

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ

МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

Миломир С. Милановић

Клиничко - серолошка евалуација  
вакцинације против сезонског грипа код  
особа оболелих од аутоимуних реуматских  
болести

Докторска дисертација

Београд, јун 2013.

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF MEDICINE

Milomir S. Milanović

Clinical and Serological Evaluation of the  
Vaccination against Seasonal Influenza in  
Autoimmune Rheumatic Diseases Patients

Doctoral Dissertation

Belgrade, June 2013

Ментор: Проф. др Елеонора Гвозденовић

Клиника за инфективне и тропске болести, Клинички центар Србије,  
Медицински Факултет, Универзитет у Београду

Коментор: научни саветник др Људмила Стојановић

Клиничко- болнички центар "Бежанијска коса", Одељење интерне медицине,  
наставна база Медицинског Факултета Универзитета у Београду

Комисија:

Проф. др Милорад Павловић

Клиника за инфективне и тропске болести, Клинички центар Србије,  
Медицински Факултет, Универзитет у Београду

Проф. др Роксанда Стојановић

Институт за Реуматологију, Клинички центар Србије,  
Медицински Факултет, Универзитет у Београду

Проф. др Божидар Антонијевић, професор у пензији

Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду

Датум одбране

## ЗАХВАЛНИЦА

Захваљујем се ментору професорки Елеонори Гвозденовић на великој подршци и разумевању, као и драгоценим сугестијама у току израде овог рада.

Велику захвалност дугујем коментору научном саветнику Људмили Стојановић на инспиративној сарадњи и корисним саветима који су допринели успешном завршетку овог пројекта.

Захваљујем се уваженим професорима Милораду Павловићу, Роксанди Стојановић и Божидару Антонијевићу што су препознали и вредновали значај описане научне проблематике.

Захвалан сам колективу Клинике за инфективне и тропске болести ВМА на челу са проф. др Дарком Ножићем на помоћи у току извођења студије.

Захваљујем се својој породици, супрузи Снежани, синовима Михајлу и Станисаву на моралној и техничкој подршци. Захвалан сам својим родитељима на свему што су учинили за моју сестру и мене.

## Клиничко - серолошка евалуација вакцинације против сезонског грипа код особа оболелих од аутоимуних реуматских болести

### Резиме

**Увод:** Пацијенти оболели од аутоимуних реуматских болести имају значајно већи ризик да добију различите инфекције у поређењу са здравом популацијом. Плућне инфекције су значајан узрок морбидитета и морталитета код аутоимуних реуматских болести.

**Метод:** Наша студија је обухватила пацијенте који болују од системског еритемског лупуса (СЕЛ, бр = 28), реуматоидног артритиса (РА, бр = 20) и Сјогреновог синдрома (СјС, бр = 18), у стабилном стању основне болести. У новембру 2010, 46 пацијената је вакцинисано са инактивисаном тровалентном, сплит вакцином која садржи 15  $\mu\text{g}$  ХА А/Калифорнија/7/2009 (Х1Н1), 15  $\mu\text{g}$  ХА А/Перт/16/2009 (Х3Н2) и 15  $\mu\text{g}$  / ХА Б Бризбејн / 60/2008, док 20 болесника нису прихватили предлог вакцинације у том периоду. Присуство вирусних (првенствено грип) и бактеријских инфекција, параметара активности болести (од датума вакцинације до априла 2011) и титар антитела према вирусу А Х1Н1 су потом праћени код вакцинисаних и невакцинисаних пацијената. Користили смо тест инхибиције хемаглутинације (према методи Центра за контролу и превенцију болести (ЦДЦ)) са антигеном вируса грипа А/Калифорнија/7/2009 (Х1Н1) и еритроцитима ћурке за доказивање антитела против А Х1Н1. Идентификовали смо значај предиспонирајућих фактора за настанак грипа (тј. претходне респираторне инфекције и вакцинације у последњих пет година, старост, пол, врста болести и трајање, лекови, пушење) у овим групама пацијената.

**Резултати:** Учесталост грипа и укупних вирусних инфекција међу вакцинисаним пацијентима је била знатно мања у односу на невакцинисану групу пацијената. Није било случајева погоршања основне болести. Серопротективни титар  $\geq 32$  је био присутан код 22 од 46 вакцинисаних пацијената (48%) и код 3 од 20

невакцинисаних болесника (15%). Разлика је статистички значајна ( $p < 0,05$ ). Без обзира на разлике у нивоу титра антитела, ефикасност вакцинације код ових болести је значајна и веома слична, пре свега као заштита од грипа (клинички и субклинички грип), као и индиректно против секундарних бактеријских компликација. Није доказано да је употреба имуносупресивне терапије код СЕЛ и РА пацијената (кортикостероиди у комбинацији са метотрексатом) значајно утицала на ниво хуморалног одговора ( $p = 0,278$ ). Последња вакцинација у 2010 смањује ризик од грипа за 80%, док претходне бактеријске инфекције (бронхитис) значајно повећавају ризик од добијања грипа.

**Закључак:** У нашем раду смо показали да код пацијената оболелих од СЛЕ, РА и СјС предности вакцинације далеко премашују потенцијално штетне ефекте, односно да је знатно већи ризик од погоршања основне болести проузрокован вирусном или бактеријском инфекцијом него самом вакцинацијом. У овом раду смо доказали ефикасност, довољну имуногеност и безбедност примене модерне вакцине против грипа код пацијената оболелих од СЛЕ, РА или СјС.

Кључне речи: аутоимуне реуматске болести, вакцина против грипа, ефикасност, респираторне инфекције, безбедност

Научна област: Интерна медицина- инфектологија

Посебно подручје: инфлуенца вакцинација и аутоимуне болести

## Clinical and serological evaluation of the vaccination against seasonal influenza in autoimmune rheumatic diseases patients

### Abstract

**Introduction:** Patients suffering from autoimmune rheumatic diseases have significantly higher risk of developing various infections compared to the healthy population. Pulmonary infections are a significant cause of morbidity and mortality in autoimmune rheumatic diseases.

**Methods:** Our study included patients suffering from systemic lupus erythematosus (SLE, n = 28), rheumatoid arthritis (RA, n = 20) or Sjögren's Syndrome (SjS, n = 18), with stable underlying diseases status. In November 2010, 46 patients were immunized with an inactivated trivalent split vaccine containing 15 µg HA A/California/7/2009 (H1N1), 15 µg HA A/Perth/16/2009 (H3N2) and 15 µg HA B/Brisbane/60/2008 whereas 20 patients did not accept proposed vaccination in that period. The presence of viral (primarily influenza) and bacterial infections, parameters of disease activity (from the date of vaccination until April 2011) and titers of antibodies against virus A H1N1 were then monitored in vaccinated and unvaccinated patients. We used the hemagglutination inhibition assay (according to the center for disease control and prevention (CDC) method) with influenza virus antigen A/California/7/2009 (H1N1) and turkey erythrocytes for proving antibodies against A H1N1. We have identified the importance of predisposing factors for influenza occurrence (i.e. previous respiratory infections and vaccinations in last five years, age, sex, type of disease and duration, medications, smoking) in those groups of patients.

**Results:** The incidence of influenza and total viral infections among vaccinated patients was significantly lower, compared to the non-vaccinated group. Importantly, there was no case of exacerbation of the underlying disease. Seroprotective titer  $\geq 32$  was present in 22 of 46 vaccinated patients (48%) and in 3 of 20 unvaccinated patients (15%). The

difference was statistically significant ( $p < 0.05$ ). Regardless of differences in the level of antibody titers, the efficiency of vaccination in these diseases is significant and very similar, primarily as protection against influenza (both clinical and subclinical), as well as indirectly against secondary bacterial complications. It has not been proven that the use of immunosuppressants in SLE and RA patients (steroids in combination with methotrexate) significantly influenced the level of the humoral response ( $p = 0.278$ ). The last vaccination in 2010 reduced the risk of influenza by 80%, but previous bacterial infections (bronchitis) increased influenza risk significantly.

**Conclusions:** In our paper, we have proved that in patients suffering from SLE, RA and SjS the benefits of vaccination by far outweigh potential harmful effects, i.e. that there is a considerably higher potential risk from exacerbation of the underlying disease caused by a viral or bacterial infection than by vaccination. In this paper, we have proved the efficiency, sufficient immunogenicity and safety of modern influenza vaccine application in patients suffering from SLE, RA or SjS.

**Keywords:** autoimmune rheumatic disease; influenza vaccine; efficiency; respiratory infections; safety

Scientific field: Internal medicine- infectology

Special topic: Influenza vaccination and autoimmune diseases



## Садржај:

1. Увод.....	1
1.1. Механизми аутоимуности и имунолошка толеранција.....	4
1.2. Етиологија и патогенеза аутоimunих болести.....	9
1.3. Фактори спољне средине и аутоимуне болести.....	15
1.3.1. Инфективни агенси.....	15
1.3.2. Протективни значај инфекција.....	23
1.3.3. Значај вакцина у развоју аутоимуних болести.....	25
1.4. Аутоимуне реуматске болести и инфекције.....	28
1.4.1. Системски еритемски лупус.....	28
1.4.2. Реуматоидни артритис.....	29
1.4.3. Сјегренов синдром.....	30
1.4.4. Инфекције у аутоимуним реуматским болестима.....	31
1.5. Проблем грипа код аутоимуних реуматских болести.....	36
1.5.1. Грип.....	36
1.5.2. Вакцина против грипа.....	39
1.5.3. Радна хипотеза.....	42
2. Циљеви истраживања.....	43
3. Материјал и методе.....	44
4. Резултати.....	47
4.1. Опште карактеристике пацијената.....	47
4.2. Респираторне инфекције и вакцинација.....	48

4.3. Значај различитих предиктивних фактора.....	50
4.4. Титар антитела према вирусу грипа А/Х1Н1.....	56
4.5. Серопротективни титар и заштита од грипа.....	62
4.6. Ефективност и безбедност вакцинације.....	66
5. Дискусија.....	68
5.1. Клинички аспекти вакцинације против грипа и безбедност примене код аутоимунних реуматских болести.....	70
5.2. Хуморални аспекти вакцинације против грипа и значај одређених предиктивних фактора у вакциналној ефикасности.....	74
5.2.1. СЕЛ и вакцинација против грипа.....	74
5.2.2. РА и вакцинација против грипа.....	80
5.2.3. СјС и вакцинација против грипа.....	84
5.3. Клиничко- серолошка процена ефеката вакцинације у корелацији са одређеним предиктивним факторима.....	86
6. Закључци.....	88
7. Литература.....	91

Биографија

## 1. УВОД

Вакцинација против сезонског грипа пацијената са аутоимуним реуматским болестима (АИРБ) је дуго времена предмет дискусија и полемика. Постоје бројне контраверзе о ефикасности вакцинације, њеној имуногености и значају могућих штетних ефеката у погоршању основне болести или индукцији нових аутоimunих поремећаја.

Аутоимуне болести представљају широк спектар различитих акутних и хроничних поремећаја у чијој основи лежи губитак толеранције имунолошког система према сопственим антигенима.<sup>1</sup> Етиологија ових болести је веома комплексна и није до данас у потпуности разјашњена. Термин “мозаик имунитета” подразумева многоструки приступ њиховим узроцима. Најчешће се доводи у везу са генетским факторима, поремећајима имунитета, хормонским поремећајима, али и утицајима спољне средине. Од разнородних фактора спољне средине који могу имати улогу у етиологији аутоимуних болести указује се првенствено на бројне инфекције, вакцине, стрес, пушење, географско подручје итд.<sup>2,3,4</sup> Одређени микроорганизми због сличности својих антигена са антигенима домаћина (молекуларна мимикрија) изазивају сложену имунолошку реакцију организма која је усмерена и према сопственим ткивима.<sup>5</sup>

Инфективни агенс (природни или вакцинални сој) може деловати стимулативно у активацији и потенцијацији имунолошког одговора, што води ка развоју или егзацербацији хроничних аутоимуних болести. Проучавање улоге инфлуенца вакцинације у настанку системског еритемског лупуса (СЕЛ) или реуматоидног артритиса (РА) је у дужем временском периоду изазов за бројне истраживаче.<sup>6,7</sup> Становишта која говоре против употребе инфлуенца вакцине су проистекла из претпоставки о појави аутоимуних обољења код предходно здравих вакцинисаних особа, иако директна узрочно-последична веза није дефинитивно потврђена.<sup>8,9</sup> С друге стране, постоје радови о доброј толеранцији модерне инфлуенца вакцине код болесника са СЕЛ и РА, без погоршања основне болести после вакцинације и са развојем доброг хуморалног одговора у заштити против грипа.<sup>10,11,12</sup>

Истраживачи, с једне стране, истичу потенцијалну улогу вакцинације против грипа у развоју или погоршању хроничних аутоимуних болести, а други указују на њену добробит за ове болеснике у спречавању појаве грипа и његових озбиљних компликација. У три не-рандомизирани компаративне студије код пацијената са СЕЛ добијени су опречни резултати у вези са стањем основне болести после вакцинације.<sup>13</sup> Овим се намеће потреба да се ризик од егзацербације аутоимуне болести код вакцинисаних пацијената пажљиво процени и упореди са ризиком од развоја тешке респираторне инфекције код оних који нису примили вакцину.

Код пацијената са СЕЛ, РА и другим аутоимуним реуматским болестима постоји значајно већи ризик обољевања од различитих инфекција у односу на здраву популацију. Плућне инфекције су значајан узрок морбидитета и mortalитета код ових болести.<sup>14,15,16</sup> Генерално, инфекције су један од водећих узрока смрти оболелих од хроничних аутоимуних болести: системског лупуса (25 %), системске склерозе (24%), полимиозитиса и дерматомиозитиса (46%)...<sup>17,18</sup> Пацијенти са аутоимуним реуматским обољењима су осетљивији од опште популације, с једне стране због примене имуномодулирајућих лекова (кортикостероиди, биолошки лекови, антиреуматски лекови који модификују основну болест- ДМАРДс), а с друге због имунорегулаторних поремећаја који су део саме природе аутоимуне болести. Вирусне и бактеријске инфекције могу попримити драматичан ток код оболелих који су на агресивним протоколима имуносупресивне терапије, што захтева корекцију или чак обуставу примењене терапије, чиме се додатно лоше утиче на клиничку активност основне болести.<sup>19,20,21</sup>

Због дуготрајне потребе имуносупресивне терапије ефикасност и имуногеност инфлуенца вакцине су често редуковани код ових пацијената, па код њих хуморални одговор (изражен кроз титар антитела) на примењену вакцину против грипа може бити нижих вредности. Ова сазнања намећу поребу за разматрањем делотворности вакцинације против грипа код потенцијално имунокомпромитованих пацијената.<sup>22</sup> Познато је да продукција неутралишућих антитела по излагању вирусу грипа, било у природној инфекцији или након вакцинације, отежава везивање вируса за епител респираторног тракта и тиме спречава развој грипа и његових компликација. Налаз концентрације антитела

после инфлуенца вакцинације у титру  $\geq 1/40$ , мерен реакцијом инхибиције хемаглутинације (РИХ), позитивно корелира са отпорношћу на грип, што је утврђено на здравим волонтерима. Код старијих особа и имунокомпромитованих пацијената није уопште потврђено да висина титра анитела одговара нивоу заштите од инфекције.<sup>23</sup>

Страховања везана за безбедност и добробит вакцинације су ограничавала њену примену код пацијената оболелих од аутоимуних инфламаторних реуматских болести. Поред могуће нежељене реакције на антигене вакцине, данас се широко дискутује и о реакцијама на њене адјувансе.<sup>24,25</sup> Савремене студије показују да оболели од СЕЛ и РА добро подносе инактивисану тровалентну сплит вакцину против грипа без адјуванса и да је њеном употребом значајно смањен ризик од грипа и погоршања аутоимуних болести, чак и када су пацијенти на имуносупресивној терапији или биолошким лековима.<sup>26,27</sup> Упркос могућим нежељеним ефектима, сматра се да је вакцинација против грипа код имунокомпромитованих пацијената, укључујући и пацијенте са АИРБ, кључна стратегија у смањењу стопа морбидитета и морталитета повезаних са вирусом грипа.<sup>28</sup>

## 1.1. Механизми аутоимуности и имунолошка толеранција

Први пут се аутоимуност спомиње у уџбенику који су објавили *Ian Mackay* и *McFarland Burnett* 1962. године (*Mackay and Burnet's Autoimmune diseases*). То је био први покушај да се сумирају постојећа знања о аутоимуности код људи. Иако још увек постоје многе недоумице о механизмима аутоимуности, хипотеза Барнета базирана на клонској селекционој теорији је још увек актуелна. Ова теорија разматра идеју о интеракцији лимфоидних ћелија са њиховим специфичним антигенима (током феталног и раног пост-наталног периода), која води елиминацији "забрањених клонова."<sup>29,30</sup> Од тог времена, било је на десетине хиљада експерименталних радова и учињени су огромни кораци у дијагностици и патофизиологији, а посебно у лечењу. Отишли смо из ере просте ХЛА типизације до дубоке секвенцијалне и епигенетске анализе, а од обичне диференцијације леукоцита се стигло до лимфоцитне фенотипизације. Направљен је значајан помак од дијагностиковања једноставних антинуклеарних антитела до детаљне и софистициране имунодијагностике са рекомбинантним аутоантигенима и болест-специфичним епитопима. У терапијском смислу смо од коришћења кортикостероида дошли до употребе селективних биолошких агенаса. Многе болести које су раније сматране идиопатским данас се сврставају у аутоимуне.<sup>31</sup>

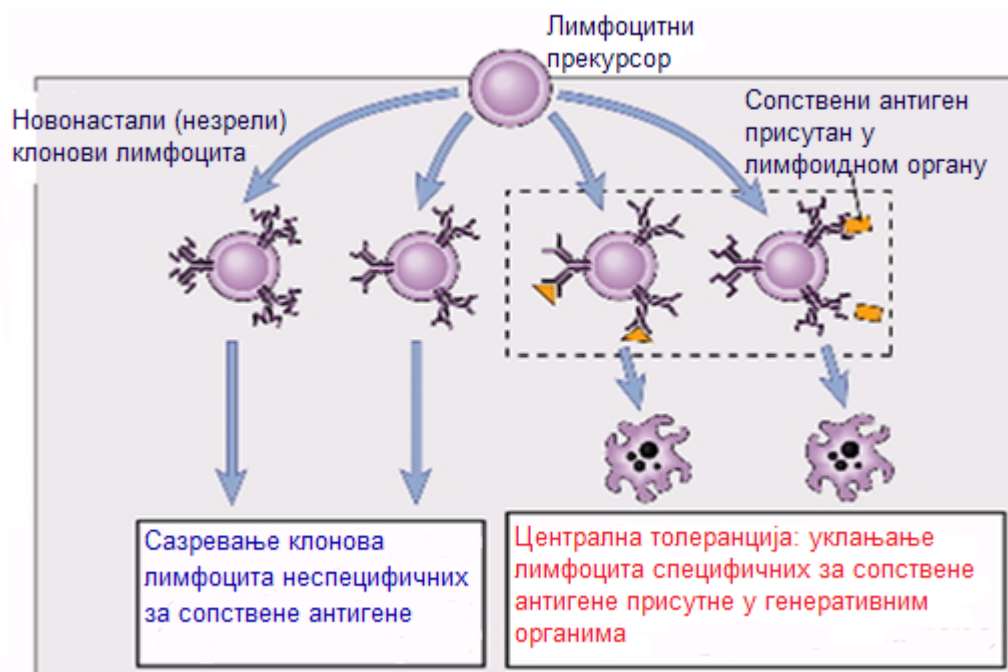
Једно време се покушавало да се патогенеза аутоимуности објашњава применом Кохових постулата који сугеришу да су аутоантитела и / или аутореактивне Т ћелије претпостављени "патогени" аутоимуности и да ће пасивни трансфер ових аутоимуних фактора на пријемчиве животиње резултирати индукцијом аутоимуне болести. Ова теорија није имала успеха. Кључни моменат у данашњем концепту аутоимуности је инфламаторна реакција према сопственим ткивима која се развија у сложеној интеракцији ефекторних ћелија и молекула проиродног и стеченог имунитета.<sup>32</sup>

Основно својство имуног система је способност да препозна и специфично елиминише стране антигене и тиме заштити интегритет домаћина од штетних

утицаја. Стварањем комплексног имунолошког система развијени су најефикаснији механизми у људском организму у борби против страних "освајача". Међутим, ова ефикасна заштита против различитих патогена је постигнута на рачун повећаног ризика од покретања имунолошке реакције према сопственим антигенима и развоја аутоимуности. Најважнија особина имуног система је способност да може разликовати сопствене од страних антигена. Ако се не препознаје ова разлика долази до развоја имуног одговора према сопственим ћелијама и ткивима, што доводи до њиховог оштећења тј. развоја аутоимуних болести. Имунолошка толеранција се дефинише као одсуство патолошке аутореактивности. Имунолошка толеранција је базична вредност имуног система која омогућава организму заштиту против спољашњих патогена без испољене реактивности према сопственим антигенима. Толеранције према сопственим антигенима и имунолошка хомеостаза су физиолошки регулисане у разним фазама сазревања појединих ћелија имунитета.<sup>33</sup>

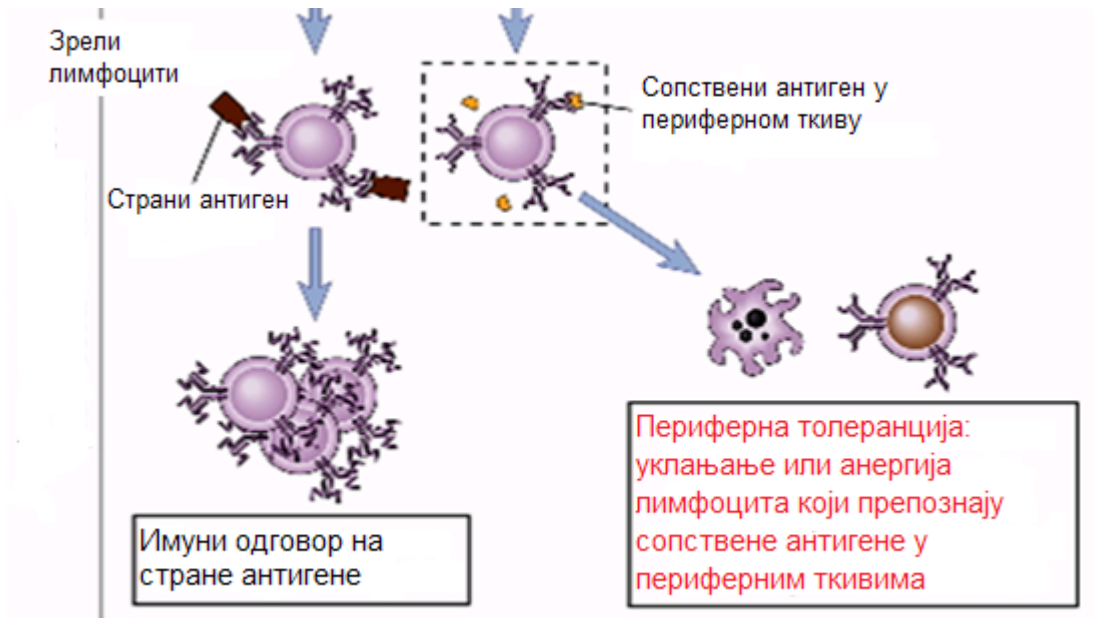
Аутоимуност је последица слома физиолошких механизма одговорних за одржавање имунолошке толеранције, који су подељени у централне и периферне. Централна толеранција се успоставља када незрели Т и Б лимфоцити у току онтогенезе реагују са сопственим антигенима у примарним лимфоидним органима (костна срж, тимус) и том приликом бивају селективно уништени или постану нереактивни. Клонови аутореактивних лимфоцита који испољавају рецепторе са великим афинитетом према сопственим антигенима се првенствено елиминишу у примарним лимфоидним органима. Међутим, овај процес елиминација је непотпун и зато су неопходни адекватни регулаторни механизми у лимфним чворовима и периферној циркулацији да држе зреле аутореактивне лимфоците под контролом у циљу спречавања аутоимуности. Периферна толеранција се јавља када зрели лимфоцити који су избегли негативну селекцију током онтогенезе реагују са аутоантигенима у секундарним лимфоидним органима што доводи до смрти Т и Б лимфоцита и / или имунолошке анергије и непознавања или пак супресије аутоимуности помоћу Т регулаторних лимфоцита.<sup>34,35</sup> Имуни систем посредством стеченог имунитета на периферији, као и у тимусу, разликује сопствене од страних антигена више препознавањем афинитета Т ћелијске активације него увиђајући саме структуралне разлике (слика

1 а и б ).<sup>36</sup> Дендритичне ћелије (Дћ) имају имуностимулаторну улогу и велики значај у централним и периферним механизмима толеранције. У одсуству инфекције, незреле Дћ преузимају, обрађују и презентирају аутоантигене специфичним Т ћелијама што може довести до индукције аутореактивних Т ћелија. Дендритичне ћелије регулишу имуни одговор и одржавају имунолошку толеранцију преко сложених интеракција са различитим врстама регулаторних Т ћелија. Проучавањем генетских мутација код људи и експерименталних животиња објашњавају се аутоимуни поремећаји настали услед неуспеха да се одрже механизми периферне толеранције. Међутим, више фактора су неопходни за индукцију аутоимуности. На пример, бактеријске и вирусне инфекције могу изазвати аутоимуноу болест генетски подложних особа укрштеном реакцијом аутореактивних Т ћелија са антигенима домаћина због њихове сличности са антигенима патогена (молекуларна мимикрија) или путем јачања лимфоцитне стимулације.<sup>37,38,39</sup>



Слика 1а Механизми централне толеранције: уклањање лимфоцита специфичних за сопствене антигене у генеративним (примарним) лимфоидним органима





Слика 16 Уклањање или анергија лимфоцита који препознају сопствене антигене у периферним (секундарним) лимфоидним ткивима 2003, Elsevier Science (USA)

Судбина развоја Т ћелија у тимусу је одређена афинитетом интеракције Т ћелијских рецептора и пептида везаних за главни хистокompatибилни комплекс (*Major Histocompatibility Complex- MHC*) молекула, односно код људи за ХЛА (*Human Leukocyte Antigen- хумани леукоцитарни антиген*) молекуле. Различитост ХЛА локуса сваке индивидуе генетски детерминише специфичности ХЛА молекула и Т ћелијских одговора. Примарна улога ХЛА молекула је да веже пептид и презентује га антиген-специфичним Т ћелијама. Пептиди које имуни систем обично толерише могу, ако су измењени (мутације, умањена експресија, модификације протеина, денатурација), постати мета ефекторних функција имуног система и изазвати аутоимуне реакције. Генске мутације укључују одређене промене у нивоу и активности регулаторних протеина који су повезани са цитотоксичним Т (Т<sub>ц</sub>) лимфоцитима, фактором некрозе тумора (ТНФ) - алфа,

ЦД4+ и ЦД25+ Т ћелијама- што је у основи синдрома системског аутоимунитета. Аутоимуне реакције после инфекције се јављају због структуралне сличности епитопа патогена са деловима протеина домаћина. Антитела која се стварају против патогена укрштено реагују и са сопственим антигенима, што је узрок перзистентне стимулације.<sup>40,41,42</sup>

Апоптоза (програмирана ћелијска смрт) је кључни моменат за регулисање функција имунолошког система и има пресудни утицај на процес селекције имуних ћелија и одржавање имунолошке толеранције. Доказано је да ћелија измењена у апоптози ("апоптотична ћелија") има централну улогу у толеранцији Т и Б лимфоцита према аутоантигенима. Аутоимуни одговор код системског лупуса еритематодеса је примарно уперен против "имуногена" у апоптотичним ћелијама.<sup>43</sup> Код пацијената са СЕЛ се ствара високи титар антитела према разноврсним аутоантигенима у ћелијама и на површини апоптотичних ћелија. Код вирусних инфекција формирају се комплекси између страних и сопствених антигена, који могу садржати измењене делове аутоантигена са којима имуни систем није раније упознат. Под нормалним околностима, овако измењене (апоптотичне) ћелије, се брзо уклањају од стране макрофага и дендритичних ћелија. Последица овог процеса је да су измењени аутоантигени у процесу апоптозе или игнорисани од стране имуног система приликом препознавања или је имуни систем толерантан према њима. Наиме, Т и Б лимфоцити који наилазе на сопствене антигене сличне страним антигенима имају обично "инструкције" да нестану или постану нефункционални и тиме избегну реакцију са сопственим протеинима. Међутим, у одсуству адекватне толеранције, страни патогени иницирају укрштenu имунолошку реакцију Т и Б лимфоцита и према сопственим антигенима, што може да доведе до аутоимуне болести.<sup>44,45,46</sup> Б ћелије као и дендритичне ћелије учествују у обради и презентацији аутоантигена и индукцији Т ћелијског аутоимуног одговора. Чињеница је да аутореактивне ћелије могу бити и нормални део популације Т и Б лимфоцита, као и да се аутоантитела могу наћи и код здравих особа<sup>47,48</sup>

## 1.2. Етиологија и патогенеза аутоимуних болести

Етиологија аутоимуних болести је недовољно позната. И поред значајног напретка у разумевању имунолошке регулације, механизми који доводе до губитка толеранције према сопственим антигенима су код већине аутоимуних болести и даље нејасни. Код генетски предиспонираних особа спољашњи патогени, попут вируса и бактерија, могу покренути аутоимуноу реакцију. Идентификовани су генски локуси који су одговорни за појаву аутоимуности и број новооткривених гена убрзано расте. Најновије студије говоре о утицају фактора спољне средине на модификовање генске експресије преко епигенетских механизма у индукцији аутоимуности.<sup>49</sup> Молекуларна мимикрија је најчешће разматран механизам у објашњењу аутоимуних поремећаја. Структурна сличност или истоветност између микробних антигена и антигена домаћина је одговорна за продукцију антитела према сопственим ткивима и органима, што резултира у појави аутоимуног обољења.<sup>50</sup> Међутим, да би процес молекуларне мимикрије могао да подстакне аутоимуноу реакцију потребно је да механизми који успостављају толеранцију према сопственим пептидима буду нефункционални. Дакле, "савршена" мимикрија између идентичних структура може заказати у подстицању аутоимуности због ефикасних механизма толеранције. Насупрот томе, "несавршена" мимикрија (између сличних, али не и идентичних структура) може, с једне стране, заобићи механизме толеранције, а с друге стране, резултирати стварањем популације аутореактивних лимфоцита са ниским или средњим афинитетом везивања у централним и периферним лимфоидним органима. Иако патогенеза многих аутоимуних болести указује на присуство молекуларне мимикрије, у исто време сличности између сопствених и страних структура не доводе увек до развоја аутоимуности, па се разматрају и други патофизиолошки механизми, као и значај одређених регулаторних молекула.<sup>51,52</sup>

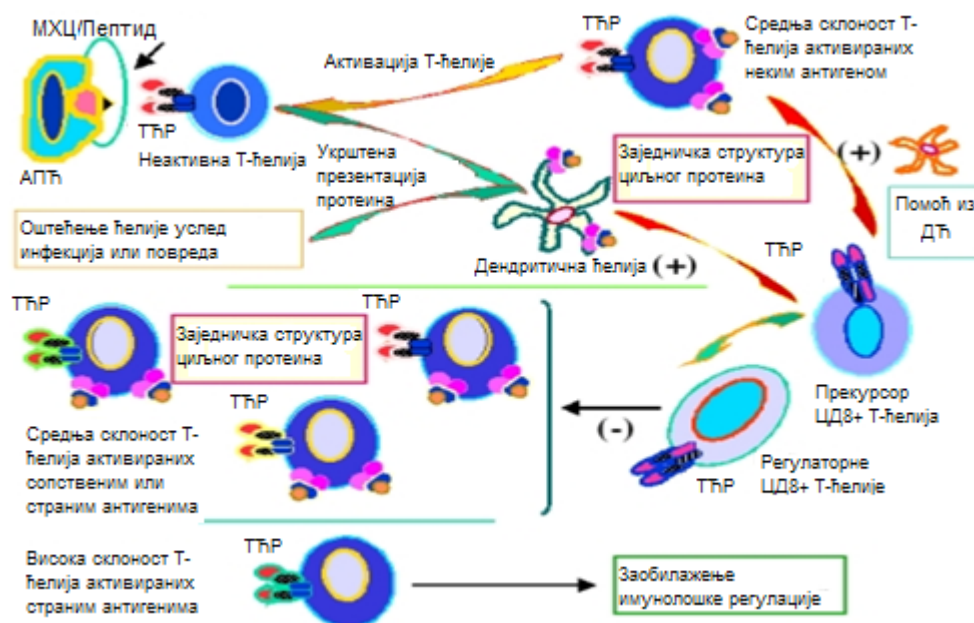
Генетски полиморфизам су наследне промене у ДНА секвенцама које доприносе фенотипским варијацијама и понекад утичу на осетљивост према одређеној болести, изазивајући промене у генској експресији и функцији гена.

Идентификација генетских промена је важна степеница у разумевању патологије реуматских и других аутоимуних болести, а напредак у анализи генотипа је омогућио откриће предиспонирајућих локуса и гена код пацијената са СЕЛ, РА, мултиплом склерозом (МС) и инсулин-зависном шећерном болести. Међутим, генетским студијама рађеним на близанцима код ових болести дошло се до закључка да су често и други фактори, осим генетских, потребни да доведу до аутоимуних болести. Тако говоримо о епигенетским факторима који подразумевају промене у експресији гена (такође урођене), а које нису повезане са генетским полиморфизмом- већ су присутне модификације у хроматинској структури ћелијских једара.<sup>53,54</sup> Најновији докази указују да епигенетске промене индуковане еколошким факторима, као што су измене у ДНА метилацији Т ћелија, доводе до аберантне експресије гена у специфичним ћелијама. Ово изазива губитак толеранције у тако измењеним ћелијама и доприноси развоју аутоимуности у генетски предиспонираних особа.<sup>55</sup> Многе аутоимуне болести се јављају чешће код жена, а функционалне студије ово објашњавају улогом женских полних хормона у регулисању имунолошког одговора.<sup>56</sup>

Интеракција генетских и епигенетских механизма доводи до болести попут системског лупуса еритематодеса, али вероватно и до других облика аутоимунитета. Скорашњи извештаји из генетике говоре да постоји преко 20 локуса који садрже гене повезане са лупусом, а који су одговорни за активирање комплемента, рецепторе за имуноглобулине Г и ХЛА гене.<sup>57</sup> Екпериментални радови показују да ће нормалне антиген-специфичне ЦД4+ Т ћелије третиране инхибиторима ДНА метилације постати аутореактивне и реаговати са сопственим молекулима *МХЦ* класе II путем презентовања измењених антигена- доводећи тако до развоја болести налик лупусу.<sup>58</sup> Код реуматоидног артритиса су откривени гени (ХЛА ген на хромозому бп21.3) који доприносе развоју болести. Варијанте алела ХЛА- ДРБ1 су карактеристично повезане са појавом РА.<sup>59</sup> За разлику од лупуса где је јасно доказана улога Т ћелијске ДНА деметилације у етиологији, код реуматоидног артритиса нису довољно познати епигенетски фактори који учествују у покретању болести.<sup>60</sup> Одређени аутори и код РА наводе значај ДНА деметилације Т ћелија што може довести до генерисања аутореактивних клонова Т и Б ћелија.<sup>61</sup> Неадекватна експресија гена у РА

синовијалним фибробластима, а без повезаности са специфичним генским мутацијама, сугерише да епигенетски механизми имају такође значај у етиопатогенези болести.<sup>62</sup> Постоје и истраживања о утицају пушења на појаву РА код генетски предиспонираних особа, али су ови механизми недовољно познати.<sup>63</sup> МС и инсулин-зависни дијабетес су такође обољења која су узрокована генетским факторима и факторима спољашње средине. Код МС болесника доказано је да су одређени фенотипови чврсто повезани са осетљивошћу према болести (*HLA-DR2*, *HLA-DRB1\*1501*, *DQA1\*0102*, *DQB1\*0602*). Од фактора спољне средине у развоју мултипле склерозе наводи се значај инфекције Епштајн–Бар вирусом (ЕБВ), као и витамина Д. Повећани нивои проинфламаторних цитокина- интерлеукина (ИЛ)1, ИЛ6 и ТНФ $\alpha$ , уз смањени ниво анти-инфламаторних цитокина ИЛ10 и ИЛ4 су приказани у корелацији са напредовањем болести.<sup>64,65</sup> Код дијабетеса је присуство одређеног ХЛА хаплотипа (*DR4-DQ8*, *DR3-DQ2*) забележено у 90% пацијената, док је утврђено да хаплотип (*DR15-DR6*) има протективни значај.<sup>66</sup> Од епигенетских фактора наводи се значај вирусних инфекција (посебно коксаки Б вирус, рубеола) исхране, перинаталних фактора и психосоциалних момената.<sup>67,68</sup>

Уз несумњив значај генетске предиспотиције, све више пажње се посвећује проучавању улоге инфективних агенаса у индукцији сложених ћелијских реакција које су одговорне за покретање патолошке аутоимуности. Вишеструке функције имуног система су укључене у аутоимуноу патологију. Антигени патогена који су преузети од стране антиген-презентирајућих ћелија (АПћ), као што су дендритичне ћелије (Дћ), прерађују се у пептиде који се везују за МХЦ молекуле и презентирају Т ћелијама путем везивања за клонотипске Т ћелијске рецепторе (ТћР). У зависности од повећања склоности (осетљивости) Т ћелијских рецептора према неком антигену долази до измена у регулаторној функцији ЦД8+ Т лимфоцита- што доводи до активације аутоимуних процеса. Заједничка структура протеина патогена и домаћина је разлог укрштене реакције имунолошког система и према сопственим ткивима, што је основни механизам у развоју аутоимуних поремећаја (слика 2).

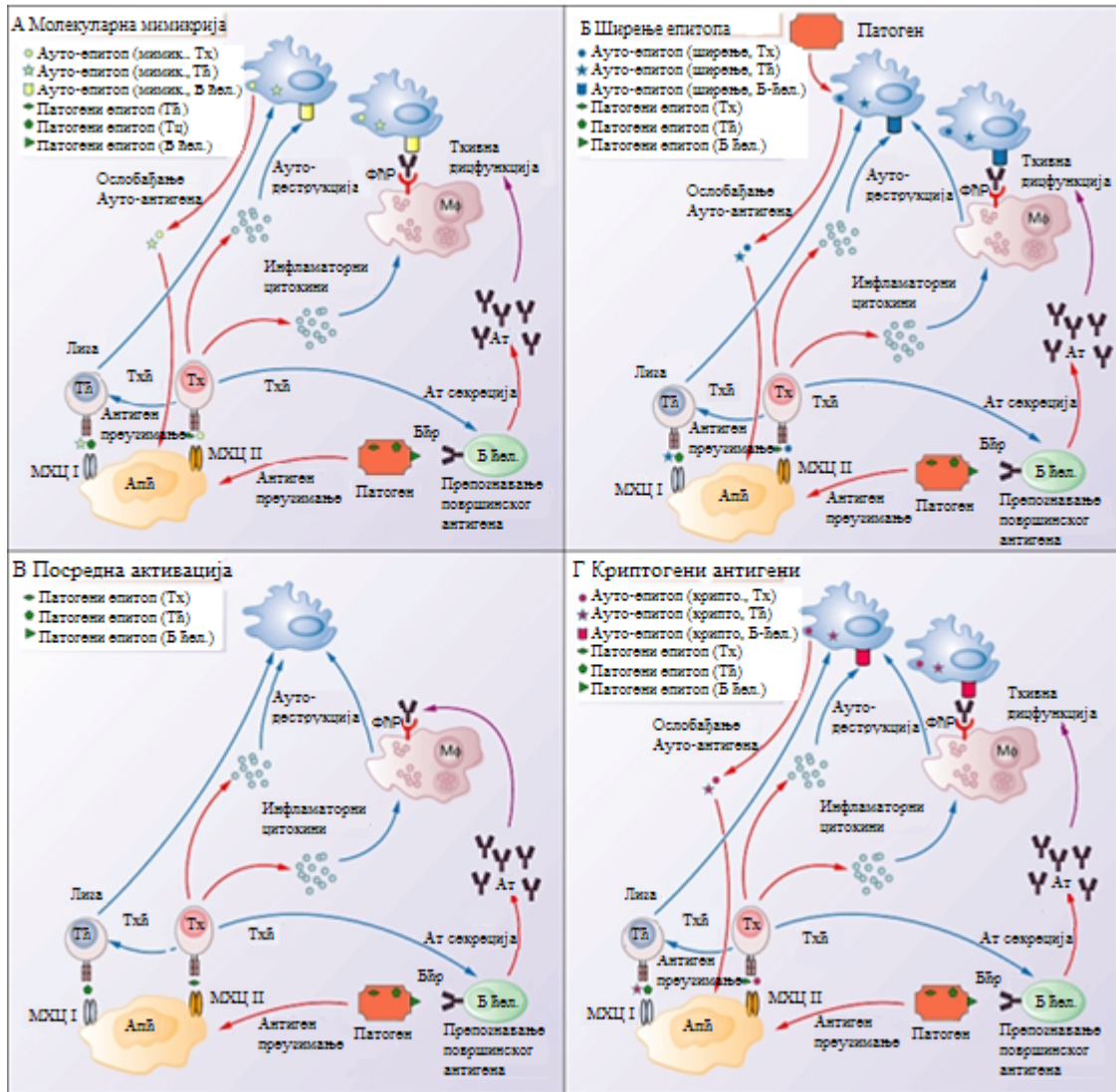


Слика 2 Т- ћелијски експериментални одговор у индукционој (примарној) имунолошкој фази покренутој инфекцијом или повредом и ефекторној (секундарној) фази у активацији аутоимуне болести.

*Proc Natl Acad Sci U S A. 2009 January 13; 106(2): 534–539. Published online 2008 December 31.*

Постоји неколико познатих механизма путем којих патогени могу да доведу до развоја аутоимуности. Већ је дискутовано о механизму молекуларне мимикрије где бројни микроорганизми који садрже елементе који су довољно слични антигенима (секвенцама или структури аминикиселина) домаћина могу покренути антиген специфичну реакцију Т и Б лимфоцита и према сопственим ћелијама. У овом моделу имуни одговор на перзистирајућу инфекцију доводи до лизе ћелија, изазивајући оштећења сопствених ткива. Цитолитичке Т ћелије (Тц, активирание путем *МХЦ* класе I на АПћ) могу директно лизирати циљну мету, док Т "хелпер" ћелије (Тхћ) активирание путем *МХЦ* класе II ослобађају цитокине који имају непосредне ефекте у запаљенском процесу или могу активирате макрофаге (Мф) и Б ћелије. Б ћелије и саме имају површинске рецепторе (Бћр) који везују антигене

на површини ћелије. По пријему сигнала са Тх ћелија, Б ћелија лучи антитела специфична за одређене антигене. Антитела се могу везати само за циљни антиген, или се могу у исто време везати својим Фћ фрагментом за рецепторе на макрофазима (ФћР), а то ће стимулирати Мф у производњи про-инфламаторних цитокина и оштећењу сопствених ткива. Патоген може довести до аутоимуне болести и путем ширења епитопа. Антигенске детерминанте (епитопи) ослобођени из оштећеног ткива бивају преузети од стране Дћ, а то покреће специфичан аутоимуни одговор. Други механизми су неспецифични и познати као "посматрачи активације" (*bystander activation*). Они укључују неспецифичну или посредно активiranу имуну реакцију која може проузроковати тзв. домино-ефекат у активирању других имунолошких процеса, испољен кроз појачану обраду и презентацију аутоантигена, активацију имуних ћелија, ослобађање цитокина и ћелија апоптозе или некрозе. На крају, инфекција може довести до аутоимунитета и путем обраде и презентације "криптогених антигена." Насупрот доминантним антигенским детерминантама, криптогени антигени су нормално невидљиви за имуни систем. Инфекцијом изазван инфламаторни процес може индуковати пораст протеолитичких ензима- протеаза, што доводи до измењене обраде сопствених епитопа од стране АПћ и развоја аутоимуне реакције (приказано на слици 3).<sup>69,70</sup>



Слика 3 Механизми успостављања аутоимуности иницирани инфекцијом: молекуларна мимикрија, ширење епитопа, посредна активација (*bystander activation*), презентација криптогених аутоантигена.

A M Ercolini and S D Miller. *The role of infections in autoimmune disease. Clin Exp Immunol.* 2009 January; 155(1): 1–15.



### 1.3. Фактори спољне средине и аутоимуне болести

#### 1.3.1. Инфективни агенси

Упркос великом броју механизма којима се обезбеђује уклањање или потискивање аутореактивних лимфоцита, имунолошки систем понекад није у потпуности ефикасан, што ствара предуслове за развој аутоимуности. Разне инфекције (вирусне, бактеријске, паразитарне), као и други фактори спољне средине могу у таквој ситуацији изазвати, или погоршати аутоимуну болест.

Иако је појава аутоимуних феномена у току инфекције чест налаз, ретко се могу повезати са развојем аутоимуне болести. Од недавно се сматра да различити микроорганизми могу не само да изазову или погоршавају аутоимуну болест, већ такође могу и да заштите од аутоимуности, или пак зауставе аутоимуни процес, у зависности од интеракције између микроорганизма и домаћина. Због тога, посматрамо микробиолошке узрочнике и као потенцијалне агенсе који су у стању да промене имунолошки одговор. Инфекције могу изазвати и орган-специфичне аутоимуне болести, међутим, бројне студије су дале контрадикторне или недовољно убедљиве резултате у погледу њихове етиолошке улоге. С друге стране, појавили су се бројни докази у вези са високом осетљивости аутоимуних пацијената на инфекције као последица терапије имуносупресивима или биолошким лековима.<sup>71</sup>

Коксаки вирус Б (*Coxsackievirus B*) се окривљује као најчешћи узрок инфективног миокардитиса. На мишјем експерименталном моделу је доказано да је концентрација вируса и вирусне РНА у срчаном мишићу највиша 4. дана, а да се вирус губи после 14 дана од инфекције. Кардијални миоцити могу, ин витро (*in vitro*), бити инфицирани и лизирани од стране вируса доводећи тако до оштећења миокарда. Хронични стадијум болести (после 28 дана) карактерише инфилтрација моноклеарних ћелија у миокарду и производња антитела према срчаном миозину. Због одсуства вируса у овој фази болести претпоставља се да је аутоимунa реакција главни патофизиолошки механизам. Неутрализирајућа

моноклонска антитела према коксаки вирусу Б3 дата мишу укрштено реагују са срчаним миозином и са површинским епитопима срчаних фибробласта- што доказује да је молекуларна мимикрија у основи имунолошких збивања. Такође, Т ћелијски клонови инфицираних мишева пролиферишу у одговору према срчаном миозину. Смањено присуство ЦД8+ Т лимфоцита појачава слику миокардитиса у инфицираних мишева.<sup>72,73,74</sup>

Епидемиолошке студије у дужем временском периоду посматрају Епштајн-Баров вирус (ЕБВ) - *Epstein-Barr Virus* као главни "окидач" у настанку различитих аутоимуних болести. Међутим, није сасвим јасно, како и помоћу којих вирусолошких и имунолошких механизма ЕБВ игра улогу у патогенези ових болести. Пацијенти са СЕЛ, РА и МС имају генетску предиспозицију за појаву обољења јер је утврђена њихова повезаност са одређеним ХЛА генима. Ипак, проучавање генетских карактеристика не даје довољно објашњења у етиолошком погледу, па се велики значај придаје и утицају различитих фактора окружења, пре свега микроорганизама, али и других чинилаца- попут географских, етничких, психосоцијалних, нутритивних, као и ултравиолентног зрачења, концентрације витамина Д итд.<sup>75,76</sup> ЕБВ се доводи у везу са СЕЛ, РА и МС, али и са другим аутоимуним болестима као што је аутоимуни тиреоидитис, запаљенске болести црева, инсулин-зависни дијабетес, Сјогренов синдром (СјС), системска склероза (СС), миастенија гравис, аутоимуне болести јетре, без довољно доказа каузалне везе...

Претпостављало се од раније за неке инфективне агенсе да су укључени у патогенезу аутоимуних болести. На пример, код МС је у једној студији у ликвору микроскопски доказана сферула инсуларис (*Spherula insularis*). Такође је на основу имунолошких претрага отривен парамиксовирус СВ5 (*paramyxovirus SV5*), за кога се сматрало да је могући узрок МС. Наредне студије нису потврдиле ове налазе, тј. нису показале специфичну улогу ових микроорганизама у настанку и развоју болести.<sup>77,78</sup>

Могућа повезаност ЕБВ серопозитивности и појаве аутоимуних болести је први пут примећена у бразилској популацији.<sup>79</sup> Од тада је мноштво студија

истраживало хуморални имунитет према ЕБВ код СЕЛ, РА, МС и других аутоимуних болести. У једној студији 99% пацијената млађег узраста (деце и адолесцената) са СЕЛ је било серопозитивно према ЕБВ у односу на 70% здравих добровољаца истог узраста.<sup>80</sup> У другој студији налазимо значајно већи ниво ЕБВ ДНА код млађих пацијената оболелих од СЕЛ у односу на контролну групу особа које немају СЕЛ. Такође, у раду *Bercun Y* и сар. ЕБВ- рани антиген ИгГ- антитела и вирус- капсидни ЕБВ- антиген ИгГ- антитела су значајно повишена код СЕЛ пацијената у односу на контролну групу.<sup>81,82</sup> У студији са тестирањем пацијентима на антитела према ЕБВ код оболелих од СЕЛ, системске склерозе и примарног антифосфолипидног синдрома добијене су повећане концентрације антитела код свих болести у односу на здраву контролну групу, па се не може сматрати да је овакав серолошки одговор специфичност само СЕЛ пацијената.<sup>83</sup> Код МС су скоро сви позитивни према ЕБВ у односу на 90% здравих контрола.<sup>84</sup> ЕБВ стопе серопреваленте су веће код пацијената са МС у односу на здраву контролну групу, како код одраслих, тако и код педијатријских болесника. Такође, ЕБВ титар антитела и ЕБВ- специфичне Т ћелије су повећане код МС пацијената у односу на здраве особе. Међутим, и даље је присутна контраверза да ли је ЕБВ узрочник или само невини посматрач збивања у патогенези МС.<sup>85</sup>

У току ЕБВ инфекције стварају се антитела на нуклеарни антиген (ЕБНА) - 1 која укрупњено реагују са аутоантигенима који су повезани са лупусом, укључујући Ро, СмБ/Б' и СмД1. Пораст титра антитеала према нуклеарном антигену ЕБВ имуноглобулина Г (ИгГ) класе може бити предиктивни фактор прелаза клинички инапаратног синдрома у манифестну болест, или касније параметар активности МС.<sup>86,87</sup> Код пацијената са СЕЛ виши титар антитела према капсидном антигену ЕБВ имуноглобулина А (ИгА) класе може бити повезан са погоршањем болести.<sup>88</sup> И код РА, такође је потврђен виши титар антитела према ЕБВ антигенима.<sup>89</sup> За разлику од пацијената са СЕЛ и МС, код пацијената са РА није утврђен било какав предиктивни значај титра антитела према ЕБВ у појави и активности основне болести.<sup>90</sup>

ЕБВ користи два независна механизма за репликацију генома. Један претпоставља вирусно умножавање у току активне или литичке фазе инфекције у

инфицираним ћелијама (епителиалне ћелије и Б лимфоцити). Током литичке репликације вирусна ДНА полимераза је одговорна за репликацију вирусног генома. Други механизам, тј. латентна фаза репликације подразумева да се циркуларни ЕБВ геном умножава користећи ДНА репликациони циклус у ћелијама домаћина. Латентна ЕБВ инфекција у Б лимфоцитима може реактивацијом прећи у активну или литичку фазу инфекције помоћу још увек недовољно објашњених механизма. Код пацијената са СЕЛ, РА и МС је доказан измењен Т ћелијски одговор према ЕБВ инфекцији.<sup>91</sup> Код пацијената са СЕЛ је утврђено да Т ћелије нису у стању да контролишу производњу имуноглобулина из ЕБВ-инфицираних Б ћелија. Инфициране аутореактивне Б ћелије су резистентне на процес апоптозе испољавајући анти-апоптотичке молекуле на својој површини. Касније студије су показале функционално оштећење ЦД8+ Т ћелијског одговора специфичног за ЕБВ, што има за последицу смањену производњу цитокина (интерферон (ИФН)- $\gamma$ , (ТНФ)- $\alpha$ , интерлеукина (ИЛ)2, инфламаторног протеина макрофага 1 $\beta$ ), односно пад цитотоксичности у СЕЛ пацијената. Међутим, присутност ЕБВ-специфичних ЦД8+ Т ћелија је у неким студијама иста код оболелих од СЕЛ и здравих појединаца, или је благо повећана у групи СЕЛ пацијената.<sup>92,93</sup> Учесталост ИФН- $\gamma$  секретујућих ЕБВ-специфичних ЦД4+ Т ћелија је повећана у неким студијама.<sup>94</sup> Што се тиче оболелих од РА и МС извештаји из литературе у погледу значаја целуларног имунитета у патогенези аутоимуних болести су још више контрадикторни. У сваком случају, измене у Т ћелијском одговору утичу на специфичну ћелијску активацију и пролиферацију Б ћелија, које имају кључну улогу у разумевању имунолошких збивања и перзистенцији инфекције код пацијената са СЕЛ, РА и МС.

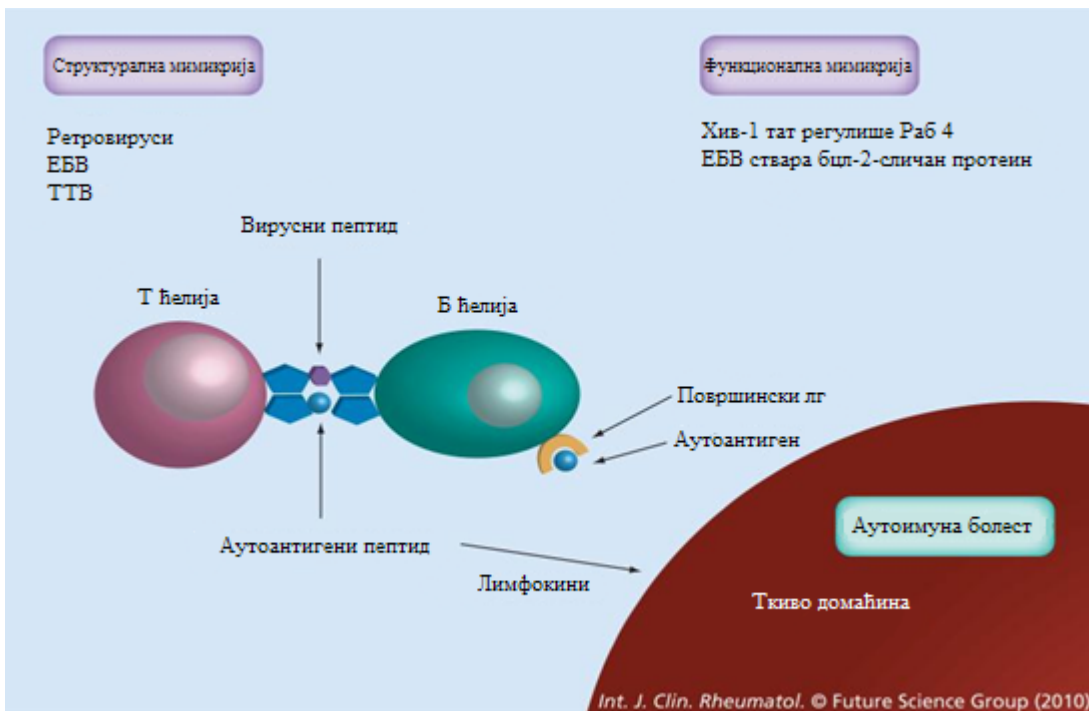
Након деценија епидемиолошког, вирусолошког и имунолошког истраживања, још увек је отворено питање да ли постоји веза између ЕБВ и аутоимуног обољења. Интересантно је да пацијенти са СЕЛ, РА и МС испољавају доста сличности у имунолошкој реакцији према перзистентној ЕБВ инфекцији. На пример, за СЕЛ и МС је заједничка повећана серопреваленца према ЕБВ, док све три болести имају повишен серумски титар анти-ЕБВ антитела и неадекватан Т ћелијски одговор према вирусу. Вероватно је да су неке од ових сличности

одраз заједничких патогенетских механизма у одговору на ЕБВ инфекцију (слика 4 и 5).<sup>95,96,97,98</sup>

Улога цитомегаловируса (ЦМВ) – *Citomegalovirus* се разматра код еритемског лупуса, системске склерозе, инфламаторних болести црева, антифосфолипидног синдрома, дијабетеса итд. Код оболелих од СЕЛ је доказано повећање антитела према ЦМВ у ИгМ класи и присуство ЦМВ- антигена у серуму, што је имплицирало могућу етиолошку улогу вируса у развоју или егзацербацији болести. У другом раду се претпоставља улога ЦМВ инфекције у погоршању лупуса, која је доказана код два пацијента који су имали тромбоцитопенију и протеинурију.<sup>99,100</sup>

Веза парвовирусне инфекције (*Parvovirus B 19*), и СЕЛ се прави на основу аналогije тј. сличности симптома и знакова и хематолошких параметара као што су артритис, анемија, тромбоцитопенија. Парвовирусна Б19 инфекција није иницијални узрочник лупуса, али може довести до озбиљнијег погоршања клиничке слике болести.<sup>101</sup> Вирусна ДНА је значајно виша у серуму пацијената са СЕЛ који имају мању концентрацију антитела према парвовирусној Б19 инфекцији, што је последица примене имunosупресивне терапије или ослабљеног имуног одговора због природе аутоимуне реуматске болести.<sup>102</sup> Код акутне хумане парвовирусне Б19 инфекције може доћи до пролазног субклиничког аутоимуног стања које се огледа у повећању анти- ДНА антитела и анти- Т (цитотоксичних) лимфоцитних антитела ИгМ класе<sup>103</sup>

Поремећај у процесу апоптозе се дешава код заражених пацијената вирусом хумане имунодефицијенције (*Human immunodeficiency virus*- ХИВ) као и код пацијената са СЕЛ. Хив инфекција узрокује скретање Т хелпер (Тх)1 одговора ка (Тх)2- типу профила цитокина, што се исто бележи код СЕЛ и узрокује убрзање апоптозе. Пад броја ЦД4+ Т ћелија у крви је посредован повећаном стопом апоптозе тј. програмиране ћелијске смрти. Панцитопенија, полимиозитис и васкулитис се срећу код пацијената са ХИВ инфекцијом, као и код СЕЛ пацијената. Ово доводи до закључка да је заједнички механизам одговоран за повећање апоптозе и производњу антитела код ХИВ инфекције и СЛЕ.<sup>104,105</sup>



Слика 4 Молекуларна мимикрија у вирус- индукованом аутоимунитету

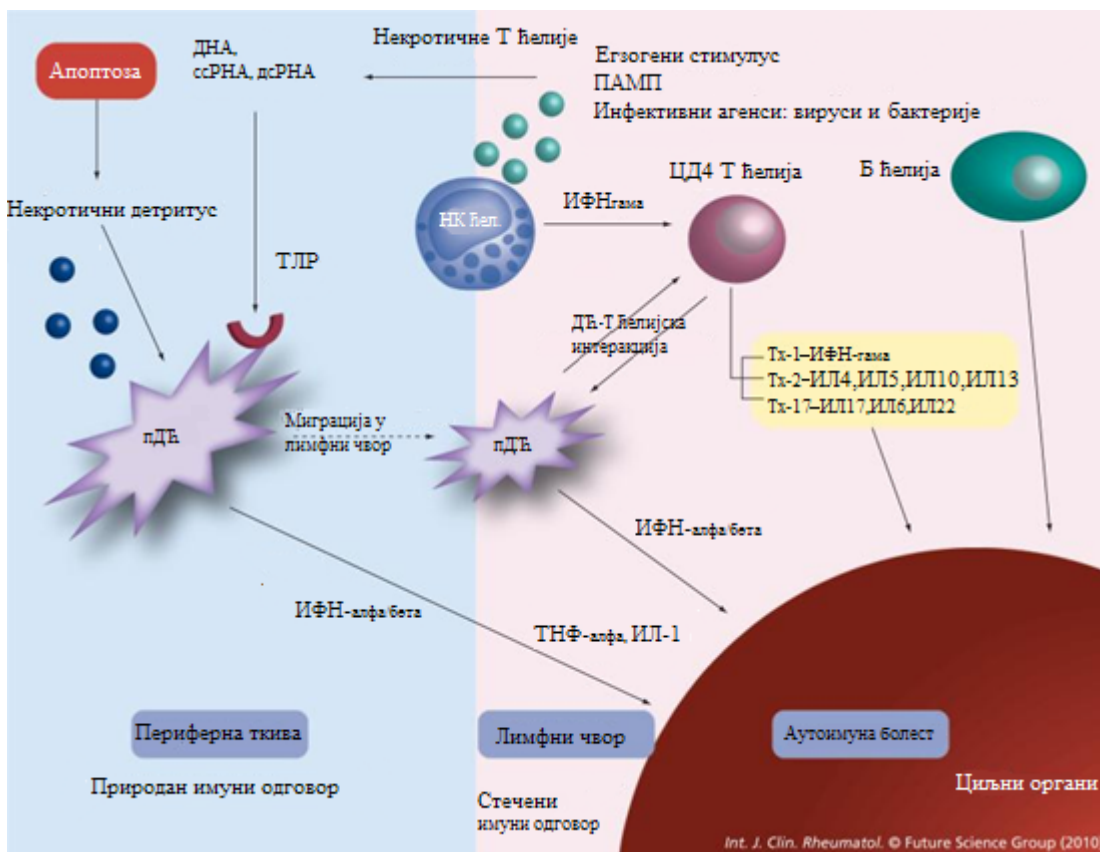
Вируси могу да утичу на адаптивни имунитет путем молекуларне мимикрије (тј. хомологије између егзогенних и ендогених епитопа). Пептидне секвенце заједничке за вирус (нпр., ЕБВ протеини) и циљни лупус аутоантиген (нпр., С<sub>м</sub>) могу изазвати стварање аутоантитела. ХИВ-тат протеин регулише транскрипцију Раб4 ланца аминокиселина- пример функционалне мимикрије. ЕБВ протеин регулише апоптозу стварајући сличан протеин Бцл-2– такође, пример функционалне мимикрије.

ЕБВ: Епштајн- Бар вирус ТТВ: трансфузија- трансмисивни вирус.

Повећање антитела код малих богиња и параинфлуенце тип 1 (*Paramyxoviruses*) су детектовани код болесника са СЕЛ, али и код Рајтеровог синдрома, МС и других неуролошких болести. Повећан ниво антитела може бити неспецифични резултат имунолошке хипер-реактивности, што је вероватно последица молекуларне мимикрије, зато што исте антигене имају ћелије домаћина и вируса.<sup>106</sup>

Инфекција пиогеним стрептококом (*Streptococcus pyogenes*) може путем имунолошки посредоване реакције довести до упале срчаног мишића са лимфоцитном инфилтрацијом. Студије су показале да бактеријски материјал може перзистирати у ткиву домаћина и више година после инфекције што може да доведе до узгредног оштећења миокарда. Већина аутора имунолошке процесе објашњава молекуларном мимикријом. Миозин је идентификован као доминантан аутоантиген у срцу, а миозин-реактивна антитела која потичу од пацијената са акутном реуматском грозницом унакрсно реагују са М протеином (главни вирулентни фактор групе А стрептокока). Слична укрштена реактивност је виђена са миозин- антителима добијеним из мишева имунизованих ћелијским мембранама пиогеног стафилокока.<sup>107.108</sup>

Кампилобактер јејуни (*Campylobacter jejuni*) је највише проучавани патоген у експерименталном моделу Гијан-Баре (*Guillain-Barré*, ГБС) синдрома. Доказано је да зечеви вакцинисани липополисахаридима кампилобактера јејуни развијају паралитичку слабост екстремитета која је идентична патологији периферног нервног система код ГБС.<sup>109,110,111</sup> Такође, пацијенти са микоплазмом пнеумоније (*Mycoplasma pneumoniae*), пре него што ће развити ГБС, често имају антитела према галактоцереброзидима, која укрштено реагују са гликолипидима микоплазме пнеумоније.<sup>112</sup> И код хемофилус инфлуенца инфекције (*Haemophilus influenzae*), као узрочника ГБС, постоји сличан механизам молекуларне мимикрије у објашњењу патогенезе болести.<sup>113</sup>



Слика 5 Улога интерферона у аутоимуној болести изазваној инфективним агенсима

Ћелије препознају ПАМП помоћу рецептора као што су ТЛР. Некротични продукти апоптотичних процеса, бактеријских липополисахарида, вирусне РНА и вирусне ДНА се везују за ТЛР. Плазмоцитне дендритичне ћелије (пДЂ) производе Тип 1 ИФН- а, који су важни за одбрану домаћина од вируса, а претерана производња ИФН-а је присутна у системском еритемском лупусу. Везивање за ТЛР активира плазмоцитне дендритичне ћелије и доводи до ослобађања ИФН-α / β. ИФН-α утиче на сазревање антиген-презентирајућих ћелија и појачану Т- ћелијску активацију. Природне ћелије убице (НК ћел.) производе значајне количине цитокина, на пример, ИФН-γ, који могу утицати на развој Т ћелија.

ИФН: интерферон, ПАМП: патоген- асоцирани молекуларни продукти, ТЛР: *toll like receptors*.



### 1.3.2. Протективни значај инфекција

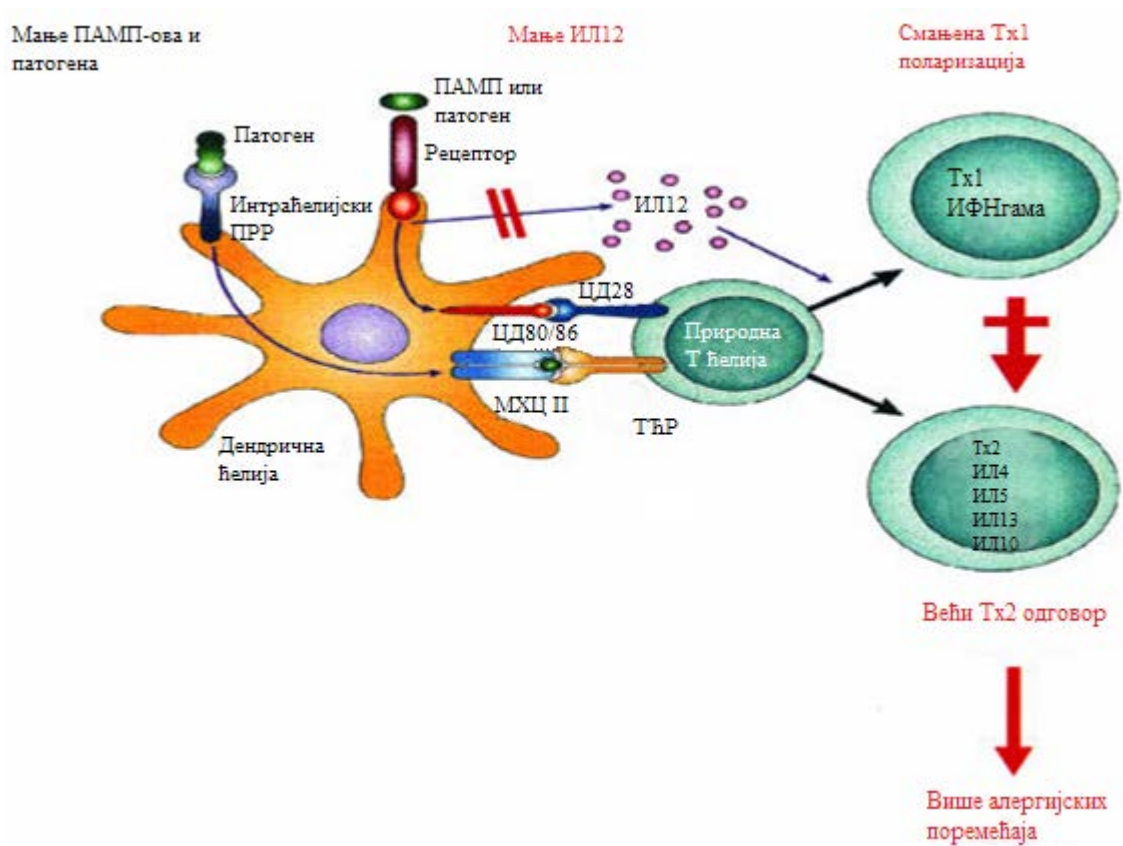
Епидемиолошки подаци за последње три деценије у Северној Америци и Европи говоре о забрињавајућем порасту алергијских и аутоимуних болести упркос бољим социо-економским приликама, бољој хигијени и уопште смањеној изложености деце микроорганизмима из спољашње средине (тзв. хигијенска хипотеза). Алергијске атопијске болести, попут ринитиса, астме и алергијског дерматитиса су резултат системске инфламаторне реакције покренуте типом Тх2 ћелијски посредованог имуног одговора према алергенима. Међутим, имунолошка збивања у току измењеног Тх2 одговора, као последица бољих хигијенских прилика, су још увек нејасна. Могућа објашњења укључују: доминантан алерген- специфични Тх2 одговор изазива смањење производње Тх1 зависних цитокина (ИЛ12, интерферон) од стране ћелија природног имунитета у одговору на стимулисање њихових ТЛР (*Toll-like receptors*) микробним компонентама; и смањено активирање Т регулаторних ћелија слабијом стимулацијом имуног система.<sup>114</sup> Бактерије и вируси би могли заштитити организам од аутоимуних болести путем везивања микробних састојака (липополисахариди, липопротеини, пептидогликани) за ТЛРс- што би стимулисало мононуклеарне ћелије да секретују цитокине и тако утичу на регулацију имунолошког система (приказано на слици 6).<sup>115</sup>

Истраживања на животињама су показала да токсоплазма гонди (*Toxoplasma gondii*) инфекција спречава развој синдрома налик лупусу код новозеландских мишева.<sup>116</sup>

Хеликобактер пилори (*Helicobacter pylori*) инфекција може имати заштитну улогу против развоја системског лупуса. Серопозитивност према хеликобактер пилори, као последица имунорегулаторних догађаја, је обрнуто пропорционална ризику од настанка СЕЛ.<sup>117</sup>

СЕЛ је веома редак у западној Африци, чешћи у централној и јужној Африци, а учесталији према западу, укључујући Карибе, Европу и Северну Америку. Једно

од могућих објашњења је да маларија (*malaria*), веома уобичајена у западној Африци, делује као заштитни фактор у развоју системског лупуса. Као последица смањене способности продукције ТНФ у хипо-ендемским подручјима за маларију постоји повећани ризик од развоја аутоимуних болести, као што је СЕЛ. То је једно од могућих објашњење за већу стопу лупуса у Афро-Американаца.<sup>118,119</sup>



Слика 6 Имунолошки механизми повећане преваленције алергијских стања

Romagnani S. *The increased prevalence of allergy and the hygiene hypothesis: missing immune deviation, reduced immune suppression, or both?* *Immunology*. 2004 Jul;112(3):352-63.

### 1.3.3. Улога вакцинације код оболелих од аутоимуне болести

Вакцинација је најефикаснији поступак у спречавању појаве и ширења заразних обољења. Вакцине садрже измењене антигене вируса или бактерија који у организму треба да произведу заштитни имуни одговор према одређеној болести. Примена вакцина код аутоимуних реуматских болести, укључујући и вакцинацију против грипа, може због примене умносупресивне терапије и природе саме болести довести до сниженог хуморалног одговора. С друге стране, вакцинација може бити повезана са развојем или погоршањем одређене аутоимуне болести због чега постоји страх да може направити више зла него добра.

Вирусне, бактеријске или хемијске компоненте вакцине, тј. адјуванси (чија је основна улога да појачају имуни одговор), могу бити покретачи аутоимуне реакције, што понекад води у егзацербацију аутоимуног обољења. Постоји велики број студија које се баве штетним ефектима различитих вакцина, развојем аутоимуних манифестација или аутоимуне болести после вакцинације, а опет је веома тешко утврдити да ли је ту вакцина етиолошки фактор, или пак постоје и други фактори и околности који су у исто време одговорни за патофизиолошка дешавања. Вакцинацију против хепатитиса Б (*Hepatitis B vaccine*) могу пратити различити реуматски поремећаји. У студији са резултатима из различитих болница бележи се појава РА, СЕЛ, пост-вакциналног артритиса и васкулитиса код 22 претходно здраве особе. Тешко је успоставити каузалну везу између вакцинације и уочених реуматских манифестација.<sup>120</sup> У другој студији аутори налазе следеће аутоимуне болести повезане са вакцинацијом против Б хепатитиса: артритис, РА, СЕЛ, мијелитис, оптички неуритис, MS, ГБС, гломерулонефритис, панцитопенију, тромбоцитопенију, замор и синдром хроничног замора.<sup>121</sup> У кохортној студији у Израелу, болесници са СЕЛ и РА су вакцинисани пнеумококном вакцином (*Pneumococcal vaccine*). Месец дана после вакцинације није било промена у биолошким и клиничким параметрима активности болести. Мађарска кохортна студија са 18 болесника са СЕЛ је такође показала добру толеранцију вакцине.<sup>122,123</sup>

Мада се много расправљало о улози вакцине против морбила, мумпса и рубеле (ММР) у етиологији аутоимуних или хроничних болести, студија у Великој Британији, којом је обухваћено (*Medline*) претраживање од 1966 до јуна 2004, је забележила да је мали број пацијената после вакцинација развио аутоимуне манифестације (артропатија, васкулитис, неуролошка дисфункција, тромбоцитопенија), није било значајне повезаности са дијабетесом типа 1, МС или запаљенским болестима црева. Осим ММР вакцине у студији су анализиране и вакцине против хепатитиса А и Б, варицеле, полиомијелитиса и инфлуенце. На крају разматрања штетних ефеката и аутоимуних поремећаја после разних вакцинација, остаје питање да ли су они последица вакцинације или једноставно коинциденција.<sup>124,125</sup>

У студији са систематским претраживањем публикација (*Medline* и *Enbase*) у периоду од 1966-2011 анализирана је код одраслог становништва повезаност различитих имунизација са ризиком од настанка и релапса МС. Ризик од појаве МС остаје непромењем после имунизације против ТБЦ, хепатитиса Б, грипа, ММР, тифуса и полиомијелитиса, док имунизација против тетануса и дифтерије може бити праћена смањеним ризиком од МС.<sup>126</sup>

Вакцине које су лиценциране су већином безбедне, али у ретким случајевима могу бити повезане са хуморалним одговором према сопственим антигенима захваљујући молекуларној мимикрији, ширењу епитопа, посматрачкој активацији или поликлоналној индукцији аутоимуности. Иако се сматра да је развој клиничких манифестација аутоимуних обољења после вакцинације реткост, постоји више извештаја аутора са приказима случајева овако насталих аутоимуних обољења. *Blanc M* и сар. у студији анализирају настанак анти-фосфолипидних антитела после вакцинација против тетануса, грипа и хепатитиса Б. У спорадичним случајевима долазило је до испољавања клиничке слике антифосфолипидног синдрома, који је повезиван са адјувансима у вакцинама (аутоимуни инфламаторни синдром индукован адјувансима- АСИА).<sup>127</sup>

Иначе, адјуванси су састојци вакцина који се додају ради појачавања имуногености вакцине, односно њеног хуморалног ефекта. Као адјуванси се

користе различита биљна уља, сквален, соли алуминијума итд. АСИА синдром или Шенфилдов синдром, многе штетне ефекте вакцина, као и појаву аутоимуних реакција после вакцинације објашњава утицајем адјуванса. У студији о аутоимуним поремећајима после хепатитис Б вакцинације забележене су ретке клиничке манифестације које су подразумевале неуропсихијатријске сметње, умор, болове у мишићима и зглобовима и гастроинтестиналне поремећаје.<sup>128</sup>

Подаци о имуногеном утицају вакцинације у покретању аутоимуности долазе из неколико извора: теоретски модели, животињске студије, појединачни и вишеструки извештаји објављених сличајева. Насупрот томе, неке епидемиолошке студије нису евидентирале посматрану повезаност, што је охрабрујуће и најмање што указује је да вакцине нису главни узрок аутоимуних болести. На основу научних података можемо закључити да вакцине, генерално, позитивно утичу на јавно здравље, али је потребно наставити развој технологија. Такође је потребно направити бољи модел евалуације, да би се спречио превид могућих штетних ефеката вакцинације и предвидео настанак аутоимуних болести.<sup>129</sup>

## 1.4. Аутоимуне реуматске болести и инфекције

### 1.4.1. Системски еритемски лупус

Системски еритемски лупус (СЕЛ) је хронична аутоимуна запаљенска болест која се карактерише леукопенијом, доводи до разних клиничких манифестација васкулитиса, осипа, артритиса, нефритиса, упале нервног система и полисерозитиса. Овај аутоимуни процес почиње са губитком толеранције и присуством аутореактивних лимфоцита на периферији, а настаје као резултат комбинације фактора животне средине и генетских фактора. Једна од патогномоничних карактеристика СЕЛ је присуство анти-ДНК и сродних антинуклеарних аутоантитела.<sup>130,131</sup>

Ћелије урођеног имунитета играју кључну улогу у активирању аутореактивних лимфоцита у СЕЛ пацијената. Иако ови механизми нису у потпуности објашњени, показало се да плазмоцитне дендритичне ћелије (ПДЋ) из крви примарно производе интерферон (ИФН)- $\alpha$ , који доводи до упалних процеса у ткивима СЕЛ пацијената. ПДЋ кроз секрецију ИФН- $\alpha$  индукују моноците да постану моћне антиген- презентирајуће мијелоид- дендритичне ћелије (МДЋ). Претпоставка је да МДЋ брзо гутају апоптоичне ћелије и нуклеозоме ради презентације аутоантигена ЦД4+ Т ћелијама- које доживе клонску активацију и пролиферацију у периферним лимфоидним органима. Након тога, Б лимфоцити подстакнути интеракцијом са аутореактивним ЦД4+ Т ћелијама и МДЋ секретују аутоантитела. Аутоантитела, заузврат, формирају имуне комплексе са продукцијом неутрофила и компонентама нуклеозома и директно стимулишу рецепторе (ТЛР) на ПДЋ, које су потом стимулисане да луче више ИФН- $\alpha$ , чиме се поспешује инфламаторни одговор.<sup>132</sup>

Присутна имунолошка хиперактивност се може детектовати системски и у специфичним органима преко повишене концентрације одређених цитокина и њихових рецептора који имају важну улогу у патогенезу болести. Од недавно, терапијске стратегије су усмерене на цитокине, као што су интерферон- $\alpha$ ,

интерлеукин ИЛ-1, ИЛ-6 и фактор некрозе тумора, што је резултат ефикасног коришћења биолошке терапије у лечењу реуматоидног артритиса и других аутоимуних болести. Упркос достигнућима у разумевању мреже цитокина, битних у патогенези аутоимуних обољења и СЕЛ, дијагноза и прогноза лупуса је и даље велики изазов за клиничаре, због сложености болести и непредвидивих погоршања. Боље разумевање кључних цитокина и њихових рецептора је битно у разјашњењу патогенезе код различитих форми лупуса, што ће омогућити ефикасније модалитете лечења.<sup>133,134</sup>

#### **1.4.2. Реуматоидни артритис**

Реуматоидни артритис (РА) је системски хронични аутоимуни поремећај који се карактерише инфламацијом синовијалне овојнице зглобова са развојем полиартритиса, оштећењем костију и хрскавице и разарањем зглобова са могућим инвалидитетом.<sup>135</sup> Побољшано разумевање молекуларне патогенезе је омогућило развој иновативних биолошких лекова који делују на специфичне делове имуног система мењајући ток и исход РА. Нова сазнања објашњавају сложену интеракцију фактора спољне средине и генетске предосетљивости, која је одговорна за настанак болести. Нове стратегије промовишу рану употребу болест-модификујућих лекова у контроли болести и превенцији запаљења и деструкције зглобова.<sup>136</sup>

Обележје РА патологије је инфилтрација и акумулација Т ћелија у синовијалном ткиву. Ове ћелије слабо реагују на антигенску стимулацију ин витро и инхибисане су у процесу апоптозе, што доводи до њиховог нагомилавања у зглобовима и периферним ткивима. Механизми који стоје иза оштећене апоптозе Т ћелија у РА су углавном нејасни.<sup>137,138</sup> Суштима молекуларне генетике РА је по неким ауторима у транскрипционој експресији мРНА, односно одређене микро-РНА у Т ћелијама.<sup>139</sup> Т ћелије имају умањену способност пролиферације у контакту са митогеном или антигеном и имају повећани ЦД4/ЦД8 однос у периферној крви. Присуство растворљивог интерлеукин-2 (ИЛ-2) рецептора у серуму је показало одређену Т-ћелијску активацију. Међутим, Т ћелије су у некој

врсти анергије, слабије су реактивне, што се карактерише смањеном производњом ИЛ2.<sup>140</sup> Т ћелије показују претерано старење, а концентрација Т- ћелијских рецептора је знатно нижа у РА него у здравих особа. Осим тога, репертоар Т-ћелијских рецептора је олигоклоналан, јер долази до селекције антигена и слабијег отпуштања Т ћелија из тимуса. Ово прерано старење Т ћелија може имати веома озбиљне последице на вакцинални одговор, за који је познато да опада са старењем. Поред тога, функција регулаторних Т ћелија (ЦД4+ и ЦД25+) може бити јако поремећена у активном РА због недостатка супресорске функције ЦД4+ или ЦД8+ Т ћелија.<sup>141,142</sup>

Због свих имунолошких поремећаја, првенствено у функцији Т и Б лимфоцита у току РА, ови пацијенти се сматрају имунокомпромитованим и самим тим подложним разним инфекцијама. С друге стране, постоји ефекат и имуносупресивне, биолошке или имуномоделирајуће терапије код ових пацијената, који додатно утиче на слабији имунолошки одговор према различитим микроорганизмима или вакцинама.

### **1.4.3. Сјегренов синдром**

Сјогрен-ов синдром (СјС) је аутоимуна болест коју карактерише лимфоцитна инфилтрација у плувачним и сузним жлездама са пратећим уништавањем жлезданог ткива и производњом антитела, што се манифестује поремећајем секреције плувачке и суза, односно сувоћом слузница. У око 5% болесника болест може напредовати у правцу развоја Б- ћелијског лимфома, вероватно удружено са хипергамаглобулинемијом и имунодефицијенцијом и у тесној сарадњи са Б- ћелијском акумулацијом у генеративним центрима плувачних жлезда. Хистолошки, СјС се одликује екстензивном лимфоцитном инфилтрацијом у плувачним жлездама, која углавном садржи инфилтрисане Т ћелије, претежно ЦД4+ Т ћелије, али и ЦД8+ Т ћелије, Б ћелије, плазма ћелије и макрофаге. Иако је опште прихваћено да ЦД4+ Т хелпер (Тх) ћелије играју кључну улогу у патогенези СјС, патолошка улога ЦД4+ Т ћелија у СјС је и даље



недовољно јасна.<sup>143,144</sup> У патогенези болести је посебно битан Тх2 ћелијски одговор и присуство тзв. ектопичних генеративних центара (ГЦ) - то су Т и Б-ћелијски жлездани фоликули са измењеном мрежом фоликуларних дендритичних ћелија, који су важан предиктор развоја Б ћелиског лимфома. Локална Б-ћелијска акумулација је тесно повезана са повишеним нивоом имуноглобулина и анти-ССА и анти-ССБ антитела, статистички је значајно виши титар антитела у групи пацијената са примарним СјС него у групи болесника са секундарним СјС. Пацијенти са примарним СјС који имају ектопичне ГЦ имају израженији инфламаторни одговор (виши ЦРП), већу концентрацију РФ, аутоантитела (анти Ро/ ССА, анти Ла/ ССБ) и имуноглобулина Г од оних пацијената без ектопичних ГЦ.<sup>145,146</sup>

#### **1.4.4. Инфекције у аутоимуниим реуматским болестима**

Пацијенти са аутоимуниим реуматским обољењима су због примене специфичне антиреуматске терапије више подложни различитим инфекцијама, које са своје стране додатно лоше утичу на стање основне болести и значајан су узрок морбидитета и mortalитета код хроничних реуматских обољења.

У немачкој студији се говори о генерално високом mortalитету пацијената са реуматским болестима у јединицама интензивне неге, упркос томе што се ради о релативно младим људима. Код ових пацијената је често тешко утврдити праву дијагнозу, јер је потребно диференцијално-дијагностички разликовати могуће компликације сепсе и погоршање основне болести настало због комплексности примене реуматолошке терапије или због проблема насталих природном прогресијом болести.<sup>147</sup> Имуносупресивна и биолошка терапија, које се све више користе у лечењу запаљенског артритиса и других болести везивног ткива, повећавају осетљивост организма према инфекцијама, такође, и сложени имунолошки поремећаји који су у самој природи аутоимуних реуматских болести утичу на могућу преосетљивост према микробиолошким агенсима.

У великој рандомизираној, плацебо- контролисаној студији са два биолошка лека (*infliximab* и *adalimumab*) код оболелих од РА је праћен ризик од инфекција и малигних болести. Познато је да ТНФ игра значајну улогу у борби домаћина против различитих патогена, као и у контроли раста тумора. Због тога примена анти- ТНФ антитела у терапији реуматоидног артритиса и других аутоимуних реуматских болести може повећати ризик од озбиљних инфекција и малигнитета. Извор података је систематично претраживање литературе из следећих база података (*Embase, Medline, Cochrane Library*) и електронске базе апстраката са годишњих научних скупова европског (*European League Against Rheumatism- EULAR*) и америчког удружења (*American College of Rheumatology- ACR*) реуматолога закључно са децембром 2005. Закључци студије показују да је значајно повећан ризик од озбиљних инфекција (које захтевају третман и/или хоспитализацију) код пацијената третираних биолошком терапијом у односу на оне који су примали плацебо. Ризик од појаве малигних болести је повишен и зависи од дозе лека у групи пацијената који су примали биолошку терапију.<sup>148</sup>

У раду *Matthias N Witt* и сар. анализирано је око 1400 амбулантних пацијената који су боловали од РА, васкулитиса и СЕЛ у периоду 2000-2007, да би се утврдила појава пнеумонија/пнеумонитиса које су захтевале болничко лечење. Код 63 болесника су доказани различити микроорганизми (бактерије, вируси, гљивице) као узрочници, а између осталих доказан је и херпес симплекс вирус 1(ХСВ1), који се иначе среће код имунокомпромитованих пацијената.<sup>149</sup> У студији која се бави инфективним компликацијама у СЕЛ пацијената који су на терапији кортикостероидима и циклофосфамидом је забележена бар једна инфекција код 44,5 % пацијената, а доминирају бактеријске инфекције у 67,5 % случајева. Најчешће су инфекције коже, уринарног тракта и плућа, које су више повезане са оштећењем органа основном болешћу него са употребом имunosупресивне терапије.<sup>150</sup> У студији која је обухватила 87 пацијената анализирани су фактори ризика и њихова прогностичка улога у појави инфекција код одраслих пацијената оболелих од СЕЛ. Од 57 инфективних епизода било је 47 (82%) бактеријских инфекција, пнеумонија је било 28%, највише узрокованих стрептококусом пнеумоније. Значајни ризици који доприносе појави инфекција су: трајање болести, претходне егзацербације, лупус- гломерулонефритис, орална

кумулятивна доза кортикостероида и интравенска употреба кортикостероида, други имunosупресивни третман, пулсне дозе циклофосаида и плазмаферезе. После десетогодишњег праћења болесника са СЕЛ дошло се до закључка да је интравенска примена кортикостероида и/или имunosупресаната независни фактор ризика у појави инфекција, док су инфекције једини независни фактор ризика у смртном исходу.<sup>151</sup>

У студији *Doran MF* и аут. праћени су предиктивни фактори у појави инфекција код пацијената оболелих од РА. Познато је да су пацијенти са РА осетљивији према инфекцијама, а тачан разлог повећаног ризика разбољевања је непознат. Сматра се да повећану склоност ка разним инфекцијама треба тражити у измењеним имунолошким механизмима код оболелих од РА или пак у примени имunosупресивне терапије. Укупно 609 пацијената, којима је дијагностикован РА у периоду од 1955-1994, је праћено континуирано до 2000. године у погледу развоја различитих инфекција. Скоро две трећине пацијената је имало барем једну потврђену инфекцију у овом периоду, док је близу 50% пацијената имало барем једну озбиљнију инфекцију која је захтевала хоспитализацију. Пораст старости, присуство екстраартикуларних манифестације код РА, леукопенија, стања коморбидитета (хронична болест плућа, алкохолизам, дијабетес и органско оштећење мозга), као и употреба кортикостероида су били јак предиктор у појави инфекција.<sup>152</sup>

Системске аутоимуне болести подразумевају различите облике васкулитиса и колагених болести и један су од најчешћих узрока хроничне инфилтративне болести плућа у коју спадају: интерстицијална пнеумонија (обично неспецифична, лимфоцитна), лобарна пнеумонија, бронхиектазије, облитеративни бронхиолитис, плеуралне промене, апикална фиброза и плућна артеријска хипертензија. Неспецифична интерстицијална пнеумонија и плућна хипертензија су честе у склеродермији, док се интерстицијална пнеумонија, бронхиектазије и облитеративни бронхиолитис најчешће срећу у реуматоидном артритису. Код системског лупуса су плеурални изливи и плућно крварење чешћи налаз. Код полимиозитиса је присутан налаз организоване пнеумоније или неспецифичне интерстицијске пнеумоније. Сјогренов синдром карактеришу бронхиектазије и

лимфоцитна интерстицијална пнеумонија, често повезана са цистичним променама.<sup>153,154</sup>

Моноклонска антитела су нашла примену као нова врста терапије код пацијената са системским реуматолошким болестима, првенствено код РА. Међутим, описује се да ови лекови могу индуковати развој неинфективне интерстицијалне пнеумоније, болест налик саркоидози и васкулитис. У 97% случајева ово се повезује са моноклонским антителима која блокирају фактор некрозе тумора (ТНФ), који је битан цитокин у патогенези плућне фиброзе, формирању гранулома и уопште у одржавању имунолошког одговора. Овако настала интерстицијална пнеумонија има лошу прогнозу, са укупном стопом морталитета до трећине свих пацијената, или чак две трећине- код оних болесника где је претходно утврђена интерстицијална болест плућа. Болест налик саркоидози има бољу прогнозу, са опоравком или побољшањем у 90% случајева. Докази о штетним ефектима ове терапије прикупљени су на појединачним и серијским приказима случајева и због тога је веома битно код пацијента направити рану пре- терапијску процену и утврђивање симптома плућне болести ради примене адекватне терапије. Такође, потребно је обратити пажњу на инфекцију микобактеријом туберкулозе код примене моноклонске терапије. Велике проспективне студије су потребне да се утврди реални ризик од плућних болести код пацијената са реуматолошким аутоимуним обољењима који примају биолошку терапију.<sup>155</sup>

Плућне манифестације реуматских болести се све више препознају као значајан узрок морбидитета и морталитета у свету. У односу на друге реуматске болести, (реуматоидни артритис, системски еритемски лупус, прогресивна системска склероза, полимиозитис / дерматомиозитис), Сјогрен синдром се најчешће повезују са плеуропулмоналном патологијом. Код неких пацијената плућне манифестације претходе системској болести или су њена једина манифестација. Заправо, постоји широк спектар клиничких манифестација, од субклиничког испољавања до акутне респираторне инсуфицијенције. Патологију код свих реуматских болести карактерише инфламација и фиброза, али су неке реуматске болести чешће повезане са препознатљивом хистопатологијом, као што су

реуматоидни нодули у РА или лимфоидна хиперплазије у РА и системској склерози. Три дијагностичке дилеме постоје код пацијената са хроничним реуматским болестима који имају слику плућних болести: 1) опортунистичка инфекција у имунокомпромитованог домаћина, 2) токсичност лекова који се користе у лечењу системских болести, и 3) манифестације системске болести које захватају плућа и плућну марамицу.<sup>156,157,15</sup>

## 1.5. Проблем грипа код аутоимуних реуматских болести

### 1.5.1. *Influenza* (Грип)

Најстарији извор у коме се може препознати болест која би могла бити грип су записи Хипократа 412. године пре нове ере. Инфлуенца епидемијских размера при пут се описује у 18. веку, када је током пандемије од 1729 до 1733 умрло много, процењује се преко два милиона људи.

Вирус грипа (А, Б и Ц) припада породици ортомиксовириде (*Orthomyxoviridae*). Вирус садржи геном сачињен од 8 сегмената негативног ланца РНК, који кодира 11 протеина (полимеразе, нуклеопотеини, матрикс протени) који имају функцију у процесу репликације вируса у инфицираној ћелији. Вирус грипа је антигенски нестабилан и подложен је променама које се одвијају на два начина: кроз мутације (назване антигенски *drift*/дрифт) и генетске рекомбинације сегмената генома из различитих сојева вируса (назване антигенски *shift*/шифт).<sup>158</sup> Два главна гликопротеина ћелијске мембране вируса, хемаглутин (ХА) и неураминидаза (НА) имају антигенски различите подтипове- идентификовано је 16 ХА (Х1-Х16) и 9 НА (Н1-Н9). "Дрифт" се односи на честе, мање промене на ХА и / или НА антигенима. Антигенски дрифт у ХА подтиповима је обично повезан са сезонским епидемијама и често умањује ефикасност сезонске вакцинације. "Шифт" се односи на измене подтипа вируса које могу довести до инфекције епидемијских размера јер становништво није развило заштитни имунитет према новом соју вируса. Иако је прецизни механизам непознат, ове измене су олакшане сегментном структуром генома и генетичком разноврсношћу- постигнутом путем одржавања резервоара инфекције у различитим животињама, чиме се стварају услови за бројне антигенске комбинације главних мембранских протеина. Природни резервоар за све подтипове грипа А су дивље птице, а одређене подврсте су преносиве међу људима, свињама и многим сисарима. Мешање вирусних сојева се јавља код бројних домаћина, често код свиња, што је заправо и резултирало појавом новог соја који је довео до пандемије 2009. године.

У априлу 2009, први пут после 41 годину, нови тип вируса грипа А је стекао повећану способност за пренос са човека на човека и изазвао пандемију. Овај вирус је сачињен од свињског А (Х1Н1) вируса, који је рекомбинација птичјег, људског, и неколико свињских вируса грипа, а назван је "пандемијски (Х1Н1) 2009 вирус". Антигенски шифт у подтипу ХА је био повезан са пандемијама грипа, којих је било три у прошлом веку. Пандемија "шпанског грипа" 1918. изазвана субтипом Х1Н1 је однела више од 50 милиона људских живота широм света. Године 1957, појава Х2Н2 је довела до пандемије "азијског грипа." Једанаест година касније, 1968. године Х3Н2 вирус је изазвао пандемију "Хонг Конг грипа" са око 70.000 смртних случајева у Сједињеним Америчким Државама и око 1 милион широм света.<sup>159,160</sup>

Последња пандемија изазвана вирусом Х1Н1в 2009. године је посебан догађај у модерној вирусологији јер је вирус показао неке друге карактеристике у односу на претходне епидемије. Од 1977, Х1Н1 вируси су били у сталном оптицају, а већина људи рођена пре 1956 је имала претходно искуство са инфекцијом Х1Н1 сојева, све до појаве ере вируса Х2Н2. У пролеће 2009 је дошло до нове антигенске промене вируса Х1Н1, који се почео брзо ширити међу људима и попримио пандемијске размере, због тога што је већина људи имала мало или нимало заштите против новог вируса.<sup>161</sup> Епидемије настају сваке зиме/пролећа, а пандемије кад се унесе нови сој вируса према коме становништво није развило заштитни имунитет.

Вируси грипа се код људи везују за рецепторе састављене од сијалинске киселине и галактозе повезане преко  $\alpha$  2,6 веза (СК $\alpha$ 2,6Гал) на епителним ћелијама у дисајном тракту. Када се вирус веже за епителне ћелије респираторног тракта, он омета синтезу протеина у ћелијама домаћина и преко недовољно познатих механизма доводи до апоптозе ћелија домаћина. Пре смрти ћелије, нови вириони који су произведени се ослобађају у огромном броју и инфицирају суседне ћелије. Вирус није директно цитотоксичан, већ путем имунолошких ћелијских механизма доводи до разарања инфицираних ћелија.<sup>162,163,164</sup>

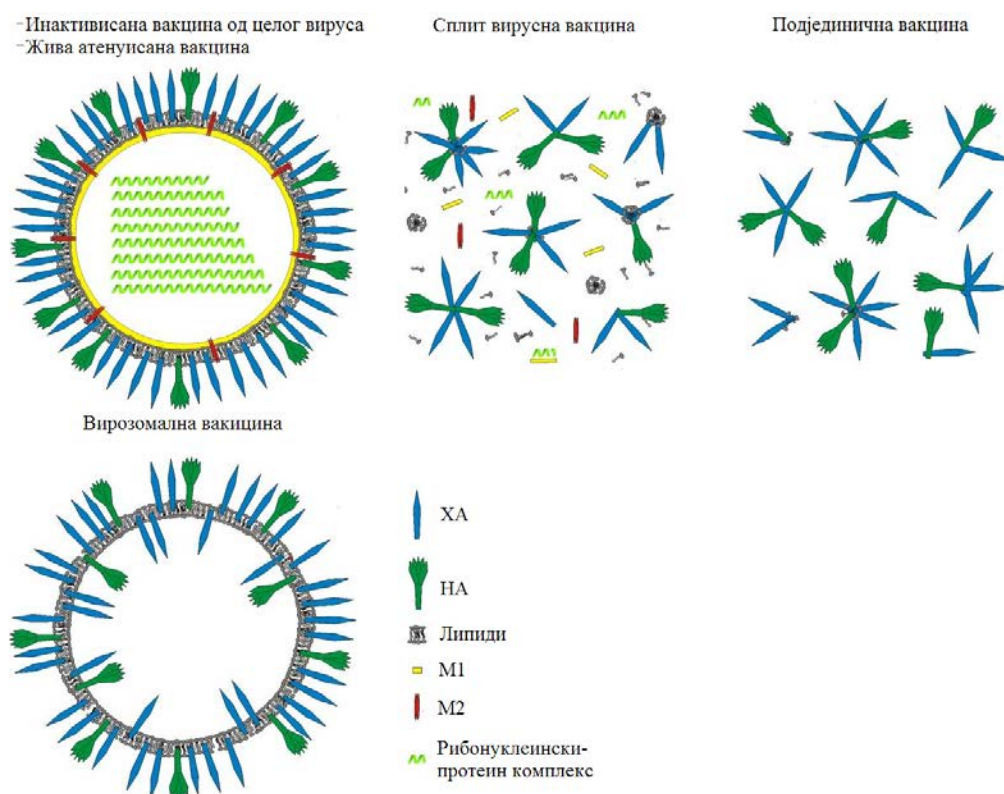
Анализирајући клиничке манифестације изазване вирусом грипа 2009. године и сезонског грипа у појединим студијама се дошло до закључка да су биле веома сличне.<sup>165,166,167</sup> У другом раду су неки симптоми и клиничке манифестације били чешћи код пацијената са пандемијским грипом него код пацијената са сезонским грипом: кашаљ (98% вс 83%,  $p = .007$ ), мијалгија (71% вс 46%,  $p = .001$ ), и плеурални бол у грудима (45% вс 15%,  $p < .001$ ). Труднице су чешће обољевале од пандемијске инфлуенце (16% вс 1%,  $p < .001$ ), као и млађи људи ( $p < .001$ ). Није било значајне разлике у морталитету хоспитализованих пацијената, потреби за интензивном негом или у дужини хоспитализације између поређених група.<sup>168</sup>

Пацијенти који захтевају хоспитализацију због озбиљнијих форми грипа обично болују од хроничних болести (хронична обструктивна болест плућа, дијабетес, срчана слабост, хематолошке болести, болести јетре, бубрежне болести) или се ради о имунокомпромитованим пацијентима који примају имуносупресивну терапију или хемиотерапију (аутоимуне реуматске болести, малигне болести). Теже форме грипа могу довести до смрти код хроничних реуматских болести, проузрокујући компликације у разним органима: плућне (bronхиолитис, интерстицијска пнеумонија, бронхопнеумонија, акутни респираторни дистрес-синдром, плућна инсуфицијенција), неуролошке (енцефалопатија, енцефалитис), срчане компликације (миоперикардитис, едем плућа), рабдомиолиза, токсички шок синдром, секундарне бактеријске инфекције и сепса. Бактеријска пнеумонија се обично јавља после 4 до 14 дана од престанка симптома грипа, са поновним погоршањем у смислу фебрилности, кашља и отежаног дисања и измењеним радиографским налазом. Најчешћи узрочник секундарне бактеријске пнеумоније је стрептококус пнеумоније, што потенцира значај примене пнеумококне вакцине, као и ране дијагностике пнеумонија код имунокомпромитованих особа које су са повећаним ризиком од респираторних компликација грипа.<sup>169,170</sup>



### 1.5.2. Вакцина против грипа

Постоји неколико врста вакцина против грипа: инактивисане и атенуиране живе вакцине од целих вириона, слит (подељене) вакцине, подјединичне вакцине и виризомалне вакцине. Вакцине које садрже инактивисане или атенуиране целе вирионе садрже све компоненте и имају исту физичку структуру активног вируса. Данас се већина инактивисаних вакцина против грипа испоручују као сплит вакцине, произведене од подељеног вириона хемијским путем, или као подјединичне вакцине које претежно садрже пречишћене ХА и НА. Релативно нова класа инактивисаних вакцина је виризомалана вакцина против грипа. Виризоми су вирусне честице, које се састоје од солубилних ћелијских мембрана вируса грипа и не садрже генетски материјал оригиналног вируса (слика 7).<sup>171</sup>



Слика 7 Врсте вакцина против грипа и њихов састав *Pharm Res.* 2008 June; 25(6): 1256–1273. Published online 2008 March 13.

Инактивисане вакцине против грипа су доступне од 1940. године и апликују се путем интрамускуларне ињекције. Живе, атенуисане (хладноћом обрађене) вакцине против грипа су развијене 1960. године, али су регистроване у Сједињеним Америчким Државама тек 2003. Ове врсте одобрених вакцина су тровалентне вакцине развијене на пилећим ембрионима и не садрже адјувансе. Живе вакцине су лиценциране за употребу у Сједињеним Државама за здраве особе од 2-49 година старости, изузев трудница и апликују се назално путем спреја. Инфлуенца вакцинација индукује стварање антитела, првенствено против највећих површинских гликопротеина вируса- хемаглутинаина (најважнија у заштити од болести) и неураминидазе, док имуни одговор достиже максимум после 2-4 недеље од вакцинације. У претходно невакцинисане деце млађе од 9 година старости, препоручује се и ревакцинација после месец дана јер су деца у овом узрасту слабо била изложена вирусу, или нису била у контакту са циркулишућим типовима и подтиповима вируса сезонског грипа. Најчешћи нежељени догађаји повезани са инактивисаним вакцинама су бол у руци и црвенило на месту убода, док се системски симптоми као што су повишена температура или слабост ређе јављају. Живе атенуисане вакцине могу изазвати назалну конгестију, главобољу, малаксалост или повишену температуру. Гијан-Бареов синдром (ГБС) је идентификован код вакцинисаних против свињског грипа 1976. године у Америци у око 1 на 100.000 случајева. Описани ризик од ГБС је утврђен као значајно мањи у новијим студијама (око 1-2 случаја на милион вакцинисаних). Вакцинација се не препоручује деци до 4 године са болестима дисајних органа јер може изазвати респираторне сметње (визинг) и астму, као ни старијим особама са хроничним болестима и повећаним ризиком од настанка компликација грипа. Ефикасност вакцине у спречавању грипа (када вакцине садрже главне циркулишуће сојеве) је 70-90% у рандомизираној, плацебо-контролисаној студији спроведеној међу децом и младим здравим особама, али је нижа код старијих особа и имунокомпромитованих пацијената. Инфлуенца вакцинације се препоручује у Сједињеним Америчким Државама за децу старости преко шест месеци, одрасле преко 50 година, особе са хроничним здравственим проблемима, за труднице и особе које су у контакту са оболелима, укључујући и здравствене раднике. У току пандемије вируса А Х1Н1, септембра месеца у

Америци су регистроване 4 нове моновалентне вакцине (живе, атенуисане вакцине као и инактивисане вакцине), које су садржале сој (*A/California/7/2009(H1N1)pdm*) и биле су без додатог адјуванса.<sup>172,173</sup>

У студији *Bateman AC* и сар. поређена је ефикасност моновалентне пандемијске вакцине и тровалентне сезонске вакцине (која садржи осим соја вируса А Х1Н1 и антигене сојева Х3Н2 и Б вируса). Вирус грипа А 2009 подтип вируса Х1Н1 (Х1Н1 пдм09) није показао антигенске измене током 2010-2011 сезоне грипа, што је била прилика да се истражи трајање заштите после вакцинације. Ефективност моновалентне вакцине против вируса грипа А је била 63%, у поређењу са тровалентном вакцинацијом против вируса А подтип Х1Н1- 73%. Моновалентна вакцина која је примењена у периоду од октобра 2009 до априла 2010 није штитила од грипа током сезоне 2010-2011 - са ефективношћу мањом од 1% против вируса А Х1Н1 (Х1Н1 пдм09). Закључено је да је потребна редовна годишња вакцинација, чак и у одсуству антигенских промена (дрифт) вируса А(Н1Н1) пдм09. Потребана су даља истраживања да би се развиле ефикасне сезонске вакцине које пружају дуготрајан имунитет и широку заштиту од сојева који се антигенски разликују од вакциналних вируса.<sup>174</sup>

У Италији се вакцинација против грипа препоручује свим особама у узрасту преко 64 године и за ризичне категорије пацијената.<sup>175</sup> Према подацима Европског центра за контролу и превенцију болести за сезону вакцинације 2010/2011, углавном је старосна граница препоручене вакцинације у европским земљама 65 и више година, изузев Републике Ирске где је 50 година, односно на Малти 55 година (*Venice project*). У Србији се према Правилнику о имунизацији становништва против заразних болести (Сл. гласник РС, бр. 11/2006) препоручује вакцинација против грипа особама преко 65 година старости као и многим осетљивим категоријама становништва и хроничних болесника, што укључује и пацијенте који примају имуносупресивну терапију. Од избијања пандемије вируса А Х1Н1 у Србији се користи инактивисана тровалента сплит вакцина против грипа, а одзив становништва на вакцинацију је веома слаб.

У времену експлозије нових аутоимуних болести и мозаику нових и старих етиолошких фактора и даље нема довољно клиничко-епидемиолошких студија које на свеобухватан начин разматрају појаву грипа и његових компликација после инфлуенца вакцинације код имунокомпромитованих пацијената- који су са повећаним ризиком за развој тешких или фаталних респираторних инфекција. Етиолошка природа аутоимуних реуматских болести и даље је нејасна, а поред осталих фактора може бити иницирана и бројним микробиолошким агенсима, укључујући и вакциналне сојеве вируса. Из тог разлога, потребно је што прецизније утврдити оправданост примене вакцине против сезонског грипа код хроничних реуматских болести са аспекта безбедности, заштите од болести, имуногености и учинка могућних штетних ефеката вакцинације у активирању основних аутоимуних реуматских обољења или појави нових аутоимуних болести.

### **1.5.3. Радна хипотеза**

Вакцина против сезонског грипа код пацијената са аутоимуним реуматским болестима је довољно безбедна и ефективна у спречавању грипа и не доводи до погоршања основне болести у испитаној групи пацијената са аутоимуним реуматским болестима.

## 2. ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА

- Одредити титрове антитела на вирус грипа код пацијената који су вакцинисани и који нису вакцинисани против грипа
- Пратити појаву нежељених дејстава вакцине у поствакциналном периоду
- Пратити појаву респираторних инфекција током наступајуће сезоне грипа
- Утврдити да ли врста и трајање аутоимуне реуматске болести, пол, старост и врста терапије, штетне навике, претходне вакцинације и претходне респираторне инфекције корелирају са висином титра поствакциналних антитела и обољевањем од грипа или других респираторних инфекција у поствакциналном периоду

### 3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

Истраживање је дизајнирано као студија пресека. Студија обухвата 66 болесника који болују од реуматских болести и лече се у КБЦ “Бежанијска Коса”, којима је предложена вакцинација против грипа током јесени 2010. године. Од ових болесника 46 су прихватили, а 20 нису прихватили предложену вакцинацију. Сви су контролисани на месец дана током наредних шест месеци у смислу стања основне болести и интеркурентних респираторних инфекција. Контрола антитела на вирус грипа рађена је после два месеца од вакцинације, а код невакцинисаних пацијената у исто време.

Пацијенти су селектовани из реуматолошке базе података позивањем, а на основу доступности и добровољног пристања. Од 66 пацијената 28 је боловало од СЕЛ, 20 од РА и 18 од Сјогреновог синдрома (СјС). Поделили смо три групе пацијената у две подгрупе у зависности од вакцинације: вакцинисани СЕЛ<sub>1</sub> (19), РА<sub>1</sub>(14) и СјС<sub>1</sub>(13) и невакцинисани СЕЛ<sub>2</sub> (9), РА<sub>2</sub> (6) и СјС<sub>2</sub> (5). У студију су укључени искључиво пацијенти у стабилном стању основне болести, на основу клиничке процене ординирајућег реуматолога, који је током посматраног периода обављао редовне реуматолошке контроле, са посебним освртом на могућа нежељена, односно штетна дејства вакцине. У случају респираторне инфекције лечење је обављано у Клиници за инфективне болести ВМА.

Пацијенти (46) су вакцинисани новембра 2010 инактивисаном тровалентном сплит вакцином (*Vaxigrip-Aventis Pasteur*) која садржи:  $15\mu\text{gHA A/California/7/2009}$  (*H1N1*),  $15\mu\text{gHA A/Perth/16/2009}$  (*H3N2*) и  $15\mu\text{gHA B/Brisbane/60/2008}$  у неактивној фази основне болести. Контролну групу чини 20 пацијената који нису вакцинисани у периоду 2006-2010. Потом смо пратили присуство вирусних, првенствено инфлуенце и бактеријских инфекција, параметара активности болести (од дана вакцинације до априла 2011. год.) и титар антитела према вирусу А Х1Н1 код вакцинисаних и невакцинисаних пацијената. За доказивање респираторних инфекција користили смо клиничко- лабораторијска испитивања и

микробиолошке анализе а код вирусних инфекција (Инфлуенца А и Б, параинфлуенца, ЕБВ, ЦМВ, Адено вирус, респираторни синцицијални вирус) серолошке тестове као што су реакција везивања комплекса (РВК), ЕЛИСА (*enzyme-linked immunosorbent assay*) тест. Анализа титрова антитела према вирусу А Х1Н1 је урађена употребом теста- реакција инхибиције хемаглутинације (РИХ) у референтној лабораторији (национална и СЗО) за инфлуенцу и друге респираторне вирусе, Института за вирусологију, вакцине и серуме “Торлак”- према (*CDC- center for diseases control and prevention*) методи са антигеном вируса грипа А/Калифорнија/7/2009 (Х1Н1) и еритроцитима ћурке за доказивање антитела према А/Х1Н1. Тестирали смо 66 серума наших болесника (вакцинисаних и невакцинисаних) на присуство антитела према вирусу грипа у разблажењу од 1/8 до 1/1024. Разматрани заштитни титар тј. стечени имунитет према пандемијском вирусу инфлуенце је  $1/\geq 32$ ; проистекао је из имунизације, клиничке или субклиничке инфекције. Вакцинална ефикасност је праћена путем одређивања средњег титра (СТ) антитела, средњег ранга титрова антитела- одређивањем медијане титра и серопротективног титра (СП). СП титар  $\geq 32$  је генерално прихваћен као протективни титар.

Такође су анализирани демографски показатељи, оптерећујуће навике, врста и дужина трајања реуматске болести, примењена терапија основне болести, подаци о претходним респираторним инфекцијама (вирусне инфекције, бронхитис, пнеумонија) и претходним вакцинацијама у задњих 5 година у корелацији са вакцинацијом (2010) и хуморалним поствакциналним одговором, као и са обољевањем од грипа и других респираторних инфекција у посматраном периоду.

Приликом укључивања у студију утврђиван је индекс активности болести код СЕЛ (*SLEDAI- systemic lupus erythematosus diseases activity index*), а степен клиничке активности болести код пацијената са РА (*DAS 28- Diseases activity score*) и СјС. Параметри активности болести су праћени у шестомесечном периоду после вакцинације.

Студија је обављена на основу :

1.Клиничке обраде пацијената која подразумева детаљан физикални преглед и опсервацију свих релевантних симптома и знакова респираторних инфекција до 6 месеци после вакцинације. Посебан акценат је био на праћењу клиничког стања основне болести у овом периоду, односно утврђивању евентуалних погоршања која би се могла довести у везу са штетним ефектима вакцинације против грипа.

2.Епидемиолошке анкете која је узета при укључивању у студију и која је садржала питања о обољевању од респираторних инфекција, вирусних и бактеријских (бронхитис, пнеумонија) и вакцинацијама током последњих 5 година (2006-2010).

Н.Б. Подаци о претходним вакцинацијама узимани су из болесничких картона.

3.Лабораторијске процене активности болести која се базирала на резултатима комплетних лабораторијских анализа, показатељима инфламаторног одговора и имуносеролошким параметрима у опсервираном периоду.

4.Одређивања титрова антитела на вирус грипа код вакцинисаних и невакцинисаних пацијената коришћењем теста- реакција инхибиције хемагутинације.

Добијени резултати су дискутовани у односу на податке из литературе.

Студија је одобрена од стране Етичког комитета Медицинског факултета у Београду и обављена је на основу добровољног информативног пристанка укључених пацијената.

Статистичка обрада је рађена употребом статистичких анализа: хи- квадрат и студентов т- тест, тестовима Колмогоров-Смирнов, Ман-Витни и Краскал-Валис, тестовима корелације и парцијалне корелације, Пирсоновом корелацијом, Фишеровим тестом, анализом варијансе , бинарном логистичком регресијом.

У анализи и обради података коришћен је компјутерски програм СПСС.



## 4. РЕЗУЛТАТИ

### 4.1. Опште карактеристике пацијената

Пацијенти са аутоимуним реуматским болестима су боловали од СЕЛ, РА и СјС и били су просечне старости- година: СЕЛ (28) -53.2; РА (20) - 61.7 и СјС (18) - 63.9. Просечно трајање болести је: СЕЛ-11.6; РА- 10.7 и СјС-5.0, а средње трајање болести на нивоу групе свих оболелих је 9.5година.

Било је укупно 57 (86.4%) особа женског пола и 9 (13.6%) мушкараца. Резултати су приказани у табели 1 и 2.

Табела 1. Приказ старости пацијената у односу на хроничну реуматску болест

АИРБ	СТАРОСТ			ТРАЈАЊЕ	
	Бр	Средња вредност	СД	Средња вредност	СД
СЕЛ	28	53.2	10.7	11.6	4.4
РА	20	61.7	10.3	10.7	7.7
СјС	18	63.9	8.7	5.0	4.3
УКУПНО	66	58.7	11.1	9.5	6.2

Табела 2. Приказ пола пацијената у односу на хроничну реуматску болест

АИРБ	ПОЛ	БОЛЕСТ			УКУПНО (%)
		СЕЛ	РА	СјС	
	Женски	24	15	18	57 (86,4%)
	Мушки	4	5		9 (13,6%)
УКУПНО		28	20	18	66

## 4.2. Респираторне инфекције и вакцинација

Невакцинисани пацијенти са СЕЛ<sub>1</sub> имали су доказани грип у 4 случаја (44%), за разлику од вакинисаних код 1 (5%), што је статистички значајна разлика ( $p < 0.05$ ). Код пацијената са РА и СјС број оболелих од клиничког грипа се не разликује значајно у подгрупама вакцинисаних и навакцинисаних болесника, односно статистички  $p > 0.05$ . Укупне вирусне инфекције (89%), које подразумевају клинички и субклинички грип и друге вирусне респираторне инфекције су значајно више заступљене код невакцинисаних пацијената са СЕЛ него у подгрупи вакцинисаних пацијената (26%), односно  $p < 0.01$ . Код пацијената оболелих од РА и СјС нису нађене статистички значајне разлике у испитиваним подгрупама у односу на заступљеност укупних вирусних инфекција (РА<sub>1</sub> 29%, РА<sub>2</sub> 67% и СјС<sub>1</sub> 38%, СјС<sub>2</sub> 60%). тј.  $p > 0.05$ . Број оболелих од бронхитиса и пнеумоније се не разликује значајно статистички у подгрупама вакцинисаних и невакцинисаних болесника код све три болести ( $p > 0.05$ ). Приказано у табели 3.

Ако сагледамо збирне резултате за све три болести у погледу односа вакцинације и респираторних инфекција долазимо до следећих резултата: значајно је мање пацијената са gripом (7%) међу вакцинисаним у односу на невакцинисане пацијенте (30%) код оболелих од аутоимуних реуматских болести,  $p < 0.05$ . Укупне вирусне инфекције су такође значајно мање заступљене код вакцинисаних пацијената (30%) у односу на невакцинисане (75%),  $p < 0.01$ . Код пацијената са аутоимуним реуматским обољењима у погледу оболелих од бронхитиса и пнеумоније нису статистички доказане разлике које се могу повезати са вакцинацијом,  $p < 0.05$ . Приказано у табели 4.

Табела 3. Респираторне инфекције у аутоимуним реуматским болестима (СЕЛ, РА, СјС) у односу на вакцинацију 2010

Болест Бр (%)	СЕЛ <sub>1</sub> 19	СЕЛ <sub>2</sub> 9	n	РА <sub>1</sub> 14	РА <sub>2</sub> 6	n	СјС <sub>1</sub> 13	СјС <sub>2</sub> 5	p
ГРИП	1(5%)	4(44%)	<i>p</i> <0.05	1(7%)	1(17%)	<i>ns</i>	1(8%)	1(20%)	<i>ns</i>
УКУПНО ВИРУСНЕ ИНФ.	5(26%)	8 (89%)	<i>p</i> <0.01	4(29%)	4(67%)	<i>ns</i>	5(38%)	3(60%)	<i>ns</i>
БРОНХИТ.	1(5%)	2(22%)	<i>ns</i>	0(0%)	0(0%)	<i>ns</i>	1(8%)	1(20%)	<i>ns</i>
ПНЕУМ.	1(5%)	0(0%)	<i>ns</i>	0(0%)	0(0%)	<i>ns</i>	1(8%)	0(0%)	<i>ns</i>

*p*<0.05- Разлика је значајна на нивоу 0.05.  
*p*<0.01- Разлика је значајна на нивоу 0.01.  
*ns*- Разлика није значајна

Табела 4. Укупно присуство респираторних инфекција у АИРБ у односу на вакцинацију 2010

Болест Бр (%)	АИРБ <sub>1</sub> Бр=46	АИРБ <sub>2</sub> Бр=20	p
ГРИП	3 (7%)	6 (30%)	<i>p</i> <0.05
УКУПНО ВИРУСНЕ ИНФЕКЦИЈЕ	14 (30%)	15 (75%)	<i>p</i> <0.01
БРОНХИТИС	2 (4%)	3 (15%)	<i>ns</i>
ПНЕУМОНИЈА	2 (4%)	0 (0%)	<i>ns</i>

*p*<0.05- Разлика је значајна на нивоу 0.05.  
*p*<0.01- Разлика је значајна на нивоу 0.01.  
*ns*- Разлика није значајна

### 4.3. Значај различитих предиктивних фактора

Осим вакцинације против грипа као најбитнијег чиниоца у његовој превенцији, разматрани су и други фактори који могу на одређени начин утицати на инциденцију појединих респираторних обољења, пре свега грипа, код оболелих од аутоимунних реуматских обољења.

Помоћу Пирсонове корелационе анализе доказујемо статистички значајну негативну корелацију између вакцинације и грипа ( $p = 0.010$ ), као и између вакцинације и укупних вирусних инфекција ( $p = 0.001$ ). Вакцинација значајно смањује број оболелих од грипа и укупних вирусних инфекција. Појава грипа је значајно повезана са ранијим бронхитисом и пнеумонијом ( $p = 0.001$ ,  $p = 0.000$ ), односно они пацијенти оболели од аутоимунних реуматских болести који су имали у ранијем периоду (2006-2010) бронхитис или пнеумонију су значајно више подложни грипу. Ово важи и за оболеле од тежих облика грипа (са бронхопнеумонијом или пнеумонитисом), а раније су боловали од бронхитиса или пнеумоније ( $p = 0.010$ ,  $p = 0.008$ ). Такође, присуство укупних вирусних инфекција је значајно више код пацијената који су раније боловали од бронхитиса ( $p = 0.000$ ), односно инфекције у ранијем периоду стварају високу предиспозицију код особа са аутоимуним болестима да оболе од грипа или пратећих бактеријских инфекција. Пацијенти су значајно чешће обољевали од бронхитиса уколико су раније имали бронхитис или пнеумонију ( $p = 0.001$ ,  $p = 0.021$ ). Пратећи значај предиктивних фактора као што су пол, старост, трајање болести и пушење није утврђена статистички значајна повезаност наведених чинилаца и обољевања од грипа и других респираторних инфекција. Приказано у табели 5.

Табела 5. Пирсонова корелација респираторних инфекција са вакцинацијом и другим предикторима код оболелих од АИРБ

АИРБ Бр(66)	2010						2006-2010		
		ВАКЦ.	ПОЛ	ДОБ	ТРАЈЕ	ПУШЕ	ВИР ИНФ	БРОНХ.	ПНЕУМО
2010-2011									
<b>ГРИП</b>	П.К	-.314 **	-.158	-.197	-.113	.101	.101	.417 **	.445 **
		.010	.205	.114	.365	.422	.420	.001	.000
<b>ТЕЖАК ГРИП</b>	П.К	-.109	-.101	-.177	.019	.014	.065	.317 **	.326 **
		.384	.420	.155	.882	.913	.607	.010	.008
<b>ВИРУС ИНФ УК</b>	П.К	-.413 **	-.085	-.127	-.117	.175	.225	.467 **	.200
		.001	.498	.311	.348	.159	.069	.000	.108
<b>БРОНХ</b>	П.К	-.185	-.114	-.033	-.016	.118	.073	.391 **	.283 **
		.137	.363	.791	.899	.345	.562	.001	.021
<b>ПНЕУМО</b>	П.К	.117	-.070	.021	-.001	-.096	.045	.115	-.031
		.351	.575	.866	.992	.444	.720	.358	.803

\*Корелација је значајна на нивоу- 0.05. П.К.- Пирсонова корелација  
\*\* Корелација је значајна на нивоу- 0.01.

Осим већ разматраних предиктивних фактора (вакцина, пол, доб, трајање, пушење, претходне респираторне инфекције (вирусне инфекције, бронхитис, пнеумонија)), сагледан је значај и других предиктора као што су титар антитела, претходне вакцинације и терапија, као и њихова повезаност са gripом, тежим gripом, укупним вирусним инфекцијама, бронхитисом и пнеумонијом. Средњи ранг титра антитела је коришћен за приказивање просечне концентрације антитела према вирусу грипа А/Х1Н1 код аутоимуних реуматских болести. Сагледан је значај ових предиктивних фактора, збирно код све три болести и појединачно код сваке реуматске болести. Опсервирана је повезаност претходних вакцинација у периоду (2006-2010), као потенцијално значајног предиктивног фактора, са утврђеним нивоом титра антитела према вирусу грипа и са учесталостију грипа и његових компликација. Анализирана је повезаност кортикостероида и / или метотрексата са стварањем заштитног титра антитела и повезаност присутног хуморалног одговора са вакцинацијом и другим предикторима, као и са обољевањем од грипа и његових компликација. Такође,

процењена је улога претходних вакцинација у периоду 2006-2010 у оствареном титру антитела која су резултат вакцинације 2010. године.

Последња вакцинација (2010) пресудно утиче на концентрацију антивирусних антитела, односно статистички гледано између вакцинације 2010 и титра антитела постоји значајна позитивна корелација ( $p=0.000$ ). Претходне вакцинације су, такође, значајно повезане са средњим рангом титра антитела ( $p=0.004$ ) и у значајној су негативној корелацији са инциденцијом укупних вирусних инфекција ( $p=0.023$ ). Анализирана терапија не утиче значајно на титар антитела код оболелих од аутоимуних реуматских болести, као и на повећање учесталости грипа, тежег грипа и укупних вирусних инфекција ( $p \geq 0.05$ ). Табела 6.

Табела 6. Пирсонова корелација вакцинације и других предиктора са титром антитела и респираторним инфекцијама код оболелих од АИРБ

АИРБ		РАНГ ТИТРА	ГРИП	ТЕЖИ ГРИП	В ИНФ УКУПНО	БРОНХ	ПНЕУМО
Бр= 66							
ТРАЈАЊЕ	П.К.	-.085	-.120	.036	-.110	-.009	.014
		.499	.340	.776	.383	.942	.910
ПОЛ	П.К.	-.202	-.158	-.101	-.085	-.114	-.070
		.104	.205	.420	.498	.363	.575
СТАРОСТ	П.К.	-.178	-.203	-.181	-.139	-.037	.019
		.155	.105	.149	.270	.770	.880
ТЕРАПИЈА	П.К.	.055	-.108	-.099	.015	-.296(*)	.121
		.659	.389	.428	.906	.016	.334
РАНГ ВАК5	П.К.	.354(**)	-.149	-.049	-.279(*)	-.107	.126
		.004	.231	.697	.023	.392	.312
ВАКЦИНА	П.К.	.490(**)	-.314(*)	-.109	-.413(**)	-.185	.117
		.000	.010	.384	.001	.137	.351
В_ИНФ_ПРЕ	П.К.	-.105	.101	.065	.225	.073	.045
		.403	.420	.607	.069	.562	.720
БРОНХ_ПРЕ	П.К.	-.038	.417(**)	.317(**)	.467(**)	.391(**)	.115
		.761	.001	.010	.000	.001	.358
ПНЕУМО_ПРЕ	П.К.	-.007	.445(**)	.326(**)	.200	.283(*)	-.031
		.954	.000	.008	.108	.021	.803

\* Корелација је значајна на нивоу- 0.05. П.К- Пирсонова корелација  
 \*\* Корелација је значајна на нивоу- 0.01.

Код пацијената оболелих од СЕЛ вакцина је значајан предиктивни фактор који сигнификантно утиче на концентрацију антитела, нађена је статистички значајна позитивна корелација између вакцинације и утврђене концентрације антитела против грипа ( $p= 0.001$ ). Такође, налазимо значајну негативну корелацију вакцинације и појаве грипа ( $p= 0.010$ ) и укупних вирусних инфекција,  $p= 0.001$ . Пацијенти са претходним бронхитисом имају значајну статистичку повезаност са обољевањем од грипа, тежег грипа, укупних вирусних инфекција и бронхитиса ( $p= 0.000$ ;  $p= 0.003$ ;  $p= 0.042$ ;  $p= 0.045$ ), што слично важи и за претходну пнеумонију у корелацији према грипу, тежем грипу и бронхитису ( $p= 0.029$ ;  $p= 0.011$ ;  $p= 0.002$ ). Приказано у табели 7.

Табела 7. Пирсонова корелација вакцинације и других предиктора са титром антитела код СЕЛ

СЕЛ Бр= 28		<i>РАНГ ТИТРА</i>	<i>ГРИП</i>	<i>ТЕЖИ ГРИП</i>	<i>В ИНФ УКУП</i>	<i>БРОНХ</i>	<i>ПНЕУМ</i>
ТРАЈАЊЕ	П.К.	-.054	-.151	-.178	-.111	.144	.000
		.785	.444	.366	.573	.466	1.000
ПОЛ	П.К.	-.258	-.190	-.167	.029	-.141	-.079
		.186	.332	.397	.883	.473	.691
СТАРОСТ	П.К.	-.140	.163	-.088	.104	-.042	.085
		.486	.417	.661	.607	.834	.673
ТЕРАПИЈА	П.К.	.082	-.270	-.343	.060	-.441(*)	.090
		.677	.165	.074	.761	.019	.650
РАНГВАК5	П.К.	.393(*)	-.054	-.112	-.198	-.111	.161
		.038	.785	.572	.313	.573	.260
ВАКЦИНА	П.К.	.584(**)	-.478(*)	-.156	-.586(**)	-.256	.182
		.001	.010	.428	.001	.188	.502
В_ИН_ПРЕ	П.К.	.(a)	.(a)	.(a)	.(a)	.(a)	.(a)
		.	.	.	.	.	.
БРОН_ПРЕ	П.К.	-.159	.666(**)	.533(**)	.386(*)	.382(*)	.369
		.418	.000	.003	.042	.045	.054
ПНЕУ_ПРЕ	П.К.	-.243	.413(*)	.471(*)	.207	.556(**)	-.037
		.213	.029	.011	.291	.002	.852

\* Корелација је значајна на нивоу- 0.05

\*\* Корелација је значајна на нивоу- 0.01

а Не може бити израчунато јер је бар једна варијабла константа

Код оболелих од РА посматрамо, као код свих пацијената заједно и СЕЛ пацијената, класичне предикторне факторе као што су трајање болести, пол, старост, терапија, претходне вакцинације, вакцинацију 2010 и претходне респираторне инфекције и њихову повезаност са титром антитела и обољевањем од грипа, тежег грипа, вирусних инфекција, бронхитиса и пнеумоније у задњој сезони вакцинације против грипа (2010/2011). Старији пацијенти су значајно мање обољевали од грипа, а дуже трајање болести не повећава значајно обољевање од грипа. Није утврђена значајна повезаност осталих предиктора са титром антитела и респираторним инфекцијама. Приказано у табели 8.

Табела 8. Пирсонова корелација вакцинације и других предиктора са титром антитела код РА

РА Бр=20		<i>РАНГ ТИТРА</i>	<i>ГРИП</i>	<i>ТЕЖИ ГРИП</i>	<i>В ИНФ УКУПНО</i>	<i>БРОНХ</i>	<i>ПНЕУМ</i>
ТРАЈАЊЕ	П.К.	-.280	-.487(*)	.(a)	-.205	.(a)	.(a)
		.246	.034	.	.399	.	.
ПОЛ	П.К.	-.172	-.192	.(a)	-.236	.(a)	.(a)
		.468	.416	.	.317	.	.
СТАРОСТ	П.К.	-.071	-.487(*)	.(a)	-.442	.(a)	.(a)
		.767	.030	.	.051	.	.
ТЕРАПИЈА	П.К.	-.326	-.250	.(a)	-.102	.(a)	.(a)
		.160	.288	.	.669	.	.
РАНГ ВАК5	П.К.	.257	-.257	.(a)	-.277	.(a)	.(a)
		.274	.275	.	.237	.	.
ВАКЦИНА	П.К.	.407	-.145	.(a)	-.356	.(a)	.(a)
		.075	.541	.	.123	.	.
В_ИН_ПРЕ	П.К.	.093	.111	.(a)	.272	.(a)	.(a)
		.696	.641	.	.246	.	.
БРОН_ПРЕ	П.К.	.000	-.111	.(a)	.408	.(a)	.(a)
		1.000	.641	.	.074	.	.
ПНЕУ_ПРЕ	П.К.	.(a)	.(a)	.(a)	.(a)	.(a)	.(a)
		.	.	.	.	.	.
* Корелација је значајна на нивоу- 0.05							
** Корелација је значајна на нивоу- 0.01							
а Не може бити израчунато јер је бар једна варијабла константа							



Код пацијената са СјС смо пратили путем корелационих анализа исте параметре као и код претходне две болести. Уочена је значајна позитивна корелација претходних вакцинација и титра антитела ( $p= 0.020$ ), затим претходног бронхитиса и укупних вирусних инфекција ( $p= 0.003$ ), као и претходне пнеумоније са gripом ( $p= 0.002$ ). Такође, старији пацијенти обољевају значајно мање од gripа. Приказано у табели 9.

Табела 9. Пирсонова корелација вакцинације и других предиктора са титром антитела код СјС

СјС Бр=18		<i>РАНГ ТИТРА</i>	<i>ГРИП</i>	<i>ТЕЖИ ГРИП</i>	<i>В. ИНФ УКУПНО</i>	<i>БРОНХ</i>	<i>ПНЕУМ</i>
ТРАЈАЊЕ	П.К.	.083	-.017	.(a)	-.109	-.172	.189
		.742	.946	.	.667	.494	.452
ПОЛ	П.К.	.(a)	.(a)	.(a)	.(a)	.(a)	.(a)
		.	.	.	.	.	.
СТАРОСТ	П.К.	-.246	-.578(*)	.(a)	-.173	.067	-.054
		.325	.012	.	.494	.792	.832
ТЕРАПИЈА	П.К.	.454	.125	.(a)	.079	-.250	.343
		.058	.621	.	.755	.317	.163
РАНГ ВАК5	П.К.	.542(*)	-.303	.(a)	-.408	-.019	.182
		.020	.221	.	.093	.940	.470
ВАКЦИНА	П.К.	.453	-.175	.(a)	-.194	-.175	.150
		.059	.486	.	.440	.486	.551
В_ИН_ПРЕ	П.К.	-.489(*)	.125	.(a)	.316	.125	.086
		.039	.621	.	.201	.621	.735
БРОН_ПРЕ	П.К.	.056	.443	.(a)	.663(**)	.443	-.193
		.824	.065	.	.003	.065	.442
ПНЕУ_ПРЕ	П.К.	.264	.686(**)	.(a)	.271	-.086	-.059
		.291	.002	.	.276	.735	.817
* Корелација је значајна на нивоу- 0.05							
** Корелација је значајна на нивоу- 0.01							
a Не може бити израчунато јер је бар једна варијабла константа							

#### 4.4. Титар антитела према вирусу грипа А/Х1Н1

Тестирали смо серуме вакцинисаних и невакцинисаних пацијента одређивањем концентрације антитела (средњи титар- СТ) према вирусу А/Х1Н1 код пацијената са СЕЛ, РА и СјС. СТ на нивоу целе групе вакцинисаних болесника (84.17) је значајно виши него у групи невакцинисаних пацијената (8.80), односно статистички посматрано,  $p = 0.008$ . Највиши СТ је у подгрупи СЕЛ вакцинисаних пацијената (141.05)- у односу на вредност СТ у подгрупи невакцинисаних пацијената (8.89), утврђена разлика је статистички значајна ( $p = 0.002$ ). Поредећи СТ код вакцинисаних и невакцинисаних са РА (38.88; 5.33) и СјС (49.85; 12.80) не налазимо статистички значајне разлике између подгрупа болесника ( $p = 0.075$ ;  $p = 0.109$ ). Приказано у табели 10.

Табела 10. СТ према вирусу А/Х1Н1 код болесника са АИРБ

СТ АНТИТЕЛА			
АИРБ	ВАКЦИНА	Бр	СТ
	Невакц	20	8.80
	Вакц	46	84.17
	УКУПНО	66	$p=0.008$
СЕЛ			
	Невакц	9	8.89
	Вакц	19	141,05
	Укупно	28	$p=0.002$
РА			
	Невакц	6	5.33
	Вакц	14	38.88
	Укупно	20	$p=0.075$
СјС			
	Невакц	5	12.80
	Вакц	13	49.85
	Укупно	18	$p=0.109$

Поредећи добијене податке- средњи ранг титра антитела на нивоу група и подгрупа вакцинисаних и невакцинисаних болесника добијени су следећи резултати: АИРБ (39.48; 19.75), односно  $p= 0.000$ ; СЕЛ (17.68; 7.78),  $p= 0.002$ ; РА (11.93; 7.17),  $p= 0.038$  и СјС (10.92; 5.80), статистички  $p= 0.031$ . Коришћен је Ман- Витнијев (*Man-Whitney*) тест у анализи средњег ранга титра антитела.

Резултати средњих рангова титра антитела су компатибилни са резултатима СТ и слично приказују ниво титра антитела код вакцинисаних и невакцинисаних болесника. Средњи ранг титра је значајно виши у групи вакцинисаних болесника (39.48)- у односу на 19.75 у групи невакцинисаних, разлика је статистички значајна ( $p= 0.000$ ). Највиши средњи ранг титра је код вакцинисаних пацијената са СЕЛ (17.68) и значајно је виши него у подгрупи невакцинисаних пацијената (7.78), статистички,  $p= 0.002$ . Између подгрупа вакцинисаних пацијената код СЕЛ, РА и СјС нема значајних разлика у средњем рангу титра антитела ( $p= 0.418$ ). Приказано у табели 11.

Табела 11. Средњи ранг титра антитела према А/Х1Н1 код аутоимуних реуматских болести

РАНГ ТИТРА АНТИТЕЛА ПРЕМА А/Х1Н1				
АИРБ	ВАКЦИНА	Бр	Средњи ранг	Збир рангова
	Невакц	20	19.75	395.00
	Вакц	46	39.48	1816.00
	УКУПНО	66	$p=0.000$	
СЕЛ				
	Невакц	9	7.78	70.00
	Вакц	19	17.68	336.00
	Укупно	28	$p=0.002$	
РА				
	Невакц	6	7.17	43.00
	Вакц	14	11.93	167.00
	Укупно	20	$p=0.038$	
СјС				
	Невакц	5	5.80	29.00
	Вакц	13	10.92	142.00
	Укупно	18	$p=0.031$	

Табела 12. Приказ медијане титра код вакцинисаних и невакцинисаних пацијената

СВИ ПАЦИЈЕНТИ	Бр=66 АИРБ	бр=28 СЕЛ	бр=20 РА	бр=18 СјС	Глобалне разлике по болестима***
Медијана Титра	16	16	8	12	<i>ns</i>
НЕВАКЦИНИСАНИ	20	9	6	5	
Медијана Титра	0	0	0	0	<i>ns</i>
ВАКЦИНИСАНИ	46	19	14	13	
Медијана Титра	16	32	16	32	<i>ns</i>
	<i>p=0.000</i>	<i>p=0.002</i>	<i>p=0.038</i>	<i>p=0.031</i>	**
* Т-тест ** Ман-Витнијев тест *** АНОВА/Краскал-Волисов тест					<i>ns- није значајно</i>

У табели 12 приказани су резултати медијане титра код свих анализираних болести као и на нивоу целе групе вакцинисаних и невакцинисаних пацијената. Налазимо значајну позитивну корелацију између медијана титра вакцинисаних и невакцинисаних пацијената у свим анализираним групама, односно медијана титра је значајно већа код вакцинисаних пацијената. Нису утврђене значајне разлике у медијани титра антитела између различитих болести. Поредићи целу групу вакцинисаних и невакцинисаних пацијената налазимо статистички значајну разлику у корист вакцинисанх пацијената ( $p=0.000$ ), као и у подгрупама различитих болести (СЕЛ- $p=0.002$ , РА-  $p=0.038$ , СјС- $p=0.031$ ).

У табели 13 приказан је распон титра антитела према вирусу грипа А/Х1Н1 код вакцинисаних и невакцинисаних пацијената оболелих од аутоимуних реуматских болести. Серуме смо тестирали у разблажењу од 1/8 до 1/1024 и у овом опсегу смо добили следеће резултате: највећи број пацијената има титар антитела 8- (укупно 24) од којих је 15 пацијената невакцинисано. Друга највећа група пацијената има титар 64+ (укупно 11), од којих је 9 пацијената вакцинисано. Трећа група пацијената има титар 16+ (укупно 9), у којој су сви вакцинисани. Следећа група се састоји од укупно 8 пацијената (6 вакцинисаних) и они имају титар 8+. Затим следи група пацијената са титром антитела 32+ (укупно 6), од којих је 5 вакцинисаних пацијената. Титар

антитела 256+ има 5 пацијената и сви су вакцинисани. Преостала три вакцинисана пацијента имају редом титрове 128+, 512+ и 1024+.

Табела 13. Спектар титра антитела према вирусу А/Х1Н1 код АИРБ

ТИТАР АНТИТЕЛА * ВАКЦИНА				
Болести Бр=66	(АИРБ)	ВАКЦИНА		УКУПНО
		Невакц.	Вакц.	
	8-	15	9	24
	8+	2	6	8
	16+		9	9
ТИТАР АНТИТЕЛА	32+	1	5	6
	64+	2	9	11
	128+		1	1
	256+		5	5
	512+		1	1
	1024+		1	1
УКУПНО		20	46	66

Код пацијената са СЕЛ имамо следеће резултате у погледу измереног титра антитела: 8 пацијената са титром 8- (6 невакцинисаних), 5 са титром 8+ (3 вакцинисана), 5 има титар 64+ (4 вакцинисана), затим следе редом вакцинисани пацијенти са титром 1024+ (1), 512+ (1), 256+ (3), 32+ (1) и 16+ (4). Приказано у табели 14.

Пацијенти са РА, њих 10 имају титар антитела 8- (5 вакцинисаних), 4 вакцинисана имају титар 16+, три вакцинисана 64+, 2 пацијента 32+ (1 вакцинисан) и 1 вакцинисан има титар 256+. Приказано у табели 15.

Табела 14. Спектар титра антитела према вирусу А/Х1Н1 код СЕЛ

ТИТАР	АНТИТЕЛА	*		ВАКЦИНА
Болест Бр=28	(СЕЛ)	ВАКЦИНА		Укупно
		Невакц.	Вакц.	
	8-	6	2	8
	8+	2	3	5
	16+		4	4
	32+		1	1
ТИТАР АНТИТЕЛА	64+	1	4	5
	256+		3	3
	512+		1	1
	1024+		1	1
Укупно		9	19	28

Табела 15. Спектар титра антитела према вирусу А/Х1Н1 код РА

ТИТАР	АНТИТЕЛА	*		ВАКЦИНА
Болест Бр=20	(РА)	ВАКЦИНА		Укупно
		Невакц.	Вакц.	
	8-	5	5	10
ТИТАР АНТИТЕЛА	16+		4	4
	32+	1	1	2
	64+		3	3
	256+		1	1
Укупно		6	14	20

Код пацијената са СјС имамо следећи распон титра антитела према вирусу грипа А/Х1Н1: 6 пацијената има титар 8- (4 невакцинисана), затим 3 вакцинисана пацијента 8+, такође, 3 вакцинисана имају титар 32+, 3 пацијента 64+ (2 вакцинисана), затим редом следе вакцинисани пацијенти са вредностима титра 256+ (1), 128+ (1) и 16+ (1). Приказано у табели 16.

Табела 16. Спектар титра антитела према вирусу А/Х1Н1 код СјС

ТИТАР АНТИТЕЛА * ВАКЦИНА				
Болест Бр=18	(СјС)	ВАКЦИНА		Укупно
		Невакц.	Вакц.	
	8-	4	2	6
	8+		3	3
ТИТАР АНТИТЕЛА	16+		1	1
	32+		3	3
	64+	1	2	3
	128+		1	1
	256+		1	1
Укупно		5	13	18

#### 4.5. Серопротективни титар и заштита од грипа

Код пацијената са аутоимуних реуматским болестима, који су вакцинисани од грипа у 2010. години, праћена је концентрација (титар) заштитних неутрализирајућих антитела у серуму, како на нивоу целе групе вакцинисаних и невакцинисаних пацијената, тако и код појединачних болести. Разматрали смо титар антитела  $\geq 32$  као потенцијални (претпостављени) серопротективни титар. Претпостављени серопротективни (СП) титар  $\geq 32$  је забележен код 22 од 46 вакцинисаних пацијената (48%), док је од 20 невакцинисаних њих 3 имало утврђени титар (15%). Разлика у праћеном титру антитела између групе вакцинисаних и невакцинисаних болесника је статистички значајна ( $p=0.014$ ). Такође, код пацијената са СЕЛ, у подгрупи вакцинисаних имамо 10 (од укупно 19) са СП титром  $\geq 32$  (53%), а у подгрупи невакцинисаних је 1 (од укупно 9) са датим титром (11%), односно статистички постоји значајна разлика ( $p=0.049$ ). Серопротективна стопа је изражена у %. Приказано у табели 17.1 и 17.2.

Табела 17.1. СП ( $\geq 32$ ) титар код аутоимуних реуматских болести

		СП ТИТАР ( $\geq 32$ ) / ВАКЦИНА %		
		ВАКЦИНА		Укупно
		Невакц.	Вакц.	
СП титар	Нема	17	24	41
	Има	3 (15%)	22 (48%)	25
Укупно		20	46	66
$p=0.014$				

Табела 17.2. СП титар код пацијената са СЕЛ

		ВАКЦИНА		Укупно
		Невакц.	Вакц.	
СП титар	Нема	8	9	17
	Има	1	10	11
Укупно		9 (11%)	19 (53%)	28
$p=0.049$				



Пацијенти са РА имају мање разлика у забележеном СП титру ( $\geq 32$ ) између подгрупа вакцинисаних и невакцинисаних пацијената. Од 14 вакцинисаних пацијената, 5 је имало протективни титар  $\geq 32$  (36%), за разлику од једног код 6 невакцинисаних пацијената (17%), тј разлика није статистички значајна ( $p = 0.613$ ). Код пацијената са СјС добијени су слични резултати. Утврђено је да је 7 од 13 вакцинисаних пацијената (54%) имало СП титар  $\geq 32$ , док је код невакцинисаних пацијената 1 пацијент од 5 укупно (20%), имао СП титар  $\geq 32$ , односно нису утврђене значајне разлику међу поређеним групама ( $p = 0.314$ ). Приликом анализе вредности титра коришћен је Фишеров (*Fisher*) тест. Серопротективна стопа је изражена у %. Резултати су приказани у табели 17.3. и 17.4.

Табела 17.3. СП титар код пацијената са РА

РА		ВАКЦИНА		Укупно
		Невакц.	Вакц.	
СП титар	Нема	5	9	14
	Има	1	5	6
Укупно		6 (17%)	14 (36%)	20
$p=0.613$				

Табела 17.4. СП титар код пацијената са СјС

СјС		ВАКЦИНА		Укупно
		Невакц.	Вакц.	
СП титар	Нема	4	6	10
	Има	1	7	8
Укупно		5 (20%)	13 (54%)	18
$p=0.314$				

Код вакцинисаних пацијената са аутоимуних реуматским болестима, у овом случају код оболелих од СЕЛ, РА и СјС доказана је знатно виша концентрација антитела према вирусу грипа, било путем одређивања СТ или медијане средњег ранга титра антитела. Употреба терапије (кортикостероиди и метотрексат) код оболелих од СЕЛ и РА није значајно утицала на хуморални одговор ( $p= 0.278$ ). На нивоу целе групе вакцинисаних, као и код подгрупа вакцинисаних пацијената доказан је средњи титар антитела који је изнад претпостављеног протективног титра  $\geq 32$ .

На нивоу група вакцинисаних и невакцинисаних пацијената рађене су корелационе анализе повезаности вакцине, грипа, укупних вирусних инфекција и забележеног СП титра  $\geq 32$ . Примењена вакцина против грипа је у значајној негативној корелацији са обољевањем од грипа ( $p= 0.011$ ), односно значајно смањује учесталост грипа код вакцинисаних пацијената. Вакцина такође, значајно учествује у смањењу укупних вирусних инфекција (грип, субклиничке форме грипа, болести налик грипу и друге вирусне респираторне) инфекције. Повезаност вакцине са укупним вирусним инфекцијама је изражена у значајној негативној корелацији ( $p= 0.001$ ). СП титар је повезан са вакцинацијом путем значајне позитивне корелације ( $p= 0.012$ ), односно вакцинација има пресудан утицај у постизању адекватаног хуморалног одговора у заштити против вируса грипа. Приказано у табели 18.

Табела 18. Корелационе анализе између вакцинације, СП титра и грипа код АИРБ

Бр=66 АИРБ	ГРИП	В_ИН	СП_ТИТАР
ВАКЦИНА	-.314(*)	-.413(**)	.311(*)
	.011	.001	.012
ГРИП		.449(**)	.054
		.000	.665
В_ИН	.449(**)		.001
	.000		.994
СП_ТИТАР	.054	.001	
	.665	.994	
*Корелација је значајна на нивоу- 0.05			
** Корелација је значајна на нивоу- 0.01			

Слични резултати су добијени код пацијената са СЕЛ у вези повезаности вакцинације, СП титра, грипа и укупних вирусних инфекција. Вакцинација уначајно утиче на смањење инциденције грипа код вакцинисаних пацијената. Узврђена је сигнификантна негативна корелација између вакцине и грипа ( $p= 0.013$ ). Такође, вакцина значајно смањује учесталост укупних вирусних инфекција, што је потврђено значајном негативном корелацијом ( $p= 0.002$ ). СП титар је значајно повезан са вакцинацијом, тј установљена је сигнификантна позитивна корелација ( $p= 0.039$ ). Приказано у табели 19.

Код оболелих од РА и СјС нису доказане значајне корелације између СП титра, вакцине, грипа и укупних вирусних инфекција ( $p \geq 0.05$ ).

Табела 19. Корелационе анализе између вакцинације, СП титра и грипа код СЕЛ

Бр=28 СЕЛ	ГРИП	В_ИН	СП_ТИТАР
ВАКЦИНА	-.478(*)	-.586(**)	.397(*)
	.013	.002	.039
ГРИП		.501(**)	-.184
		.009	.339
В_ИН	.501(**)		-.162
	.009		.399
СП_ТИТАР	-.184	-.162	
	.339	.399	
*Корелација је значајна на нивоу- 0.05			
** Корелација је значајна на нивоу- 0.01			

#### 4.6. Ефективност и безбедност вакцинације

Вакцинација против грипа код пацијената са СЕЛ, РА и СјС се показала ефективном тј. клинички ефикасном у заштити од грипа и његових компликација. Са аспекта безбедности примене нису запажене било какве озбиљније реакције после вакцинације које би се могле приписати штетним, токсичним или алергијским ефектима имунизације у погоршању основне аутоимуне реуматске болести или развоју нових аутоимуних поремећаја.

Клиничка ефикасност вакцине, пре свега се огледа у значајно мањој учесталости грипа и укупних вирусних инфекција код вакцинисаних пацијената оболелих од аутоимуних реуматских болести, док је заштитни титар антитела значајно виши код вакцинисаних пацијената. Путем парцијалне корелационе анализе доказује се да претходне вакцинације не утичу значајно на остварени титар антитела који је првенствено резултат утицаја последње вакцинације. Парцијална корелација између последње вакцинације и средњег ранга титра антитела (када се одстрани утицај претходних вакцинација) је значајна и износи 0.409 ( $p = 0.001 < 0.01$ ). Парцијална корелација између претходних вакцинација и средњег ранга титра антитела (када се одстрани утицај последње вакцинације) није значајна и износи 0.152 ( $p = 0.227 > 0.05$ ). Слични резултати су добијени за пацијенте са СЕЛ, док код РА и СјС ове корелације нису значајне, па зависност титра антитела од вакцинације не постоји. Серопротективна стопа на нивоу целе групе вакцинисаних пацијената је 48% у односу на 15% код невакцинисаних пацијената (разлика је статистички значајна,  $p = 0.014$ ); код СЕЛ пацијената имамо серопротективну стопу од 53% и 11% (разлика је статистички значајна,  $p = 0.049$ ); код РА вакцинисани имају 36%, односно невакцинисани 17% (разлика није статистички значајна,  $p = 0.613$ ) и код СјС имамо 54% и 20% (разлика није статистички значајна,  $p = 0.314$ ). Претходни бронхитис или пнеумонија значајно доприносе разбољевању од грипа са могућим вирусним и бактеријским компликацијама. Коришћењем бинарне логистичке регресионе анализе показује се да претходни бронхитис повећава ризик од добијања грипа око 12 пута, док сама вакцинација смањује ризик од грипа преко 80%.

Нежељене реакције после вакцинације против грипа су веома ретке, обично благе и краткотрајне. После вакцинације на месту апликације могу се јавити локалне промене у виду бола, црвенила или отока. Системске промене после вакцинације могу бити у виду повишене температуре, грознице, малаксалости, миалгија, артралгија, главобоље, мучнине, повраћања. Код наших пацијената нису забележене било какве значајне локалне нити системске реакције или клиничке манифестације које би се могле повезати са вакцинацијом.

Са клиничког, лабораторијског и имуносеролошког аспекта праћена је активност основне болести у периоду до 6 месеци после вакцинације. Није било значајних одступања у клиничком налазу, основним лабораторијским параметрима, инфламаторним показатељима или имуносеролошким тестовима (имуноглобулини, аутоантитела) који би се повезали са вакцинацијом у поређењу са истим параметрима код пацијентима који нису вакцинисани 2010. Између различитих болести доказане су само разлике у старости, трајању болести и примењеној терапији. Упркос видљивим разликама у неким предикторима који се прате код пацијената са СЕЛ, РА и СјС нису доказане значајне статистичке разлике између три болести у погледу пушења и вирусних инфекција, бронхитиса и пнеумонија у задњих 5 година, као и претходних вакцинација у овом периоду.

Вакцинисани пацијенти се нису значајно разликовали у учесталости респираторних инфекција (грип, тежи грип, укупне вирусне инфекције, бронхитис и пнеумонија), као и у оствареном хуморалном одговору према вирусу грипа А Х1Н1. Вакцина је на сличан и безбедан начин штитила оболеле од аутоимуних реуматских болести од грипа и његових компликација.

## 5. ДИСКУСИЈА

Број пацијената са оштећеним имуни одговором је у сталном порасту последњих година због повећања броја болесника који примају имуносупресивну терапију. Инактивисане вакцине су генерално безбедне код имуносупримираних пацијената, међутим имуни одговор и титар заштитних антитела може бити снижен, у зависности од степена имуносупресије. Због измењеног имуног система употребом стероида, имуносупресаната и биолошке терапије пацијенти са хроничним реуматским болестима су подложни разним вирусним инфекцијама, укључујући и грип. Вирусне инфекције су код аутоимуних болести од посебног значаја, било са аспекта етиопатогенезе, или као фактора у погоршању основне болести. Међутим, због поремећаја имуних механизма у многим реуматских болестима, није довољно јасно да ли је инфлуенца вакцина сасвим безбедна и колико је ефикасна. Објављена је студија која описује више случајева гигантског ћелијског артеритиса и полимиалгије реуматике после инфлуенца вакцинације код претходно здравих особа.<sup>176</sup> С друге стране, у студији у Кини анализирана је безбедност и ефикасност две тровалентне вакцине против грипа у здраве деце, одраслих и старијих особа. Вакцина је имуногена, безбедна и применљива у свим посматраним старосним категоријама.<sup>177</sup> Потенцијални нежељени ефекти повезани са пандемијском Х1Н1 вакцином нису другачији од оних који се повезују са сезонском вакцином против грипа.<sup>178,179</sup>

У погледу примене биолошке терапије код аутоимуних реуматских болести неколико студија говори о средњем или тежем оштећењу хуморалног одговора код пацијената вакцинисаних против грипа, али без штетних ефеката вакцинације и са довољно високим хуморалним одговором да оправда вакцинацију.<sup>180,181,182,183</sup> Хуморални и целуларни параметри имунитета су упоређивани код пацијената са РА третираних РТХ или ДМАРДс- терапијом. Хуморални имунитет је озбиљно нарушен код пацијената лечених РТХ- терапијом.<sup>184</sup> РТХ представља химерична ЦД20 моноклонска антитела, која по апликовању доводе до брзог уклањања преко 95% ЦД20+ Б ћелија из циркулације.<sup>185</sup>

Стварање имунолошке меморије је основни резултат успешне вакцинације. Генерално, конвенционалне вакцине су дизајниране да изазову антиген - специфичну ЦД4+ Т хелпер и ЦД8+ Т цитотоксичну ћелијску реакцију и утичу на антиген- специфично сазревање Б ћелија и производњу антитела. У оквиру генеративних центара лимфних органа, фоликуларне Б ћелије се умножавају и диференцирају у меморијске Б ћелије и дугоживеће плазма ћелије (са или без испољених ЦД20+ рецептора).<sup>186,187,188</sup>

Хуморални одговор после инфлуенца вакцинације код СЕЛ пацијената је сличан са здравим особама, мада под утицајем кортикостероидне терапије може бити снижен.<sup>189,190</sup> Неколико студија описују да је примена вакцине против Х1Н1 вируса грипа код оболелих од СЕЛ имуногена и безбедна и без значајних штетних ефеката.<sup>191,192,193</sup> У другом раду, имуни одговор после вакцинације против грипа А (Х1Н1) 2009 је био снижен због утицаја имуносупресивне терапије, али је уочено да је примена антималярике побољшавала имуногеност вакцине.<sup>194</sup> Смањен ћелијски- посредован одговор на вакцинацију против грипа је повезан са употребом преднизона и / или азотиоприна. Такође, и специфични хуморални одговор према антигенима А/Х1Н1 и А/Х3Н2 је нижи у групи СЕЛ пацијената у односу на контролну групу, што је вероватно резултат примене имуносупресивне терапије и може ове пацијенте учинити подложнијим компликацијама грипа.<sup>195</sup> С друге стране, неки радови говоре о солидној ефикасности и безбедности вакцине без обзира на терапију и старост код СЕЛ пацијената.<sup>196,197</sup>

Студије које се баве примарним Сјогреновим синдромом проучавајући клиничке и серолошке аспекте вакцинације су ретке. У бразилској студији је утврђено да трајање болести и терапија не утичу на сероконверзију, док су штетни ефекти вакцинације били благи. У француској студији је потврђена безбедност вакцинације и добра имуногеност пандемијске вакцине.<sup>198,199</sup> Упркос препорукама Светске здравствене организације за вакцинацију против грипа хроничних болесника, укључујући и оболеле од аутоимуних реуматских болести, имунизација је још увек релативно ретка појава због страха од штетних појава или недостатка свести о потреби за вакцинацијом.<sup>200</sup> У једном клиничком раду се говори о значајном смањењу вирусних инфекција, првенствено грипа и секундарних бактеријских компликација код вакцинисаних пацијената са СЕЛ, РА и СјС, као и о добром хуморалном пост- вакциналном одговору и толеранцији вакцинације.<sup>201</sup>

Прва студија која се бавила безбедношћу и ефикасношћу инфлуенца вакцинације код пацијената оболелих од СЕЛ и РА је била студија *Heron* и сар. из 1979. године. Штетни ефекти који су забележени у студији су били ретки и обично благи. Примена вакцине је изазвала адекватан хуморални одговор код хроничних реуматских болести и код здраве контролне групе.<sup>202</sup> Међутим, у неким другим, каснијим студијама, указује се на погоршање аутоимуних реуматских болести после примене вакцине против грипа.<sup>203</sup> Неколико студија није забележило штетне ефекте вакцинације против грипа код оболелих од СЕЛ и РА, код вакцинисаних пацијената није било погоршања основне болести и остварен је добар пост-вакцинални хуморални одговор у заштити против грипа.<sup>204,10,11,12</sup>

### **5.1. Клинички аспекти вакцинације против грипа и безбедност примене код аутоимуних реуматских болести**

Клиничке студије које се баве вакцинацијом против грипа, као протективним чиниоцем који утиче на смањење грипа и његових вирусних и бактеријских компликација, су ретке. Већина студија углавном процењује имуни одговор на инфлуенца вакцинацију, тј развој заштитног титра антитела против грипа ( $\geq 40$  у већини референтних лабораторија, утврђено путем РИХ теста), као и безбедност саме вакцинације.<sup>205</sup> У нашој клиничкој студији праћени су ефекти инфлуенца вакцинације на инциденцију грипа, укупних вирусних инфекција и секундарних бактеријских компликација код оболелих од аутоимуних реуматских болести. Такође су анализирани концентрације створених заштитних антитела, као и серопротективни титар антитела код пацијената са СЕЛ, РА и СјС, као и могући значај одређених предиктивних фактора у вакциналној ефикасности. Генерално, посматрајући учинак вакцинације на нивоу целе групе вакцинисаних пацијената, закључено је да вакцина има значајан протективни ефекат у погледу смањењења учесталости грипа и укупних вирусних инфекција. Иста тенденција је доказана и код пацијената оболелих од СЕЛ. Код друге две болести (РА, СјС) је, такође, уочено да вакцинација смањује инциденцију вирусних болести, али без статистички значајних разлика између вакцинисаних и невакцинисаних пацијената. Ефикасност вакцинације је превасходно зависила од имуногености примењене



вакцине, док различити предиктори попут пола, старости, дужине трајања болести, терапије, претходних вакцинација у студији генерално, нису имали значајан утицај на ниво хуморалног одговора и учесталост грипа и укупних вирусних инфекција. Код оболелих од РА старији пацијенти су значајно мање обољевали од грипа, а дуже трајање болести није значајно повећало обољевање од грипа. Код СјС пацијената су, такође, старији пацијенти значајно мање обољевали од грипа. Налазимо и да су значајни предиктори чешћег разбољевања од грипа претходне вирусне и бактеријске респираторне инфекције.

У раду Стојановић Љ, код пацијената са СЕЛ и РА су у току годину дана праћени параметри активности основне болести и присуство вирусних и бактеријских инфекција код вакцинисаних и невакцинисаних пацијената против сезонског грипа. Закључено је да су вакцинисани пацијенти имали значајно мање вирусних и бактеријских инфекција. Вакцина је добро толерисана у свим случајевима<sup>26</sup> Такође, у шведској клиничкој студији утврђена је велика учесталост инфлуенце и симптома налик инфлуенци код пацијената са реуматоидним артритисом који нису били вакцинисани, тј. 50% пацијената који нису вакцинисани је имало симптоме налик грипу, док је 5,9% имало сумњиви грип. Преваленција инфлуенце и болести налик инфлуенци се кретала месечно од 0.0% до 2.3%, односно од 10.4% до 19.7% код вакцинисаних и невакцинисаних пацијената. У независне факторе ризика за појаву инфлуенце убраја се биолошка терапија, гојазност и стање основне болести, док су за симптоме болести налик инфлуенци независни фактори ризика били старост, женски пол, инфлуенца вакцинација и претходне болести плућа. Инфлуенца је изазивала блаже знаке инфекције горњих респираторних путева код особа женског пола, млађих и вакцинисаних пацијената.<sup>179</sup>

Ови резултати потенцирају значај вакцинације против грипа код болесника са аутоимуним реуматским обољењима. У нашем истраживању се такође доказује значајна улога претходних болести респираторног система у појави грипа и укупних вирусних инфекција, где спадају и болести налик грипу. Старост и пол болесника у нашој студији нису били значајни предиктивни фактори у повећаној инциденцији грипа и укупних вирусних инфекција код оболелих од СЕЛ, РА и СјС, чак је било значајно мање оболелих од грипа код старијих пацијената са РА и СјС. Свака вирусна и бактеријска инфекција је резултирала погоршањем основног обољења. Вакцинисани

пацијенти су имали значајно мање клинички манифестног грипа или су боловали од блажих респираторних инфекција.

У току истраживања нису забележени штетни ефекти вакцинације, тј у периоду праћења клиничке активности болести (до 6 месеци) није дошло до погоршања основног обољења или појаве других клиничких манифестација.

Бројне студије су потврдиле ефикасност и безбедност А/Х1Н1 вакцинација против грипа код болесника са реуматским болестима. Међутим, једна студија је објавила више случајева гигантског ћелијског артеритиса и полимиалгије реуматике (приказ пацијената и преглед литературе са *Medline*) после инфлуенца вакцинације код претходно здравих особа. У овом раду се дискутује о улози индивидуалне преосетљивости, утицају адјуванаса (АСИА синдром) или пак о пост-вакциналним феноменима у разјашњењу ових реуматолошких стања.<sup>176</sup> Такође, постоји одређени број радова који говори о различитим реуматским манифестацијама после примене вакцинације против грипа, од којих се најчешће описује васкулитис (ситних или крупнијих крвних судова), који је праћен повишеном температуром, миалгијама, артралгијама или веома ретко увеитисом или оптичким неуритисом. Описује се и пурпура- као манифестација после инфлуенца вакцинације, где је патохистолошки доказан кожни некротизирајући венулитис.<sup>206,207</sup> Прегледом литературе нађено је 16 случајева васкулитиса који су класификовани према (*Chapel Hill*) дијагностичким критеријумима: микроскопски полиангитис, кожни леуокластични васкулитис, *Churg-Strauss* синдром и *Henoch-Schonlein* пурпура.<sup>208</sup> Наводе се и спорадични случајеви реактивног артритиса и полиартритиса после инфлуенца вакцинације.<sup>209</sup> У одређеним студијама је појава СЕЛ и РА или других реуматских болести код претходно здравих особа повезивана са вакцинацијом против грипа.<sup>6,7,8,9</sup>

У студији *Salemi S.* и сар. приказано је 28 пацијената са реуматоидним артритисом (РА), на терапији (ТНФ) алфа- блокаторима, који су вакцинисани против грипа у задње три године применом тровалентне вакцине без адјуванса. Нема значајне разлике у активности болести и концентрацији антинуклеарних антитела пре и после вакцинације, док су Т регулаторне ћелије показале значајан пораст након 30 дана од имунизације у РА пацијената. Заштитна концентрација антитела против антигена вируса грипа А је расла значајно после вакцинације, а после 6 месеци је била на детектибилном нивоу, како код РА пацијената, тако и ког здраве контролне групе.

Ова студија потврђује безбедност примене вакцине против грипа у РА пацијената лечених (ТНФ) алфа-блокаторима.<sup>21</sup>

У великој студији *Saad CG* и сар. на 1668 пацијената са аутоимуним реуматским болестима после вакцинације пандемијским сојем вируса грипа добијени су следећи резултати: значајно смањење стопа серопротекције, сероконверзије и фактора пораста средњег геометријског титра антитела код већине аутоимуних реуматских болести, а поготово код СЕЛ и РА пацијената. Није било забележених средњих или тежих штетних ефеката вакцинације.<sup>22</sup>

Појава пандемије вируса Х1Н1 2009 године је нагласила потребу да се испита имуногеност и безбедност нове пандемијске вакцине. Систематично су претражене базе података (*Medline, Embase, Cochrane Library*) и друге (*online*) базе у вези ефеката примене и могућих штетних појава вакцинације после употребе нових пандемијских вакцина са или без адјуванса. У великој мета-аналитичкој студији, која је бројала 17.921 вакцинисаних особа утврђена је адекватна серопротекција ( $\geq 70\%$ ), која је скоро увек постигнута и у свим старосним групама, осим код деце млађе од три године- где је потребно применити још једну дозу неадјувантне вакцине. Неадјувантне вакцине, као и адјувантне вакцине које садрже уље у воденој емулзији (нпр. АС03, МФ59) или ређе алуминијум, су генерално ефикасне у стварању заштитног титра антитела код здраве популације. Вакцине су се показале и безбедним, односно било је само два случаја са нежељеним ефектима који су у потпуности санирани.<sup>210</sup> Ипак, штетни ефекти вакцинације се везују све више за адјувансе у вакцинама, који се додају ради постпешења имуног одговора, где се све више разматрају соли алуминијума као могући покретачи аутоимуне реакције која може довести до различитих аутоимуних поремећаја.<sup>127</sup>

## 5.2. Хуморални аспекти вакцинације против грипа и значај одређених предиктивних фактора у вакциналној ефикасности

### 5.2.1. СЕЛ и вакцинација против грипа

Вакцина која је примењена 2010 год. код наших пацијената је инактивисана тровалентна сплит вакцина са пандемијским сојем вируса А (*A/California/7/2009 (H1N1)*). У овој студији постигнут је задовољавајући хуморални одговор, мерен титром антитела против вируса грипа (*A/California/7/2009 (H1N1)*) код вакцинисаних пацијената. Код вакцинисаних пацијената са СЕЛ нађена је највиша концентрација антитела према вирусу грипа А у поређењу са пацијентима оболелим од РА и СјС. Вакцинисани пацијенти са СЕЛ имају такође, значајно виши титар антитела него невакцинисани пацијенти. Други радови говоре о благо сниженом или сличном хуморалном одговору после инфлуенца вакцинације код оболелих од СЕЛ, али у поређењу са здравом контролном групом.<sup>25,196</sup> У раду *Abu-Shakra M* и сар. утврђен је нижи хуморални одговор код вакцинисаних пацијената са СЕЛ за разлику од здраве контролне групе невакцинисаних пацијената. Овај хуморални одговор је посебно снижен код старијих пацијената и код оних који су на имуносупресивној терапији. Шест недеља после вакцинације 37,5% пацијената је имало четвороструки пораст титра према вирусном соју *A/Beijing/262/95(H1N1)*.<sup>211</sup>

Код наших пацијената, после два месеца од вакцинације, серопротективни титар  $\geq 1/32$  (арбитарно узет) је имало 53% вакцинисаних болесника за разлику од 11% невакцинисаних пацијената са СЕЛ према пандемијском соју вируса грипа А Х1Н1 и разлика је статистички значајна ( $p < 0,05$ ). Није доказан значајан утицај старости и примењене терапије (кортикостероиди и МТХ) на остварени хуморални одговор.

Код старијих особа вакцина против грипа може бити мање имуногена. У раду групе аутора разматрана је примена субјединичне вакцине против грипа са адјувансом или без адјуванса код особа старијих од 65 година. Циљ овог истраживања, где је било укључено 195 вакцинисаних особа, је био да се упореди сигурност, толеранција и

имуногеност две сезонске вакцине, од којих је једна вакцина са адјувансом МФ 59. Обе вакцине су биле безбедне и показале су добар хуморални одговор, с тим да је код адјувантне вакцине сероконверзивни титар био нешто виши. Ово се објашњава стимулативном улогом молекула адјуванса у повећању имуногености вакцине, којом се обезбеђује већа и дуготрајнија заштита.<sup>212</sup> Налаз концентрације антитела после инфлуенца вакцинације у титру  $\geq 1/40$  позитивно корелира са отпорношћу на грип, што је утврђено на здравим волонтерима. Код старијих особа и имунокомпромитованих пацијената није сасвим јасно да ли је висина титра антитела сразмерна отпорности организма на инфекцију.<sup>23</sup>

Такође, у нашем раду је утврђено да је значајно више вакцинисаних пацијената имало титар  $\geq 1/32$  од невакцинисаних пацијената, а вакцинисани пацијенти су у исто време имали значајно мању учесталост грипа и укупних вирусних инфекција.

У раду *Wallin L* и сар. описује се да је вакцинација код пацијената са системским еритемским лупусом безбедна и једнако ефективна као и код здраве контролне групе, додуше са нешто нижим хуморалним одговором.<sup>189</sup> Такође, у другој студији је процењена ефикасност и безбедност инактивисане вакцине против грипа код пацијената са системским еритемским лупусом, у односу на здраву групу. Ефикасност је мерена поређењем хуморалног одговора према антигенима вакцине између група вакцинисаних оболелих и здравих особа. Безбедност је праћена утврђивањем активности болести (*SLEDAI*) и одговарајућих серолошких маркера. Група пацијената са СЕЛ је имала 62 испитаника, док их је у контролној групи било 47. Анти-хемаглутинин антитела су праћена пре вакцинације, после 4 и после 12 недеља од вакцинације. Титар антитела је порастао после 4 недеље у групи пацијената најмање 6.23 пута, у односу на 11,90 пута код контролне групе ( $p \leq 0,05$ ). Стопа сероконверзија је била 53-56% међу пацијентима и 72-85% у контролној групи ( $p < 0,05$  за сојева Х1Н1 и Х3Н2, без значајних разлика за вакцинални сој Б). Серопротективна стопа се кретала између 62% и 73%, односно између 90% и 98% код пацијената и контролне групе, ( $p < 0,05$ ). У пост-вакцинационалној 12. недељи титар антитела је био већи 3,86 пута у групи пацијената и 7,65 пута код контролне групе. Опсег сероконверзије се кретао између 32-40% код пацијента и 64-70% у контролној групи, док се серопротективна стопа кретала између 43% и 50% и између 79% и 94% у два групама, односно ( $p < 0,05$  за сва три соја). Идентификована је једна тежа и шест благих до умерених СЕЛ егзацербација током 12 недеља праћења. Анти-нуклеарна

антитела и анти-ДНК антитела су порасла после 4 недеље од имунизације ( $p < 0,05$ ). После вакцинације хуморални одговор је био слабији у СЕЛ пацијената у односу на здраве особе. Имунизација није утицала на основну активност болести.<sup>213</sup>

Наша студија је показала значајну разлику у серопротективној стопи титра антитела после два месеца код вакцинисаних и невакцинисаних пацијената оболелих од СЕЛ (53% и 11%, односно  $p < 0,05$ ), као и у средњем титру антитела (СТ) антитела (141.05 и 8.89,  $p = 0.002$ ). Утоку 6 месеци праћења наших болесника није било погоршања болести које се може повезати са вакцинацијом а концентрација аутоантитела се није значајно променила у овом периоду. У поређењу са горе наведеним радом сматра се да титар антитела код наших вакцинисаних болесника после више од два месеца од вакцинације осликава добар хуморални одговор, односно имуногеност вакцине, уз доказану безбедност и протективни ефекат у превенцији грипа.

У раду *Urowitz MB* и сар. анализирана је концентрација аутоантитела и активност основне болести код пацијената са СЕЛ после вакцинације двома вакцинама против грипа (вакцина са адјувансом и без адјуванса). Пацијентима са СЕЛ који су примили вакцину Х1Н1 је одређена концентрација 9 аутоантитела (пре вакцинације и 1 и 3 месеца након вакцинације). Тестирана антитела укључују: реуматоидни фактор (нефелометријски), антинуклеарна антитела- АНА (имунофлуоресценција), анти- ДНК, РНП, СМ, Ро, Ла, СЦЛ-70, и анти -Јо-1 антитела (ЕЛИСА тест). У студију је укључено 103 болесника и после анализе добијених резултата закључено је да обе врсте вакцина не повећавају значајно концентрацију већине антитела, као и да се активност основне болести није значајно променила. Овим се, такође, потврђује безбедност саме вакцинације против грипа код СЕЛ пацијената.<sup>214</sup>

У другом истраживању циљ је био да се идентификују фактори који корелирају са имуним одговором на вакцинацију против грипа у СЕЛ пацијената и испита утицај вакцинације на активност аутоимуне болести и концентрацију аутоантитела. У односу према полу и старости нису пронађене разлике у имуном одговору. Такође, је утврђено да вредност леукоцита (леукопенија) пре вакцинације није значајан предиктивни фактор у оствареном нивоу хуморалног одговора. С друге стране, примећено је да пацијенти који су развили јак хуморални одговор према вакциналном соју вируса имају значајно нижи титар АНА антитела. Овај налаз претпоставља да неки пацијенти са СЕЛ имају способност имуног система да генерише антиген- специфичну имуну

реакцију, коју прати смањење стимулације, експанзије и сазревања аутореактивних Б-ћелија. Друго, више од половине испитаника са ниским хуморалним пост-вакциналним одговором је развило нова аутоантитела или повећало концентрацију већ постојећих антитела, што указује да су ови пацијенти, барем делом, вероватно више усмерили имуни одговор према сопственим антигенима. Потребна су даља истраживања у погледу разјашњења природе ових имунолошких дешавања и њихове повезаности са развојем клиничких манифестација. Проучавање генетских, еколошких и других специфичних фактора је неопходно у разумевању патофизиолошких механизма СЕЛ пацијената код којих се имуни одговор усмерава на антиген-специфични или аутоантиген-специфични начин.<sup>215</sup>

Извештаји о променама у концентрацији антитела и / или специфичним манифестацијама у СЕЛ пацијената после вакцинације су противречни. Ове студије су ограничене величином узорка, разликама у методологији, као и ограниченим бројем антитела одабраних за анализу.<sup>12,211,216</sup> *Abu-Shakra* и сар. су утврдили да вакцинација против грипа није имала никаквог ефекта на анти-дсДНА, да је имала пролазни ефекат на анти-СМ, РНП, РО и ЛА антитела, и продужено дејство на концентрацију антикардиолипидних антитела.<sup>217</sup> У раду *Anton A.* и сар. примена вакцина са адјувансима, као и без адјуванса против Х1Н1 вируса грипа код пацијената са СЕЛ је безбедна и не доводи до повећања концентрације аутоантитела.<sup>191</sup> У грчкој студији, деца са хроничним реуматским болестима која примају дуготрајну имуносупресивну терапију су одговорила на инфлуенца вакцинацију слично као здрава деца, без значајних штетних ефеката и погоршања болести.<sup>192</sup> Код пацијената са СЕЛ може доћи транзиторно до пораста анти-фосфолипидних антитела после вакцинације против грипа, тако да постоји дилема да ли вакцинација проузрокује развој антифосфолипидних антитела и анти-фосфолипидног синдрома<sup>193</sup> У студији у Мексику се описује значајан пост-вакцинални одговор код жена са СЕЛ после примене инфлуенца вакцине, али је пораст титра антитела био виши у групи здравих особа. На хуморални одговор према три вакцинална антигена није значајно утицало лечење, старост, ниво ИгГ или активност болести, а штетне појаве су биле благе.<sup>196</sup> Вакцинација против инфлуенце инактивисаном вакцином се може препоручити оболелим од СЕЛ у мирном или стабилном стању основне болести. У појединачним случајевима вакцина може дати пролазно повећање аутоантитела без клиничког значаја или се могу десити

погоршања системског еритемског лупуса без убедљиве клиничке и лабораторијске потврде да су настала као последица вакцинације.<sup>197</sup>

Код наших пацијената није било значајних промена у тестираним аутоантителима код групе вакцинисаних и невакцинисаних пацијената у периоду од 6 месеци (новембар 2011-април 2011) које би се могле повезати са погоршањем основне аутоимуне реуматске болести или приписати појави нових аутоимуних клиничких манифестација.

У неколико контролисаних студија код пацијената са СЕЛ утврђен је сличан хуморални одговор код вакцинисаних пацијената и здраве контролне групе и примена имunosупресивне терапије није имала значајног ефекта на пост-вакцинални хуморални одговор.<sup>218,219</sup> У студији у Бразилу, анализиран је хуморални одговор после инфлуенца вакцинације код 47 пацијената са СЕЛ и 27 здравих особа. Закључено је да је серопротекција иста у обе посматране групе, с тим да је сероконверзија према једном антигену из вакцине у групи СЕЛ била нижа. Од коришћених лекова МТХ и азотиоприн нису утицали на хуморални одговор, док је код стероидне терапије такође код једног, од три антигена из вакцине, забележен нижи титар антитела. Закључено је да имуни одговор може бити оштећен, али је вакцина безбедна и ефективна.<sup>189</sup> У раду из 1978. *Ristow SC* и сар. су мишљења да је корисна примена вакцине код пацијената са СЕЛ (изузев активних облика лупуса са нефритисом) ради превенције грипа, иако хуморални одговор може бити снижен.<sup>190</sup> У другом раду, имуни одговор после вакцинације против грипа А (Х1Н1)2009 је био снижен због утицаја имunosупресивне терапије.<sup>194</sup> У раду групе аутора анализирани су целуларни и хуморални параметри имунолошког одговора после вакцинације против грипа код пацијената са СЕЛ који су на имunosупресивној терапији. Смањен ћелијски-посредован одговор на вакцинацију против грипа је повезан са употребом преднизона и / или азатиоприна. Такође, и специфични хуморални одговор према антигенима А/Х1Н1 и А/Х3Н2 је нижи у групи пацијената у односу на контролну групу, што је вероватно резултат примене имunosупресивне терапије и може ове пацијенте учинити осетљивијим према тежим облицима грипа.<sup>195</sup>

Пацијенти са СЕЛ имају генерално већу стопу инфекција него општа популација, а плућне инфекције су важан узрок морбидитета и морталитета код ових пацијента.



Улога вакцинације против грипа у СЕЛ пацијената је и даље предмет дискусија због ризика од погоршања основне болести после вакцинације, као и због утицаја саме болести или примењене терапије на ефикасност вакцинације.

Код наших СЕЛ пацијената вакцинација против грипа инактивисаном вакцином без адјуванса се показала клинички ефикасном у спречавању грипа и његових компликација. Вакцина је показала добру имуногеност, тј највиши титар антитела је био код вакцинисаних пацијената са СЕЛ и статистички се значајно разликовао од навакцинисаних пацијената, а примена терапије није значајно утицала на остварени хуморални одговор. Погоршања болести у пост-вакциналном периоду су била пре свега резултат развоја вирусних или бактеријских инфекција, првенствено респираторних инфекција у сезони грипа, а не егзацербације основног обољења због штетних ефеката вакцинације или природне еволуције болести. У истраживању је утврђен нижи хуморални одговор код пацијената са РА и СјС у поређењу са оболелима од СЕЛ. И поред ниже концентрације средњег пост-вакциналног титра антитела према вирусу грипа А Х1Н1 код пацијената са РА и СјС, није било значајних разлика у појави грипа, укупних вирусних инфекција и бактеријских компликација између ове две болести и СЕЛ пацијената, односно апликована вакцина је штитила слично болеснике са аутоимуним реуматским болестима. Такође, битно је рећи да је средњи (просечни) титар антитела код све три болести био изнад нивоа серопротективног титра ( $\geq 32$ ), што може објаснити адекватну заштиту од инфлуенце оболелих од РА и СјС, слично као и пацијената са СЕЛ који имају виши средњи титар антитела. Ово је у исто време и потврда валидности нивоа претпостављеног серопротективног титра у заштити од грипа. За здраве особе то је титар  $\geq 32$ , али се чини да је исти, или чак нижи титар делотворан у превенцији грипа и код пацијената са хроничним реуматским болестима који су на имуносупресивној терапији.

### 5.2.2. РА и вакцинација против грипа

Пацијенти оболели од РА су више подложни вирусним и бактеријским инфекцијама. Процентуално су респираторна обољења (24,2%), укључујући пнеумонију (12,1%) и интерстицијалне плућне болести (11,1%), један од главних узрока смрти код пацијената са РА. Фактори повезани са повећаном смртношћу код РА пацијената су старији узраст, мушки пол, лоша физичка кондиција, позитиван реуматоидни фактор (РФ), употреба кортикостероида и интерстицијска болест плућа.<sup>220</sup> Инфекције су један од критичних момената у повећаној смртности код РА пацијената. Због тога се од стране центра за контролу и превенцију болести (CDC) препоручује годишња вакцинација против грипа оболелих од реуматоидног артритиса. Међутим, постоје различита мишљења о ефикасности вакцинације против грипа у РА пацијената због примене специфичне терапије. Неки извештаји показују како нема значајне разлике у одговору на вакцинацију код пацијената који примају ДМАРДс (*disease modified against rheumatism drugs*) и / или биолошку терапију, као и што постоје радови који говоре о значајним разликама у хуморалном одговору између ове две групе пацијената<sup>208,182</sup> Хуморални одговор на вакцинације против грипа код РА пацијената у јапанској популацији је скоро сличан резултатима код здравих испитаника. Ове резултате треба тумачити са извесним ограничењем, с обзиром да су пацијенти примали и алтернативну (биљну) терапију, која је могуће имала адјувантни ефекат на производњу антитела према вирусу грипа. После 4 недеље од вакцинације стопа серопротекције ( $\geq 40$ ) је била 50.0% и 65.2% (средња вредност 53.3%) укупно код РА пацијената без МТХ и оних са МТХ терапијом. Примена метотрексата није значајно утицала на хуморални одговор. Поред тога, хуморални одговор на вакцинацију је био знатно нижи код пацијената лечених са анти- (ТНФ) алфа и анти- ЦД20 (ритуксимаб) моноклонским антителима него код РА пацијената који нису примали биолошку терапију. Индекс активности болести (ДАС 28) није се значајно променио после вакцинације код пацијената са РА. Генерално се сматра да вакцинација не утиче на активност болести и титар аутоантитела.<sup>221,222</sup>

Наша студија није утврдила значајан утицај МТХ терапије и/или кортикостероидне терапије на ниво концентрације антитела према вирусу грипа. Серопротективна стопа код наших вакцинисаних пацијената са РА је била 36% и није се значајно разликовала

од групе невакцинисаних пацијената (17%), али је концентрација антитела мерена после два месеца од вакцинације. Ипак, може се закључити да је хуморални одговор, иако нижи код вакцинисаних пацијената са РА, био довољно висок да их штити од грипа. Упркос видљивим разликама у просечним вредностима остварене концентрације антитела према вирусу грипа А Х1Н1 између три аутоимуне реуматске болести, није било значајних статистичких разлика у ефикасности вакцинације, хуморалном одговору према вирусу грипа или у погоршању основне болести због појаве респираторних инфекција у сезони грипа. Није утврђена значајна промена активности болести која би се могла повезати са штетним ефектима вакцинације. Иако је повећани ризик за појаву грипа и његових компликација код пацијената са РА везан за природу основне болести као и за примењену терапију, код наших болесника није било значајне разлике у учесталости респираторних инфекција у односу на примењену терапију.

Бројни аутори су утврдили сличну ефикасност вакцинације код болесника са РА и здравих волонтера, без неког значајног утицаја лекова који модификују аутоимуно реуматску болест или пак биолошке терапије на ниво хуморалног одговора.<sup>208,223</sup> С, друге стране неколико скорашњих студија је забележило средње или јаче оштећење хуморалног одговора код пацијената који су примали биолошку терапију. У студији са пацијентима оболелим од РА који су на РТХ (*rituximab*) терапији вакцина против грипа произвела је задовољавајући ефекат, иако је примена моноклонске терапије значајно утицала на ниво титра заштитних антитела после вакцинације.<sup>180</sup> И друге студије говоре о значајно смањеном хуморалном одговору после примене РТХ-терапије, али без утицаја на активност основне болести.<sup>181,224</sup> Пацијенти са РА који су били на терапији (ТНФ) алфа-блокаторима и/или метотрексату (МТХ) и контролна група су анализирани у погледу утврђене концентрације заштитних антитела после инфлуенца вакцинације. РА пацијенти третирани МТХ без (ТНФ) алфа-блокатора су имали знатно бољи серолошки одговор на вакцинације против грипа у поређењу са онима који примају (ТНФ)-блокатор, сам или у комбинацији са МТХ и / или другим ДМАРДс-лековима. Међутим, хуморални имуни одговор је довољно висок да оправда вакцинацију против грипа код свих РА пацијената, без обзира на модалитете лечења.<sup>182</sup> Пацијенти са реуматоидним артритисом показују повећан ризик од инфекције, а они третирани са (ТНФ) алфа-блокаторима су у још већем ризику. До ове повећане осетљивости може да доведе и ослабљен хуморални одговор код РА пацијената, у чијој

је основи смањење ефекторних ћелија, а самим тим и меморијских Б ћелија, као и титра антитела. Резултати сугеришу да би повећана учесталост и озбиљност инфекција посматрана у овој популацији пацијената могла бити последица смањеног реаговања на антигенску стимулацију. Дакле, ови пацијенти би могли имати користи од понављања вакцинације, или од вакцине са побољшаном имуногеношћу.<sup>183</sup>

У великој кохортној студији испитиван је ризик од грипа и учесталост обољевања, где је закључено да су значајно виши код болесника са РА код оба пола, у узрасту од 60-69 година, док су уопштено жене и млађи мушкарци старости од 30-39 година били у посебном ризику да добију компликације грипа. Треба рећи да је учесталост грипа повећана и код пацијената који нису узимали *ДМАРДс* или биолошку терапију у односу на здраву популацију као контролну групу. Ризик од компликација грипа је скоро три пута повећан код оболелих од реуматоидног артритиса, док је учесталост пнеумонија као компликација грипа значајно повећана код женских пацијената са РА.<sup>225</sup> Инфекције као компликације РА се често описују, почев од упала плућа, сепсе, мултиорганске дисфункције, септичког артритиса.<sup>226,227</sup> Доран и сар.су утврдили да пацијенти са РА имају скоро двоструко већу стопу инфекција у односу на здраве особе (иако су били искључени пацијенти са инфекцијама горњих респираторних путева). Ово истраживање је обухватило 609 болесника са РА и 609 контролних испитаника, са средњом старости од 58 година. Респираторни тракт је посебно подложен инфекцијама код пацијената са РА.<sup>16,152</sup> Потенцијално објашњење за повећан ризик од инфекције уопште, код пацијената са РА укључује имунолошке поремећаје у Т ћелијском одговору или функцији тимуса који могу оштетити способност имуног система да реагује на инфекцију.<sup>228</sup>

Осим природне предиспозиције ових пацијената према различитим инфективним компликацијама, употреба лекова попут *ДМАРДс*- лекова, кортикостероидне или биолошке терапије повећава ризик од инфекције код РА болесника. Упркос наведеним подацима о потенцијално смањеној ефикасности хуморалног одговора код пацијената на биолошкој терапији, која узгред и сама по себи ствара предуслове за појачани ризик од инфекција, у неким радовима се указује на ефикасност примењене вакцинације код пацијената лечених овом терапијом.<sup>229,230</sup> Ипак, подаци добијени на 340 пацијената са РА и 234 контролних пацијената у бразилској студији су показали да је серопротективна стопа након имунизације против грипа преко 20% мања код РА

болесника него код пацијената који нису имали ту болест (60,1%, односно 82,9%;  $p < 0,001$ ). Стопа сероконверзије је смањена на сличан начин (53,4% код РА пацијената и 76,9% код контролне групе,  $p < 0,001$ ).<sup>231</sup>

Друга студија процењује утицај абатацепт (АБА) моноклонске терапије и придружених фактора на имуногеност вакцине према пандемијском грипу А/Х1Н1 2009 код пацијената са реуматоидним артритисом. Анализиране су групе пацијената које примају абатацепт, (већина њих прима и ДМАРДс- терапију), они који примају МТХ терапију и здрава контролна група, пре и после вакцинације против грипа моновалентном пандемијском вакцином А/Х1Н1, у погледу оствареног хуморалног одговора. Групе са реуматоидним артритисом се нису разликовале по полу, дужини трајања болести и активности болести ( $p > 0,05$ ). После вакцинације, серопротекција је значајно смањена у групи РА- АБА пацијената у односу на групу РА- МТХ пацијената (9% у односу на 58%,  $p = 0,006$ ) и контролну групу (69%,  $p \leq 0,001$ ). Фактор пораста ГСТ (геометријски средњи титар) је тешко смањен у групи РА- АБА пацијената у односу на групу РА -МТХ пацијената (1,8 (1.4-2.3), односно 8,7 (5.2-17.4),  $p < 0,001$ ) и контролну групу (11,5 (8.0-16.7),  $p \leq 0,001$ ). Број лимфоцита се није значајно разликовао у РА групама ( $p > 0,05$ ), али су РА- АБА пацијенти имали нешто ниже нивое гамаглобулина него РА- МТХ пацијенати, мада су готово сви били у оквиру нормалног опсега вредности. Студија указује на озбиљно нарушен имуни одговор после вакцинације против грипа код пацијената који примају биолошку и класичну ДМАРДс- терапију.<sup>232</sup> Као и код наших пацијената терапија метотрексатом није имала значајног утицаја на пост- вакцинални хуморални одговор.

С друге стране, у студији *Moris* и сар. анализира се на сличан начин утицај другог биолошког лека тоцилизумаба (ТЦЗ) на хуморални одговор после вакцинације против грипа, заједно са МТХ или без МТХ у терапији, код пацијената са реуматоидним артритисом. ТЦЗ су хумана моноклонска антитела против рецептора ИЛ 6. Укупно 194 РА пацијената је примило инактивисану тровалентну вакцину против грипа (А/Х1Н1, А/Х3Н2 и Б/Б1 сојеви). Сви болесници су подељени у групе у односу на терапију: ТЦЗ (н = 62), ТЦЗ + МТХ (н = 49), МТХ (н = 65) и РА контролну групу (н = 18). Титар антитела је мерен пре и 4-6 недеља после вакцинације коришћењем теста инхибиције хемаглутинације. Према сојевима А/Х1Н1 и А/Х3Н2 у групама ТЦЗ и ТЦЗ + МТХ стопе серопротекције су веће од 70%, а сероконверзије веће од 40%. За

Б/Б1 вакцинални сој, сероконверзивне стопе су око 30%, док је серопротекција већа од 70%. МТХ терапија има негативан утицај на ефикасност вакцине, али је ипак успостављен адекватан заштитни хуморални одговор у овој групи РА пацијената. Нису забележени штетни ефекти или погоршање основне болести после вакцинације. Закључено је да ТЦЗ терапија не оштећује хуморални имуни одговор према вакциналним сојевима вируса, односно вакцина против грипа је ефикасна у заштити пацијената са РА који у терапији користе ТЦЗ, са или без МТХ.<sup>233</sup>

### 5.2.3. СјС и вакцинација против грипа

Клинички радови који се баве вакцинацијом против грипа пацијената са примарним Сјогреновим синдромом (СјС), су ретки. У једној студији аутори су анализирали 36 пацијената са СјС (према америчко- европским консензус критеријумима, 2002) и 36 здравих особа са аспекта концентрације антитела према вирусу грипа пре и 21 дан након вакцинације. Праћен је серопротективни титар, сероконверзивни титар, фактор пораста средњег геометријског титра и нежељени ефекти вакцинације. Пацијенти и контролна група су имали сличне стопе сероконверзије (77,8 односно 69,4%,  $p = 0,42$ ), серопротекције (83,3 односно 72,2%,  $p = 0,26$ ) и фактор пораста средњег геометријског титра ( $p = 0,85$ ). Трајање болести и терапија попут преднизона, метотрексата и азотиоприна не утичу на сероконверзију ( $p > 0,05$ ). Краткорочно посматрано, нису примећене промене у учесталости и нивоу аутоантитела, а примећене су само благе пратеће појаве вакцинације које се нису значајно разликовале од контролне групе здравих особа ( $p > 0,05$ ). Током једногодишњег праћења пацијената није било егзацербације основног обољења, али је било 4 случаја са значајним скоком аутоантитела као што су анти-Ро / (ССА) и анти-Ла / (ССБ) антитела ( $p=0.0001$ ,  $p = 0.002$ ). Ниједан пацијент није имао специфична лупус аутоантитела, а основни ток болести није клинички измењен.<sup>198</sup>

У другом раду анализирана је имуногеност и безбедност сезонске и пандемијске вакцине против грипа А/Х1Н1 код пацијената са аутоимуним обољењима (системски некротизирајући васкулитис, прогресивна системска склероза, СЕЛ, СјС и друго).

После сезонске вакцинације 1% пацијената је било фебрилно, 18% је развило локалне реакције, 80% серопротективни титар и 38% је направило сероконверзију. После пандемијске вакцинације 4% пацијената је развило грозницу, 23% локалне реакције, 65% су имали серопротективни титар, а 83% је направило сероконверзију. Обе вакцине су биле ефикасне и безбедне код пацијената са аутоимуним обољењима.<sup>199</sup> С друге стране, имамо студију која описује значајно смањење стопа серопротекције, сероконверзије и фактора пораста средњег геометријског титра антитела код већине аутоимуних реуматских болести, а поготово код СЕЛ, РА и псоријазног артритиса, док озбиљнији штетни ефекти вакцинације против грипа нису забележени.<sup>22</sup>

Код наших пацијената са Сјогреновим синдромом вакцина се показала безбедном и довољно имуногеном. Вредности хуморалног одговора у СјС пацијената су ниже од СЕЛ пацијената, али су благо више него код РА пацијената. Медијана титра је значајно виша код вакцинисаних пацијената са СјС него код невакцинисаних пацијената, а исто важи и за оболеле од РА и СЕЛ у погледу медијане титра антитела. С друге стране, код оболелих од аутоимуних реуматских болести нису нађене значајне разлике у титру антитела вакцинисаних пацијената између појединачних болести, било путем поређења средњег- просечног титра антитела или медијане титра. У сваком случају евидентирани титар антитела је имао адекватну протективну улогу штитећи пацијенте са СјС од грипа и пратећих бактеријских компликација. СП стопа се није значајно разликовала код вакцинисаних и невакцинисаних пацијената са СјС (54% и 20%), али упркос томе вакцина је показала завидну ефикасност. Није било забележених штетних појава вакцинације, као ни евидентираних значајних промена клиничког статуса или имуносеролошких параметара основне болести у опсервираном периоду.

### **5.3. Клиничко- серолошка процена ефеката вакцинације у корелацији са одређеним предиктивним факторима**

Главни предиктивни фактор у овој студији, који статистички значајно утиче на смањење учесталости грипа и, индиректно на тај начин, секундарних бактеријских компликација је вакцинација, док претходне респираторне инфекције значајно доприносе већој инциденцији грипа и његових компликација. У овом истраживању, генерално на нивоу свих болести, нису утврђене разлике по полу и старости у односу према повећаној инциденцији грипа и секундарних бактеријских инфекција, али је код пацијената са РА и СјС било значајно мање евидентираног грипа код старијих пацијената. Утврђена је задовољавајућа имуногеност вакцине, тј. успостављени ниво хуморалног одговора (исказан путем средњег- просечног титра антитела или медијане титра) се показао као значајан протективни титар код вакцинисаних пацијената, било на нивоу целе групе пацијената оболелих од аутоимуних реуматских болести или код сваке болести појединачно. Упркос разликама у успостављеном титру заштитних антитела између три анализираних аутоимуне реуматске болести ефикасност вакцинације код сва три обољења (РА, СЕЛ, СјС) је значајна и веома слична, пре свега у превенцији грипа и укупних вирусних инфекција (како клинички манифестног тако и субклиничког грипа), као и индиректно против секундарних бактеријских компликација. Претходне вирусне и бактеријске инфекције су сигнификантан предиктор поновљених респираторних инфекција, што у сваком случају наглашава значај вакцинације против грипа код пацијената са аутоимуном реуматским болестима. Примењена терапија код пацијената оболелих од СЕЛ и РА није значајно утицала на остварени пост-вакцинални хуморални одговор.

Доказано је са значајном вероватноћом да је вакцина против грипа код наших болесника клинички ефикасна и да има веома изражен протективни ефекат. У статистичком смислу, свеукупно код аутоимуних реуматских болести, вакцинисани пацијенти су имали неколико пута мању инциденцију грипа и укупних вирусних респираторних инфекција у односу на невакцинисане пацијенте. Код појединачних болести установљена је, такође, већа инцидентност грипа и укупних вирусних инфекција код невакцинисаних болесника, док је код СЕЛ пацијената учесталост наведених инфекција и статистички значајно мања код вакцинисаних пацијената.



У овој студији је утврђено, да је вакцинација против грипа код наших пацијената безбедна, ефикасна и довољно имуногена и да користи од имунизације далеко превазилазе потенцијално штетне ефекте, односно значајно је већи ризик да до погоршања основне болести дође после вирусне или бактеријске инфекције него после саме вакцинације. Иако се вакцинација против грипа данас препоручује оболелима од аутоимуних реуматских болести и имунокомпромитованим пацијентима, потребан је одређени опрез приликом њене примене јер се улога инфленца вакцинације у индукцији или активацији аутоимуних реуматских обољења не може у потпуности искључити. Сама одлука да се предложи вакцинација против грипа треба бити базирана на детаљном сагледавању клиничког статуса и имуно-серолошких показатеља основне болести код сваког пацијента појединачно. Потом се пацијентима пред сезоном грипа, који су у стабилној или мирној фази основне болести, може препоручити вакцинација против грипа ради превенције тешких респираторних инфекција и њихових компликација.

Током шестомесечног праћења наших болесника, код вакцинисаних пацијената није било случајева погоршања основне болести и сви параметри активности болести су остали непромењени. После вишегодишњег праћења инциденције респираторних болести сасвим је јасно да су респираторне инфекције и инфекције уопште важан узрок погоршања основног аутоимуног реуматског обољења од чега у великој мери зависи прогноза и будући ток основне болести.

## 6. ЗАКЉУЧЦИ

Невакцинисани пацијенти са СЕЛ имали су већу инциденцију грипа (44%), за разлику од вакинисаних (5%), што је статистички сигнификантна разлика ( $p < 0.05$ ). Код пацијената са РА и СјС број оболелих од грипа се не разликују у подгрупама вакцинисаних и невакцинисаних пацијената, односно статистички  $p > 0.05$ . Укупне вирусне инфекције (89%) су значајно више заступљене код невакцинисаних пацијената са СЕЛ него у подгрупи вакцинисаних пацијената (26%), односно  $p < 0.01$ . Код пацијената оболелих од РА и СјС нису нађене статистички значајне разлике између вакцинисаних и невакцинисаних пацијената у односу на заступљеност укупних вирусних инфекција (РА- 29% и 67% ; СјС- 38% и 60%). тј.  $p > 0.05$ . Број оболелих од бронхитиса и пнеумоније се не разликује значајно статистички у подгрупама вакцинисаних и невакцинисаних болесника код све три болести ( $p > 0.05$ ).

Збирни резултати за све три болести показују: значајно је мање пацијената са gripом (7%) међу вакцинисаним у односу на невакцинисане пацијенте (30%),  $p < 0.05$ . Укупне вирусне инфекције су такође значајно мање заступљене код вакцинисаних пацијената (30%) у односу на невакцинисане (75%),  $p < 0.01$ . Код пацијената са аутоимуниим реуматским обољењима у погледу оболелих од бронхитиса и пнеумоније нису статистички доказане разлике које се могу повезати са вакцинацијом,  $p < 0.05$ .

Помоћу Пирсонове корелационе анализе доказујемо статистички сигнификанту негативну корелацију између вакцинације и грипа ( $p = 0.010$ ), као и између вакцинације и укупних вирусних инфекција ( $p = 0.001$ ). Вакцинација значајно смањењује број оболелих од грипа и укупних вирусних инфекција. Појава грипа је сигнификантно повезана са ранијим бронхитисом и пнеумонијом ( $p = 0.001$ ,  $p = 0.000$ ). Ово важи и за оболеле од тежих облика грипа, а раније су боловали од бронхитиса или пнеумоније ( $p = 0.010$ ,  $p = 0.008$ ). Такође, присуство укупних вирусних инфекција је значајно више код пацијената који су раније боловали од бронхитиса ( $p = 0.000$ ). Пацијенти су значајно чешће обољевали од бронхитиса уколико су раније имали бронхитис или пнеумонију ( $p = 0.001$ ,  $p = 0.021$ ).

Код оболелих од РА и СјС има значајно мање грипа код старијих особа, а дужина трајања болести код РА значајно не доприноси повећању инциденције грипа.

СТ на нивоу целе групе вакцинисаних болесника (84.17) је значајно виши него у групи невакцинисаних пацијената (8.80), односно статистички посматрано,  $p = 0.008$ . Највиши СТ је у подгрупи СЕЛ вакцинисаних пацијената (141.05)- у односу на вредност СТ у подгрупи невакцинисаних пацијената (8.89) утврђена разлика је статистички значајна ( $p = 0.002$ ). СТ антитела према вирусу А Х1Н1 је у свим посматраним подгрупама вакцинисаних болесника изнад претпостављеног нивоа протективног титра (СП титар)  $\geq 32$ . Налазимо значајну позитивну корелацију између медиана титра вакцинисаних и невакцинисаних пацијената у свим анализираним групама ( $p=0.000$ ,  $p=0.002$ ,  $p=0.038$ ,  $p=0.031$ ).

На нивоу целе групе вакцинисаних пацијената серопротективна стопа је 48% у односу на 15% код невакцинисаних пацијената (разлика је статистички значајна,  $p = 0.014$ ) и код СЕЛ пацијената имамо СП стопу од 53% и 11% (разлика је статистички значајна,  $p = 0.049$ ). Повезаност вакцине са gripом и укупним вирусним инфекцијама је изражена у сигнификантној негативној корелацији ( $p = 0.011$ ,  $p = 0.001$ ), односно значајно мање грипа и укупних вирусних инфекција је било у групи вакцинисаних пацијената. СП титар је повезан са вакцинацијом путем значајне позитивне корелације на нивоу групе свих вакцинисаних као и СЕЛ пацијената ( $p = 0.012$ ,  $p = 0.039$ ).

Последња вакцинација (2010) пресудно утиче на концентрацију антивирусних антитела на нивоу групе вакцинисаних пацијената, односно статистички гледано између вакцинације 2010 и средњег ранга титра антитела постоји сигнификантна позитивна корелација ( $p = 0.000$ ). Претходне вакцинације су, такође, значајно повезане са средњим рангом титра антитела ( $p = 0.004$ ) и у значајној су негативној корелацији са инциденцијом укупних вирусних инфекција ( $p = 0.023$ ). Анализирана терапија не утиче значајно на титар антитела код оболелих од аутоимуних реуматских болести (СЕЛ, РА) као и на повећање учесталости грипа, тежег грипа и укупних вирусних инфекција ( $p \geq 0.05$ ).

Код пацијената оболелих од СЕЛ вакцинација 2010 је важан предиктивни фактор који значајно утиче на концентрацију антитела, установљена је значајна позитивна корелација између вакцинације и утврђене концентрације антитела против грипа ( $p =$

0.001), док ова корелација није статистички значајна код оболелих од РА. Налазимо сигнификантну повезаност претходних вакцинација и титра антитела код оболелих од СјС ( $p= 0.020$ ).

Упркос разликама у успостављеном титру заштитних антитела између три анализирани аутоимуне реуматске болести ефикасност вакцинације код сва три обољења (РА, СЕЛ, СјС) је клинички значајна и веома слична, пре свега у превенцији грипа и укупних вирусних инфекција, као и индиректно против секундарних бактеријских компликација. Коришћењем бинарне логистичке регресионе анализе показује се да претходни бронхитис повећава ризик од добијања грипа око 12 пута, док сама вакцинација смањује ризик од грипа за преко 80%.

У овој студији је доказано да је вакцинација против грипа код наших пацијената безбедна, ефикасна и довољно имуногена и да користи од имунизације далеко превазилазе потенцијално штетне ефекте, односно значајно је већи ризик да до погоршања основне болести дође после вирусне или бактеријске инфекције него после саме вакцинације.

## 7. ЛІТЕРАТУРА

1. Bach JF. The etiology of autoimmune diseases: the case of myasthenia gravis. *Ann N Y Acad Sci.* 2012 Dec;1274(1):33-9.
2. de Carralho JF, Pereira RM, Shoenfeld Y. The mosaic of autoimmunity: the role of environmental factors. *Front Biosci (Elite Ed).* 2009 Jun 1;(1):501-9.
3. Rose NR. The role of infection in the pathogenesis of autoimmune disease. *Semin Immunol.* 1998 Feb;10(1):5-13.
4. Francis L, Perl A. Infection in systemic lupus erythematosus: friend or foe? *Int J Clin Rheumatol.* 2010 Feb 1;5(1):59-74.
5. James JA, Robertson JM. Lupus and Epstein-Barr. *Curr Opin Rheumatol.* 2012 Jul;24(4):383-8.
6. Aron-Maor, Shoenfeld. Vaccination and autoimmunity. 2004. In: *Infection and autoimmunity* edited by Shoenfeld Y, Rose NR, Elsevier BV. New York, NY: p 105-16.
7. Shoenfeld Y, Rose, NR. *Infection and autoimmunity.* Elsevier Publ, Amsterdam, The Netherlands, 2004.
8. Shoenfeld Y, Aron-Maor A. Vaccination and autoimmunity-‘vaccinosis’: a dangerous liaison? *J Autoimmun.* 2000 Feb;14(1): 1-10.
9. Bijl M, Agmon-Levin N, Dayer JM, Israeli E, Gatto M, Shoenfeld Y. Vaccination of patients with auto-immune inflammatory rheumatic diseases requires careful benefit-risk assessment. *Autoimmun Rev.* 2012 Jun;11(8):572-6.
10. Glück, T. Vaccinate your immunocompromised patients! *Rheumatology (Oxford).* 2006 Jan;45(1):9-10.

11. Conti F, Rezai S, Valesini G. Vaccination and autoimmune rheumatic diseases. *Autoimmun Rev.* 2008 Dec;8(2):124-8.
12. Del Porto F, Laganà B, Biselli R, Donatelli I, Campitelli L, Nisini R, Cardelli P, Rossi F, D'Amelio R. Influenza vaccine administration in patients with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. Safety and immunogenicity. *Vaccine.* 2006 Apr 12;24(16):3217-23.
13. Sander van Assen. Influenza vaccination in primary and secondary immunodeficiencies. The Netherlands: Ipskamp Drukkers, Enschede, 2011.
14. Falagas ME, Manta KG, Betsi GI, Pappas G. Infection-related morbidity and mortality in patients with connective tissue diseases: a systematic review. *Clin Rheumatol.* 2007 May;26(5):663-70. Epub 2006 Dec 21.
15. Leslie KO, Trahan S, Gruden J. Pulmonary pathology of the rheumatic diseases. *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 2007 Aug;28(4):369-78.
16. Doran MF, Crowson CS, Pond GR, O'Fallon WM, Gabriel SE. Frequency of infection in patients with rheumatoid arthritis compared with controls: a population-based study. *Arthritis Rheum.* 2002 Sep;46(9):2287-93.
17. Ljudmila Stojanović. Savremeni stavovi o neophodnosti vakcinacija bolesnika sa sistemskim autoimunim reumatskim bolestima. *Acta rheum Belgrad.* 2010; 40 (supl 2): 18-30.
18. Bosch X, Guilabert A, Pallarés L, Cerveral R, Ramos-Casals M, Bové A, Ingelmo M, Font J. Infections in systemic lupus erythematosus: a prospective and controlled study of 110 patients. *Lupus* 2006;15(9):584-9.
19. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 7th Edition. Imprint: Churchill Livingstone, 2010.

- 20.Cervera R, Khamashta M A, Font J, Sebastiani GD, Gil A, Lavilla P, Mejía JC, Aydintug AO, Chwalinska-Sadowska H, de Ramón E, Fernández-Nebro A, Galeazzi M, Valen M, Mathieu A, Houssiau F, Caro N, Alba P, Ramos-Casals M, Ingelmo M, Hughes GR; European Working Party on Systemic Lupus Erythematosus. Morbidity and mortality in systemic lupus erythematosus during a 10-year period: a comparison of early and late manifestations in a cohort of 1000 patient. *Medicine (Baltimore)*. 2003 Sep;82(5):299-308.
- 21.Salemi S, Picchianti-Diamanti A, Germano V, Donatelli I, Di Martino A et al. Influenza vaccine administration in rheumatoid arthritis patients under treatment with TNF alpha blockers: safety and immunogenicity. *Clin Immunol*. 2010 Feb;134(2):113-20.
- 22.Saad CG, Borba EF, Aikawa NE, Silva CA, Pereira RM, Calich AL, Moraes JC, Ribeiro AC, Viana VS, Pasoto SG, Carvalho JF, França IL, Guedes LK, Shinjo SK, Sampaio-Barros PD, Caleiro MT, Goncalves CR, Fuller R, Levy-Neto M, Timenetsky Mdo C, Precioso AR, Bonfa E. Immunogenicity and safety of the 2009 non-adjuvanted influenza A/H1N1 vaccine in a large cohort of autoimmune rheumatic diseases. *Ann. Rheum. Dis.*2011 Jun;70(6):1068-73.
- 23.de Jong JC, Palache AM, Beyer WE, Rimmelzwaan GF, Boon AC, Osterhaus AD. Haemagglutination-inhibiting antibody to influenza virus. *Dev Biol (Basel)*. 2003;115:63-73.
- 24.Barros SM, Carvalho JF. Shoenfeld's syndrome after pandemic influenza A/H1N1 vaccination. *Acta Reumatol Port*. 2011.Jan-Mar;36(1):65-8.
- 25.Holvast A, Huckriede A, Wilschut J, Horst G, De Vries JJ, Benne CA, Kallenberg CG, Bijl M. Safety and efficacy of influenza vaccination in systemic lupus erythematosus patients with quiescent disease. *Ann Rheum Dis*. 2006 Jul;65(7):913-8.
- 26.Stojanovich L. Influenza vaccination of patients with systemic lupus erythematosus (SLE) and rheumatoid arthritis (RA). *Clin Dev Immunol*. 2006 Jun-Dec;13(2-4):373-5.
- 27.Fomin I,Caspi D,Levy V,Varsano N,Shalev Y,Paran D,Levartovsky D, Litinsky I,Kaufman I,Wigler I,Mendelson E,Elkayam O. Vaccination against influenza in rheumatoid

arthritis: the effect of disease modifying drugs, including TNF alpha blockers. *Ann. Rheum. Dis.* 2006 Feb;65(2):191-4. Epub 2005 Jul 13.

28.van Assen S, Agmon-Levin N, Elkayam O, Cervera R, Doran MF, Dougados M, Emery P, Geborek P, Ioannidis JP, Jayne DR, Kallenberg CG, Müller-Ladner U, Shoenfeld Y, Stojanovich L, Valesini G, Wulffraat NM, Bijl M. EULAR recommendations for vaccination in adult patients with autoimmune inflammatory rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 2011; 70: 414-22.

29.Roberts-Thomson PJ, Jackson MW, Gordon TP. A seminal monograph: Mackay and Burnet's Autoimmune diseases. *Med J Aust.* 2012 Jan 16;196(1):74-6.

30.Ribatti D. Sir Frank Macfarlane Burnet and the clonal selection theory of antibodyformation. *Clin Exp Med.* 2009 Dec;9(4):253-8. Epub 2009 May 1.

31.Brooks WH. Mechanisms and pathophysiology of autoimmune disease. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2012 Feb;42(1):1-4.

32.Putterman C, Naparstek Y.Koch's postulates and autoimmunity: an opposing viewpoint. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 1999;47(1):25-32.

33.Rashedi I, Panigrahi S, Ezzati P, Ghavami S, Los M. Autoimmunity and apoptosis--therapeutic implications. *Curr Med Chem.* 2007;14(29):3139-51.

34.Ring GH, Lakkis FG. Breakdown of self-tolerance and the pathogenesis of autoimmunity. *Semin Nephrol.* 1999 Jan;19(1):25-33.

35.Romagnani S. Immunological tolerance and autoimmunity.*Intern Emerg Med.* 2006;1(3):187-96.

36.Wu Y, Zheng Z, Jiang Y, Chess L, Jiang H. The specificity of T cell regulation that enables self-nonsel self discrimination in the periphery. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009 Jan 13;106(2):534-9. Epub 2008 Dec 31.



- 37.Lange C, Dürr M, Doster H, Melms A, Bischof F. Dendritic cell-regulatory T-cell interactions control self-directed immunity. *Immunol Cell Biol.* 2007 Nov-Dec;85(8):575-81. Epub 2007 Jun 26.
- 38.Mostarica-Stojković M. [Mechanisms of the induction of autoimmunity]. *Srp Arh Celok Lek.* 2005 Oct;133 Suppl 1:9-15.
- 39.Jiang H, Chess L. How the immune system achieves self-nonsel self discrimination during adaptive immunity. *Adv Immunol.* 2009;102:95-133.
- 40.Benichou G, Tam RC, Orr PI, Garovoy MR, Fedoseyeva EV. Self determinant selection and acquisition of the autoimmune T cell repertoire. *Immunol Res.* 1996;15(3):234-45.
- 41.Mamula MJ, Craft J. The expression of self antigenic determinants: implications for tolerance and autoimmunity. *Curr Opin Immunol.* 1994 Dec;6(6):882-6.
- 42.Atassi MZ, Casali P. Molecular mechanisms of autoimmunity. *Autoimmunity.* 2008 Mar;41(2):123-32.
- 43.Koh JS, Levine JS. Apoptosis and autoimmunity. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 1997 May;6(3):259-66.
- 44.Levine JS, Koh JS. The role of apoptosis in autoimmunity: immunogen, antigen, and accelerant. *Semin Nephrol.* 1999Jan;19(1):34-47.
- 45.White S, Rosen A. Apoptosis in systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatol.* 2003 Sep;15(5):557-62.
- 46.Navratil JS, Sabatine JM, Ahearn JM. Apoptosis and immune responses to self. *Rheum Dis Clin North Am.* 2004 Feb;30(1):193-212.
- 47.Liang B, Mamula MJ. Molecular mimicry and the role of B lymphocytes in the processing of autoantigens. *Cell Mol Life Sci.* 2000 Apr;57(4):561-8.

48. Yan J, Harvey BP, Gee RJ, Shlomchik MJ, Mamula MJ. B cells drive early T cell autoimmunity in vivo prior to dendritic cell-mediated autoantigen presentation. *J Immunol*. 2006 Oct 1;177(7):4481-7.
49. Katoh H, Zheng P, Liu Y. FOXP3: Genetic and epigenetic implications for autoimmunity. *J Autoimmun*. 2013 Jan 10. [Epub ahead of print]
50. Lis J, Jarzab A, Witkowska D. Molecular mimicry in the etiology of autoimmune diseases. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2012 Jul 13;66:475-91.
51. Robles DT, Eisenbarth GS. Immunology primer. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2002 Jun;31(2):261-82.
52. Christen U, Hintermann E, Holdener M, von Herrath MG. Viral triggers for autoimmunity: is the 'glass of molecular mimicry' half full or half empty? *J Autoimmun*. 2010 Feb;34(1):38-44. Epub 2009 Aug 27.
53. Anura Hewagama and Bruce Richardson. The genetics and epigenetics of autoimmune diseases. *J Autoimmun*. 2009 August; 33(1): 3-11.
54. Bird AP. Gene number, noise reduction and biological complexity. *Trends Genet*. 1995;11:94-100.
55. Strickland FM, Richardson BC. Epigenetics in human autoimmunity. Epigenetics in autoimmunity - DNA methylation in systemic lupus erythematosus and beyond. *Autoimmunity*. 2008 May;41(4):278-86.
56. Ahmed SA, Hissong BD, Verthelyi D, Donner K, Becker K, Karpuzoglu-Sahin E. Gender and risk of autoimmune diseases: possible role of estrogenic compounds. *Environ Health Perspect*. 1999;107(Suppl 5):681-6.
57. Sestak AL, Nath SK, Sawalha AH, Harley JB. Current status of lupus genetics. *Arthritis Res Ther*. 2007;9(3):210.

58. Richardson B. Effect of an inhibitor of DNA methylation on T cells. II. 5-Azacytidine induces self-reactivity in antigen-specific T4+ cells. *Hum Immunol.* 1986;17:456–70.
59. Orozco G, Rueda B, Martin J. Genetic basis of rheumatoid arthritis. *Biomed Pharmacother.* 2006;60:656–62.
60. Firestein G. Rheumatoid synovitis and pannus. In: SA, Hochberg M, Smolen J, Weinblatt M, Weisman M, editors. *Rheumatology*. New York: Mosby; 2003. pp. 876–79.
61. Richardson B, Scheinbart L, Strahler J, Gross L, Hanash S, Johnson M. Evidence for impaired T cell DNA methylation in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1990;33:1665–73.
62. Sanchez-Pernaute O, Ospelt C, Neidhart M, Gay S. Epigenetic clues to rheumatoid arthritis. *J Autoimmun.* 2008;30:12–20.
63. Costenbader KH, Chang SC, De Vivo I, Plenge R, Karlson EW. Genetic polymorphisms in PTPN22, PADI-4, and CTLA-4 and risk for rheumatoid arthritis in two longitudinal cohort studies: evidence of gene-environment interactions with heavy cigarette smoking. *Arthritis Res Ther.* 2008;10:R52.
64. Oksenberg JR, Baranzini SE, Sawcer S, Hauser SL. The genetics of multiple sclerosis: SNPs to pathways to pathogenesis. *Nat Rev Genet.* 2008;9:516–26.
65. Ramagopalan SV, Deluca GC, Degenhardt A, Ebers GC. The genetics of clinical outcome in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol.* 2008 Sep 15;201-2.
66. Ounissi-Benkhalha H, Polychronakos C. The molecular genetics of type 1 diabetes: new genes and emerging mechanisms. *Trends Mol Med.* 2008;14:268–75.
67. Peng H, Hagopian W. Environmental factors in the development of Type 1 diabetes. *Rev Endocr Metab Disord.* 2006;7:149–62.

68. Robles DT, Eisenbarth GS. Type 1A diabetes induced by infection and immunization. *J Autoimmun.* 2001;16:355–62.
69. A M Ercolini and S D Miller. The role of infections in autoimmune disease. *Clin Exp Immunol.* 2009 January; 155(1): 1–15.
70. Robert S. Fujinami, Matthias G. von Herrath, Urs Christen, J. Lindsay Whitton. Molecular Mimicry, Bystander Activation, or Viral Persistence: Infections and Autoimmune Disease. *Clin Microbiol Rev.* 2006 January; 19(1): 80–94.
71. Sfriso P, Ghirardello A, Botsios C, Tonon M, Zen M, Bassi N, Bassetto F, Doria A. Infections and autoimmunity: the multifaceted relationship. *J Leukoc Biol.* 2010 Mar;87(3):385-95. Epub 2009 Dec 16.
72. Fairweather D, Kaya Z, Shellam GR, Lawson CM, Rose NR. From infection to autoimmunity. *J Autoimmun.* 2001 May;16(3):175-86.
73. Herzum M, Ruppert V, Küyzt B, Jomaa H, Nakamura I, Maisch B. Coxsackievirus B3 infection leads to cell death of cardiac myocytes. *J Mol Cell Cardiol.* 1994 Jul;26(7):907-13.
74. Henke A, Huber S, Stelzner A, Whitton JL. The role of CD8+ T lymphocytes in coxsackievirus B3-induced myocarditis. *J Virol.* 1995 Nov;69(11):6720-8.
75. Moroni L, Bianchi I, Lleo A. Geoepidemiology, gender and autoimmune disease. *Autoimmun Rev.* 2012 May;11(6-7):A386-92. Epub 2011 Nov 28.
76. Disanto G, Chaplin G, Morahan JM, Giovannoni G, Hypponen E, Ebers GC, Ramagopalan SV. Month of birth, vitamin D and risk of immune mediated disease: a case control study. *BMC Med.* 2012 Jul 6;10(1):69. [Epub ahead of print]
77. Chevassut K. Aetiology of disseminated sclerosis. *Lancet.* 1930;215:552–60.

- 78.Goswami KK, Randall R.E., Lange L.S., Russell W.C. Antibodies against the paramyxovirus SV5 in the cerebrospinal fluids of some multiple sclerosis patients. *Nature*. 1987;327:244–7.
- 79.Dalldorf G, Carvalho R.P., Jamra M., Frost P., Erlich D., Marigo C. The lymphomas of Brazilian children. *JAMA : the Journal of the American Medical Association*. 1969;208:1365–8.
- 80.James JA, Kaufman K.M., Farris A.D., Taylor-Albert E., Lehman T.J., Harley J.B. An increased prevalence of Epstein-Barr virus infection in young patients suggests a possible etiology for systemic lupus erythematosus. *The Journal of Clinical Investigation*. 1997;100:3019–26.
- 81.James JA, Neas B.R., Moser K.L., Hall T., Bruner G.R., Sestak A.L., Harley J.B. Systemic lupus erythematosus in adults is associated with previous Epstein-Barr virus exposure. *Arthritis and Rheumatism*. 2001;44:1122–6.
- 82.Berkun Y, Zandman-Goddard G., Barzilai O., Boaz M., Sherer Y., Larida B., Blank M., Anaya J.M., Shoenfeld Y. Infectious antibodies in systemic lupus erythematosus patients. *Lupus*. 2009;18:1129–35.
- 83.Esen BA, Yilmaz G., Uzun S., Ozdamar M., Aksozek A., Kamali S., Turkoglu S., Gul A., Ocal L., Aral O., et al. Serologic response to Epstein-Barr virus antigens in patients with systemic lupus erythematosus: A controlled study. *Rheumatology International*. 2012;32:79–83.
- 84.Ascherio A, Munch M. Epstein-Barr virus and multiple sclerosis. *Epidemiology*. 2000 Mar;11(2):220-4.
- 85.Pohl D. Epstein-Barr virus and multiple sclerosis. *J Neurol Sci*. 2009 Nov 15;286(1-2):62-4. Epub 2009 Apr 10.
- 86.Lünemann JD, Tintoré M, Messmer B, Strowig T, Rovira A, Perkal H, Caballero E, Münz C, Montalban X, Comabella M. Elevated Epstein-Barr virus-encoded nuclear antigen-1

immune responses predict conversion to multiple sclerosis. *Ann Neurol.* 2010 Feb;67(2):159-69.

87. Farrell RA, Antony D., Wall G.R., Clark D.A., Fisniku L., Swanton J., Khaleeli Z., Schmierer K., Miller D.H., Giovannoni G. Humoral immune response to EBV in multiple sclerosis is associated with disease activity on MRI. *Neurology.* 2009;73:32–8.

88. Chen C.J, Lin K.H., Lin S.C., Tsai W.C., Yen J.H., Chang S.J., Lu S.N., Liu H.W. High prevalence of immunoglobulin A antibody against Epstein-Barr virus capsid antigen in adult patients with lupus with disease flare: Case control studies. *The Journal of Rheumatology.* 2005;32:44–7.

89. Ferrell PB, Aitchison C.T., Pearson G.R., Tan E.M. Seroepidemiological study of relationships between Epstein-Barr virus and rheumatoid arthritis. *The Journal of Clinical Investigation.* 1981;67:681–7.

90. Goldstein BL, Chibnik L.B., Karlson E.W., Costenbader K.H. Epstein-Barr virus serologic abnormalities and risk of rheumatoid arthritis among women. *Autoimmunity.* 2012;45:161–8.

91. Tsokos GC, Magrath IT, Balow JE. Epstein-Barr virus induces normal B cell responses but defective suppressor T cell responses in patients with systemic lupus erythematosus. *J Immunol.* 1983 Oct;131(4):1797-801.

92. Berner B.R., Tary-Lehmann M., Yonkers N.L., Askari A.D., Lehmann P.V., Anthony D.D. Phenotypic and functional analysis of EBV-specific memory CD8 cells in SLE. *Cell Immunol.* 2005 May;235(1):29-38. Epub 2005 Sep 19.

93. Larsen M., Sauce D., Deback C., Arnaud L., Mathian A., Miyara M., Boutolleau D., Parizot C., Dorgham K., Papagno L., et al. Exhausted cytotoxic control of Epstein-Barr virus in human lupus. *PLoS pathogens.* 2011 Oct;7(10):e1002328. Epub 2011 Oct 20.

- 94.Kang I., Quan T., Nolasco H., Park S.H., Hong M.S., Crouch J., Pamer E.G., Howe J.G., Craft J. Defective control of latent Epstein-Barr virus infection in systemic lupus erythematosus. *J. Immunol.* 2004;172:1287–94.
- 95.Vossenkamper A., Lutalo P.M., Spencer J. Translational Mini-Review Series on B-cell subsets in disease. Transitional B-cells in systemic lupus erythematosus and Sjogren's syndrome: Clinical implications and effects of B-cell-targeted therapies. *Clinical and Experimental Immunology.* 2012;167:7–14.
- 96.Marston B., Palanichamy A., Anolik J.H. B-cells in the pathogenesis and treatment of rheumatoid arthritis. *Current Opinion in Rheumatology.* 2010;22:307–15.
- 97.Meier U.C., Giovannoni G., Tzartos J.S., Khan G. Translational Mini-Review Series on B-cell subsets in disease. B-cells in multiple sclerosis: drivers of disease pathogenesis and Trojan horse for Epstein-Barr virus entry to the central nervous system? *Clinical and Experimental Immunology.* 2012;167:1–6.
- 98.Andreas Lossius, Jorunn N. Johansen, Øivind Torkildsen, Frode Vartdal, and Trygve Holmøy. Epstein-Barr Virus in Systemic Lupus Erythematosus, Rheumatoid Arthritis and Multiple Sclerosis—Association and Causation. *Viruses.* 2012 December; 4(12): 3701–30. Published online 2012 December 13.
- 99.Nawata M, Seta N, Yamada M, et al. Possible triggering effect of cytomegalovirus infection on systemic lupus erythematosus. *Scand. J. Rheumatol.* 2001;30(6):360–2.
- 100.Hayashi T, Lee S, Ogasawara H, et al. Exacerbation of systemic lupus erythematosus related to cytomegalovirus infection. *Lupus.* 1998;7(8):561–4
- 101.Hemauer A, Beckenlehner, Wolf H, Lang B, Modrow S. Acute parvovirus B19 infection in connection with a flare of systemic lupus erythematoses in a female patient. *J. Clin. Virol.* 1999;14:73–7.
- 102.Hsu TC, Tsay GJ. Human parvovirus B19 infection in patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford).* 2001 Feb;40(2):152-7.

- 103.Soloninka CA, Anderson MJ, Laskin CA. Anti-DNA and antilymphocyte antibodies during acute infection with human parvovirus B19. *J. Rheumatol.* 1989;16:777–81.
- 104.Perl A. Role of endogenous retroviruses in autoimmune diseases. *Rheum. Dis. Clin. North Am.* 2003;29:123–43.
- 105.Espinoza LR, Cuellar ML. *Arthritis and Allied Conditions* Baltimore. Vol. 2361. Williams and Wilkins; PA, USA: 1998. Retrovirus associated rheumatic syndromes.
- 106.Phillips PE, Christian CL. Myxovirus antibody increases in human connective tissue disease. *Science.* 1970;168(934):982–4.
- 107.Bengtsson E, Birke G, Wingstrand H. Acute non-specific myocarditis in scarlet fever and acute haemolytic tonsillitis A clinical investigation of 3,069 cases of scarlet fever, 798 cases of acute tonsillitis, and 333 cases of haemolytic streptococcus carriers. *Cardiologia.* 1951;18:360–74.
- 108.Friedman I, Laufer A, Ron N, Davies AM. Experimental myocarditis: *in vitro* and *in vivo* studies of lymphocytes sensitized to heart extracts and group A streptococci. *Immunology.* 1971;20:225–32.
- 109.Ilyas AA, Willison HJ, Quarles RH, et al. Serum antibodies to gangliosides in Guillain–Barré syndrome. *Ann Neurol.* 1988;23:440–7.
110. Joseph SA, Tsao CY. Guillain–Barré syndrome. *Adolesc Med.* 2002;13:487–94.
- 111.Yuki N, Susuki K, Koga M, et al. Carbohydrate mimicry between human ganglioside GM1 and *Campylobacter jejuni* lipooligosaccharide causes Guillain–Barré syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004;101:11404–9.
- 112.Kusunoki S, Shiina M, Kanazawa I. Anti-Gal-C antibodies in GBS subsequent to mycoplasma infection: evidence of molecular mimicry. *Neurology.* 2001;57:736–8.



- 113.Koga M, Yuki N, Tai T, Hirata K. Miller Fisher syndrome and *Haemophilus influenzae* infection. *Neurology*. 2001;57:686–91.
- 114.Romagnani S. The increased prevalence of allergy and the hygiene hypothesis: missing immune deviation, reduced immune suppression, or both? *Immunology*. 2004 Jul;112(3):352-63.
- 115.Bach JF. The effect of infections on susceptibility to autoimmune and allergic diseases. *N. Engl. J. Med*. 2002;347:911–20.
- 116.Chen M, Aosai F, Norose K, et al. *Toxoplasma gondii* infection inhibits the development of lupus-like syndrome in autoimmune (New Zealand Black × New Zealand white) F1 mice. *Int. Immunol*. 2004;16:937–946.
- 117.Sawalha AH, Schmid WR, Binder SR, Bacino DK, Harley JB. Association between systemic lupus erythematosus and *Helicobacter pylori* seronegativity. *J. Rheumatol*. 2004;31:1546–50.
- 118.Butcher GA. Does malaria select for predisposition to autoimmune disease? *JR Soc. Med*. 1991;84(8):451–3.
- 119.Clatworthy MR, Willcocks L, Urban B, Langhorne J, Williams TN, Peshu N, Watkins NA, Floto RA, Smith KG. Systemic lupus erythematosus-associated defects in the inhibitory receptor FcγRIIb reduce susceptibility to malaria. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007 Apr 24;104(17):7169-74. Epub 2007 Apr 13.
- 120.Maillefert JF, Sibilia J, Toussiot E, Vignon E, Eschard JP, Lorcerie B, Juvin R, Parchin-Geneste N, Piroth C, Wendling D, Kuntz JL, Tavernier C, Gaudin P. Rheumatic disorders developed after hepatitis B vaccination. *Rheumatology (Oxford)*. 1999 Oct;38(10):978-83.
- 121.Geier MR, Geier DA. A case-series of adverse events, positive re-challenge of symptoms, and events in identical twins following hepatitis B vaccination: analysis of the Vaccine Adverse Event Reporting System (VAERS) database and literature review. *Clin Exp Rheumatol*. 2004 Nov-Dec;22(6):749-55.

122. Elkayam O, Paran D, Caspi D, Litinsky I, Yaron M, Charboneau D, Rubins JB. Immunogenicity and safety of pneumococcal vaccination in patients with rheumatoid arthritis or systemic lupus erythematosus. *Clin Infect Dis*. 2002 Jan 15;34(2):147-53. Epub 2001 Dec 4.
123. Tarjan P, Sipka S, Marodi L, et al. No short term immunological effects of pneumococcus vaccination in patients with systemic lupus erythematosus. *Scand. J. Rheumatol*. 2002;31:211–15.
124. Schattner A. Consequence or coincidence? The occurrence, pathogenesis and significance of autoimmune manifestations after viral vaccines. *Vaccine*. 2005 Jun 10;23(30):3876-86. Epub 2005 Apr 7.
125. Chez MG, Chin K, Hung PC. Immunizations, immunology, and autism. *Semin Pediatr Neurol*. 2004 Sep;11(3):214-7.
126. Farez MF, Correale J. Immunizations and risk of multiple sclerosis: systematic review and meta-analysis. *J Neurol*. 2011 Jul;258(7):1197-206. Epub 2011 Mar 24.
127. Blank M, Israeli E, Shoenfeld Y. When APS (Hughes syndrome) met the autoimmune/inflammatory syndrome induced by adjuvants (ASIA). *Lupus*. 2012 Jun;21(7):711-4.
128. Zafrir Y, Agmon-Levin N, Paz Z, Shilton T, Shoenfeld Y. Autoimmunity following hepatitis B vaccine as part of the spectrum of 'Autoimmune (Auto-inflammatory) Syndrome induced by Adjuvants' (ASIA): analysis of 93 cases. *Lupus*. 2012 Feb;21(2):146-52.
129. Batista-Duharte A. [Vaccines and autoimmunity: a strange association under debate]. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2012 Jun;29(2):265-71.
130. Kumar KR, Li L, Yan M, Bhaskarabhatla M, Mobley AB, Nguyen C, Mooney JM, Schatzle JD, Wakeland EK, Mohan C. Regulation of B cell tolerance by the lupus susceptibility gene Ly108. *Science*. 2006;312:1665–9.

- 131.Crow MK. Collaboration, genetic associations, and lupus erythematosus. *N Engl J Med.* 2008;358:956–61.
- 132.Blanco P. PaluckaAK. Gill M. Pascual V. Banchereau J. Induction of dendritic cell differentiation by IFN-alpha in systemic lupus erythematosus. *Science.* 2001;294:1540–3.
- 133.Fairhurst AM. Xie C. Fu Y. Wang A. Boudreaux C. Zhou XJ. Cibotti R. Coyle A. Connolly JE. Wakeland EK. Mohan C. Type I interferons produced by resident renal cells may promote end-organ disease in autoantibody-mediated glomerulonephritis. *J Immunol.* 2009;183:6831–8.
- 134.Laurie S. Davis, Jack Hutcheson, and Chandra Mohan. The Role of Cytokines in the Pathogenesis and Treatment of Systemic Lupus Erythematosus. *J Interferon Cytokine Res.* 2011 October; 31(10): 781–9.
- 135.Firestein GS. Evolving concepts of rheumatoid arthritis. *Nature.* 2003 May 15;423(6937):356-61.
- 136.Klareskog L, Catrina AI, Paget S.Rheumatoid arthritis. *Lancet.* 2009 Feb 21;373(9664):659-72. Epub 2009 Jan 20.
- 137.Panayi GS, Lanchbury JS, Kingsley GH. The importance of the T cell in initiating and maintaining the chronic synovitis of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*1992 Jul;35(7):729-35.
- 138.Ali M, Ponchel F, Wilson KE, Francis MJ, Wu X, et al. Rheumatoid arthritis synovial T cells regulate transcription of several genes associated with antigen-induced anergy. *J Clin Invest.* 2001 Feb;107(4):519-28.
- 139.Li J, Wan Y, Guo Q, Zou L, Zhang J, Fang Y, Zhang J, Zhang J, Fu X, Liu H, Lu L, Wu Y. Altered microRNA expression profile with miR-146a upregulation in CD4+ T cells from patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2010;12(3):R81. Epub 2010 May 11.

140. Beckham JC, Caldwell DS, Peterson BL, et al. Disease severity in rheumatoid arthritis: relationships of plasma tumor necrosis factor- $\alpha$ , soluble interleukin 2-receptor, soluble CD4/CD8 ratio, neopterin, and fibrin D-dimer to traditional severity and functional measures. *Journal of Clinical Immunology*. 1992;12(5):353–61.
141. Govaert TM, Thijs CT, Masurel N, Sprenger MJ, Dinant GJ, Knottnerus JA. The efficacy of influenza vaccination in elderly individuals: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Journal of the American Medical Association*. 1994;272(21):1661–5.
142. Ehrenstein MR, Evans JG, Singh A, et al. Compromised function of regulatory T cells in rheumatoid arthritis and reversal by anti-TNF $\alpha$  therapy. *Journal of Experimental Medicine*. 2004;200(3):277–85.
143. Maehara T, Moriyama M, Hayashida J-N, Tanaka A, Shinozaki S, Kubo Y, Matsumura K, and Nakamura S. Selective localization of T helper subsets in labial salivary glands from primary Sjögren's. *Clin Exp Immunol*. 2012 August; 169(2): 89–99.
144. Theander E, Vasaitis L, Baecklund E, et al. Lymphoid organisation in labial salivary gland biopsies is a possible predictor for the development of malignant lymphoma in primary Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis*. 2011;70:1363–8.
145. Jonsson MV, Skarstein K, Jonsson R, Brun JG. Serological implications of germinal center-like structures in primary Sjögren's syndrome. *J Rheumatol*. 2007 Oct;34(10):2044-9. Epub 2007 Sep 1.
146. Nakamura S, Ikebe-Hiroki A, Shinohara M, et al. An association between salivary gland disease and serological abnormalities in Sjögren's syndrome. *J Oral Pathol Med*. 1997;26:426–30.
147. Lehmann P, Brännler T, Salzberger B, Fleck M. [Rheumatic patients in the intensive care unit]. *Med Klin Intensivmed Notfmed*. 2012 Jun;107(5):391-6. Epub 2012 Feb 2.
148. Bongartz T, Sutton AJ, Sweeting MJ, Buchan I, Matteson EL, Montori V. Anti-TNF antibody therapy in rheumatoid arthritis and the risk of serious infections and malignancies:

systematic review and meta-analysis of rare harmful effects in randomized controlled trials. *JAMA*. 2006 May 17;295(19):2275-85.

149. Matthias N Witt, Gerald S Braun, Stephan Ihrler, and Holger Schmid. Occurrence of HSV-1-induced pneumonitis in patients under standard immunosuppressive therapy for rheumatic, vasculitic, and connective tissue disease. *BMC Pulm Med*. 2009; 9: 22. Published online 2009 May 18.

150. Jallouli M, Frigui M, Marzouk S, Mâaloul I, Kaddour N, Bahloul Z. Infectious complications in systemic lupus erythematosus: a series of 146 patients. *Rev Med Interne*. 2008 Aug;29(8):626-31. Epub 2008 Apr 25.

151. Noël V, Lortholary O, Casassus P, Cohen P, Généreau T, André M-H, Mouthon L, Guillevin L. Risk factors and prognostic influence of infection in a single cohort of 87 adults with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2001;60:1141-4.

152. Doran MF, Crowson CS, Pond GR, O'Fallon WM, Gabriel SE. Predictors of infection in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2002 Sep;46(9):2294-300.

153. Lynch DA. Lung disease related to collagen vascular disease. *J Thorac Imaging*. 2009 Nov;24(4):299-309.

154. Battista G, Zompatori M, Poletti V, Canini R. Thoracic manifestations of the less common collagen diseases. A pictorial essay. *Radiol Med*. 2003 Nov-Dec;106(5-6):445-51; quiz 452-3.

155. Ramos-Casals M, Perez-Alvarez R, Perez-de-Lis M, Xaubet A, Bosch X; BIOGEAS Study Group. Pulmonary disorders induced by monoclonal antibodies in patients with rheumatologic autoimmune diseases. *Am J Med*. 2011 May;124(5):386-94.

156. Schneider F, Gruden J, Tazelaar HD, Leslie KO. Pleuropulmonary pathology in patients with rheumatic disease. *Arch Pathol Lab Med*. 2012 Oct;136(10):1242-52.

157. Kim JS, Lee KS, Koh EM, Kim SY, Chung MP, Han J. Thoracic involvement of systemic lupus erythematosus: clinical, pathologic, and radiologic findings. *J Comput Assist Tomogr*. 2000 Jan-Feb;24(1):9-18.
158. Marian CV, Mihăescu G. Diversification of influenza viruses. *Bacteriol Virusol Parazitol Epidemiol*. 2009 Apr-Jun;54(2):117-23.
159. Sym D, Patel PN, El-Chaar GM. Seasonal, avian, and novel H1N1 influenza: prevention and treatment modalities. *Ann Pharmacother*. 2009 Dec;43(12):2001-11. Epub 2009 Nov 17.
160. David M. Morens, Jeffery K. Taubenberger, and Anthony S. Fauci. The 2009 H1N1 Pandemic Influenza Virus: What Next? *mBio*. 2010 Sep-Oct; 1(4). pii : e00211-10.
161. Boni MF. Vaccination and antigenic drift in influenza. *Vaccine*. 2008 Jul 18;26 Suppl 3:C8-14.
162. Neumann G, Noda T, Kawaoka Y. Emergence and pandemic potential of swine-origin H1N1 influenza virus. *Nature*. 2009 Jun 18;459(7249):931-9.
163. Rogers GN, Paulson JC. Receptor determinants of human and animal influenza virus isolates: differences in receptor specificity of the H3 hemagglutinin based on species of origin. *Virology*. 1983 Jun;127(2):361-73.
164. Ito T, Couceiro JN, Kelm S, Baum LG, Krauss S, Castrucci MR, Donatelli I, Kida H, Paulson JC, Webster RG, Kawaoka Y. Molecular basis for the generation in pigs of influenza A viruses with pandemic potential. *J Virol*. 1998 Sep;72(9):7367-73.
165. Belgian working group on influenza A(H1N1)v. Influenza A(H1N1)v virus infections in Belgium, May-June 2009. *Euro Surveill*. 2009 Jul 16;14(28).
166. Komiya N, Gu Y, Kamiya H, Yahata Y, Matsui T, Yasui Y, Okabe N. Clinical features of cases of influenza A (H1N1)v in Osaka prefecture, Japan, May 2009. *Euro Surveill*. 2009 Jul 23;14(29).

167. Mikić D, Nozić D, Kojić M, Popović S, Hristović D, Dimitrijević RR, Curčić P, Milanović M, Glavatović R, Kupresanin VB, Veljović M, Djordjević D, Kapulica NK, Cekanac R, Stefanović D. Clinical manifestations, therapy and outcome of pandemic influenza A (H1N1) 2009 in hospitalized patients. *Vojnosanit Pregl.* 2011 Mar;68(3):248-56.
168. Shiley KT, Nadolski G, Mickus T, Fishman NO, Lautenbach E. Differences in the epidemiological characteristics and clinical outcomes of pandemic (H1N1) 2009 influenza, compared with seasonal influenza. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2010 Jul;31(7):676-82.
169. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) Bacterial coinfections in lung tissue specimens from fatal cases of 2009 pandemic influenza A (H1N1)—United States, May–August 2009. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2009;58(38):1071-74.
170. Rothberg MB, Haessler SD, Brown RB. Complications of viral influenza. *Am J Med* 2008;121(4):258-64.
171. Amorij JP, Huckriede A, Wilschut J, Frijlink HW, Hinrichs WL. Development of stable influenza vaccine powder formulations: challenges and possibilities. *Pharm Res.* 2008 Jun;25(6):1256-73.
172. Fiore AE, Bridges CB, Cox NJ. Seasonal influenza vaccines. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2009;333:43-82.
173. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Update on influenza A (H1N1) 2009 monovalent vaccines. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2009 Oct 9;58(39):1100-1.
174. Bateman AC, Kieke BA, Irving SA, Meece JK, Shay DK, Belongia EA. Effectiveness of Monovalent 2009 Pandemic Influenza A Virus Subtype H1N1 and 2010-2011 Trivalent Inactivated Influenza Vaccines in Wisconsin During the 2010-2011 Influenza Season. *J Infect Dis.* 2013 Feb 12. [Epub ahead of print]
175. Manzoli L, De Vito C, Flacco ME, Marzuillo C, Boccia A, Villari P. Influenza vaccination recommended for all adults aged between 50 and 64 years: conceptual basis and methodological limitations. *Ann Ig.* 2012 Nov-Dec;24(6):491-6.

176.Soriano A, Verrecchia E, Marinaro A, Giovinale M, Fonnesu C, Landolfi R, Manna R. Giant cell arteritis and polymyalgia rheumatica after influenzavaccination: report of 10 cases and review of the literature. *Lupus*. 2012 Feb;21(2):153-7.

177.Zhu FC, Zhou W, Pan H, Lu L, Gerez L, Nauta J, Giezevan K, de Bruijn I. Safety and immunogenicity of two subunit influenza vaccines in healthy children, adults and the elderly: a randomized controlled trial in China. *Vaccine*. 2008 Aug 18;26(35):4579-84. Epub 2008 Jun 17.

178.Touma Z, Gladman DD, Urowitz MB. Vaccination and auto-immune rheumatic diseases: lessons learnt from the 2009 H1N1 influenza virus vaccination campaign. *Curr Opin Rheumatol*. 2013 Mar;25(2):164-70.

179.Dirven L, Huizinga TW, Allaart CF. Risk factors for reported influenza and influenza-like symptoms in patients with rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol*. 2012 Oct;41(5):359-65. Epub 2012 Jul 20.

180.Oren S, Mandelboim M, Braun-Moscovici Y, Paran D, Ablin J, Litinsky I, Comaneshter D, Levartovsky D, Mendelson E, Azar R, Wigler I, Balbir-Gurman A, Caspi D, Elkayam O. Vaccination against influenza in patients with rheumatoid arthritis: the effect of rituximab on the humoral response. *Ann Rheum Dis*. 2008 Jul;67(7):937-41. Epub 2007 Nov 2.

181.van Assen S, Holvast A, Benne CA, Posthumus MD, van Leeuwen MA, Voskuyl AE, Blom M, Risselada AP, de Haan A, Westra J, Kallenberg CG, Bijl M. Humoral responses after influenza vaccination are severely reduced in patients with rheumatoid arthritis treated with rituximab. *Arthritis Rheum*. 2010 Jan;62(1):75-81.

182.Kapetanovic MC, Saxne T, Nilsson JA, Geborek P. Influenza vaccination as model for testing immune modulation induced by anti-TNF and methotrexate therapy in rheumatoid arthritis patients. *Rheumatology (Oxford)*. 2007 Apr;46(4):608-11. Epub 2006 Nov 18.

183.Kobie JJ, Zheng B, Bryk P, Barnes M, Ritchlin CT, Tabechian DA, Anandarajah AP, Looney RJ, Thiele RG, Anolik JH, Coca A, Wei C, Rosenberg AF, Feng C, Treanor JJ, Lee



FE, Sanz I. Decreased influenza-specific B cell responses in rheumatoid arthritis patients treated with anti-tumor necrosis factor. *Arthritis Res Ther.* 2011;13(6):R209. Epub 2011 Dec 16.

184. Arad U, Tzadok S, Amir S, Mandelboim M, Mendelson E, Wigler I, Sarbagil-Maman H, Paran D, Caspi D, Elkayam O. The cellular immune response to influenza vaccination is preserved in rheumatoid arthritis patients treated with rituximab. *Vaccine.* 2011 Feb 11;29(8):1643-8. Epub 2011 Jan 4.

185. E. William St. Clair. Good and Bad Memories Following Rituximab Therapy. *Arthritis Rheum.* 2010 January; 62(1): 1–5.

186. Leandro MJ, Cambridge G, Ehrenstein MR, Edwards JC. Reconstitution of peripheral blood B cells after depletion with rituximab in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2006 Feb;54(2):613-20.

187. Takahashi Y. Memory B cells in systemic and mucosal immune response: implications for successful vaccination. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2007 Oct;71(10):2358-66. Epub 2007 Oct 7.

188. Ferraro AJ, Drayson MT, Savage CO, MacLennan IC. Levels of autoantibodies, unlike antibodies to all extrinsic antigen groups, fall following B cell depletion with Rituximab. *Eur J Immunol.* 2008 Jan;38(1):292-8.

189. Wallin L, Quintilio W, Locatelli F, Cassel A, Silva MB, Skare TL. Safety and efficiency of influenza vaccination in systemic lupus erythematosus patients. *Acta Reumatol Port.* 2009 Jul-Sep;34(3):498-502.

190. Ristow SC, Douglas RG Jr, Condemi JJ. Influenza vaccination of patients with systemic lupus erythematosus. *Ann Intern Med.* 1978 Jun;88(6):786-9.

191. Anton A, Ibanez D, Gladman DD. Autoantibody response to adjuvant and nonadjuvant H1N1 vaccination in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2011 Nov;63(11):1517-20.

192.Kanakoudi-Tsakalidou F, Trachana M, Pratsidou-Gertsi P, Tsitsami E, Kyriazopoulou-Dalaina V. Influenza vaccination in children with chronic rheumatic diseases and long-term immunosuppressive therapy. *Clin Exp Rheumatol*. 2001 Sep-Oct;19(5):589-94.

193.Vista ES, Crowe SR, Thompson LF, Air GM, Robertson JM, Guthridge JM, James JA. Influenza vaccination can induce new-onset anticardiolipins but not  $\beta$ 2-glycoprotein-I antibodies among patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2012 Feb;21(2):168-74.

194.Borba EF, Saad CG, Pasoto SG, Calich AL, Aikawa NE, Ribeiro AC, Moraes JC, Leon EP, Costa LP, Guedes LK, Silva CA, Goncalves CR, Fuller R, Oliveira SA, Ishida MA, Precioso AR, Bonfa E. Influenza A/H1N1 vaccination of patients with SLE: can antimalarial drugs restore diminished response under immunosuppressive therapy? *Rheumatology (Oxford)*. 2012 Jun;51(6):1061-9. Epub 2012 Jan 31.

195.Holvast A, van Assen S, de Haan A, Huckriede A, Benne CA, Westra J, Palache A, Wilschut J, Kallenberg CG, Bijl M. Studies of cell-mediated immune responses to influenza vaccination in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2009 Aug;60(8):2438-47.

196.Mercado U, Acosta H, Avendaño L. Influenza vaccination of patients with systemic lupus erythematosus. *Rev Invest Clin*. 2004 Jan-Feb;56(1):16-20.

197.Abu-Shakra M. Safety of vaccination of patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2009 Nov;18(13):1205-8.

198.Pasoto SG, Ribeiro AC, Viana VS, Leon EP, Bueno C, Neto ML, Precioso AR, Timenetsky MD, Bonfa E. Short and long-term effects of pandemic unadjuvanted influenza A(H1N1)pdm09 vaccine on clinical manifestations and autoantibody profile in primary Sjögren's syndrome. *Vaccine*. 2013 Feb 6. [Epub ahead of print]

199.Kostianovsky A, Charles P, Alves JF, Goulet M, Pagnoux C, Le Guern V, Mouthon L, Krivine A, Villiger P, Launay O, Guillevin L; French Vasculitis Study Group. Immunogenicity and safety of seasonal and 2009 pandemic A/H1N1 influenza vaccines for

patients with autoimmune diseases: a prospective, monocentre trial on 199 patients. *Clin Exp Rheumatol*. 2012 Jan-Feb;30(1 Suppl 70):S83-9. Epub 2012 May 11.

200. Bridges MJ, Coady D, Kelly CA, Hamilton J, Heycock C. Factors influencing uptake of influenza vaccination in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2003 Jul;62(7):685.

201. Milanovic M, Stojanovich L, Djokovic A, Kontic M, Gvozdenovic E. Influenza vaccination in autoimmune rheumatic disease patients. *Tohoku J Exp Med*. 2013;229(1):29-34.

202. Herron A, Dettleff G, Hixon B, et al. Influenza vaccination in patients with rheumatic diseases. *JAMA* 1979 242:53-6.

203. Older SA, Battafarano DF, Enzenauer RJ, et al. Can immunization precipitate connective tissue disease? Report of five cases and review of the literature. *Semin Arthritis Rheum* 1999. 29:131-9

204. Arnold CM, Hochberg MC. Development of an immunization program for patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Care Res* 1989. 2:162-4.

205. Greenberg DP, Robertson CA, Noss MJ, Blatter MM, Biedenbender R, Decker MD. Safety and immunogenicity of a quadrivalent inactivated influenza vaccine compared to licensed trivalent inactivated influenza vaccines in adults. *Vaccine*. 2013 Jan 21;31(5):770-6. Epub 2012 Dec 8.

206. Blumberg S, Bienfang D, Kantrowitz FG. 1980. A possible association between influenza vaccination and small-vessel vasculitis. *Arch Intern Med*. 1980. 140(6):847-8.

207. Kelsall JT, Chalmers A, Sherlock CH, Tron VA, Kelsall AC. Microscopic polyangiitis after influenza vaccination. *J Rheumatol*. 1997. 24(6):1198-1202.

208. Elkayam O. Safety and efficacy of vaccination against influenza in patients with rheumatoid arthritis. *Clinical & Developmental Immunology*. June-December 2006; 13(2-4): 349-351.

- 209.Thurairajan G, Hope-Ross MW, Situnayake RD, Murray PI. Polyarthropathy, orbital myositis and posterior scleritis:An unusual adverse reaction to influenza vaccine. *Br J Rheumatol.* 1997. 36(1):120–3.
- 210.Yin JK, Khandaker G, Rashid H, Heron L, Ridda I, Booy R. Immunogenicity and safety of pandemic influenza A (H1N1) 2009 vaccine: systematic review and meta-analysis. *Influenza Other Respi Viruses.* 2011 Sep;5(5):299-305. Epub 2011 Mar 21.
- 211.Abu-Shakra M, Press J, Varsano N, Levy V, Mendelson E, Sukenik S, Buskila D. Specific antibody response after influenza immunization in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 2002 Dec;29(12):2555-7.
- 212.Sindoni D, La Fauci V, Squeri R, Cannavò G, Bacilieri S, Panatto D, Gasparini R, Amicizia D. Comparison between a conventional subunit vaccine and the MF59-adjuvanted subunit influenza vaccine in the elderly: an evaluation of the safety, tolerability and immunogenicity. *J Prev Med Hyg.* 2009 Jun;50(2):121-6.
- 213.Wiesik-Szewczyk E, Romanowska M, Mielnik P, Chwalińska-Sadowska H, Brydak LB, Olesińska M, Zabek J. Anti-influenza vaccination in systemic lupus erythematosus patients: an analysis of specific humoral response and vaccination safety. *ClinRheumatol.* 2010 Jun;29(6):605-13. Epub 2010 Feb 7.
- 214.Urowitz MB, Anton A, Ibanez D, Gladman DD. Autoantibody response to adjuvant and nonadjuvant H1N1 vaccination in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2011 Nov;63(11):1517-20.
- 215.Sherry R. Crowe, Joan T. Merrill, Evan S. Vista, Amy B. Dedeke, David M. Thompson, Scott Stewart, Joel M. Guthridge, Timothy B. Niewold, Beverly S. Franek, Gillian M. Air, Linda F. Thompson, Judith A. James. Influenza vaccination responses in human systemic lupus erythematosus: impact of clinical and demographic features. *Arthritis Rheum.* 2011 August; 63(8): 2396–2406.

216. Toplak N, Kveder T, Trampus-Bakija A, Subelj V, Cucnik S, Avcin T. Autoimmune response following annual influenza vaccination in 92 apparently healthy adults. *Autoimmun Rev.* 2008;8(2):134–138.
217. Abu-Shakra M, Press J, Sukenik S, Buskila D. Influenza virus vaccination of patients with SLE: effects on generation of autoantibodies. *Clin Rheumatol.* 2002;21(5):369–372.
218. Louie JS, Nies KM, Shoji KT, Fraback RC, Abrass C, Border W, Cherry JD, Imagawa D. Clinical and antibody responses after influenza immunization in systemic lupus erythematosus. *Ann. Intern. Med.* 1978 Jun; 88(6):790-2.
219. Lu CC, Wang YC, Lai JH, Lee TS, Lin HT, Chang DM. A/H1N1 influenza vaccination in patients with systemic lupus erythematosus: safety and immunity. *Vaccine*, 2011 Jan 10;29 (3): 444-50.
220. Nakajima A, Inoue E, Tanaka E, Singh G, Sato E, Hoshi D, Shidara K, Hara M, Momohara S, Taniguchi A, Kamatani N, Yamanaka H. Mortality and cause of death in Japanese patients with rheumatoid arthritis based on a large observational cohort, IORRA. *Scand J Rheumatol.* 2010;39(5):360-7.
221. Toshiaki Kogure, Naoyuki Harada, Yuko Oku, Takeshi Tatsumi, and Atsushi Niizawa. The Observation of Humoral Responses after Influenza Vaccination in Patients with Rheumatoid Arthritis Treated with Japanese Oriental (Kampo) Medicine: An Observational Study. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2012; 2012: 320542. Published online 2012 April 22.
222. Kogure T, Sato H, Kishi D, Ito T, Tatsumi T. Serum levels of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies are associated with a beneficial response to traditional herbal medicine (Kampo) in rheumatoid arthritis. *Rheumatology International.* 2009;29(12):1441–7.
223. Rahier JF, Moutschen M, Van Gompel A, Van Ranst M, Louis E, Segaert S, Masso P, De Keyser F. Vaccinations in patients with immune-mediated inflammatory diseases. *Rheumatology (Oxford).* 2010 Oct;49(10):1815-27.

224. Gelinck L.B., van der Bijl A.E., Beyer W.E., Visser L.G., Huizinga T.W., van Hogezaand R.A., Rimmelzwaan G.F., Kroon F.P. The effect of anti-tumor necrosis factor alpha treatment on the antibody response to influenza vaccination. *Ann. Rheum. Dis.* 2008; 67, 713-6.
225. Blumentals WA, Arreglado A, Napalkov P, Toovey S. Rheumatoid arthritis and the incidence of influenza and influenza-related complications: a retrospective cohort study. *BMC Musculoskelet Disord.* 2012 August 27; 13: 158.
226. Xi X, Xu Y, Jiang L, Li A, Duan J, Du B. Chinese Critical Care Clinical Trial Group: Hospitalized adult patients with 2009 influenza A(H1N1) in Beijing China: risk factors for hospital mortality. *BMC Infect Dis.* 2010;10:256.
227. Mitchell WS, Brooks PM, Stevenson RD, Buchanan WW. Septic arthritis in patients with rheumatoid disease: a still underdiagnosed complication. *J Rheumatol.* 1976;3:124–133.
228. Koetz K, Bryl E, Spickschen K, O'Fallon WM, Goronzy JJ, Weyand CM. T cell homeostasis in patients with rheumatoid arthritis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000;97:9203–9208.
229. Atzeni F, Bendtzen K, Bobbio-Pallavicini F, Conti F, Cutolo M, Montecucco C, Sulli A, Valesini G, Sarzi-Puttini P. Infections and treatment of patients with rheumatic diseases. *Clin Exp Rheumatol.* 2008;26(Suppl 48):S67–S73.
230. Furst DE. The risk of infections with biologic therapies for rheumatoid arthritis. *Semin Arthritis Rheum.* 2010;39:327–346.
231. Ribeiro A, Guedes L, Moraes J, Saad C, Aikawa N, Calish A, França I, Gonçalves C, Sampaio-Barros P, Carvalho J, Borba E, Timenetsky M, Precioso A, Duarte A, Bonfa E, Laurindo I. Implications of reduced seroprotection (SP) after pandemic H1N1 (2009) influenza adjuvant-free vaccination in patients with rheumatoid arthritis on active systemic treatment (classical and biologic DMARDs). *Ann Rheum Dis.* 2011;70(Suppl 3):117.

232.Ribeiro AC, Laurindo IM, Guedes LK, Saad CG, Moraes JC, Silva CA, Bonfa E. Abatacept and reduced immune response to pandemic 2009 influenza A/H1N1 vaccination in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2013 Mar;65(3):476-80.

233.Mori S, Ueki Y, Hirakata N, Oribe M, Hidaka T, Oishi K. Impact of tocilizumab therapy on antibody response to influenza vaccine in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2012 Dec;71(12):2006-10. Epub 2012 Aug 11.

## Биографија

Рођен 5. марта 1962. године у Крушевцу. Завршио основну и средњу школу у Крушевцу, са одличним успехом, као добитник Вукових диплома. Од 1982. до 1987. студирао на Медицинском факултету, Универзитета у Београду, који је завршио са просеком оцене 8,68. Од 1988. до 1989. обавио обавезан лекарски стаж у КБЦ „Др Драгиша Мишовић“ у Београду и положио стручни испит. Од 1989. до 1993. године био на специјализацији из заразних болести на Клиници за инфективне и тропске болести ВМА, положен специјалистички испит са одличном оценом 1993. године. 1995. године одбрањена магистарска теза на Медицинском факултету у Београду на Катедри за неурологију, после завршених постдипломских студија, ментор проф. др Томислав Јанковић. Од 1993. до 2013. стално запослен у ВМА као клинички доктор на 1. одељењу Клинике за инфективне и тропске болести, где ради и даље. Аутор или коаутор у преко 30 радова. Ожењен, отац двоје деце. Говори енглески језик.



Прилог 1.

## Изјава о ауторству

Потписани-а Мр сци Миломир Милановић  
број уписа \_\_\_\_\_

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

“Клиничко - серолошка евалуација вакцинације против сезонског грипа код особа оболелих од аутоимуних реуматских болести“,

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

У Београду, \_\_\_\_\_ април 2013.

Потпис докторанта



Прилог 2.

## Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Мр сци Миломир Милановић

Број уписа \_\_\_\_\_

Студијски програм Докторска теза

Наслов рада “Клиничко - серолошка евалуација вакцинације против сезонског грипа код особа оболелих од аутоимуних реуматских болести“.

Ментор Проф. др сци мед Елеонора Гвозденовић

Потписани 

изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

У Београду, април 2013.

Потпис докторанта



Прилог 3.

## Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

“Клиничко - серолошка евалуација вакцинације против сезонског грипа код особа оболелих од аутоимуних реуматских болести“,

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

### **1. Ауторство**

2. Ауторство - некомерцијално

3. Ауторство – некомерцијално – без прераде

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима

5. Ауторство – без прераде

6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

У Београду, \_\_\_\_\_ април 2013. \_\_\_\_\_

Потпис докторанта

