Učinkovit je tako pri začetnem zdravljenju kot pri relapsu APL, pri čemer izkoriščamo, da večina celic na svoji površini izraža CD 33. Uporabljamo ga tudi v primeru, da se želimo izogniti uporabi kemoterapije, vendar se uporablja izven uradne indikacije, saj registracija za CD33-pozitivno AML, ki ne vključuje APL.

Zdravljenje na KOH

Na Kliničnem oddelku za hematologijo UKC Ljubljana smo do nedavnega uporabljali španski protokol PETHEMA LPA 2017. Bolnike z nizkim in srednjim tveganjem smo zdravili s kombinacijo ATRA in ATO. ATO smo dajali v odmerku 0,15 mg/kg enkrat dnevno v infuziji do dosežene remisije, ATRA pa peroralno v odmerku 45 mg/m². Pri bolnikih z visokim tveganjem smo uporabljali kombinacijo kemoterapevtikov (idarubicin, citarabin, mitoksantron) z dodatkom ATRA.

Nedavna randomizirana študija faze III APOLLO je primerjala kombinacijo ATRA, ATO in nizke začetne odmerke idarubicina s klasično terapijo pri bolnikih z visokim tveganjem. Rezultati so pokazali boljše učinkovitost režima ATRA–ATO z idarubicinom, z EFS 88 % v primerjavi z 71 % v skupini s klasično kemoterapijo. Vidna je bila tudi nizka stopnja molekularnih relapsov (1,5 % proti 12,3 %) ter ugodnejši profil neželenih učinkov.

Na podlagi teh izsledkov se ta pristop vse bolj uveljavlja kot prednostna možnost zdravljenja pri bolnikih z visokim tveganjem.

Literatura

1. Sanz MA, Fenaux P, Tallman MS, Estey EH, Löwenberg B, Naoe T, et al. Management of acute promyelocytic leukemia: updated recommendations from an expert panel of the European LeukemiaNet. *Blood*. 2019 Apr 11;133(15):1630–43.
2. Levi M, Toh CH, Thachil J, Watson HG. Guidelines for the diagnosis and management of disseminated intravascular coagulation. *British Committee for Standards in Haematology. Br J Haematol*. 2009 Apr;145(1):24–33.
3. Ryan MM. Acute Promyelocytic Leukemia: A Summary. *J Adv Pract Oncol*. 2018 Mar;9(2):178–87.
4. Adès L, Sanz MA, Chevret S, Montesinos P, Chevallier P, Raffoux E, et al. Treatment of newly diagnosed acute promyelocytic leukemia (APL): a comparison of French-Belgian-Swiss and PETHEMA results. *Blood*. 2008 Feb 1;111(3):1078–84.

5. Lo-Coco F, Avvisati G, Vignetti M, Thiede C, Orlando SM, Iacobelli S, et al. Retinoic Acid and Arsenic Trioxide for Acute Promyelocytic Leukemia. *New England Journal of Medicine*. Massachusetts Medical Society; 2013 July 11;369(2):111–21.

Citomorfološke in imunofenotipske značilnosti akutne promielocitne levkemije

Tadej Furlan

Specializirani hematološki laboratorij, KO za hematologijo, UKC Ljubljana

tadej.furlan@kclj.si

Uvod

Akutna promielocitna levkemija (APL) je specifična podvrsta akutne mieloblastne levkemije, za katero je značilno nenadzorovano razmnoževanje in kopičenje nezrelih celic mieloične vrste - promielocitov. Te celice lahko določimo v kostnem mozgu ali periferni krvi. Bolezen predstavlja približno 5-20 % vseh primerov akutnih mieloblastnih levkemij pri odraslih. Posebnost APL je, da je ena izmed najbolj opredeljenih levkemij na molekularni ravni in hkrati ena izmed oblik akutnih levkemij, ki se lahko zelo uspešno zdravijo, če je pravočasno prepoznana.

Patogeneza bolezni je tesno povezana s specifično kromosomsko translokacijo t(15;17), pri kateri pride do združitve gena *PML* na kromosomu 15 z genom *RARA* na kromosomu 17. Nastali fuzijski gen *PML::RARA* povzroči motnjo v regulaciji transkripcijskih procesov, ki so ključni za diferenciacijo celic mieloične vrste. Posledica tega je ustavljen dozorevanje promielocitov, kar vodi v njihovo kopičenje v kostnem mozgu in periferni krvi.

Krvna slika pri akutni promielocitni levkemiji

Spremembe v krvni sliki so pri APL pogosto izrazite in odražajo moteno hematopoezo v kostnem mozgu. Zaradi infiltracije kostnega mozga z levkemičnimi celicami je normalna tvorba krvnih celic zavrnjena, kar vodi v različne citopenije.

Ena najpogostejših laboratorijskih ugotovitev je anemija, ki je navadno normocitna in normokromna. Nastane zaradi zmanjšane eritropoeze v kostnem mozgu, saj levkemične celice nadomeščajo normalne hematopoetske celice. Klinično se anemija lahko kaže z utrujenostjo, bledico, zmanjšano telesno zmogljivostjo in dispnejo ob naporu.

Druga pomembna sprememba je trombocitopenija, torej znižano število trombocitov v periferni krvi. Trombocitopenija pomembno prispeva k povečani nagnjenosti h krvavitvam, ki so značilne za APL. Bolniki lahko razvijejo petehije, krvavitve iz sluznic ali podaljšano krvavitev ob manjših poškodbah.

Število levkocitov pri APL je lahko različno. Pri številnih bolnikih je prisotna levkopenija s hudo nevtropenijo, vendar lahko pri nekaterih bolnikih opazimo tudi normalno ali celo povišano število levkocitov (levkocitozo). V periferni krvi so pogosto prisotni patološki promielociti. Te celice so

morfološko značilne: imajo obilno citoplazmo z velikim številom grobih azurofilnih granul. Jedra so atipična, lahko prepognjena, pogosto v obliki peščenih ur. Pogosto vsebujejo tudi Auerjeve paličice. V primeru večjega števila Auerjevih paličic, govorimo o Sultaninih telescih.

Zelo pomembna značilnost APL je tudi motnja v sistemu strjevanja krvi. Pri bolnikih se pogosto razvije koagulopatija, ki lahko napreduje v diseminirano intravaskularno koagulacijo (DIK). Ta zaplet je posledica sproščanja prokoagulantnih snovi iz levkemičnih celic in aktivacije koagulacijskega sistema. Posledica je sočasna tvorba mikrotrombov in povečana poraba koagulacijskih faktorjev ter trombocitov, kar vodi v krvavitve in tromboze. Zaradi tega so zapleti zaradi krvavitev eden najpogostejših vzrokov zgodnje smrti pri bolnikih z APL.

Diagnostika s pretočno citometrijo

Pretočna citometrija predstavlja eno izmed ključnih laboratorijskih metod za hitro in zanesljivo diagnostiko hematoloških bolezni, vključno z akutnimi levkemijami. Metoda omogoča analizo posameznih celic v suspenziji, pri čemer celice prehajajo skozi laserski žarek. Z uporabo fluorescenčno označenih monoklonskih protiteles lahko določimo prisotnost specifičnih površinskih ali citoplazemskih antigenov, kar omogoča določitev imunofenotipa celic.

Pri diagnostiki APL je pretočna citometrija izjemno pomembna, saj omogoča hitro prepoznavo značilnega imunofenotipa levkemičnih celic. Promielociti izražajo antigene, značilne za mieloično vrsto. Običajno je prisotna močna ekspresija antigena CD33, pogosto je izražen tudi CD13. Poleg teh markerjev lahko levkemične celice izražajo tudi CD117 (c-KIT), ki je povezan z zgodnjimi prekurzorji celic mieloične vrste. Zelo pomemben citoplazemski marker je mieloperoksidaza (MPO), encim, ki je značilen za mieloične celice.

Posebna diagnostična značilnost APL je odsotnost markerjev CD34 in HLA-DR. CD34 je marker hematopoetskih matičnih in zgodnjih progenitorskih celic, ki je pogosto izražen pri drugih oblikah akutnih levkemij. Podobno je tudi HLA-DR pogosto prisoten pri drugih podtipih akutnih levkemij. Njuna odsotnost pri APL predstavlja pomembno diagnostično značilnost, ki pomaga razlikovati APL od drugih oblik akutnih levkemij. Značilni imunofenotipski profil APL je torej kombinacija: CD33⁺, CD13⁺, MPO⁺, pogosto CD117⁺, ob odsotnosti HLA-DR in CD34. Ta kombinacija markerjev omogoča specialistom, da že v zgodnji fazi diagnostičnega postopka posumijo na APL in tako pospešijo nadaljnje diagnostične korake.

Molekularna in citogenetska potrditev diagnoze

Čeprav morfološka analiza krvnega razmaza in imunofenotipizacija s pretočno citometrijo pogosto močno nakazujeta na APL, je za dokončno potrditev diagnoze potrebna identifikacija značilne kromosomske translokacije t(15;17). To lahko dokažemo z različnimi laboratorijskimi metodami,

kot so citogenetska analiza, fluorescenčna in situ hibridizacija (FISH) ali verižna reakcija s polimerazo (PCR).

Dokaz prisotnosti fuzijskega gena *PML::RARA* ima pomemben diagnostični in terapevtski pomen. Ta genetska sprememba namreč predstavlja tarčo za specifično zdravljenje z zdravili, kot je all-trans retinoično kislina (ATRA), ki spodbuja diferenciacijo levkemičnih promielocitov v zrele granulocite.

Zaključek

Akutna promielocitna levkemija je specifična in dobro opredeljena oblika akutne mieloblastne levkemije, za katero so značilne posebne morfološke, hematološke in molekularne značilnosti. Krvna slika pogosto pokaže anemijo, trombocitopenijo in spremenjeno število levkocitov, v periferni krvi pa so prisotni patološki promielociti z značilnimi granulami in Auerjevimi paličicami. Pomemben zaplet bolezni je koagulopatija, ki se lahko razvije v diseminirano intravaskularno koagulacijo.

Pretočna citometrija ima ključno vlogo pri hitri diagnostiki bolezni, saj omogoča identifikacijo značilnega imunofenotipskega profila levkemičnih celic. Končna diagnoza pa temelji na molekularni ali citogenetski potrditvi translokacije t(15;17) oziroma prisotnosti fuzijskega gena *PML::RARA*. Zgodnje prepoznavanje bolezni je izjemno pomembno, saj omogoča hitro uvedbo specifičnega zdravljenja in bistveno izboljša prognozo bolnikov.

Literatura

1. Loreba L. in sod. Diagnosis and management of acute promyelocytic leukemia: Brazilian consensus guidelines 2024 on behalf of the Brazilian Association of Hematology, Hemotherapy and Cellular Therapy. *Hematol transfus cell ther.* 2024;46(4):553–569
2. Cheli E. in sod. Diagnosis of acute promyelocytic leukemia based on routine biological parameters using machine learning. *Haematologica.* 2022;107(6) :1466-1469.
3. Abddaoui M. in sod. Acute Promyelocytic Leukemia: Pathophysiology, Diagnosis and Clinical Management. *Hematology Reports.* 2025; 17(6):66.

Vloga genetskih preiskav pri APL

Sandra Šučurović

Specializirani hematološki laboratorij, Klinični oddelek za hematologijo, UKC Ljubljana
sandra.sucurovic@kclj.si

Akutna promielocitna levkemija (APL) predstavlja 5-20 % primerov akutne mieloične levkemije pri odraslih. Zanj je značilna recipročna uravnotežena translokacija med genom za protein promielocitne levkemije (PML) na kromosomu 15 ter genom za receptor za retinojsko kislino α (RARA) na kromosomu 17. Recipročna translokacija t(15;17), ki jo najdemo pri več kot 95 % primerov APL, vodi do nastanka fuzijskega proteina PML::RARA. Ta onkogeni protein ima osrednjo vlogo v razvoju levkemije, saj posega v številne celične signalne poti, kar povzroča povečano proliferacijo celic mieloične vrste in blokado diferenciacije na stopnji promielocitov. Prisotnost fuzijskega gena PML::RARA je pomembna tako za postavitev diagnoze kot tudi za izbiro ustreznega zdravljenja. Ta genetska sprememba omogoča ciljno terapijo z zdravili, kot je all-trans retinojska kislina (ATRA), ki spodbuja dozorevanje levkemičnih promielocitov v zrele granulocite.

Obstajajo tri vrste prepisa fuzijskega gena PML::RARA.

prepis bcr1 - dolga izoforma, ki nastane zaradi preloma v genu PML (intron 6),

prepis bcr 2 - varianta izoforma, ki nastane zaradi preloma v genu PML (ekson 6),

prepis bcr 3 - kratka izoforma (bcr-3), ki nastane zaradi preloma v genu PML (intron 3).

Poleg klasične fuzije PML::RARA so opisane tudi redke preureditve gena RARA, med njimi PLZF::RARA, NPM1::RARA, STAT5B::RARA, PRKAR1A::RARA, BCOR::RARA in FIP1L1::RARA. Med temi je najpogostejša PLZF::RARA [t(11;17)(q23;q21)], ki predstavlja približno 1 % primerov APL. Protein PLZF deluje kot transkripcijski represor in sodeluje pri uravnavanju celičnega cikla ter diferenciaciji mieloičnih celic. Biološko vedenje in odziv na zdravljenje pri teh atipičnih variantah se razlikujeta od klasične APL, kar poudarja pomen natančne molekularne opredelitve.

V fizioloških pogojih je PML, znan tudi kot TRIM19, jedrni protein, kodiran z genom *PML* na kromosomu 15q24. Predstavlja strukturno jedro jedrnih telesc promielocitne levkemije (PML-NB), ki so dinamične, brezmembranske jedrne domene, vključene v uravnavanje ključnih celičnih procesov. PML-NB delujejo kot večnamenske platforme, ki privabljajo in koncentrirajo različne

regulatorne proteine ter tako uravnavajo apoptozo, celično staranje, odziv na poškodbe DNA in njihovo popravilo, homeostazo telomer ter p53-posredovano signalizacijo ob stresu.

RARA deluje kot od liganda odvisen transkripcijski faktor, ki tvori heterodimere z retinoidnimi X receptorji (RXR) ter uravnava izražanje genov, vključenih v samoobnavljanje in diferenciacijo. Skupaj s tumor-supresorskimi funkcijami PML ohranja genomsko stabilnost in zagotavlja pravilno hematopoetsko diferenciacijo.

Vendar pa fuzijski protein PML::RARA poruši jedrna telesca PML (PML-NB), s čimer oslabi tumor-supresorske funkcije PML in spodbuja preživetje celic. Protein PML::RARA preprečuje preprečuje pravilno, s sumoilacijo odvisno sestavljanje in fazno separacijo PML, kar vodi v izgubo strukturne integritete PML-NB.

Hkrati del RARA v fuzijskem proteinu spremeni normalno signalizacijo retinojske kisline. Za razliko od divjega tipa RARA, ki ob vezavi liganda aktivira transkripcijo genov, povezanih z diferenciacijo, PML::RARA nenormalno rekrutira transkripcijske korepresorje, kot so jedrni receptorski korepresor (N-CoR), posrednik utišanja retinoidnih in ščitničnih receptorjev (SMRT) ter histonske deacetilaze (HDAC), na elemente odziva na retinojsko kislino (RARE), kar vodi v dolgotrajno transkripcijsko represijo.

To utišanje poti mieloične diferenciacije povzroči zastoj v dozorevanju na stopnji promielocitov, kar vodi v patološko kopičenje nezrelih celic v kostnem mozgu.

V Specializiranem hematološkem laboratoriju za potrjevanje prisotnosti fuzijskega gena PML::RARA in s tem postavitev diagnoze APL uporabljamo citogenetske in molekularno genetske metode. Potrditev t(15;17) je nujna preiskava, ki jo izvedemo znotraj 24ih ur, da se omogoči pravočasna uvedba indukcijskega zdravljenja. S citogenetsko metodo fluorescenčne in situ hibridizacije (FISH) lahko zaznamo prisotnost fuzijskega gena PML::RARA, ne dobimo pa podatka o vrsti prepisa. Negativen rezultat pa ne izključuje diagnoze, zlasti v primerih atipičnih ali prikritih preureditev PML::RARA. Z molekularno genetsko metodo (RT-PCR), ki temelji na verižni reakciji z reverzno transkripcijo s polimerazo poleg prisotnosti fuzijskega gena lahko določimo še vrsto prepisa. RNA izoliramo iz mononuklearnih celic kostnega mozga ali periferne krvi, s postopkom reverzne transkripcije prepíšemo v cDNA nato pa se izvede klasični RT-PCR, s specifičnimi sondami in začetnimi oligonukleotidi, ki omogoča amplifikacijo in identifikacijo transkripta. Čeprav RT-PCR učinkovito zaznava tipične transkripte PML::RARA, se lahko v redkih primerih pojavijo atipične izoforme, ki jih konvencionalni začetni oligonukleotidi ne prepoznajo, zato so za njihovo identifikacijo potrebni prilagojeni testi ali sekvenciranje.

Nove tehnologije, kot sta optično genomsko mapiranje (OGM) in paneli, ki temeljijo na sekvenciranju naslednje generacije (NGS), omogočajo celostno zaznavanje strukturnih variacij in genskih fuzij po celotnem genomu, vključno s prikritimi ali kompleksnimi preureditvami, ter lahko

dodatno izboljšajo diagnostično natančnost pri APL, čeprav je njihova uporaba v rutinski urgentni diagnostiki za zdaj še omejena.

Poudariti je treba, da RT-PCR ostaja zlati standard, saj omogoča natančno opredelitev specifičnih preureditev RARA ter je nepogrešljiv za postavitve diagnoze, spremljanje zdravljenja in oceno merljive preostale bolezni (MRD).

APL je danes, ob zgodnjem prepoznavanju in zdravljenju s tarčno terapijo, visoko ozdravljiva oblika levkemije. Hitra diagnoza, takojšnja uvedba zdravljenja z ATRA ter skrbna hemostatska podpora so ključni za zmanjšanje zgodnje umrljivosti. Spremljanje MRD še dodatno izboljša izide zdravljenja bolnikov.

Literatura

1. Abddaoui M. in sod. Acute Promyelocytic Leukemia: Pathophysiology, Diagnosis and Clinical Management. *Hematol Reports*. 2025;17(6):66.
2. Louis SH. in sod. Detection of cytogenetically cryptic PML-RARA fusion in acute promyelocytic leukemia by rapid next generation sequencing. *NPJ Precis Oncol*. 2025;9:279.
3. Klausner M. in sod. Optical Genome Mapping Reveals Complex and Cryptic Rearrangement Involving PML::RARA Fusion in Acute Promyelocytic Leukemia. *Genes (Basel)* 2024;15(11):1402.
4. Gabert J. in sod. Standardization and quality control studies of 'real-time' quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia - a Europe Against Cancer program. *Leukemia* 2003;17(12):2318-57.
5. Cloos J. in sod. 2025 update on MRD in acute myeloid leukemia: a consensus document from the ELN-DAVID MRD Working Party. *Blood*. 2026;147(11):1147-1167.

Likvorska diagnostika (HLZ)

Onkološka likvorska diagnostika – pogled nevrologa

Aljoša Andlovic, dr. med.
Onkološki inštitut Ljubljana
aandlovic@onko-i.si

Uvod

Nevrološki zapleti onkoloških in hematoloških bolezni ter njihovega zdravljenja predstavljajo naraščajoč klinični izziv. Sodobne terapije – zaviralci imunskih kontrolnih točk (ICI), terapija s celicami CAR T, bispecifična protitelesa, intratekalna kemoterapija (metotreksat, citarabin), obsevanje in presaditev krvotvornih matičnih celic (PKMC) – prinašajo nove profile nevrotoksičnosti. Analiza cerebrospinalne tekočine (CST) ostaja temeljno diagnostično orodje, pri čemer nastajajoči biooznačevalci bistveno izboljšujejo razlikovanje med onkološkimi in neonkološkimi nevrološkimi boleznimi. Namen prispevka je predstaviti pogled nevrologa na novosti v likvorski diagnostiki pri onkoloških bolnikih s poudarkom na klinično uporabnih biooznačevalcih.

Rutinski parametri CST

Albuminski kvocient (Qalb) je najzanesljivejši biooznačevalec funkcije krvno-likvorske pregrade in je starostno odvisen. Pri leptomeningealnih zasevkih (LM) je disfunkcija pregrade prisotna pri 80–92 % bolnikov, vendar ima 21 % normalno število celic kljub pozitivni citologiji. Oligoklonalni trakovi (OCB) so prisotni pri več kot 95 % bolnikov z multiplo sklerozo (MS), a redki pri limfomu CŽS in nevrosarkoidozi – ta razlika je ključna za diferencialno diagnostiko.

Laktat v CST ima odlično diagnostično natančnost za razlikovanje bakterijskega od aseptičnega meningitisa (AUC 0,98; meja 3,5–4,2 mmol/L). Pri tuberkuloznem meningitisu (TBM) je laktat zmerno povišan (5–10 mmol/L). LDH v CST je povišan pri bakterijskem meningitisu in LM; vrednosti nad 50 U/L so sugestibilne za leptomeningealni razsoj.

Biooznačevalci nevronske in astroglijske poškodbe

Lahke verige nevrofilamentov (NfL) so univerzalni biooznačevalec neuroaksonalne poškodbe. Pri LM bolniki z ravnmi nad 11 ng/mL kažejo bistveno krajše preživetje. Izhodiščne plazemske vrednosti NfL napovedujejo razvoj ICANS po terapiji CAR T z AUC 0,96. Serumski NfL razlikuje bolnike z ICI encefalitisom od kontrol z rakom (mejniki 273,5 pg/mL, občutljivost 81 %, specifičnost 88 %), vrednosti nad 645 pg/mL pa napovedujejo slab odziv na imunosupresivno zdravljenje. NfL in celokupni tau (T-tau) sta dosledno višja pri paraneoplastičnem kot neparaneoplastičnem avtoimunskem encefalitisu.

Glialna fibrilarna kislina (GFAP) je biooznačevalec astrocitne poškodbe, izrazito povišana pri boleznih z anti-AQP4 protitelesi (NMOSD) in anti-MOG protitelesi (MOGAD). Razmerje serumski GFAP/NfL med aktivnostjo razlikuje NMOSD od MS. GFAP je povišan pri gliomih (nad 4 µg/mL pri astrocitomih) in po obsevanju (porast 106 %). Pri ICI meningoencefalitisu so nekateri bolniki pozitivni za protitelesa anti-GFAP.

Razmerje T-tau/P-tau je ključno za diferencialno diagnostiko: pri Creutzfeldt-Jakobovi bolezni (CJD) je izjemno visok T-tau ob normalnem P-tau (AUC 0,99), kar pomaga pri izključitvi CJD pri bolnikih s hitro napredujočo demenco, ki bi lahko bila paraneoplastična. Razmerje amiloid-β42/β40 pomaga pri izključitvi sočasne Alzheimerjeve bolezni pri bolnikih s kognitivnim upadom po kemoterapiji ali obsevanju.

Citokinski profili in razmerja parametrov

Razmerje IL-10/IL-6 v CST je eden najpomembnejših biooznačevalcev za limfom CŽS. Pri primarnem limfomu CŽS IL-10 pri mejniku 8,2 pg/mL dosega 95,5-odstotno občutljivost in 96,1-odstotno specifičnost; razmerje IL-10/IL-6 $\geq 0,72$ dosega 100-odstotno specifičnost. Kombinacija mutacije MYD88 L265P in IL-10 v CST dosega 94-odstotno občutljivost in 98-odstotno specifičnost za primarni limfom CŽS. Neopterin pri mejniku 10 nmol/L dosega 96-odstotno občutljivost in 93-odstotno specifičnost. Algoritem z več označevalci (CXCL13, IL-10, β2-mikroglobulin, sIL-2R) dosega 97-odstotno občutljivost in specifičnost.

IL-6 v CST je bistveno višji pri vnetnih boleznih CŽS kot pri limfomu CŽS (mediana 70 vs. 8 pg/mL). Pri ICI encefalitisih je IL-6 izrazito variabilen – od normalnih vrednosti (40 pg/mL) do izrazito povišanih (>6.000 pg/mL), brez ustaljene mejne vrednosti (cut-off). Ravni so sorazmerne s težo meningoencefalitisa, povišane koncentracije pa so prisotne le pri nekaterih bolnikih. Učinek tocilizumaba je tako pri nevroloških irAE nedosleden.

IL-1β je izrazito povišan pri bakterijskem meningitisu (mejniki 100 pg/mL razlikuje bakterijski od virusnega meningitisa s 100-odstotno specifičnostjo). TNF-α je povišan pri bakterijskem in tuberkuloznem meningitisu (TBM). IFN-γ je ključen za razlikovanje TBM od drugih vzrokov

meningitisa – pri TBM je bistveno višji kot pri virusnem meningitisu (le v nižjih koncentracijah) in tudi višji kot pri bakterijskem meningitisu (kjer prevladujeta IL-1 β in TNF- α). IFN- γ je izrazito povišan tudi pri CŽS-HLH.

Topni IL-2 receptor (sIL-2R) v CST razlikuje nevrosarkoidozo od MS (mejnik \sim 150 pg/mL, specifičnost 93 %) in identificira limfom CŽS (AUC 0,867). Pri nevrosarkoidozi prevladuje Th1-dominanten citokinski profil (IFN- γ , TNF- α , CXCL9, CXCL10).

Nevrotoksičnost ICI: encefalopatija, meningoencefalitis in žariščni encefalitis

Pri nevroloških zapletih ICI je ključno razlikovanje med tremi kliničnimi profili. Barcelonska kohorta je identificirala: meningoencefalitis (44 %) z izrazito pleocitozo (mediana levkocitov 50/ μ L), povišanimi proteini (mediana 1,5 g/L) in dobrim odzivom na kortikosteroide; ter žariščni encefalitis (48 %), ki vključuje limbični, cerebelarni in možganskostebelarni encefalitis, z blago pleocitozo (mediana 15/ μ L), nižjimi proteini (mediana 0,74 g/L) in pogostejšimi OCB (80 %). Mejnik levkocitov $>$ 18/ μ L in proteinov $>$ 0,96 g/L razlikuje meningoencefalitis od žariščnega sindroma. Tretji profil – encefalopatija brez vnetnih sprememb v CST ali na MRI, brez nevronskih protiteles in brez odziva na kortikosteroide – je bil opisan pri 20 % bolnikov

Lyonska kohorta je potrdila te razlike: žariščni encefalitis je bil pogosteje povezan s paraneoplastičnimi protitelesi (84 % vs. 4 %), slabšim odzivom na imunosupresijo (18 % vs. 77 %) in višjo smrtnostjo (63 % vs. 21 %).

ICANS in nevrotoksičnost CAR T ter bispecifičnih protiteles

ICANS po terapiji s CAR T se pojavi pri 10–40 % bolnikov (nastop 4–10 dni). CST najdbe vključujejo povišane IL-6, IL-15, GM-CSF. Bispecifična protitelesa (blinatumomab, teclistamab, elranatamab) povzročajo podobno nevrotoksičnost – blinatumomab povzroča nevrološke zaplete pri do 50 % bolnikov, teclistamab ICANS pri 6 %.

Prizadetost CŽS pri hematoloških malignostih

Pri akutni limfoblastni levkemiji (ALL) je prizadetost CŽS ob diagnozi prisotna pri 3–7 %; pretočna citometrija ima boljšo občutljivost (94 %) v primerjavi s citologijo (69 %). Pri multiplem mielomu je prizadetost CŽS redka (\sim 1,2 %), a z izjemno slabo prognozo (mediana preživetja 4 mesece). Bing-Neelov sindrom (\sim 1 % pri Waldenströmovi makroglobulinemiji) zahteva multiparametrično pretočno citometrijo za klonalnost B-celic in molekularno diagnostiko za mutacijo MYD88 L265P.

Sekundarni HLH/MAS s prizadetostjo CŽS

Sekundarni HLH je najpogostejša oblika HLH pri odraslih: maligne bolezni predstavljajo 28 % sprožilcev (76 % limfomi), avtoimunske bolezni 12 % (SLE 39 %, Stillova bolezen 21 %). Prizadetost CŽS se pojavlja pri 10–25 % bolnikov. Hemofagocitoza v CST je patognomonična. Novi bioznačevalci (Serpina1, lizocim, CD14, CXCL9, osteopontin) razlikujejo CŽS-HLH od drugih nevrotoksičnih motenj. Serumsko razmerje sIL-2R/feritin $\geq 2,0$ ima 85-odstotno PPV za z limfomom povezan HLH; izjemno visok IL-18 (>25.000 ng/L) kaže na Stillovo bolezen/MAS. CXCL9 in osteopontin sta nastajajoča bioznačevalca za CŽS-HLH/MAS.

Nevrotoksičnost intratekalne kemoterapije

Nevrotoksičnost metotreksata vključuje akutne simptome, podobne možganski kapi (36 %), subakutno levkoencefalopatijo (20,6 %) in diseminirano nekrotizirajoča levkoencefalopatijo (DNL, 2,3 %, usoden potek pri ≥ 10 ciklih IT MTX). CST IL-6 je bistveno višji pri levkoencefalopatiji, povzročeni z MTX. Citarabin je povezan z lezijami hrbtenjače, ki se redko obnovijo.

Stanje	Klinična slika	Levkociti	Proteini	Glukoza	Laktat	LDH	OCB	IL-10	IL-6	IFN- γ	NfL	GFAP
Limfom CŽS	Kognitivni upad, žariščni izpadi	N/↑	↑↑	↓ (30–50 %)	↑	↑↑	±	↑↑↑	↑↑	N	↑	N
PNS	Subakutni encefalitis, cerebelarna ataksija, mielitis	↑ blago	↑	N	N	N	+ (30–50 %)	N	N	N	↑↑	N
MS	Optični nevritis, mielitis	N/↑	N/↑	N	N	N	+++	N	N	N	↑	↑ PMS
NMOSd MOGad	Optični nevritis, longitudinalni mielitis	↑ nevtro	↑↑	N	N	N	±	N	N	N	↑↑	↑↑↑
Bakterijski meningitis	Vročina, glavobol, fotofobija	↑↑↑	↑↑↑	↓↓	↑↑↑	↑↑	–	N	↑↑↑	N/↑	↑	↑
TBM	Subakutni glavobol, okvare možganskih živcev	↑↑ limfo	↑↑	↓	↑↑	↑	–	N	↑↑	↑↑↑	↑	NP
HLH CŽS	Vročina, hepatosplenomegalija, citopenije, ↑ feritin, ↑ sIL2R	↑ limfo	↑	N	NP	NP	–	N	↑↑	↑↑↑	↑	NP
ICI-ME	Akutni glavobol, vročina, zmedenost	↑↑ ~ 50	↑↑ 1,5 g/L	N	NP	NP	±	N	N– ↑↑↑	NP	↑	↑
ICI-ŽE	Limbični encefalitis, cerebelarna ataksija	↑ (med 15)	↑ (0,74 g/L)	N	NP	NP	+ (80 %)	N	N–↑	NP	↑↑	N
ICANS	Afazija, tremor, motnje zavesti	N/↑	↑	N	NP	NP	–	N	↑↑	N	↑↑	NP
LM	Glavobol, okvare možganskih živcev	N/↑	↑↑	↓	↑	↑↑	–	N	↑↑	N	↑↑	↑

Tabela 1: Primerjava likvorskih najdb in klinične slike pri izbranih stanjih. Legenda: N = normalno; ↑ = povišano; ↓ = znižano; + = prisotno; – = odsotno; ± = variabilno; NP = ni podatkov; ICI-ME = ICI meningoencefalitis; ICI-ŽE = ICI žariščni encefalitis; LM = leptomeningealni zasevki; TBM = tuberkulozni meningitis.

Korak	Preiskave	Klinični sum
1. Rutinska analiza	Celice, proteini, Qalb, glukoza, laktat, LDH	Vsi bolniki
2. Intratekalna sinteza	OCB (IEF), IgG indeks, Reiberjev diagram	MS, PNS, nevosarkoidoza...
3. Citologija/pretočna citometrija	Volumen ≥ 10 mL; pretočna citometrija (občutljivost 94 %)	LM, limfom CŽS, ALL, AML, MM, BNS
4a. Citokini	IL-10, IL-6, IL-10/IL-6, IL-1 β , TNF- α , IFN- γ , neopterin, CXCL13, $\beta 2$ -MG, sIL-2R	Limfom CŽS, okužbe, HLH, nevosarkoidoza, ICI-irAE
4b. Molekularna diagnostika	MYD88 L265P, IGH klonalnost, CST ctDNA (NGS)	Limfom CŽS, LM, gliomi, Bing Neel sindrom
4c. Protitelesa	Onkonevronska (Hu, Yo, CV2, Ma2, SOX1), površinska (NMDAR, LGI1, CASPR2, GABABR, GFAP)	PNS, avtoimunski encefalitis, ICI-irAE
4d. Okužbe	PCR (HSV, VZV, CMV, EBV, HHV-6, JCV, T. gondii); CrAg; GM; BDG; ADA; IFN- γ	Okužbe CŽS
4e. Biooznačevalci poškodbe	NfL, GFAP, T-tau, P-tau, A β 42/A β 40	Nevrotoksičnost, prognoza, diferencialna diagnostika
4f. HLH/MAS	CXCL9, osteopontin, SerpinG1, lizocim, CD14, IL-18; citologija za hemofagocitozo	CŽS-HLH/MAS
5. Napredna diagnostika	mNGS; biopsija	Negativni konvencionalni testi

Tabela 2: Praktični algoritem likvorske diagnostike za nevrologa v onkologiji

Zaključek

Sodobna likvorska diagnostika pri onkoloških bolnikih presega rutinske parametre. Citokinski profili – zlasti razmerje IL-10/IL-6 in algoritem z več označevalci (CXCL13, neopterin, $\beta 2$ -mikroglobulin, sIL-2R) – omogočajo zanesljivo razlikovanje limfoma CŽS od vnetnih bolezni z diagnostično natančnostjo nad 95 %. Biooznačevalci nevronske in astroglijske poškodbe (NfL,

GFAP, T-tau/P-tau, A β 42/A β 40) služijo kot prognostična orodja in pomagajo pri izključitvi neonkoloških nevroloških bolezni, kot so CJD, Alzheimerjeva bolezen in demielinizacijske bolezni.

V vzponu je uporaba proste cirkulirajoče tumorske DNK (ctDNA) v CST kot tekoče biopsije – pri leptomeningealnih zasevkih presega občutljivost klasične citologije, pri gliomih pa omogoča neinvazivno molekularno klasifikacijo in zgodnje zaznavanje napredovanja bolezni.

Pri ICI nevrotoksičnosti je razlikovanje med meningoencefalitisom, žariščnim encefalitisom in encefalopatijo ključno za prognozo in terapevtsko odločanje. Nevrolog ima pri tem nepogrešljivo vlogo – z integracijo multimodalnega pristopa bistveno izboljšuje diagnostično natančnost in klinično odločanje pri onkoloških bolnikih z nevrološkimi zapleti.

Literatura

1. Song Y et al. Cerebrospinal fluid IL-10 and IL-10/IL-6 as accurate diagnostic biomarkers for primary central nervous system large B-cell lymphoma. *Sci Rep.* 2016;6:38671.
2. Ferreri AJM et al. MYD88 L265P mutation and interleukin-10 detection in cerebrospinal fluid are highly specific discriminating markers in patients with primary central nervous system lymphoma. *Br J Haematol.* 2021;193(3):497-505.
3. Maeyama M et al. Multi-marker algorithms based on CXCL13, IL-10, sIL-2 receptor, and β 2-microglobulin in cerebrospinal fluid to diagnose CNS lymphoma. *Cancer Med.* 2020;9(12):4114-4125.
4. Velasco R et al. Encephalitis induced by immune checkpoint inhibitors: a systematic review. *JAMA Neurol.* 2021;78(7):864-873.
5. Farina A et al. Diagnostic and prognostic biomarkers in immune checkpoint inhibitor-related encephalitis. *Lancet Reg Health Eur.* 2024;44:101011.
6. Chandra S et al. Novel CSF biomarkers for facilitating diagnosis of CNS-HLH from other neuroinflammatory disorders. *Blood Adv.* 2025.
7. van Linder BMH et al. Improving the diagnosis of leptomeningeal metastases by molecular profiling of cell-free DNA from cerebrospinal fluid. *Eur J Cancer.* 2025;229:115783.
8. Pérez-Alfayate R et al. Cerebrospinal fluid ctDNA as a diagnostic and prognostic tool in gliomas: a systematic review and meta-analysis. *Front Oncol.* 2025;15:1714287.
9. Bridel C et al. Diagnostic value of cerebrospinal fluid neurofilament light protein in neurology. *JAMA Neurol.* 2019;76(9):1035-1048.
10. Minnema MC et al. Guideline for the diagnosis, treatment and response criteria for Bing-Neel syndrome. *Haematologica.* 2017;102(1):43-51.

Meningoencefalitisi pri onkoloških bolnikih: osnovne preiskave likvorja in uporabnost novih bioloških označevalcev

Andreja Emeršič

Laboratorij za likvorsko diagnostiko, KO za bolezni živčevja, UKC Ljubljana
andreja.emersic@kclj.si

Preiskave likvorja so pomembne v diagnostični obravnavi onkoloških bolnikov z znaki in simptomi prizadetosti osrednjega živčevja (OŽ), saj lahko z njimi potrdimo prisotnost malignih celic, prepoznamo vnetni proces, včasih pa tudi prizadetost možganskega tkiva. Neoplastični meningitis, ki nastane z razsojem in proliferacijo malignih celic na ovojnica OŽ, predstavlja resen zaplet običajno že napredovale maligne bolezni, redkeje se pojavi po remisiji ali kot prvi znak bolezni. Infiltracijo leptomening in subarahnoidnega prostora lahko povzročajo maligne celice solidnih tumorjev (karcinomatosa leptomening) ali hematološke maligne bolezni (levkemični meningitis), medtem ko so zasevki pri primarnih tumorjih OŽ (meduloblastomi, ependimomi, maligni gliomi) precej redkejši. Karcinomatosa leptomening se pojavlja pri 3-8 % bolnikov z rakom in je najpogostejša pri raku dojk, drobnoceličnem pljučnem raku in malignem melanomu. Kljub temu, da imata pljučni rak in maligni melanom največjo verjetnost zasevanja v možganske ovojnice (do ~20 %), je zaradi visoke incidence raka dojk znaten delež neoplastičnih meningitisov povezan prav s slednjim. Pri bolnikih s hematološkim rakom je pojavnost limfomatoznega oz. levkemičnega meningitisa 5-15 %, najpogostejši je pri agresivnih podvrstah limfomov. Pri ugotavljanju karcinomatosa možganskih ovojnic so nam lahko v veliko pomoč že osnovne preiskave likvorja, predvsem priprava in mikroskopski pregled citološkega sedimenta. Morfološke značilnosti, ki nakazujejo prisotnost malignih celic so nepravilna oblika celic, večje in večjedrne celice, povečano razmerje med jedrom in citoplazmo, hiperkromazija jedra, nehomogena struktura kromatina, izrazita/številčna jedrca, nepravilno oblikovna, zažeta ali lobulirana jedra, povečano število mitoz, močno bazofilna, vakuolizirana ali nepravilno zaključena citoplazma, citoplazemski izrastki in tesni skupki celic, ki se zaradi nenadzorovane delitve prekrivno razraščajo. Pri nekaterih adenokarcinomih lahko opazimo celice v obliki pečatnega prstana (pečatnice), z jedrom, potisnjениm na rob celice in velikimi, prosojnimi citoplazemskimi vakuolami, ki vsebujejo mucin. Za postavitev diagnoze neoplastičnega meningitisa zadošča že najdba posameznih malignih celic, vendar pa je njihov izvor nemogoče opredeliti zgolj z vrednotenjem morfoloških sprememb. Posebna previdnost je potrebna pri oceni citoloških sedimentov ventrikularnih punktatov in likvorja novorojenčkov in otrok v prvem letu starosti, pri katerih so lahko, predvsem v povezavi s hidrocefalusom in nedonošenostjo, opazni skupki celic možganskih ovojnic in celic, ki omejujejo likvorske prostore (ependimske, endotelijske, mezotelijske celice), a ti ne predstavljajo patološke najdbe. Ob znanem primarnem tumorju lahko nadaljnja citopatološka analiza likvorja z usmerjenimi imunocitokemičnimi barvanji potrdi epitelijski izvor celic (citokeratinski označevalci)

in prisotnost drugih tumorskih označevalcev (na primer estrogenski receptor, neuroendokrini in melanomski označevalci). Pri sumu na limfomatozni meningitis je ključna imunofenotipizacija s pretočno citometrijo, saj odsotnost morfoloških sprememb in prekrivajoče morfološke značilnosti pogosto otežujejo zanesljivo razlikovanje med reaktivnimi in neoplastičnimi limfociti v sedimentu likvorja, še posebej v primeru kroničnih levkemij.

Razsoj maligne bolezni v OŽ ni vedno povezan s pleocitozo. Sistematični pregledi primerov neoplastičnih meningitisov kažejo, da je pri približno polovici bolnikov lahko prisotna normalna številčna koncentracija celic ($< 4 \cdot 10^6/L$) in v manj kot 15 % primerov pleocitoza $> 100 \cdot 10^6/L$. Zato je ob izraženem kliničnem sumu pomembna priprava citološkega sedimenta tudi pri normalni koncentraciji levkocitov, v tem primeru s predhodnim koncentriranjem vzorca likvorja. Zaradi žariščnih infiltracij v OŽ malignih celic v likvorju ni možno zmeraj zaznati; po podatkih iz literature je lahko citološki pregled negativen pri 45 % bolnikov z neoplastičnim meningitisom ob prvi lumbalni punkciji, vseeno pa naj bi ponovljen odvzem likvorja potrdil prisotnost malignih celic v kar 90 % primerov. Zvišano koncentracijo proteinov in disfunkcijo krvno-likvorske pregrade (zvišan količnik albumina) lahko pričakujemo pri 70-80 % bolnikov z neoplastičnim meningitisom, še pogosteje jih spremljata visoka koncentracija laktata in znižana glukoza v likvorju, ki ob blagi mononuklearni pleocitozi podpirata sum na prisotnost malignih celic. Kadar kljub zvišani številčni koncentraciji levkocitov malignih celic v likvorju ne potrdimo, so na mestu nadaljnje preiskave, ki pomagajo razlikovati med okužbami in avtoimunskimi encefalitis v sklopu malignih obolenj. Onkološki bolniki so zaradi kemoterapije ali osnovne bolezni imunsko oslabljeni in zato bolj dovzetni za okužbe z oportunističnimi patogeni, tuberkulozni in glivični meningitis pa lahko spremljajo podobna, nespecifična odstopanja v likvorju – pretežno mononuklearna pleocitoza z zvišanimi koncentracijami laktata in proteinov. Limfocitno pleocitozo z normalnimi koncentracijami laktata in normalnimi/zvišanimi koncentracijami proteinov v likvorju lahko opazimo ob avtoimunskih encefalitisih, ki so redke zaplet sistemskega zdravljenja raka z uporabo zaviralcev imunskih nadzornih točk. Intratekalna sinteza imunoglobulinov (kvantitativna po Reiberju ali oligoklonalni trakovi) pri neoplastičnih meningitisih ni pogosta in ima nizko diagnostično občutljivost celo pri limfomih OŽ. Nasprotno pa oligoklonalne trakove in zvišan indeks prostih lahkih verig kapa relativno pogosto ugotavljamo pri paraneoplastičnih nevroloških sindromih, ki so imunsko posredovani in se lahko razvijejo zaradi navzkrižne reaktivnosti med antigeni tumorskih celic in njim podobnimi beljakovinami v živčevju. Prizadetost možganskega parenhima ob avtoimunskih in paraneoplastičnih encefalitisih se lahko odraža v zvišanih koncentracijah neurofilamentov v likvorju, ki so zelo občutljiv, a nespecifičen označevalec okvare nevronov.

Osnovne in usmerjene preiskave likvorja so torej nepogrešljive pri postavitvi diagnoze neoplastičnega meningitisa in ugotavljanju drugih vzrokov nevroloških zapletov pri bolnikih z rakom. Za razliko od malignih celic so številne druge najdbe nespecifične, zato jih je potrebno vedno interpretirati v ustreznem kliničnem kontekstu.

Literatura

1. Torzewski M, Lackner KJ, Bohl J, Sommer C. Integrated cytology of cerebrospinal fluid. *Neoplastic Disorders*. Springer Berlin;2008. 51–79 p.
2. Djukic M, Trimmel R, Nagel I, Spreer A, Lange P, Stadelmann C, et al. Cerebrospinal fluid abnormalities in meningeosis neoplastica: A retrospective 12-year analysis. *Fluids Barriers CNS*. 2017;14(1):1–7.
3. García Molina E, Penas-Prado M. Neoplastic meningitis in solid tumours: Updated review of diagnosis, prognosis, therapeutic management, and future directions. Vol. 37, *Neurologia*. 2022.
4. Perske C, Nagel I, Nagel H, Strik H. CSF cytology - The ongoing dilemma to distinguish neoplastic and inflammatory lymphocytes. *Diagn Cytopathol*. 2011 Aug;39(8):621–6.
5. Rožman S, Borštnar S, Novaković BJ. Intratekalna aplikacija trastuzumaba in rituksimaba. *ONKOLOGIJA*. 2011;XV(1):39–42.
6. Scott BJ, Douglas VC, Tihan T, Rubenstein JL, Josephson SA. A systematic approach to the diagnosis of suspected central nervous system lymphoma. *JAMA Neurol*. 2013;70(3):311–9.
7. Nadja NB, Aljoša A. Nevrološki zapleti zdravljenja z zaviralci imunskih nadzornih točk : prikaz primera. *ONKOLOGIJA*. 2025;XXIX(1):42–4.

Maligna infiltracija likvorja

Katarina Reberšek

Specializirani hematološki laboratorij, Klinični oddelek za hematologijo, UKC Ljubljana
katarina.rebersek@kclj.si

Prizadetost centralnega živčnega sistema (CŽS) je resen, a pogosto spregledan zaplet pri hematoloških malignih boleznih, predvsem pri agresivnih limfoproliferativnih boleznih, kot so Burkittov limfom, limfoblastni limfom in akutna limfoblastna levkemija. Incidenca infiltracije CŽS se razlikuje glede na podtip bolezni; pogosta je pri agresivnih limfomih ter akutni limfoblastni levkemiji, medtem ko je pri akutni mieloični levkemiji razmeroma redka. Diagnoza prizadetosti CŽS je klinično zahtevna, saj so številni bolniki lahko popolnoma asimptomatski, ali pa se nevrološki simptomi pripisujejo drugim vzrokom, kot so oportunistične okužbe ali stranski učinki zdravljenja. Tradicionalni diagnostični pristopi, kot sta citologija likvorja in slikovna diagnostika, imajo kljub svoji uporabi pomembne omejitve. Citologija likvorja ima visoko specifičnost (> 95 %), vendar je njena občutljivost nizka (<50 %), predvsem zaradi omejenega števila celic v vzorcu in artefaktov zaradi priprave preparata s citocentrifugo, ki oteži razlikovanje med reaktivnimi in neoplastičnimi celicami. Slikovne metode zaznajo le 40–60 % infiltracij. Normalen izvid ne izključuje prisotnosti bolezni, še posebej pri nizkih stopnjah infiltracije.

Določitev absolutne koncentracije levkocitov predstavlja izhodišče vsake citološke analize likvorja. Ker vzorcev likvorja ni mogoče pridobiti od zdravih ljudi, se lahko postavlja vprašanje glede uporabe zgornje meje 5 celic/ μ L kot normalne vrednosti. Poleg tega lahko tudi vzorci z normalnim številom celic vsebujejo maligne celice, zato prisotnost normalnega števila celic ne izključuje infiltracije.

Imunofenotipizacija z večparametrično pretočno citometrijo (MFC) je pomembno orodje za diagnostiko hematoloških malignih bolezni v bezgavkah, krvi in kostnem mozgu. Z razvojem je MFC postala sposobna zanesljivo zaznati in kvantificirati tudi zelo redke dogodke (0,01 % vseh celic). Vendar pa analiza likvorja z MFC predstavlja več tehničnih izzivov, saj nizka koncentracija celic zahteva razvoj metod za analizo »scarce events« v primerjavi z redkimi dogodki (»rare events«). MFC omogoča tako kvantitativno kot kvalitativno oceno celic, kar presega omejitve citologije in slikovne diagnostike.

Za doseg optimalnih rezultatov je pomembno, da se vzorec likvorja obdela čim prej po odvzemu, idealno v 60-ih minutah, sicer je priporočena uporaba Transfixa za shranjevanje. Panel protiteles mora biti skrbno izbran glede na osnovno bolezen in klinično vprašanje. Po identifikaciji ciljne

populacije se lahko nadaljnja imunofenotipizacija izvede z dodatnimi epruветami, če je to potrebno.

Zaradi široke uporabe visoko občutljive MFC pri preiskavah likvorja se je začel uporabljati izraz »okultna prizadetost CŽS« za primere, bolnikov, kjer citološki pregled likvorja ne pokaže infiltracije, analiza z MFC pa je pozitivna. Okultna prizadetost CŽS ob diagnozi je povezana z večjim tveganjem za ponovitev bolezni.

Število celic v likvorju je običajno nizko (<5 celic/ μ L), okultna infiltracija se lahko kaže tudi z absolutnim številom 1 celica/ μ L, v primeru manifestne bolezni lahko več kot 1000 celic/ μ L. Čeprav ni natančno določeno, koliko dogodkov je potrebno analizirati v vzorcu likvorja, je potrebno analizirati največje možno število. Poleg tega tudi prag za opredelitev pozitivnosti z MFC ni enotno določen.

Pri interpretaciji je pomembno uporabiti kombinacijo kvantitativnega in kvalitativnega pristopa. Ključno je, da se upošteva ne le število celic, temveč tudi njihova porazdelitev v razsevnih diagramih, kar omogoča razlikovanje med patološkimi populacijami in morebitnimi artefakti. Prisotnost vsaj desetih dogodkov, ki glede na imunofenotip ustrezajo malignim celicam, se šteje za dokaz infiltracije CŽS, medtem ko manjše število ni dovolj za identifikacijo populacije.

MFC je pomembna tudi pri oceni odziva na intratekalno terapijo, kar omogoča varnejše zdravljenje, zmanjšuje tveganje za relaps CŽS ali prekomerno nevrotoksičnost.

Za oceno kakovosti vzorca likvorja je potrebno preveriti prisotnost kontaminacije s periferno krvjo, in sicer za opredelitev, če je neoplastična populacija prisotna samo v likvorju. Če je okultna infiltracija zaznana v očitno kontaminiranem vzorcu in je prisotna tudi v periferni krvi, je treba izvid interpretirati previdno, saj je lahko likvor brez infiltracije. Po drugi strani pa, če MFC v likvorju zazna populacijo limfocitov, ki je bistveno višja od njihovega števila v periferni krvi, bi to lahko nakazovalo na prisotnost bolezni v likvorju, vendar je treba takšno ugotovitev potrditi z laboratorijskimi ali radiološkimi podatki ter celotno klinično sliko. Pomembno je poudariti, da je pri akutni levkemiji prisotnost blastnih celic v likvorju ob diagnozi, ne glede na vzrok (prava infiltracija ali iatrogeni prenos), sama po sebi povezana z visokim tveganjem za relaps v CŽS.

Smernice priporočajo, da se z namenom zmanjšanja stroškov in obremenitve MFC analiza likvorja omeji na bolnike z znano hematološko maligno boleznijo ali z anamnezo hematološke maligne bolezni oziroma, ob povišani številčni koncentraciji levkocitov nejasnega izvora in izključenim bakterijskim meningitisom.

MFC likvorja je ključna metoda pri diagnostiki, spremljanju in oceni zdravljenja hematoloških malignih bolezni. Njena visoka občutljivost, sposobnost določitve imunofenotipa in kvantifikacije patoloških celic, skupaj z možnostjo zaznave okultne bolezni, zagotavljajo bistveno prednost pred citologijo in slikovno diagnostiko. Integracija MFC v rutinsko klinično prakso omogoča boljše odločanje, natančno stratifikacijo tveganja in optimizacijo intratekalne terapije, kar neposredno

vpliva na klinični izid bolnikov. Kljub temu je še vedno potrebna standardizacija postopkov transporta, shranjevanja, obdelave in poročanja.

Literatura

1. Del Principe MI, Gatti A, Johansson U, Buccisano F, Brando B. ESCCA/ISCCA protocol for the analysis of cerebrospinal fluid by multiparametric flow-cytometry in hematological malignancies. *Cytometry B Clin Cytom.* 2021;100(3):269-81.
2. Momen N, Tario J, Fu K, *et al.* Initial and follow-up evaluations on cerebrospinal fluid involvement by hematologic malignancy. *J Hematopathol.* 2023;16:131–40.
3. Holl E, Kapinsky M, Larbi A. An Update on Flow Cytometry Analysis of Hematological Malignancies: Focus on Standardization. *Cancers.* 2025;17(12):2045.

Infiltracija centralnega živčevja

Neva Kavčič

UKC Ljubljana, Klinični oddelek za hematologijo

neva.kavcic@kclj.si

Pri akutni levkemiji, predvsem limfoblastni in agresivnih limfomih lahko maligne celice prestopijo krvno-možgansko pregrado in infiltrirajo osrednje živčevje. Pri nizkomalignih limfomih je prizadetost osrednjega živčevja redka.

Mehanizem, kako levkemične oz. limfomske celice vstopijo v centralno živčevje, ni povsem jasen, domneva pa se, da se lahko prenesejo na več načinov: hematogeno, neposredno iz kostnega mozga ali preko perinevralnih in perivaskularnih prostorov.

Incidenca infiltracije osrednjega živčevja je največja pri zelo agresivnih limfomih kot je Burkittov limfom ali limfoblastni limfom oz. levkemija. Dejavniki tveganja pri odraslih z ALL so še T imunofenotip, visoka levkocitoza, visoka vrednost LDH in Ph pozitivna bolezen. Pri limfomih se v večini primerov infiltracija osrednjega živčevja pojavi ob ponovitvi bolezni. Skoraj polovica bolnikov ima sočasno sistemsko ponovitev. Ni popolnoma jasno ali na tveganje za ponovitev bolezni v osrednjem živčevju vpliva izbira prvega zdravljenja. Določne študije so pokazale, da je incidenca prizadetosti osrednjega živčevja manjša pri tistih bolnikih, ki so prejeli rituksimab ali etopozid, druge študije pa tega niso potrdile. Večina študij je dokazala tudi povezanost incidence infiltracije osrednjega živčevja s primarnim mestom limfoma (večja incidenca pri prizadetosti testisov, dojke, paranazalnih sinusov). Pri DVCBL imajo večje tveganje za diseminacijo limfoma v osrednje živčevje tudi dvojni ali trojni ekspresorji (translokacije MYC, BCL2 oz. BCL6). Prizadetost osrednjega živčevja se pri AML pojavlja redkeje, incidenca levkemije osrednjega živčevja pri AML se je še zmanjšala odkar v zdravljenju uporabljamo visoke odmerke citarabina.

Prizadetost osrednjega živčevja pri akutnih levkemijah je lahko asimptomatska. Simptomi in znaki pri bolniku so sicer odvisni od lokalizacije bolezni v osrednjem živčevju. Če so prizadete meninge, imajo bolniki znake povišanega intrakranialnega tlaka kot so glavobol, zmedenost, spremembe duševnega stanja, motnje ravnotežja, bruhanje, redkeje se pojavijo epileptični napadi, lahko motnje vida ali nevroendokrine motnje kot je sindrom neustreznega izločanja antidiuretičnega hormona. Prizadetost parenhima možganov je redkejša. Pojavljajo se lahko tudi okvare možganskih živcev, predvsem III., V., VI. in VII., radikularne bolečine ali žariščni senzorični izpadi. Lahko pride tudi do utesnitve hrbtenjače zaradi ekstramedularne mase, ki se pokaže z bolečinami, parestezijami in motnjami odvajanja urina in blata.

Obravnavanje infiltracije centralnega živčevja mora biti hitra, da preprečimo dodatne nevrološke zaplete. Ugotovimo lahko spremembe na očesnem ozadju. Pri vseh bolnikih, pri katerih obstaja

sum na infiltracijo osrednjega živčevja in nimajo kontraindikacij, opravimo lumbalno punkcijo. V nasprotju z ALL pri asimptomatskih odraslih bolnikih z AML lumbalne punkcije rutinsko ne delamo, saj je verjetnost za infiltracijo osrednjega živčevja v tem primeru majhna. V primeru meningitisa ob infiltraciji z levkemijo oz. limfomom v likvorju ugotovimo visoko koncentracijo beljakovin, nizko koncentracijo glukoze in pozitivno citologijo in pretočno citometrijo na maligne celice. Možni so tudi lažno negativni izvidi, vendar je povsem normalen izvid redek. Zavedati pa se moramo, da gre za vzorce, v katerih je največkrat število celic majhno in le-te hitro razpadajo. Specifičnost citološke preiskave je bistveno večja kot občutljivost le-te.

MR s kontrastom je najobčutljivejša slikovna metoda za odkrivanje prizadetosti centralnega živčevja. V večini primerov magnetna resonanca pokaže povečano intenzivnost signala na meningah, možganskemu parenhimu ali hrbtenjači.

Bolnike z infiltracijo osrednjega živčevja zdravimo z intratekalno kemoterapijo, obsevanjem in sistemsko kemoterapijo, ki prehaja v centralni živčni sistem (metotreksat, citarabin). V primeru utesnitve živčnih struktur je najbolj zanesljivo reševalno zdravljenje obsevanje. Za zmanjšanje edema bolniki prejemajo še deksamezazon. Če gre za veliko lezijo, ki vtiskuje živčne strukture, je smiselno tudi kirurško zdravljenje.

Literatura

1. Noam E. Kopmar, Ryan D. Cassaday. How I prevent and treat central nervous system disease in adults with acute lymphoblastic leukemia, *Blood*, Volume 141, Issue 12, 2023, 1379-1388.
2. Liu S, Wang Y. Diagnosis and management of adult central nervous system leukemia. *Blood Sci.* 2023 May 30;5(3):141-149.
3. Perruso LL, Velloso E, Rocha V, Rego EM, Silva WF. Patterns and prognostic impact of CNS infiltration in adults with newly diagnosed acute lymphoblastic leukemia. *Ann Hematol.* 2024 Jun;103(6):2033-2039.
4. Bento LC, Correia RP, Alexandre AM, Nosawa ST, Pedro EC, Vaz ADC, Schimidell D, Fernandes GBP, Duarte CAS, Barroso RS, Bacal NS. Detection of Central Nervous System Infiltration by Myeloid and Lymphoid Hematologic Neoplasms Using Flow Cytometry Analysis: Diagnostic Accuracy Study. *Front Med (Lausanne).* 2018 May 23;5:70.
5. Córdova-Serrano, R. D., Almanza-Huante, E., Fernández-Sánchez, E., Hernández-Alcántara, A., & Espinosa-Bautista, K. (2021). Central nervous system (CNS) involvement has an adverse impact on survival in newly diagnosed adult acute lymphoblastic leukemia (ALL) assessed by flow cytometry. *Leukemia & Lymphoma*, 62(13), 3264–3270.

Malaria (HLZ)

Laboratorijska diagnostika malarije – krvni razmaz in gosta kaplja

Elizabeta Božnar Alič

Univerzitetni klinični center Ljubljana, Klinični inštitut za klinično kemijo in biokemijo
elizabeta.boznar@kclj.si

Uvod

Malaria je akutna parazitska bolezen, ki se lahko razvije v potencialno življenje ogrožajoče stanje, zato zahteva takojšnjo klinično obravnavo in hitro laboratorijsko diagnostiko. Kljub temu, da Slovenija ne sodi med endemska področja, se zaradi migracij in naraščanja potovanj v tropska in subtropska področja v našem laboratoriju redno srečujemo s primeri malarije. Zlati standard laboratorijske diagnostike sta mikroskopski pregled krvnega razmaza in goste kaplje. Za prvo presejalno testiranje imajo pomembno vlogo hitri diagnostični testi (RDT), medtem ko so molekularno gentske metode nepogrešljive v primeru nejasnosti pri postavljanju diagnoze (nizka parazitacija, dvojna okužba). Laboratorijske preiskave za diagnostiko malarije so nujne preiskave, ki morajo biti na voljo 24 ur na dan, vse dni v tednu. Odložitev diagnostike lahko vodi v hitro in usodno napredovanje bolezni, zlasti pri okužbah s *Plasmodium falciparum*.

Biologija in morfologija

Malarijo povzročajo praživali iz rodu *Plasmodium*, ki ga uvrščamo v razred trosovcev (*Sporozoa*). Pri ljudeh povzroča okužbo pet vrst: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* in v jugovzhodnih predelih Azije tudi zoonotski *P. knowlesi*. Za uspešno zaključen življenjski cikel parazita sta potrebna dva gostitelja: človek in samica komarja *Anopheles*. Razvoj parazita v človeku obsega **ekstraeritrocitno** (jetrno) in **eritrocitno** (krvno) fazo. S stališča laboratorijske diagnostike je ključna eritrocitna faza, ko se paraziti razmnožujejo znotraj eritrocitov in so neposredno dostopni mikroskopskemu pregledu v krvnih preparatih. V krvi (eritrocitih) okužene osebe se plazmodiji lahko pojavljajo v treh razvojnih oblikah:

Trofozoit je aktivna oblika parazita, ki se prehranjuje in raste na račun gostitelja. Večinoma so okrogle prstanaste oblike. Ločimo zgodnje trofozite ali prstane ter zrele ali pozne trofozoite.

Shizont nastane v procesu nespolnega razmnoževanja v jetrih in eritrocitih z večkratno delitvijo jedra trofozoita. Dozorel shizont vsebuje od 8 do 32 **merozoitov**; število je značilno za posamezno vrsto.

Gametocit se prav tako razvije iz trofozoita. Večinoma zapolni celoten eritrocit in je okrogle ali ovalne oblike. Za nadaljnji razvoj v človeku niso pomembni, ča pa jih s pikom posrka komar, se razvoj v njem nadaljuje.

Laboratorijska diagnostika

Odvzem vzorca in priprava krvnih preparatov

Ustrezen vzorec za analizo je venska ali kapilarna kri, odvzeta v epruveto z EDTA-antikoagulantom. Pomembno je, da vzorce odvezamo že ob prvem sumu na okužbo, pred začetkom zdravljenja. Najbolj primeren čas odvzema je ob pojavu značilnih kliničnih znakov (vročina, mrazjenje, potenje). V primeru prvega negativnega rezultata se priporoča, da odvzem krvi ponavljamo na 12–24 ur vsaj tri dni. Pri pozitivnem rezultatu pa odvzem ponavljamo na 12 do 24 ur do negativnega rezultata. Priporoča se, da se krvni preparati pripravijo v eni uri po odvzemu, da čim bolj zmanjšamo tveganje za spremembo morfoloških značilnosti parazitov.

Krvni razmaz pripravimo iz kaplje krvi s klasično tehniko, ki jo uporabljamo za mikroskopsko diferencialno krvno sliko. Razmaze obarvamo po Pappenheimu z barvili May-Grünwald in Giemsa po enakem postopku kot krvne razmaze. Gosto kapljo pripravimo tako, da na objektno steklo naneseemo dve večji kaplji krvi in ju z vogalom drugega stekelca razmažemo v krog premera 1,5 do 2,0 cm. Dobro osušene preparate obarvamo z razredčeno raztopino Giemse (2–5 %) 20 do 30 minut.

Mikroskopski pregled

Pregled krvnega razmaza in goste kaplje izvedemo pod 1000-kratno mikroskopsko povečavo. V krvnem razmazu se paraziti nahajajo znotraj eritrocitov (Slika 1). Za določitev vrste povzročitelja so pomembne **morfološke lastnosti razvojnih oblik parazitov** kot tudi **okuženih eritrocitov** (velikost, oblika, značilne granulacije). Dobro poznavanje le teh je ključno za določitev vrste plazmodija (Preglednica 1). Pri okužbi s *P. falciparum* v krvnem razmazu določimo tudi **parazitemijo** tako, da preštejemo okužene eritrocite med 1000 eritrociti in rezultat izdamo kot delež (%) okuženih eritrocitov. Določitev parazitemije je pomembna pri spremljanju uspešnosti zdravljenja in ugotavljanju odpornosti parazitov na terapijo.

Preglednica 1: *Morfološke značilnosti okuženih eritrocitov ter razvojnih oblik P. falciparum, P. vivax, P. ovale in P. malariae*

	<i>P. falciparum</i>	<i>P. vivax</i>	<i>P. ovale</i>	<i>P. malariae</i>
Okužen eritrocit	Okužene so vse starostne stopnje. Eritrociti so normalne velikosti.	Okuženi so mladi eritrociti. Eritrociti so lahko povečani.	Okuženi so mladi eritrociti. Eritrociti so lahko povečani in ovalni ter z natrganim robom.	Okuženi so stari eritrociti. Eritrociti so normalne velikosti ali manjši.
Zgodnji trofozoit	Velik je približno 1/5 premera eritrocita, nežen, z ozkim robom citoplazme. Vsebuje 1-2 kromatinski zrcni. V eritrocitu je pogosto več trofozoitov (2-3). Trofozoiti so lahko na robu membrane eritrocitov.	Velik je približno 1/3 premera eritrocita. Imajo 1 kromatinsko zrno, redko 2. Redko sta v eritrocitu po 2 trofozoita.	Velik je približno 1/3 premera eritrocita. Ima 1 kromatinsko zrno.	Oblika sokoljega očesa ali košare.
Pozni trofozoit	Je le malo večji od prstanov. V citoplazmi eritrocita so lahko prisotne granulacije t.i. Maurerjevi ključi.*	Ima obilnejšo citoplazmo, ki je nepravilnega ameboidnega izgleda. V citoplazmi parazita je lahko rjav pigment.**	Kompakten. V citoplazmi eritrocita so Schüffnerjeve granulacije.***	Oblika pasu preko celega eritrocita.

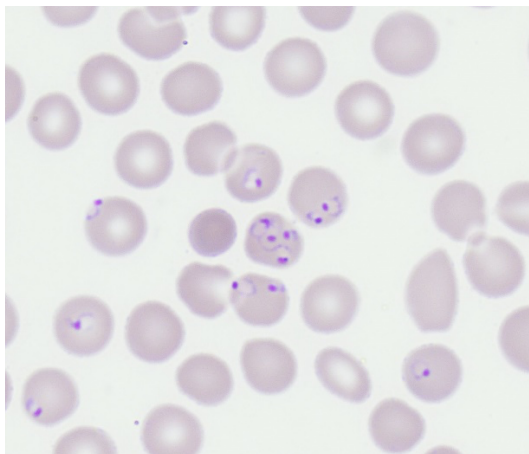
	V citoplazmi eritrocita so Schüffnerjeve granulacije.***			
Shizont	Vsebuje 16-24 merozoitov. Redko v periferni krvi.	Vsebuje 12-24 merozoitov.	Vsebuje 6-14 merozoitov.	Vsebuje 6-12 merozoitov.
Gametocit	Srpaste oz. bananaste oblike z zaobljenimi konci.	Okrogel ali ovalen. Makrogametocit z ekscentrično položnim jedrom. Mikrogametocit ima jedro centralno.	Okrogel ali ovalen Makrogametocit z ekscentrično položnim jedrom. Mikrogametocit ima jedro centralno.	Okrogel ali ovalen. Makrogametocit z ekscentrično položnim jedrom. Mikrogametocit ima jedro centralno.

**Maurerjevi ključi so granulacije nepravilnih oblik, ki jih lahko vidimo v eritrocitih okuženih s P. falciparum, v stadiju zrelega trofozoita. Predstavljajo izbokline na površini membrane eritrocitov, ki vsebujejo adhezijsko molekulo PfEMP-1 (Plasmodium falciparum erythrocyte membrane protein 1), ki se z vezikli prenese na površino eritrocitov, kar povzroči, da postane površina eritrocitov lepljiva. PfEMP-1 se poveže z adhezijsko molekulo (ICAM-1) na endotelijskih celicah kapilar. Okuženi eritrociti se lepijo na stene kapilar in med seboj, kar privede do zamašitve manjših žil v notranjih organih.*

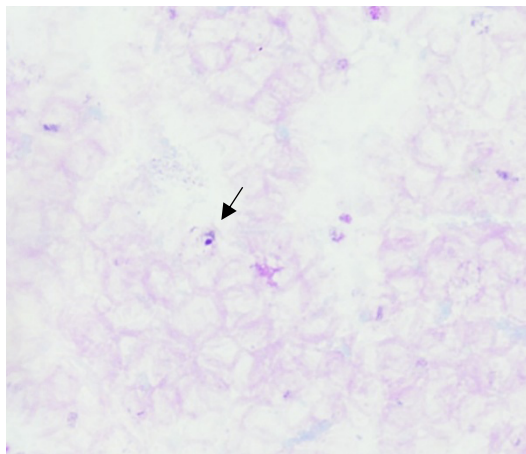
***Hemozoin je rjav pigment, ki nastane pri razgradnji hemoglobina in se lahko nahaja v okuženih eritrocitih in nevtrofilcih.*

****Schüffnerjeve granulacije so rdečkasto rožnate granulacije v eritrocitih okuženih s P. vivax ali P. ovale. To so drobne ugreznitve eritrocitne membrane, ki so povezane z endoplazmatskim retikulumom. Z njihovim nastankom se spremeni struktura in poveča prepustnost membrane s čimer si parazit zagotovi hranila.*

Gosta kaplja (Slika 2) v postopku barvanja ni fiksirana, zato eritrociti, ki se na gosto prekrivajo, hemolizirajo, iz njih pa se sprostijo paraziti. Videz parazitov je nekoliko drugačen kot v krvnem razmazu, videti so manjši in kompaktnjši. Pregled goste kaplje je zelo pomemben pri nizki parazitemiji, saj je ta tehnika 20-krat bolj občutljiva kot pregled krvnega razmaza.



Slika 1: Krvni razmaz, trofozoiti *P. falciparum*



Slika 2: Gosta kaplja, trofozoit *P. falciparum*

Pri določanju vrste se pojavijo večji izzivi kadar je parazitemija nizka in prisotna le ena razvojna oblika. Če ni prisotnih shizontov, je težko ločiti *P. ovale* od *P. vivax*. Obe vrsti imata pri zrelih trofozoitih prisotne Schüffnerjeve granulacije in sta si zelo podobni. V primeru prisotnih shizontov je ločevanje enostavnejše, saj se število merozoitov v shizontih razlikuje. Določanje vrste je težavno tudi pri okužbi s *P. falciparum* z nizko parazitemijo, ki je za to vrsto manj značilna.

Lažno pozitivne rezultate lahko dobimo v primeru da trombocite, ki se nahajajo na eritrocitih, zamenjamo za parazite malarije. V slabo pripravljenih razmazih so lahko zavajajoči tudi ostanki barvil, deli razpadlih celic in drugi artefakti, ki so podobni parazitom malarije. Negativni vzorci so za pregled prav tako zahtevni kot pozitivni. Za izdajo negativnega rezultata, je skladno s priporočili, potrebno pregledati najmanj 300 vidnih polj pri 1000-kratni povečavi, tako v krvnem razmazu, kot tudi v gosti kaplji. Možnost za izdajo lažno negativnih rezultatov se povečuje s padanjem števila parazitov v krvi. Večjo zanesljivost rezultatov dosežemo s kombinacijo pregleda krvnega razmaza in goste kaplje, s pregledom dveh izkušenih mikroskopistov in s podaljšanim časom pregledovanja preparatov.

Od leta 2020 do danes smo v laboratoriju obravnavali 42 primerov pozitivne malarije. Običajno je na leto potrjenih od 7 do 12 pozitivnih vzorcev, v letošnjem letu smo obravnavali že štiri. V letih 2020 in 2021, v času epidemije covid-19, smo zabeležili le po en pozitiven primer na leto. V 35 primerih (83,3 %) smo ugotovili okužbo s *P. falciparum* in v enem primeru (2,4 %) s *P. vivax*. V

šestih primerih (14,3 %) pa zaradi zelo nizke parazitemije vrste ni bilo mogoče zanesljivo določiti, zato smo kot rezultat navedli le Plasmodium sp.

Zaključek

Mikroskopski pregled krvnega razmaza in goste kaplje ostaja temeljna diagnostična metoda za odkrivanje malarije. Kljub razvoju hitrih testov in molekularnih metod je mikroskopija nepogrešljiva pri oceni parazitemije, spremljanju terapije in določanju vrste parazita. Natančnost in zanesljivost rezultatov sta tesno povezani s pravilno pripravo preparatov ter izkušnostjo in dobro usposobljenostjo laboratorijskih strokovnjakov, zato sta stalno izobraževanje in vzdrževanje kompetenc ključnega pomena za kakovostno diagnostiko.

Literatura

1. Rosenblatt JE. Laboratory Diagnosis of Infections Due to Blood and Tissue Parasites. *Med Microbiol.* 2009, August; 2009,49: 1103-1108.
2. Mathison BA, Pritt BS. Update on Malaria Diagnostic and Tests Utilization. *J Clin Microbiol.* 2017, July ;55(7):2009-17.
3. Calderaro A, Piccolo G, Chezzi C. The Laboratory Diagnosis of Malaria: A Focus on the Diagnostics Assays in Non-Endemic Areas. *Int J of Mol Sci.* 2024, Jan; 25(695): 1-21.
4. CLSI: Laboratory diagnosis of Blood-borne Parasitic Diseases; Approved Guidelina, M15-A, Jun 2000.

Kako smo preživeli poletje (ZTM)

Izzivi preskrbe s krvjo zaradi virusa Zahodnega Nila (WNV)

Valentina Filipović Samec, Polonca Mali, Klara Železnik
Zavod RS za transfuzijsko medicino, Šlajmerjeva 6, 1000 Ljubljana
valentina.filipovic-samec@ztm.si

Izvleček

Virus Zahodnega Nila (WNV) je zoonoza, ki jo prenašajo komarji in ptice, posredno se z njim okužijo tudi ljudje. Od vseh arbovirusnih okužb je v strokovni literaturi okužba z WNV najpogosteje opisana s transfuzijo prenosljiva okužba. V Sloveniji izvajamo številne ukrepe za preprečevanje prenosa okužbe z WNV ter ohranjanje varne in zadostne preskrbe s krvjo.

Zaradi velikega števila asimptomatskih darovalcev smo z uvedbo rednega sezonskega presejalnega testiranja darovalcev krvi dosegli najvišjo možno stopnjo varnosti za vse prejemnike krvi in krvnih komponent.

Okužba z WNV je zoonoza, ki jo prenašajo komarji in je v Evropi endemično-epidemična. Bolezen je razširjena v državah južne, vzhodne in zahodne Evrope. Zaradi globalnega segrevanja in povečanih migracij ljudi se kaže trend širjenja WNV okužb tudi proti severnim državam Evrope.

Virus se prenaša v enzooskem ciklu med komarji (v Evropi je najpomembnejši vektor komar iz rodu *Culex*) in pticami, ki lahko okužijo tudi konje in ljudi, ki so zaradi nizke viremije tudi končni gostitelji.

Približno 80 % okužb z virusom WNV pri ljudeh poteka asimptomatsko. Starejši in imunsko oslabei ljudje imajo večje tveganje za razvoj nevroinvazivne oblike WNV, ki se pokaže v manj kot 1% primerov. Pri ljudeh ni specifične profilakse ali zdravljenja te bolezni.

Okužbe z WNV se pojavljajo v sezoni aktivnosti komarja, najpogosteje med julijem in septembrom. Prenos WNV s snovmi človeškega izvora je v času viremije možen pri transfuziji krvi in krvnih komponent, ter pri transplantaciji celic, tkiv in/ali organov WNV okuženega darovalca. Opisani so tudi primeri transplacentarnega prenosa in prenosa z dojenjem. Inkubacija pri ljudeh traja od 2 do izjemoma 21 dni pri imunsko kompromitiranih. Prisotnost virusa v krvi lahko zaznamo že od drugega dne, zabeležen je tudi primer podaljšane viremije, celo do 35 dni od pojava simptomov. Zaradi tveganja za prenos okužbe in nizke viremije pri dajalcih je za zagotavljanje varne krvi

priporočeno individualno testiranje (ID WNV NAT) vsakega darovalca krvi, tkiv in organov (v nadaljevanju: darovalci).

Leta 2024 je 19 držav EU /EEA regije zabeležilo 1436 avtohtonih WNV okužb (od 1. marca 2024 do 25. oktobra 2024). Naslednje leto je bil začetek poznejši in so zabeležili 1112 primerov v 14 državah. Od tega je bilo 70 % vseh primerov okužbe z WNV v Italiji.

Naloga transfuzijske službe je, da spremlja pojav okužb, ki se lahko prenašajo s krvjo in uvede potrebne ukrepe za zagotavljanje varne in zadostne preskrbe s krvjo. Ukrepi vključujejo:

1. pozorno spremljanje epidemiološke situacije v Evropi in svetu (JAZMP, NIJZ, ECDC, EpiPulse (SoHO), EID Monitor ter drugi viri obveščanja),
2. ozaveščanje krvodajalcev glede tveganja za okužbo z WNV,
3. predonacijska informacija- poglobljena anamneza glede pojava simptomov in znakov okužb v zadnjih 14 dneh pred darovanjem,
4. odklon krvodajalcev (odložitev darovanja krvi) za 28 dni od prihoda iz WNV tvegane območja ob telefonskem naročanju ali ob sprejemu,
5. post-donacijska informacija- nujno sporočanje darovalca transfuzijski službi v primeru simptomov in znakov nalezljive bolezni v 14 dneh po darovanju,
6. testiranje na ID WNV RNA,
7. patogenska inaktivacija (trenutno ni dostopna za koncentrirane eritrocite),
8. odklon krvodajalca za 120 dni od potrjene okužbe z WNV – negativen test po preboleli okužbi z WNV ni potreben za ponovno vključitev krvodajalca.

V tabeli 1. je prikazano število odklonjenih krvodajalcev leta 2024 in 2025 glede na odvzemno mesto. Podatki so zajeti iz informacijskega sistema DATEC.

Tabela 1. Krvodajalci odklonjeni ob sprejemu v letu 2024 in letu 2025

WNV	ZTM LJ	CTD Iz	CTD NG	CTD Nm	CTD SG	CTD Tr	CTD Je	CTM Mb	ETD Pt	ETD MS	TC Ce
Število odklonjenih krvodajalcev 2024	325	46	38	57	25	22	25	36	9	12	20
% odklonjenih krvodajalcev 2024	4,5	5,7	7,1	4,2	4,3	6,6	5,8	1,7	2,0	2,3	3,4
Število odklonjenih krvodajalcev 2025	6	0	0	2	0	0	0	3	1	1	0
% odklonjenih krvodajalcev 2025	0,1	0	0	0,2	0	0	0	0,1	0,2	0,3	0

Legenda: ZTM LJ- Zavod RS za transfuzijsko medicino Ljubljana (podatki vključujejo odvzeme na lokaciji Ljubljana in terenske krvodajalske akcije), CTD- Center za transfuzijsko dejavnost (Iz- Izola, NG- Nova Gorica, Nm- Novo mesto, SG- Slovenj Gradec, Tr- Trbovlje, Je- Jesenice), CTM Mb- Center za transfuzijsko medicino Maribor, ETD- Enota za transfuzijsko dejavnost (Pt- Ptuj, MS- Murska Sobota), TC Ce- Transfuzijski center Celje

Pred uvedbo rednega sezonskega testiranja na WNV RNA in ob odsotnosti okužb z WNV v Sloveniji smo odklanjali krvodajalce za 28 dni od prihoda iz območja, kjer so potrdili primere WNV. Na nacionalni ravni je to pomenilo 5,5% vseh odklonov krvodajalcev. Po prejšnjem Pravilniku o dopolnitvah Pravilnika o obveznem testiranju krvi in komponent krvi (<https://www.uradni-list.si/1/objava.jsp?sop=2018-01-3001>) smo s testiranjem vseh darovalcev v Sloveniji začeli ob pojavu okužb z WNV med živalmi ali med ljudmi. Zaradi zagotavljanja nemotene preskrbe s krvjo zlasti v poletnem času, smo dosegli spremembo Pravilnika (Pravilnik o spremembi Pravilnika o obveznem testiranju krvi in komponent krvi (Uradni list RS, št. 92/24)) in s tem omogočili uvedbo rednega sezonskega testiranja darovalcev ID WNV NAT od 1. junija do 30. novembra. Ministrstvo za zdravje s sklepom na predlog Razširjenega strokovnega kolegija za transfuzijsko medicino obdobje testiranja lahko podaljša, skladno z epidemiološko situacijo.

V letu 2024 smo zaradi pojava okužb z WNV v Sloveniji od 30.8. do 30.11 testirali 20 702 vzorca krvodajalcev.

Od 1.6. do 30.11. 2025 smo izvajali redno presejalno testiranje pri 39 135 vzorcih. Pozitivnih rezultatov pri testiranju krvodajalcev na WNV RNA v letih 2024 in 2025 nismo zabeležili.

V obdobju julij-avgust 2025 smo uspeli kljub povečanemu naročilu krvnih komponent uspešno zadostiti vsem potrebam naročnikov.

Zaključek

Z uvedbo rednega sezonskega presejalnega testiranja darovalcev na WNV smo dosegli večjo učinkovitost pri delu s krvodajalci- zmanjšali število odklonjenih krvodajalcev ob sprejemu, zmanjšali možnost prenosa WNV s krvjo darovalcev in s tem zagotavljali zadostno in bolj varno preskrbo s krvjo, predvsem v kritičnih (poletnih) mesecih.

Literatura

1. Rajendra P, Secret S, Brailsford S, Golubchik T, Simmonds P, Harvala H.. A blood safety perspective on emerging arboviral infections in the United Kingdom. *Transfus Med.* 2025;36(1):10–19.
2. Lu L, Zhang F, Oude Munnink BB, Munger E, Sikkema RS, Pappa S, et al. West Nile virus spread in Europe: Phylogeographic pattern analysis and key drivers. *PLoS Pathog.* 2024;20(1):e1011880.
3. Colpitts TM, Conway MJ, Montgomery RR, Fikrig E. West Nile Virus: biology, transmission, and human infection. *Clin Microbiol Rev.* 2012;25(4):635-48.
3. Bakonyi T, Ferenczi E, Erdélyi K, Kutasi O, Csörgő T, Seidel B, et al. Explosive spread of a neuroinvasive lineage 2 West Nile virus in Central Europe, 2008/2009. *Vet Microbiol.* 2013;165(1-2):61-70.
5. Lustig Y, Sofer D, Bucris ED, Mendelson E. Surveillance and diagnosis of West Nile virus in the face of flavivirus cross-reactivity. *Front Microbiol.* 2018;9:2421.
4. European Centre for Disease Control and Prevention (ECDC). Surveillance of West Nile virus infections in humans and animals in Europe, monthly report. December 10 2025. *Pregled* [28.3.2026]. Na voljo od: <https://www.ecdc.europa.eu/en/infectious-disease-topics/west-nile-virus-infection/surveillance-and-disease-data/monthly-updates>
5. European Centre for Disease Control and Prevention (ECDC). Historical data on local transmission in Europe for West Nile Virus December 10 2024. *Pregled* [28.3.2026]. Na voljo od: <https://wnv-monthly.ecdc.europa.eu/archive/wnv-2024.html>

Krvodajalstvo skozi sezono: denga in čikungunja

Zoran Bolta

Transfuzijski center, Splošna bolnišnica Celje, Oblakova ulica 5, 3000 Celje
zoran.bolta@guest.arnes.si

Uvod

Za zagotavljanje kakovostne in varne preskrbe s krvjo, v skladu s strokovnimi smernicami in standardi, transfuzijska služba redno spremlja epidemiološke podatke o pojavljanju in kroženju virusov, ki se prenašajo preko pikov komarjev in lahko vplivajo na varnost preskrbe s krvjo. Z rednim nadzorom epidemiološke situacije v Sloveniji, Evropi in svetu, lahko na podlagi ocene tveganja za prenos okužbe s transfuzijo krvi sprejemamo ukrepe za povečanje varnosti krvi v obdobju aktivnosti komarjev. Do morebitne uvedbe presejalnega testiranja varnost zagotavljamo s skrbnim izborom krvodajalcev in odklonom za 28 dni tistih, ki so se nahajali na območju pojavnosti virusa ali kažejo morebitne znake okužbe. Virusi, ki se prenašajo s pikom komarja in so potencialno tveganje za varnost krvi, so virusi Zahodnega Nila, denge in čikungunje.

Epidemiologija in klinična slika

Virusa denge in čikungunje prenašajo komarji rodu *Aedes*. Razširjena sta v tropskih in subtropskih območjih, glavna prenašalca sta komarja *Aedes aegypti* in *Aedes albopictus*. *Aedes albopictus* je prisoten v velikem delu Evrope. *Aedes aegypti* je prisoten predvsem na Cipru, ob Črnem morju in na Madeiri.

Čikungunja je virusna bolezen, ki jo komarji lahko prenesejo na ljudi. Okužen darovalec krvi, celic, tkiv ali organov bi potencialno bolezen lahko prenesel na prejemnika. Zaenkrat še ni bilo potrjenega primera prenosa po tej poti.

Ime 'chikungunya' izhaja iz načina, kako se bolniki pogosto upognejo zaradi bolečine. Najpogostejši simptomi so vročina, bolečine v mišicah in sklepih ter izpuščaji. Večina bolnikov si opomore, vendar 30-40 % prizadetih lahko razvije kronični artritis, ki lahko traja mesece ali celo leta. Čas, ki je potreben, da se simptomi pojavijo po okužbi, se lahko razlikuje. Lahko traja do 12 dni, povprečno pa od 3 do 7 dni. Čeprav se bolezen na splošno ne smatra za smrtonosno, nekateri dejavniki lahko povečajo tveganje za hujšo obliko bolezni (npr. meningoencefalitis pri novorojenčkih izpostavljenih med porodom, starejši nad 65 let, pridružene kronične bolezni), ki se lahko konča s smrtjo. Pri starejših lahko bolečine v sklepih privedejo do dolgotrajnega stanja revmatoidnega artritisa. Ker ni specifičnih protivirusnih zdravil za čikungunjo, je zdravljenje simptomatsko z uporabo protibolečinskih in protivnetnih zdravil. Po okrevanju po čikungunji

razvije oseba verjetno doživljenjsko imunost in je manj verjetno, da jo bo ponovno dobila v prihodnosti. V Evropi obstajata živi oslabiljeni cepivi, ki pomagata zaščititi odrasle in mladostnike pred to boleznijo, vendar v Sloveniji nista dostopni. Zaradi številnih stranskih učinkov se pred cepljenjem svetuje tehtanje med možno koristjo in potencialno škodo.

Denga je v svetu najbolj pogosta virusna bolezen, ki jo prenašajo komarji in prizadene ljudi. V izjemno redkih primerih se okužba lahko prenese preko darovane krvi z okuženega darovalca na prejemnika transfuzije ali ob presaditvi organa. Mogoč je tudi prenos okužbe z matere na plod. Vsako leto je prijavljenih desetine milijonov primerov, povzročča pa približno 20.000 do 25.000 smrti, pri čemer ima večji vpliv na otroke. Običajno se začne s simptomi, podobnimi gripi, kot so vročina, glavobol, bolečine v mišicah in sklepih, izpuščaj. Simptomi se pri ljudeh pojavijo 3-14 dni po okužbi. V nekaterih primerih lahko bolezen postane resna, kar vodi v stanja, kot sta denga hemoragična mrzlica ali denga šok sindrom. Takrat je tveganje za smrtnost večje. Poznamo štiri tipe virusa denge, ki povzročajo dengo, razvije se doživljenjska imunost na ta tip virusa in imunost na en tip viruse denge ne ščiti pred okužbo z drugimi tipi virusa denge. Ravno nasprotno, prejšnja okužba z enim tipom denge poveča dovzetnost do resnih zapletov ob okužbi z drugim tipom denge (s protitelesi povečan imunski odziv, angl. antibody-dependent enhancement). Izbruhi denge se včasih pojavljajo v južni Evropi in so zato v regiji natančno spremljani. Za dengo ni specifičnega zdravljenja. Zgodnja diagnoza je ključna za omogočanje ustrezne podporne oskrbe bolnikov in za izvajanje ukrepov za nadzor bolezni na območju. V EU sta na voljo dve oslabiljeni cepivi za zaščito pred okužbo z dengo.

Laboratorijski kriteriji:

chikungunya	denga
1. Verjeten primer Odkritje specifičnih IgM protiteles proti chikungunji v enem vzorcu seruma.	1. Verjeten primer Odkritje specifičnih IgM protiteles proti dengi v enem vzorcu seruma.
2. Potrjen primer Vsaj ena od naslednjih štirih: <ol style="list-style-type: none">1. Izolacija virusa chikungunya iz kliničnega vzorca2. Odkritje nukleinske kisline virusa chikungunya v kliničnem vzorcu3. Odkritje specifičnih IgM protiteles proti chikungunji v enem vzorcu seruma IN potrditev z nevtralizacijo4. Serokonverzija ali štirikratno povečanje titra protiteles specifičnih za chikungunjo v povezanih vzorcih seruma	2. Potrjen primer Vsaj ena od naslednjih petih: <ol style="list-style-type: none">1. Izolacija virusa denga iz kliničnega vzorca2. Odkritje nukleinske kisline virusa denga v kliničnem vzorcu3. Odkritje antigena virusa denga v kliničnem vzorcu4. Odkritje denga-specifičnih IgM protiteles v enem vzorcu IN potrditev z nevtralizacijo5. Serokonverzija ali štirikratno povečanje titra denga-specifičnih protiteles v povezanih serumski vzorcih

Razprava

Čikungunja in denga nista endemični na celinskem delu EU, večina primerov pa so potniki, ki so bili okuženi zunaj območja EU. Ko so okoljski pogoji ugodni, lahko viremični primeri povezani s potovanji, na območjih, kjer so uveljavljeni kompetentni vektorji, sprožijo lokalni prenos virusa, kot je bilo dokazano z več izbruhi čikungunje na celinskem delu EU od leta 2007 in sporadičnimi primeri prenosa virusa denge od leta 2010. Temperatura okolja je eden najpomembnejših dejavnikov, ki vplivajo na zmožnost prenosa virusa denge in čikungunje preko komarjev. Optimalna dnevna povprečna temperatura za prenos virusa denge in čikungunje preko komarjev *Aedes albopictus* v zmernih conah severne poloble je 24–26 °C. Prenos se lahko zgodi tudi v temperaturnem območju 12–30 °C. Lokalni izbruh bolezni je običajno povezan z večjim številom uvoženih primerov iz regij zunaj EU, v kombinaciji z ugodnimi okoljskimi pogoji za aktivnost komarjev in prenos virusa.

V letu 2025 so tri države v Evropi prijavile primere denge: Francija (29), Italija (4) in Portugalska (2). V letu 2025 sta dve državi v Evropi poročali o primerih bolezni, ki jo povzroča virus čikungunje: Francija (788) in Italija (384).

Zaključek

Tveganje lokalnega širjenja virusa čikungunje in denge v EU je visoko, zaradi prihoda okuženih potnikov, prisotnosti kompetentnih prenašalcev v mnogih državah (zlasti ob sredozemski obali) in dovzetnosti prebivalstva. Glede na ta razvoj je Evropski center za preprečevanje in obvladovanje bolezni (ECDC) uvedel sezonsko okrepljeno tedensko spremljanje, da bi spremljal pojav primerov v EU. Glavni cilj je obveščanje javnozdravstvenih organov in podpora izvajanju ustreznih ukrepov za odziv. To vključuje tudi ocenjevanje tveganja prenosa preko snovi človeškega izvora (SoHO).

Bolezni, ki jih povzročata virusa čikungunje in denge sta na ravni EU prijavljivi bolezni, primeri pa se poročajo v skladu z definicijo primerov EU. Tabela in zemljevid v poročilu prikazujeta države in območja, kjer so bili zaznani primeri bolezni, ki ju povzročata virusa čikungunje in denge z ustreznimi številkami primerov poročanih evropskemu portalu za spremljanje nalezljivih bolezni (EpiPulse Cases). Trenutno oceno tveganja za bolezni, ki ju povzročata virusa čikungunje in denge, za celinsko EU najdemo na namenskih spletnih straneh ECDC. Redno spremljanje tovrstnih podatkov v transfuzijski službi je nujno potrebno za zagotavljanje varne in učinkovite preskrbe s krvjo. V Transfuzijskem centru Splošne bolnišnice Celje beležimo 1-2% odklon sprejetih krvodajalcev na račun potencialnega stika z virusoma čikungunje ali denge, kar nam v okviru 28-dnevnega preventivnega odklona trenutno ne ogroža preskrbe s krvjo. Za preprečevanje potencialnega prenosa okužbe je ob odsotnosti lokalnih primerov potrebno natančno spremljanje potovalne zgodovine krvodajalcev in upoštevanje svežih epidemioloških podatkov.

Literatura

1. Pialoux G, Gauzere BA, Jaureguiberry S, Strobel M. Chikungunya, an epidemic arbovirosis. *Lancet Infect Dis* 2007;7:319–27.
2. Renault P, Solet JL, Sissoko D, Balleydier E, Larrieu S at al. A major epidemic of Chikungunya virus infection on Reunion island, France, 2005-2006. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2007;77(4):727-31.
3. Grandadam M, Caro V, Plumet S, Thiberge JM, Souarès Y et al. Chikungunya virus, southeastern France. *Emerg Infect Dis.* 2011 May;17(5):910-3.
4. Reiter P. Yellow fever and dengue: a threat to Europe. *Euro Surveill.* 2010 Mar 11;15(10):pii=19509.
5. Gubler DJ. Dengue viruses: their evolution, history and emergence as a global public health problem. Wallingford: Oxon, UK; New York: CABI Books. CAB International; 1997. p. 478.

Slepi potnik – malarija

Biserka Dvoršič

UKC Maribor, Center za transfuzijsko medicino, Ljubljanska ulica 5, 2000 Maribor

biserka.dvorsic@gmail.com

Uvod

Potovanja so po celotnem svetu vedno bolj priljubljena, saj so letalski prevozi s tem, ko so postali pogostejši in cenovno ugodnejši, postali dostopnejši širši množici ljudi. S tem pa se postavlja nov izziv za transfuzijske ustanove. Krvodajalci pogosteje potujejo v eksotične in tropske predele sveta, kjer so izpostavljeni različnim nalezljivim boleznim. Ena izmed bolezni, ki v svetovnem merilu postavlja velik izziv zdravstvenim organizacijam, je malarija.

Pomen malarije za transfuzijsko dejavnost

Malarija je ena najpogostejših nalezljivih tropskih bolezni, ki poleg visoke obolevnosti povzroča tudi visoko umrljivost na endemičnih področjih. Po podatkih Svetovne zdravstvene organizacije je bilo v letu 2023 zabeleženo 263 milijonov primerov malarije in skoraj 600 tisoč smrti v 83 državah. Danes v endemičnem področju živi 40% človeštva. Endemična področja so skoraj vse države podsaharske Afrike, nekatere dežele srednje in južne Amerike, države Bližnjega vzhoda, osrednje, južne in JV Azije ter nekateri tihomorski otoki. Tveganje za malarijo je v večini držav manjše v velikih mestih in območjih z višjo nadmorsko višino. Leta 2016 je Evropa postala prva regija na svetu, ki jo je Svetovna zdravstvena organizacija razglasila za območje brez avtohtone malarije. V letu 2019 je bilo v Evropski uniji s strani Evropske agencije za okolje (EEA) zabeleženih 8.638 potrjenih primerov malarije, od katerih so bili skoraj vsi uvoženi, večina pa je bila povezana s potovanji. Največ primerov v Evropi je zabeležila Francija, sledita ji Združeno kraljestvo in Nemčija.

Razlogi, zaradi katerih transfuzijske ustanove malarija kot tropska bolezen skrbi, so številni. Prvi razlog je neposreden prenos s krvjo – malarijo namreč povzroča parazit plazmodij. Parazit se na človeka prenese s pikom okuženega vektorja, samice komarja iz rodu Anopheles. Ker se parazit skriva v same eritrocite, se lahko tudi neposredno prenese s transfuzijo predvsem koncentriranih eritrocitov ali polne krvi, čeprav ni izključen prenos tudi z ostalimi krvnimi komponentami. Opisani so prenosi vseh vrst plazmodijev s transfuzijami krvnih komponent. Vse vrste plazmodijev preživijo v krvnih komponentah do tri tedne na temperaturi 2-6 °C. Drugi razlog je relativno dolga inkubacijska doba. Bolezen se lahko najhitreje pojavi 7 dni po piku okuženega komarja, lahko pa tudi nekaj mesecev po sami okužbi. Tako je krvodajalec lahko tudi dalj časa po samem potovanju iz malaričnega področja klinično popolnoma asimptomatski, vseeno pa je lahko možen prenašalec bolezni. Tretji razlog pa je pomanjkanje rutinskega testiranja na malarijo pri nas kot tudi v večini

evropskih držav. Zaradi tega se večina držav poslužuje odklona krvodajalcev za določeno časovno obdobje po potovanju v za malarijo endemične države.

Malaria

Malarijo lahko pri človeku povzroči pet vrst plazmodijev: *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae* in *Plasmodium knowlesi*. Najpogostejši povzročitelj malarije na svetu je *Plasmodium falciparum*, ki povzroča tudi najnevarnejšo obliko malarije in prevladuje na Afriškem kontinentu. Bolezen se na človeka prenese s pikom s parazitom okužene samice komarja. Malaria se ne prenaša neposredno iz človeka na človeka. Inkubacijska doba je 7-30 dni, lahko tudi več mesecev. Pri transfusion-transmitted malaria (TTI) je inkubacijska doba le 1-2 dni, saj pridejo pri transfuziji merozoiti neposredno v krvni obtok brez jetrnega razvojnega obdobja. Najdaljša zabeležena inkubacijska doba je 52 let, zabeležena pri *Plasmodium malariae*. Dovzetnost za okužbo je univerzalna, nanjo pa delno vpliva genetska predispozicija. Antigen Duffy je receptor za malarična parazita *Plasmodium vivax* in *Plasmodium knowlesi*: eritrociti z Fy(a-b-) fenotipom so teoretično odporni proti njihovi invaziji, čeprav zadnje študije nakazujejo, da se lahko *P. knowlesi* temu prilagodi. Prav tako imajo ljudje s krvno skupino 0 nižjo parazitemijo in so manj dovzetni za hude oblike malarije, povzročene s *Plasmodium falciparum* v primerjavi o ostalimi krvnimi skupinami. Klinični znaki bolezni so običajno visoka vročina z mrzlico, spremljajoča s splošnimi simptomi glavobola, utrujenostjo, bolečin v mišicah in sklepkih. Prisotne so lahko tudi prebavne težave. Pri zelo hudi obliki klinična slika hitro napreduje v zmedenost, nezavest, krče, hudo anemijo in/ali odpoved organov, kar je nujno stanje. Za potrditev diagnoze je potrebna laboratorijska potrditev (zlati standard je odvzem krvi in potrditev parazita pod svetlobnim mikroskopom v razmazu goste kaplje krvi). Malaria se lahko uspešno zdravi, če se zdravljenje začne dovolj zgodaj. Zaščita pred boleznijo je zelo pomembna. Predvsem gre za zaščito pred piki komarjev (dolga oblačila, spanje pod spalnimi mrežami, uporaba repelentov z vsaj 30% vsebnostjo DEET ali 20% pikaridina), preventivno jemanje protimalaričnih zdravil (kemoprofilaksa) v državah ali delih držav z visokim tveganjem za malarijo, ter zgodnje prepoznavanje simptomov in takojšnje ukrepanje.

Malaria v Sloveniji

Malaria je pri nas redka bolezen. V Sloveniji zaenkrat beležimo le uvožene primere malarije, o katerih letno poroča NIJZ. Leta 2021 so bili prijavljeni trije primeri, leta 2022 osem, leta 2023 pa enajst primerov, v letu 2024 devet primerov. Med okuženimi prevladujejo moški, večina primerov pa je bilo povzročenih s *Plasmodium falciparum*.

V transfuzijskih centrih, ZTM, CTM in TC Celje se pri obravnavni krvodajalcev ravnamo po priporočilih ZTM od novembra 2025. Ponovno velja 6 mesečni odklon krvodajalcev po vrnitvi s

potovanja za malarijo endemično področje, če ni imel nobenih kliničnih znakov, ki bi nakazovali na malarijo in če ne opravimo imunološkega testiranja na malarijo (skladno z 22. izdajo EDQM Priporočil za pripravo, uporabo in zagotavljanje kakovosti krvnih komponent). Za rojene in dlje časa živeče ljudi na za malarijo endemičnih področjih uporabljamo individualno oceno tveganja. Za oceno tveganj za malarijo pri potovanjih v različne države uporabljamo podatke na JPAC spletni strani, v Rumeni knjigi ali na drugih spletnih platformah (kot na primer ECDC), priporočeno pa je odklanjanje celotnih držav zaradi vprašljive ažurnosti posodabljanja podatkov.

V IS DATEC beležimo vzroke odklonov, povezanih s potovanjem na malarična področja (pod šifro odklona POT) ali stalne odklone za posameznike, ki so bodisi preboleli malarijo ali bili rojeni ali vsaj 6 mesecev prebivali na endemičnem območju (pod šifro odklona MAL). Nekateri krvodajalci pa se nam historično skrivajo še pod šifro KON, zato so le-ti vključeni v tabelo 1.

Tabela 1: odkloni, povezani z malarijo, v letu 2025

Ustanova	Odkloni pod šifro KON	Odkloni pod šifro POT	Odkloni pod šifro MAL
CTM z ETD-jema	64	51	0
TC Celje	8	19	1
ZTM s CTD-ji	74	378	46
Skupaj	146	448	47

Pri ZTM-ju deleži odklonov krvodajalcev KON variirajo med 0,1 – 2,7%, POT med 1,5 – 4,6% in MAL med 0 in 0,8%. V CTM deležni odklonov KON variirajo med 1,9 in 3,0 % in POT med 0,7 – 1,9 %. V TC Celje so deleži KON 1,3 %, POT 3,0 % in MAL 0,2 %.

Zaključek

Malarija je pri nas redka bolezen. Delež odklonov pri krvodajalcih zaenkrat še ni nesprejemljivo visok. Zaenkrat se mi še ne zdi smiselna uvedba testiranja. Potrebno je spremljanje števila odklonov še naprej, da bi pravočasno zaznali morebiten pomemben vpliv na preskrbo s krvjo.

Literatura

1. Niederhauser C, Galel SA. Transfusion-Transmitted Malaria and Mitigation Strategies in Nonendemic Regions. *Transfus Med Hemother*. 2022 Jul 15;49(4):205-217.
2. Lima G, Arroyo Sanchez MC, Levi JE, Fujimori M, Da Cruz Caramelo L, Sanchez AR, et al. Asymptomatic infections in blood donors harbouring Plasmodium: an invisible risk detected by molecular and serological tools. *Blood Transfus*. 2018;16((1)):17–25.
3. Council of Europe, & European Committee (Partial Agreement) on Blood Transfusion. (2017). Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components. 22. izdaja, Council of Europe, 2025. p 137, 138.
4. Tomažič J, Strle F. Infekcijske bolezni. 2. dopolnjena izd. Ljubljana: Združenje za infektologijo, Slovensko zdravniško društvo; 2017. p. 486-489.
5. Nacionalni inštitut za javno zdravje. Malarija. Nazadnje posodobljeno 23. januarja 2026. Nazadnje dostopano 29.3.2026 na e-naslovu: . <https://nijz.si/nalezljive-bolezni/nalezljive-bolezni-od-a-do-z/malarija/>.

Huda oblika malarije v enoti intenzivne terapije – prikaz primera

Petrič Andrej, Tomašič Andrej, Mavrič Matej, Planinc Strunjaš Natalija¹, Mali Polonca²

1 Klinika za infektivne bolezni in vročinska stanja, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška cesta 2, 1000 Ljubljana

2 Zavod RS za transfuzijsko medicino, Oddelek za preskrbo s krvjo, Šljajmerjeva ulica 6, 1000 Ljubljana

andrej.petric@kclj.si, polonca.mali@ztm.si

Izvleček

V prispevku je prikazan primer poteka težke oblike *Plasmodium falciparum* malarije. Bolnik je zaradi večorganske odpovedi potreboval intenzivno podporno zdravljenje, tudi zdravljenje s parenteralnim antimalarikom artesunatom. V zdravljenje je bila zaradi visoke parazitemije dodatno vključena tudi izmenjevalna transfuzija.

Uvod

Huda malarija, najpogosteje povzročena s *Plasmodium falciparum*, je urgentno stanje z visokim tveganjem za večorgansko odpoved in smrtnost, zlasti pri popotnikih iz ne-endemičnih krajev. V evropskem prostoru je redka, zato obstaja resno tveganje za zamik pri postavitvi diagnoze in uvedbi usmerjenega zdravljenja. V nadaljevanju opisujemo primer hude malarije v Enoti intenzivne terapije klinike za infektivne bolezni in vročinska stanja UKC Ljubljana.

Predstavitev primera

39-letni prekomerno prehranjen moški, brez drugih znanih pridruženih bolezni in brez redne terapije je bil konec decembra z reševalnim vozilom pripeljan v urgentno ambulanto zaradi akutne respiratorne insuficience ob povišani telesni temperaturi. Anamnestično in heteroanamnestično je imel doma že en teden vročino do 40°C. Dva dni pred sprejemom se je stanje poslabšalo, na dan sprejema je tudi ob splošni oslabelosti dvakrat kolabiral.

Ob sprejemu je bil močno tahidispnoičen, bled, poten, navajal je močne bolečine v prsnem košu, jakosti do 10/10. Klinično je bil prizadet, ob dodatku 15 litrov kisika preko OHIO maske je bila saturacija s kisikom 100%. Bil je tudi hipotenziven z RR 71/49 mmHg, v sinusnem ritmu, tahikarden do 119/min, v ostalem statusu brez prepričljivih odstopanj od normale. Zaradi akutne respiratorne insuficience smo odvzeli vzorce krvi za razširjene laboratorijske preiskave in osnovno plinsko analizo arterijske krvi, v katerem je izstopala izrazita metabolna acidoza s pH 6,9 in povišano

vrednostjo laktata 18 mmol/L. Za nadaljnjo obravnavo je bil sprejet v Enoto intenzivne terapije. Že ob sprejemu smo ugotavljali klinične in laboratorijske znake večorganske odpovedi.

Bolnika smo zaradi šokovnega stanja orotrahealno intubirali in prevedli na mehansko ventilacijo. Poleg obilne hidracije je bilo potrebno dodatno uvesti vazoaktivno podporo z noradrenalinom, kasneje še z vazopresinom in angiotenzinom II, uvedli smo hidrokortizon. Zaradi anamneze o kontaktu z bolnimi otroci doma, smo posumili na gripo in pridružen sekundarni septični šok, ter izkustveno uvedli antibiotik cefotaksim, ob potrjeni okužbi z gripo A, še oseltamivir.

Ob mikroskopskem pregledu diferencialne krvne slike so iz laboratorija Kliničnega inštituta za klinično kemijo in biokemijo obvestili, da so v razmazu krvi vidni paraziti malarije *Plasmodium falciparum*. Prvotna parazitemija je bila ocenjena na 30,1%, zato smo takoj pričeli zdravljenje s parenteralnim artezunatom, ob negativnih hemokulturah smo nato ukinili cefotaksim. Ob terapiji z artezunatom smo opazili hemolitično anemijo, bolnik je postal anuričen, ob akutni ledvični okvari je bila prisotna hiperkaliemija in hiperfosfatemija, zaradi česar je bil urgentno hemodializiran. Zaradi visoke parazitemije in napredovanju šokovnega stanja smo se po pregledu literature in posvetu s transfuziologi in nefrologi glede možnih nadaljnjih ukrepov zdravljenja, odločili za izmenjalno transfuzijo krvi. Opravljene so bile tri zaporedne dnevne ročne izmenjalne transfuzije krvi (po 1000ml), po katerih je parazitemija upadla do 13%. Večorganska odpoved se je kljub vsem ukrepom stopnjevala, ob citokinski nevihti sproženi z okužbo se je razvil sindrom kapilarnega puščanja (»capillary leak syndrome«), zato je prejel pulzno zdravljenje z metilprednizolonom, uvedli smo infuzijo imunoglobulinov, opravili smo hemodializo s hemofiltracijo. Priklop na zunajtelesno membransko oksigenacijo zaradi samega stanja bolnika ni bil možen. Bolnik je kljub vsem ukrepom šesti dan hospitalizacije umrl, zadnja beležena parazitemija je bila 4,6%.

Razprava

Anamnestično smo podatek o potovanju v tujino pridobili, šele po prejemu izvida in diagnoze s strani laboratorija. Bolnik je 3 tedne pred sprejemom potoval v Sierra Leone, po podatkih NIJZ visoko tvegano področje za malarijo, antimalarične zaščite ni prejemal. Pozna zdravstvena obravnava je delno tudi posledica prebolevanja gripe v ožjem družinskem krogu, simptomi so podobni. Takoj po sprejemu in postavitvi diagnoze je bila uvedena ustrezna antimalarična terapija. Obsežna in huda malarija z izrazito kritičnim stanjem že ob sprejemu, je kljub obsežnemu podpornemu zdravljenju, tudi z izmenjalno transfuzijo, kot dodatno obliko zmanjšanja parazitemije, vodila v končno večorgansko odpoved s smrtjo. Po pregledu literature, v serijah primerov opisujejo uspešno pridruženo zdravljenje z izmenjevalno (ročno ali avtomatizirano) transfuzijo, z namenom zmanjšanja parazitskega bremena in izboljšanja kliničnega stanja bolnikov, sicer jasnega statističnega vpliva na preživetje metaanalize niso pokazale. Prav zaradi slabšanja kliničnega stanja smo se tudi pri bolniku odločili za izmenjalno transfuzijo krvi kot

reševalno zdravljenje. Parazitsko breme je ob kombinirani terapiji sicer upadlo, sama izmenjevalna transfuzija pa sicer ni vplivala na že polno razvito citokinsko nevihto pri bolniku. Ob izčrpanih možnosti zdravljenja je bolnik šesti dan hospitalizacije umrl.

Zaključek

Falciparum malarija v ne-endemičnem okolju ostaja diagnoza z visokim tveganjem za zaplete, ki zahteva zgodnjo prepoznavo pri popotniku z vročino, čimprejšnjo uvedbo specifične antimalarične terapije in intenzivno podporno zdravljenje v enoti intenzivnega zdravljenja v primeru večorganske odpovedi. Ključna pri obravnavi je opredelitev parazitemije in spremljanje njene dnevne dinamike, kar lahko služi tudi kot vodilo za trajanje antimalaričnega zdravljenja in eden od napovednih dejavnikov za izid bolezni. Izmenjalna transfuzija je opisana kot dodatna možnost reševalnega zdravljenja.

Literatura

1. WHO guidelines for malaria, 13 August 2025 [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2025. dostopno na: <https://iris.who.int/handle/10665/382254> doi: 10.2471/B09514.
2. D'Abramo A, Lepore L, Iannetta M, Gebremeskel Tekle S, Corpolongo A, Scorzolini L, et al. Imported severe malaria and risk factors for intensive care: A single-centre retrospective analysis. Carvalho LH, editor. PLoS One. 2019 Nov 14;14(11): e0225135. doi: 10.1371/journal.pone.0225135.
3. Daily JP, Minuti A, Khan N. Diagnosis, Treatment, and Prevention of Malaria in the US. JAMA. 2022 Aug 2;328(5): 460. doi: 10.1001/jama.2022.12366.
4. Bruneel F, Tubach F, Corne P, Megarbane B, Mira JP, Peytel E, et al. Severe Imported Falciparum Malaria: A Cohort Study in 400 Critically Ill Adults. Sinnis P, editor. PLoS One. 2010 Oct 8;5(10): e13236. doi: 10.1371/journal.pone.0013236.
5. Balerdi-Sarasola L, Muñoz J, Fleitas P, Rodriguez-Valero N, Almuedo-Riera A, Antequera A, et al. Not all severe malaria cases are severe: Is it time to redefine severity criteria for malaria in non-endemic regions? Travel Med Infect Dis. 2024 Jul 1; 60: 102740. doi: 10.1016/j.tmaid.2024.102740.
6. Marks M, Gupta-Wright A, Doherty JF, Singer M, Walker D. Managing malaria in the intensive care unit. British Journal of Anaesthesia. Oxford University Press; 2014. p. 910–21. doi: 10.1093/bja/aeu157.
7. Lalloo DG, Shingadia D, Bell DJ, Beeching NJ, Whitty CJM, Chiodini PL. UK malaria treatment guidelines 2016. Journal of Infection. 2016 Jun 1; 72(6): 635–49. doi: 10.1016/j.jinf.2016.02.001.

8. Zhang J, Chen L, Zhang M, Yao M, Ren S, Liu H, et al. Exchange transfusion combined with artesunate (ET-AS) as a safe and effective therapy in severe *P. falciparum* malaria: a case series. *BMC Infectious Diseases*. 2024 Jun 19;24(1).
9. Tan KR, Wiegand RE, Arguin PM. Exchange Transfusion for Severe Malaria: Evidence Base and Literature Review. *Clinical Infectious Diseases*. 2013 Jun 24;57(7):923–8.

Poročilo Službe za hemovigilanco za leto 2025

Aleksandra Bajt, Irena Bricl, Janja Mrak
Zavod RS za transfuzijsko medicino, Šlajmerjeva 6, 1000 Ljubljana
aleksandra.bajt@ztm.si

Uvod

Hemovigilanca predstavlja sistem organiziranih ukrepov, namenjenih nadzoru, spremljanju in izboljšavam na področju transfuzijske medicine. Vključuje celoten proces od odvzema krvi do transfuzije krvne komponente bolniku. Osrednji cilj je zagotavljanje varne transfuzije krvi, kar dosega s temeljito obravnavo neželenih reakcij in dogodkov ter s predlogi korektivnih ukrepov. Delovanje zajema tri ključna področja: neželene reakcije pri krvodajalcih, neželene dogodke, povezane z ravnanjem s krvjo, ter neželene transfuzijske reakcije pri bolnikih. Pravno podlago zagotavljata Zakon o preskrbi s krvjo (Uradni list RS, št. 104/06) in Pravilnik o hemovigilanci (Uradni list RS, št. 9/07).

Krvodajalstvo

V letu 2025 smo v slovenskih transfuzijskih ustanovah opravili 81.609 odvzemov krvi, od tega je bilo 7.177 novih krvodajalcev (8,8 %). Skupno smo izdali 94.610 krvnih komponent (KK), med katerimi je največji delež predstavljalo 74.596 enot eritrocitov (KEF). Enot trombocitnih pripravkov (TP) je bilo 10.090: 85,9 % pripravkov trombocitnih zlitij (8.669) in 14,1 % afereznih TP (1.421). Izdanih je bilo še 9.924 enot sveže zmrznjene plazme (SZP). Nadaljuje se trend upada števila odvzemov polne krvi in izdaje KK za bolnike.

Leta 2025 smo s presejalnim testiranjem odkrili 9 krvodajalcev z okužbo, 6 jih je darovalo kri prvič. Okužbo s sifilisom smo potrdili pri 3, pri 1 pa okužbo s HCV. V krvi 5 krvodajalcev smo dokazali prisotnost HBV DNA, od teh so bili 4 tudi nosilci HBsAg, 1 pa je sodil v skupino oseb z okultno okužbo s HBV (*angl.* Occult HBV Infection, OBI). V obdobju od 1. 6. do 30. 11. 2025 smo opravljali še testiranje na prisotnost WNV RNA, ki pa je nismo našli pri nobenem izmed krvodajalcev.

Pri 52 krvodajalcih je bil prvič pozitiven presejalni test za odkrivanje eritrocitnih protiteles v plazmi (indirektni Coombsov test, ICT) in pri 53 krvodajalcih prvič pozitiven test za odkrivanje na eritrocite vezanih protiteles (direktni Coombsov test, DCT). KK krvodajalcev s pozitivnim ICT ne uporabimo za zdravljenje bolnikov ali za izdelavo zdravil iz krvi, po ugotovljenem pozitivnem DCT pa izločimo le KEF.

Neželene reakcije pri krvodajalcih

Pri krvodajalcih smo ob odvzemu krvi ali KK zabeležili 1.376 neželenih reakcij, kar predstavlja 16,98 reakcije na 1.000 odvzemov. Število je nekoliko višje kot v preteklih letih. Med njimi je bilo 206 lokaliziranih reakcij, večinoma hematov (191), ter 1.170 generaliziranih reakcij, med katerimi so prevladovale vazovagalne (840) in citratne reakcije (330). Kot hud neželen dogodek je bilo Javni agenciji za zdravila in medicinske pripomočke (JAZMP) prijavljenih 20 primerov, večinoma vazovagalnih reakcij z izgubo zavesti in konvulzijami ter padci s poškodbami ali pa drugimi zapleti, ki so zahtevali napotitev na nadaljnjo zdravstveno obravnavo. Iz tega razloga je bil prijavljen JAZMP tudi edini primer obsežnega hematoma. Zabeležen je bil primer cerebrovaskularnega inzulta po darovanju. Pri 46-letni krvodajalki je prišlo v 24 urah po darovanju do ishemične možganske kapi, ki so jo razrešili s trombolizo. Vzroka za nastanek kljub temeljiti obravnavi niso našli. Poleg navedenih hudih reakcij pri krvodajalcih je bilo pri petih ugotovljeno za darovanje neustrezno zdravstveno stanje krvodajalca.

Neželene transfuzijske reakcije pri bolnikih

Transfuzijske ustanove so v letu 2025 prejele 102 prijavi neželenih transfuzijskih reakcij (NTR), potrjenih pa jih je bilo 93, kar predstavlja 0,98 reakcije na 1.000 izdanih enot KK. Najpogosteje pride do NTR po transfuziji enot KEF (76 %), sledijo TP (16 %) in nazadnje SZP (8 %). Najpogostejša je bila vročinska nehemolitična transfuzijska reakcija (VNHTR) s 44 primeri, na drugem mestu pa alergijska NTR s 25 primeri. JAZMP je bilo prijavljenih 18 hudih neželenih reakcij, potrjenih pa 16. Med njimi je bilo 7 primerov s transfuzijo povzročene volumske preobremenitve (TACO), 4 primeri anafilaktične reakcije, 2 primera odložene hemolitične transfuzijske reakcije (OHTR) z laboratorijskimi znaki hemolize in po 1 primer TACO/TRALI, s transfuzijo povezane dispneje (TAD) ter hude hipotenzivne reakcije. V letu 2025 smo prejeli 1 prijavo postranfuzijske purpore (PTP), ki smo jo ovrgli, in 1 prijavo transfuzijske reakcije s smrtnim izidom. Vzrok smrti bolnice kot posledica transfuzije je bil po obdukciji izključen. Poročanje o NTR ostaja še naprej pomanjkljivo.

Neželeni dogodki

Pomemben del hemovigilance predstavljajo dogodki, povezani z ravnanjem s krvjo: od zbiranja, predelave, testiranja, hranjena in izdaje krvi ter nenazadnje ravnanja s krvjo na bolnišničnih oddelkih. Ti vključujejo tako prave dogodke, ko napako spregledamo in vpliva na transfuzijo, kot tudi skorajšnje napake, pri katerih napako pravočasno ugotovimo in preprečimo transfuzijo.

Med prave dogodke smo v letu 2025 uvrstili naslednje hude neželene dogodke (HND): 3 transfuzije napačne KK, ko je bila transfundirana kri izdana za drugega bolnika, in 15 transfuzij neustreznih KK, večinoma je šlo za antigensko neskladne transfuzije. Poleg tega so bili zabeleženi

1 laboratorijska napaka zaradi sproščanja KK odvzema, predvidenega za uničenje, ter 3 primeri izpada delovanja informacijske tehnologije, najboljše izmed njih je sledil izpadu električne energije zaradi vzdrževalnih del na transformatorski postaji Zavoda RS za transfuzijsko medicino. Skupaj z odgovorno osebo za materiovigilanco je Služba za hemovigilanco prijavila JAZMP kot HND neustrezen medicinski pripomoček (neustrezna kakovosti vrečk za odvzem krvi), ni pa oddala ločenega obrazca prijave HND. V 2 primerih so na kliničnih oddelkih ugotovili prejem napačnih KK, ki so jih nemudoma vrnil. V 15 primerih je šlo za nepravilno ravnanje s krvjo izven transfuzijske ustanove.

Pravočasno prepoznane skorajšnje napake so bile še pogostejše (772 primerov), med njimi izstopajo napačne orientacijske določitve krvne skupine ABO na kliničnih oddelkih (347) ter nepravilno izpolnjene naročilnice (296). Posebej zaskrbljujočih je bilo 14 primerov *napačne krvi v epruveti*, kar predstavlja veliko tveganje za ABO neskladne transfuzije ali napačno zdravljenje.

Dejansko število neželenih dogodkov je verjetno višje od prijavljenega. Za namen izboljšanja sistema poročanja se načrtuje nadgradnja *Elektronskega sistema naročanja KK in storitev (eNKiS)*, ki bo omogočal boljšo sledljivost in takojšnjo prijavo NTR in dogodkov. K izboljšanju poročanja bi pripomoglo tudi povezovanje z bolnišničnimi sistemi kakovosti. Ključno vlogo ima izobraževanje zdravstvenega osebja, saj to omogoča pravočasno prepoznavanje tveganj in ustrezno ukrepanje.

Zaključek

V sistem hemovigilance smo vključeni vsi sodelujoči v transfuzijski verigi. Njegova učinkovitost je odvisna od doslednega poročanja, dobrega sodelovanja pri obravnavi neželenih reakcij in dogodkov ter uspešnega vpeljevanja izboljšav. Le s celostnim pristopom je mogoče zagotavljati visoko raven varnosti, ki ostaja temelj sodobne transfuzijske medicine.

Literatura

1. Marić I. Hemovigilanca – poročilo SHV 2021. *Isis*. 2023;1:40-42
2. Marić I, Bajt A. Hemovigilanca – poročilo SHV 2022. *Isis*. 2023;12:44-46
3. Bajt A, Marić I, Bricl I. Hemovigilanca – poročilo SHV za leto 2023. *Isis*. 2025;2:45-48
4. Bajt A, Mrak J, Bricl I. Hemovigilanca – poročilo SHV za leto 2024. *Isis*. V tisku 2026.
5. Vuk T, Politis C, Laspina S, Lozano M, Haddad A. Thirty Years of Hemovigilance – Achievements and Future Perspectives. *Transfus Clin Biol*. 2023;30:166-172

Odpoklic krvi in komponent krvi - ko pokliče krvodajalec oz. ko pokliče klinik (ZTM)

Postopki in pomisleki ob odpoklicu komponent krvi

Slavica Stanišić, Tanja Hartman

Zavod RS za transfuzijsko medicino, Šljajmerjeva 6, 1000 Ljubljana

slavica.stanistic@ztm.si

Uvod

Postopek odpoklica krvi in komponent krvi (KK) opisuje aktivnosti in ravnanje s krvjo in KK, ki so bile sproščene v uporabo, vendar se je naknadno ugotovilo, da ne ustrezajo predpisanim zahtevam.

Glede na *Pravilnik o standardih in tehničnih zahtevah sistema kakovosti za transfuzijsko dejavnost*, ki je objavljen v Uradnem listu Republike Slovenije, »transfuzijski zavod ali transfuzijski center imenuje pooblaščen osebe, ki sprejmejo odločitev o odpoklicu krvi in komponent krvi ter sprožijo in koordinirajo potrebne ukrepe. Vzpostavljen mora biti pisni postopek odpoklica, vključno z opisom odgovornosti in ukrepov, ki jih je treba sprejeti. To vključuje tudi obveščanje pristojnih organov. Vzroki za odpoklic so med drugim:

- podatek o hudi neželeni reakciji ali hudem neželenem dogodku;
- pritožba o neustreznosti komponente krvi;
- naknadni podatki o neustreznosti vrečk za kri, reagentov, napake na opremi, ki bi lahko vplivale na kakovost krvi in komponent krvi;
- naknadni podatki o zdravstvenem stanju krvodajalca;
- rezultati nadzora kakovosti;
- rezultati bakteriološke kontrole.

Ukrepi, ki morajo biti izpeljani v predhodno določenih časovnih rokih, vključujejo sledenje vseh vpletenih komponent krvi in po potrebi tudi sledenje do krvodajalca. Namen preiskovanja je identifikacija krvodajalca, ki je morda sopovzročitelj hude neželene reakcije pri transfuziji, pridobitev vseh komponent krvi tega krvodajalca in obveščanje prejemnikov komponent krvi tega krvodajalca o njihovi morebitni izpostavljenosti tveganju«.

Postopek odpoklica KK

Na Zavodu Republike Slovenije za transfuzijsko medicino (ZTM) je postopek odpoklica krvi in KK natančno opisan v operativnem postopku z naslovom *OP-10 Odpoklic krvi in komponent krvi*.

Najprej identificiramo vzrok za neskladnost KK. Nato sprejmemo sklep o odpoklicu in določimo obseg odpoklica, pri tem izpolnimo obrazec OP-10-P02 Odpoklic krvi in komponent krvi. Ugotovimo lokacijo neskladnih KK s pripravo ustreznih izpisov iz informacijskega sistema (IS) Datec in podatke zapišemo na obrazec Odpoklic krvi in komponent krvi pod stolpec Lokacija. Blokiramo izdajo neskladnih KK v IS Datec in o odpoklicu telefonsko obvestimo prejemnike neustreznih KK najkasneje v 24 urah oz. v posebnih primerih v čim krajšem času po pridobitvi podatkov ter se dogovorimo o vračanju odpoklicanih KK. V primeru hudega neželenega dogodka ali reakcije obvestimo Službo za hemovigilanco na e-mail naslov: hemovigilanca@ztm.si. Služba za hemovigilanco po presoji poroča o hudem neželenem dogodku Javni agenciji za zdravila in medicinske pripomočke (JAZMP). Pisno obvestilo o odpoklicu pošljemo prejemnikom, ki ne morejo takoj vrniti odpoklicanih KK ali so odpoklicane KK že uporabili, izpolnimo obrazec OP-10-P03 Pisno obvestilo o odpoklicu. Odpoklicane in vrnjene KK zavedemo v obrazec Pisno obvestilo o odpoklicu in jih ločeno skladiščimo. V 72-ih urah od odpoklica preverimo število vrnjenih KK. Raziščemo vzrok za neskladnost KK. Po potrebi uvedemo korektivne in preventivne ukrepe. Glede na vzrok ustrezno ravnamo z odpoklicanimi KK. S končnimi ugotovitvami seznanimo prejemnike odpoklicanih KK.

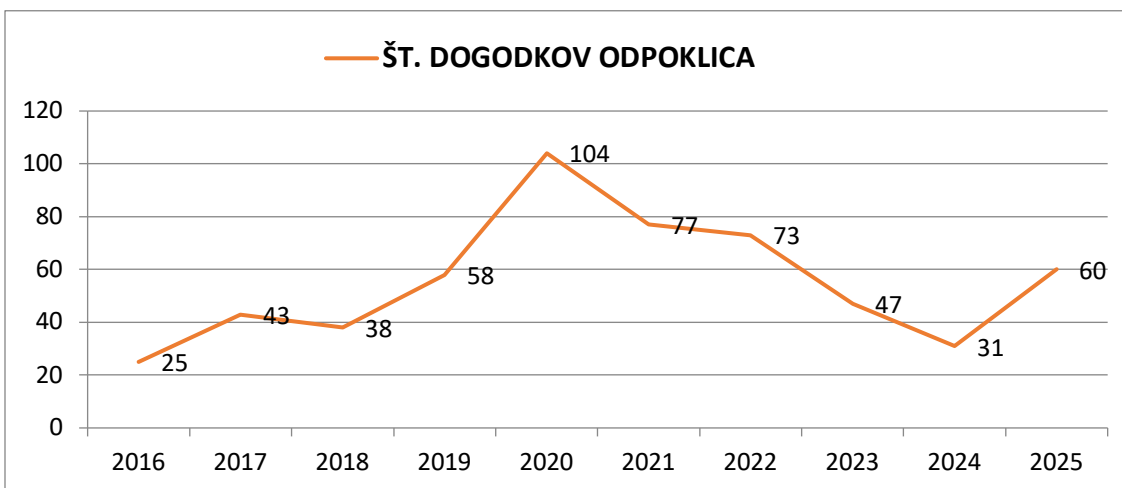
Dileme ob odpoklicu KK

Ob odpoklicu krvi in KK v določenih primerih obstajajo dileme, kako ravnati. Na spletni strani Skupnega strokovnega svetovalnega odbora za transfuzijo krvi in presaditve tkiv Združenega kraljestva (*angl.* Joint United Kingdom (UK) Blood Transfusion and Tissue Transplantation Services Professional Advisory Committee, JPAC) so podana priporočila, kako ukrepati glede odpoklica KK v primeru pojava bolezni pri krvodajalcu po donaciji krvi (postdonacijska informacija). Opisani so primeri različnih bolezenskih stanj v okviru postdonacijske informacije s podanimi navodili glede odpoklica KK (v kakšnem časovnem obdobju po donaciji je potrebno izvesti odpoklic KK ter katere vse KK naj odpoklic obsega). Smernice upoštevajo vrsto patogena ter morebiten resen potek bolezni, ustrezno inkubacijsko dobo ter oceno tveganja, v kolikšni meri lahko bolezen povzroči škodo pri prejemniku transfuzije. Omenjena priporočila nam lahko pomagajo pri odločitvi glede odpoklica KK v primeru bolezni pri postdonacijski informaciji krvodajalca, kljub temu pa ostaja veliko različnih primerov in stanj, kjer je potrebna individualna presoja primera odpoklica KK. V teh primerih lahko prihaja do razhajanja mnenj med posameznimi zdravniki specialisti

transfuzijske medicine, vedno pa je na koncu potrebno upoštevati predvsem dobrobit prejemnika KK ter smotrnost uničevanja odpoklicanih KK.

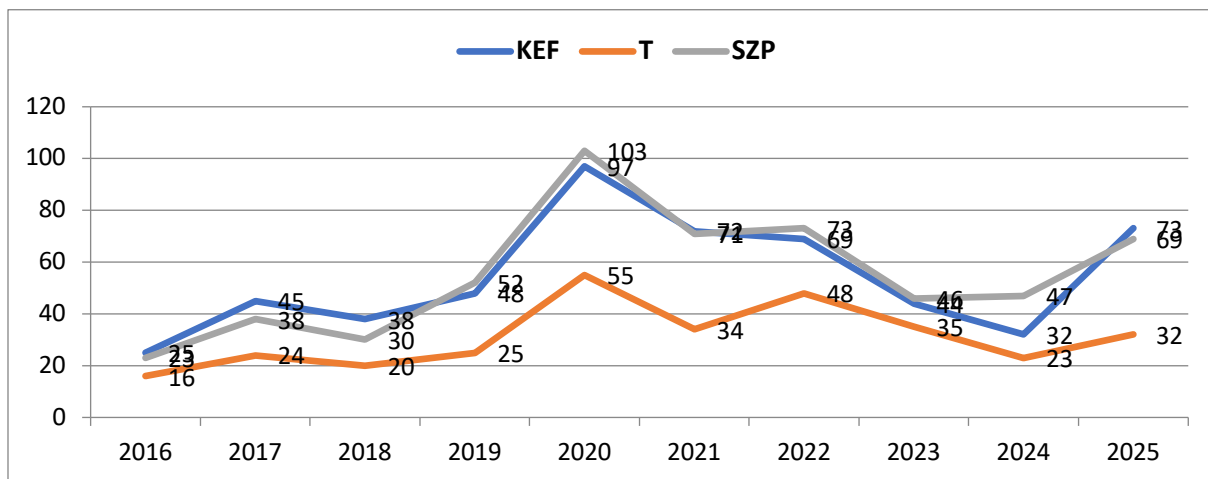
Poseben izziv predstavljajo postdonacijske informacije krvodajalcev, kadar gre za povzročitelje ali stanja, o katerih primanjkuje znanja, izkušenj in podatkov v literaturi. Eden takšnih izzivov je bil SARS-CoV-2, predvsem na začetku epidemije, ko še ni bilo znano, ali se virus lahko prenaša s transfuzijo in kakšne so posledice za prejemnika. V tem obdobju je bilo zaznano tudi povečano število odpoklicev na ZTM, kar prikazuje Tabela 1: Odpoklici krvi in KK na ZTM RS v časovnem obdobju 2016–2025.

Tabela 1: Odpoklici krvi in KK na ZTM v časovnem obdobju 2016–2025.



V Tabeli 2: Odpoklici krvi in KK glede na vrsto komponente krvi na ZTM v časovnem obdobju 2016–2025 so prikazani odpoklici krvi in KK glede na posamezno KK. Kot je razvidno iz Tabele 2, je v začetnem obdobju epidemije SARS-CoV-2 (v letu 2020) viden izrazit porast števila odpoklicanih enot (število odpoklicanih KK se je skoraj podvojilo).

Tabela 2: Odpoklici krvi in KK glede na vrsto komponente krvi na ZTM v časovnem obdobju 2016–2025.



Legenda: KEF – koncentrirani eritrociti, filtrirani; T – trombociti; SZP – sveže zamrznjena plazma.

Praksa obravnave odpoklicev krvi in KK po svetu

Praksa obravnave odpoklicev krvi in KK se po posameznih državah razlikuje. Za obravnavo odpoklicev v nekaterih državah delujejo posebne komisije, sestavljene iz stalnih članov ter po potrebi pridruženih strokovnjakov, ki se vključujejo pri presoji zahtevnejših in bolj kompleksnih primerov. V Združenih državah Amerike (ZDA) so na primer odpoklici glede na klasifikacijo Uprave za hrano in zdravila (*angl.* Food and Drug Administration, FDA) razdeljeni v tri razrede, pri čemer prvi razred predstavlja najtežje možne zaplete po transfuziji krvi in KK (možnost resnega poslabšanja zdravstvenega stanja prejemnika ali smrt). V drugi razred so razvrščeni zapleti, ki lahko povzročijo začasno ali reverzibilno poslabšanje zdravstvenega stanja pri prejemniku; verjetnost resnih zdravstvenih zapletov je majhna. Odpoklici, ki so razvrščeni v tretji razred, pa predstavljajo nizko verjetnost za povzročitev resnih zdravstvenih zapletov. V ZDA je odpoklicanih približno 0,4 % vseh KK. Analiza desetletnega obdobja 2016–2025 kaže, da število odpoklicanih KK na ZTM niha. Najvišji delež odpoklicanih komponent je bil zabeležen leta 2020 in je znašal 0,5 % vseh KK.

Zaključek

Ob odpoklicu krvi in KK je ključna presoja med dejanskim in zgolj teoretičnim tveganjem za prejemnika ter potreba po zagotavljanju zadostnih zalog krvi. Pomembno dilemo predstavlja tudi ustrezno obveščanje bolnikov, pri čemer je potrebno zagotoviti ravnotežje med pravico bolnika

do informiranosti in preprečevanjem povzročanja nepotrebne stiske. Odločitev spremljajo tudi regulatorni, etični in pravni izzivi, ki zahtevajo strokovno, uravnoteženo in odgovorno presojo.

Literatura

1. OP-10: Odpoklic krvi in komponent krvi. Zavod Republike Slovenije za transfuzijsko medicino.
2. Pravilnik o standardih in tehničnih zahtevah sistema kakovosti za transfuzijsko dejavnost.
3. Uradni list RS, št. 9/07 in 21/18. Dostopno dne 9.3.2026 na spletni povezavi: <https://pisrs.si/pregledPredpisa?id=PRAV7371>.
4. Rakušček A, Bajt A, Galvani V. Transfuzija komponente neustrezne kakovosti - krvni strdek v enoti eritrocitov. Predstavitev primera in navodila za postopanje. Dostopno dne 9.3.2026 na spletni povezavi: <https://zbornica-zveza.si/wp-content/uploads/Zbornik-povzetkov-april-2025-hematologija.pdf>.
5. JPAC. Appendix 4 - Management of post donation illness. Dostopno dne 9.3.2026 na spletni strani: <https://www.transfusionguidelines.org/dsg/wb/appendices/appendix-4-managment-of-post-donation-ilness>.
6. G. Ramsey. Blood Component Recalls and Market Withdrawals: Frequency, Reasons, and Management in the United States. *Transfus Med Rev.* 2013 Feb 1;27(2):82–90.

Ko pokliče klinik - prikaz primera Transfuzijskega centra Splošne bolnišnice Celje

Urh Rojc

Transfuzijski center Splošne bolnišnice Celje, Oblakova ulica 5, 3000 Celje

urh.rojc@sb-celje.si

Uvod

Namen odpoklica krvnih komponent (KK) je preprečiti uporabo pripravkov, ki ne ustrezajo predpisanim zahtevam ali izpolnjujejo kriterijev kakovosti ter s tem zaščititi bolnika. Zaradi različnih dejavnikov tveganja za kompromitiranje KK, ki se lahko pojavljajo na vseh korakih transfuzijske verige – od odvzema, predelave, shranjevanja in izdaje KK do transporta in transfuzije bolniku na kliničnem oddelku – je ključnega pomena dosledno upoštevanje standardov kakovosti. Ob razreševanju zapletov transfuzijskega zdravljenja, ki bi lahko bili posledica neustrezne kakovosti KK, je pomembna dobra komunikacija s kliniki, zunanjimi laboratoriji ter drugimi transfuzijskimi ustanovami, kar bo prikazano v predstavljenem primeru.

Smernice za odpoklic v Transfuzijskem centru Splošne bolnišnice Celje

Vzrok za odpoklic KK je lahko prijava hude neželene reakcije, hudega neželenega dogodka, podatek o neustreznosti KK, vhodnih materialov, napakah v postopkih odvzema, predelave, testiranja, transporta ali hranjenja, napake na opremi, naknadni podatki o zdravstvenemu stanju krvodajalca, odstop od kriterijev kakovosti, rezultati mikrobioloških kontrol ter dodatni epidemiološki podatki.

Krvodajalce opozarjamo naj poročajo o akutnih okužbah v 14 dneh od odvzema in o zdravstvenih stanjih, ki vodijo v neskladnost z merili darovanja preteklih odvzemov. Transfuzijski center (TC) zadrži vse KK odvzema in opravi analizo tveganja. Po potrebi se opravijo dodatna testiranja. O pozitivnem izvidu testiranja krvodajalca ali že transfundiranih pripravkov TC obvesti klinika, ta pa dalje prejemnika KK. Morebiten pozitiven izvid testiranja prejemnika pripravka kliniki javi TC, ki o prenosu okužbe s transfuzijo obvesti epidemiološko službo in Službo za hemovigilanco.

Ob sumu na s transfuzijo povzročeno okužbo morajo kliniki čim prej obvestiti TC, ki izvede preiskave in postopke za preprečevanje prenosa povzročitelja s preostalimi komponentami tega odvzema. TC odpokliče vse pripravke ter obvesti Zavod RS za transfuzijsko medicino (ZTM), če je bila SZP poslana za predelavo v plazemske produkte. Pripravi se tudi izpis izdanih pripravkov za bolnika, pregleda izvide presejalnega testiranja krvodajalcev na virusne označevalce okužb in NAT testiranja, ugotovi status transfuzij pripravkov istega odvzema drugim bolnikom, ponovi se testiranja ter po potrebi pokliče krvodajalca na potrditveno testiranje. Ob potrjeni okužbi se

testira tudi ostale prejemnike. Če se z vsemi preiskavami zanesljivo izključi okužbo, lahko krvodajalec nadaljuje z darovanjem, zadržane komponente pa se sprostijo. Krvodajalca se trajno odkloni v primeru pozitivnih rezultatov testiranja na HBV, HCV, HIV in sifilis. Obenem se opravi t.i. vzratni pregled predhodnih odvzemov ter poroča epidemiološki službi in Službi za hemovigilanco.

Ko pokliče klinik

Prenos povzročiteljev okužb s transfuzijo predstavlja redko, vendar klinično pomembno tveganje pri uporabi KK. Potransfuzijske okužbe (PTO) lahko povzročijo virusi (HIV, HBV, HCV, HEV, CMV, WNV, Zika), bakterije in paraziti (malaria, babezija, *T. cruzi*). Za potrditev je potrebno dokazati novo okužbo pri bolniku in prisotnost agensa oziroma protiteles nanj pri KK ali darovalcu. Preprečujemo jih s skrbno izbiro darovalcev, razkuževanjem vbodnega mesta, jemanjem polne krvi v sistem vrečk z zbirno vrečko, levkofiltracijo zbranih enot in testiranjem zbrane krvi na prisotnost seroloških označevalcev okužb (HIV, HBV, HCV, sifilis) in NAT testiranja (HIV, HBV, HCV in WNV) ter doslednim upoštevanjem standardov kakovosti pri predelavi, hranjenju in izdaji KK. Ob sumu na PTO je potrebna napotitev k infektologu in takojšnja prijava TC, da se odpokličejo vse ostale KK tega odvzema.

S transfuzijo povezana sepsa je redka, vendar življenje ogrožajoča akutna neželena transfuzijska reakcija (NTR), ki nastane zaradi kontaminacije KK z bakterijami. Med ali kmalu po transfuziji se kaže s porastom telesne temperature $\geq 38,5$ °C, mrzlico in hipotenzijo, če so povzročiteljice Gram-negativne bakterije še s šokom, ledvično odpovedjo in diseminirano intravaskularno koagulacijo. Klinična slika je lahko podobna akutni hemolitični transfuzijski reakciji (AHTR), v blagih primerih, povzročenih z Gram-pozitivnimi bakterijami, pa jo je mogoče zamenjati z vročinsko nehemolitično transfuzijsko reakcijo (VNHTR). Poleg prekinitve transfuzije je nujna uvedba širokospektralnega antibiotika in podporno zdravljenje. V svetu prihaja najpogosteje do te NTR po transfuziji na sobni temperaturi hranjenih trombocitnih pripravkov, ki niso patogensko inaktivirani. Kliniki morajo sum na s transfuzijo povezano sepso takoj prijaviti TC, da se odpokličejo vse ostale KK tega odvzema.

Primer

86-letni bolnik je bil 23. 4. 2025 zaradi hude poškodbe glave po padcu hospitaliziran na Odseku intenzivne medicine operativnih strok (OIMOS) Splošne bolnišnice Celje (SB Celje). Po evakuaciji subduralnega hematoma in dekompresijski kraniektomiji je bil zaradi možganskega edema analgosediran in intubiran. Izvajali so umetno predihavanje, parenteralno hranjenje, uravnavali elektrolitsko ravnovesje ter korigirali anemijo. Med hospitalizacijo je dvakrat preboleval pljučnico, za kar je prejemal amoksicilin s klavulansko kislino in piperacilin s tazobaktamom. Zaradi težav z odvajanjem od ventilatorja so izvedli bronhoskopijo in odkrili bronhomalacijo, vendar vstavitve

stenta ni bila potrebna. 5. 5. 2025 so zaradi slabega nevrološkega stanja bolnika opravili perkutano traheotomijo. Bolnikovo stanje se ni izboljšalo, zato je bila na konziliju sprejeta odločitev za paliativno oskrbo. Do 28. 5. 2025 so bolnika uspeli prevesti na popolnoma spontano dihanje preko kanile, še vedno pa je potreboval dodatek kisika. 2. 6. 2025 so ga premestili na Travmatološki oddelek SB Celje.

V petek, 20. 6. 2025, smo v laboratoriju Transfuzijskega centra SB Celje (TC CE) prejeli naročilnico za dve enoti eritrocitov (KEF). V gelski tehniki izvedena določitev krvne skupine (KS) je bila identična bolnikovi KS v informacijskem sistemu (IS): A, RhD pozitivna. Indirektni Coombsov test in navzkrižna preizkusa (NP) za obe enoti so bili negativni. V popoldanskih urah je osebje Travmatološkega oddelka sporočilo reakcijo ob pričetku transfuzije druge enote KEF, ki se je pokazala s povišanjem telesne temperature (iz 36,2 na 38,2 °C), krvnega tlaka (iz 144/82 na 178/64 mmHg) in tahikardijo (iz 89 na 120 utripov/min), brez drugih simptomov ali znakov. Transfuzijo so prekinili, povišana telesna temperatura je upadla po aplikaciji paracetamola. Bolniku so trikrat v razmiku petnajstih minut odvzeli kri za hemokulture. Dogovorili smo se za odvzem potransfuzijskega vzorca krvi, vrnitev obeh vrečk ter izpolnitev obrazca za prijavo NTR. Ponovljena NP iz potransfuzijskega vzorca sta bila negativna, direktni Coombsov test (DCT) je bil pozitiven na račun protiteles razreda IgG v pred- in potransfuzijskem vzorcu. Glede na simptomatiko in odziv na antipiretik smo NTR opredelili kot vročinsko nehemolitično transfuzijsko reakcijo (VNHTR).

Bolniku so 22. 6. 2025 s slikovno diagnostiko potrdili desnostransko pljučnico in po posvetu z infektologinjo antibiotično terapijo piperacilin s tazobaktamom menjali z cefepimom. 27. 6. 2025 so ob upadanju vnetnih parametrov in po nasvetu infektologinje deeskalirali antibiotično zdravljenje s trimetoprimom in sulfametoksazolom ter ga po sedmih dneh zaključili.

V sklopu obravnave NTR smo se za izključevanje s transfuzijo povezane sepse v ponedeljek, 23. 6. 2025, z Nacionalnim laboratorijem za zdravje, okolje in hrano (NLZOH) dogovorili za mikrobiološko testiranje obeh enot. Vrečki KEF smo dotlej hranili na za to odrejenem mestu v hladilniku. 3. 7. 2025 smo prejeli klic specialistke klinične mikrobiologije, ki nam je sporočila, da je prišlo pri vseh vzorcih bolnika in pri izpirku prve transfundirane enote do porasta bakterije *Klebsiella oxytoca*.

Pregledani list krvodajalca in odgovori v medicinskem vprašalniku krvodajalca prve transfundirane enote KEF so bili brez posebnosti. Tudi v izpisu merilne tehtnice pri tem odvzemu nismo beležili nepravilnosti. V IS smo poiskali enoto patogensko inaktiviranega trombocitnega zlitja (TBP) istega krvodajalca, ki je bila brez zapletov transfundirana hematološki bolnici dva tedna pred izdajo KEF. Enota sveže zamrznjene plazme (SZP) je bila poslana na ZTM za predelavo v plazemske produkte. Specialistka TC CE je nato poklicala Oddelek za preskrbo s krvjo ZTM, kjer sta se s pristojno zdravnico dogovorili za uničenje SZP.

Pri pregledu IS smo ugotovili, da je bolnik od pričetka hospitalizacije devetkrat prejel enote KEF, vse transfuzije so minile brez zapletov. Ob premestitvi bolnika iz OIMOS na Travmatološki oddelek

je bila v odpustnici zabeležena kolonizacija z bakterijo *Klebsiella oxytoca* v aspiratu traheje že več kot mesec pred samo transfuzijo. Ta bakterija je bila tudi povzročiteljica predhodne pljučnice.

Zaključek

Pri polimorbidnem 86-letnem bolniku po poškodbi glave in dolgotrajni hospitalizaciji je prišlo do septičnega stanja ob pljučnici. Iz hemokultur bolnika in izpirka prve transfundirane enote je porasla Gram-negativna, kapsulirana bakterija *Klebsiella oxytoca* iz družine *Enterobacteriaceae*, ki je del normalne črevesne mikrobiote, vendar lahko povzroča resne bolnišnične okužbe, zlasti pri imunsko oslabljenih bolnikih. Pogosto je povezana z okužbami sečil, bakteriemijo, pljučnicami in okužbami ran. Zaradi prisotnosti kapsule ima povečano virulentnost, dodatno pa lahko proizvaja β -laktamaze razširjenega spektra (ESBL), kar prispeva k odpornosti proti številnim antibiotikom in otežuje zdravljenje. Mnenje klinične mikrobiologinje je bilo, da bi do kontaminacije prve vrečke s povzročiteljem sepse pri bolniku lahko prišlo z retrogradnim tokom krvi. Ob vračilu enote KEF z oddelka cevka ni bila zavarjena, vrečka je bila nato hranjena v ležeči legi tri dni pred nacepivitvijo izpirka na gojišče. V strokovni literaturi je opisanih nekaj primerov tovrstne kontaminacije trombocitnih pripravkov.

Predstavljeni primer ponazarja pomen dobro opredeljenih smernic in vestnega sledenja navodilom. V želji po izboljšanju obravnave NTR s sistematičnim pristopom in rezultati mikrobiološkega testiranja, bi bilo smiselno nacionalno poenotenje standardov in praks vzorčenja KK.

Literatura

1. Pajk J, Bolta Z. STANDARDNI OPERATIVNI POSTOPEK Odpoklic komponent krvi. Verzija 9. Splošna bolnišnica Celje, 2025.
2. Pravilnik o standardih in tehničnih zahtevah sistema kakovosti za transfuzijsko dejavnost.
3. Uradni list RS, št. 9/07 in 21/18. Dostopno dne 1. 4. 2026 na spletni povezavi: <https://pisrs.si/pregledPredpisa?id=PRAV7371>
4. Cohn C, Delaney M, Johnson ST, Katz L. Technical Manual. 21st ed. Bethesda: AABB; 2023.
5. Yanga J, Longa H, Hu Y, Feng Y, McNally A, Zong Z. *Klebsiella oxytoca* Complex: Update on Taxonomy, Antimicrobial Resistance, and Virulence. Clin Microbiol Rev Clin Microbiol Rev. 2022;35(1):e0000621.
6. Drews SJ, Lesley P, Detsky ME, Distefano L, Ilagan C et al. A suspected septic transfusion reaction associated with posttransfusion contamination of a platelet pool by vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. Transf. 2020;60(2):430-435.

7. Hegde S. Retrograde bacterial contamination as an artifact of platelet transfusion. *Annals of Blood*. 2020. Dostopno dne 1. 4. 2026 na spletni povezavi: <https://aob.amegroups.org/article/view/5837/html>

Odpoklic krvi in komponent krvi ob naknadni informaciji krvodajalca: prikaz primera okužbe z boreliozo

Anja Heric, Emilija Krstova Krajnc, Natalija Lehner
Center za transfuzijsko medicino UKC Maribor, Ljubljanska ulica 5, 2000 Maribor
anja.heric@ukc-mb.si

Uvod

Vse prijave in druge informacije, ki kažejo na to, da je bil pripravljen neustrezen krvni pripravek, je potrebno zabeležiti in raziskati vzrok. Najpogostejši razlogi za odpoklic krvnih komponent so hudi neželeni dogodki ali reakcije, prijave o neustreznosti komponent krvi, naknadne ugotovitve o neustreznosti vrečk za kri ali reagentov, napake na opremi, rezultati nadzora kakovosti, bakterioloških kontrol in naknadno pridobljeni podatki o zdravstvenem stanju krvodajalca. Slednje podrobneje predstavljamo v nadaljevanju.

Predstavitev primera

Dne 25. 9. 2025 je krvodajalec poklical v Enoto za transfuzijsko dejavnost (ETD) Ptuj, ker mu je bila 24. 9. 2025 laboratorijsko potrjena okužba z borelijo. Dne 28. 8. 2025 je v ETD Ptuj daroval polno kri. Ob pregledu pri zdravniku ni navajal težav; medicinski vprašalnik in klinični status sta bila brez posebnosti.

Iz odvzema so bili narejeni koncentrirani eritrociti (KE), sveže zamrznjena plazma (SZP), ki je bila vključena v paket za Octapharmo, ter trombocitni pripravek, obdelan s psoralenom (TBP). Krvodajalec je ob telefonskem pogovoru navedel, da je v juniju prvič opazil izpuščaj, ki mu ni posvečal večje pozornosti in ga je pripisal piku obada. Sočasno je imel prehodne težave v smislu otekanja in mravljinčenja spodnjih okončin, ki so spontano izzvenele. Ugriza klopa ni navajal. Med 15. in 20. 9. 2025 je ponovno opazil izpuščaj in obiskal osebnega zdravnika, ki ga je napotil na laboratorijske preiskave, kjer je bila serološko potrjena okužba z borelijo.

Po prejemu informacije je odgovorna transfuziologinja sprožila postopek odpoklica vseh komponent pripravljenih iz tega odvzema. Na obrazcu –*Zapis o odpoklicu krvne komponente* je navedla vse pripravljene komponente in njihove identifikacijske številke.

Enoti KE in TBP sta bili že transfundirani, zato je bilo treba izslediti prejemnika ter obvestiti Službo za hemovigilanco na Zavodu RS za transfuzijsko medicino (ZTM). Enota SZP je bila poslana v predelavo za izdelavo zdravil (Octapharma). TBP so bili transfundirani 4. 9. 2025 pacientu, rojenemu leta 1964, hospitaliziranemu na oddelku intenzivne interne medicine, kjer je 22. 9. 2025 umrl. Smrt je bila posledica respiratorne insuficience ob akutni okužbi, srčnega

popuščanja in sindroma tumorske lize ob zdravljenju akutne mieloične levkemije. Ker so bili TBP patogensko inaktivirani, dodatno obveščanje oddelka ni bilo izvedeno.

KE so bili izdani 12. 9. 2025 pacientu, rojenemu leta 1956, hospitaliziranemu zaradi operativne revizije kolčnega sklepa zaradi nizkovirulentnega vnetja (*Staphylococcus epidermidis*). V času transfuzije je prejemal antibiotično terapijo (vankomicin, rifampicin), ki pokriva tudi okužbo z borelijo, zato obveščanje klinikov ni bilo izvedeno.

Krvodajalec v času odvzema ni prejemal antibiotične terapije, zato odgovorna oseba za humano plazmo na ZTM ni sprožila postopka vzratnega pregleda pri Octapharmi.

Ravnanje ob naknadno prejetih podatkih o zdravstvenem stanju krvodajalca

Ob prejemu postdonacijskih informacij, ki lahko vplivajo na varnost krvnih komponent, je treba neskladnost dokumentirati, raziskati in po potrebi sprožiti odpoklic. Odločitev sprejme odgovorni zdravnik oziroma pooblaščen oseba transfuzijskega centra. Ukrepi vključujejo:

- sledenje vsem komponentam krvi in prejemnikom,
- izpolnitev obrazca *Zapis o odpoklicu krvne komponente*,
- po potrebi tudi *Poročilo o vrnjenem krvnem pripravku*,
- začasno zadržanje komponent (fizično in informacijsko),
- končno odločitev o sprostitev ali uničenju.

Če se komponenta nahaja izven matične ustanove, se prav tako zadrži in o tem obvesti Center za transfuzijsko medicino Maribor. V primeru plazme za frakcioniranje se obvesti odgovorno osebo na ZTM, ki lahko sproži vzratni pregled v skladu z navodili Octapharme. Če je bila neustrezna komponenta že transfundirana je treba obvestiti Službo za hemovigilanco na hemovigilanca@ztm.si, ki po potrebi poroča Javni agenciji za zdravila in medicinske pripomočke (JAZMP).

Osnovne značilnosti okužbe z borelijo

Lymska borelioza je najpogostejša zoonoza, ki jo v Sloveniji prenašajo klopi. Letno zboli približno 5.000–7.000 ljudi. Povzročajo jo bakterije kompleksa *Borrelia burgdorferi sensu lato*. Inkubacijska doba je običajno 3–32 dni. Značilni zgodnji znak je erythema migrans. V kasnejših fazah lahko pride do prizadetosti kože, živčevja, sklepov, mišic, oči in srca. Zgodnje antibiotično zdravljenje (npr. amoksicilin, azitromicin ali doksiciklin) je učinkovito. Prenos borelije s transfuzijo krvi doslej ni bil zanesljivo dokazan, vendar ostaja teoretična možnost, zato so preventivni ukrepi ključni.

Zaključek

Ukrepanje ob naknadno prejetih podatkih o krvodajalcu je odvisno od časa javljanja, razloga ter statusa krvnih komponent. Če komponente še niso bile izdane, se praviloma uničijo, obveščanje hemovigilance ni potrebno. V praksi krvodajalci večinoma sporočijo spremembe zdravstvenega stanja v 1-2 dneh po odvzemu, redkeje z večtedenskim zamikom, kot v predstavljenem primeru. Ključno je dosledno obveščanje krvodajalcev o pomenu javljanja bolezni v 14 dneh po odvzemu ter možnost samoizključitve.

Literatura

1. Zhang, Y., Feng, J., Auwaerter, P. G., & Zhang, X. (2015). Drug combinations against *Borrelia burgdorferi* persists in vitro: Eradication achieved by using daptomycin, cefoperazone and doxycycline. *PLOS ONE*, 10(3), e0117207.
2. Wu, X., Sharma, B., Niles, S., O'Connor, K., Schilling, R., Matluck, N., D'Onofrio, A., Hu, L. T., & Lewis, K. (2018). Identifying vancomycin as an effective antibiotic for killing *Borrelia burgdorferi*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 62(11), e01201-18.
3. Pavia, C. S., & Plummer, M. M. (2018). Transfusion-associated Lyme disease – Although unlikely, it is still a concern worth considering. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2070.
4. Nacionalni inštitut za javno zdravje. (2016). Lymska borelioza. <https://nijz.si/nalezljive-bolezni/nalezljive-bolezni-od-a-do-z/lymska-borelioza/>

Od neskladja v rutini do serijskega odpoklica vrečk za polno kri

Urška Dolinar

Zavod RS za transfuzijsko medicino, Šlajmerjeva 6, 1000 Ljubljana

urska.dolinar@ztm.si

Izveček

Varnost krvnih komponent je neposredno povezana z integriteto zaprtih sistemov za odvzem in predelavo krvi. V letu 2025 smo v rutinskem procesu zaznali ponavljajoča se neskladja v obliki puščanja na sistemih vrečk za polno kri. V obdobju 14 delovnih dni je bilo uporabljenih 2.781 setov, pri sedmih smo zaznali podobno napako. Kljub uvedbi dodatnih varnostnih ukrepov so se neskladja nadaljevala tudi pri uporabi naslednjih serij. Primer je bil prijavljen v sistem materiovigilance in hemovigilance. Nadaljnja analiza proizvajalca je kot vzrok identificirala mehansko poškodbo cevke med avtomatiziranim proizvodnim procesom. Dogodek poudarja pomen zgodnjega zaznavanja, učinkovitega poročanja ter mednarodnega sodelovanja za zagotavljanje varnosti krvnih pripravkov.

Abstract

The safety of blood components is closely linked to the integrity of closed blood collection and processing systems. In 2025, repeated non-conformities were observed during routine processing of whole blood, manifesting as leakage from blood bag systems. Within 14 working days, 2,781 processing sets were used, with seven cases of similar defects identified. Despite the implementation of additional safety measures, the issue persisted across subsequent production lots. The case was reported through the materiovigilance and haemovigilance systems. Manufacturer investigation identified mechanical damage to the tubing caused during automated production. This case highlights the importance of early detection, effective reporting systems, and international collaboration in ensuring blood component safety.

Uvod

Zagotavljanje varnosti in kakovosti krvnih komponent predstavlja temeljno načelo transfuzijske medicine. Ključno vlogo pri tem imajo zaprti sistemi za odvzem in predelavo krvi, ki preprečujejo mikrobiološko kontaminacijo in ohranjajo sterilnost pripravkov. Vsako odstopanje v integriteti sistema lahko vodi v odprt sistem in s tem poveča tveganje za kontaminacijo ali druge neželene dogodke. V sodobni transfuzijski praksi sta zato sistema hemovigilance in materiovigilance

nepogrešljiva mehanizma za zgodnje prepoznavanje, spremljanje in obvladovanje tveganj, povezanih tako s krvjo kot z medicinskimi pripomočki.

Prikaz primera

V Centru za predelavo krvi Oddelka za preskrbo s krvjo Zavoda RS za transfuzijsko medicino smo v juliju 2025 med rutinskim delom prvič zaznali iztekanje tekočine na sistemih vrečk za polno kri. Neskladja so se pojavila med filtracijo eritrocitov ali med avtomatskim ločevanjem komponent, pri čemer je bilo puščanje lokalizirano predvsem na cevki pod filtrom oziroma na spoju med filtrom in cevko. Sprva so bili primeri sporadični, vendar so se v kratkem časovnem obdobju začeli ponavljati.

V obdobju štirinajstih delovnih dni smo uporabili 2.781 setov, pri sedmih smo odkrili podobno obliko neskladja. Zaradi ponavljajočih se dogodkov smo nemudoma uvedli ukrepe za zmanjšanje tveganja. Ker je bila napaka na delu za eritrocitnim filtrom, smo eritrocitne komponente uničili, plazmo smo namenili za nadaljnjo predelavo, iz trombocitno-levkocitne plasti smo pripravili trombocite, ki smo jih obvezno patogensko inaktivirali. Hkrati smo dodatno izobraževali osebje ter zaostri vizualni nadzor nad uporabljenimi seti za odvzem polne krvi in nad procesom. Kljub uvedenim ukrepom so se težave nadaljevale tudi pri naslednjih dobavljenih serijah vrečk. Zaradi ponavljanja neskladij smo izvedli interni odpoklic ene izmed serij, preostale sete umaknili v karanteno ter o dogodkih obvestili pristojne regulatorne organe preko sistemov hemovigilance in materiovigilance. Ves čas smo imeli v mislih naše temeljno načelo – priprava varnih in kakovostnih enot krvi za paciente z mislijo, da bi lahko obstajala še druga, očem nevidna puščanja, ki predstavljajo tveganje odprtega sistema s posledično kontaminacijo krvne komponente ali prisotnostjo zraka v vrečki z eritrociti. Preko evropske mreže nadzornih organov smo izvedeli, da so imeli podobne težave s proizvodi istega proizvajalca tudi v Avstriji. Z našimi težavami smo seznanili slovenske in tudi evropske kolege. Kasneje smo izvedeli, da jih je vedenje o naših težavah spodbudilo, da so prijavljali enak tip napake ne glede na pogostost pojava.

Ob dobavi novejših serij, smo preostanek prve serije udeležene v neskladje vrnili preko distributerja proizvajalcu. Težave so se nadaljevale tudi z novejšo serijo. Ob tem na drugi lokaciji predelave (v Centru za transfuzijsko medicino Maribor) niso beležili neskladij, zato smo distributerja zaprosili za njihov lot setov. S temi seti starejšega datuma proizvodnje nismo imeli težav.

Proizvajalec je izvedel podrobno analizo 1.709 setov vrnjene serije in identificiral vzrok napake. Ugotovljeno je bilo, da med avtomatiziranim proizvodnim procesom robotski mehanizem, ki vstavi cevko v izhod filtra, občasno povzroči prekomeren pritisk na material, kar lahko vodi do mikropoškodb ali perforacije cevke. Takšne poškodbe niso nujno vidne ob standardni vhodni kontroli, kar dodatno povečuje tveganje za uporabo setov v procesu.

Kot odgovor na ugotovitve je proizvajalec uvedel dodatne ukrepe nadzora kakovosti, vključno z ročnim pregledom vseh izdelanih setov na evidentirani liniji z dodatnimi tlačnimi testi. Konec septembra je proizvajalec odpoklical tri serije zaradi puščanja na tiskani cevki. V času odpoklica v Sloveniji nismo več imeli teh serij.

Konec oktobra smo prejeli še varnostno opozorilo glede uporabe številnih serij, pri katerih opozarjajo na možnost težav in priporočajo nadzorovan proces predelave.

Zaključek

Opisani primer jasno ponazarja kompleksnost zagotavljanja varnosti v transfuzijski medicini, kjer so poleg bioloških dejavnikov pomembni tudi tehnični vidiki medicinskih pripomočkov. Puščanje v sistemu vrečk lahko vodi v izgubo zaprtega sistema, kar pomeni potencialno tveganje za mikrobiološko kontaminacijo krvne komponente ali vstop zraka v eritrocitno enoto. Poseben izziv predstavljajo mikropoškodbe, ki niso vidne ob rutinskem pregledu, vendar lahko pomembno vplivajo na varnost pripravka.

Primer hkrati poudarja pomen dobro organiziranih sistemov poročanja, ki omogočajo hitro zaznavanje in obravnavo neskladij. Hemovigilanca in materiovigilanca sta ključna mehanizma za zbiranje podatkov in izmenjavo informacij, ki lahko vodijo do hitrega ukrepanja na nacionalni in mednarodni ravni. Pomembno vlogo ima tudi sodelovanje med institucijami, saj izmenjava izkušenj prispeva k boljši prepoznavi redkih ali sporadičnih napak.

Kljub učinkovitosti teh sistemov pa primer razkriva tudi njihove omejitve, predvsem časovni zamik med pojavom težave in uvedbo korektivnih ukrepov na ravni proizvajalca ter omejeno občutljivost vhodne kontrole za odkrivanje mikroskopskih napak.

Zahvala

Iskrena hvala vsem sodelavkam in sodelavcem na ZTM iz različnih oddelkov, ki ste s svojo strokovnostjo, natančnostjo in predanostjo sodelovali pri obravnavi in reševanju nastalih neskladij. S hitrim prepoznavanjem, uvajanjem ukrepov, doslednim poročanjem ter medsebojnim sodelovanjem ste pomembno prispevali k varni preskrbi s krvjo.

Literatura

1. European Commission. UREDBA (EU) 2024/1938 evropskega parlamenta in sveta o standardih kakovosti in varnosti za snovi človeškega izvora (SČI), namenjene za uporabo na ljudeh. 2024 [cited 2026 Mar 26].

2. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2024/1938/2024-07-17>
3. European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM). Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components. 22nd ed. Strasbourg; 2025.
4. Zakon o preskrbi s krvjo. 2026 Ur I RS, 104/06.
5. Pravilnik o hemovigilanci. 2007 Ur I RS, 9/07.

Transfuzijska medicina in transplantacije (ZTM)

Razširitev testiranj za spremljanje imunološkega statusa bolnikov po presaditvi srca

Sendi Montanič

Zavod RS za transfuzijsko medicino, Šljajmerjeva 6, 1000 Ljubljana

sendi.montanic@ztm.si

Protitelesa anti-HLA lahko nastanejo kot odgovor na prejete transfuzije, nosečnost ali presaditev organa. Eden od glavnih vzrokov za izgubo presadka je ravno zavrnitev s protitelesi (ang. Antibody Mediated Rejection, AMR). Pri bolnikih po presaditvi organa, še posebej pri sumu na AMR srca ali vaskulopatijo presajenega srca (angl. Cardiac Allograft Vasculopathy, CAV) zato določamo prisotnost protiteles anti-HLA, specifično usmerjenih proti neskladnim antigenom darovalca (angl. Donor Specific Antibodies, DSA). Z namenom opredelitve prisotnosti protiteles proti z bolnikom neskladnim antigeni HLA darovalca testiramo serume bolnikov s pomočjo tehnologije Luminex z metodo OL-LabScreen SA (SAB). V zadnjem desetletju je prišlo do velikega tehnološkega napredka pri določanju in opredelitvi anti-HLA protiteles, kar je omogočilo boljše razumevanje vloge aloprotiteles in zavrnitve alogenskih presadkov. Test SAB omogoča semi-kvantitativno določanje za darovalca specifičnih anti-HLA (DSA) protiteles z visoko ravni občutljivosti in specifičnosti. Metoda je torej visoko občutljiva in specifična, vendar ima določene omejitve, saj klinični pomen vseh določenih protiteles še ni povsem pojasnjen. Pri vseh bolnikih z DSA namreč ne pride do zavrnitve presadka. Ena od ključnih značilnosti anti-HLA DSA je njihova sposobnost preklapljanja med razredi protiteles in aktivacije komplemента. Test SAB zazna vse podrazrede IgG, ne glede na njihovo zmožnost aktivacije komplemента. Na podlagi predvidevanja, da tista protitelesa, ki najmočnejše vežejo komplemента (IgG1 in IgG3), tudi najverjetnejše povzročijo zavrnitev, so test SAB spremenili tako, da določa samo tista protitelesa, ki vežejo C1q, prvo komponento aktivacije komplemента. Da bi torej ugotovili, katera od določenih protiteles so zaradi zmožnosti aktivacije komplemента tudi citotoksična, lahko serum analiziramo še s testom C1qScreen, ki ravno tako temelji na tehnologiji Luminex. Prognostična vloga anti-HLA protiteles, specifičnih za darovalca (anti-HLA DSA) je predmet raziskave številnih študij, ki preučujejo rezultate presaditev čvrstih organov z namenom ugotavljanja povezave med rezultati obeh testov in kliničnim potekom.

Redno spremljanje imunološkega statusa bolnika vsaj eno leto po presaditvi je ključnega pomena, saj imajo zlasti na novo nastala protitelesa, t.i.«de novo» DSA pomembno vlogo pri dolgoročnem preživetju presadka. Podatki iz literature kažejo, da je slabše preživetje presadka vsekakor povezano z "de novo" DSA. Če pa so le-ta tudi citotoksična, so lahko dober napovednik akutne humoralne zavrnitve srca ali CAV.

Novejše študije pa prinašajo tudi vse več dokazov o povezavi med zavrnitvijo presajenega srca in prisotnostjo izvencelične DNA darovalca (dd-cfDNA) v plazmi prejemnika, zato je določitev odstotka dd-cfDNA v plazmi bolnika med priporočena testiranja uvrstila tudi International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT). dd-cfDNA je namreč neinvaziven biomarker za spremljanje zavrnitve presadka, saj med epizodami zavrnitve pride do poškodbe presadka, zaradi česar se v obtok prejemnika organa sprostijo večje količine dd-cfDNA, ki jo lahko kvantificiramo.

V okviru naše študije smo z namenom boljše specifikacije in kliničnega ovrednotenja protiteles anti-HLA želeli ovrednotiti vsebnosti in specifičnosti citotoksičnih protiteles anti-HLA v serumih bolnikov po presaditvi srca. Pri 10 bolnikih s sumom na zavrnitev srca smo opravili CDC test, test SAB, test citotoksičnosti C1qScreen in določitev dd-cfDNA. Pri določitvi dd-cfDNA smo meje odstopanja od normalnih vrednosti določili glede na podatke iz literature in priporočilo proizvajalca testnih reagentov. Rezultate vseh naših testiranj pa smo primerjali s kliničnimi podatki, ki kažejo na AMR, pridobljenimi iz UKC Ljubljana, KO za kardiologijo.

Primerjave rezultatov testiranja s testom C1qScreen z rezultati testiranj s testoma SAB in CDC so glede na že opravljeno validacijo pokazale pričakovane ugotovitve. S testom C1qScreen smo dokazali specifičnost vseh tistih protiteles, ki so pozitivne v testu CDC, in le nekatere od specifičnosti, ki smo jih dokazali s testom SAB. V vzorcih, kjer smo določili DSA, smo vedno zaznali tudi dd-cfDNA. Vsi dobljeni rezultati so se ujemali tudi s klinično pridobljenimi podatki. S pomočjo kombinacije omenjenih testov smo pridobili jasnejši vpogled v pomen rezultatov testiranj in njihovega povezovanja, kar je doprineslo tudi k boljšemu razumevanju imunološke slike bolnikov po presaditvi srca. Zaključimo lahko, da bi na podlagi dobljenih rezultatov lahko prišlo do spremembe strategije spremljanja zavrnitve presadka. Endomiokardna biopsija seveda ostaja zlati standard, a bi lahko kombinacija več novih metod prinesla uspešen alternativni način spremljanja zavrnitve, s pomočjo katerega se lahko izognemo proceduralnim zapletom biopsije.

Literatura

1. Marco I, López-Azor García JC, González Martín J, Severo Sánchez A, García-Cosío Carmena MD, et al. De Novo Donor-Specific Antibodies after Heart Transplantation: A Comprehensive Guide for Clinicians. *J Clin Med.* 2023;12(23):7474.
2. Battle R, Pritchard D, Peacock S, Hastie C, Worthington J, et al. BSHI and BTS UK guideline on the detection of alloantibodies in solid organ (and islet) transplantation. *Int J Immunogenet.* 2023;50 Suppl 2:3-63.
3. Farrero Torres M, Pando MJ, Luo C, Luikart H, Valantine H, Khush K. The role of complement-fixing donor-specific antibodies identified by a C1q assay after heart transplantation. *Clin Transplant.* 2017;31(11).

4. Lee H, Han E, Choi AR, Ban TH, Chung BH, et al. Clinical impact of complement (C1q, C3d) binding De Novo donor-specific HLA antibody in kidney transplant recipients. *PLoS One*. 2018; 14;13(11).
5. Velleca A et al. The International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT) guidelines for care of heart transplant recipients. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2023; 42: e1-e141.
6. Teszak T, Barcziova T, Bödör C, Hegyi L, Levay L, et al. Donor-Derived Cell-Free DNA Versus Left Ventricular Longitudinal Strain and Strain-Derived Myocardial Work Indices for Identification of Heart Transplant Injury. *Biomedicine*. 2025; 13(4): 841.
7. Teszak T, Bödör C, Hegyi L, Levay L, Nagy B, et al. Local laboratory-run donor-derived cell-free DNA assay for rejection surveillance in heart transplantation-first six months of clinical experience. *Clinical transplantation*. 2023; 37(9).
8. Casas S, Tangprasertchai NS, Oikonomaki K, Mathers S, Sollet ZC, et al. Multi-centre analytical performance verification of an IVD assay to quantify donor-derived cell-free DNA in solid organ transplant recipients. *HLA*. 2024;103(5): 15518.
9. Cucchiari D, Cuadrado-Payan E, Gonzalez-Roca E, Revuelta I, Argudo M, et al. Early kinetics of donor-derived cell-free DNA after transplantation predicts renal graft recovery and long-term function. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2023; 39(1): 114–121.
10. Odendaal ML, Groot JA, Hasrat R, Chu MLJN, Franz E, et al. Higher off-target amplicon detection rate in MiSeq v3 compared to v2 reagent kits in the context of 16S-rRNA-sequencing. *Scientific Reports*. 2022; 12(1):16489.

Uporaba krvnih komponent pri presaditvah solidnih organov: desetletna retrospektivna analiza v nacionalnem transplantacijskem centru

Ivica Marić

Zavod RS za transfuzijsko medicino, Šljajmerjeva 6, 1000 Ljubljana

ivica.maric@ztm.si

Uvod

Od prve uspešne presaditve ledvice leta 1954 se je transplantacijska medicina izjemno razvila in danes predstavlja ključno terapevtsko možnost za bolnike s končno odpovedjo organov. Presaditev solidnih organov pogosto predstavlja edino kurativno in življenjsko rešujoče zdravljenje, ki omogoča podaljšanje preživetja ter izboljšanje kakovosti življenja bolnikov. Rutinski transplantacijski programi najpogosteje vključujejo presaditve ledvice, jeter, srca in pljuč, medtem ko se presaditve trebušne slinavke ali tankega črevesa izvajajo v izbranih centrih. Darovalce delimo na žive in umrle, pri katerih razlikujemo darovanje po možganski smrti (DBD) in darovanje po zastoju krvnega obtoka (DCD). Na svetovni ravni se letno opravi več kot 157.000 presaditev solidnih organov, pri čemer presaditev ledvice predstavlja več kot 60 % vseh posegov. V Evropski uniji je bilo leta 2022 izvedenih približno 34.000 presaditev, vendar je več kot 40.000 bolnikov še vedno čakalo na ustrezen organ, več kot 6.000 pa jih je umrlo med čakanjem. Slovenija ima eno najvišjih stopenj darovanja organov na milijon prebivalcev v mreži Eurotransplant. Letno se izvede približno 100–120 presaditev solidnih organov, vendar nesorazmerje med razpoložljivostjo organov in potrebami bolnikov ostaja pomemben izziv. Za uspešnost presaditve sta ključni krvnoskupinska in imunološka

skladnost med darovalcem in prejemnikom, zlasti ujemanje v sistemu ABO ter antigenih HLA. Z vidika transfuzijske medicine je pomembno tudi načrtovanje razpoložljivosti krvnih komponent, saj so presaditve povezane s perioperativno izgubo krvi. Presaditve jeter in pljuč so praviloma povezane z največjimi transfuzijskimi potrebami, presaditve srca z zmernimi, presaditve ledvic pa v večini primerov z minimalno transfuzijsko podporo.

V našem centru se predoperativno naročanje krvnih komponent izvaja po organsko specifičnih protokolih. Pri presaditvi jeter se rezervira 20 enot eritrocitov, 3 enote trombocitov in 40 enot sveže zmrznjene plazme (FFP), v zadnjem obdobju pa se količina plazme zmanjšuje na približno 30 enot. Pri presaditvi srca se pripravi 6 enot eritrocitov in 1 enota trombocitov, pri presaditvi pljuč 10 enot eritrocitov, 1–2 enoti trombocitov in 10 enot plazme, pri presaditvi ledvice pa 4 enote eritrocitov. Pri vseh bolnikih se pred transfuzijo izvede obvezno testiranje, ki vključuje določitev krvne skupine ABO in RhD, presejanje na prisotnost nepričakovanih eritrocitnih protiteles ter navzkrižne preizkuse z izbranimi enotami eritrocitov.

Kljub standardiziranim protokolom je dejanska poraba krvnih komponent lahko zelo različna, saj je odvisna od vrste presajenega organa, zahtevnosti operacije, kliničnega stanja bolnika ter nujnosti presaditve. Namen naše raziskave je bil analizirati uporabo krvnih komponent med operacijo in v zgodnjem pooperativnem obdobju pri različnih vrstah presaditev solidnih organov v našem centru.

Material in metode

Izvedli smo retrospektivno enocentrično raziskavo na Zavodu Republike Slovenije za transfuzijsko medicino, ki zagotavlja krvne komponente nacionalnemu transplantacijskemu centru. V analizo smo vključili obdobje od januarja 2014 do decembra 2023.

V raziskavo smo vključili vse bolnike, pri katerih je bila v tem obdobju izvedena presaditev solidnega organa (ledvica, jetra, srce, pljuča ali trebušna slinavka), vključno s kombiniranimi presaditvami.

Podatke smo pridobili iz transfuzijskega informacijskega sistema, ki beleži izdajo krvnih komponent, laboratorijske izvide in imunhematološka testiranja. Zbrani podatki so vključevali starost, spol in krvno skupino ABO/D darovalcev in prejemnikov. Skladnost smo razdelili na identično (ABO/D) in kompatibilno, vendar neidentično kombinacijo.

Analizirali smo tudi prisotnost eritrocitnih aloprotiteles pred presaditvijo. Morebitne primere sindroma potujočih limfocitov (Ang.: passenger lymphocyte syndrome, PLS) smo ocenjevali posredno kot pojav novih eritrocitnih protiteles po presaditvi pri bolnikih, ki pred posegom niso imeli zaznanih protiteles.

Porabo krvnih komponent smo analizirali glede na vrsto presajenega organa in časovni interval: intraoperativno obdobje (dan 0), prvi pooperativni dan, prvih sedem dni po presaditvi ter obdobje do 45 dni po posegu. Zvezne spremenljivke smo prikazali kot mediane z interkvartilnim razponom (IQR), kategorične pa kot frekvence in odstotke.

Za primerjavo skupin smo uporabili hi-kvadrat test in Mann-Whitneyjev U-test. Statistična značilnost je bila določena pri $p < 0,05$.

Rezultati

V desetletnem obdobju je bilo izvedenih 1.013 presaditev solidnih organov. Najpogostejša je bila presaditev ledvice, sledile so presaditve srca, jeter in pljuč. Kombinirane presaditve so predstavljale približno 2,5 % vseh posegov.

Med prejemniki je bila najpogostejša krvna skupina A, sledile so O, B in AB; večina bolnikov je bila D-pozitivnih. Podobna porazdelitev je bila tudi pri darovalcih. Popolno ujemanje ABO/D je bilo prisotno pri približno 65 % presaditev, neidentične kombinacije pa so se najpogosteje pojavljale pri prejemnikih krvne skupine AB in D-negativnih bolnikih.

Potrebe po transfuziji so se med posameznimi vrstami presaditev statistično značilno razlikovale ($p < 0,001$). Presaditev ledvice je bila povezana z minimalno transfuzijsko podporo, saj večina bolnikov ni potrebovala eritrocitov, trombocitov ali plazme. Presaditve srca so zahtevale zmerno transfuzijsko podporo, medtem ko so bile presaditve jeter in pljuč povezane z največjo porabo krvnih komponent, z vrhom med operacijo in v prvem tednu po presaditvi. Kombinirane presaditve so imele najvišjo skupno porabo krvnih komponent.

Analiza glede na skladnost darovalca in prejemnika ni pokazala statistično značilnih razlik v porabi eritrocitov, trombocitov ali plazme na dan presaditve. Podobni vzorci so bili prisotni tudi v zgodnjem pooperativnem obdobju, čeprav je bila poraba plazme nekoliko višja pri identičnih presaditvah.

Pri analizi samo glede na skladnost ABO smo opazili večjo porabo eritrocitov in plazme pri ABO-kompatibilnih presaditvah na dan operacije ter v 45-dnevnem obdobju po presaditvi. Analiza D skladnosti ni pokazala statistično značilnih razlik v transfuzijskih potrebah.

Pri presejanju za sindrom potujočih limfocitov smo zaznali 13 prejemnikov z eritrocitnimi protitelesi, vendar so bila pri 12 bolnikih prisotna že pred presaditvijo. Pri enem bolniku so se protitelesa anti-D pojavila tri tedne po presaditvi, kar je predstavljalo aloimunizacijo D-negativnega prejemnika na D-pozitiven organ, ne pa PLS. Klinično pomembnih primerov PLS nismo zaznali.

Razprava

Naša desetletna analiza potrjuje, da so transfuzijske potrebe pri presaditvah solidnih organov izrazito odvisne od vrste presajenega organa in faze zdravljenja. Presaditev ledvice je bila povezana z minimalno potrebo po transfuziji, medtem ko presaditve jeter in pljuč ostajajo transfuzijsko najzahtevnejši posegi zaradi kompleksnosti operacije, koagulopatije in hemodinamskih sprememb.

Analiza skladnosti darovalca in prejemnika je pokazala, da ima sama ABO kompatibilnost večji vpliv na transfuzijsko porabo kot kombinirano ujemanje ABO/D ali D sam. V naši kohorti to verjetno odraža večji delež nujnih transplantacij v tej skupini bolnikov, ki pogosto vključujejo težje klinično stanje in omejeno možnost optimalne predoperativne priprave.

Incidenca sindroma potujočih limfocitov je bila zelo nizka, kar je skladno z redkim pojavljanjem klinično pomembnih primerov v literaturi. Demografski dejavniki, kot sta starost in spol, so imeli na transfuzijske potrebe le omejen vpliv.

Zaključek

Transfuzijske potrebe pri presaditvah solidnih organov so izrazito organsko specifične in časovno odvisne. Presaditev ledvice zahteva minimalno transfuzijsko podporo, medtem ko presaditve jeter, pljuč in kombinirane presaditve ostajajo transfuzijsko najzahtevnejše.

Rezultati poudarjajo pomen organsko specifičnih protokolov naročanja krvnih komponent ter strategij upravljanja pacientove krvi, ki omogočajo racionalnejšo uporabo krvnih komponent, zmanjšanje nepotrebne križne ujemanja ter večjo varnost bolnikov v transplantacijskem programu.

Sindrom potujočih limfocitov – pregled in predstavitev primerov

Janja Mrak¹, Nina Šulek Sisinger²

1) Zavod RS za transfuzijsko medicino, Šljajmerjeva 6, 1000 Ljubljana

2) Center za transfuzijsko medicino, UKC Maribor, Ljubljanska 5, 2000 Maribor

janja.mrak@ztm.si

Uvod

Sindrom potujočih limfocitov (SPL) je zaplet po presaditvi organov in krvotvornih matičnih celic, pri katerem z organom presajeni limfociti B darovalca tvorijo protitelesa proti eritrocitnim antigenom prejemnika in povzročijo imunsko posredovano hemolizo. V literaturi so opisani številni primeri SPL po presaditvah čvrstih organov, kot so jetra, tanko črevo, srce, pljuča, trebušna slinavka in ledvica, pa tudi po presaditvah krvotvornih matičnih celic. SPL lahko poteka od blage pa vse do življenjsko ogrožujoče hemolize. V prispevku bomo po kratkem opisu SPL predstavili primere, ki smo jih zaznali v sklopu predtransfuzijskega testiranja.

Sindrom potujočih limfocitov

Poročana pojavnost SPL po presaditvah čvrstih organov znaša približno 9 % pri presaditvi ledvice, 29 % pri presaditvi jeter in 70 % pri kombinirani presaditvi srca in pljuč. Čeprav je redkeje opisana, je lahko pojavnost SPL pri presaditvah črevesja zaradi večje količine limfatičnega tkiva še večja. Dejanska pojavnost SPL ni znana, saj je v veliko primerih hemoliza klinično nepomembna in jo odkrijemo le z laboratorijskim spremljanjem ali pa zaznamo SPL le s serološkimi preiskavami. Poleg tega je anemija po presaditvi organa pogosto spregledana diagnoza, saj je lahko posledica pomanjkanja železa, kirurške izgube krvi, zdravil, vnetij ali hemolize. Vzroki za hemolizo so lahko neimunski ali imunski, med imunske pa spadajo avtoimunska hemolitična anemija, odložena hemolitična transfuzijska reakcija ali SPL.

Pri presaditvah sta najbolj pomembna krvnoskupinski sistem ABO in sistem humanih levkocitnih antigenov (*angl.* human leukocyte antigens, HLA). Skladnost v prvem je pomembna pri presaditvah čvrstih organov, v drugem pa pri presaditvah krvotvornih matičnih celic in nekaterih čvrstih organih. SPL najpogosteje nastane zaradi neujemanja v krvnoskupinskem sistemu ABO med darovalcem in prejemnikom, sledi krvnoskupinski sistem Rh, lahko pa ga povzročijo tudi neujemanja v antigenih drugih krvnoskupinskih sistemov kot so Kell, Kidd, Lewis, Duffy in MNS.

Glede na krvnoskupinski sistem ABO poznamo štiri vrste skladnosti med darovalcem in prejemnikom. O identični presaditvi govorimo, kadar imata prejemnik in darovalec identično krvno skupino (KS). O minor neskladju govorimo, kadar ima darovalec v plazmi prisotna protitelesa

proti antigenom prejemnika (npr. darovalec ima KS O, prejemnik pa A). O major neskladju govorimo, kadar ima prejemnik v plazmi protitelesa proti antigenom darovalca (npr. darovalec ima KS A, prejemnik pa O). Obojestransko oz. bilateralno neskladje pa je stanje, ko imata tako darovalec kot prejemnik v plazmi prisotna protitelesa proti antigenom drugega (npr. darovalec ima KS B, prejemnik pa A). Znano je, da so najboljši izzidi pri presaditvah ABO identičnih organov, ABO-neskladna presaditev pa lahko povzroči hiperakutno zavrnitev organa.

V večini primerov je potek SPL blag. Protitelesa se razvijejo od 4. do 21. dne po presaditvi, čemur sledi hemoliza, ki je večinoma blaga, samoomejujoča in traja do 8 tednov. V literaturi so opisani tudi primeri dolgotrajne hemolize, ki je trajala do 6 mesecev, ter redke hude oblike hemolize s smrtnimi primeri. Ni jasno, kaj sproži razvoj SPL, saj se SPL ne pojavi pri vseh primerih, kjer darovalčevi limfociti proizvajajo protitelesa. Prav tako ni bila dokazana povezava med titrom protiteles in stopnjo hemolize. Stopnja izraženosti hemolize je odvisna od hitrosti nastajanja in hemolitične sposobnosti sintetiziranih protiteles, podzrreda protiteles, količine antigena na površini prejemnikovih eritrocitov, odzivnosti pacientovega makrofagnega sistema ter količine presajenega limfatičnega tkiva oz. količine limfocitov B v presajenem organu. Največ limfatičnega tkiva se prenese s presaditvijo srca in pljuč, sledijo presaditve jeter, najmanj pa s presaditvijo ledvic. Bolniki po kombinirani presaditvi srca in pljuč imajo tudi največje tveganje za razvoj hujše hemolize v sklopu SPL. Med dejavnike tveganja spadajo tudi vrsta imunosupresivnega zdravljenja, okužbe, opisan pa je tudi pomen sistema HLA.

Zdravljenje SPL je večinoma podporno in vključuje transfuzije krvnih pripravkov darovalčeve krvne skupine. V odpornih (refraktarnih) primerih se uporablja imunosupresivno zdravljenje (kortikosteroidi, rituksimab ali intravenski imunoglobulini (IVIG)), opisani pa so tudi primeri zdravljenja s terapevtsko izmenjavo plazme in imunoadsorpcijo.

Pred presaditvijo vsem prejemnikom organov ali krvotvornih matičnih celic določimo KS ABO, RhD in K. V sklopu priprave pred presaditvijo jeter izvedemo tudi presejalni test za odkrivanje eritrocitnih protiteles v plazmi (indirektni Coombsov test – ICT) ter test za odkrivanje eritrocitnih protiteles vezanih na eritrocite (direktni Coombsov test – DCT). Ob presaditvi pa opravimo obvezne transfuzijske preiskave glede na naročila krvnih komponent, rutinsko ne izvajamo dodatnih imunohematoloških testiranj.

[Predstavitev primerov](#)

V prvem primeru smo pri 43-letnem A, RhD-pozitivnem (RhD-poz) pacientu trinajsti dan po presaditvi jeter ob naročilu štirih enot eritrocitov ugotavljali pozitivne navzkrižne preizkuse z A, RhD-poz eritrociti in pozitiven direktni Coombsov test (DCT). KS darovalca jeter je bila O, RhD-negativna (RhD-neg). Pred tem smo od dneva presaditve za pacienta izdali 14 enot A, RhD-poz eritrocitov na podlagi negativnih navzkrižnih preizkusov in negativnega ICT. Z dodatnim

testiranjem smo v eluatu dokazali protitelesa anti-A. ICT je bil negativen, v ICT s papainom pa smo zaznali protitelesa nerazvidne specifičnosti, posumili smo na protitelesa anti-D. Za pacienta smo pripravili enote O, RhD-neg eritrocitov.

V drugem primeru smo pri 66-letnem B, RhD-poz pacientu štirinajsti dan po presaditvi jeter ob naročilu dveh enot eritrocitov ugotavljali pozitiven ICT in pozitivne navzkrižne preizkuse z B, RhD-poz eritrociti. KS darovalca jeter je bila B, RhD-neg. Rezultati dodatnih testiranj (specifikacija protiteles, ICT eluata, navzkrižni preizkusi z B, RhD-poz, O, RhD-poz, B, RhD-neg in O, RhD-neg eritrociti) so pokazali, da gre za protitelesa anti-D. Pacientu smo zagotavljali RhD-neg krvne komponente.

V tretjem primeru smo pri 64-letnem A RhD-poz pacientu 27. dan po presaditvi jeter ugotavljali pozitivne navzkrižne preizkuse z A, RhD-poz eritrociti, medtem ko so bili navzkrižni preizkusi z O, RhD-poz eritrociti negativni. KS darovalca jeter je bila O, RhD-poz. V eluatu nismo uspeli potrditi protiteles anti-A, vendar smo glede na rezultate seroloških testov pacienta obravnavali kot primer SPL. Svetovali smo prejemanje O, RhD-poz eritrocitov na podlagi dokončanih navzkrižnih preizkusov.

Zaključek

Pri presaditvi solidnih organov ali krvotvornih matičnih celic lahko z organom preneseni limfociti B proizvajajo protitelesa proti eritrocitnim antigenom prejemnika ter povzročijo imunsko hemolizo, ki jo imenujemo SPL. Hemoliza se običajno pojavi med četrtnim dnevom in tretjim tednom po presaditvi. Klinična slika se lahko giblje od blage hemolize do redko življenjsko ogrožajoče anemije. Zdravljenje SPL je večinoma podporno in vključuje transfuzije krvnih pripravkov darovalčeve krvne skupine, v hujših primerih pa tudi imunosupresivno oziroma imunomodulatorno zdravljenje.

SPL je razmeroma pogost zaplet po presaditvi organov, ki ga pogosto zaznamo le s serološkim testiranjem. Kot smo pokazali v predstavljenih primerih, moramo pri razreševanju neujemajočih oz. neskladnih rezultatov imunohematoloških testiranj ob naročilu krvi pomisliti tudi na možnost predhodne presaditve organa in SPL.

Literatura

1. Moosavi MM et al. Passenger Lymphocyte Syndrome; a Review of the Diagnosis, Treatment, and Proposed Detection Protocol. *Transfusion medicine reviews*. 2020; 32(3):178-87.
2. Marić I, Železnik K. Sindrom potujočih limfocitov. *Med Razgl*. 2003; 62(1):25-32.

3. Dirim AB et al: An atypical case of refractory passenger lymphocyte syndrome after renal transplantation, case report. *Nefrologia*. 2023;43(6):783–788.
4. Ramsey G. Blood banking in solid organ transplantation. *Annals of blood*. 2022;7:15:1-22.

Primer senzibilizacije po presaditvi krvotvornih matičnih celic

Nika Kraljić, Marjeta Maček Kvanka
KO za hematologijo, UKC Ljubljana, Zaloška cesta 2, 1000 Ljubljana
Zavod RS za transfuzijsko medicino, Šljajmerjeva 6, 1000 Ljubljana
marjeta.macek@ztm.si, nika.kraljic@kclj.si

Izvleček

Predstavljamo primer 62-letne bolnice z akutno mieloično levkemijo z mutacijo FLT3 ITD, zdravljene z alogensko presaditvijo krvotvornih matičnih celic. Ob molekularnem relapsu je prejela infuzijo darovalčevih limfocitov (DLI), po kateri se je razvila huda hemoliza ob prisotnosti alo- in avtoprotiteles. Stanje je bilo refrakturno na zdravljenje z imunoglobulini in rituksimabom, medtem ko je uvedba daratumumaba privedla do kliničnega in laboratorijskega izboljšanja. Primer ponazarja zapleteno imunsko dogajanje po presaditvi ter terapevtske izzive pri obravnavi imunskih zapletov

Prikaz primera

Predstavljamo primer 62-letne bolnice brez pomembnih pridruženih bolezní, ki je septembra 2024 zbolela s slabim počutjem in povišano telesno temperaturo. Ob sprejemu smo ugotovili pancitopenijo in povišan delež blastnih celic v periferni krvi. Punkcija kostnega mozga je potrdila akutno mieloično levkemijo (AML) z več kot 85-odstotno blastno infiltracijo. Kariotip je bil normalen, molekularno genetske preiskave pa so pokazale prisotnost mutacije FLT3-ITD. Razširjeno sekvenciranje (NGS) je dodatno razkrilo klinično pomembne različice v genih BCOR, IDH2, TET2, DNMT3A in CEBPA, pri čemer mutacija BCOR v skladu s klasifikacijama WHO in ICC opredeljuje AML z genetskimi spremembami, povezanimi z mielodisplazijo, kar je neugoden prognostični dejavnik.

Zaradi dobre telesne zmogljivosti smo uvedli indukcijsko kemoterapijo po shemi DA 3+7 v kombinaciji z midostaurinom, na kar je bolnica dobro odgovorila. Sledila sta dva cikla konsolidacijskega zdravljenja z visokimi odmerki citarabina, nato pa smo jo kandidirali za alogenično presaditev krvotvornih matičnih celic. V januarju 2025 je prejela nesorodno presaditev po mieloablativnem kondicioniranju TTF-ATG (tiotepa, treosulfan, fludarabin in antitimocitni globulin) ter standardno imunosupresijo s ciklosporinom in mikofenolatom mofetilom. Presaditev je spremljala prehodna okužba, hematološka regeneracija pa je potekala v pričakovanih časovnih okvirih. Ob presaditvi je prišlo do menjave krvne skupine iz 0 RhD negativne v darovalčevo B RhD pozitivno (major neskladje). Po presaditvi smo beležili skoraj popoln darovalčev himerizem, ki je začel upadati v začetku jeseni 2025.

V ambulantnem spremljanju so se pojavljale ponavljajoče se anemije, ki so zahtevale transfuzijsko podporo. Hemoliza je bila izključena, zato smo anemijo sprva pripisali delno neskladju krvnih skupin ter slabšemu delovanju presadka ob blagi obliki GVHD (reakcija presadka proti gostitelju), zaradi česar je bolnica prehodno prejemala zdravljenje s kortikosteroidi in ruksolitinibom. Glede na to, da na ZTM v vzorcih krvi niso nikoli zaznali B, RhD pozitivnih eritrocitov sklepamo, da je šlo na tej točki pri gospe za PRCO (čisto aplazijo rdeče vrste). Poleti 2025 je prišlo do reaktivacije EBV in nato še CMV; PET-CT ni pokazal znakov PTLD (post transplantacijske limfoproliferativne bolezni). Kontrolna punkcija kostnega mozga tri mesece po presaditvi je potrdila remisijo bolezni in odsotnost začetnih mutacij na NGS. Jeseni 2025 smo ponovno zaznali pojav začetnih mutacij, zato smo po umiritvi CMV-reaktivacije uvedli zdravljenje z infuzijo darovalčevih limfocitov (DLI). V istem obdobju smo v kostnem mozgu opazili razrast mastocitov s povišano vrednostjo triptaze, vendar kriteriji za sistemsko mastocitozo niso bili izpolnjeni, zato smo spremembe opredelili kot reaktivne.

Bolnica je prejela DLI decembra 2025, po čemer je bila še vedno transfuzijsko odvisna na račun PRCE in slabega delovanja presadka. Zatem je v februarju 2026 bolnica razvila hudo hemolizo z izrazitim padcem hemoglobina. Zavod za transfuzijsko medicino (ZTM) je potrdil prisotnost klinično pomembnih aloprotiteles ter tudi avtoprotiteles, kar je otežilo oskrbo z eritrocitnimi pripravki. Ultrazvok in CT trebuha sta pokazala hepatomegalijo, skladno s hemolitično obremenitvijo. Začetno zdravljenje z intravenskimi imunoglobulini in rituksimabom je imelo omejen učinek, hemoliza je vztrajala. Zaradi vztrajne hemolize in kombinacije alo- ter avtoprotiteles smo po odobritvi konzilija februarja 2026 uvedli zdravljenje z daratumumabom, po katerem se je bolnica klinično pomembno izboljšala. Na zadnji kontroli v mesecu aprilu 2026 smo beležili laboratorijsko odsotne znake hemolize, vztraja pa slabo delovanje presadka z nižji vrednostmi v krvni sliki.

Transfuzijska obravnava

Bolnica je 28.1.2025 prejela alogenično presaditev krvotvornih matičnih celic. Pri tem je šlo za major neskladje med prejemnico s krvno skupino (KS) 0, RhD negativna in darovalko s KS B, RhD pozitivna. Že pred presaditvijo je prejela več enot eritrocitov in trombocitov. Od presaditve dalje je skladno z navodili hematologov prejemala eritrocite KS 0, RhD negativne, trombocitov KS B, RhD negativne, sveže zmrznjene plazme ni potrebovala. Vse celične komponente so bile obsevane (doživljensko).

Po presaditvi je v letu 2025 mesečno prejemala od 2 do 7 enot eritrocitov (2025: feb 7, mar 2, apr 4, maj 4, jun 2, jul 5, avg 4, sept 4, okt 6, nov 2, dec 6) z negativnimi navzkrižnimi preizkusi in negativnim presejalnim Indirektnim Coombsovim (antiglobulinskim) testom (ICT). Ob presaditvi smo pri bolnici izhodiščno določili titer 64 izohemaglutinov anti-B (IgG in IgM), ki jih koncem oktobra nismo več zaznali. Od presaditve do danes pri testiranjih nikoli nismo ugotovili prisotnosti

B, RhD pozitivnih eritrocitov darovalčeve eritropoeze (vizualno gelska tehnika testiranja KS, merjenje RhD pozitivnih eritrocitov s pretočnim citometrom B, testiranje eluata).

Septembra 2025 je postal direktni Coombsov test (DCT) šibko pozitiven na račun IgG. Ob tem eluat ni bil reaktiven z B eritrociti. Od oktobra je bil DCT šibko reaktiven na račun vezave C3d. Konec decembra 2025 smo prvič ugotovili zaznali šibko reaktivnost plazme v smislu protiteles nerazvidne specifičnosti, ob tem je bil DCT nadalje pozitiven zaradi C3d.

V sredini januarja smo ugotovili senzibilizacijo na D in C antigene (darovalec D+C+). Plazemskim protitelesom jasnih specifičnosti anti-C in anti-D smo določili titer 4. Z dodatnimi testiranjmi smo izključili prisotnost protiteles specifičnosti anti-G (-CD), ki bi potencialno lahko bila posledica transfuzij krvnih komponent D-C+. Glede na način reaktivnosti kot tudi specifičnosti smo odkrita protitelesa interpretirali kot aloprotitelesa prejemničinega izvora usmerjena proti antigenom D in C na darovalčevih eritrocitih (katerih prisotnosti sicer nikoli nismo ugotovili). Zaradi odsotnosti D+C+ eritrocitov (darovalčevega izvora) v krvnem obtoku bolnice, odkrita protitelesa specifičnosti anti-D in anti-C niso mogla povzročiti hemolize. Dodatno smo v plazmi in eluatu ugotovili prisotnost šibkih panreaktivnih protiteles, najverjetneje avtoprotiteles. DCT je bil pozitiven na račun IgG in C3d. Hladni aglutinini so bili reaktivni pod 20 st. C in posledično klinično nepomembni. Do konca januarja 2026 je bolnica prejela skupno 6 enot razširjeno antigensko skladnih eritrocitov z negativnimi navzkrižnimi preizkusi. Krvodajalce smo izbirali in usmerjeno klicali upoštevaje skladnost v eritrocitnih antigenih s prejemnico in darovalko. Pri obeh smo antigene določili z genotipizacijo DNK iz vzorcev pridobljenih pred presaditvijo. Zagotavljali smo D-C-E-, K-, Fy(a-), S- in M- eritrocite.

V februarju 2026 so navzkrižni preizkusi z razširjeno antigensko skladnimi eritrociti postali pozitivni, skupno je prejela 21 enot eritrocitov. Zaradi močnejše reaktivnosti plazme, najverjetneje na račun toplih avtoprotiteles razreda IgG, smo za izključevanje dodatnih nepričakovanih aloprotiteles navzkrižne preizkuse izvajali s 4x aloadsorbirano plazmo. Po uvedbi daratumumaba smo eritrocite izdajali na osnovi testiranja 4x aloadsorbirane plazme nevtralizirane s topno substanco sCD38. V marcu 2026 je bolnica prejela 6 razširjeno antigensko skladnih enot eritrocitov s pozitivnimi navzkrižnimi preizkusi, ki so posledica zdravljenja z daratumumabom kot tudi prisotnosti avtoprotiteles. Dodatnih nepričakovanih aloprotiteles nismo več ugotovili.

Rezultati imunohematoloških preiskav v februarju 2026, kjer smo ugotavljali prisotnost toplih avtoprotiteles razreda IgG, so skladni z zagonom tople AIHA (sekundarna AIHA po presaditvi krvotvornih matičnih celic) in posledično hudo hemolizo z znatno povečano potrebo po transfuzijah eritrocitov (21 enot). Stanje se je pomembno izboljšalo po uvedbi zdravljenja z daratumumabom.

Zaključek

Predstavljen primer 62-letne bolnice z AML po alogenski presaditvi krvotvornih matičnih celic prikazuje zapleten potek z reakcijo presadka proti gostitelju (GVHD), razvojem zelo verjetne primarne odpovedi eritropoeze (PRCA), molekularnim relapsom in posledično zdravljenjem z infuzijo darovalčevih limfocitov (DLI). Po DLI je z zamikom prišlo do kombiniranega aloimunskega in avtoimunskega odziva z razvojem hude avtoimunske hemolize (AIHA), ki je bila refraktorna na standardno zdravljenje z imunoglobulini in rituksimabom, vendar se je klinično pomembno izboljšala po uvedbi daratumumaba. Dogajanje pri bolnici odraža kompleksno imunsko dinamiko po presaditvi, kjer DLI lahko sproži tako želeni graft-versus-leukemia učinek kot tudi neželene imunske zaplete. Ključno vlogo ima verjetno T-celično posredovan mehanizem v sklopu kroničnega GVHD in motene imunske regulacije ob slabem delovanju presadka. Učinkovitost daratumumaba nakazuje pomembnost plazmatk v patogenezi hemolize in predstavlja obetavno terapevtsko možnost pri refraktarnih primerih.

Literatura

1. Arber DA, Orazi A, Hasserjian RP, Borowitz MJ, Calvo KR, Kvasnicka H-M, et al. International Consensus Classification of Myeloid Neoplasms and Acute Leukemias: integrating morphologic, clinical, and genomic data. *Blood*. 2022;140(11):1200–28
2. Sureda A, Corbacioglu S, Greco R, Kröger N, Carreras E. *The EBMT Handbook: Hematopoietic Cell Transplantation and Cellular Therapies* (8th ed. 2024.). Cham: Springer International Publishing: 206-8.
3. Hill QA, Stamps R, Massey E, Grainger JD, Provan D, Hill A. Guidelines on the management of drug-induced immune and secondary autoimmune haemolytic anaemia. *Br J Haematol*. 2017;177(2):208–220. doi:10.1111/bjh.14478

Izzivi pri določitvi plodovega *RHD* pri nosečnicah po transplantaciji organov

Tadeja Dovč Drnovšek, Janja Mrak

Zavod RS za transfuzijsko medicino, Šlajmerjeva 6, 1000 Ljubljana

tadeja.dovc-drnovsek@ztm.si

Uvod

Hemolitična bolezen ploda in novorojenčka (HBPN) zaradi protiteles anti-D ostaja klinično pomemben zaplet v nosečnosti. Nastane zaradi neujemanja v antigenu RhD med materjo in plodom in posledično nastanka protiteles anti-D pri nosečnici, ki prehajajo skozi posteljico v plodov krvni obtok, kjer povzročijo hemolizo plodovih eritrocitov. Preventivno injiciranje imunoglobulina (Ig) anti-D RhD-negativnim (RhD-neg) nosečnicam, sprva po porodu, kasneje tudi v primeru potencialno senzibilizirajočih dogodkov in v tretjem trimesečju nosečnosti, je znatno znižalo stopnjo senzibilizacije RhD-neg nosečnic, in sicer iz 14 % na 0,1–0,3 %.

Prelomnico na področju zaščite RhD-neg nosečnic je predstavljalo odkritje zunajcelične plodove DNA (zcp-DNA) v materini plazmi leta 1997. Zcp-DNA izvira predvsem iz trofoblastnih celic posteljice, v materini krvi je prisotna že v zgodnji nosečnosti in predstavlja približno 10–15 % celotne zunajcelične DNA (zc-DNA) v materini krvi.

Z uvedbo neinvazivnega določanja plodovega *RHD* na nivoju zcp-DNA iz plazme RhD-neg nosečnic je bil v Sloveniji leta 2018 omogočen prehod k ciljani zaščiti RhD-neg nosečnic. Zaščito z Ig anti-D danes tako dobijo le RhD-neg nosečnice, ki nosijo RhD-pozitiven (RhD-poz) plod in pa nosečnice, pri katerih zaradi različnih razlogov plodove krvne skupine (KS) RhD ne moremo napovedati. Pri imuniziranih nosečnicah vodi določitev plodovega genotipa *RHD* k ustreznemu vodenju nosečnosti.

Zaradi visoke občutljivosti metode verižne reakcije s polimerazo v realnem času (*angl.* real-time polymerase chain reaction or qualitative polymerase chain reaction, qPCR) obstajajo klinične situacije, ki lahko vplivajo na interpretacijo rezultatov. Svojevrsten izziv pri neinvazivni določitvi plodovega genotipa *RHD* so RhD-neg nosečnice po presaditvi čvrstega organa. Zaradi propadanja celic darovanega organa se v krvi prejemnika nahaja zunajcelična DNA (zc-DNA) darovalca organa, njena prisotnost pa lahko vpliva na zaznavo zcp-DNA v krvnem obtoku nosečnice. V primeru, da je darovalec organa RhD-poz, tako obstaja tveganje za napačno predvidevanje plodovega fenotipa RhD. To vodi v nepotrebno preventivno injiciranje Ig anti-D, pri imuniziranih nosečnicah pa v nepotrebne dodatne preglede in testiranja med nosečnostjo.

Na podlagi testiranja šestih vzorcev plazme štirih RhD-neg nosečnic po presaditvi čvrstega organa bomo prikazali pomen razumevanja omejitev pri določanju plodovega genotipa *RHD* na nivoju

testiranja zcp-DNA ter pomen individualne obravnave nosečnic pri končni odločitvi glede predvidenega fenotipa RhD ploda.

Material in metode

V sklopu ciljane zaščite nosečnic z Ig anti-D smo testirali šest vzorcev plazme štirih RhD-neg nosečnic po predhodni presaditvi čvrstega organa. Vzorci so bili odvzeti med 25. in 28. tednom nosečnosti. Pri eni nosečnici smo testirali vzorce treh nosečnosti, podatek o presaditvi organa, ki je bila izvedena že pred prvo nosečnostjo, pa smo prejeli šele v drugi nosečnosti. Pri treh nosečnicah je šlo za stanje po presaditvi ledvice, pri eni po presaditvi jeter. Pri dveh nosečnicah je bil darovalec organa RhD-poz, pri eni RhD-neg, za eno nosečnico pa podatka nismo uspeli pridobiti. Določitev plodovega genotipa *RHD* smo izvedli z zaznavanjem prisotnosti posameznih regij gena *RHD* z najvišjo napovedno vrednostjo z metodo qPCR.

Rezultati

Pri prvi nosečnici, pri kateri je bil darovalec organa RhD-poz, smo predvideli, da je plod RhD-poz, vendar po rojstvu nismo prejeli podatka o KS otroka. Pri drugi nosečnici, pri kateri je bil darovalec organa RhD-poz, smo pravilno predvideli, da je plod RhD-neg. Pri nosečnici, pri kateri KS RhD darovalca organa ni bila znana, smo predvideli da je plod RhD-poz, vendar po rojstvu prav tako nismo prejeli podatka o KS otroka. Zaradi previdnosti smo v vseh treh primerih v sklopu ciljane zaščite izdali izvid, da določitev plodovega genotipa *RHD* ni možna in priporočili preventivno injiciranje Ig anti-D. Pri nosečnici, pri kateri smo testirali vzorce treh nosečnosti, je bila darovalec organa RhD-neg. V prvi nosečnosti smo predvideli, da je plod RhD-neg, v drugi nosečnosti smo predvideli, da je plod RhD-poz, v tretji nosečnosti pa smo predvideli, da je plod RhD-neg. Po rojstvu drugega in tretjega otroka smo predviden fenotip RhD tudi potrdili.

Razprava

V periferni krvni prejemnika čvrstega organa se zaradi propadanja celic darovanega organa nahaja zc-DNA darovalca. V primeru, da je darovalec RhD-poz, lahko njegova zc-DNA pri določitvi plodovega genotipa *RHD* v vzorcu plazme RhD-neg nosečnice vodi do napačnega zaključka o predvidenem plodovem fenotipu RhD. Pri treh nosečnicah, pri katerih je bil darovalec RhD-poz oz. KS RhD darovalca ni bila znana, smo kljub temu, da smo v enem primeru predvideli, da je plod RhD-neg, izdali izvid, da določitev plodovega genotipa *RHD* ni možna. Svetovali smo preventivno injiciranje Ig anti-D. V enem primeru je bila otroku po rojstvu določena KS RhD-neg, v tem primeru zaščita z Ig anti-D med nosečnostjo ni bila potrebna. Pri nosečnici, pri kateri je bil darovalec organa

RhD-neg, pa smo svetovali zaščito z Ig anti-D le v tisti nosečnosti, v kateri smo predvideli, da je plod RhD-poz.

Zaključek

Odkritje zcp-DNA je omogočilo prehod od univerzalne do ciljane zaščite RhD-neg nosečnic z Ig anti-D. Z naraščanjem števila bolnic po presaditvi čvrstega organa v reproduktivnem obdobju predstavlja prisotnost zc-DNA darovalca pomemben vir interference pri neinvazivnem določanju plodovega *RHD*, ki je lahko spregledan. Razumevanje omejitev testiranja na nivoju zc-DNA v povezavi s presaditvami in upoštevanje ustreznih podatkov o darovalcu organa je ključno za pravilno interpretacijo rezultatov testiranja, ki temeljijo na zaznavi zcp-DNA, in s tem za zagotavljanje individualizirane in varne obravnave nosečnic.

Literatura

1. Thurik FF et al. Fetal RHD genotyping after bone marrow transplantation. *Transfusion*. 2016;00;01–05.
2. Koelewijn JM, de Haas M, Vrijkotte TG, Bonsel GJ, van der Schoot CE. One single dose of 200 microg of antenatal RhIG halves the risk of anti-D immunization and hemolytic disease of the fetus and newborn in the next pregnancy. *Transfusion*. 2008;48(8):1721-9.
3. Bricl I. Ciljana zaščita z IgG anti-D. Neinvazivna določitev plodovega genotipa RhD iz periferne krvi RhD-negativnih nosečnic. In: Stezinar SL. Zbornik predavanj strokovnih srečanj Zdrženja za transfuzijsko medicino Slovenije. 2017 Apr 7-8; Zreče, Slovenija. V Ljubljani: Slovensko zdravniško društvo; 2017.
4. Kang H et al. Donor-derived cell-free DNA in solid organ transplantation: analytical considerations, diagnostic performance, and clinical interpretation. *Clin Transplant Res*. 2025 Sep 8;39(3):200–213.
5. Edwards RL, Menteeer J, Iestz Rm, Baxter-Lowe LA. Cell-free DNA as a solid-organ transplant biomarker: thechnologies and approaches. *Biomarkes in Medicine*. 2022;16(5):401-415.
6. Dovč-Drnovšek T, Klemenc P, Toplak N, Blejec T, Bricl I, Rožman P. Reliable Determination of Fetal RhD Status by RHD Genotyping from Maternal Plasma. *Transfus Med Hemother*. 2013;40(1):37–43.
7. Hartman T, Dovč-Drnovšek T, Bricl I. Uvedba nacionalnega programa Neinvazivna določitev plodovega genotipa RHD iz periferne krvi RhD-negativnih nosečnic – presejalni test na Zavodu RS za transfuzijsko medicino. *Isis*. 2020:38–41.

Himerizem v sistemu ABO, Rh in HLA pri krvodajalcu

Tadeja Dovč Drnovšek, Aleksandra Bajt, Andrijana Mendez, Marko Cukjati
Zavod RS za transfuzijsko medicino, Šlajmerjeva 6, 1000 Ljubljana
tadeja.dovc-drnovsek@ztm.si

Uvod

Himera je organizem, ki vsebuje celice dveh ali več ločenih zigot. Naravna himera je posledica izmenjave krvi pri dizigotnih dvojčkih (krvni himerizem) ali zlitja dveh zarodkov (tertragametična himera). Človeška himera je bila prvič odkrita v raziskavah krvnih skupin leta 1953. Himerizem običajno odkrijemo ob serološkem določanju krvne skupine (KS), ko opazimo mešano aglutinacijo ali dvojno celično populacijo.

Identifikacija himerizma je v transfuzijski medicini pomembna, saj že razmerje himerizma nižje od 5 % lahko povzroči resne zaplete pri transfuziji. Določitev himerizma v transfuzijski medicini dandanes še vedno predstavlja izziv. Za ugotavljanje himerizma lahko uporabljamo serološke metode in molekularno-biološke metode. Določitev KS ABO na nivoju DNA poleg tega predstavlja še poseben izziv, saj alel *ABO*^{A1}* lahko določimo le z izključevanjem ostalih alelov gena *ABO*.

V praksi se ob odkritju, da je krvodajalec himera le-tega v bodoče zavrne kot krvodajalca.

Na Zavodu RS za transfuzijsko medicino smo pri krvodajalcu pri osnovni KS ABO posumili na prisotnost himere. Z izvedbo različnih seroloških in molekularno-bioloških testov na vzorcih, odvzetih v različnih časovnih obdobjih smo poskusili dokazati obstoj dveh ločenih linij krvnih celic.

Prikaz primera

Krvodajalec je prvič daroval kri leta 1997. Serološka določitev KS ABO je kazala na KS O, RhD-pozitivno (RhD-poz). Ob ponovnem darovanju krvi leta 1998 smo v antigenskem (Ag) delu določitve KS ABO zaznali šibko dvojno celično populacijo (DCP). Prisotna so bila le protitelesa anti-B. Odtlej se je krvodajalec se je vodil kot A, RhD-poz. Leta 1999 smo pri serološkem testiranju dobili enake rezultate. Ob uvedbi genske tipizacije krvno skupinskih sistemov smo iz tega vzorca opravili gensko tipizacijo KS ABO z uporabo komercialnih setov z metodo verižne reakcije s polimerazo s sekvenčno specifičnimi začetnimi oligonukleotidi (*angl.* polymerase chain reaction with Sequence-Specific Primers, PCR-SSP). Genotip krvodajalca je bil *ABO*^{O1/O2}*, kar kaže na KS O. Prisotnosti alela *ABO*^{A1}* ali pa njegove različice za šibko podskupino A zaradi takratne omejitve testa in posebnosti pri določevanju prisotnosti alela *ABO*^{A1}* nismo mogli niti potrditi niti izključiti. Indirektni in direktni Coombsov test sta bila negativna. V študijo smo vključili starša in sorojenko ter opravili družinsko anamnezo. Družinskim članom smo določili KS ABO, Rh in še Ag

krvnoskupinskih sistemov MNS, Kell, Duffy, Kidd, Lutheran. Pri krvodajalcu pri nobenem od testiranih Ag nismo našli DCP ali mešane aglutinacije. Z dodatnim testiranjem s tehniko adsorbcije in elucije smo na eritrocitih krvodajalca dokazali prisotnost Ag A. Pri določitvi genotipa *ABO* se je izkazalo, da sta starša genotipsko *ABO* O1/A1* (serološko A) in *ABO* O2/A1* (serološko A). Na podlagi dobljenih rezultatov smo sklepali, da bi krvodajalec dejansko lahko imel zapis za alel *ABO*A1*. Sorojenka je imela genotip *ABO* O1/A1*. Vzorce smo naknadno genotipizirali še v sistemu HLA z metodo PCR-SSP. Sistem HLA je veliko bolj polimorfen, saj posamezni geni *HLA* ne obstajajo le v bialelni obliki, kot je to v večini eritrocitnih sistemov. Rezultati so pokazali, da je krvodajalec nosilec zapisa za tri antigene na lokusu *DRB1* gena *HLA-DRB*, in sicer *DRB1*07*, *DRB1*11:01* in *DRB1*11:04*.

Leta 2025 se je pri krvodajalcu začela pojavljati DCP tudi pri določitvi Ag RhD (prej RhD-poz) in s sumom na DCP tudi pri Ag RhE (prej RhE-neg). Zato smo iz vzorcev, odvzetih leta 1999 in 2025 opravili genotipizacijo za določitev alelov z Ag, ki so bili leta 1999 negativni pri krvodajalcu in pozitivni pri enem od staršev, pri čemer je moral biti starš v tem sistemu heterozigot. Pri obeh vzorcih smo dobili identične rezultate: *RHCE*Ee*, *MNS*ss*, *FY*AA*, pri čemer se je izkazalo, da je pri vzorcu iz leta 1999 prišlo do neskladja med genotipom in serološkimi rezultati za Ag RhE (alel *RHCE*E* prisoten, Ag RhE-neg). Zaradi razrešitve DCP za Ag RhD smo predvidevali, da sta oba RhD-poz starša hemizigota za gen *RHD*, saj ima krvodajalec očitno eno linijo RhD-neg celic. Zaradi pomanjkanja DNA staršev smo hemizigotnost za *RHD* lahko potrdili le pri mami. Naknadno smo vzorce DNA poslali na tipizacijo sistema HLA z novejšimi in občutljivejšimi metodami, kot sta PCR v realnem času (*angl.* real-time PCR ali qualitative PCR, qPCR) in sekvenciranje naslednje generacije (*angl.* next-generation sequencing, NGS). Po končanih reakcijah qPCR program za analizo podatkov ni mogel določiti prisotnosti le dveh od staršev podedovanih alelov, saj se je nakazovala možnost prisotnosti večih alelov na genih *HLA-B*, *HLA-C* in *HLA-DRB*. Z metodo NGS pa po analizi podatkov nismo dobili rezultatov, ki bi nakazovali prisotnost himere v testiranem vzorcu.

Razprava

V transfuzijski medicini je določitev KS ABO in RhD krvodajalca pomembna, saj le tako lahko bolnikom zagotavljamo varne transfuzije. Sicer redki objavljeni primeri pojava himerizma kažejo različne pristope testiranja, z različnimi kombinacijami seroloških testov in molekularno-bioloških metod. Na ZTM smo med rutinskim serološkim testiranjem večkratnega dajalca krvi posumili na prisotnost himere. Pri prvi določitvi KS ABO je bila pri krvodajalcu določena KS O, RhD-poz. Pri ponovnem darovanju krvi, se je pri serološkem testiranju za KS ABO pojavila DCP za Ag A. Kljub genotipizaciji sistema ABO z metodo PCR-SSP v vzorcu nismo mogli potrditi prisotnost alela za Ag A. Pri serološkem testiranju na ostale eritrocitne Ag nismo našli DCP. V študijo smo vključili tudi starše in šele z analizo sistema HLA z metodo PCR-SSP potrdili prisotnost treh alelov in s tem dejansko prisotnost himere pri krvodajalcu. Po večkratnih darovanjih krvi smo pri krvodajalcu leta

2025 poleg DCP za Ag A zaznali še DCP za Ag RhD in RhE. Z genotipizacijo prvega vzorca, kjer smo našli le DCP za Ag A, smo potrdili tudi prisotnost specifičnega produkta za alel *RHCE*E*, kar kaže na diskrepanco seroloških in molekularno-bioloških rezultatov. Z novejšimi molekularno-biološkimi metodami, kot sta qPCR in NGS, pri analizi sistema HLA nismo potrdili rezultatov genotipizacije, ki smo jih dobili z metodo PCR-SSP, kar je bilo po eni strani presenetljivo, saj naj bi bili metodi bolj občutljivi. Po drugi strani pa je razlog za slednje diskrepantne rezultate lahko tudi sama sestava komercialnih kitov, dolgi odčitki pomnoženih sekvenc DNA in nastavitve v programu za analizo podatkov. Na ZTM smo pri sumu na himero pri krvodajalcu tako uporabili vse razpoložljive metode, ki so dale zanimive in diskrepantne rezultate.

Prav tako smo po opravljenih preiskavah krvodajalca obvestili o izsledkih in ga, tako kot je predlagano v sicer redki literaturi, izključili iz nadaljnjega darovanja polne krvi ter ga povabili le k darovanju plazme.

Zaključek

V transfuzijski medicini se pri rutinski določitvi KS ABO in RhD lahko posumi na prisotnost himere, kar je pri krvodajalcih sicer redek pojav. Z različnimi pristopi testiranja vzorca in vključitvijo preostalih družinskih članov lahko dejansko potrdimo prisotnost himere. Pri tem je pomembno, da se zavedamo eventualnih prednosti in slabosti posameznih metod. Zaradi možnih zapletov pri bolniku po transfuziji krvi krvodajalca-himere, je tega potrebno obvestiti o izsledkih testiranj in ga izključiti iz nadaljnjega darovanja polne krvi.

Literatura

1. Bluth MH, Reid ME, Manny N. Chimerism in the immunohematology laboratory in the molecular biology era. *Transfus Med Rev.* 2007;21:134-46.
2. Dunsford I, Bowlfy CC, Hutchison AM, Thompson JS, Sanger R, Race RR et al. A human blood-group chimera. *Br Med J.* 1953;2:81.
3. Madan K. Natural human chimeras: a review. *Eur J Med Genet.* 2020;63:103971.
4. Sharpe C, Lane D, Cote J, Hosseini-Maaf B, Goldman M, Olsson ML, Hult AK. Mixed field reactions in ABO and Rh typing chimerism likely resulting from twin haematopoiesis. *Blood Transfus* 2014;12:608-10.
5. Denomme G. Acute intravascular hemolysis after the infusion of a chimeric red blood cell unit. *Transfusion.* 2004;44:1220 author reply 1120-1.



ZHS

Združenje hematologov
Slovenije