

UNIVERZITET U BEOGRADU

MEDICINSKI FAKULTET

Radovan B. Mijanović

**ISPITIVANJE KLINIČKIH, IMUNOSEROLOŠKIH,
IMUNOFENOTIPSKIH I CITOKINSKIH PROFILA
PACIJENATA SA ČESTOM VARIJABILNOM
IMUNODEFICIJENCIJOM**

doktorska disertacija

Beograd, 2017

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF MEDICINE

Radovan B. Mijanović

**EXAMINATION OF CLINICAL,
IMMUNOSEROLOGIC, IMMUNOPHENOTYPIC
AND CYTOKINE PROFILES OF PATIENTS WITH
COMMON VARIABLE IMMUNODEFICIENCY**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2017

Mentor:

Prof. dr Branka Bonači-Nikolić, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Članovi komisije:

Prof. dr Ljudmila Nagorni-Obradović, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Prof. dr Andrija Bogdanović, vanredni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Prof. dr Vladimir Jurišić, redovni profesor Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu

Zahvaljujem se svojoj mentorki prof. dr Branki Bonači-Nikolić za stručnu i organizacionu podršku, kao i za poverenje i strpljenje koje je iskazala tokom izrade moje doktorske disertacije.

Zahvaljujem se svim članovima komisije za podršku i stručne komentare tokom izrade moje disertacije.

Zahvaljujem se kolektivima Dnevne bolnice i Imunološke laboratorije Klinike za alergologiju i imunologiju Kliničkog centra Srbije, kao i ass. dr Vladimiru Peroviću sa Instituta za mikrobiologiju i imunologiju Medicinskog fakulteta u Beogradu, za stručnu i tehničku podršku prilikom izrade ove teze.

Na kraju se zahvaljujem svim pacijentima koji se leče od česte varijabilne imunodeficijencije, sa nadom da će im ova disertacija omogućiti bolje razumevanje i lečenje njihove bolesti u Srbiji.

Sažetak:

Uvod: Česta varijabilna imunodefijencija (CVID) je heterogeni sindrom koga karakterišu hipogamaglobulinemija, nedostatak produkcije antitela, česte bakterijske infekcije i različiti imunski poremećaji. Glavni defekt je poremećaj kasne B ćelijske diferencijacije nejasnog uzroka.

Ciljevi: Uporediti demografske, kliničke, imunoserološke, imunofenotipske i citokinske parametre između pacijenata sa CVID i zdravih kontrola. Utvrditi mortalitet i petogodišnje preživljavanje pacijenata sa CVID. Analizirati razlike u imunofenotipu limfocita (osnovnom i proširenom) periferne krvi i nivou citokina između definisanih kliničkih fenotipova pacijenata sa CVID.

Materijal i metode: Ispitivanje je sprovedeno u vidu kohortne studije, koja je obuhvatila 51 pacijenta (26 muškaraca i 25 žena) srednje životne dobi od 48 godina. Svim pacijentima su tokom lečenja registrovane komplikacije, koje su razvile tokom srednjeg vremena praćenja od 11 godina. Pacijenti su podeljeni u sledeće kliničke fenotipove: plućne bolesti, limfoproliferacija, gastrointestinalne bolesti i autoimunske bolesti.

Kod 40 pacijenata (20 muškaraca i 20 žena) je rađeno prospektivno istraživanje koje je uključilo: određivanje standardnog i proširenog T i B ćelijskog imunofenotipa (FACS sa panelom specifičnih monoklonskih antitela), određivanje koncentracija citokina: B ćelijskog aktivacionog faktora (BAFF) i interleukina (IL)-10 u serumu (ELISA), β 2 mikroglobulina, spirometriju i PPD kožnu probu. Praćen je broj teških infekcija i registrovana je učestalost neželjenih reakcija na intravenske imunoglobuline (IVIG).

Kontrolnu grupu je činio 21 zdrav ispitanik mečovan po polu i uzrastu sa pacijentima. U drugoj kontrolnoj grupi su bila 4 muška bolesnika sa X vezanom agamaglobulinemijom.

Rezultati: Srednja životna dob pri postavljanju dijagnoze bolesnika sa CVID je iznosila 33 godine, dok je srednje kašnjenje u postavljanju dijagnoze 6 godina. Od CVID obolevaju sa istom učestalošću žene i muškarci, ali su žene statistički starije ($p < 0,05$). Najčešći klinički fenotip bile su hronične plućne bolesti sa 72,54%, dok je

limfoproliferaciju imalo 56,86%, gastrointestinalne bolesti 50,98% i autoimunske bolesti 33,33% bolesnika. 66,7% pacijenata ima preklapanje dva ili više klinička fenotipa. Nije bilo značajnih statističkih razlika između kliničkih fenotipova po kliničkim, imunoserološkim, imunofenotipskim i citokinskim parametrima. Bolesnici sa CVID su imali značajno lošiju plućnu funkciju (snižen FEV1, VC, FEV1/FVC) u odnosu na zdrave kontrole ($p < 0.05$). Većina bolesnika sa CVID su imali negativnu tuberkulinsku PPD (3J) kožnu probu. U ispitivanju imunofenotipizacije perifernih leukocita, bolesnici sa CVID u odnosu na zdrave kontrole su imali značajno manji broj CD3+, CD4+, CD16+/56+, CD19+ limfocita i značajno manji CD4/CD8 odnos ($p < 0,01$). Analiza proširenog imunofenotipa je pokazala da bolesnici sa CVID u odnosu na zdrave kontrole imaju značajno veći procenat B ćelija sličnim ćelijama marginalne zone, tranzicionih i aktiviranih limfocita, kao i manji procenat memorijskih B ćelija sa promenjenom klasom, plazmablasta i plazmablasta sa promenjenom klasom ($p < 0,05$). Limfoproliferacija se značajno češće javljala u smB-Trⁿ i smB-21ⁿ Euroklas grupama ($p < 0.05$). Bolesnici sa CVID su imali značajno više koncentracije BAFF, IL-10 i $\beta 2$ mikroglobulina u odnosu na zdrave kontrole ($p < 0,05$). Analiza parametara grupa bolesnika koji su pripadali jednom kliničkom fenotipu u odnosu na bolesnike bez tog fenotipa je pokazala sledeće: bolesnici sa plućnim bolestima su imali značajno manji broj CD4+, CD19+ i tranzicionih limfocita ($p < 0,05$). Bolesnici sa limfoproliferacijama su imali značajno viši FEV1, DLCO i nivo $\beta 2$ mikroglobulina u krvi ($p < 0,05$). Bolesnici sa gastrointestinalnim bolestima su imali značajno veću koncentraciju BAFF u krvi i manji procenat naivnih B ćelija ($p < 0,05$). Bolesnici sa autoimunskim bolestima su imali značajno viši nivo inicijalnog imunoglobulina (Ig)A, nižu koncentraciju IL-10, manji procenat naivnih B ćelija, kao i značajno veći procenat B ćelija sličnim ćelijama marginalne zone i aktiviranih limfocita ($p < 0,05$). Takođe je nađena pozitivna korelacija između početka bolesti i vrednosti FEV1, VC i DLCO koja ukazuje na progresivno oštećenje plućne funkcije ($p < 0.05$), dok negativna korelacija između broja B limfocita i nivoa BAFF u krvi ukazuje da je broj B limfocita glavni regulator nivoa BAFF u krvi ($p < 0,01$). Pozitivna korelacija između nivoa BAFF i procenta aktiviranih B limfocita ($p < 0.05$) ukazuje na značaj BAFF u indukciji autoimunskih fenomena. Smrtnost bolesnika tokom 18-godišnjeg praćenja iznosi 25,5%. Petogodišnje preživljavanje iznosi 91,43%. Bolesnici sa gastrointestinalnim i autoimunskim bolestima su imali najveću

smrtnost, nižu stopu petogodišnjeg, kao i dugoročnog preživljavanja. Parametri povezani sa lošijom prognozom su: kašnjenje u postavljanju dijagnoze, povišena koncentracija IgM u krvi na početku bolesti, redukcija CD4+, CD19+ i tranzicionih limfocita, uz ekspanziju aktiviranih limfocita, povišen nivo BAFF u krvi, oštećena plućna funkcija (nizak FEV1 i VC) i postojanje preklapanja sva četiri klinička fenotipa.

Zaključak: Rezultati studije su pokazali kliničku heterogenost pacijenata sa CVID kao i značaj određivanja kliničkog, imunoserološkog, imunofenotipskog i citokinskog profila u ranoj dijagnozi i prognozi bolesti. Analiza dobijenih rezultata ukazuje na složenu disregulaciju imunskog odgovora kod CVID. Adekvatno praćenje i lečenje su od primarnog značaja u smanjenju brojnih komplikacija i stope mortaliteta pacijenata sa CVID.

Ključne reči: Česta varijabilna imunodeficijencija; Plućne bolesti; Gastrointestinalne bolesti; Autoimunske bolesti; Limfoproliferativni poremećaji; Imunofenotipizacija limfocita; B ćelijski aktivacioni faktor; Interleukin 10; Analiza preživljavanja; Mortalitet

Naučna oblast: Medicina

Uža naučna oblast: Klinička imunologija

Abstract:

Introduction: Common variable immunodeficiency (CVID) is heterogeneous syndrome characterized by hypogammaglobulinemia, defective antibody production, recurrent bacterial infections and various immune disorders. Main defect is late B cell differentiation of unknown cause.

Objectives: Comparison of demographic, immunoserologic, immunophenotypic and cytokine parameters among CVID patients and health controls. Assessment of mortality and 5-year survival rate of CVID patients. Analysis of differences among defined clinical phenotypes of CVID patients in lymphocyte immunophenotyping (basic and extended) in peripheral blood and cytokine levels.

Material and Methods: Examination was done as cohort study, which included 51 patients (26 men and 25 women) with average age of 48 years. Complications were registered during median follow-up of 11 years. Patients were divided into following clinical phenotypes: lung diseases, lymphoproliferation, gastrointestinal diseases and autoimmune diseases.

40 patients (20 men and 20 women) were involved in prospective study, which included: determination of basic and extended T and B cell immunophenotype (FACS with specific monoclonal antibodies panel), investigation of cytokine levels: B-cell activating factor (BAFF) and interleukin (IL)-10 in serum (ELISA), β 2 microglobulin, spirometry and PPD skin test. The number of severe infections was followed and the frequency rate of adverse reactions to intravenous immunoglobulines (IVIG).

Control group was consisted of 21 health subjects matched by sex and age with CVID patients. Other control group was consisted of 4 male patients with X linked agammaglobulinemia.

Results: The average age at diagnosis of CVID patients were 33 years and the middle delay in diagnosis was 6 years. Men and women were equally diagnosed with CVID, but women were statistically older ($p < 0,05$). The most frequent clinical phenotype were chronic lung diseases with 72,54%, while lymphoproliferation had 56,86%, gastrointestinal diseases had 50,98% and autoimmune diseases had 33,33% of patients.

66,7% of patients had two or more clinical phenotype overlapped. There were no significant statistical differences among clinical phenotypes in clinical, immunoserologic, immunophenotypic and cytokine parameters. CVID patients had significantly worse lung functions (lower FEV1, VC, FEV1/FVC) compared to health controls ($p < 0,05$). Majority of CVID patients had negative tuberculin PPD (3J) skin test. Investigation of leukocyte immunophenotyping revealed that CVID patients, compared to health controls, had significantly lower number of CD3+, CD4+, CD16+/56+, CD19+ lymphocytes and significantly lower CD4/CD8 ratio ($p < 0,01$). Analysis of extended immunophenotype showed that CVID patients, compared to health controls, had significantly higher percentage of marginal zone like B cells, transitional and activated B cells and lower percentage of class switched memory B cells, class switched plasmablasts and plasmablasts ($p < 0,05$). Lymphoproliferation significantly often occurs in smB-Trⁿ and smB-21ⁿ Euroclass groups ($p < 0,05$). CVID patients had significantly higher concentrations of BAFF, IL-10 i $\beta 2$ microglobulin compared to health controls ($p < 0,05$). Parameters analysis of group of patients belonging to one clinical phenotype compared to patients without that phenotype showed following: patients with lung diseases had significantly lower numbers of CD4+, CD19+ and transitional lymphocytes ($p < 0,05$). Patients with lymphoproliferation had significantly higher FEV1, DLCO and level of $\beta 2$ microglobulin in blood ($p < 0,05$). Patients with gastrointestinal diseases had significantly higher BAFF concentration in blood and lower percentage of naive B cells ($p < 0,05$). Patients with autoimmune diseases had significantly higher level of initial immunoglobulin (Ig)A, lower level of IL-10, lower percentage of naive B cells, along with significantly higher percentage of marginal zone like B cells and activated B cells ($p < 0,05$). Also, positive correlation between beginning of the disease and values of FEV1, VC and DLCO was found which indicates progressive lung function deterioration ($p < 0,05$), while negative correlation between number of B lymphocytes and BAFF level shows that the number of B lymphocytes is the main regulator of BAFF concentration in blood ($p < 0,01$). Positive correlation between BAFF level and percentage of activated lymphocytes points to significance of BAFF in induction of autoimmune phenomena. Mortality of patients, during 18 years follow-up, was 25,5%. 5-years survival rate was 91,43%. Patients with gastrointestinal and autoimmune diseases had the highest mortality, lower rate of 5-year and long-term

survival rate. Parameters associated with poor prognosis were: delay in the diagnosis, high serum IgM levels at initial presentation, high BAFF levels in blood, damaged lung function (low FEV1 and VC) and overlapping of all four clinical phenotypes.

Conclusion: The study results revealed clinical heterogeneity of CVID patients and significance of clinical, immunoserologic, immunophenotypic and cytokine profile determination in the early diagnosis and prognosis of the disease. Analysis of the results indicates complex dysregulation of immune response in CVID. Adequate monitoring and treatment are of primal significance in reducing numerous complications and mortality rate of CVID patients.

Key words: Common variable immunodeficiency; Lung diseases; Gastrointestinal diseases; Autoimmune diseases; Lymphoproliferative disorders; Lymphocyte immunophenotypings; B cell activating factor; Interleukin-10; Survival analysis; Mortality

Scientific field: Medicine

Field of scientific expertise: Clinical immunology

SADRŽAJ:

1 UVOD	1
1.1. Definicija	1
1.2. Dijagnoza	1
1.3. Istorijat	5
1.4. Epidemiologija	5
1.5. Patogeneza	7
1.5.1. B ćelijski defekti	8
1.5.2. T ćelijski defekti	9
1.5.3. Poremećaji urođenog imunskog sistema	9
1.5.4. Poremećaji citokina	10
1.6. Kliničke manifestacije	11
1.6.1. Infekcije	12
1.6.2. Plućne bolesti	12
1.6.3. Limfoproliferacija	13
1.6.4. Gastrointestinalne bolesti	14
1.6.5. Autoimunske bolesti	15
1.7. Lečenje	15
1.8. Prognoza	17
1.9. X vezana agamaglobulinemija (XAG)	18
2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA	19
3. MATERIJAL I METODE	21
3.1. Ispitanici i dizajn studije	21
3.2. Laboratorijske analize	22
3.2.1. Imunohemijske analize	22
3.2.2. Imunofenotipizacija limfocita periferne krvi	22
3.2.3. Određivanje koncentracija citokina BAFF i IL-10 u serumu	24
3.3. Statistička analiza	24

4. REZULTATI	25
4.1. Demografski, klinički, serološki i mikrobiološki parametri 51 pacijenta sa CVID praćenih od 1998-2016	25
4.1.1. Osnovni klinički fenotipovi 51 pacijenta sa CVID praćenih od 1998-2016	25
4.1.2. Demografski i serološki parametri pri postavljanju dijagnoze CVID kod 51 pacijenta i kod različitih kliničkih fenotipova CVID praćenih u periodu od 1998-2016	27
4.1.3. Najčešće infekcije koje su prethodile dijagnozi CVID u periodu od 1998-2016	29
4.1.4. Najčešći prouzročivači bakterijskih infekcija kod pacijenata sa CVID praćenih u periodu 1998-2016	30
4.1.5. Parazitarne, gljivične, virusne i mikobakterijske infekcije kod pacijenata sa CVID praćenih u periodu od 1998-2016	30
4.2. Demografski, klinički, imunoserološki, imunofenotipski i citokinski parametri 40 pacijenata sa CVID praćenih od 2011-16	31
4.2.1. Osnovni klinički fenotipovi 40 pacijenata sa CVID praćenih od 2011-16	31
4.2.2. Demografski i serološki parametri pri postavljanju dijagnoze CVID kod 40 pacijenata i kod različitih kliničkih fenotipova CVID praćenih u periodu od 2011-16	33
4.2.3. Demografski i serološki parametri pri postavljanju dijagnoze pacijenata sa CVID i XAG	35
4.2.4. Osnovni imunofenotipski profil bolesnika sa CVID po kliničkim fenotipovima, XAG i zdravih kontrola	35
4.2.5. Citokinski profil i koncentracija $\beta 2$ mikroglobulina kod bolesnika sa CVID po kliničkim fenotipovima, XAG i zdravih kontrola	37
4.2.6. Parametri plućne funkcije bolesnika sa CVID po kliničkim fenotipovima, XAG i zdravih kontrola	38
4.2.7. Tuberkulinska proba kod bolesnika sa CVID po kliničkim fenotipovima, XAG i zdravih kontrola	40
4.2.8. B ćelijski profil pacijenata sa CVID	40
4.2.9. Proširen imunofenotipski profil bolesnika sa CVID po kliničkim fenotipovima i zdravih kontrola	42

4.2.10. EUROKLAS klasifikacija bolesnika sa CVID po kliničkim fenotipovima	44
4.2.11. Demografski i serološki parametri pri postavljanju dijagnoze pacijenata sa CVID u odnosu na broj naivnih CD4+CD45RA+ T limfocita	45
4.2.12. Distribucija pacijenata sa CVID po kliničkim fenotipovima u odnosu na broj naivnih CD4+CD45RA+ T limfocita	46
4.3. Razlike između grupa bolesnika sa CVID sa određenim kliničkim fenotipom i bolesnika koji nemaju taj klinički fenotip	47
4.3.1. Razlike između grupa bolesnika sa CVID sa i bez zahvatanja pluća	47
4.3.2. Razlike između grupa bolesnika sa CVID sa i bez limfoproliferacije	49
4.3.3. Razlike između grupa bolesnika sa CVID sa i bez gastrointestinalnih bolesti	50
4.3.4. Razlike između grupa bolesnika sa CVID sa i bez autoimunskih bolesti	52
4.4. Korelacije parametara kod bolesnika sa CVID	53
4.5. Citokinski profil kod bolesnika sa CVID u odnosu na postojanje rekurentnih infekcija i pored redovne primene IVIG	56
4.6. Mortalitet i preživljavanje bolesnika sa CVID	58
4.6.1. Demografski i serološki parametri umrlih pacijenata sa CVID i sa različitim kliničkim fenotipovima u periodu 1998-2016	58
4.6.2. Uzroci smrtnog ishoda kod pacijenata sa CVID u periodu praćenja od 1998-2016	59
4.6.3. Demografske i imunoserološke razlike između živih i umrlih pacijenata sa CVID u periodu 1998-2016	60
4.6.4. Razlike u demografskom, kliničkom, imunofenotipskom i citokinskom profilu između živih i umrlih pacijenata sa CVID praćenih od 2011-16	61
4.6.5. Uticaj broja kliničkih fenotipova na ishod CVID u periodu praćenja od 1998-2016	62
4.6.6. Petogodišnje preživljavanje pacijenata sa CVID i kod definisanih kliničkih fenotipova u periodu od 1998-2016	63
5. DISKUSIJA	65
6. ZAKLJUČCI	88
7. LITERATURA	91

1. UVOD

1.1. Definicija

Česta varijabilna imunodeficijencija (Common variable immunodeficiency–CVID) je heterogeni sindrom koga karakterišu hipogamaglobulinemija, nedostatak produkcije antitela (At), česte bakterijske infekcije i različite imunske nenormalnosti. Ona spada u grupu primarnih imunodeficijencija (PID) sa predominantnom deficijencijom antitela (Predominantly antibody deficiencies-PAD).

Termin „česta varijabilna imunodeficijencija“ je uveden u literaturu 1971. god. od strane komiteta Svetske zdravstvene organizacije da bi se odvojili manje definisani sindromi nedostatka antitela od drugih, sa bolje definisanom kliničkom slikom i nasleđivanju po Mendelovim zakonima (Fudenberg H i sar., 1971; Cooper MD i sar., 1973). Tada je dogovoreno da se hipogamaglobulinemijski sindrom-CVID definiše isključivanjem drugih oboljenja praćenih sniženim vrednostima imunoglobulina u krvi. 2009. godine je naziv bolesti redefinisano od strane Komiteta eksperata za primarnu imunodeficijenciju internacionalne unije imunoloških društava u poremećaje česte varijabilne imunodeficijencije „Common variable immunodeficiency disorders“ zadržavajući akronim CVID, ali naglašavajući heterogenu prirodu ovih stanja praćenih hipogamaglobulinemijom (Notarangelo LD i sar., 2009).

1.2. Dijagnoza

Prema preporukama Evropskog udruženja za imunodeficijencije (ESID) i Panameričke grupe za imunodeficijencije (PAGID) je 1999. predloženi su sledeći kriterijumi za dijagnozu CVID (Conley ME i sar., 1999):

Verovatna (Probable): Muški ili ženski bolesnik koji ima značajno sniženje u serumu (najmanje 2 standardne devijacije (SD)) ispod srednje vrednosti za svoju dob imunoglobulina(Ig)G i IgA i ispunjava sve sledeće kriterijume:

1. Početak bolesti nakon dve godine života,
2. Odsustvo izohemaglutinina i/ili slab odgovor na vakcine,
3. Isključeni sekundarni uzroci hipoglobulinemija (Tabela I).

Moguća (Possible): Muški ili ženski bolesnik koji ima značajno sniženje u serumu (najmanje 2 SD) ispod srednje vrednosti za svoju dob u najmanje jednom od glavnih izotopova (IgM, IgG i IgA) i ispunjava sve prethodno navedene kriterijume.

Tabela I. Diferencijalna dijagnoza hipogamaglobulinemija (Conley ME i sar., 1999)

<p>LEKOM INDUKOVANI</p> <p>Kaptopril, karbamazepin, glikokortikoidi, fenklofenak, soli zlata, penicilamin, fenitoin, sulfasalazin</p>
<p>GENETSKI POREMEĆAJI</p> <p>Ataksija telangiektazija, autozomalne forme teške kombinovane imunodeficijencije (SCID), hiper IgM imunodeficijencija, transkobalamin II imunodeficijencija i hipogamaglobulinemija, X vezana agamaglobulinemija (XAG), X vezano limfoproliferativno oboljenje (povezana sa Epštajn-Bar virusom (EBV)), X vezana SCID, neki metabolički poremećaji, hromozomske anomalije, sindrom 18q hromozoma, monozomija hromozoma 22, trizomija hromozoma 8, trizomija hromozoma 21</p>
<p>INFEKTIVNE BOLESTI</p> <p>Sindrom stečene imunodeficijencije (HIV), kongenitalna rubeola, kongenitalna infekcija sa citomegalovirusom (CMV), kongenitalna infekcija sa toksoplazmom gondii, EBV infekcija</p>
<p>MALIGNITETI</p> <p>Hronična limfocitna leukemija, imunodeficijencija sa timomom, nehoćkinski limfom, maligniteti B ćelijske loze</p>
<p>SISTEMSKI POREMEĆAJI</p> <p>Imunodeficijencija uzrokovana hiperkatabolizmom imunoglobulina, imunodeficijencije uzrokovane preteranim gubitkom imunoglobulina (nefrotski sindrom, ozbiljne opekotine, limfangiektazija, ozbiljna dijareja)</p>

Sa daljim razvojem imunologije i shvatanjem bolesti primarnih imunodefijencija i očitom manom starih dijagnostičkih kriterijuma, u prethodnih nekoliko godina su predlagani različiti dijagnostički kriterijumi za CVID.

Grupa novozelandskih i australijskih autora je 2013. predložila nove dijagnostičke kriterijume za CVID (Ameratunga R i sar., 2013). Za dijagnozu je potrebno da nivo IgG bude ispod 5g/L, broj godina života bude iznad 4, kao i isključenje sekundarnih uzroka imunskih defekata. Sem ovih obaveznih kriterijuma, postoje klinički, laboratorijski i histološki kriterijumi koji su potrebni za potvrdu dijagnoze. Kombinacija tih kriterijuma dovodi do verovatne i moguće dijagnoze CVID.

Radna grupa registra ESID je 2014. inicirala temeljnu reformu registra bolesnika, jer preko 70% pacijenata u staroj bazi nije imala genetsku dijagnozu bolesti. Pre pravljena nove baze bolesnika registra ESID napravljeni su „radni kriterijumi“ za upotrebu u registru koji ne moraju zadovoljiti standardne potrebne za kliničku upotrebu (<http://esid.org/Working-Parties/Registry/Diagnosis-criteria>). Kriterijumi su važili samo za pacijente koji nemaju genetsku dijagnozu bolesti. Za dijagnozu CVID je pomerena granica starosti na 4 godine života, dok je za pacijente sa CVID-om i sa teškom T ćelijskom imunodefijencijom savetovana dijagnoza neklasifikovane kombinovane imunodefijencije. U njoj su uključeni klinički aspekti bolesti potrebni za dijagnozu (pojačana osetljivost na infekcije, prisustvo autoimunskih manifestacija, granulomatozne bolesti, neobjašnjive poliklonalne limfoproliferacije i član porodice sa defijencijom At). Od laboratorijskih kriterijuma je definisano značajno sniženje IgG i IgA sa ili bez sniženja IgM (mereno najmanje u dva navrata; <2SD ispod normalnih vrednosti za svoju dob). Tu je uveden i kriterijum sniženih memorijskih B ćelija sa promenjenom klasom (<70% od normalnih vrednosti za starosnu dob) uz slab odgovor na vakcine.

Tada su u lekom uzrokovane sekundarne hipogamaglobulinemija uključeni i antimalarici.

Početakom 2016. je objavljen međunarodni dokument (International Consensus Document) za CVID, koji predstavlja konsenzus od strane najjementnijih stručnjaka za ovu oblast sa svih kontinenata, kao plod saradnje američke akademije i američkog

koledža za alergiju, astmu i imunologiju, evropske akademije za alergiju i kliničku imunologiju i svetske zdravstvene organizacije (Bonilla FA i sar., 2016).

Prema njihovim preporukama definicija CVID obuhvata sledeće kriterijume:

1. Većina pacijenata će imati jednu od karakterističnih kliničkih manifestacija (infekcija, autoimunost, limfoproliferacija). Međutim, dijagnoza CVID se može odnositi na asimptomatske osobe koje ispunjavaju kriterijume 2-5, naročito u familijarnim slučajevima.

2. Hipogamaglobulinemija treba biti definisana prema godinama prilagođenim referentnim vrednostima za laboratoriju u kojoj je vršeno merenje. Nivo IgG mora biti nizak u najmanje dva merenja u razmaku od najmanje tri nedelje kod svih pacijenata. Ponavljana merenja ne moraju da se izvrše kod pacijenata sa veoma niskim vrednostima (<1-3g/L), sa prisutnim drugim karakterističnim odlikama bolesti i kada se smatra da je u najboljem interesu pacijenta da se hitno započne nadoknade IgG.

3. IgA ili IgM nivo mora takođe da bude nizak.

4. Izrazito se savetuje da svi pacijenti sa nivoom IgG preko 1g/L budu ispitani na T-zavisne i T-nezavisne antigene (Ag), kad god je to moguće. Kod svih pacijenata kod kojih se sprovedu ispitivanja, mora biti dokazan slab odgovor na najmanje 1 tip antigena. Svaki lekar ima diskreciono pravo da ne sprovede testiranja titra specifičnih antitela nakon vakcinisanja, ako su svi drugi kriterijumi ispunjeni i ako bi zdravlje pacijenata bilo ugroženo u slučaju čekanja na rezultate.

5. Drugi uzroci hipogamaglobulinemija moraju biti isključeni (Tabela I).

6. Genetska ispitivanja monogenih formi CVID ili polimorfizama nisu generalno neophodni za dijagnozu i lečenje u većine bolesnika, naročito kod onih koji imaju samo infekcije. Kod bolesnika sa prisustvom imunske disregulacije, autoimunosti, maligniteta i drugih komplikacija, prisustvo pojedinih genetskih defekta može zahtevati specifično lečenje (npr. terapija pluripotentnom matičnom ćelijom) te se savetuje genetsko ispitivanje, kad god je to moguće.

1.3. Istorijat

Prvi imunodeficijntni sindromi su otkriveni u Evropi dvadesetih godina 20. veka. Kongenitalna neutropenija je otkrivena 1922. od strane W.Schultz-a u Berlinu, ataksija-telangiektazija od strane L.Syllaba i K.Hennera u Parizu 1926. Posle opisa agamaglobulinemije 1952. od strane Ogdena Brutona (Bruton OC, 1952) počinje dominacija američkih lekara u otkrivanju primarnih imunodeficijencija sa opisom CVID-a, Di-Džordžovog sindroma, SCID-a, defektima sistema komplemenata i hronične granulomatozne bolesti.

Čarls Džejnvej st. (Charles Janeway, Sr.) je generalno prihvaćen kao autor koji je prvi opisao slučaj CVID-a u literaturi 1953 (Janeway CA i sar., 1953). Radilo se o bolesniku starom 39 godina sa ponavljanim infekcijama, bronhiektazijama i preležanim meningitisom.

Razumevanje i otkrivanje PID veoma duuguje pronalasku i upotrebi antibiotika, koji su izvršili revolucionaran uticaj u lečenju bolesnika sa infekcijama, sem u grupi bolesnika sa kombinovanim imunskim deficijencijama. Od tada, progres napravljen u genetici i molekularnoj biologiji je značajno doprineo našem razumevanju ovih bolesti.

1.4. Epidemiologija

Distribucija pojedinačnih grupa PID značajno varira širom sveta. Najviše obolelih spada u grupu sa predominantnom deficijencijom antitela sa preko polovine obolelih - 51.6%. Ta grupa je najmanje prisutna kod obolelih na severu Afrike (21.7%), dok se značajno češće javlja u Evropi (57.4%) i Australiji (77.1%). Druge grupe PID su zastupljene u manjem broju: deficijencije komplemenata sa 6.1%, autoinflamatorni poremećaji 6.0%, kongenitalni defekti fagocitne funkcije sa 5.3%, kombinovane B i T ćelijske imunske deficijencije sa 5.2% itd. (Modell V i sar., 2011).

U Evropskom registru bolesnika, najčešća pojedinačna PID je CVID sa 21% bolesnika (Gathmann B i sar., 2012), dok je u američkom registru bolesnika sa

imunodeficijencijama najčešća PID takođe CVID sa 30% bolesnika (Sullivan KE i sar., 2014).

Tačna incidenca i prevalenca ovih oboljenja se ne zna. Najčešća PID je IgA deficijencija, koja se javlja kod 1 u 500 belaca, ali je u najvećem broju slučajeva asimptomatska (Latiff AHA, Kerr MA, 2007). Najnovije procene iznose da je prevalenca simptomatskih PID-a najmanje 6 obolelih na 100.000 stanovnika, a da je minimalna incidenca ovih oboljenja procenjena na 1:3-4000 osoba godišnje (Mahlaoui N i sar., 2014). Ove procene su napravljene od podataka preko prijavljenih nacionalnih registara bolesti i smatra se da su značajno niže od realnih. U američkom telefonskom ispitivanju koji su sproveli Boyle i Buckley prevalenca PID je iznosila 86.3 obolelih na 100.000 stanovnika (Boyle JM i Buckley RH, 2007), dok je epidemiološka studija na Mejo (Mayo) klinici sprovedena od strane Joshi-a procenila incidencu PID na 10.3 na 100.000 osoba godišnje (Joshi AY i sar., 2009). Na osnovu ovih ispitivanja je procenjeno da postoji 1 oboleli od PID na 1.200 ljudi (Bousfiha AA i sar., 2013). Takođe, incidenca PID se razlikuje u različitim starosnim grupama, sa najvećom incidencom kod dece do 5 godina starosti (Bousfiha AA i sar., 2013).

Ne postoje tačni podaci za prevalencu CVID. Minimalna izračunata prevalenca u Evropi iz ESID registra iznosi od 0,07 u Poljskoj do 0,98 u Francuskoj na 100.000 stanovnika (Gathmann B i sar., 2012), dok je u Norveškoj nađena prevalenca od 2,1 na 100.000 stanovnika (Stray-Pedersen A i sar., 2000).

Stopa incidence CVID veoma varira tokom vremena za pojedinačnu zemlju. Najveći maksimum je nađen od 2,3 na 100.000 novorođenih u Holandiji, dok je minimum registrovan sredinom 80-ih godina 20. veka u Velikoj Britaniji po stopi od 0,2 na 100.000 novorođenih (Gathmann B i sar., 2012). Takođe je primećeno da se CVID nešto ređe javlja kod stanovnika Azije i crne rase (Cunningham-Rundles C i Bodian C, 1999; Oksenhendler E i sar., 2008; Tseng CW i sar., 2015.)

Iako se smatra da su PID prevashodno pedijatrijske bolesti, podaci iz 2014. iz Evropskog registra za imunodeficijencije pokazuju da broj obolelih od PID starijih od 15 godina iznosi 62,48 %. Takođe, na tu činjenicu su uticali poboljšana nega i lečenje

ovih bolesnika, koji su značajno produžili njihov očekivan životni vek u prethodnim dekadama.

U najvećoj studiji o CVID do sada koja je obuhvatala 2212 pacijenata 86,7% bolesnika su bili stariji od 18 godina. Ukupni odnos između muških i ženskih bolesnika je iznosio oko 1. Međutim, kada je izračunat odnos između polova po starosti, primećeno je da dečaci dvostruko češće oboljevaju od devojčica, dok se u grupi pacijenata preko 30 godina značajno češće pojavljuju žene (Gathmann B i sar., 2014). Takođe je primećeno da se CVID najčešće javlja u prvoj i četvrtoj dekadi života (Gathmann B i sar., 2014; Cunningham-Rundles C i Bodian C. 1999).

Jedna od glavnih karakteristika bolesti je kašnjenje u postavljanju dijagnoze. Ona značajno varira između različitih zemlja i vremenskim periodima. U Evropi je medijana kašnjenja dijagnoze 4,1 godinu, najmanje zabeleženo kašnjenje je bilo u Poljskoj od 1,8 godine, dok je najveće u Italiji iz 2007. i iznosi 8,9 godina (Gathmann B i sar., 2014; Quinti I i sar., 2007). Takođe je primećeno da je u većini zemalja kašnjenje dijagnoze bilo veće pre 2000. godine nego nakon toga (Gathmann B i sar., 2014). U Sjedinjenim Američkim Državama (SAD) kašnjenje dijagnoze je iznosilo između 5 i 6 godina (Cunningham-Rundles C i Bodian C, 1999), dok je u Argentini zabeleženo kašnjenje dijagnoze od skoro 12 godina (Fernandez Romero DS i sar., 2013).

1.5. Patogeneza

Genetska komponenta CVID-a je prepoznata 1968. Od tada su kod 10-20% pacijenata sa CVID-om identifikovani izolovani molekularni defekti koji uzrokuju ovu bolest (Gathmann B i sar., 2014). Prve su bile opisane recesivno nasleđivane mutacije u komponentama koje utiču na B ćelijsku aktivaciju (CD19, CD20, CD21, CD81) i promenu klasa antitela i somatsku hipermutaciju (inducibilni T ćelijski kostimulator-ICOS). Heterozigotne i homozigotne mutacije u genu za transmembranski receptor B ćelijskog aktivacionog faktora (BAFF) i transmembranskog kalcijum-modulišućeg ciklofilinskog liganda (transmembrane activator and calcium-modulator and cyclophilin-ligand interactor-TACI) su nađene u 8-10% slučajeva (Lee JJ i sar., 2008).

U većini takvih slučajeva bolest se prezentuje rano sa teškim ponavljajućim infekcijama. Međutim, klinička heterogenost i predominantno sporadična pojava bolesti sugerišu postojanje dva tipa CVID: „monogensku bolest“ koja liči na CVID i klasični CVID, koji je veoma verovatno kompleksna poligenetska bolest (Kienzler AK i sar., 2017).

1.5.1. B ćelijski defekti

Prema sadašnjem saznanju, glavni defekt u CVID-u je poremećaj kasne B ćelijske diferencijacije nejasnog uzroka. I druge komponente imunskog sistema kao što su T limfociti, NK ćelije (natural killer-prirodne ubice) ili dendritske ćelije mogu biti oštećene, kao i poremećaji u sekreciji citokina (Rezaei N i sar., 2008).

Nemogućnost produkcije Ig-a u kulturi je posledica izmenjenog B ćelijskog pula u CVID. Čak do 75% pacijenata sa CVID-om ima deficijenciju memorijskih B ćelija sa promenjenom klasom i plazmablasta (Warnatz K i sar., 2002). Ovaj defekt u nastanku post-germinativnih B ćelija se dešava zbog različitih promena tokom B ćelijske diferencijacije, koji mogu biti intrinzički i ekstrinzički defekti, ali koji dovode do bloka u diferencijaciji plazma ćelija u perifernim tkivima i koštanoj srži (Ochtrop ML i sar., 2011). Težina blokade u diferencijaciji memorijskih B ćelija sa promenjenom klasom se reflektuje u povećanoj sklonosti ka nastanku infekcija, smanjenim vakcinalnim odgovorima i povećanoj prevalenci sekundarnih komplikacija (Sanchez-Ramon S i sar., 2008). Oko 1/3 pacijenata sa CVID-om ima parcijalni blok iz pre-B1 u pre-B2 tranziciju tokom centralnog B ćelijskog razvoja i oko 1/2 pacijenata se prezentuje sa povećanim procentom cirkulišućih tranzicionih B ćelija (Sullivan KE i Stiehm ER, 2014). Ekspanzija aktiviranih, CD21^{low} limfocita u preko 30% je asocirana sa povećanim rizikom ka nastanku autoimuniteta, limfoproliferacije, splenomegalije i hronične imunske aktivacije (Mouillot G i sar., 2010).

Sva ova saznanja su vodila ka klasifikaciji ove bolesti. Smanjenje IgM-IgD-CD27⁺ memorijskih B ćelija u većini CVID pacijenata je omogućila bazu za "Frajburg" i "Pariz" klasifikaciju (Warnatz k i sar., 2002; Piqueras B i sar., 2003). Frajburška klasifikacija je uključila CD21 antigen kao dodatni marker za identifikaciju pacijenata sa naglašenom ekspanzijom aktiviranih B ćelija koje slabo ekspimiraju CD21 i

označene su kao CD21low. U 2008. je napravljen konsenzus te dve klasifikacione šeme u Euroklas klasifikaciju (Wehr C i sar., 2008). Njeni rezultati su potvrdili da značajno smanjenje memorijskih B ćelija kod pacijenata sa CVID-om je povezan sa povećanim rizikom za nastanak splenomegalije i granulomatozne bolesti. Ekspanzija CD21low B ćelija je korelisala sa splenomegalijom, dok je limfadenopatija povezana sa povećanjem broja tranzicionih B ćelija (IgM++IgD++CD38++).

1.5.2. T ćelijski defekti

Brojni pacijenti sa CVID-om imaju limfopeniju, sniženje broja CD4+ T limfocita, naročito naivnih i povećanje broja CD8+ limfocita uz snižen CD4/CD8 odnos. T ćelije kod nekih pacijenata imaju aktivacione defekte, kao što je poremećena ushodna regulacija CD40L (liganda) i posle imunizacije, nedostatak Ag specifičnih T ćelija u perifernoj krvi (Thon V i sar., 1997). Bez obzira na broj, T ćelije mogu imati proliferativni defekt na mitogenske odgovore, čak i na česte antigene, kao što su tetanus i candida (Stagg AJ i sar., 1994). Preko 70% pacijenata sa CVID-om ima redukciju broja CD4+ T limfocita, sugerišući smanjenu timopoezu i pojavu komplikacija (Rezaei N i sar., 2008).

2007. je predložena T ćelijska klasifikacija pacijenata sa CVID u tri grupe prema procentu naivnih CD4+ T limfocita (Giovannetti A i sar., 2007). U tom ispitivanju je pokazana jaka negativna korelacija procenta naivnih CD4+ T limfocita i kliničkog skora težine bolesti i prisustva splenomegalije.

1.5.3. Poremećaji urođenog imunskog sistema

Neke studije kod pacijenata sa CVID-om su pokazale postojanje nenormalnosti u urođenom imunskom sistemu, koje su uključivale i dendritske ćelije (DC) (Bayry J i sar., 2004; Nourizadeh M i sar., 2007). Međutim, ove nenormalnosti se javljaju kod nekih, a ne kod svih pacijenata i većina ih se odnose na monocitne DC (Scott-Taylor TH i sar., 2004). Nemogućnost DC da sazru u aktivisane ćelije može objasniti izostanak Ag specifičnih imunskih odgovora u CVID-u (Rezaei N i sar., 2008).

Nekoliko studija je identifikovalo smanjenje broja i povećanje citotoksičnosti NK ćelija kod pacijenata sa COVID i ispoljenom ozbiljnom bolešću (Aspalter RM i sar., 2000; Jurišić V, 2006; Kutukculer N i sar., 2015; Ebbo M i sar., 2016).

1.5.4. Poremećaji citokina

Citokini su velika grupa proteina, peptida ili glikoproteina, koju sekretuju specifične ćelije imunskog sistema. Oni deluju kao medijatori i modulatori unutar visoko lokalizovane sredine i regulišu imunske odgovore, razvoj hematopoeze i komunikaciju između ćelija, kao i odgovor domaćina na infektivne agense i inflamatorne stimulse (Stenken JA i Poschenrieder AJ 2015). Sem parakrinog dejstva (na okolne ćelije), oni mogu dejstvovati na ćeliju koja luči citokin (autokrino), a kada se proizvode u većim količinama, oni mogu ući u cirkulaciju i imati sistemsko dejstvo (endokrino). Postoji veći broj podela citokina, u zavisnosti od njihove strukture, ćelija koje ih luče ili na koje ćelije deluju, mada je najprihvaćenija podela na medijatore i regulatore urođene imunosti, stečene imunosti, kao i na stimulare hematopoeze (Abbas AK i Lichtman AH 2003). Citokinska familija je široko ispitivana u COVID-u i različiti citokinski dizbalansi su sugerisali doprinos u razvoju različitih formi i manifestacija COVID-a (Varzaneh FN i sar., 2014). Uloga BAFF-a i interleukina (IL)-10 u hroničnoj inflamaciji, autoimunosti i imunskoj disregulaciji su dosada detaljno ispitivani (Mackay F i Browning JL 2002; Miyagaki T i sar., 2015).

BAFF je citokin neophodan za periferni B ćelijski opstanak i homeostazu, kao i za promenu klase Ig-a (Mackay F i Browning JL, 2002). Značajna uloga BAFF-a u imunskom odgovoru je pokazana na sojevima BAFF^{-/-} miševa. Ti miševi imaju skoro potpuni nedostatak tranzicionih, B ćelija sličnim ćelijama marginalne zone, kao i zrelih B limfocita, uz značajno smanjenje cirkulišućih Ig-a i defekt u razvoju specifičnog T-zavisnog i T-nezavisnog imunskog odgovora (Kalled SL, 2005). Takođe, pokazano je da kod miševa koji nose BAFF transgen dolazi do preterane ekspresije BAFF-a i oni imaju sklonost da proizvode visok titar auto-Ant uz razvoj bolesti koja liči na sistemski eritemski lupus (SEL) (Vincent FB i sar., 2012). Povišeni nivoi BAFF-a ne omogućavaju opstanak visoko afinitetnih autoreaktivnih B ćelija koje su obično uništene u koštanoj srži, ali autoreaktivne B ćelije sa nižim afinitetima koje izađu iz koštane srži uspevaju da prežive i nasele periferna limfna tkiva (Thien M i sar., 2004).

Serumski nivoi BAFF-a su povišeni u različitim autoimunskim bolestima, naročito SEL-u, čak se danas koriste anti-BAFF monoklonalna At za lečenje te bolesti (Vincent FB i sar., 2012). Ranije je pomenuto da su mutacije u receptoru za BAFF i TACI utvrđene kod 8-10% pacijenata sa CVID. U nekoliko studija je nađena povišena koncentracija BAFF-a u krvi kod pacijenata sa CVID-om, ali nije nađena asocijacija između BAFF-a sa kliničkim komplikacijama ove bolesti (Knight AK i sar., 2007; Jin R i sar., 2008; Kreuzaler M i sar., 2012).

IL-10 je ključni antiinflamatorni citokin koga proizvode različite ćelije, u najvećoj meri monociti i limfociti (Shouval DS i sar., 2014). On deluje na različite ćelije urođenog i stečenog imunskog sistema i ima širok spektar imunomodulatornih aktivnosti koje suprimiraju proliferaciju, citokinsku sekreciju i ekspresiju kostimulatornih molekula na proinflamatornim imunskim ćelijama (Murray PJ, 2006). Njegova centralna uloga je i u prevenciji preteranih imunskih odgovora domaćina na patogen, prevenirajući oštećenje tkiva i održavanje homeostaze organizma (Sabat R i sar., 2010). Međutim, iako se smatra da IL-10 ima prevashodno imunosupresivna svojstva, njegova upotreba kao leka je dala pomešane rezultate ukazujući na njegovu kompleksniju prirodu (Pierson W i Liston A, 2010). Njegov efekat na B ćelije može biti više stimulativan nego inhibitoran, jer on pojačava B ćelijsko sazrevanje i proliferaciju, produkciju At i vrši ushodnu regulaciju molekula glavnog kompleksa tkivne podudarnosti II klase na njima (Said EA i sar., 2010; Hel Z i sar., 2014). Slično BAFF-u, serumski nivoi IL-10 su povišeni kod bolesnika sa autoimunskim bolestima i korelišu sa aktivnošću bolesti (Petri M i sar., 2008; Mellor-Pita S i sar., 2009). U dosadašnjim ispitivanjima kod pacijenata sa CVID-om, brojne studije su pokazale heterogeni sekrecijski profil IL-10 kod njih (Varzaneh FN i sar., 2014). Pojedinačni nukleotidni polimorfizmi u promotorskom regionu nekoliko citokinskih gena, između ostalih IL-10, su asocirani sa pojačanom sklonošću ka nastanku CVID-a (Turner DM i sar., 1997).

1.6. Kliničke manifestacije

Klinička slika CVID je varijabilna. Kod većine pacijenata se bolest ispoljava čestim infekcijama najčešće respiratornog trakta u preko 90% slučajeva, dok se

infekcije drugih organa javljaju u manjoj meri (Oksenhendler E i sar., 2008). Kod određenog broja pacijenata, koji značajno varira među različitim zemljama, se javljaju takozvane neinfektivne komplikacije koje su često povezane sa poremećajem imunskog odgovora. One zahvataju mnogobrojne organe i mogu biti prva manifestacija bolesti.

1.6.1. Infekcije

Teške ili rekurentne bakterijske infekcije, često i gornjih i donjih disajnih puteva je najčešći razlog da se posumnja na postojanje imunskog defekta. Upale pluća, obično uzrokovane *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* ili *Moraxella catarrhalis* su nađene u oko 70% slučajeva pre dijagnoze CVID-a (Touw CM i sar., 2010). Pneumokokna pneumonija može voditi i do pojave apscesa pluća i empijema. Kod uznapredovalog oštećenja pluća najčešći uzroci infekcija su *Pseudomonas aeruginosa* i *Staphylococcus aureus* (Nonas S, 2015). Ponekad se kod pacijenata sa CVID-om mogu identifikovati i oportunistički patogeni tipa *Pneumocystis jirovecii*, *Mycobacterium tuberculosis*, dok kod bolesnika sa težim oštećenjima pluća postoji mogućnost i gljivičnih infekcija. Pored bakterija ovi pacijenti su takođe osetljivi na respiratorne virusne infekcije, koje su izmenjenog toka i obično česte i prolongirane.

Osim respiratornih infekcija česte su i gastrointestinalne infekcije i do 20% slučajeva u vidu protrahovane dijareje. Najčešće su izazvane protozom *Giardia lamblia*, osim koje se javljaju i bakterijske infekcije sa *Salmonella species* i *Campylobacter jejuni* (Oksenhendler E i sar., 2008). Kod bolesnika sa gastrointestinalnim smetnjama je potrebno ispitati prisustvo *Helicobacter pylori* infekcije.

Druge teže infekcije u vidu sepse, meningitisa, artritisa, osteomijelitisa, hepatitisa se mogu javiti kod ovih bolesnika u manjoj meri. Od virusnih infekcija kod ovih bolesnika se javljaju rekurentni Herpes zoster, CMV, EBV infekcije (Ramírez-Vargas N. i sar., 2014).

1.6.2. Plućne bolesti

Za manifestacije CVID-a na plućima u literaturi se koristi termin hronična plućna bolest (Rezaei N i sar., 2008; Sullivan KE i Stiehm ER, 2014). Ona se prezentuje

u dve forme bolesti: hronično zapaljenje disajnih puteva koje vodi ka stvaranju bronhiektazija i hronična parenhimska bolest koja dovodi do fibroze i respiratorne insuficijencije (Quinti I i sar., 2007; van de Ven AA i sar., 2011). Prva je posledica ranijih infekcija i genetske predispozicije, dok za parenhimsku bolest nije identifikovan jasan uzrok (Sullivan KE i Stiehm ER, 2014).

Bronhiektazije su jedna od najčešćih plućnih manifestacija u COVID-u. Obično su cilindrične, bilateralne i difuzne, javljaju se u srednjem i donjim lobusima i kod većine pacijenata pripadaju blažem tipu (Gharagozlou M i sar., 2006). One imaju važnu ulogu u razvoju rekurentnih i perzistentnih respiratornih infekcija, kao i inflamacije i češće se dešavaju kod bolesnika sa kašnjenjem u postavljanju dijagnoze bolesti. Agresivno antibiotsko lečenje, fizioterapija i supstitucija imunoglobulinima u adekvatnoj meri su najvažnije preventivne mere lečenja.

Intersticijske plućne bolesti uključuju plućnu limfoidnu hiperplaziju koja se manifestuje u vidu limfocitne intersticijalne pneumonije, folikularnog bronhiolitisa, nodularne limfoidne hiperplazije i reaktivnih limfoidnih infiltrata. Kada se oni javljaju sa granulomatoznom bolešću koristi se entitet granulomatozno-limfocitna intersticijska plućna bolest (*granulomatous-lymphocytic interstitial lung disease - GLILD*). Ona je obično posledica imunske disregulacije i povezana je sa lošijom prognozom (Park JH i Levinson AI, 2010).

Od drugih plućnih bolesti u COVID-u bronhijalna astma se takođe javlja kod bolesnika sa COVID. Njena učestalost je oko 10-15%.

Maligne plućne bolesti se retko opisuju u ovoj bolesti.

Nekoliko slučajeva primarne plućne hipertenzije je opisano u literaturi (Touw CM i sar., 2010).

1.6.3. Limfoproliferacija

Najčešće forme benigne limfoidne hiperplazije u COVID-u su splenomegalija i limfadenopatija. Etiologija limfoproliferacije je nepoznata. U nekim slučajevima može biti posledica virusne infekcije, kao što je herpesvirus 8 ili EBV (Wheat WH i sar., 2005; Unger S i sar., 2014). Biopsije limfnih nodusa obično pokazuju atipičnu ili

reaktivnu limfoidnu hiperplaziju, znatno ređe granulomatoznu inflamaciju uz tipičan nedostatak plazma ćelija. Iako kod bolesnika sa limfoproliferacijom postoji povećani rizik od nastanka limfoma (Chapel H. i sar., 2008), ne postoje pouzdani markeri koji pokazuju tranziciju iz benigne u malignu bolest (Sullivan KE i Stiehm ER, 2014). Splenomegalija se često sreće kod bolesnika sa CVID-om i obično je benignog toka. Ona može da bude masivna i često je praćena sa određenim stepenom hipersplenizma stvarajući osećaj nelagodnosti u trbuhu.

Granulomatozna bolest, često pogrešno proglašena za sarkoidozu, se javlja kod 8-22% bolesnika sa CVID-om i često može prethoditi dijagnozi godinama CVID-a (Bouvry D i sar., 2013). Po pravilu su u pitanju nekazeificirani, dobro formirani granulomi, sa retko nađenim mikroorganizmima. Veoma često su udruženi sa pojavom autoimunskih citopenija iz još uvek nejasnih razloga (Ardeniz O i Cunningham-Rundles C, 2009).

1.6.4. Gastrointestinalne bolesti

Zahvaćenost gastrointestinalnog (GIT) sistema i jetre u ovoj bolesti ide i kod 2/3 bolesnika (Bonilla FA i sar., 2015). Najčešći simptom kod zahvatanja GIT je tranzitorna ili perzistentna dijareja. U slučaju protražovanog trajanja može voditi do značajnog gubitka u telesnoj težini, steatoreje i malapsorpcije sa gubitkom minerala, vitamina rastvorljivih u vodi, pa čak i imunoglobulina. Ona može biti infektivne prirode o čemu je ranije bilo reči ili znak inflamatorne bolesti creva. Mnoge od manifestacija GIT sistema su slične bolestima koje se javljaju van CVID-a, kao što su atrofični gastritis, lezije slične celijakiji ili inflamatornoj bolesti debelog creva (IBD), ali patologija nije komparabilna, jer nema plazma ćelija i često nedostaje odgovor na konvencionalne terapije (Agarwal S i sar., 2013).

Hronični ili atrofični gastritis, naročito ukoliko je udružen sa *H.pylori* infekcijom može voditi do pojave karcinoma želuca, koji se značajno češće javlja kod bolesnika sa CVID-om (Dhalla F i sar., 2011). Nodularna limfoidna hiperplazija je česta kod ovih bolesnika i ako je masivna može voditi do hronične dijareje i gubitka u težini (Cunningham-Rundles C. 2010).

Bolesti jetre i hepatomegalija, kao i perzistentno lako uvećanje jetrenih enzima su često viđaju kod bolesnika sa CVID-om. Hepatitis B i C treba da se isključe PCR (Polymerase Chain Reaction) tehnikom, ali nisu više česti ukoliko drugi faktori rizika nisu prisutni. Primarna bilijarna ciroza i autoimunski ili granulomatozni hepatitis se mogu javiti kod ovih bolesnika, mada je najčešći uzrok bolesti jetre u CVID-u nodularna regenerativna hiperplazija (Sullivan KE i Stiehm ER, 2014). Za sada još uvek ne postoji lečenje za ovu bolest, koje nije dobrog toka i može voditi do stvaranja portne hipertenzije (Fuss IJ i sar., 2013).

1.6.5. Autoimunske bolesti

Koegzistencija imunodeficijencije i autoimunoisti je paradoksalna, jer produkcija At kao odgovor na patogen je teško oštećena kod ovih bolesnika, dok proizvodnja auto-At može u isto vreme da bude preterana. Takođe, autoreaktivni T i B ćelijski klonovi mogu se detektovati kod bolesnika sa CVID-om i pored oštećenja specifičnog odrovara na antigene.

U literaturi se navodi da je najčešća manifestacija autoimunosti u CVID-u pojava citopenija, koje mogu prethoditi pojavi CVID-a godinama (Patuzzo G i sar., 2016). Takođe, određeni broj pacijenata sa citopenijama nemaju tipičnu anamnezu o rekurentnim infekcijama pre dijagnoze CVID, iz za sada nejasnih razloga. Druge autoimunske bolesti koje se javljaju u CVID-u su perniciozna anemija, vitiligo, tiroiditis, reumatoidni artritis i u manjoj meri uveitis, vaskulitis, alopecija, primarna bilijarna ciroza, sika sindrom i veoma retko sistemski eritemski lupus (Sullivan KE i Stiehm ER, 2014). Uobičajeni testovi za detekciju prisustva autoantitela najčešće su lažno negativna.

1.7. Lečenje

Cilj lečenja bolesnika sa CVID je prevencija infekcija i kontrola dodatnih sekundarnih komplikacija ukoliko su prisutne i klinički značajne.

Osnov lečenja ovih bolesnika je profilaktičko davanje intravenskih imunoglobulina (IVIG). Ordiniranje IVIG značajno redukuje pojavu ozbiljnih

bakterijskih infekcija kao što su pneumonija, sepsa, meningitis i osteomijelitis i efikasnost ovog lečenja je dokazana u mnogim studijama (Rezaei N i sar., 2008). Svi pacijenti koji ispunjavaju dijagnostičke kriterijume za CVID treba da primaju IVIG, bez obzira na istoriju o infekcijama. Preparati IVIG-a su napravljeni od pulova plazmi od preko 1000 ljudskih davaoca i redovno se prate za različite patogene, kao što su HIV, hepatitis B i C. U mnogim zemljama su dostupni preparati za i.v. i subkutano (SCIG) davanje imunoglobulina, s tim da u našoj zemlji još nije dostupna terapija SCIG. Lečenje se započinje sa davanjem 400 mg/kg telesne težine IVIG-a u intervalima od 4 nedelje. Doza ili intervali između infuzija se mogu promeniti da bi se obezbedili adekvatni nivoi IgG. Individualna doza IVIG je prevashodno određena klinički u vidu zaštite od respiratornih infekcija donjih disajnih puteva. Ne postoji konsenzus koji nivo IgG je potreban da bude kod ovih pacijenata, mada kod pacijenata sa enteropatijom, bronhiektazijama i/ili splenomegalijom mogu biti potrebne veće doze IVIG-a (Bonilla FA i sar., 2016). Sistemske reakcije u vidu jeze, drhtavice, glavobolje, artralgijske, koprivnjače, angioedema, pada u krvnom pritisku se mogu javiti prilikom davanja IVIG. Sistemske reakcije na preparate SCIG su retke, međutim često se javljaju lokalne reakcije koje se vremenom mogu smanjiti po učestalosti.

Antibiotsko lečenje je esencijalan deo lečenja bolesnika sa CVID koji imaju akutne ili hronične bakterijske infekcije uprkos adekvatnoj supstituciji IVIG-om. Prilikom započinjanja antibiotskog lečenja, potrebno je uzeti u obzir uobičajene ili kulturom izolovane mikroorganizme. O efikasnosti antibiotske profilakse kod ovih bolesnika se još uvek diskutuje u smislu postojanja dugoročne efikasnosti i rizika od nastanka rezistentnih sojeva.

Lečenje različitih neinfektivnih komplikacija je slično njihovom lečenju kod imunokompetentnih bolesnika. Rano prepoznavanje i specifično lečenje ovih komplikacija je veoma važno, jer standardno lečenje često ne sprečava njihov progres. U slučaju potrebe za imunosupresivnim lečenjem savetuje se minimalna primena imunosupresiva.

Alogena transplantacija matičnih ćelija hematopoeze je rađena kod bolesnika sa CVID sa značajnim komplikacijama. U retrospektivnoj studiji koja je obuhvatila 25 pacijenata, preživljavanje kod bolesnika sa limfomima u sklopu CVID je iznosilo 83%,

međutim kod bolesnika sa drugim komplikacijama kao što su citopenije, enteropatija, GLILD, respiratorne i GIT infekcije iznosila je 33%. Od 12 preživelih pacijenata, polovina je mogla da prestane terapiju IVIG-om i komplikacija, koja je bila indikacija za transplantacijom, se popravila kod 92% pacijenata (Wehr C i sar., 2015).

1.8. Prognoza

Prvi izveštaji o prognozi CVID-a iz 1970-ih pokazuju da je preživljavanje ovih bolesnika bilo samo 30% 12 godina nakon dijagnoze (Summary report of aMedical Research Council working-party, 1969). Situacija se znatno poboljšala uvođenjem većih doza supstitucijskih imunoglobulina i dugodelujućih oralnih antibiotika, tako da su rekurentne epizode teških infekcija postale veoma retke. Krajem 1990-ih preživljavanje 20 godina nakon dijagnoze je iznosilo 64% kod muškaraca i 67% kod žena (Cunningham-Rundles C i Bodian C, 1999). Od 2000. godine, uvođenjem većih doza IVIG-a, većina pacijenata su imali normalne vrednosti IgG. Očekivano preživljavanje je iznosilo 58%, 45 godina nakon postavljanja dijagnoze bolesti (Chapel H i sar., 2008; Resnick E i sar., 2012).

Individualna prognoza pacijenta zavisi od kliničkog fenotipa. Dugotrajna praćenja su pokazala da pacijenti sa inflamatornim komplikacijama imaju povećan morbiditet i mortalitet, uprkos redovnom davanju IVIG-a (Bonilla FA i sar., 2016). Pacijenti sa enteropatijom, hroničnom plućnom bolešću, poliklonalnom limfoproliferacijom i citopenijama su u Čepelovoj studiji imali skraćeno preživljavanje (Chapel H i sar., 2008). U američkoj studiji gastrointestinalna bolest, limfom, hronična plućna bolest, bolesti jetre i malapsorpcija su povezani sa lošijom prognozom (Resnick E i sar., 2012).

1.9. X vezana agamaglobulinemija (X-linked agammaglobulinemia-XAG)

XAG je retka PAD, koju karakterišu odsutnost cirkulišućih B limfocita sa teškom redukcijom svih klasa imunoglobulina uzrokovanih mutacijom u genu Brutonove tirozin kinaze, koji se nalazi na X hromozomu (q21.33-q22). XAG se najčešće prezentuje kod odojčeta, obično posle šest meseci života kada nestanu imunoglobulini potekli od majke, sa ranom pojavom rekurentnih bakterijskih infekcija. Bolest se nasleđuje po tipu recesivnog nasleđivanja vezanog za X hromozom, tako da se XAG javlja samo kod muškaraca, dok su žene asimptomatski nosioci gena. Međutim, bolesnici sa XAG se ne susreću sa komplikacijama, kao bolesnici sa CVID, za koje se smatra da su posledica imunske disregulacije (Bateman EA i sar., 2012).

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA:

1. Ispitati demografske, kliničke i imunoserološke parametre kod pacijenata sa CVID:
 - a) utvrditi učestalost različitih kliničkih fenotipova i ispitati njihove razlike u demografskim i imunoserološkim parametrima na prvoj prezentaciji bolesti
 - b) utvrditi koje su najčešće infekcije koje su prethodile dijagnozi i koji su mikroorganizmi najčešći prouzrokovajući infekcija
 - c) uporediti PPD test u odnosu na zdrave kontrole

2. Analizirati imunofenotip limfocita periferne krvi pacijenata sa CVID i utvrditi :
 - a) da li se broj CD3+, CD4+, CD19+, NK limfocita i indeks CD4+/CD8+ razlikuje u odnosu na zdrave kontrole
 - b) da li se procenat naivnih, B limfocita sličnih ćelijama marginalne zone, B memorijskih limfocita sa promenjenom klasom, tranzicionih, aktiviranih B limfocita, plazmoblasta i plazmoblasta sa promenjenom klasom razlikuje u odnosu na zdrave kontrole
 - c) da li se procenat naivnih i memorijskih T limfocita razlikuje u odnosu na zdrave kontrole
 - d) da li je određen imunofenotip B i T limfocita povezan sa određenim kliničkim fenotipom prema definisanim klasifikacijama (Euroklas, Đovaneti)

3. Utvrditi klinički značaj citokinskog, imunofenotipskog i imunoserološkog profila kod pacijenata sa CVID:
 - a) Ispitati da li se koncentracije BAFF i IL-10 u serumu kod pacijenata sa CVID razlikuju u odnosu na zdrave kontrole
 - b) Uporediti koncentracije BAFF, IL-10, β 2 mikroglobulina, imunoglobulina i imunofenotipa B limfocita kod pacijenata sa i bez određenog kliničkog fenotipa

- c) Ispitati razlike u nivou BAFF i IL-10 kod bolesnika sa rekurentnim infekcijama uprkos redovnom davanju IVIG-a i bolesnika bez rekurentnih infekcija
- 4. Ispitati korelaciju između dobijenih demografskih, kliničkih, imunoseroloških, citokinskih i imunofenotipiskih parametara
- 5. Utvrditi smrtnost bolesnika kod pojedinih kliničkih fenotipova, petogodišnje i dugoročno preživljavanje, kao i uticaj određenih demografskih, kliničkih, imunoseroloških, imunofenotipskih i citokinskih parametara na ishod bolesti

3. MATERIJAL I METODE

3.1. Ispitanici i dizajn studije

Ispitivanje je sprovedeno u vidu kohortne studije, koja je obuhvatila 51 pacijenta (26 muškaraca i 25 žena) srednje životne dobi od $48 \pm 13,24$ godina, koji su se lečili od COVID na Klinici za alergologiju i imunologiju Kliničkog centra Srbije (KCS) u periodu od 1.1.1998. do 31.12.2016. Svi pacijenti su primali IVIG u mesečnim intervalima, tako da im je prosečna vrednost IgG pred davanje IVIG bila preko 5g/L.

Svim pacijentima su tokom lečenja registrovane komplikacije koje su razvile tokom srednjeg vremena praćenja od $11 \pm 10,03$ godina, kao i ishod bolesti.

Pacijenti su podeljeni u grupe, odnosno kliničke fenotipove, prema prisutnosti komplikacija na različitim organima:

1. Plućne bolesti
2. Limfoproliferacija
3. Gastrointestinalne bolesti
4. Autoimunske bolesti

Rezultati imunoglobulina prilikom dijagnoze bolesti su dobijeni uvidom u originalnu medicinsku dokumentaciju. Kašnjenje u postavljanju dijagnoze je definisano kao period između prve ozbiljne infekcije kod bolesnika i dijagnoze bolesti.

Kod 40 pacijenata (20 muškaraca i 20 žena) srednje životne dobi od $48,5 \pm 12,35$ godina, koji su bili praćeni od 1.1.2011. do 31.12.2016. (srednje vreme praćenja: $10,5 \pm 9,97$ godina) je rađena prospektivna studija i izvršena su sledeća ispitivanja: određivanje perifernog standardnog i proširenog T i B ćelijskog imunofenotipa, spirometrija, određivanje difuzijskog kapaciteta pluća za ugljen monoksid, ultrazvuk trbuha, radiografija srca i pluća, određivanje koncentracija citokina BAFF i IL-10, $\beta 2$ mikroglobulina i rađena je PPD (3J) intradermalna kožna proba koja je čitana posle 72 h. Svim pacijentima su rađene kompletne analize krvi na 6 meseci, kao i određivanje

koncentracija IgG da bi se regulisale doze IVIG i pratile pojave novih komplikacija. Dodatna dijagnostika je rađena prema potrebi i prisutnosti tegoba pacijenata.

Kod pacijenata koji su primali IVIG je praćen broj teških infekcija, koje su definisane kao stanja sa povišenim brojem leukocita, povišenim nivoima C reaktivnog proteina i povišene telesne temperature preko 38,5°C. Ukoliko su pacijenti imali preko 3 takve epizode godišnje pripadali su grupi pacijenata sa rekurentnim infekcijama uprkos redovnom primanju IVIG. Tokom praćenja registrovana je učestalost neželjenih reakcija na IVIG.

Kontrolnu grupu je činilo 21 zdrav ispitanik mečovan po polu i uzrastu sa pacijentima. U drugoj kontrolnoj grupi su bila 4 muška bolesnika sa XAG srednje životne dobi $30,5 \pm 6,55$ godina, srednjeg vremena praćenja $28 \pm 3,86$ godina.

3.2. Laboratorijske analize

3.2.1 Imunohemijske analize

Koncentracije IgG (n.v. 7-16 g/L), IgA (n.v. 0,7-4 g/L) i IgM (n.v. 0,4-2,3 g/L) u serumu su odrađivane turbidimetrijom u Imunološkoj laboratoriji Klinike za alergologiju i imunologiju KCS.

Koncentracija beta 2 mikroglobulina (n.v. 1-2,4 µg/mL) određivana je u biohemijskoj laboratoriji KCS standardnom metodom.

3.2.2. Imunofenotipizacija limfocita periferne krvi

Uzorci krvi su bili uzimani pred intravensku supstituciju IVIG-a. Svim pacijentima je određivan ukupan broj leukocita i leukocitna formula. Mononuklearne ćelije periferne krvi su bile obeležene standardnom procedurom za određivanje broja CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD3⁺/CD16⁺+CD56⁺, CD19⁺ ćelija/µL i CD4/CD8 indeksa. Ista procedura sprovedena je kod 21 zdrave kontrole radi određivanja normalnih vrednosti broja CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, NK i CD19⁺ ćelija.

Proširen imunofenotip se radio na sledećim panelima monoklonskih At kod pacijenata sa brojem CD19⁺ limfocita >1%: **Panel 1:** Anti-Human CD27- FITC, Anti-Human IgD - PE, Anti- Human CD19- PE-Cy7 i Anti-Human IgM- APC. **Panel 2:** Anti-Human CD38- FITC, Anti-Human CD21-PE, Anti-Human CD19-PE-Cy7 i Anti-Human IgM-APC (Thermo Fisher Scientific, Darmstadt, Nemačka). **Panel 3:** CD45RA/CD45RO/CD3/CD4- (BD Biosciences, Nju Džersi, Sjedinjene Američke Države). Analiza je rađena na instrumentu FACS Aria III (BD Biosciences, Nju Džersi, Sjedinjene Američke Države) na Institutu za mikrobiologiju i imunologiju Medicinskog fakulteta u Beogradu.

Na ovaj način određen je % sledećih subpopulacija B limfocita: naivne B ćelije (CD19+CD27-IgM+IgD+), B ćelije slične ćelijama marginalne zone (CD19+CD27+IgM++IgD+), memorijske ćelije sa promenjenom klasom (CD19+CD27+IgM-IgD-), plazmablasti (CD19+CD27+IgM++IgD-), tranzicione B ćelije (CD19+CD21intCD38++IgM+), aktivirani B limfociti (CD19++CD21lowCD38lowIgM+), plazmablasti sa promenjenom klasom (CD19lowCD21intCD38+++IgM-/+), naivni CD4+CD45RA+ T limfociti i memorijski CD4+CD45RO+ T limfociti. Ista procedura sprovedena je kod 21 zdrave kontrole radi određivanja normalnih vrednosti procenta.

U našoj grupi ispitanika urađena je analiza distribucije kliničkih fenotipova po Euroklas i Đovanetijevoj klasifikaciji. U Euroklas ispitivanju urađena je distribucija pacijenata prema procentu ćelija proširenog B ćelijskog imunofenotipa (Wehr C i sar., 2008). Svim pacijentima je rađen procenat CD19⁺ limfocita i grupa pacijenata koja je imala manji procenat od 1% označavana je kao grupa B- i nije se dalje analizirala. Potom su ostali pacijenti (grupa B+) grupisani prema % memorijskih B ćelija sa promenjenom klasom. Napravljene su dve grupe smB - i + sa niskim i normalnim procentom memorijskih B ćelija sa promenjenom klasom (\leq ili $>$ od 2%), koje su dalje podeljene prema % tranzicionih i aktiviranih limfocita. Grupa Trⁿ je imala <9% tranzicionih B ćelija (normalan %), dok je grupa Tr^{hi} imala \geq 9% tranzicione B ćelije (povišen %). Grupa CD21ⁿ je imala <10% aktiviranih limfocita (normalan %), dok je grupa CD21^{lo} \geq 10% aktiviranih limfocita (povišen %). Analiza distribucije je rađena prema apsolutnim brojevima podgrupa bolesnika.

Dovanetijeva klasifikacija je rađena prema procentu naivnih T limfocita (Giovannetti A i sar., 2007). I grupa je imala <15%, II grupa 15-30% i III grupa >30% CD4+CD4RA+ T ćelija. Analiza je rađena između grupa ispitanika.

3.2.3. Određivanje koncentracija citokina BAFF i IL-10 u serumu

Citokini BAFF i IL-10 su mereni ELISA testom (enzyme-linked immunosorbent assay - ELISA) (RnDSystems, Abingdon, Velika Britanija). Testovi su kalibrirani sa visoko prečišćenim rekombinantim ljudskim BAFF i IL-10. Vrednosti su dobijene na osnovu 4PL standardne krive. Minimalna detektovana doza (MDD) za BAFF je bila u rangu 1,01-6,44 pg/mL (srednja vrednost 2,68 pg/mL). MDD za IL-10 je bila ispod 3,9 pg/mL. Određivanje koncentracije citokina BAFF i IL-10 je rađena u Imunološkoj laboratoriji Klinike za alergologiju i imunologiju KCS.

3.3. Statistička analiza

Od deskriptivnih analiza korišćeni su medijane, procenti, interkvartilni rangovi i rangovi.

Za statistička poređenja dve grupe kontinuiranih varijabli je korišćen Man-Vitnijev (Mann-Whitney) test i neparametrijska jednofaktorska analiza varijanse (ANOVA), Kruskal-Wallisov (Kruskal-Wallis) test za više od dve grupe kontinuiranih varijabli. Za poređenje dve grupe kvalitativnih (kategorijskih) varijabli je korišćen hi kvadrat test, a kod malih uzoraka Fišerov test tačne verovatnoće. Za ispitivanje povezanosti dve kontinuirane varijable koristio se Spirmanov koeficijent korelacije (Spearman's correlation coefficient). Krivulja verovatnoće preživljavanja predstavljena je metodom Kaplan-Majer (Kaplan-Meier), a poređenje vremena preživljavanja različitih grupa bolesnika vršeno je Log-rank testom.

Statistička značajnost definisana je na nivou verovatnoće nulte hipoteze od $p < 0.05$ do $p < 0.01$. Svi podaci su obrađeni u SPSS 20.0 (IBM softverskom paketu).

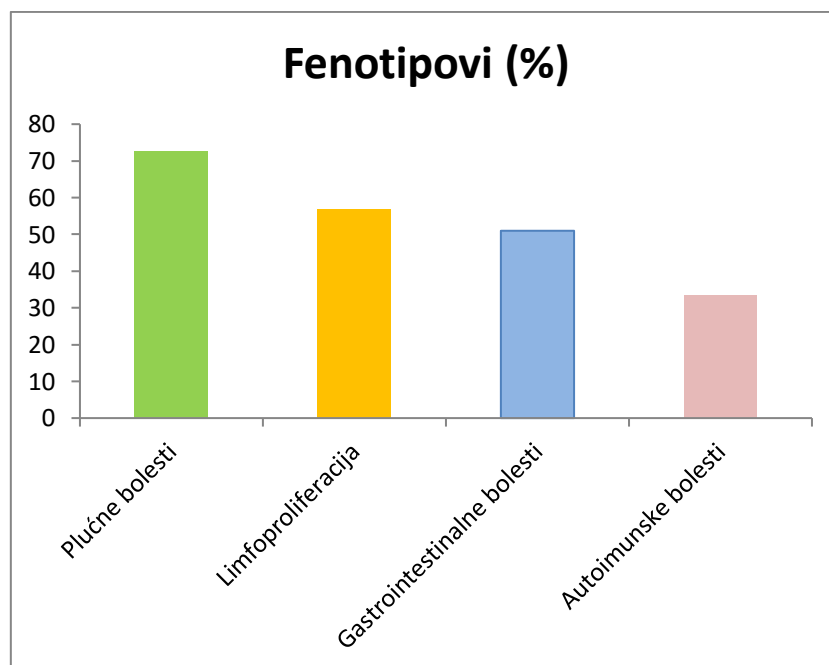
Dobijeni podaci su obrađeni i prikazani na tabelama i grafikonima uz propratnu diskusiju istih, a u zavisnosti od prirode posmatrane varijable.

4. REZULTATI

4.1. Demografski, klinički, serološki i mikrobiološki parametri 51 pacijenta sa CVID praćenih od 1998-2016

4.1.1. Osnovni klinički fenotipovi 51 pacijenta sa CVID praćenih od 1998-2016

U periodu od 1998-2016. na Klinici za alergologiju i imunologiju Kliničkog centra Srbije je lečen 51 pacijent sa CVID. Prosečna starost bolesnika je iznosila $48 \pm 13,24$ godina. Muškaraca je bilo 26 (51%), dok je pacijentkinja bilo 25 (49%). Prosečan uzrast bolesnika na početku smetnji bolesnika je iznosila 27 godina, dok je uzrast prilikom dijagnoze bolesti iznosila prosečno 33 godine (tabela1). Prosečno kašnjenje u dijagnozi bolesti od početka simptoma je iznosilo 6 godina. Prosečna koncentracija IgG prilikom dijagnoze svih bolesnika je bila 2,09 g/L, koncentracija IgA 0,2 g/L, dok je koncentracija IgM iznosila 0,22 g/L. Svi pacijenti su imali negativnu porodičnu anamnezu za postojanje PID.



Grafikon 1. Procentualna zastupljenost kliničkih fenotipova pacijenata sa CVID praćenih od 1998-2016

Analizom podataka po grupama, nakon srednjeg vremena praćenja od $11 \pm 10,03$ godina, 37 (72,54 %) bolesnika je imala zahvaćenost pluća, limfoproliferaciju je imalo 29 (56,86%), 26 (50,98%) bolesnika je imalo komplikacije na gastrointestinalnim organima, dok se grupa sa autoimunskim manifestacijama sastojala od 17 (33,33%) bolesnika (grafikon 1). 17 (33,33%) bolesnika je imao jedan klinički fenotip, a ostali 2 i više.

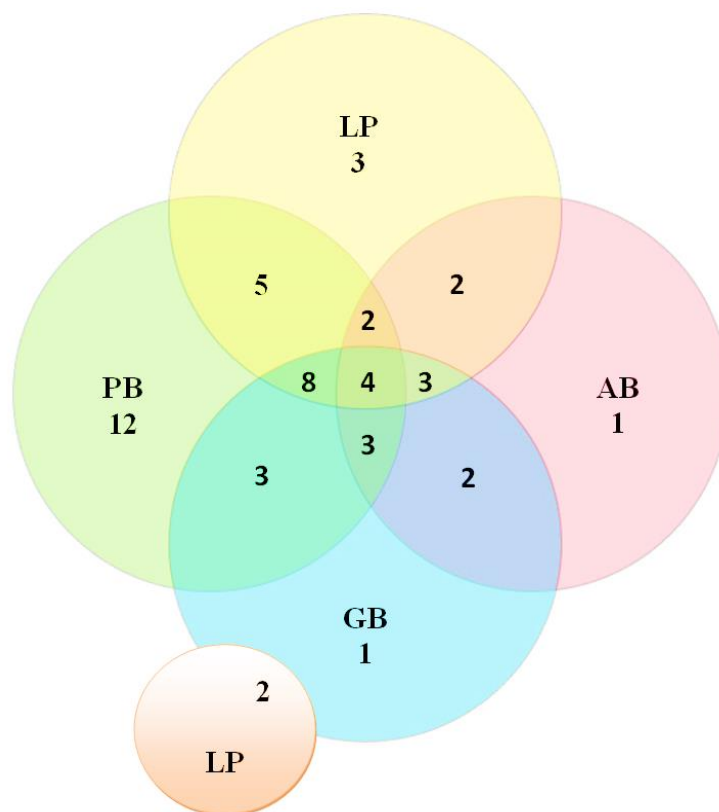
Od plućnih bolesti, 20/37 bolesnika je imalo hroničnu opstruktivnu bolest pluća (HOBP), 18/37 bronhiektazije (verifikovane multislajsnim skenerom (MSCT) ili bronhoskopski), 5/37 bronhijalnu astmu, 2/37 fibrozu pluća.

U grupi bolesnika sa limfoproliferacijama 24/29 je imalo splenomegaliju (verifikovanu MSCT-om ili ultrazvučno promera od 11cm i preko), 10/29 limfadenopatiju (dokazanu ultrazvučno ili na MSCT-u), 5/29 granulom (dokazan biopsijom) i 3/29 limfom. Granulomatozna bolest je dokazana kod 2 pacijenta na plućima - GLILD, kod dvoje u limfnim čvorovima i kod jednog u slezini.

Od gastrointestinalnih komplikacija 16/26 bolesnika je imalo hepatomegaliju (dokazanu ultrazvučno ili na MSCT-u promera od 15 cm i preko), 6/26 enteropatiju (dokazanu biopsijom), 5/26 nodularnu hiperplaziju (dokazanu ultrazvučno ili na MSCT-u) i 4/26 kolitis (dokazan biopsijom).

U grupi sa autoimunskim manifestacijama 8/17 bolesnika je imalo pernicioznu anemiju, 7/17 citopenije, 2/17 Hašimoto tireoiditis i 1/17 sistemski vitiligo. Od 7 bolesnika sa citopenijama, 3 bolesnika su imali autoimunu hemoliznu anemiju (AIHA), 2 idiopatsku trombocitopeniju (ITP) i 2 Evans-ov sindrom.

Jedan pacijent je mogao da ima veći broj bolesti iz iste grupe ili unutar različitih grupa bolesti. Na grafikonu 2 su prikazana preklapanja svih bolesnika po kliničkim fenotipovima. 17/51 bolesnika je imalo samo 1 fenotip (33,3%).



Grafikon 2. Delimično preklapanje kliničkih fenotipova 51 pacijenta sa COVID praćenih od 1998-2016. PB: plućne bolesti; LP: limfoproliferacija; GB: gastrointestinalne bolesti; AB: autoimunske bolesti

4.1.2. Demografski i serološki parametri pri postavljanju dijagnoze COVID kod 51 pacijenta i kod različitih kliničkih fenotipova COVID praćenih u periodu od 1998-2016

Analiza demografskih podataka među grupama (tabela 1) pokazuje da su bolesnici sa plućnim bolestima imali prosečno 47,5 godina i bili su malo mlađi od bolesnika sa limfoproliferacijama (48 god.), gastrointestinalnim (49,5 god.) i autoimunskim bolestima (53 god.), ali bez značajne statističke razlike. Početak bolesti je bio najraniji u plućnoj grupi bolesnika (27 godina), potom u grupi sa gastrointestinalnim bolestima (29 god.), limfoproliferacijama (30,5 god.), dok se najkasnije javila kod bolesnika sa autoimunskim komplikacijama (32 god.), ali bez statističke značajnosti. Starost bolesnika prilikom dijagnoze bolesti je bila najniža u plućnoj i limfoproliferativnoj grupi (33 godine), zatim u gastrointestinalnoj (35 god.), dok su bolesnici sa autoimunošću bili najstariji (45 god.), takođe bez statističke značajnosti.

Prosečno kašnjenje u dijagnozi bolesti je bilo najmanje kod bolesnika sa plućnim i limfoproliferativnim komplikacijama (6 god), zatim u gastrointestinalnoj (7,5 god.) i autoimunske grupe bolesnika (8 god.), bez značajnosti. Prosečne koncentracije imunoglobulina G, A i M po grupama, kao i cele grupe bolesnika su prikazane na tabeli 1. Takođe ni tu nije nađena značajna statistička razlika među njima.

Tabela 1. Demografski i serološki parametri pri postavljanju dijagnoze CVID kod 51 pacijenta i kod različitih kliničkih fenotipova CVID praćenih u periodu od 1998-2016

	Plućne bolesti	Limfo-proliferacija	Gastro-intestinalne bolesti	Autoimunske bolesti	p	CVID
Broj (n)	37	29	26	17	/	51
Pol M:Ž (n)	18:19	15:14	14:12	8:9	/	26:25
Starost (god.)	47,5±11,23	48±14,2	49,5±13,91	53±14,94	>0,05	48±13,24
Ž. dob na početku bolesti (god.)	27±13,62	30,5±14,6	29±14,12	32±15,6	>0,05	27±14,36
Ž. dob pri dijagnozi (god.)	33±14,23	33±16,17	35±15,68	45±19,14	>0,05	33±15,73
Kašnjenje dijagnoze (god.)	6±7,24	6±8,21	7,5±9,46	8±10,44	>0,05	6±8,34
IgG (g/L)	2,1±1,46	2,08±1,34	2,03±1,04	2,09±1,28	>0,05	2,09±1,36
IgA (g/L)	0,2±0,15	0,23±0,19	0,22±0,18	0,28±0,25	>0,05	0,2±0,18
IgM (g/L)	0,2±0,35	0,24±0,37	0,24±0,22	0,24±0,43	>0,05	0,22±0,32

Analizom podataka po polovima, plućna grupa (51,35%) i autoimunska grupa bolesnika (52,94%) su imali nešto veću učestalost osoba ženskog pola, dok je u drugim grupama bilo više muškaraca (u limfoproliferacijama 51,72%, a najviše u GIT grupi 53,86%). Statističkom analizom našli smo statistički značajnu razliku u starosti bolesnika među polovima (tabela 2). Muška grupa bolesnika je značajno mlađa od ženskih bolesnica (41 prema 53,5 godina; $p < 0,05$). U ostalim parametrima: uzrast na početku bolesti, uzrast bolesnika pri dijagnozi bolesti, kašnjenje u dijagnozi, kao i u koncentracijama imunoglobulina nije nađena značajna razlika među polovima (tabela 2).

Tabela 2. Demografske i imunoserološke razlike između muških i ženskih COVID pacijenata

Pol	Muški	Ženski	p
Broj (n)	26	25	/
Starost (god.)	41±13,16	53,5±12,58	0,034
Ž. dob na početku bolesti (god.)	22±11,37	32±16,65	>0,05
Ž. dob pri dijagnozi (god.)	29,5±14,73	38±16,33	>0,05
Kašnjenje dijagnoze (god.)	6,5±8,27	6±8,60	>0,05
IgG (g/L)	2,25±1,3	1.8±1,46	>0,05
IgA (g/L)	0,2±0,22	0,23±0,13	>0,05
IgM (g/L)	0,2±0,36	0,24±0,27	>0,05

4.1.3. Najčešće infekcije koje su prethodile dijagnozi COVID u periodu od 1998-2016

U našoj grupi bolesnika najčešće infekcije koje su prethodile dijagnozi bolesti su bile upale pluća sa 85,12%, potom sinuzitisi sa 63,83%, bronhitisi sa 36,17% i otitisi sa 21,28%. Ređe su se javljali tonzilitisi, meningitisi, artritis i sepsa sa po 6,38%. Na tabeli 3 su prikazane distribucije infekcija po grupama bolesnika koje su prethodile dijagnozi bolesti. Nije bilo statistički značajne razlike među grupama.

Tabela 3. Najčešće infekcije koje su prethodili dijagnozi COVID u periodu 1998-2016

Infekcije (%)	Plućne bolesti	Limfo-proliferacija	Gastro-intestinalne bolesti	Autoimunske bolesti	p	COVID
n	37	29	26	17	/	51
Pneumonije	94,29	85,71	83,33	68,75	>0,05	85,12
Sinuzitisi	68,57	53,57	58,33	50	>0,05	63,83
Bronhitisi	37,14	46,43	45,83	50	>0,05	36,17
Otitisi	17,14	21,43	20,83	12,5	>0,05	21,28
Tonzilitisi	2,86	10,71	8,33	6,25	>0,05	6,38
Meningitis	5,71	3,57	8,33	12,5	>0,05	6,38
Artritis	8,57	3,57	8,33	0	>0,05	6,38
Sepsa	5,71	10,71	8,33	12,5	>0,05	6,38

4.1.4. Najčešći prouzrokovaci bakterijskih infekcija kod pacijenata sa COVID praćenih u periodu 1998-2016

Najčešći prouzrokovac bakterijskih infekcija u našoj grupi bolesnika je bio *Streptococcus pneumoniae*, potom *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas* i *Enterococcus* (tabela 4).

Tabela 4. Najčešći prouzrokovaci bakterijskih infekcija kod pacijenata sa COVID praćenih u periodu 1998-2016

	Plućne bolesti	Limfo-proliferacija	Gastro-intestinalne bolesti	Autoimunske bolesti	COVID
n	37	29	26	17	51
<i>Str.pneumoniae</i> (n)	13	8	6	4	14
<i>H.influence</i> (n)	4	2	1	1	4
<i>PseudomonasA.</i> (n)	4	1	1	2	4
<i>Enterococcus</i> (n)	4	2	2	0	4
<i>Str.β haem.</i> (n)	3	1	1	0	3
<i>ProteusM.</i> (n)	3	0	1	0	3
<i>H.parainfluence</i> (n)	2	1	0	1	2
<i>M.catarrhalis</i> (n)	2	2	0	0	2

*Nisu kod svih pacijenata izolovani prouzrokovaci infekcija

4.1.5. Parazitarne, gljivične, virusne i mikobakterijske infekcije kod pacijenata sa COVID praćenih u periodu od 1998-2016

Od nebakterijskih infekcija najčešći uzročnik je bila protozoa *Giardia lamblia*, kao i *Varicella-Zoster* i *Epstein-Barr* virusi (tabela 5).

Tabela 5. Parazitarne, gljivične, virusne i mikobakterijske infekcije kod pacijenata sa CVID praćenih u periodu od 1998-2016

	Plućne bolesti	Limfo-proliferacija	Gastro-intestinalne bolesti	Autoimunske bolesti	CVID
n	37	29	26	17	51
<i>G.Lambli</i> a (n)	4	2	4	2	5
<i>Aspergillus f.</i> (n)	2	1	2	1	2
<i>M.tuberculosis</i> (n)	2	0	0	0	2
<i>Blastocystis h.</i> (n)	0	0	1	1	1
<i>Varicella-Zosterv.</i> (n)	4	3	2	2	4
<i>Epstein–Barrv.</i> (n)	1	3	2	2	3
<i>Coxsackie v.</i> (n)	2	1	1	1	2

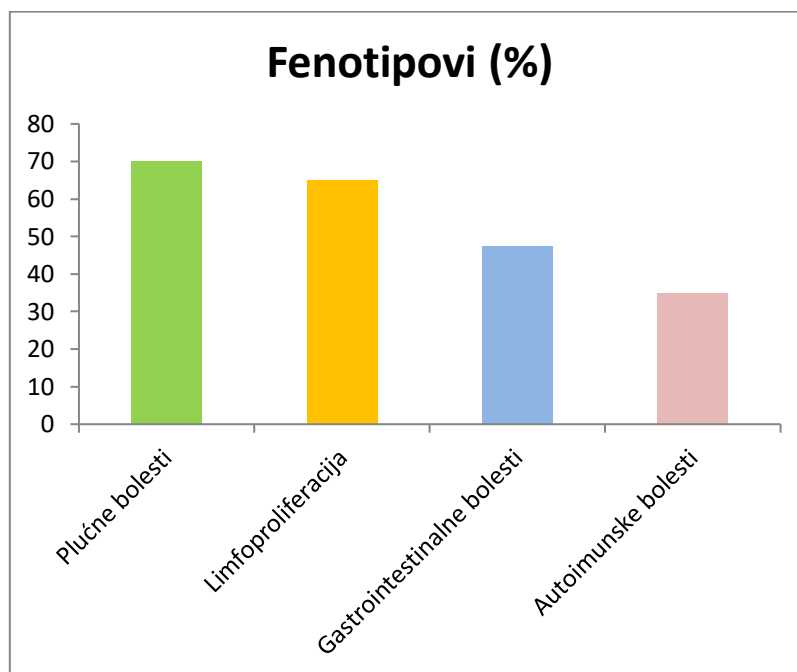
*Nisu kod svih pacijenata izolovani prouzrokovajući infekcija

4.2. Demografski, klinički, imunoserološki, imunofenotipski i citokinski parametri 40 pacijenata sa CVID praćenih od 2011-16

4.2.1. Osnovni klinički fenotipovi 40 pacijenata sa CVID praćenih od 2011-16

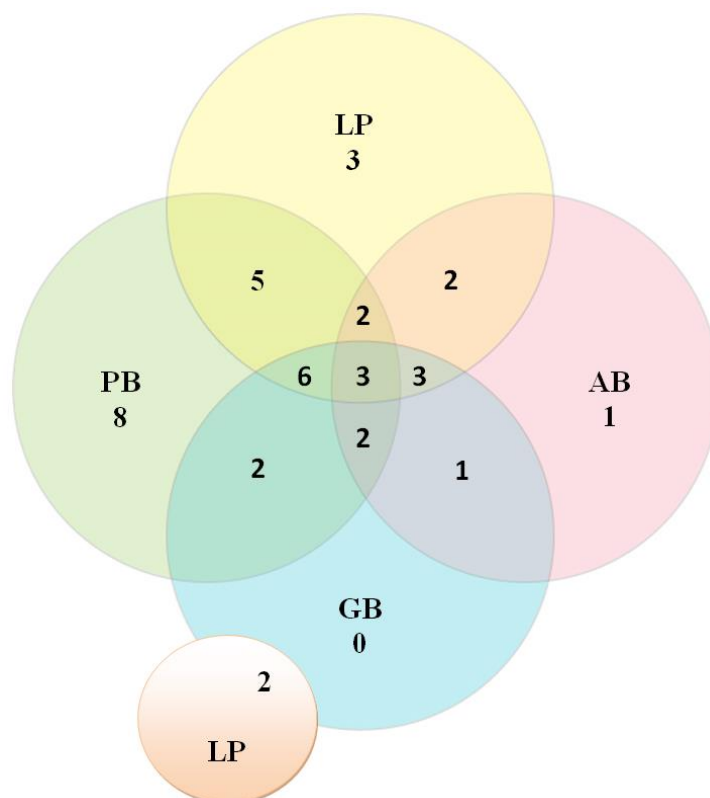
U periodu 2011-16. je sprovedeno detaljno ispitivanje 40 bolesnika sa CVID na Klinici za alergologiju i imunologiju Kliničkog centra Srbije. Grupa se sastojala od po 20 bolesnika muškog i ženskog pola, prosečne starosti $48,5 \pm 12,35$ godina. Srednje vreme praćenja bolesnika je iznosilo $10,5 \pm 9,97$ godina. Prosečan uzrast bolesnika na početku smetnji je iznosio 25 godina, dok je dijagnoza bolesti najčešće postavljena sa 33 godine. Prosečno kašnjenje u postavljanju dijagnoze je bilo 6,5 godina, dok su prosečne koncentracije imunoglobulina na početku bolesti su bile sledeće: IgG: 2,03, IgA i IgM po 0,2g/L (tabela 6).

Klinički fenotipovi su bili distribuirani na sledeći način: 28 (70%) bolesnika je imalo plućnu bolest, 26 (65%) limfoproliferaciju, 19 (47,5%) je imalo gastrointestinalnu bolest, dok je 14 (35%) imalo autoimunske manifestacije bolesti (grafikon 3). 12 (30%) bolesnika je imao jedan klinički fenotip, a ostali 2 i više (grafikon 4).



Grafikon 3. Klinički fenotipovi kod pacijenata praćenih od 2011-16

Od plućnih bolesti 16/28 je imalo HOBP, 15/28 je imalo bronhiektazije, 4/28 je imalo bronhijalnu astmu i 2/28 je imalo plućnu fibrozu. U grupi bolesnika sa limfoproliferacijama 22/26 je imalo splenomegaliju, 7/26 je imalo limfadenopatiju, 5/26 granulom i 3/26 limfom. Grupa sa gastrointestinalnim bolestima se sastojala od 11/19 bolesnika sa hepatomegalijom, 5/19 je imalo enteropatiju, 4/19 nodularnu hiperplaziju i 4/19 kolitis. U grupi sa autoimunskim manifestacijama 6/14 bolesnika je imalo pernicioznu anemiju, 6/14 citopenije, 2/14 Hašimoto tireoiditis i 1/14 sistemski vitiligo. Od 6 bolesnika sa citopenijama, po 2 bolesnika su imali AIHA-u, ITP i Evans-ov sindrom. Jedan pacijent je mogao da ima veći broj bolesti iz iste grupe ili unutar različitih grupa bolesti. 12/40 bolesnika je imalo samo 1 fenotip (30%). Na grafikonu 4 su prikazana preklapanja svih bolesnika po kliničkim fenotipovima.



Grafikon 4. Delimična preklapanja kliničkih fenotipova pacijenata sa CVID praćenih od 2011-16. PB: plućne bolesti; LP: limfoproliferacija; GB: gastrointestinalne bolesti; AB: autoimunske bolesti

4.2.2. Demografski i serološki parametri pri postavljanju dijagnoze CVID kod 40 pacijenata i kod različitih kliničkih fenotipova CVID praćenih u periodu od 2011-16

Analiza demografskih podataka po grupama (tabela 6) je pokazala da su bolesnici sa limfoproliferacijama bili najmlađi (48 god.), potom bolesnici sa plućnim i gastrointestinalnim bolestima (49 god.), dok su bolesnici sa autoimunskim manifestacijama bili prosečno najstariji (54 god.), bez statističke značajnosti. Najranije je bolest počela u grupi bolesnika sa plućnim manifestacijama (28 god.), potom u grupi sa limfoproliferacijama (30,5 god.), gastrointestinalnoj (32 god.) i autoimunskej grupi bolesnika (33 god.), bez značajne statističke razlike. Bolesnici su prosečno dijagnostikovani u 33. godini kod svih grupa, sem kod bolesnika sa autoimunskim bolestima gde je prosek bio 45,5 godine, takođe bez statističke značajnosti. Kašnjenje u postavljanju dijagnoze je bilo najkraće kod bolesnika sa limfoproliferacijama (6 god.),

potom u grupi sa plućnim bolestima (6,5 god.), pa kod bolesnika sa gastrointestinalnim (8 god.) i autoimunskim poremećajima (9 god.), bez statističke značajnosti. Prosečne koncentracije imunoglobulina na početku bolesti su prikazani na tabeli 6, tu takođe nije nađena statistička značajnost između grupa.

Analizom podataka između grupa po polovima je pokazala nešto veću učestalost ženskih bolesnika u grupi sa plućnim bolestima (53,57%). U autoimunske grupi učestalost je bila podjednaka (po 50%), dok je u limfoproliferativnoj (57,69%) i gastrointestinalnoj (57,89%) grupi bolesnika bila veća učestalost muških pacijenata. I u ovoj grupi pacijenata, ženski pacijenti su bili značajno stariji od muških (54,5 prema 40 godina), a da u ostalim obeležjima nije bilo značajne statističke razlike (podaci nisu prikazani).

Tabela 6. Demografske i serološke razlike između pacijenata sa različitim fenotipovima česte varijabilne imunodeficijencije

	Plućne bolesti	Limfo-proliferacija	Gastro-intestinalne bolesti	Autoimunske bolesti	p	CVID
Broj (n)	28	26	19	14	/	40
Pol M:Ž (n)	13:15	15:11	11:8	7:7	>0,05	20:20
Starost (god.)	49±10,37	48±14,04	49±11,5	54±14	>0,05	48,5±12,35
Ž. dob na početku bolesti (god.)	28±14,53	30,5±14,55	32±13,67	33±15,47	>0,05	28±15,09
Ž. dob pri dijagnozi (god.)	33±14,6	33±16,41	33±13,84	45,5±17,37	>0,05	33±15,45
Kašnjenje dijagnoze (god.)	6,5±7,76	6±8,38	8±9,72	9±10,23	>0,05	6,5±8,56
IgG (g/L)	2,03±1,39	2,08±1,32	1,99±0,85	2,09±1,24	>0,05	2,03±1,29
IgA (g/L)	0,2±0,16	0,215±0,2	0,2±0,19	0,28±0,25	>0,05	0,2±0,19
IgM (g/L)	0,195±0,38	0,235±0,38	0,2±0,15	0,225±0,46	>0,05	0,2±0,32

M-muški; Ž-ženski; Ig-imunoglobulin

4.2.3. Demografski i serološki parametri pri postavljanju dijagnoze pacijenata sa CVID i XAG

Tabela 7 prikazuje demografske razlike između bolesnika sa CVID i XAG. Bolesnici sa urođenom agamaglobulinemijom su bili prosečno značajno mlađi (30,5 prema 48,5 godina; $p=0,022$), sa značajno ranijim početkom simptoma (2 prema 28 godina; $p=0,001$) i starosti pri dijagnozi bolesti (4 prema 33 godine; $p=0,000$). Vreme kašnjenja u postavljanju dijagnoze bolesti je bilo na granici značajnosti (1,5 prema 6,5 godine; $p=0,05$), dok nije bilo razlika u koncentracijama imunoglobulina u krvi.

Tabela 7. Demografske i imunoserološke razlike između pacijenata sa CVID i XAG

	CVID	XAG	p
Broj (n)	40	4	/
Pol M:Ž (n)	20:20	4:0	/
Starost (god.)	48,5±12,35	30,5±6,55	0,022
Ž. dob na početku bolesti (god.)	28±15,09	2±2,83	0,001
Ž. dob pri dijagnozi (god.)	33±15,45	4±3,32	0,000
Kašnjenje dijagnoze (god.)	6,5±8,56	1,5±1,29	0,05
IgG (g/L)	2,03±1,29	2,81±0,78	>0,05
IgA (g/L)	0,2±0,19	0,19±0,11	>0,05
IgM (g/L)	0,2±0,32	0,25±0,1	>0,05

M-muški; Ž-ženski; Ig-immunoglobulin

4.2.4. Osnovni imunofenotipski profil bolesnika sa CVID po kliničkim fenotipovima, XAG i zdravih kontrola

Između kliničkih fenotipova, nije bilo statističke značajnosti u broju CD3+, CD4+, CD8+, CD19+ i CD3-/CD16+/56+ (NK) limfocita, kao i odnosa CD4/CD8 limfocita (tabela 8). Plućni bolesnici su imali prosečno najmanji broj limfocita iz osnovnog fenotipa, dok je autoimunska grupa pacijenata imala prosečno najveći broj ćelija celog pula, sem NK limfocita čiji broj su imali najviše bolesnici sa gastrointestinalnim bolestima.

Tabela 8. Razlike u osnovnom imunofenotipu limfocita između pacijenata sa različitim fenotipovima CVID

	Plućne bolesti	Limfo-proliferacija	Gastro-intestinalne bolesti	Autoimunske bolesti	p	CVID
n	28	26	19	14		40
CD3+	969±438,5	1043±1652	984±1499	1074±1877	>0,05	1000±1380
CD4+	359±157,5	370±439,2	359±276,6	437±497,6	>0,05	382±373
CD8+	537±324,3	563±1275	544±1247	592±1446	>0,05	551±1055
CD16+/56+	90,5±131,5	99±108,9	102±110,1	95±94,9	>0,05	93±126
CD19+	56,5±118,8	100,5±168	62±48,5	77,5±166	>0,05	82±144
CD4/CD8	0,65±0,49	0,65±0,49	0,59±0,5	0,61±0,6	>0,05	0,67±0,51

Prikazani brojevi predstavljaju broj ćelija/ μ L, osim CD4/CD8 indexa

Poređenje imunofenotipskog profila limfocita između grupe pacijenata sa CVID, XAG i zdravih kontrola je prikazano na tabeli 9. Bolesnici sa CVID su imali značajno manji broj CD4+ limfocita (382 prema 777; $p=0,04$), veći broj CD19+ limfocita (82 prema 5; $p=0,001$) i niži CD4/CD8 odnos (0,67 prema 1,67; $p=0,01$) u odnosu na pacijente sa XAG. U odnosu na zdrave kontrole CVID pacijenti su imali značajno manji broj CD3+ (1000 prema 1453; $p=0,003$), CD4+ (382 prema 941; $p=0,000$), NK (93 prema 325; $p=0,000$), CD19+ (82 prema 181; $p=0,003$) limfocita, kao i značajno manji CD4/CD8 odnos (0,67 prema 2,17; $p=0,000$). Jedino je broj CD8+ limfocita bio nešto veći u CVID grupi pacijenata (551 prema 484), bez značajnosti. Poređenjem XAG pacijenata i zdravih kontrola, jedino je nađena značajna razlika u broju CD19+ limfocita, koji su bili značajno niži kod XAG pacijenata (5 prema 181; $p=0,001$).

Tabela 9. Imunofenotipski profil limfocita pacijenata sa CVID, XAG i zdravih kontrola

	CVID	XAG	p CVID/XAG	ZK	p CVID/ZK	p XAG/ZK
n	40	4	/	21	/	/
CD3+	1000±1380	1471±816	>0,05	1453±326	0,003	>0,05
CD4+	382±373	777±256	0,04	941±238	0,000	>0,05
CD8+	551±1055	607±476	>0,05	484±193	>0,05	>0,05
CD16+/56+	93±126	218±171	>0,05	325±183	0,000	>0,05
CD19+	82±144	5±6,8	0,001	181±75	0,003	0,001
CD4/CD8	0,67±0,51	1,67±1,1	0,01	2,17±0,89	0,000	>0,05

Prikazani brojevi predstavljaju broj ćelija/ μ L, osim i CD4/CD8 indexa; ZK-zdrave kontrole

4.2.5. Citokinski profili koncentracija β 2 mikroglobulina kod bolesnika sa CVID po kliničkim fenotipovima, XAG i zdravih kontrola

Na tabeli 10 su prikazane prosečne koncentracije citokina BAFF, IL-10, kao i β 2 mikroglobulina po grupama CVID pacijenata, kao i cele grupe. Statistički nije bilo značajnih razlika u koncentracijama između grupa bolesnika.

Tabela 10. Koncentracija BAFF, IL-10 i β 2 mikroglobulina kod pacijenata sa različitim kliničkim fenotipovima CVID

	Plućne bolesti	Limfo- proliferacija	Gastro- intestinalne bolesti	Autoimunske bolesti	p	CVID
n	28	26	19	14	/	40
BAFF(pg/mL)	3565±2849	2933±2629	6800±2644	2819±2815	>0,05	2933±2728
IL-10 (pg/mL)	9,22±7,38	9,24±4,97	8,9±7,88	4,7±5,35	>0,05	7,88±7,33
β 2 μ g (μ g/mL)	2,15±0,98	2,63±1,05	2,85±1,49	2,58±1,36	>0,05	2,14±1,14

Tabela 11. Koncentracije BAFF, IL-10 i β 2 mikroglobulina kod pacijenata sa CVID, XAG i kod zdravih kontrola

	CVID	XAG	p CVID/XAG	ZK	p CVID/ZK	p XAG/ZK
n	40	4	/	21	/	/
BAFF (pg/mL)	2933 \pm 2728	7874 \pm 771	0,024	1070 \pm 319	0,000	0,000
IL-10 (pg/mL)	7,88 \pm 7,33	0 \pm 4,62	0,054	0 \pm 2,15	0,000	>0,05
β 2 μ g (μ g/mL)	2,14 \pm 1,14	2,27 \pm 2,4	>0,05	1,75 \pm 0,33	0,022	>0,05

ZK-zdrave kontrole

Na sledećoj tabeli 11 su prikazane prosečne koncentracije CVID pacijenata i kontrola. Pacijenti sa XAG su imali značajno višu koncentraciju BAFF-a u odnosu na CVID pacijente ($p=0,024$) i zdrave kontrole ($p=0,000$). Takođe, CVID pacijenti su imali značajno višu koncentraciju BAFF-a u odnosu na zdrave kontrole ($p=0,000$). CVID pacijenti su imali prosečno najvišu koncentraciju IL-10 sa graničnom statističkom razlikom u odnosu na XAG pacijente i značajno višu u odnosu na zdrave kontrole ($p=0,000$). U koncentraciji β 2 mikroglobulina nije bilo razlike između CVID i XAG pacijenata, dok su CVID pacijenti imali značajno višu koncentraciju u odnosu na zdrave kontrole ($p=0,022$).

4.2.6. Parametri plućne funkcije bolesnika sa CVID po kliničkim fenotipovima, XAG i zdravih kontrola

Na tabeli 12 su prikazani parametri plućne funkcije (FEV1(%), VC(%), FEV1/FVC i DLCO) pacijenata sa CVID i kliničkih fenotipova. Pacijenti sa plućnim bolestima su imali najniži FEV1 sa 78%, potom bolesnici sa gastrointestinalnim bolestima (83%), autoimunskim (88,5%) i limfoproliferacijama (91%). Statistička razlika među grupama je bila blizu statističke značajnosti ($p=0,052$). Plućni bolesnici su imali najniže vrednosti i VC i odnosa FEV1/FVC u odnosu na ostale grupe, ali nije bilo značajne razlike. DLCO je takođe bio najniži u plućnoj grupi bolesnika (68%), potom kod bolesnika sa autoimunskim (71,5%), gastrointestinalnim bolestima (77%) i limfoproliferacijama (81%). Statistička razlika među grupama nije bila značajna.

Tabela 12. Parametri plućne funkcije kod pacijenata sa različitim kliničkim fenotipovima CVID

	Plućne bolesti	Limfo-proliferacija	Gastro-intestinalne bolesti	Autoimunske bolesti	p	CVID
n	28	26	19	14		40
FEV1 (%)	78±21,3	91±19,2	83±22,6	88,5±20,6	0,052	83±22,2
VC (%)	87±19,2	93±16,7	90±22,5	91,5±17,8	>0,05	91±18,8
FEV1/FVC	71±11,3	80±8,1	77,5±10,5	80±13,4	>0,05	77,5±11,3
DLCO	68±14,5	81±14,3	77±18,8	71,5±13,7	>0,05	70,5±15,21

FEV1: forsirani ekspirijumski volumen u prvoj sekundi; VC: vitalni kapacitet; FVC: forsirani vitalni kapacitet; FEV1/FVC: odnos forsiranog ekspiratornog volumena u prvoj sekundi i forsiranog vitalnog kapaciteta; DLCO: difuzijski kapacitet pluća za ugljen monoksid

Tabela 13 prikazuje plućne funkcije pacijenata sa CVID i zdravih i bolesnih kontrola. Bolesnici sa XAG su imali najniže vrednosti plućnih funkcija, ali nije bilo statistički značajnih razlika u odnosu na CVID pacijente. Pacijenti sa CVID i XAG su imali značajno niže vrednosti parametara svih plućnih funkcija u odnosu na zdrave kontrole ($p < 0,05$).

Tabela 13. Parametri plućne funkcije kod pacijenata sa CVID, XAG i zdravih kontrola

	CVID	XAG	p CVID/XAG	ZK	p CVID/ZK	p XAG/ZK
n	40	4	/	21	/	/
FEV1 (%)	83±22,2	64±14,7	>0,05	98±9	0,009	0,004
VC (%)	91±18,8	92±20,1	>0,05	104±5,7	0,003	0,018
FEV1/FVC	77,5±11,3	72±15	>0,05	82,5±3	0,013	0,018
DLCO	70,5±15,21	64±1,41	>0,05	/	/	/

FEV1: forsirani ekspirijumski volumen u prvoj sekundi; VC: vitalni kapacitet; FVC: forsirani vitalni kapacitet; FEV1/FVC: odnos forsiranog ekspiratornog volumena u prvoj sekundi i forsiranog vitalnog kapaciteta; DLCO: difuzijski kapacitet pluća za ugljen monoksid

4.2.7. Tuberkulinska proba kod bolesnika sa CVID po kliničkim fenotipovima, XAG i zdravih kontrola

Na tabeli 14 su prikazane veličine PPD kožne probe kod pacijenata sa CVID, podgrupa i kontrola. Pacijenti sa XAG i CVID imunodeficijencija su imali uglavnom nemerljivu kožnu probu (0 mm), dok su zdrave kontrole imali značajno veću PPD kožnu probu (3mm). Između kliničkih fenotipova CVID nije bilo značajne razlike u veličini PPD kožne probe.

Tabela 14. Prikaz veličine tuberkulinske PPD kožne probe kod pacijenata sa različitim fenotipovima CVID, XAG i zdravih kontrola

	Plućne bolesti	Limfo-proliferacija	Gastro-intestinalne bolesti	Autoimunske bolesti	CVID	XAG	Zdrave kontrole
n	28	26	19	14	40	4	21
PPD (3IJ) (mm)	0±0,75	0±0,83	0±0,67	0±0	0±0,65	0±0	3±0,79

4.2.8. B ćelijski profil pacijenata sa CVID

Na tabeli 15 je prikazan B ćelijski profil svih pacijenata sa CVID. Prikazan je procenat CD19+ limfocita, memorijskih B ćelija sa promenjenom klasom, tranzicionih B ćelija, aktiviranih B limfocita (CD21low ćelije), kao i procenat CD45+RA T limfocita. Takođe je pokazana pripadnost klasama Euroklas klasifikacije za svakog pacijenta

Tabela 15. B ćelijski profil pacijenata sa COVID koji su klasifikovani prema procentu CD45RA+ limfocita

Pacijent	Pol	CD19+ B ćelije (%)*	Memorijske B ćelije sa promenjenom klasom (% CD19+ B ćelija)	Tranzicione B ćelije (% CD19+ B ćelija)	CD21low B ćelije (% CD19+ B ćelija)	EUROKLAS deo A	EUROKLAS deo B	CD45RA+ (%)
1	M	<1				B-		
2	M	<1				B-		
3	M	1,5	4,0	14,6	30,1	smB+	smB+CD21lo	0,4
4	Ž	10,2	3,4	6,8	23,8	smB+	smB+CD21lo	1,7
5	M	4,4	3,8	21,1	21,1	smB+	smB+CD21lo	4,0
6	Ž	3,5	49,1	0,0	91,0	smB+	smB+CD21lo	4,4
7	Ž	1,8	21,6	1,0	29,9	smB+	smB+CD21lo	6,5
8	M	2,5	3,0	1,0	8,0	smB+	smB+CD21 norm	7,3
9	Ž	5,8	3,7	10,4	24,3	smB+	smB+CD21lo	8,4
10	M	11,0	4,0	1,6	18,7	smB+	smB+CD21lo	9,0
11	Ž	1,1	1,8	30,5	11,2	smB- Tr high	smB- CD21lo	10,0
12	Ž	6,6	0,0	6,8	2,3	smB- Tr norm	smB- CD21 norm	10,4
13	M	2,9	4,6	3,6	12,1	smB+	smB+CD21lo	11,0
14	Ž	7,7	2,4	6,1	6,1	smB+	smB+CD21 norm	13,0
15	M	3,5	0,6	6,5	4,8	smB- Tr norm	smB- CD21 norm	13,6
16	Ž	5,9	14,3	0,8	6,2	smB+	smB+CD21 norm	17,0
17	Ž	2,6	2,0	21,5	13,5	smB- Tr high	smB-CD21lo	18,0
18	Ž	7,4	7,8	7,0	12,7	smB+	smB+CD21lo	18,3
19	Ž	1,1	3,6	0,6	26,8	smB+	smB+CD21lo	20,0
20	M	3,8	3,1	8,9	16,1	smB+	smB+CD21lo	20,0
21	M	6,4	2,8	6,8	8,3	smB+	smB+CD21 norm	22,0
22	M	1,5	0,0	1,0	2,9	smB- Tr norm	smB- CD21 norm	22,0
23	Ž	6,9	2,8	9,2	9,6	smB+	smB+CD21 norm	22,0
24	Ž	2,0	3,3	4,0	15,8	smB+	smB+CD21lo	23,5
25	M	8,3	7,2	11,4	10,2	smB+	smB+CD21lo	25,0
26	Ž	4,7	4,8	8,6	1,7	smB+	smB+CD21 norm	25,0
27	Ž	1,2	16,1	0,0	20,8	smB+	smB+CD21lo	26,0
28	Ž	2,6	2,6	4,6	21,2	smB+	smB+CD21lo	26,0
29	M	8,8	0,7	6,2	7,3	smB- Tr norm	smB- CD21 norm	29,0
30	M	22,4	2,6	2,4	12,9	smB+	smB+CD21lo	30,0
31	M	1,7	1,6	0,7	18,3	smB- Tr norm	smB- CD21lo	34,2
32	Ž	1,3	0,0	19,6	2,2	smB- Tr high	smB-CD21 norm	35,0
33	Ž	5,0	9,6	8,4	3,0	smB+	smB+CD21 norm	35,1
34	M	11,0	0,9	7,4	5,4	smB- Tr norm	smB- CD21 norm	35,6
35	Ž	2,1	0,4	13,7	14,4	smB- Tr high	smB- CD21lo	36,4
36	M	10,5	1,0	6,3	1,3	smB- Tr norm	smB- CD21 norm	40,0
37	M	6,6	7,5	9,5	9,5	smB+	smB+CD21 norm	43,9

*Procenat limfocita; memorijske B ćelije sa promenjenom klasom (CD19+CD27+IgM-IgD-), tranzicione B ćelije (CD19+CD21intCD38++IgM+), CD21low B ćelije (CD19++CD21lowCD38lowIgM+); smB+: >2% memorijskih B ćelija sa promenjenom klasom; smB- Tr high: ≤2% memorijskih B ćelija sa promenjenom klasom + ≥9% tranzicionih B ćelija; smB- Tr norm: ≤2% memorijskih B ćelija sa promenjenom klasom + <9% tranzicionih B ćelija; smB+CD21lo: >2% memorijskih B ćelija sa promenjenom klasom + ≥10% CD21low B ćelija; smB+CD21norm : >2% memorijskih B ćelija sa promenjenom klasom + <10% CD21low B ćelija; smB- CD21lo : ≤2% memorijskih B ćelija sa promenjenom klasom + ≥10% CD21low B ćelija; smB-CD21norm: ≤2% memorijskih B ćelija sa promenjenom klasom + <10% CD21low B ćelija; M-muški; Ž-ženski

4.2.9. Proširen imunofenotipski profil bolesnika sa CVID po kliničkim fenotipovima i zdravih kontrola

Na tabeli 16 su prikazane prosečne vrednosti ćelija proširenog imunofenotipa perifernih leukocita u krvi za CVID fenotipove, kao i za celu grupu. Nije bilo značajne statističke razlike između grupa, mada su prosečno bolesnici sa autoimunskim bolestima imali najveći procenat B ćelija sličnim ćelijama marginalne zone, memorijskih ćelija sa promenjenom klasom, tranzicionih B ćelija, aktiviranih B limfocita, kao i memorijskih T limfocita. Bolesnici sa gastrointestinalnim bolestima su imali najmanji procenat memorijskih ćelija sa promenjenom klasom, a zajedno sa autoimunskom grupom bolesnika su imali najmanji procenat naivnih T limfocita.

Tabela 16. Proširen imunofenotip kod pacijenata sa različitim kliničkim fenotipovima CVID

	Plućne bolesti	Limfoproliferacija	Gastro-intestinalne bolesti	Autoimunske bolesti	p	CVID
n	24	24	16	13	/	35
Naivne B ćelije (CD19+CD27-IgM+IgD+)	66,08±22,81	65,5±18,63	63,85±18,4	61±20,25	>0,05	65±21,23
B ćelije slične ćelijama marginalne zone (CD19+CD27+IgM++IgD+)	24,52±18,46	26±17,67	29,17±19,5	30,3±20,9	>0,05	26±17,4
Memorijske ćelije sa promenjenom klasom (CD19+CD27+IgM-IgD-)	3,02±10,54	3,17±10,47	2,92±12,29	3,83±6,08	>0,05	3,07±8,92
Plazmablasti (CD19+CD27+IgM+++IgD-)	0±0,48	0±0,48	0±0,75	0±0,64	>0,05	0±0,54
Tranzicione B ćelije (CD19+CD21intCD38++IgM+)	5,35±7,26	6,42±5,92	6,89±8,64	7,03±7,44	>0,05	6,75±6,99
Aktivirani B limfociti (CD19++CD21lowCD38lowIgM+)	12,5±17,71	14,33±18,1	12,82±21,2	18,3±8,29	>0,05	12,1±15,6
Plazmablasti sa promenjenom klasom (CD19low CD21int CD38+++IgM-/+)	0±0,44	0±0,44	0±0,53	0±0,17	>0,05	0±0,37
Naivni CD4+CD45RA+ T limfociti	21±10,26	21±12,94	20±12,79	20±10,72	>0,05	20±11,71
Memorijski CD4+CD45RO+ T limfociti	78±10,31	78±13	79±12,81	80±10,9	>0,05	78±11,76

Brojevi predstavljaju % CD19+ B ćelija

Tabela 17 prikazuje prosečne srednje vrednosti ćelija proširenog imunofenotipa kod bolesnika sa CVID i zdravih kontrola. U odnosu na zdrave kontrole, bolesnici sa CVID imaju značajno veći procenat B ćelija sličnim ćelijama marginalne zone

($p=0,004$), tranzicionih B ćelija ($p=0,031$) i aktiviranih B limfocita ($p=0,004$) . Suprotno, bolesnici sa CVID su imali značajno manji procenat memorijskih B ćelija sa promenjenom klasom ($p=0,000$), plazmablasta ($p=0,007$), kao i plazmablasta sa promenjenom klasom u odnosu na zdrave kontrole ($p=0,000$). Nije bilo razlika u procentu naivnih B limfocita, kao i naivnih i memorijskih T limfocita. Bolesnici sa XAG imaju mali procenat CD19+ limfocita i nisu uključeni u ispitivanje ćelija proširenog imunofenotipa.

Tabela 17. Proširen imunofenotip kod pacijenata sa različitim fenotipovima CVID i zdravih kontrola

	CVID	Zdrave kontrole	p
n	35	21	/
Naivne B ćelije (CD19+CD27-IgM+IgD+)	65±21,23	67,35±7,42	>0,05
B ćelije slične ćelijama marginalne zone (CD19+CD27+IgM++IgD+)	26±17,4	11,55±4,46	0,004
Memorijske ćelije sa promenjenom klasom (CD19+CD27+IgM-IgD-)	3,07±8,92	18,4±4,97	0,000
Plazmablasti (CD19+CD27+IgM++IgD-)	0±0,54	0,49±0,75	0,007
Tranzicione B ćelije (CD19+CD21intCD38++IgM+)	6,75 ± 6,99	1,4±1,13	0,031
Aktivirani B limfociti (CD19++CD21lowCD38lowIgM+)	12,1±15,6	3,61±1,93	0,004
Plazmablasti sa promenjenom klasom (CD19low CD21int CD38+++IgM-/+)	0±0,37	0,49±0,75	0,000
Naivni CD4+ CD45RA+ T limfociti	20±11,71	25,75±17,81	>0,05
Memorijski CD4+ CD45RO+ T limfociti	78±11,76	71,15±17,38	>0,05

Brojevi predstavljaju % CD19+ B ćelija

4.2.10. EUROKLAS klasifikacija bolesnika sa CVID po kliničkim fenotipovima

Na sledećim tabelama smo prikazali Euroklas klasifikaciju naše grupe bolesnika.

Tabela 18. Prikaz distribucije pacijenata i kliničkih fenotipova CVID prema Euroklas klasifikaciji (A)

EUROKLAS A	B-	B+	smB+	smB-	smB-Tr ^{hi}	smB-Tr ⁿ
Plućne bolesti (n)	2 – 7,14%	24 – 68,57%	16 – 66,67%	8 – 72,72%	3 – 75%	5 – 71,42%
Limfoproliferacija (n)		24 – 68,57%	16 – 66,67%	8 – 72,72%	1 – 25%	7 – 100%*
Gastrointestinalne bolesti (n)		16 – 45,71%	10 – 41,67%	6 – 54,54%	3 – 75%	3 – 42,85%
Autoimunske bolesti (n)		13 – 37,14%	11 – 45,83%	2 – 18,18%	1 – 25%	1 – 14,28%
Ukupno (n)	2 – 5,41%	35 – 100 %	24 – 100%	11 – 100%	4 – 100%	7 – 100%

Grupa B-: $\leq 1\%$ B ćelija; B+: $> 1\%$ B ćelija; smB+: $> 2\%$ memorijskih B ćelija sa promenjenom klasom; smB-: $\leq 2\%$ memorijskih B ćelija sa promenjenom klasom; smB-Tr^h: $\leq 2\%$ memorijskih B ćelija sa promenjenom klasom + $\geq 9\%$ tranzicione B ćelije; smB-Trⁿ: $\leq 2\%$ memorijskih B ćelija sa promenjenom klasom + $< 9\%$ tranzicionih B ćelija; * $p < 0,05$

Od 37 ispitanika kojima smo uradili proširen imunofenotip, 2 (7,14%) bolesnika su imali manji broj od 1% B limfocita (grupa B-) i nisu ušli u dalje grupisanje (tabela 18). Na parametru smB - i + (manje ili više od 2% memorijskih B ćelija sa promenjenom klasom) nije bilo razlika među grupama. Kod bolesnika koji su pripadali smB- grupi ($\leq 2\%$ memorijskih B ćelija sa promenjenom klasom), određivao se broj iznad i ispod 9% tranzicionih B ćelija. U grupi smB+, koja je prognostički bolja, imali smo 24 (68,57%) pacijenata, dok je u grupu smB- ušlo 11 (31,43%) pacijenata. U grupi smB-Tr^h, koja je prognostički lošija, imali smo 4 (26,67%) pacijenata, dok je grupa smB-Trⁿ imala 11 (73,33%) pacijenata. Razlike među grupama po kliničkim fenotipovima su pokazale da bolesnici sa limfoproliferacijom imaju statistički značajnu pripadnost smB-Trⁿ grupi (100% prema 25%; $p < 0,05$). Bolesnici sa GIT bolestima imaju veću pripadnost lošijoj smB-Tr^h grupi (75% prema 42,85%).

Na tabeli 19 su kombinovane dve grupe bolesnika, koje se razlikuju u broju memorijskih B ćelija sa promenjenom klasom i aktiviranih CD21low limfocita. U

prvom delu tabele bolesnici sa limfoproliferacijama su pokazali tendenciju da imaju veći broj ispitanika sa normalnim brojem memorijskih B ćelija sa promenjenom klasom i većim brojem aktiviranih limfocita (81,25% prema 37,5%). U drugom delu tabele je pokazano da bolesnici sa limfoproliferacijom imaju statistički značajnu pripadnost smB-21ⁿ grupi (100% prema 25%; p<0,05). Bolesnici sa plućnim (100% prema 57,14%), gastrointestinalnim (75% prema 42,85%) i autoimunskim (50% prema 0%) bolestima pokazuju tendenciju da imaju veći broj, nepovoljnijeg, manjeg broja memorijskih B ćelija sa promenjenom klasom i većim brojem aktiviranih limfocita.

Tabela 19. Prikaz distribucije pacijenata i kliničkih fenotipova CVID prema Euroklas klasifikaciji (B)

EUROKLAS B	smB+21 ^{lo}	smB+21 ⁿ	smB-21 ^{lo}	smB-21 ⁿ
Plućne bolesti (n)	11 – 68,75%	5 – 62,5%	4 – 100%	4 – 57,14%
Limfoproliferacija (n)	13 – 81,25%	3 – 37,5%	1 – 25%	7 – 100%*
Gastrointestinalne bolesti (n)	8 – 50%	2 – 25%	3 – 75%	3 – 42,85%
Autoimunske bolesti (n)	8 – 50%	3 – 37,5%	2 – 50%	0 – 0%
Ukupno (n)	16 – 100%	8 – 100%	4 – 100%	7 – 100%

smB+CD21^{lo}: >2% memorijske B ćelije sa promenjenom klasom + ≥10% CD21low B ćelija;
 smB+CD21ⁿ: >2% memorijskih B ćelija sa promenjenom klasom + <10% CD21low B ćelija;
 smB-CD21^{lo}: ≤2% memorijskih B ćelija sa promenjenom klasom + ≥10% CD21low B ćelija;
 smB-CD21ⁿ: ≤2% memorijskih B ćelija sa promenjenom klasom + <10% CD21low B ćelija;
 *p<0,05

4.2.11. Demografski i serološki parametri pri postavljanju dijagnoze pacijenata sa CVID u odnosu na broj naivnih CD4+CD45RA+ T limfocita

Na sledećim tabelama smo prikazali distribuciju naših pacijenata po Đovanetiju u odnosu na procenatnaivnih T limfocita (detaljan prikaz za svakog pacijenta na tabeli 15). U našem ispitivanju najveći broj ispitanika je bio u drugoj grupi, sa brojem naivnih T limfocita od 15-30% (tabela 20). Takođe, u prve dve grupe, koje karakteriše manji procenat naivnih T limfocita je bio nešto veći broj ženskih bolesnika. Treća grupa bolesnika je imala raniji početak simptoma i dijagnoze bolesti, ali i manje kašnjenje u postavljanju dijagnoze. Razlike u koncentracijama imunoglobulina na početku bolesti su

prikazane na tabeli 20. Ni u jednom obeležju nema značajne statističke razlike između grupa.

Tabela 20. Demografske i serološke razlike grupa pacijenata sa CVID u odnosu na broj naivnih CD4+ CD45RA+ T limfocita

	I	II	III	p	Svi
Broj (n)	13	15	7	>0,05	35
Pol M:Ž (n)	6:7	6:9	4:3	>0,05	16:19
Starost (god.)	48	52	42	>0,05	48
Ž. dob na početku bolesti (god.)	32	32	23	>0,05	29
Ž. dob pri dijagnozi (god.)	33	37	26	>0,05	33
Kašnjenje dijagnoze (god.)	7	7	3	>0,05	6
IgG (g/L)	2,09	1,8	1,8	>0,05	1,99
IgA (g/L)	0,2	0,2	0,2	>0,05	0,2
IgM (g/L)	0,26	0,2	0,15	>0,05	0,2

% CD4+CD45RA+ T ćelija: grupa I <15%; grupa II 15-30%; grupa III >30%; M-muški; Ž-ženski; Ig-immunoglobulin

4.2.12. Distribucija pacijenata sa CVID po kliničkim fenotipovima u odnosu na broj naivnih CD4+CD45RA+ T limfocita

Na tabeli 21 je prikazana distribucija bolesnika po kliničkim fenotipovima i procentanaivnih T limfocita po grupama po Đovanetiju. Jedino grupa bolesnika sa limfoproliferacijama ima veći broj bolesnika u prvoj grupi, dok ostali klinički fenotipovi pokazuju najveći broj ispitanika u drugoj grupi. Nije nađena statistički značajna razlika u distribuciji bolesnika po grupama po Đovanetiju.

Tabela 21. Distribucija pacijenata sa određenim kliničkim fenotipom CVID u odnosu na broj naivnih CD4+CD45RA+ T limfocita

	I	II	III	p	Svi
Plućne bolesti(n)	9	12	3	>0,05	24
Limfoproliferacija(n)	10	9	5	>0,05	24
Gastrointestinalne bolesti(n)	5	7	4	>0,05	16
Autoimunske bolesti(n)	4	7	2	>0,05	13
Ukupno(n)	13	15	7	/	35

% CD4+CD4RA+ T ćelija: grupa I <15%; grupa II 15-30%; grupa III >30%

4.3. Razlike između grupa bolesnika sa CVID sa određenim kliničkim fenotipom i bolesnika koji nemaju taj klinički fenotip

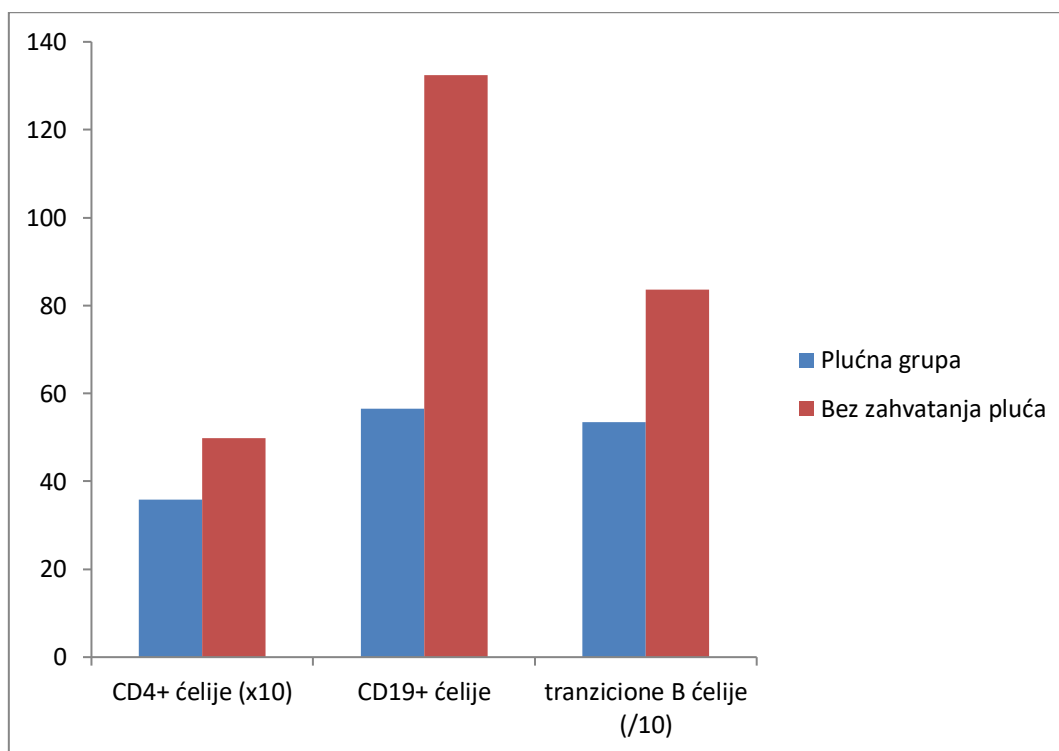
U ovom poglavlju smo prikazali značajne statističke razlike obeležja grupa bolesnika koji pripadaju jednom određenom kliničkom fenotipu, u odnosu na bolesnike koji nemaju ispitivani klinički fenotip.

4.3.1. Razlike između grupa bolesnika sa CVID sa i bez zahvatanja pluća

Na tabeli 22 i grafikonu 5 su prikazane značajne razlike kod bolesnika sa i bez zahvatanja pluća. Bolesnici sa plućnim bolestima su imali značajno manji broj CD4+ (359 prema 498; $p=0,026$), CD19+ (56,5 prema 132,5; $p=0,042$) i procenat tranzicionih B limfocita (5,35 prema 8,36%; $p=0,036$) u odnosu na bolesnike bez plućnih bolesti.

Tabela 22. Razlike u broju CD4+ ćelija, CD19+ B limfocita i tranzicionih B limfocita u grupama pacijenata sa COVID sa i bez zahvatanja pluća

	Grupa sa plućnim bolestima	Grupa bez plućnih bolesti	p
Broj (n)	28	12	/
CD4+(broj ćelija/ μ L)	359 \pm 157,46	498 \pm 573,29	0,026
CD19+(broj ćelija/ μ L)	56,5 \pm 118,8	132,5 \pm 185,36	0,042
Tranzicione B ćelije (CD19+CD21intCD38++IgM+) (% B limfocita)	5,35 \pm 7,26	8,36 \pm 6,02	0,036



Grafikon 5. Razlike u broju CD4+ ćelija u μ L, CD19+ B limfocita u μ L i tranzicionih B limfocita (%) u grupama pacijenata sa COVID sa i bez zahvatanja pluća

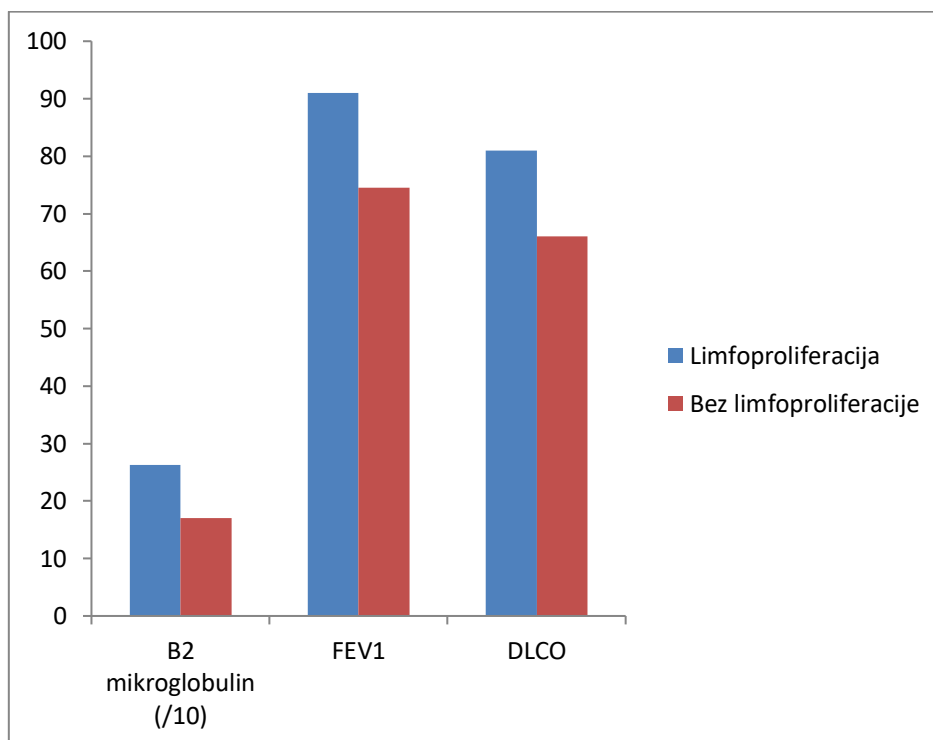
4.3.2. Razlike između grupa bolesnika sa COVID sa i bez limfoproliferacije

Na tabeli 23 i grafikonu 6 su prikazane značajne razlike kod bolesnika sa i bez limfoproliferativnih karakteristika. Bolesnici sa limfoproliferacijama su imali značajno veći FEV1 (91 prema 74,5 %; $p=0,010$) i DLCO (81 prema 66; $p=0,013$), kao i prosečno značajno veću koncentraciju $\beta 2$ mikroglobulina u krvi (2,63 prema 1,70 mg/L; $p=0,026$) u odnosu na bolesnike bez limfoproliferacija.

Tabela 23. Razlike u parametrima plućne funkcije i koncentraciji $\beta 2$ mikroglobulina između grupa bolesnika sa COVID sa i bez limfoproliferacije

	Grupa sa limfoproliferacijom	Grupa bez limfoproliferacije	p
Broj (n)	26	14	/
FEV1 (%)	91 \pm 19,24	74,5 \pm 22,62	0,010
DLCO (%)	81 \pm 14,29	66 \pm 13,67	0,013
$\beta 2$ mikroglobulin (μ g/mL)	2,63 \pm 1,05	1,70 \pm 1,26	0,026

FEV1: forsirani ekspirijumski volumen u prvoj sekundi; DLCO: difuzijski kapacitet pluća za ugljen monoksid



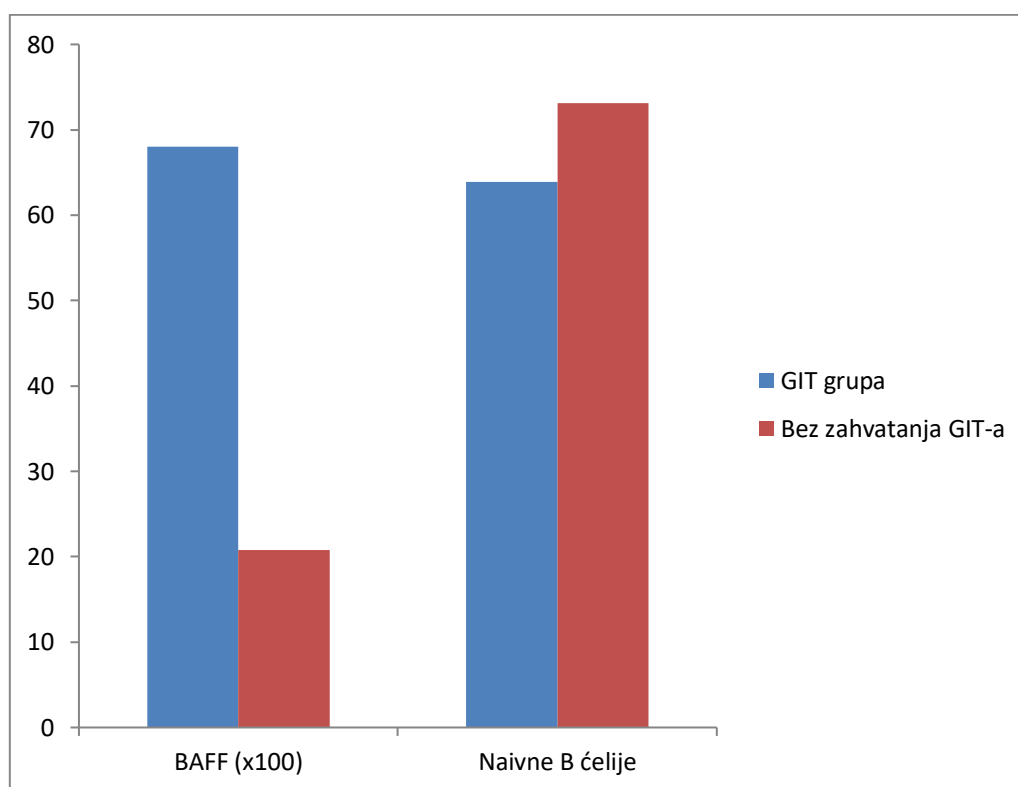
Grafikon 6. Razlike u parametrima plućne funkcije (% predviđenih vrednosti) i koncentraciji β 2 mikroglobulina ($\mu\text{g/mL}$) između grupa bolesnika sa CVID sa i bez limfoproliferacije; FEV1: forsirani ekspirijumski volumen u prvoj sekundi; DLCO: difuzijski kapacitet pluća za ugljen monoksid

4.3.3. Razlike između grupa bolesnika sa CVID sa i bez gastrointestinalnih bolesti

Tabela 24 i grafikon 7 prikazuju značajne razlike kod bolesnika sa i bez zahvatanja gastrointestinalnih organa. Bolesnici sa gastrointestinalnim bolestima su imali značajno veću koncentraciju BAFF-a u krvi (6800 prema 2075 pg/ml; $p=0,010$) i manji procenat naivnih B ćelija (63,85 prema 73,08%; $p=0,041$) u odnosu na bolesnike bez bolesti gastrointestinalnih organa.

Tabela 24. Razlike u koncentraciji BAFF i broju naivnih B ćelija između grupa bolesnika sa CVID sa i bez gastrointestinalnih bolesti

	Grupa sa gastrointestinalnim bolestima	Grupa bez gastrointestinalnih bolesti	p
Broj (n)	19	21	/
BAFF (pg/mL)	6800±2643,79	2074,6±2262,1	0,010
Naivne B ćelije (CD19+CD27-IgM+IgD+) (% B limfocita)	63,85±18,4	73,08±22,56	0,041



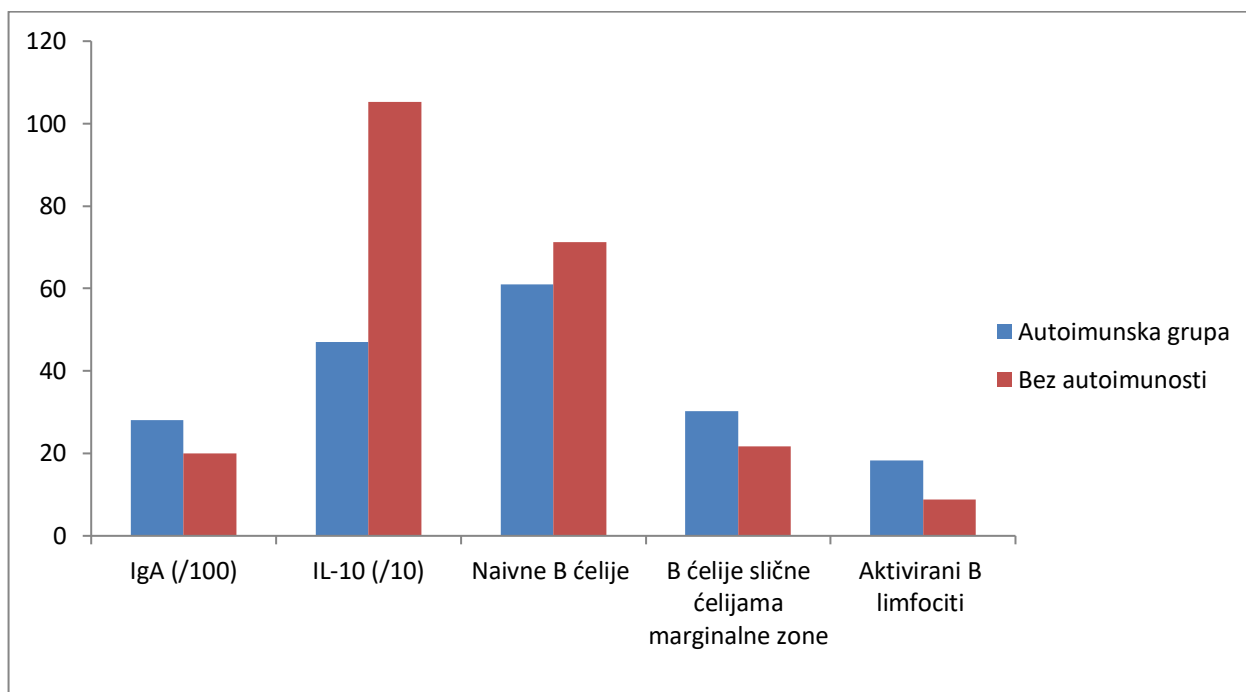
Grafikon 7. Razlike u koncentraciji BAFF (pg/mL) i procenta naivnih B ćelija između grupa bolesnika sa CVID sa i bez gastrointestinalnih bolesti

4.3.4. Razlike između grupa bolesnika sa COVID sa i bez autoimunskih bolesti

Tabela 25 i grafikon 8 prikazuju značajne razlike kod bolesnika sa i bez autoimunskih bolesti. Bolesnici sa autoimunskim bolestima su imali značajno višu koncentraciju IgA na početku bolesti (0,28 prema 0,2 g/L; $p=0,045$), niži nivo IL-10 u krvi (4,7 prema 10,52 pg/mL; $p=0,038$) i manji procenat naivnih B ćelija (61 prema 71,37%; $p=0,018$). Ti bolesnici imaju i značajno veći procenat B ćelija sličnim ćelijama marginalne zone (30,3 prema 21,7%; $p=0,029$), kao i veći procenat aktiviranih CD21low limfocita (18,3 prema 8,75%; $p=0,018$) u odnosu na bolesnike bez autoimunskih manifestacija bolesti.

Tabela 25. Razlike u koncentraciji IgA na početku bolesti, IL- 10 i broju B ćelija sličnih ćelijama marginalne zone i aktiviranih B ćelija između grupa bolesnika sa i bez autoimunosti

	Autoimunske bolesti	Bez prisustva autoimunosti	p
Broj (n)	14	26	
IgA (g/L)	0,28±0,25	0,20±0,13	0,045
IL-10 (pg/mL)	4,7±5,35	10,52±7,38	0,038
Naivne B ćelije (CD19+CD27-IgM+IgD+) (% B limfocita)	61±20,25	71,37±20,61	0,018
B ćelije slične ćelijama marginalne zone (CD19+CD27+IgM++IgD+) (% B limfocita)	30,3±20,9	21,65±12,56	0,029
Aktivirane B ćelije (CD19++CD21lowCD38lowIgM+) (% B limfocita)	18,3±8,29	8,75±18,64	0,018



Grafikon 8. Razlike u koncentraciji IgA (g/L) na početku bolesti, IL- 10 (pg/mL) i procentu naivnih, B ćelija sličnih ćelijama marginalne zone i aktiviranih B ćelija između grupa bolesnika sa i bez autoimunosti

4.4. Korelacije parametara kod bolesnika sa CVID

Potom smo uradili korelaciju svih parametara našeg ispitivanja. Na tabeli 26 je prikazana značajna korelacija demografskih sa drugim obeležjima. U našem ispitivanju smo našli pozitivnu korelaciju starosti bolesnika sa procentom aktiviranih limfocita ($p=0,049$). Takođe smo našli pozitivnu korelaciju između početka bolesti i broja CD4+ limfocita ($p=0,013$), kao i sa merama plućnih funkcija (FEV1, $p=0,044$; VC, $p=0,012$; DLCO, $p=0,020$). Značajna pozitivna korelacija je nađena između kašnjenja u postavljanju dijagnoze i koncentracije $\beta 2$ mikroglobulina ($p=0,009$). Negativna korelacija je nađena između početka bolesti sa koncentracijom BAFF-a u krvi ($p=0,017$), kao i kašnjenja u postavljanju dijagnoze sa brojem CD4+ ($p=0,004$) i CD19+ limfocita ($p=0,004$).

Tabela 26. Značajne korelacije demografskih sa kliničkim, citokinskim i imunofenotipskim parametrima pacijenata sa COVID

		Koeficijent korelacije	p
Starost bolesnika	Aktivirani B limfociti (CD19++CD21lowCD38lowIgM+)	0,335	0,049
Početak bolesti	CD4+	0,394	0,013
Početak bolesti	BAFF	-0,411	0,017
Početak bolesti	FEV1	0,329	0,044
Početak bolesti	VC	0,408	0,012
Početak bolesti	DLCO	0,408	0,020
Kašnjenje dijagnoze	CD4+	-0,447	0,004
Kašnjenje dijagnoze	CD19+	-0,445	0,004
Kašnjenje dijagnoze	β2 mikroglobulin	0,425	0,009

FEV1: forsirani ekspirijumski volumen u prvoj sekundi; VC: vitalni kapacitet; DLCO: difuzijski kapacitet pluća za ugljen monoksid

Sledeća tabela 27 prikazuje korelacije koncentracije imunoglobulina na početku bolesti sa drugim obeležjima. Našli smo pozitivnu korelaciju imunoglobulina G sa odnosom CD4/CD8 ($p=0,015$), kao i sa procentom B ćelija sličnim ćelijama marginalne zone ($p=0,008$). Takođe, prisutna je pozitivna korelacija između imunoglobulina A i M na početku bolesti ($p=0,000$), kao i IgM sa procentom memorijskih T limfocita ($p=0,043$). Negativna korelacija je nađena između koncentracije IgM na početku bolesti sa procentom naivnih T limfocita ($p=0,047$).

Tabela 27. Značajne korelacije imunoseroloških sa imunofenotipskim i imunoserološkim parametrima pacijenata sa COVID

		Koeficijent korelacije	p
IgG	CD4/CD8	0,387	0,015
IgG	B ćelije slične ćelijama marginalne zone (CD19+CD27+IgM++IgD+)	0,438	0,008
IgA	IgM	0,594	0,000
IgM	Naivni CD4+CD45RA+ T limfociti	-0,338	0,047
IgM	Memorijski CD4+CD45RO+ T limfociti	0,345	0,043

Tabela 28 prikazuje korelaciju ćelija iz osnovnog imunofenotipa sa drugim obeležjima. Tu smo našli pozitivnu korelaciju broja CD4+ i CD19+ limfocita međusobno ($p=0,009$). Takođe je nađena pozitivna korelacija između broja CD4+ i CD19+ limfocita sa veličinom FEV1 i VC ($p<0,05$), dok postoji i pozitivna korelacija broja CD19+ limfocita i sa iznosom DLCO-a ($p=0,004$). Pozitivno su korelisali i broj CD4+ limfocita sa procentom plazmablastima sa promenjenom klasom ($p=0,018$). Negativna korelacija je nađena između broja CD19+ limfocita sa koncentracijom BAFF-a u krvi ($p=0,001$).

Tabela 28. Značajne korelacije imunofenotipskih sa kliničkim, citokinskim i imunofenotipskim parametrima pacijenata sa COVID

		Koeficijent korelacije	p
CD4+	FEV1	0,385	0,017
CD4+	VC	0,365	0,026
CD4+	CD19+	0,415	0,009
CD19+	FEV1	0,476	0,003
CD19+	VC	0,365	0,001
CD19+	DLCO	0,493	0,004
CD19+	BAFF	-0,550	0,001

FEV1: forsirani ekspirijumski volumen u prvoj sekundi; VC: vitalni kapacitet; DLCO: difuzijski kapacitet pluća za ugljen monoksid

Na sledećoj tabeli 29 su prikazane korelacije citokina i β 2 mikroglobulina u krvi sa drugim obeležjima. U našem ispitivanju smo našli da koncentracije BAFF-a ($p=0,038$) i IL-10 ($p=0,005$) pozitivno korelišu sa koncentracijom β 2 mikroglobulina u krvi. Takođe je nivo BAFF-a pozitivno korelisao sa procentom aktiviranih limfocita ($p=0,012$). Negativno su korelisali BAFF sa FEV1 ($p=0,005$) i VC ($p=0,009$). β 2 mikroglobulin je pozitivno korelisao sa plazmablastima sa promenjenom klasom ($p=0,004$), dok je negativno korelisao sa procentom naivnih T limfocita ($p=0,049$).

Tabela 29. Značajne korelacije citokina i β 2 mikroglobulina sa kliničkim i imunofenotipskim karakteristikama CVID pacijenata

		Koeficijent korelacije	p
BAFF	FEV1	-0,486	0,005
BAFF	VC	-0,458	0,009
BAFF	Aktivirani B limfociti (CD19++CD21lowCD38lowIgM+)	0,461	0,012
BAFF	β 2 mikroglobulin	0,374	0,038
IL-10	β 2 mikroglobulin	0,518	0,005
β 2 mikroglobulin	Naivni CD4+CD45RA+ T limfociti	-0,340	0,049

VC: vitalni kapacitet

4.5. Citokinski profil kod bolesnika sa CVID u odnosu na postojanje rekurentnih infekcija i pored redovne primene IVIG

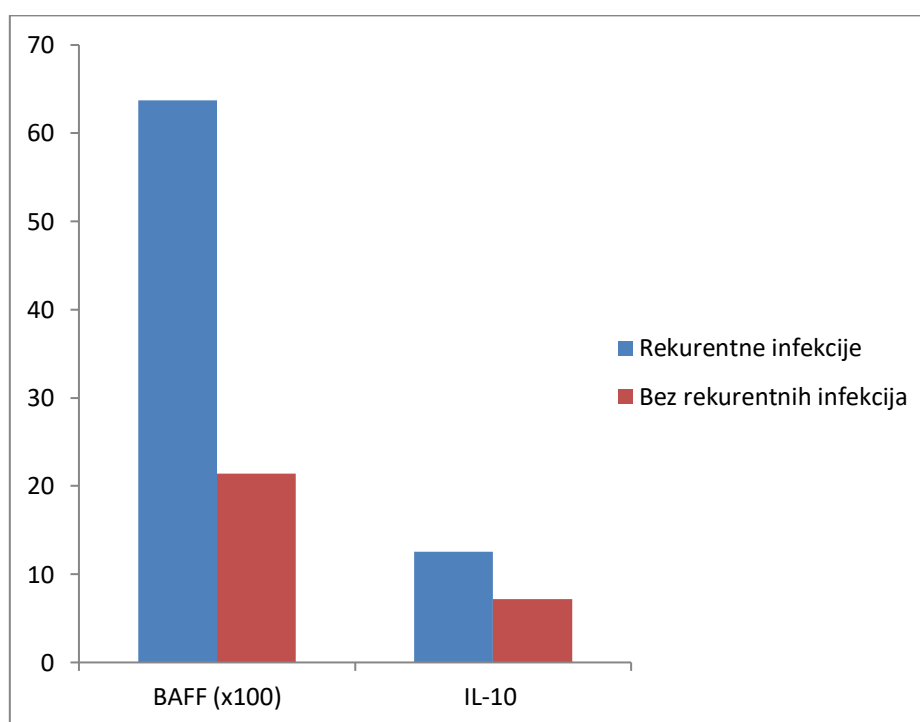
U našem ispitivanju smo hteli sa saznamo kakav je profil citokina kod bolesnika sa rekurentnim infekcijama uprkos redovnom davanju IVIG. Ukupno je pet bolesnika (12,5%) imalo česte infekcije u našoj grupi. Više je bilo ženskih bolesnika u toj grupi (80%), ali nije bilo značajne statističke razlike prema polu (tabela 30 i grafikon 9). Bolesnici sa rekurentnim infekcijama su imali prosečno više koncentracije oba citokina u krvi. Koncentracija BAFF-a u krvi je bilo značajno viša kod tih pacijenata (6370,6

prema 2140,2 pg/ml; $p=0,045$) u odnosu na pacijente bez čestih infekcija, dok kod IL-10 nije nađena statistički značajna razlika.

Tabela 30. Koncentracija BAFF i IL-10 između grupe bolesnika sa i bez rekurentnih infekcija kod pacijenata sa COVID koji su na redovnoj substitucionoj terapiji

Rekurentne infekcije	DA	NE	p
n	5	35	/
Pol M:Ž (n)	1:4	19:16	>0,05
BAFF (pg/mL)	6370,6±2102,23	2140,2±2683,1	0,045
IL-10 (pg/mL)	12,57±9,35	7,2±6,85	>0,05

M: muški; Ž: ženski



Grafikon 9. Koncentracija BAFF i IL-10 (pg/mL) između grupe bolesnika sa i bez rekurentnih infekcija kod pacijenata sa COVID koji su na redovnoj substitucionoj terapiji

U našoj grupi ispitanika 7 (17,5%) bolesnika je imalo neželjene reakcije prilikom davanja IVIG-a. Najčešće manifestacije su bile drhtavica, povišena telesna temperatura, osip, koprivnjača i angioedem.

4.6. Mortalitet i preživljavanje bolesnika sa CVID

4.6.1. Demografski i serološki parametri umrlih pacijenata sa CVID i sa različitim kliničkim fenotipovima u periodu 1998-2016

Tokom perioda od 18 godina u našoj grupi bolesnika je umrlo 13 pacijenata (25,49 %). Smrtnost je bila veća kod pacijenata ženskog pola (7/25-28%) u odnosu na muškarce (6/26-23,08%), bez statističke značajnosti. U proseku preminuli su imali 46 godine (22-69). Prosečna uzrast na početku bolesti im je bila 20 godina (8-44), prosečna starost prilikom dijagnoze bolesti je iznosila 30 godina (13-68), dok je prosečno kašnjenje u postavljanju dijagnoze bilo 11 godina (0-24). Prosečna dužina bolesti je iznosila 12 godina (0-27). Koncentracije imunoglobulina na početku bolesti bili su: IgG: 2,07, IgA: 0,29, IgM: 0,29. Na tabeli 31 su prikazane sve karakteristike preminulih po grupama.

Statističkom analizom preminulih po grupama nije nađena značajna statistička razlika (tabela 31). Najveću smrtnost su imali bolesnici sa gastrointestinalnim bolestima (38,46%), potom sa autoimunskim (35,29%), plućnim (28,21%) i na kraju sa limfoproliferacijama (20,69%). Jedino je grupa bolesnika sa limfoproliferacijama imala nižu smrtnost od proseka cele grupe (25,49 %).

Ako bismo dijagnoze bolesti ograničili na pojedinačne bolesti unutar grupa, tada najveću smrtnost ima prisustvo maligne bolesti, enteropatije i zahvatanje kolona (50%), potom prisustvo limfadenopatije 30%, hepatomegalije i autoimunskih citopenija sa 28,57%.

Tabela 31. Demografski i serološki parametri umrlih pacijenata sa CVID i sa različitim kliničkim fenotipovima u periodu 1998-2016

Preminuli	Plućne bolesti	Limfo-proliferacija	Gastro-intestinalne bolesti	Autoimunske bolesti	p	CVID
n	11	6	10	6		13
Pol M:Ž	5:6	1:5	5:5	3:3	>0,05	6:7
Starost (god)	46±13,86	47±15,16	55±16,49	47±16,22	>0,05	46±16,01
Ž. dob na početku bolesti (god)	19±11,11	32 ±11,15	23±11,28	25,5±12,57	>0,05	20±11,9
Ž. dob pri dijagnozi (god)	30±15,91	46±16,02	34±18,04	36±21,99	>0,05	30±18,42
Kašnjenje dijagnoze	11±7,14	11±8,66	11,5±8,75	11,5±10,53	>0,05	11±8,40
Dužina bolesti (god)	15±9,57	8±5,68	10±10,04	10±9,37	>0,05	12±10,41
IgG (g/L)	2,07±1,13	2,07±1,05	2,03±0,9	2,07±1,11	>0,05	2,07±1,25
IgA (g/L)	0,29±0,07	0,29±0,07	0,29±0,01	0,29±0,13	>0,05	0,29±0,11
IgM (g/L)	0,29±0,19	0,29±0,22	0,345±0,1	0,29±0,19	>0,05	0,29±0,3
Smrtnost %	28,21	20,69	38,46	35,29		25,49

M: muški; Ž: ženski

4.6.2. Uzroci smrtnog ishoda kod pacijenata sa CVID u periodu praćenja od 1998-2016

Najčešći uzroci smrti su bili sepsa i komplikacije na plućima sa po četiri slučaja, malignitet u dva slučaja i gastrointestinalno krvarenje u jednom slučaju (tabela 32).

Tabela 32. Uzroci smrtnog ishoda kod 13/51 pacijenata sa CVID u periodu praćenja od 1998-2016

Uzroci smrti	Broj pacijenata
n	11
Sepsa (n)	4
Komplikacije na plućima (n)	4
Malignitet (n)	2
Gastrointestinalna hemoragija (n)	1

Nedostaju podaci za 2/13 pacijenata

4.6.3. Demografske i imunoserološke razlike između živih i umrlih pacijenata sa CVID u periodu 1998-2016

Poređenjem obeležja između živih i preminulih bolesnika sa CVID (tabela 33), grupa umrlih bolesnika je bila nešto mlađa (46 prema 48 godina), sa ranijim početkom bolesti (20 prema 28 godina), uzrastom prilikom dijagnoze bolesti (30 prema 34,5 godine), kao i sa većim kašnjenjem u dijagnozi bolesti (11 prema 5 godine), ali bez statističke značajnosti. Poređenjem koncentracija imunoglobulina prilikom dijagnoze bolesti nađena je značajna statistička razlika u koncentraciji imunoglobulina M ($p=0,049$). Preminuli bolesnici su imali višu koncentraciju IgM u krvi u odnosu na žive pacijente (0,29 g/L prema 0,2).

Tabela 33. Demografske i imunoserološke razlike između živih i umrlih pacijenata sa CVID u periodu 1998-2016

	Živi	Preminuli	p	Svi
N	38	13		51
Pol M:Ž	20:18	6:7	>0,05	26:25
Starost(god)	48±12,42	46±16,01	>0,05	46,28±13,2
Ž. dob na početku bolesti (god)	28±15,09	20±12,03	>0,05	27±14,31
Ž. dob pri dijagnozi (god)	34,5±15,14	30±18,42	>0,05	34,5±15,6
Kašnjenje dijagnoze (god)	5±8,36	11±8,40	>0,05	6,5±8,34
IgG(g/L)	2,09±1,42	2,07±1,25	>0,05	2,09±1,36
IgA(g/L)	0,2±0,19	0,29±0,11	>0,05	0,2±0,18
IgM(g/L)	0,2±0,32	0,29±0,3	0,049	0,22±0,32

M: muški; Ž: ženski

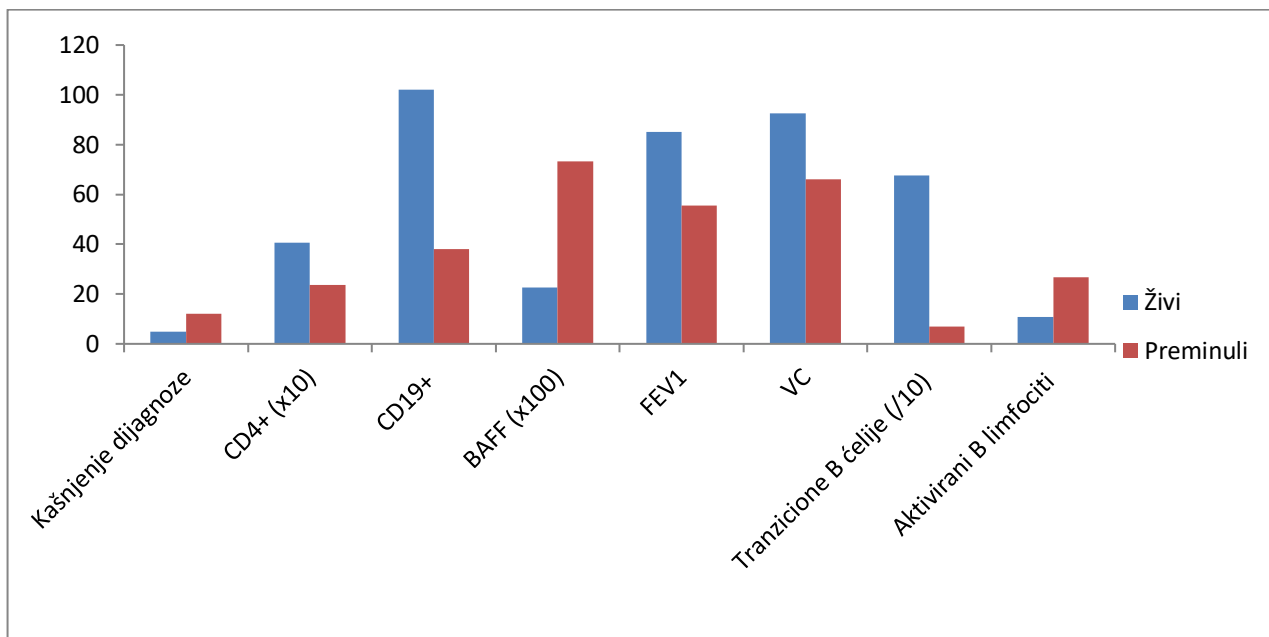
4.6.4. Razlike u demografskom, kliničkom, imunofenotipskom i citokinskom profilu između živih i umrlih pacijenata sa COVID praćenih od 2011-16

Na tabeli 34 i grafikonu 10 su prikazane razlike u demografskom, kliničkom, imunofenotipskom i citokinskom profilu između živih i umrlih pacijenata sa COVID praćenih od 2011-16. Za pet godina ukupno je umrlo 4 (10%) bolesnika. Smrtnost je bila podjednaka po polu, umrla su po dva muška i ženska bolesnika. Poredili smo sva obeležja živih i preminulih bolesnika. Umrli bolesnici su imali značajno veće kašnjenje u postavljanju dijagnoze bolesti (12 prema 5 god.; $p=0,021$), značajno niži FEV1 (55,5 prema 85%; $p=0,038$), VC (66 prema 92,5%; $p=0,038$), značajno višu koncentraciju BAFF-a u krvi (7320 prema 2275,2 pg/ml; $p=0,024$), značajno manji broj CD4+(236 prema 405; $p=0,013$), CD19+ limfocita (38 prema 102; $p=0,034$) i procenat tranzicionih B ćelija (0,70 prema 6,77%; $p=0,009$), kao i značajno veći procenat aktiviranih limfocita (26,8 prema 10,68%; $p=0,031$).

Tabela 34. Razlike u demografskom, kliničkom, imunofenotipskom i citokinskom profilu između živih i umrlih pacijenata sa COVID praćenih od 2011-16

	Živi	Preminuli	p
Pol M:Ž (n)	18:18	2:2	
Kašnjenje dijagnoze (god.)	5±8,67	12±6,15	0,021
CD4+ (broj ćelija/ μ L)	405±385,21	236±73,23	0,013
CD19+ (broj ćelija/ μ L)	102±150,80	38±15,66	0,034
BAFF(pg/mL)	2275,2±2571,45	7320±531,35	0,024
FEV1 (%)	85±21,75	55,5±13,08	0,038
VC (%)	92,5±18,23	66±12,06	0,038
Tranzicione B ćelije (CD19+CD21intCD38++IgM+) (% B limfocita)	6,77±6,97	0,70±0,23	0,009
Aktivirani B limfociti (CD19++CD21lowCD38lowIgM+) (% B limfocita)	10,68±15,93	26,80±6,02	0,031
Ukupno (n)	36	4	

M: muški; Ž: ženski; FEV1: forsirani ekspirijumski volumen u prvoj sekundi; VC: vitalni kapacitet



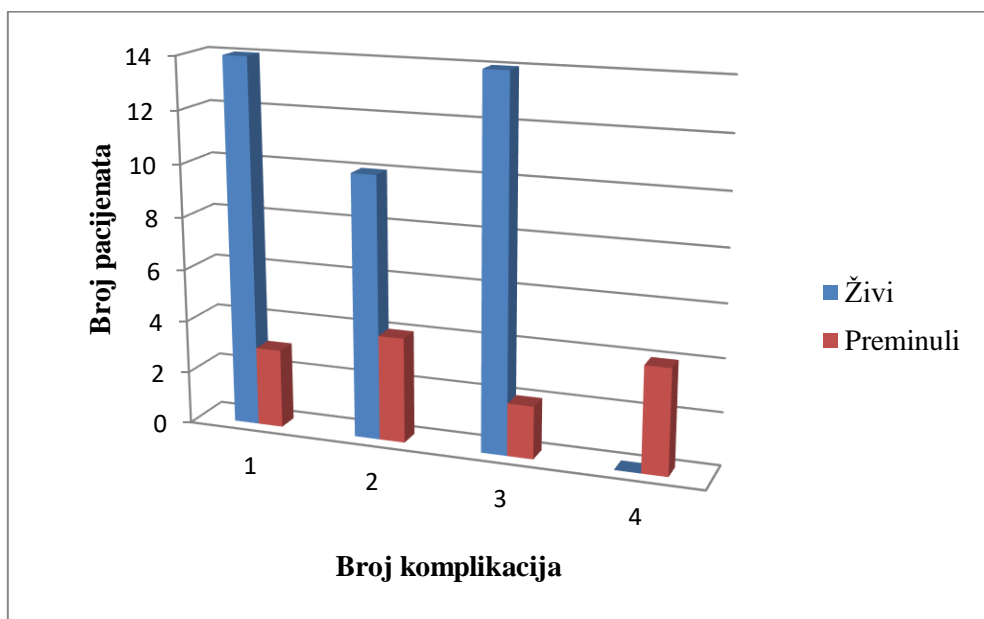
Grafikon 10. Razlike u demografskom, kliničkom, imunofenotipskom i citokinskom profilu između živih i umrlih pacijenata sa COVID

4.6.5. Uticaj broja kliničkih fenotipova na ishod COVID u periodu praćenja od 1998-2016

Tabela 35 i grafikon 11 prikazuju broj živih i preminulih pacijenata prema broju kliničkih fenotipova. Rezultati ukazuju da su najmanju smrtnost imali pacijenti koji su imali tri komplikacije bolesti (12,5%), potom pacijenti sa jednom komplikacijom (17,65%) i dve komplikacije bolesti (28,57%). Smrtnost u grupi pacijenata koji su imali preklapanje sva 4 klinička fenotipa je bila najviša i iznosila je 100%.

Tabela 35. Broj živih i umrlih pacijenata sa COVID odnosu na broj kliničkih fenotipova u periodu praćenja od 1998-2016

Broj kliničkih fenotipova (n)	Živi (n)	Preminuli (n)	Ukupno (n)
1	14	3 (17,65%)	17
2	10	4 (28,57%)	14
3	14	2 (12,5%)	16
4	0	4 (100%)	4
Ukupno	38	13 (25,49%)	51



Grafikon 11. Odnos živih i umrlih pacijenata sa COVID u odnosu na broj kliničkih fenotipova u periodu od 1998-2016

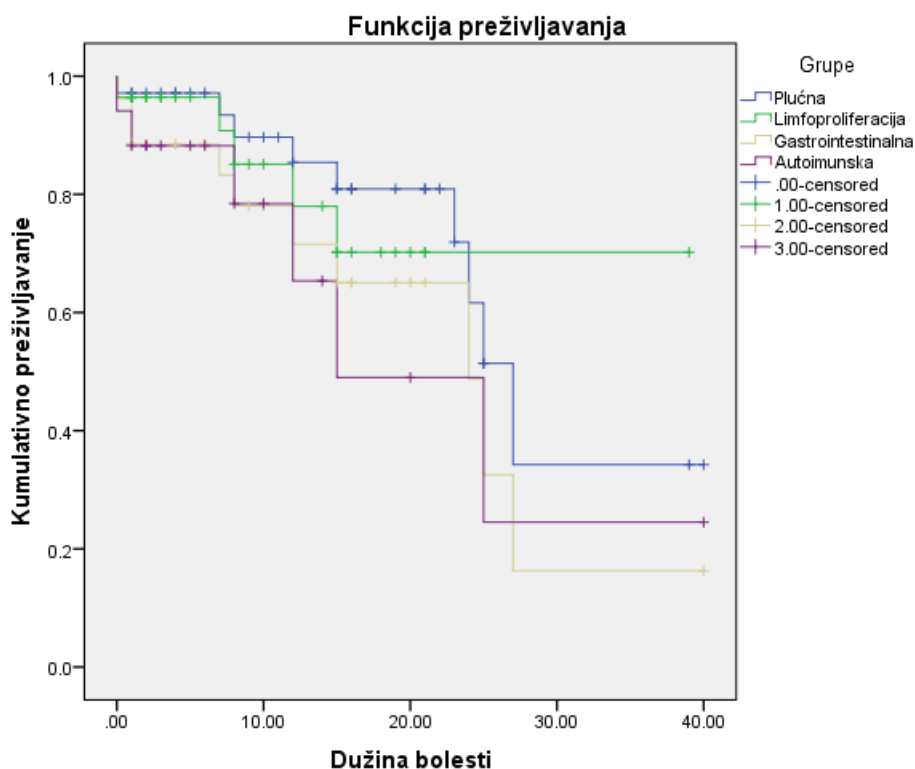
4.6.6. Petogodišnje preživljavanje pacijenata sa COVID kod definisanih kliničkih fenotipova u periodu od 1998-2016

Prosečno petogodišnje preživljavanje svih pacijenata je iznosilo 91,43%. Najvišu stopu preživljavanja su imali pacijenti sa plućnim bolestima od 96,55%, potom pacijenti sa limfoproliferacijama 94,74% i one su bile iznad proseka grupe. Najnižu stopu petogodišnjeg preživljavanja su imali pacijenti sa autoimunskim bolestima od 84,62% i potom grupa sa gastrointestinalnim komplikacijama od 85,71% (tabela 36).

Tabela 36. Prikaz petogodišnjeg preživljavanja pacijenata sa COVID i kod definisanih kliničkih fenotipova u periodu od 1998-2016

Preživljavanje po grupama	Petogodišnje
Plućne bolesti	96,55%
Limfoproliferacija	94,74%
Gastrointestinalne bolesti	85,71%
Autoimunske bolesti	84,62%
COVID	91,43%

Grafikon 12 prikazuje kumulativno preživljavanje bolesnika po grupama tokom nekoliko desetina godina. Sa grafikona Kaplan-Meier-ovih krivih preživljavanja može se zaključiti da je vreme preživljavanja pacijenata sa limfoproliferacijom najduže, dok pacijenti sa plućnim bolestima, a naročito sa gastrointestinalnim i autoimunskim bolestima imaju kraće vreme preživljavanja, ali bez značajne statističke razlike među njima.



$p > 0,05$

Grafikon 12. Kaplan-Meier-ov grafik on preživljavanja pacijenata sa CVID u odnosu na kliničke fenotipove bolesti u periodu praćenja 1998-2016

5. DISKUSIJA

I pored brojnih kliničkih i bazičnih istraživanja patogeneza COVID ostaje nerazjašnjena. U jednoj studiji, novim metodama sekvestiranja gena (sekvestiranje celog genoma) su nađene genetske mutacije kod 30% odabranih pacijenata sa COVID. Pacijenti su imali rani početak bolesti, niski broj CD19+ limfocita, teže neinfektivne komplikacije i/ili pozitivnu porodičnu anamnezu (Maffucci P i sar., 2016). Međutim, te metode nisu za sada prisutne u rutinskoj kliničkoj praksi.

Najčešće zastupljena komplikacija COVID-a u našem ispitivanju su bile plućne bolesti (37/51, 72,5%, Slika 1). Njihova učestalost u ranijim ispitivanjima je iznosila od 30-73% (Touw CM i sar., 2010; Bonilla FA i sar., 2015). Kod ovih bolesnika su najčešće prisutne strukturne anomalije tipa bronhiektazija, čija frekvencija takođe varira među različitim centrima od 4-52% (Chapel H i sar., 2008). Nastaju kao posledica ranijih infekcija, kašnjenja u postavljanju dijagnoze bolesti, dok je u jednoj studiji nađena povezanost sa nižim vrednostima IgG prilikom dijagnoze bolesti (Chapel H i sar., 2008; Brent J i sar., 2016; Reisi M i sar., 2017).

Učestalost plućnih bolesti, naročito strukturnih anomalija, je opalo u skorije vreme, naročito u odnosu na studije rađene pre 1995. (Touw CM i sar., 2010). Sličnu tendenciju smo i mi primetili u našem ispitivanju, gde se u petogodišnjem praćenju (2011-16) blago smanjio broj ispitanika sa bolestima pluća u odnosu na 18-godišnje (1998-2016) praćenje (72,5% u odnosu na 70%). Međutim, u studijama koje su koristile tehniku tankog sečenja skenera visoke rezolucije ("thin slice MSCT") su nađene anomalije kod 90-96% pacijenata. Obično su bile asimptomatske, najčešće u vidu pojave zadebljanja zidova bronhija, začepljenja mukusa, zarobljavanje vazduha u disajnim putevima, kao i pojave nodusa i mikronodusa, linearnih i iregularnih zasenčenja, konsolidacija u intersticijumu i ne mogu se detektovati drugim standardnim dijagnostičkim procedurama (spirometrija, DLCO i standardan MSCT koji smo mi primenjivali) (Gregersen S i sar., 2009; Maarschalk-Ellerbroek LJ i sar., 2014). Intersticijske bolesti pluća se pojavljuju i do 30% pacijenata, dok je učestalost GLILD oko 10% (Maarschalk-Ellerbroek LJ i sar., 2014; Bonilla FA i sar., 2015). U našem

ispitivanju bilo je 15% pacijenata sa intersticijskim bolestima pluća, dok je 4% pacijenata imalo GLILD. Učestalost bronhijalne astme u dosadašnjim ispitivanjima u CVID-u je bila 10-15%, obično u odsustvu alergena specifičnog IgE, što odgovara našem nalazu od 10% pacijenata (Agondi RC i sar., 2010).

Prilično veliki procenat CVID bolesnika sa plućnim manifestacijama u našoj studiji se može objasniti posledicama često neadekvatno lečenih pneumonija, koje su prethodile dijagnozi bolesti, ranijim početkom bolesti i dužinom trajanja bolesti. Takođe tokom 1990-ih bolesnici nisu primali adekvatne i redovne doze IVIG-a usled sankcija i češće su se javljale infekcije, najčešće respiratornog puta.

Drugi po učestalosti klinički fenotip u našem ispitivanju je bila limfoproliferacija (29/51; 57%). Njena učestalost u grupi pacijenata sa CVID u dosadašnjim ispitivanjima je bila 30-66% (Chapel H i sar., 2008). Glavna manifestacija limfoproliferacije je splenomegalija čija učestalost je oko 30% (Cunningham-Rundles C, 2012), mada je u nekim centrima zabeležena veća učestalost, od preko 60% (Chapel H i sar., 2008). Kod naših bolesnika smo našli učestalost splenomegalije od 47%. Ona je često udružena sa pojavom hepatomegalije, limfadenopatije, granulomima i autoimunskim citopenijama (Gathmann B i sar., 2014; Maglione PJ, 2016). Limfadenopatija je jedna od manifestacija limfoproliferacije u CVID-u. Obično se javlja na vratu, u medijastinumu i u abdomenu, mada limfna infiltracija može zahvatiti i organe kao što su pluća, jetra i creva (Cunningham-Rundles C., 2012). Njena učestalost u grupi pacijenata sa CVID u dosadašnjim ispitivanjima iznosi od 15-42% (Chapel H i sar., 2008; Arumugakani G i sar., 2010), dok je u našem ispitivanju iznosila 20%. Granulomska bolest je takođe jedna od karakteristika CVID-a. Njena učestalost u dosadašnjim ispitivanjima iznosi od 8-22% (Ardeniz O i sar., 2009), u šta se uklapa i učestalost u našoj studiji od 10%. Granulomske lezije se najčešće javljaju u plućima, limfnih čvorovima i slezini (Wehr C i sar., 2008). Kod naših pacijenata ona je dokazana kod 2 pacijenta na plućima, 2 u limfnim čvorovima i kod jednog u slezini. Pacijenti sa CVID sa benignom limfoproliferacijom imaju veći rizik od nastanka limfoma (Chapel H i sar., 2008), dok je u drugoj velikoj studiji nađena povezanost pojave limfoma kod splenektomisanih pacijenata (Gathmann B i sar., 2014). Učestalost pojave limfoma u dosadašnjim ispitivanjima je iznosila od 3-8,2% (Chapel H i sar., 2008; Resnick E i sar.,

2012). Radi se skoro uvek o ne-Hoćkinskim B-ćelijskim limfomima, sa ektranodalnom lokalizacijom, negativnim nalazom za Epštajn-Bar virus i češćom pojavom kod osoba ženskog pola (Cunningham-Rundles C i Maglione PJ, 2012). U našem ispitivanju pacijenata sa CVID učestalost limfoma je bila 5,88% (2 pacijentkinje i 1 pacijent).

Treći klinički fenotip po učestalosti su bile gastrointestinalne bolesti. Njihova učestalost u dosadašnjim studijama je bila od 20-65% (Bonilla FA i sar., 2015), dok je u našem ispitivanju je bila 51% (26/51). Hepatomegalija je prisutna obično 5-15% i često je udružena sa splenomegalijom (Chapel H i sar., 2008). Nenormalnost u laboratorijskim testovima za jetru se javlja i do 43% bolesnika. Najčešće prisutno je povećanje alkalne fosfataze, dok se biopsijom obično dijagnostikuje benigna nodularna hiperplazija (Malamut G i sar., 2008). U prošlosti su bile često prisutne virusne bolesti jetre, koje nisu bile prisutne kod naših bolesnika.

Sam gastrointestinalni trakt je kod bolesnika sa CVID zahvaćen kod 20-25%, obično u vidu hroničnog gastritisa, nodularne hiperplazije, enteropatije, vilusne atrofije i inflamatorne bolesti debelog creva. U našem ispitivanju u grupi pacijenata sa gastrointestinalnom prezentacijom zahvaćenost creva je bila 23%. Najčešće je bila prisutna enteropatija sa 23%, zatim nodularna hiperplazija sa 19% i kolitis sa 15%, kod bolesnika sa GIT manifestacijama. U studijama gde je vršena gornja i donja endoskopija kod svih CVID pacijenata je nađena abnormalnost kod 83% pacijenata (Maarschalk-Ellebreek LJ i sar., 2013). Najčešći histopatološki nalaz u tankom crevu je povećan broj intraepitelnih limfocita i vilusna artrofija, kao i značajan nedostatak plazma ćelija u epitelu (Malamut G i sar., 2010).

Maligne bolesti creva se značajno češće javljaju kod CVID bolesnika u odnosu na opštu populaciju, najčešće u vidu karcinoma želuca (Dhalla F i sar., 2011). U našoj studiji dvoje bolesnika (4%) su imali maligne bolesti creva. Obe su bile žene, jedna je imala karcinom želuca, druga kolorektalni karcinom.

Četvrti klinički fenotip po učestalosti u našem ispitivanju su bile autoimunske bolesti (17/51; 33%). Njihova učestalost u dosadašnjim studijama je bila 29-48% (Chapel H i sar., 2008). U Čepelovoj studiji je najčešće bila prisutna perniciozna anemija sa 15%, zatim citopenije sa 12%, endokrine bolesti sa 8% i kožne bolesti sa 7%

(Chapel H i sar., 2008). Slične rezultate smo i mi dobili sa učestalosti perniciozne anemije sa 16%, citopenija sa 14%, 4% autoimunskog tiroiditisa i 2% sistemskog vitiliga. U patogenezi nastanka autoimunosti kod bolesnika sa imunodeficijencijama učestvuju brojni faktori. Oni mogu biti genetski, faktori okoline, infekcije ili imunski u vidu nishodne regulacije regulatornih T ćelija, ubrzane T ćelijske apoptoze, dizbalansa u produkciji citokina, kao i stvaranja autoreaktivnih B ćelija (Xiao X i sar., 2014).

U našem ispitivanju smo potvrdili rezultate dobijenih iz ranijih studija sa većim brojem učesnika, koje su pokazale veliku heterogenost kliničke slike CVID-a sa velikim međusobnim preklapanjem kliničkih komplikacija bolesti (Grafikon 2) (Mouillot G i sar., 2010; Bateman EA i sar., 2012; Gathmann B i sar., 2014). Velike varijacije između različitih zemalja kod bolesnika mogu se objasniti razlikama u dijagnostičkim protokolima i genetskim varijacijama populacija u udaljenim geografskim oblastima (Gathmann B i sar., 2014).

Prosečan početak simptoma u dosadašnjim ispitivanjima je izrazito varirao. Najniži zabeležen je iznosio 2 godine u iranskoj studiji, dok je najviši 32 godine zabeležen kod 75 italijanskih ispitanika (Mohammadinejad P i sar., 2015; Graziano V i sar., 2017). Rezultat našeg ispitivanja od 27 godina (tabela 1) je najpribližniji studijama Chapel H. i saradnika od 24 godine i Brent J. i saradnika, gde je početak bolesti bio u 29. godini života (Tabela 1) (Chapel H i sar., 2008; Brent J i sar., 2016).

U našem ispitivanju smo konstatovali da postoje dva pika u učestalosti pojavljivanja simptoma kod pacijenata sa CVID. Kod 28,6% bolesnika simptomi su se javili u četvrtoj dekadi života, dok je kod 23,5% početak bio u drugoj dekadi. U velikoj evropskoj studiji od 2212 pacijenata su takođe zabeležena dva pika pojave bolesti, jedan u prvoj, a drugi u 4. dekadi života (Gathmann B i sar., 2014). Italijanska studija je zabeležila dva pika pojave bolesti u 2. i 4. dekadi života, kao u našoj studiji (Quinti I i sar., 2007). U britanskoj studiji je, kao u našoj (tabela 1), zabeležena pojava da su bolesnici sa autoimunskim bolestima i limfoproliferacijama nešto stariji u odnosu na druge fenotipove (Bateman EA i sar., 2012). Gathmann B i saradnici su konstatovali da bolesnici sa kasnijim početkom bolesti imaju češće autoimunost, splenomegaliju, limfome i tumore, što odgovara našim rezultatima da su bolesnici sa autoimunskim i

limfoproliferativnim bolestima bili stariji u odnosu na druge fenotipove (Tabela 1) (Gathmann B i sar., 2014).

Prosečna starost bolesnika prilikom dijagnoze bolesti je takođe varijabilna u dosadašnjim studijama. Najnižu su imali iranci sa 8 godina, dok je prosek od 40 godina zabeležen u dve studije britanskih i italijanskih autora (Mohammadinejad P i sar., 2015; Brent J i sar., 2016; Graziano V i sar., 2017). Rezultat našeg ispitivanja od 33 godine (Tabela 1) je najpribližniji francuskoj studiji gde je prosek starosti prilikom dijagnoze COVID-a iznosio 33,9 godina (Oksenhendler E i sar., 2008).

Kašnjenje u postavljanju dijagnoze je takođe bilo veoma varijabilno među različitim zemljama. Ono se značajno smanjilo u novijim studijama u odnosu na pre 15-20 godina (Oksenhendler E i sar., 2008; Gathmann B i sar., 2014), ali se i dalje održava. U novijoj velikoj evropskoj studiji prosek u kašnjenju postavljanja dijagnoze je bio 4,1 godinu. Najveće kašnjenje je registrovano u Španiji od 7 godina, u Nemačkoj 4,8, a u Francuskoj i Velikoj britaniji 4,5 godina. Najniže je bilo u Poljskoj od 1,8 godina i u Holandiji 2,1 godinu (Gathmann B i sar., 2014). Kašnjenje u postavljanju dijagnoze u našoj studiji od 6 godina je iznad evropskog proseka (tabela 1), ali je kraće u odnosu na grupu iz Španije.

Srednje vrednosti imunoglobulina prilikom dijagnoze bolesti u dosadašnjim ispitivanjima su bile distribuirane na sledeći način: IgG: 1,9-2,5; IgA: 0,09-0,14; IgM: 0,2-0,4 g/L (Cunningham-Rundles C i Bodian C, 1999; Oksenhendler E i sar., 2008; Fernandez Romero DS i sar., 2013; Ramirez-Vargas N i sar., 2014; Brent J i sar., 2016). U našoj studiji (tabela 1) smo registrovali koncentraciju IgG čija je medijana od 2,09 g/L bila jedna od najnižih i jedino je bila viša od proseka meksičke studije (Ramirez-Vargas N i sar., 2014). Relativno visoka prosečna koncentracija IgA od 0,2 g/L u našoj studiji je verovatno bila posledica laboratorijskih merenja, jer je donja granica kod naših bolesnika bila često ispod donje granice merenja. Srednja koncentracija IgM na početku bolesti kod nas od 0,22 g/L je bila uobičajena u dosadašnjim studijama (Oksenhendler E i sar., 2008; Fernandez Romero DS i sar., 2013).

U našoj grupi pacijenata nađeno je da su muški pacijenti značajno mlađi od ženskih i da su imali i raniji početak bolesti i uzrast prilikom dijagnoze, ali bez

statističke značajnosti (tabela 2). Slične rezultate su dobijene i u ranijim američkim i evropskim studijama, gde je nađeno da su muški pacijenti imali raniji početak bolesti i uzrast prilikom dijagnoze (Cunningham-Rundles C i Bodian C, 1999; Oksenhendler E i sar., 2008; Gathmann B i sar., 2014). Jedno od objašnjenja je dao Oksenhendler E sa saradnicima da, iako je isključena dijagnoza X vezane agamaglobulinemije kod tih pacijenata, mogućnost postojanja drugih X vezanih bolesti povezanih za raniji početak bolesti se ne može isključiti. U studiji Gatmana sa saradnicima je viđeno da su nivoi IgG i IgM na početku bolesti kod muških pacijenata bili viši nego kod žena (Gathmann B i sar., 2014). U američkoj studiji je nađeno da vrednosti IgG se ne razlikuju među polovima, dok su vrednosti IgA i naročito IgM značajno viši kod ženskih pacijenata na početku bolesti (Cunningham-Rundles Ci Bodian C, 1999). U našoj studiji je IgG bio viši kod muškaraca, dok su IgA i IgM povišeni kod ženskih pacijenata, ali bez značajnosti (tabela 2).

Što se tiče infekcija koje su prethodile dijagnozi, naš podatak od 85% pneumonija koje su prethodile dijagnozi je najviši dosada zabeležen (tabela 3). Osim našeg, tako visok procenat penumonija pre dijagnoze je zabeležen u Meksiku 83%, Kairu, Egipat od 78%, Njujorku, SAD 77%, Minhenu, Nemačka 75%, Barseloni, Španija 67% (Cunningham-Rundles C i Bodian C, 1999; Gathmann B i sar., 2014; Ramirez-Vargas N i sar., 2014). Jedno od objašnjenja bi mogli da budu da se pacijenti nisu javili na vreme po započinjanju respiratorne infekcije, pa je došlo do napretka bronhitisa u pneumoniju. Takođe je moguće da su one posledica niskog nivoa IgG zabeleženog u našoj studiji, jer je u studiji Brent J. i saradnika pokazana povezanost pneumonija i niskih vrednosti IgG pre započinjanja lečenja (Brent J i sar., 2016), a jedino su Meksikanci imali tako visok % pneumonija i nizak nivo IgG (1,9 g/L). Ostale infekcije koje smo zabeležili u studiji (tabela 3) odgovaraju rezultatima dosadašnjih studija (Cunningham-Rundles Ci Bodian C, 1999; Gathmann B i sar., 2014; Ramírez-Vargas N i sar., 2014).

U velikoj studiji koja je pratila infekcije kod 252 pacijenta sa COVID najčešći uzročnici su bili *Streptococcus pneumoniae* u 18% i *Haemophilus influenzae* u 7% slučajeva, kao u našem ispitivanju (tabela 4). Oni su uz *Neisseria meningitidis* bili i najčešći uzroci sepse. Kod crevnih bakterijskih infekcija najčešći bakterijski uzročnici

su bili *Campylobacter species* i *Salmonella species* koje mi nismo zabeležili (Oksenhendler E i sar., 2008). Najčešći bakterijski prouzrokovaci u meksičkoj studiji su bili isto *Streptococcus pneumoniae*, zatim *Pseudomonas aeruginosa* i *Staphylococcus aureus*, koje smo i mi imali kod naših pacijenata (Ramirez-Vargas N i sar., 2014).

Od nebakterijskih i oportunističkih infekcija najčešće su dosada dijagnostikovani u CVID-u *Giardia lamblia*, rekurentni *Herpes zoster* i *Pneumocystis carinii* infekcije (Cunningham-Rundles Ci Bodian C, 1999; Oksenhendler E i sar., 2008). U meksičkoj studiji, takođe najčešći nebakterijski prouzrokovac je bila *Giardia lamblia*, a od virusa *Epstein Barr virus* (n = 5), *varicella-zoster virus* (n = 3) i *citomegalo-virus* (n=1) (Ramirez-Vargas N i sar., 2014), slično kao u našoj studiji (tabela 5).

U našem ispitivanju nismo našli značajne statističke razlike između demografskih i imunoseroloških parametara kod bolesnika sa različitim kliničkim fenotipovima. U francuskoj studiji pacijenti sa limfoproliferacijom su bili najstariji i imali najviše godina prilikom dijagnoze bolesti (Mouillot G sa sar., 2010). U američkoj i engleskoj studiji je viđena veća učestalost ženskih bolesnika u autoimunskim bolestima (Cunningham-Rundles Ci Bodian C, 1999; Brent J i sar., 2016). Takođe je primećena povezanost autoimunskih bolesti sa kasnijim životnim dobom prilikom postavljanja dijagnoze (Gathmann B i sar., 2014), što je bio slučaj i u našoj studiji (45,5 prema 33 god. u drugim fenotipovima, tabela 1). U studijama Gatmana i Brenta je nađena povezanost splenomegalije sa niskim nivoima IgG i IgM, koje mi nismo potvrdili (Gathmann B i sar., 2014; Brent J i sar., 2016).

Demografske i imunoserološke razlike između pacijenata sa CVID i XAG u našoj grupi su bile očekivane (tabela 7). XAG je urođena bolest koja se javlja i dijagnostikuje rano u detinjstvu, a u našem ispitivanju je bilo i kraće kašnjenje u dijagnozi bolesti u odnosu na pacijente sa CVID. Isti rezultati su dobijeni u engleskoj i iranskoj studiji (Bateman EA i sar., 2012; Mohammadinejad P i sar., 2015). Pomalo neočekivano, vrednosti svih klasa imunoglobulina u našoj studiji su bili niži kod bolesnika sa CVID u odnosu na bolesnika sa XAG, ali bez statističke značajnosti. Pošto je kod XAG defekt u ranom sazrevanju B limfocita, očekuje se da kod nje budu niske vrednosti svih imunoglobulina kao što je već objavljeno (Weinberger T i sar., 2017), ali

su registrovani i pojedini bolesnici sa XAG sa lako sniženim ili normalnim koncentracijama imunoglobulina (Lee PP i sar., 2010).

Dosadašnja ispitivanja osnovnog imunofenotipa T i B ćelija u CVID-u su pokazala značajne poremećaje. Studija Arumugakanija je pokazala značajno sniženje ukupnih CD4+ i CD19+ limfocita u odnosu na zdrave kontrole, dok su CD3+ limfociti bili sniženi u odnosu na zdrave ispitanike blizu statističke značajnosti ($p=0,076$) (Arumugakani G i sar. iz 2010). U njoj nije bilo razlika u broju CD8+ limfocita bolesnika sa CVID i kontrola, kao u našoj. Ispitivanje Mouillot G. i saradnika je pokazalo da bolesnici sa CVID imaju značajno sniženje CD3+, CD19+, CD4+ i NK limfocita u odnosu na zdrave kontrole i da je najizraženije sniženje bilo u broju CD4+ i CD19+ limfocita ($p<0,001$) (Mouillot G i sar., 2010). I u njihovoj studiji nije bilo razlika u broju CD8+ limfocita između bolesnika i zdravih ispitanika. Oni su radili i ispitivanje kliničkih fenotipova. Nije bilo značajnih razlika između fenotipova po broju ćelija, ali su u grupi bolesnika sa limfoproliferacijom i enteropatijom imali manji ukupan broj CD3+ i CD4+ limfocita, dok je grupa bolesnika sa enteropatijom imala najniži broj NK i CD19+ limfocita, bez statističke značajnosti. U studiji Bateman i saradnika na T limfocitima je pokazano značajno sniženje CD4+ limfocita u odnosu na zdrave kontrole i pacijente sa XAG, dok nije bilo razlika u broju CD8+ limfocita (Bateman EA i sar., 2012). Najizraženije sniženje CD4+ limfocita je bilo u grupi sa bolesnika sa autoimunskim bolestima. Sniženje CD8+ limfocita je postojalo samo kod bolesnika sa autoimunskim bolestima u odnosu na zdrave kontrole. U engleskoj studiji Brent J. i saradnika je postojalo sniženje CD3+, CD4+, CD8+, CD19+ limfocita i NK ćelija kod bolesnika sa splenomegalijom i granulomatoznom bolešću, dok su bolesnici sa autoimunskim bolestima imali snižen broj CD8+ limfocita (Brent J i sar., 2016). U svim prethodno navedenim studijama je bio obrnut odnos CD4/CD8, tj. ispod 1. I u našoj studiji je bio značajno snižen broj CD3+, CD4+, CD19+ i NK limfocita, kao i odnos CD4/CD8 u odnosu na zdrave kontrole. Jedino se broj CD8+ limfocita nije razlikovao, čak je bio povećan (tabela 9). Između bolesnika sa različitim kliničkim fenotipova nije bilo značajne razlike u odnosu na broj ćelija osnovnog imunofenotipa (tabela 8).

U studijama XAG pacijenata, broj CD19+ limfocita je bio značajno snižen, dok je broj CD3+, CD4+ i CD8+ limfocita nije bio promjenjen u odnosu na zdrave kontrole (Faulkner GC i sar., 1999; Martini H i sar., 2011). U studiji Pituch-Noworolska A. i saradnika kod bolesnika sa XAG je nađen normalan broj CD3+, CD4+, CD8+ i NK limfocita u odnosu na zdrave kontrole. Isti rezultati su dobijeni i u našoj studiji (tabela 9) (Pituch-Noworolska Ai sar., 2013).

Dosada su rađena brojna ispitivanja različitih citokina kod bolesnika sa CVID i dobijeni su često različiti rezultati. Jedan od razloga je sama tehnika ispitivanja. Kod pojedinih studija su merene serumske koncentracije citokina, dok su u drugima merene *in vitro* produkcije citokina sa ili bez stimulacije (Varzaneh FN i sar., 2014).

U našem ispitivanju svi pacijenti sa CVID i XAG su imali povišene vrednosti BAFF u krvi u odnosu na zdrave ispitanike i nije nađena značajna razlika u koncentracijama između različitih kliničkih fenotipova (tabele 10 i 11). Takvi rezultati su dobijeni i u prethodnim studijama (Knight AK i sar., 2007; Kreuzaler M i sar., 2012). U studiji Kreuzaler sa saradnicima je praćen nivo BAFF-a tokom dve godine kod 7 pacijenata sa CVID-om i nađeno je da su pacijenti zadržavali povišene nivoe BAFF-a sve vreme tokom tog perioda (Kreuzaler M i sar., 2012).

U našem ispitivanju su svi pacijenti sa CVID imali povišene nivoe IL-10 u krvi u odnosu na zdrave ispitanike i pacijente sa XAG i nije nađena značajna razlika među fenotipovima (tabele 10 i 11). Isti rezultati su dobijeni i u prethodnim studijama (Kasztalska K i sar., 2011; Hel Z i sar., 2014). Kod pacijenata sa CVID-om glavni izvor IL-10 su ćelije aktivirane mijeloidne linije (Hel Z i sar., 2014) i monociti (Zhou Z i sar., 1998). Barbosa sa kolegama je detektovao povišene markere monocitne aktivacije kod pacijenata sa CVID, dok isti nisu bili prisutni kodpacijenata sa XAG i zdravim kontrolama (Barbosa RR i sar., 2012). Takođe, Schmidt NW sa kolegama je pokazao da je Brutonova tirozin kinaza potrebna za indukovanu IL-10 produkciju, u čemu učestvuju i receptori urođene imunosti (receptori sličnim Toll-u) (Schmidt NW i sar., 2006), što bi moglo da objasni zašto pacijenti sa XAG imaju nisku produkciju IL-10.

Određivanje koncentracija $\beta 2$ mikroglobulina u krvi bolesnika sa CVID je rađeno u nekoliko studija. Rezultati su pokazali da postoji povišena koncentracija $\beta 2$

mikroglobulina u krvi svih pacijenata (Strannegard O i sar., 1987; Chapel H i sar., 2012), ali nisu rađena određivanja koncentracije kod pacijenata sa različitim kliničkim fenotipova. U jednoj studiji je izvršeno određivanje koncentracija $\beta 2$ mikroglobulina u krvi kod CVID i XAG pacijenata. Pacijenti sa CVID su imali značajno povišene koncentracije u odnosu na zdrave kontrole i pacijente sa XAG koji su imali normalne koncentracije (North ME i sar., 1991). U našoj studiji pacijenti sa CVID su imali značajno povišene koncentracije $\beta 2$ mikroglobulina u krvi u odnosu na zdrave kontrole, dok nije bilo razlika u odnosu na pacijente sa XAG (tabela 11).

U dosadašnjim studijama za pacijente sa CVID normalna disajna funkcija je nađena kod 27-78% (Touw CM i sar., 2010). U nekim studijama su date vrednosti disajnih funkcija, dok su u drugim dati poremećaji ventilacije (opstruktivni ili restriktivni sa stepenom težine). U studiji Agondi RC i saradnika 41% pacijenata je imalo normalan spirometrijski rezultat, 47,5% opstruktivni i 11,5% restriktivan nalaz (Agondi RC i sar., 2010). U drugoj studiji je navedeno da je kod 74% bolesnika sa CVID normalan spirometrijski nalaz, kod 18% opstruktivni i 8% restriktivni, dok je kod 22,2% je postojalo sniženje TLCO (Thicket KM i sar., 2002). U studiji Kainulainen sa saradnicima normalan nalaz na spirometriji je bio kod 67% pacijenata. 33% je imalo opstruktivan nalaz (dvoje težak) na spirometriji, dok je DLCO bio snižen kod 27% pacijenata (Kainulainen L i sar., 1999). U starijim studijama su bili prisutni teži poremećaji ventilacije. U studiji iz 1986. 40% pacijenata sa CVID je imao restriktivan tip, 20% opstruktivan i 8% mešovitim tip poremećaja ventilacije (Watts WJ i sar., 1986). U našoj studiji poremećaj ventilacije su imali 13 (32,5%) pacijenata, 10 (25%) sa opstruktivnim tipom, dok su 3 (7,5%) imali restriktivan tip.

U nekim studijama su date srednje vrednosti spirometrije za bolesnike sa CVID. U studiji Gregersena sa saradnicima prosečan FEV1 je bio 85,5%, FVC: 99,4%, FEV1/FVC: 70,9, DLCO: 78,9. U njoj je nađeno da kod bolesnika sa zadebljanjem zida bronhija postoji značajno smanjenje FEV1, FVC, FEV1/FVC i DLCO u odnosu na bolesnike bez njih. Kod bolesnika sa linearnim i iregularnim zasenčenjima je nađeno značajno sniženje vrednosti DLCO u odnosu na bolesnike bez njih (Gregersen S i sar., 2009). U studiji Martinez Garcia i saradnika je nađeno značajno sniženje FEV1, FEF25-75 i FVC kod bolesnika sa bronhiektazijama u odnosu na bolesnike bez njih. Nije

nađena značajna razlika u parametru DLCO (Martinez Garcia MA i sar., 2001). U studiji Chena i saradnika je rađeno poređenje pacijenata sa CVID i XAG. Nije bilo razlike između FEV1 (82 prema 81%) i FVC (86 prema 94%) kod bolesnika (Chen Y i sar., 2011). I naši rezultati se uklapaju u dosadašnje studije (tabela 12). U dosadašnjim studijama nisu rađena spirometrijska ispitivanja kod pacijenata sa različitim kliničkim fenotipovima. U našem ispitivanju bolesnici sa plućnim bolestima su imali snižen FEV1 u odnosu na druge grupe bolesnika sa granično značajnom statističkom razlikom ($p=0,052$; tabela 12).

Jedno od *in vivo* načina ispitivanja celularnog imuniteta je PPD testiranje. Još u ranijim studijama je pokazano da pacijenti sa CVID-om imaju varijabilne defekte u celularnom imunitetu, naročito u vidu odsutnosti kožnih odgovora na primarne i ubikvitarne antigene (Stagg AJ i sar., 1994). U nekim studijama 30% pacijenata su imali defekt u mitogenskom odgovoru (North ME i sar., 1989), dok je u drugim studijama smanjen odgovor na pojedine testove celularnog imuniteta varirao od 2-15% (Maarschalk-Ellebreek LJ i sar., 2012). U jednoj studiji je opisano da 5 od 12 pacijenata sa CVID-om sa povećanim brojem CD8+ limfocita je bilo anergično na PPD testiranje, dok je u grupi pacijenata sa normalnim brojem CD8+ limfocita samo 1 od 15 pacijenata bio anergičan na testiranje (Wright JJ i sar., 1990). U našoj studiji velika većina pacijenata sa CVID i XAG nisu imali kožnu reaktivnost na PPD antigen (tabela 14). Pošto pacijenti nisu imali infekcije tipične za poremećaje celularnog imuniteta npr. citomegalovirusnu, ili adeno virusnu infekciju, *Pneumocystis jiroveci* ili *Cryptosporidium species* (Oliveira JB i Fleisher TA, 2010), nije bilo indikovano dalje ispitivanje celularnog imuniteta, koje nam je bilo nedostupno.

U ispitivanju proširenog imunofenotipa B ćelija kod pacijenata sa CVID-om su vršena brojna ispitivanja, ali su korišćeni različiti klinički fenotipovi i entiteti, kao i različiti tipovi ćelija imunofenotipa.

Ključna klinička studija „Euroklas“ pokazala je da pacijenti sa CVID-om imaju snižen broj memorijskih ćelija sa promenjenom klasom, plazmablasta sa promenjenom klasom, povećan broj aktiviranih i tranzicionih limfocita, dok se broj limfocita sličnim ćelijama marginalne zone nije razlikovao u odnosu na zdrave kontrole. Pacijenti sa splenomegalijom su imali značajno manji procenat ukupnih B ćelija i

memorijskih ćelija sa promenjenom klasom i značajno povećanje procenta aktiviranih limfocita u odnosu na pacijente bez splenomegalije. Limfadenopatija je bila povezana sa značajnim povećanjem tranzicionih B ćelija, dok je granulomatozna bolest bila povezana sa značajnom redukcijom broja memorijskih ćelija sa promenjenom klasom i limfocita sličnim ćelijama marginalne zone (Wehr C i sar., 2008).

Al Kindi i saradnici su našli značajnu redukciju ukupnog broja B ćelija, memorijskih ćelija sa promenjenom klasom, tranzicionih ćelija, kao i plazmablasta kod pacijenata sa CVID-om, dok su aktivirani limfociti bili lako povišeni u odnosu na zdrave kontrole. Takođe su našli da su prediktori nastanka granulomatozne bolesti i splenomegalije smanjen broj ukupnih B ćelija i memorijskih B ćelija sa promenjenom klasom (Al Kindi M i sar., 2012).

U radu Mouillot G. i saradnika nađeno je da kod pacijenata sa CVID-om postoji veći broj naivnih i aktiviranih limfocita, dok je prisutan manji broj B ćelija sličnim ćelijama marginalne zone, memorijskih ćelija sa promenjenom klasom, plazmablasta, tranzicionih ćelija, kao i naivnih CD4+CD45RA+ T limfocita u odnosu na zdrave ispitanike. Kod njih je nađeno da je klinički fenotip infekcija udružen sa značajno manjim brojem aktiviranih limfocita i većim brojem memorijskih ćelija sa promenjenom klasom u odnosu na ostale grupe sa komplikacijama (Mouillot G i sar., 2010). Slične rezultate su dobili Maarschalk-Ellebroek LJ i saradnici, gde je nađeno da su pacijenti bez komplikacija imali značajno veći broj ukupnih B limfocita, naivnih B ćelija i memorijskih ćelija sa promenjenom klasom u odnosu na pacijente sa komplikacijama (Maarschalk-Ellebroek LJ i sar., 2012).

U skorašnjoj studiji iranskih autora je takođe nađena značajna redukcija broja B ćelija, memorijskih ćelija sa promenjenom klasom, ćelija sličnim ćelijama marginalne zone i plazmablasta, dok je registrovan povećan broj aktiviranih limfocita kod bolesnika sa CVID. Pacijenti sa splenomegalijom i hepatomegalijom su imali značajno niži broj tranzicionih i ćelija sličnim ćelijama marginalne zone i povećan broj aktiviranih limfocita, dok su pacijenti sa limfadenopatijom, bronhiektazijama i alergijom imali značajno manji ukupnih B ćelija, memorijskih i memorijskih ćelija sa promenjenom klasom u odnosu na zdrave ispitanike (Azizi G i sar., 2017).

Oksenhendler E. i saradnici našli su da je težak defekt u broju memorijskih ćelija sa promenjenom klasom povezan sa ponavljanom primenom antibiotika, dok je težak defekt u broju ukupnih B ćelija povezan sa nastankom bronhiektazija kod pacijenata sa CVID (Oksenhendler E i sar., 2008).

U našem ispitivanju bolesnici sa CVID su imali značajno veći broj B ćelija sličnim ćelijama marginalne zone, tranzicionih ćelija i aktiviranih limfocita, kao i manji broj memorijskih B ćelija sa promenjenom klasom, plazmablasta i plazmablasta sa promenjenom klasom u odnosu na zdrave kontrole, dok nije bilo razlika u broju naivnih B limfocita, kao i naivnih i memorijskih T limfocita (tabela 17).

Euroklas klasifikacija pokazuje značajno povećanu incidencu splenomegalije u grupama smB-, smB+21^{lo}, smB-21^{lo}, limfadenopatije u grupi smB-Tr^{hi}, granuloma u grupi smB-, smB+21^{lo} i smB-21^{lo} (Wehr C i sar., 2008). U toj studiji je bio veći % pacijenata u smB- grupi u odnosu na smB+ grupu (58% prema 42%), dok je u našem ispitivanju većina pacijenata pripadala prognostički boljem smB+ fenotipu (69% prema 31%; tabela 18). Sličan procenat od 61 prema 39% pripadnosti smB+ prema smB- je nađeno u studiji Oksenhendlera sa saradnicima (Oksenhendler E i sar., 2008).

U radu Kutukculera sa saradnicima je 45,8 % pacijenata bilo u smB+ grupi, dok je 54,2% bilo u smB- grupi. Nije bilo pacijenata u smB-Tr^{hi} grupi. Splenomegalija i limfadenopatija su značajno bile učestalije u smB- grupi u odnosu na prisustvo u smB+ grupi, a imali su najviši procenat splenomegalije i limfadenopatije u smB-21^{lo} grupi (Kutukculer N sa sar., 2012). U Azizijevoj studiji pacijenti sa splenomegalijom i hepatomegalijom su grupisani u smB+21^{lo} grupi (Azizi G i sar., 2017), što je slično našem rezultatu da su pacijenti sa limfoproliferacijom imali najveće prisustvo u toj grupi od 81,25%.

U studijama Kindija i Ballegaarda sa saradnicima nije nađena korelacija kliničkih fenotipova po Euroklas klasifikacionoj šemi (Al Kindi M i sar., 2012; Ballegaard V i sar., 2013). U Ballegaardovoj studiji je praćena koncentracija memorijskih ćelija sa promenjenom klasom tokom 16 godišnjeg perioda i nađeno je da od 60% pacijenata koji su pripadali smB- grupi na početku studije, samo 44% pacijenata je sve vreme pripadalo toj grupi. Takođe su kritikovali granicu od 2% memorijskih

ćelija sa promenjenom klasom predloženu u Euroklas klasifikaciji za pripadnost smB+/- grupi kao veoma nisku i da je ona ispod 1,5 SD ispod donje granice normalnih vrednosti i savetovali korišćenje apsolutnog broja ćelija umesto procenata. Naš rezultat o značajno češćoj incidenci limfoproliferacije u grupama smB-Trⁿ i smB-21ⁿ nije dosada naveden u literaturi.

Đovaneti je predložio klasifikaciju prema broju naivnih CD4+ T limfocita. Ona se sastojala od tri grupe ispitanika. I grupa je sa teškim smanjenjem naivnih CD4+ T limfocita i asociirana je sa pojačanom incidencom splenomegalije. II grupa sa umerenim smanjenjem naivnih CD4+ T limfocita i sa umerenom pojavom splenomegalije, dok je III grupa sa normalnim brojem naivnih CD4+ T limfocita, koja se odlikuje blagim kliničkim simptomima i skoro potpunim odsustvom splenomegalije. Pokazana je jaka negativna korelacija broja naivnih CD4+ T limfocita i kliničkog skora težine bolesti i prisustva splenomegalije (Giovannetti A i sar., 2007).

Drugi autori su pokazali vezu niskog broja naivnih CD4+T limfocita sa oštećenom timopoezom kod tih pacijenata (Moratto D i sar., 2006). Mannon PJ sa saradnicima je pokazao pojavu sniženog broja naivnih CD4+ T limfocita kod pacijenata sa CVID i gastroenterološkim smetnjama (Mannon PJ i sar., 2006), dok je druga studija pokazala povezanost pojave granuloma sa smanjenim brojem naivnih CD4+ T limfocita (Mullighan CG i sar., 1997). Bateman EA sa saradnicima je pokazao značajnu redukciju naivnih CD4+ T limfocita kod bolesnika sa limfoproliferacijom i autoimunskim bolestima u odnosu na zdrave kontrole (Bateman EA i sar., 2012). U drugoj studiji je nađena značajna redukcija naivnih CD4+ T limfocita kod bolesnika sa barem jednom komplikacijom u odnosu na bolesnike bez komplikacija (Maarschalk-Ellebreek LJ i sar., 2012). U našoj studiji, kao i u drugim studijama, nije nađena povezanost broja naivnih CD4+ T limfocita sa polom, starošću, početkom bolesti i nivoom imunoglobulina prilikom dijagnoze bolesti (tabela 20). U našoj studiji nije nađena pojačana incidenca pojedinih kliničkih fenotipova po grupama u odnosu na broj naivnih CD4+ T limfocita (tabela 21).

Veza između niskog broja CD4+ i CD19+ limfocita i pojave plućne bolesti (tabela 22; grafikon 5), koju smo našli u našem radu, je konstatovana u nekoliko ranijih radova. Maglione sa saradnicima je u svojoj studiji naveo da postoji jaka veza između

niskog broja CD4+ T limfocita i pojave bronhiektazija kod pacijenata sa CVID (Maglione PJ i sar., 2014). Takođe je navedeno u toj studiji, da starije životno doba i anamneza o preležanoj pneumoniji uz nizak broj CD4+ limfocita mogu biti dodatni faktori za pojavu bronhiektazija. U studiji Maarschalk-Ellebreek je nađeno da pacijenti sa uznapredovalom intersticijskom bolešću pluća imaju značajno snižen broj CD3+, CD4+, naivnih CD4+, CD19+, naivnih B limfocita i memorijskih ćelija sa promenjenom klasom u odnosu na pacijente sa lakšom formom bolesti (Maarschalk-Ellebreek LJ i sar., 2014). U radu Bondionija MP i saradnika je nađeno da kod pacijenata sa nodularnim lezijama postoji redukcija broja CD3+, CD4+, CD8+ i CD19+ limfocita (Bondioni MP i sar., 2010). U studiji Resnicka sa autorima je pokazano da sniženi nivoi IgG, IgA i IgM na početku bolesti, manji broj CD19+ limfocita i memorijskih ćelija sa promenjenom klasom povećavaju rizik od nastanka hronične plućne bolesti (Resnick ES i sar., 2012).

Naš rezultat o značajno nižem broju tranzicionih limfocita kod bolesnika sa plućnim bolestima nije dosada zabeležen (tabela 22; grafikon 5). U radu Driessen GJ i saradnika je nađeno da 22% pacijenata sa CVID-om imaju snižen broj tranzicionih limfocita, obično u kombinaciji sa sniženim brojem memorijskih B limfocita i jedina značajna korelacija kod tih pacijenata je bila pojava splenomegalije (Driessen GJ i sar., 2011). U studiji Euroklas je nađena veza između povećanog broja tranzicionih ćelija i pojave limfadenopatije (Wehr C i sar., 2008). U literaturi se ne navode druge povezanosti između broja tranzicionih limfocita i kliničkih entiteta u CVID-u.

U našem ispitivanju kod grupe pacijenata sa limfoproliferacijom je nađeno postojanje bolje disajne funkcije (viši FEV1 i DLCO) i višeg nivoa β 2 mikroglobulina u krvi u odnosu na pacijente bez limfoproliferacije (tabela 23; grafikon 6). U dosadašnjim ispitivanjima je nađena korelacija između nivoa IgM u krvi sa pojavom poliklonalne limfocitne infiltracije i limfoidnog maligniteta, kao i niskog nivoa IgA i nastanka limfoproliferacije (Chapel H i sar., 2008; Resnick ES i sar., 2012). U studiji sa 2212 pacijenta je nađeno da pacijenti sa kasnijim početkom CVID-a imaju češće splenomegaliju, autoimunske bolesti, limfome i druge malignitete. Tu je nađena i veza između sniženog nivoa IgA i IgM na početku bolesti sa nastankom splenomegalije (Gathmann B i sar., 2014). Takođe je u literaturi navedena korelacija između sniženog

broja CD19+ limfocita i memorijskih ćelija sa promenjenom klasom sa većim rizikom od nastanka splenomegalije, kao i povišenog broja aktiviranih limfocita sa nastankom autoimunskih bolesti i splenomegalije (Wehr C i sar., 2008; Sanchez-Ramon S i sar., 2008). U literaturi nije navedena povezanost pojave višeg FEV1 i DLCO i limfoproliferacije.

Povezanost povišenih nivoa $\beta 2$ mikroglobulina u krvi i limfoproliferacije je navedena u radu Chapel H. i saradnika. U njihovom ispitivanju je nađena veza između povišenih vrednosti $\beta 2$ mikroglobulina u krvi sa splenomegalijom, poliklonalnom limfoproliferacijom, granulomom i nodularnom regenerativnom hiperplazijom (Chapel H i sar., 2012).

Dosada u literaturi nije navedena povezanost nivoa BAFF-a u krvi i kliničkih fenotipova u CVID-u (Knight AK i sar., 2007; Kreuzaler M i sar., 2012). Nađeno je da skoro svi pacijenti sa CVID-om imaju visoke vrednosti BAFF-a, a naročito pacijenti sa XAG, što smo i mi pokazali. Takođe u literaturi je navedena veza između koncentracija BAFF-a i broja CD19+ limfocita u krvi (Kreuzaler M i sar., 2012), ali naša grupa pacijenata sa gastrointestinalnim bolestima je imala niske, ali ne najniže vrednosti CD19+ limfocita među kliničkim fenotipovima (tabela 10). U literaturi se navodi veza između povišenih nivoa BAFF-a u inflamatornim bolestima debelog creva (Zhang P i sar., 2016), međutim u našoj grupi bolesnika je bilo samo 4 bolesnika sa kolitisom. Jedno od objašnjenja našeg rezultata o značajno povišenim vrednostima BAFF-a u krvi kod bolesnika sa gastrointestinalnim bolestima (tabela 24; grafikon7) bi mogla da bude perzistentna virusna infekcija. Ona može olakšati ćelijsku apoptozu i oslobađanje različitih nuklearnih antigena koji aktiviraju dendritske ćelije koje luče proinflamatorne citokine, među kojima i BAFF (Lied GA i Berstad A, 2011). Kako je u našoj kohorti bolesnika isključeno postojanje hepatitisa B, C i HIV-a, verovatni uzrok bi mogao biti hronična norovirus infekcija u crevima, koja se sve češće nalazi kod bolesnika sa CVID (Woodward J i sar., 2017). Njena dijagnostika je trenutno nedostupna bolesnicima u Srbiji.

U dosadašnjim studijama o CVID-u nije navedena značajnija uloga naivnih B limfocita u ovoj bolesti. Čak i u Euroklas studiji, gde se govori o perifernoj limfocitnoj homeostazi, nema podataka o naivnim B limfocitima (Wehr C i sar., 2008). U literaturi

je navedeno da preterana produkcija BAFF-a uvećava populacije folikularnih i limfocita sličnim ćelijama marginalne zone, dok selektivna blokada BAFF-a vrši blagu redukciju ili uopšte ne utiče na T1B ćelije ili T limfocite (Jacobi AM i sar., 2010). Naš rezultat o značajno sniženom % naivnih B limfocita u grupi bolesnika sa gastrointestinalnim bolestima bi mogao biti objašnjen činjenicom da visoka koncentracija BAFF-a, koja je nađena u ovom fenotipu, izaziva relativan porast populacije limfocita sličnih ćelijama marginalne zone na račun broja drugih B limfocita, uključujući tu i naivne B limfocite (tabela 16; tabela 24; grafikon 7).

U našem ispitivanju smo našli najveći broj razlika između pacijenata sa i bez autoimunskih bolesti (tabela 25, grafikon 8). Mi smo u našem ispitivanju dobili da su pacijenti sa autoimunskim bolestima imali značajno povišen IgA na početku bolesti u odnosu na pacijente bez autoimunskih bolesti. U dosadašnjim studijama uglavnom nisu nalazili vezu između imunoglobulina na početku bolesti i autoimuniteta (Resnick E i sar., 2012; Gathmann B i sar., 2014). U studiji Azizija sa saradnicima je nađena povišena vrednost IgA na početku bolesti kod bolesnika sa autoimunosti u odnosu na one bez njih, sa graničnom značajnošću ($p=0.071$), što odgovara našem rezultatu (Azizi G i sar., 2017).

Kao što smo ranije naveli svi pacijenti sa CVID-om su imali u krvi povišene vrednosti IL-10 u odnosu na zdrave kontrole, ali pacijenti sa autoimunošću najmanje. Oni su imali značajno niže vrednosti IL-10 u krvi u odnosu na bolesnike bez autoimunosti (tabela 25, grafikon 8). Taj nalaz bi mogao da ukazuje na oštećenu regulatornu ulogu IL-10 kod tih pacijenata. Kod miševa koji su IL-10 deficijentni, dolazi do učestale pojave autoimunskih oboljenja, kao što su kolitis i autoimunski encefalomijalitis (Guo B, 2016). U prethodnim ispitivanjima je pokazano da nivo IL-10 negativno koreliše sa težinom bolesti kod raznih autoimunskih bolesti (Ng TH i sar., 2013). U nekoliko studija o CVID-u je registrovana redukcija broja T regulatornih ćelija kod bolesnika sa autoimunosti, koji su glavni izvor IL-10 (Arumugakani G i sar., 2010; Azizi G i sar., 2017).

U ispitivanju proširenog imunofenotipa B ćelija kod autoimunosti u CVID-u su nađene brojne nepravilnosti. Naročito je naveden porast broja aktiviranih CD21^{low} limfocita u brojnim studijama kod bolesnika sa autoimunosti, kao u našoj studiji

(Warnatz K i sar., 2002; Moratto D i sar., 2006; Mouillot G i sar., 2010; Boileau J i sar., 2011). Njihov porast je nađen i u brojnim autoimunskim bolestima kao što su sistemski eritemski lupus, reumatoidni artritis i krioglobulinemija, što potvrđuje njihovu značajnu ulogu u autoimunosti (Warnatz K i Voll RE, 2012). U literaturi je navedena i povezanost redukcije memorijskih ćelija sa promenjenom klasom kod pacijenata sa autoimunskim bolestima (Resnick ES i sar., 2012), mada ona nije potvrđena u našem ili drugim ispitivanjima (Arumugakani G i sar., 2010). Azizi je uskorašnjem ispitivanju bolesnika sa autoimunskim bolestima u CVID-u našao da oni imaju veći procenat tranzicionih i B ćelija sličnih ćelijama marginalne zone i niži procenat naivnih limfocita i memorijskih B ćelija sa promenjenom klasom u odnosu na bolesnike bez autoimunosti, ali bez statističke značajnosti (Azizi G i sar., 2017). U našem ispitivanju smo našli da kod bolesnika sa autoimunskim bolestima postoji značajna redukcija broja naivnih B limfocita i značajan porast broja aktiviranih B limfocita i B ćelija sličnih ćelijama marginalne zone (tabela 25; grafikon 8).

U našem radu smo našli brojne korelacije između različitih demografskih, kliničkih, citokinskih, imunoseroloških i imunofenotipskih parametara koji su predstavljeni na tabelama 26-29. Naš rezultat o pozitivnoj korelaciji starosti bolesnika i aktiviranih limfocita (tabela 26) delimično odgovara podatku u jednoj studiji gde se navodi da aktivirani limfociti blago porastu sa starenjem (Morbach H i sar., 2010). Većina ostalih studija koje su se bavile koncentracijama aktiviranih limfocita i starenja su za pedijatrijsku populaciju, gde se njihov broj nije menjao tokom praćenja (Smet J i sar., 2011). Prema dostupnoj literaturi naš podatak o negativnoj korelaciji između početka bolesti i nivoa BAFF-a nije do sada opisan. U jednoj studiji, nađen je nepromenjen nivo BAFF-a kod pacijenata sa CVID-om tokom dužeg vremena praćenja (Kreuzaler M i sar., 2012).

Korelacija između početka bolesti i spirometrijskih nalaza plućne funkcije (FEV1, VC, DLCO) je veoma interesantan. Opadanje plućne funkcije se dešava starenjem, dok je ubrzano pogoršanje nađeno kod pušača i pacijenata sa bronhiektazijama (Kerstjens HA i sar., 1997; Loebinger MR i sar., 2009). U studiji Chen Y. i saradnika je nađeno da je opadanje plućne funkcije CVID bolesnika iznosilo 36 mL po godini i da je bilo veće nego kod izrazitih pušača, ali manje nego kod

bolesnika sa XAG koje je iznosilo 65 mL (Chen Y i sar., 2011). I kod njih kao i u našoj studiji je nađena značajna pozitivna korelacija između starosti prilikom dijagnoze bolesti i vrednosti FEV1 izražene u procentima.

U dosadašnjim ispitivanjima nije nađena korelacija između kašnjenja u postavljanju dijagnoze i broja CD4+ i CD19+ limfocita. Međutim svi ti faktori su bili značajni za mortalitet bolesnika o čemu će više biti reči kasnije, gde će biti potvrđena njihova negativna korelacija. Nisu rađena ispitivanja o korelaciji kašnjenja dijagnoze i nivoa β 2 mikroglobulina u dosada objavljenoj literaturi.

U velikoj evropskoj studiji je navedena pozitivna korelacija između IgA i IgM, koje smo i mi imali u našem ispitivanju (Gathmann B i sar., 2014). Grupa autora navodi da postoji značajna pozitivna korelacija između IgG i CD4/CD8 (Musabak UH i sar., 2017) prisutna i u našim rezultatima, dok u dosadašnjoj literaturi nisu rađene korelacije nivoa imunoglobulina na početku bolesti i ćelija iz proširenog imunofenotipa koje smo mi našli (tabela 27).

BAFF indukovani signali su neophodni za razvoj i funkcionalnost B ćelija. Kreuzaler sa saradnicima je utvrdio da nivoi BAFF-a u krvi negativno korelišu sa brojem i procentom cirkulišućih B limfocita i dostupnosti BAFF receptora (Kreuzaler M i sar., 2012). Stoga veličina i dostupnost BAFF receptora su primarni faktori koji regulišu koncentraciju solubilnog BAFF-a. Naš rezultat o značajnoj negativnoj korelaciji između broja CD19+ limfocita i nivoa BAFF-a u krvi potvrđuje tu činjenicu (tabela 28), mada Kreuzaler ne isključuje ni infekciju ni inflamaciju kao moguće dugoročne činioce koji mogu uzrokovati visoke koncentracije BAFF-a, koje su ranije pomenute. U dosadašnjoj literaturi nisu objavljeni odnosi disajnih funkcija i broja CD4+ i CD19+ limfocita, kao i korelacija broja CD4+ limfocita i nivoa BAFF-a, ali su oni prediktivni faktori za mortalitet bolesnika sa CVID o čemu će biti reči kasnije. Kao što je ranije pomenuta ekspanzija aktiviranih limfocita u autoimunskim bolestima, u kojima je visok nivo BAFF-a, Warnatz je zaključio da je još uvek nepoznato da li visoki nivoi BAFF-a indukuju ove limfocita u CVID-u, što naše ispitivanje potvrđuje (Warnatz k i sar., 2012).

U dosadašnjoj literaturi nije rađena korelacija koncentracija BAFF i spirometrijskih parametara kod pacijenata sa CVID. Slično našim rezultatima (tabela 29), navedena je značajna negativna korelacija između nivoa BAFF u sputuma i FEV1 kod dece sa astmom (Jee HM i sar., 2010) i broja BAFF(+) makrofaga i FEV1 u HOBP-u (Polverino F i sar., 2010). Dosada, prema podacima u literaturi, nije rađena korelacija koncentracija BAFF i β 2 mikroglobulina kod pacijenata sa CVID. Pozitivna korelacija između ova dva markera je nađena u sistemske sklerozi i multipnom mijelomu (Lanteri A i sar., 2014; Pan J i sar., 2017), dok nije potvrđena kod bolesnika sa reumatoidnim artritisom, primarnom Sjegrenovom sindromu i hroničnoj limfocitnoj leukemiji (Gottenberg JE i sar., 2009; Gottenberg JE i sar., 2005; Ferrer G i sar., 2011). Korelacija između nivoa IL-10 i β 2 mikroglobulina nije dosada rađena u CVID-u, ali je nađena pozitivna korelacija kod pacijenata sa sistemskim eritemskim lupusom (Hermansen ML i sar., 2012) i u malignim hemopatijama kao što su Hočkinov limfom, B ćelijski limfom, hronična limfocitna leukemija (Visco C i sar., 2004; Kara IO i sar., 2007; Duletić-Nacinović A i sar., 2008), kao i u našem ispitivanju. U literaturi nije dosada navedena korelacija između nivoa BAFF-a i β 2 mikroglobulina i naivnih B limfocita.

Određeni broj pacijenata sa CVID-om, uprkos redovnom davanju IVIG-a, ima rekurentne bakterijske infekcije. Quinti I. sa saradnicima navodi da 13,3% pacijenata je imalo epizode rekurentnih pneumonija i zapaljenja srednjeg uva nakon dijagnoze, dok je u studiji Maarschalk-Ellebreek sa saradnicima 15% pacijenata imalo pneumoniju uprkos redovnom davanju IVIG-a (Quinti I i sar., 2007; Maarschalk-Ellebreek LJ i sar., 2014). Njihovi rezultati odgovaraju našem od 12,5% pacijenata sa rekurentnim infekcijama. U našem radu smo hteli da vidimo ulogu citokina u toj grupi bolesnika. Iako su kod pacijenata sa rekurentnim infekcijama bili povišeni nivoi oba citokina u krvi, jedino je za BAFF nađena značajnost (tabela 30; grafikon 9).

Visoki nivoi BAFF-a u krvi su nađeni u brojnim infekcijama, kao što su malarija, lajšmanijaza, hepatitis B i C, HIV (Nduati E i sar., 2011; Lake-Bakaar G i sar., 2012; Goto Y i sar., 2014; Yang C i sar., 2014; Carbone J i sar., 2015). U dostupnom pregledu literature nije bilo studija o ulozi BAFF kod pacijenata sa rekurentnim infekcijama u CVID-u. Naš nalaz o postojanju visokih nivoa BAFF-a kod takvih pacijenata bi mogli da objasnimo činjenicom da je on esencijalan kostimulatorni faktor

za humoralne imunske odgovore na polisaharide kapsule inkapsuliranih bakterija (*S. Pneumoniae* i *H. influenzae*), koje su najčešći uzroci respiratornih infekcija u CVID-u (Schreiber JR, 2012). Takođe, Kreuzaler i saradnici navode da dugotrajno povećanje koncentracije BAFF-a mogu biti odgovor na infekciju ili inflamaciju (Kreuzaler M, 2012).

U našoj grupi ispitanika 7 (17,5%) bolesnika je imalo neželjene reakcije prilikom davanja IVIG-a. U dosadašnjoj literaturi neželjene reakcije su se dešavale kod 9-22% pacijenata sa CVID (Björkander J i sar., 1987; Horn J i sar., 2007) i one su zahtevale primenu premedikacije u vidu davanja acetaminofena, kortikosteroida ili antihistaminika kod pojedinih pacijenata (Webb DB i sar., 1991). Ustanovljeno je da IgG anti-IgA At nisu uvek asocirane sa neželjenim reakcijama na IVIG (de Albuquerque Campos R i sar., 2000), pretpostavljen je IgE posredovan mehanizam (Gharib A i sar., 2016), koji zbog nedostatka komercijalnog testa nije ušao u upotrebu. Trenutni preparati IVIG-a na tržištu imaju blage neželjene reakcije u rasponu 2-6% (Orange JS i sar., 2006). U studiji Quinti i saradnika kod 5% pacijenata sa CVID-om su se dešavale teške anafilaktične reakcije uprkos premedikaciji i zamene preparata IVIG-a i njima su uvedeni preparati subkutanog davanja imunoglobulina. Kod dvoje pacijenata su se i dalje dešavale neželjene reakcije, koje su rešene sa postepenim povećanjem doze ili davanjem alternativnog preparata SCIG (Quinti I i sar., 2008).

U našoj grupi pacijenata tokom 18-godišnjeg praćenja je umrlo 13 od 51 pacijenta. Smrtnost je iznosila 25,46% (tabela 31). U dosadašnjim ispitivanjima smrtnosti tokom 1990-ih ona je iznosila od 27% za 20 godina praćenja u SAD (Cunningham-Rundles C i Bodian C, 1999), do 30% za 25 godina praćenja u Velikoj Britaniji (Hermaszewski RA i Webster AD, 1993). Tokom 2000-ih je zabeležen pad smrtnosti, tako da je u evropskom registru za obbolele smrtnost iznosila 15% tokom 22,5 godina (Cunningham-Rundles C, 2010), tako da je naš rezultat prilično visok u odnosu na evropski prosek.

U našoj grupi najčešći uzroci smrti su bili sepsa i komplikacije na plućima (tabela 32), potom malignitet. U drugim studijama su dobijeni slični podaci. U britanskoj studiji vodeći uzroci smrti bili su pneumonija i kancer (Brent J i sar., 2016). U američkoj plućna insuficijencija i malignitet (Resnick E i sar., 2012), slično

italijanskoj gde je najčešći kancer, a zatim hronična plućna bolest (Quinti I i sar., 2007). U studiji Chapel sa saradnicima vodeći uzrok smrti je bila sepsa potom limfomi (Chapel H i sar., 2008).

U našem ispitivanju faktori koji su povezani sa povećanim mortalitetom su bili kašnjenje u postavljanju dijagnoze, povišen IgM na početku bolesti, redukcija broja CD4+, CD19+ i tranzicionih limfocita, visoke vrednosti BAFF-a, nizak FEV1 i VC i povišene vrednosti aktiviranih limfocita (tabele 33 i 34; grafikon 10). U dosadašnjim ispitivanjima nađeni su brojni faktori udruženi sa većim rizikom mortaliteta. U američkoj studiji iz 1999. parametri povezani sa mortalitetom su bili nizak inicijalni IgG, slab T ćelijski odgovor na fitohemaglutinin i redukcija procenta CD19+ limfocita (Cunningham-Rundles C i Bodian C, 1999). U radu Chapel sa saradnicima je nađeno da samo broj CD19+ limfocita je povezan sa povećanim rizikom od smrti, mada je inicijalni povišeni nivo IgM blizu značajnosti ($p=0,06$). U studiji Resnicka sa saradnicima je nađeno da su rizici: raniji početak i ranija dijagnoza bolesti, snižen bazični IgG, manji broj CD19+ limfocita i povišen bazični IgM (Resnick E i sar., 2012). U studiji Gathmanna sa saradnicima je nađeno da su starije životno doba na početku bolesti i starije životno doba bolesnika, kašnjenje u postavljanju dijagnoze, kao i prisustvo limfoma ili tumora, povezani sa povećanim rizikom od smrti (Gathmann B i sar., 2014). U dostupnoj literaturi nisu rađene korelacije spirometrijskih vrednosti i procenta ćelija proširenog B fenotipa sa rizikom od smrti.

Smrtnost po broju kliničkih fenotipova po pacijentu u našem radu nije rastao sa brojem fenotipova, što je bilo pomalo neočekivano (tabela 35; grafikon 11). Najmanja smrtnost je bila u grupi pacijenata sa 3 fenotipa, dok je najveća od 100% bila u grupi pacijenata sa 4 klinička fenotipa.

Petogodišnje preživljavanje naših bolesnika je iznosilo 91,43% (tabela 36). Najmanje za grupu bolesnika sa autoimunskim bolestima 84,62%, najviše za bolesnika sa plućnim bolestima 96,55% (tabela 36). Naš rezultat je sličan francuskoj studiji gde je petogodišnje preživljavanje iznosilo od 86,7 do 92,4% (Ebbo M i sar., 2016).

Na grafikonu 12 je prikazan Kaplan-Meier-ov grafikon preživljavanja pacijenata sa COVID. Nije nađena značajna razlika između različitih kliničkih fenotipova, ali je

dugoročna prognoza najlošija za bolesnike sa gastrointestinalnim bolestima, potom sa autoimunskim i plućnim, dok bolesnici sa limfoproliferacijom imaju dugoročno najbolju prognozu, što su pokazale i druge studije. U studiji Chapel sa saradnicima najgoru prognozu su imali bolesnici sa enteropatijom, potom sa limfoproliferacijom, pa sa autoimunskim bolestima (Chapel H i sar., 2008). U njihovom novijem radu je pokazano da pored tih fenotipova i bolesnici sa hepatomegalijom i sa bronhiektazijama imaju lošiju prognozu (Chapel H i sar., 2012). U studiji Resnicka sa saradnicima je pokazano da bolesnici sa gastrointestinalnim bolestima, bolestima jetre, limfomom, hroničnom plućnom bolešću i malapsorpcijom imaju skraćen životni vek u odnosu na bolesnike bez tih komplikacija (Resnick E i sar., 2012).

Jedno od objašnjenja zašto bolesnici sa limfoproliferacijom imaju najbolju dugoročnu prognozu bi mogla dati plućna funkcija. Naime, jedan od faktora za goru prognozu bolesnika sa CVID u našoj studiji je značajno sniženje FEV1 (tabela 34), dok su bolesnici sa limfoproliferacijom imali značajno više vrednosti FEV1 i DLCO u odnosu na bolesnike bez limfoproliferacije (tabela 23; grafikon 6).

Bolesnici sa gastrointestinalnim, autoimunskim i plućnim bolestima, koji u našoj grupi imaju dugoročno goru prognozu, su imali češći nalaz nepovoljnog fenotipa smB-21^{lo}, dok su pacijenti sa limfoproliferacijama imali značajno češći nalaz povoljne fenotipske varijante smB-21ⁿ po Euroklas klasifikaciji (tabela 19), mada taj podatak dosada nije naveden u literaturi. Treba imati u vidu da su naše grupe pacijenata male, da bi se dali pouzdani zaključci o dugoročnim prognostičkim markerima.

Naše ispitivanje je prva celovita studija o adultnim pacijentima sa čestom varijabilnom imunodeficijencijom, koja je obuhvatila kliničke, imunoserološke, imunofenotipske i citokinske markere osnovne bolesti. Urađena je prva analiza prognostičkih markera ove bolesti u Srbiji, kao i srednje vreme preživljavanja i stopa mortaliteta. U našem radu smo po prvi put u literaturi potvrdili raniju pretpostavku da BAFF utiče na porast populacije aktiviranih limfocita u CVID-u.

6. ZAKLJUČCI:

U skladu sa postavljenim ciljevima istraživanja, a na osnovu dobijenih rezultata, može se zaključiti sledeće:

1. Ispitivanje demografskih, kliničkih i imunoseroloških parametara CVID je pokazalo:
 - a) Od CVID obolevaju sa istom učestalošću žene i muškarci, ali su žene statistički starije ($p < 0.05$). Srednja životna dob pri postavljanju dijagnoze je 33 godine, a srednje zakašnjenje u postavljanju dijagnoze je 6 godina
 - b) Najčešći klinički fenotip bile su hronične plućne bolesti (73%), dok se limfoproliferacija (57%), hronične gastrointestinalne (51%) i autoimunske bolesti (33%) javljaju u manjoj učestalosti. 67% pacijenata ima preklapanje dva ili više klinička fenotipa
 - c) Bolesnici sa različitim kliničkim fenotipovima se ne razlikuju na prvoj prezentaciji bolesti u demografskim i imunoserološkim parametrima
 - d) Najčešće infekcije koje su prethodile dijagnozi CVID-a bile su pneumonije, sinuzitisi i bronhitis. Najčešći mikroorganizmi izolovani kod bolesnika sa CVID su: *Str.pneumoniae*, *H.influencae*, *Pseudomonas A*, *Enterococcus i G.Lambliia*
 - e) Bolesnici sa CVID imaju značajno lošiju plućnu funkciju (snižen FEV1, VC, FEV1/FVC) u odnosu na zdrave kontrole ($p < 0.05$). Većina bolesnika sa CVID imaju negativnu tuberkulinsku PPD (3J) kožnu probu

2. Ispitivanje imunofenotipizacije limfocita periferne krvi pacijenata sa CVID je pokazalo:
 - a) Bolesnici sa CVID imaju u krvi značajnu redukciju broja CD3+, CD4+, CD19+, NK limfocita, indeksa CD4+/CD8+, kao i procenat memorijskih B limfocita sa promenjenom klasom, plazmoblasta i plazmoblasta sa promenjenom klasom u odnosu na zdrave kontrole ($p < 0.01$)
 - b) Bolesnici sa CVID imaju značajnu ekspanziju B limfocita sličnih ćelijama marginalne zone, tranzicionih i aktiviranih limfocita u odnosu na zdrave kontrole ($p < 0.05$). Bolesnici sa CVID se ne razlikuju značajno u broju

naivnih B, kao i naivnih i memorijskih T limfocita u odnosu na zdrave kontrole

- c) Klinički fenotip limfoproliferacija je povezan sa značajnom redukcijom memorijskih ćelija sa promenjenom klasom uz normalan broj tranzicionih (smB-Trⁿ) i aktiviranih (smB-21ⁿ) B limfocita ($p < 0.05$)
3. Ispitivanje koncentracije BAFF, IL-10, $\beta 2$ mikroglobulina i imunoglobulina u serumu i imunofenotipa limfocita periferne krvi pacijenata sa CVID je pokazalo da:
- a) Bolesnici sa CVID imaju značajno povišene nivoe BAFF, IL-10, ($p < 0.001$) i $\beta 2$ mikroglobulina ($p < 0.05$) u odnosu na zdrave kontrole
 - b) Bolesnici sa hroničnim plućnim bolestima imaju značajno niži broj CD4+, CD19+ limfocita, kao i procenat tranzicionih B limfocita u odnosu na pacijente bez ovog fenotipa ($p < 0.05$)
 - c) Bolesnici sa rekurentnim infekcijama i hroničnim gastrointestinalnim bolestima imaju značajno povišene koncentracije BAFF u krvi u odnosu na pacijente bez ovih fenotipova ($p < 0.05$)
 - d) Bolesnici sa limfoproliferacijom imaju značajno povišene nivoe $\beta 2$ mikroglobulina u odnosu na pacijente bez ovog kliničkog fenotipa ($p < 0.05$)
 - e) Bolesnici sa autoimunskim bolestima imaju značajno sniženu koncentraciju IL-10 i procenat naivnih B limfocita, dok su B limfociti slični ćelijama marginalne zone, aktivirani B limfociti i koncentracija IgA na prvoj prezentaciji značajno povišeni, u odnosu na pacijente bez ovog fenotipa ($p < 0.05$)
4. Ispitivanja korelacija između definisanih parametara kod bolesnika sa CVID su pokazala da postoji:
- a) Pozitivna korelacija između početka bolesti i vrednosti FEV1, VC i DLCO koja ukazuje na progresivno oštećenje plućne funkcije ($p < 0.05$)
 - b) Obrnuta korelacija između kašnjenja u dijagnozi bolesti i broja CD4+ i CD19+ limfocita ($p < 0.05$) ukazuje na značaj imunofenotipizacije u ranoj dijagnozi CVID

- c) Negativna korelacija između broja B limfocita i nivoa BAFF u krvi ukazuje da je broj B limfocita glavni regulator nivoa BAFF u krvi ($p < 0,01$)
 - d) Pozitivna korelacija između koncentracija $\beta 2$ mikroglobulina i BAFF u krvi ($p < 0,05$) ukazuje na značaj merenja $\beta 2$ mikroglobulina u ranoj dijagnozi fenotipa limfoproliferacije
 - e) Pozitivna korelacija između nivoa BAFF i procenta aktiviranih B limfocita ($p < 0,05$) ukazuje na značaj BAFF u indukciji autoimunskih fenomena
5. Ispitivanje preživljavanja i mortaliteta bolesnika sa COVID je pokazalo da:
- a) Petogodišnje preživljavanje iznosi 91,43%
 - b) Smrtnost bolesnika tokom 18-godišnjeg praćenja iznosi 25,5%, a najčešći uzroci letalnog ishoda bili su sepsa i akutne i hronične komplikacije plućnih bolesti
 - c) Bolesnici sa gastrointestinalnim i autoimunskim bolestima imaju najveću smrtnost, nižu stopu petogodišnjeg, kao i dugoročnog preživljavanja
6. Parametri povezani sa lošijom prognozom su:
- a) Kašnjenje u postavljanju dijagnoze ($p < 0,05$)
 - b) Povišena koncentracija IgM u krvi na početku bolesti ($p < 0,05$)
 - c) Redukcija broja CD4+, CD19+ ($p < 0,05$) i procenta tranzicionih B limfocita ($p < 0,01$) uz ekspanziju aktiviranih B limfocita ($p < 0,05$)
 - d) Povišena koncentracija BAFF u krvi ($p < 0,05$)
 - e) Oštećena plućna funkcija (nizak FEV1 i VC) ($p < 0,05$)
 - f) Preklapanje sva četiri klinička fenotipa

7. LITERATURA:

1. Abbas AK, Lichtman AH. Cellular and molecular immunology. 5th ed. Philadelphia: Saunders, 2003.
2. Agarwal S, Mayer L. Diagnosis and Treatment of Gastrointestinal Disorders in Patients With Primary Immunodeficiency. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2013;11(9):1050-1063.
3. Agondi RC, Barros MT, Rizzo LV, Kalil J, Giavina-Bianchi P. Allergic asthma in patients with common variable immunodeficiency. *Allergy.* 2010;65(4):510-5.
4. Al Kindi M, Mundy J, Sullivan T, Smith W, Kette F, Smith A, et al. Utility of peripheral blood B cell subsets analysis in common variable immunodeficiency. *Clin Exp Immunol.* 2012;167(2):275-81.
5. Ameratunga R, Woon ST, Gillis D, Koopmans W, Steele R. New diagnostic criteria for common variable immune deficiency (CVID), which may assist with decisions to treat with intravenous or subcutaneous immunoglobulin. *Clin Exp Immunol.* 2013;174(2):203-11.
6. Ardeniz O, Cunningham-Rundles C. Granulomatous disease in common variable immunodeficiency. *Clin Immunol.* 2009;133(2):198-207.
7. Arumugakani G, Wood PM, Carter CR. Frequency of Treg cells is reduced in CVID patients with autoimmunity and splenomegaly and is associated with expanded CD21^{lo} B lymphocytes. *J Clin Immunol.* 2010;30(2):292-300.
8. Aspalter RM, Sewell WA, Dolman K, Farrant J, Webster AD. Deficiency in circulating natural killer (NK) cell subsets in common variable immunodeficiency and X-linked agammaglobulinaemia. *Clin Exp Immunol.* 2000;121(3):506-14.
9. Azizi G, Abolhassani H, Kiaee F, Tavakolinia N, Rafiemanesh H, Yazdani R, et al. Autoimmunity and its association with regulatory T cells and B cell subsets in patients with common variable immunodeficiency. *Allergol Immunopathol (Madr).* "in press"

10. Ballegaard V, Permin H, Katzenstein TL, Marquart HV, Schejbel L. Long-term follow-up on affinity maturation and memory B-cell generation in patients with common variable immunodeficiency. *J Clin Immunol*. 2013;33(6):1067-77.
11. Barbosa RR, Silva SP, Silva SL, Tendeiro R, Melo AC, Pedro E, et al. Monocyte activation is a feature of common variable immunodeficiency irrespective of plasma lipopolysaccharide levels. *Clin Exp Immunol*. 2012; 169(3): 263–272.
12. Bateman EA, Ayers L, Sadler R, Lucas M, Roberts C, Woods A, et al. T cell phenotypes in patients with common variable immunodeficiency disorders: associations with clinical phenotypes in comparison with other groups with recurrent infections. *Clin Exp Immunol*. 2012;170(2):202-11.
13. Bayry J, Lacroix-Desmazes S, Kazatchkine MD, Galicier L, Lepelletier Y, Webster D, et al. Common variable immunodeficiency is associated with defective functions of dendritic cells. *Blood*. 2004;104(8):2441-3.
14. Björkander J, Hammarström L, Smith CI, Buckley RH, Cunningham-Rundles C, Hanson LA. Immunoglobulin prophylaxis in patients with antibody deficiency syndromes and anti-IgA antibodies. *J Clin Immunol*. 1987;7(1):8-15.
15. Boileau J, Mouillot G, Gérard L, Carmagnat M, Rabian C, Oksenhendler E, et al. Autoimmunity in common variable immunodeficiency: correlation with lymphocyte phenotype in the French DEFI study. *J Autoimmun*. 2011;36(1):25-32.
16. Bondioni MP, Soresina A, Lougaris V, Gatta D, Plebani A, Maroldi R. Common variable immunodeficiency: computed tomography evaluation of bronchopulmonary changes including nodular lesions in 40 patients. Correlation with clinical and immunological data. *J Comput Assist Tomogr*. 2010;34(3):395-401.
17. Bonilla FA, Khan DA, Ballas ZK, Chinen J, Frank MM, Hsu JT, et al. Practice parameter for the diagnosis and management of primary immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;136(5):1186-205.e1-78.
18. Bonilla FA, Barlan I, Chapel H, Costa-Carvalho BT, Cunningham-Rundles C, de la Morena MT, et al. International Consensus Document (ICON): Common Variable Immunodeficiency Disorders. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2016;4(1):38-59.

19. Bousfiha AA, Jeddane L, Ailal F, Benhsaien I, Mahlaoui N, Casanova JL, et al. Primary immunodeficiency diseases worldwide: more common than generally thought. *J Clin Immunol*. 2013 Jan;33(1):1-7.
20. Bouvry D, Mouthon L, Brillet PY, Kambouchner M, Ducroix JP, Cottin V, et al. Granulomatosis-associated common variable immunodeficiency disorder: a case-control study versus sarcoidosis. *Eur Respir J*. 2013;41(1):115-22.
21. Boyle JM, Buckley RH. Population prevalence of diagnosed primary immunodeficiency diseases in the United States. *J Clin Immunol*. 2007;27:497–502.
22. Brent J, Guzman D, Bangs C, Grimbacher B, Fayolle C, Huissoon A, et al. Clinical and laboratory correlates of lung disease and cancer in adults with idiopathic hypogammaglobulinaemia. *Clin Exp Immunol*. 2016;184(1):73-82.
23. Bruton OC. Agammaglobulinemia. *Pediatrics* 1952;9(6):722-8.
24. Carbone J, Calahorra L, Navarro J, Sarmiento E. Potential role of serum BAFF as a biomarker in HIV infection. *Infect Dis (Lond)*. 2015;47(4):260-2.
25. Chapel H, Lucas M, Lee M, Bjorkander J, Webster D, Grimbacher B, et al. Common variable immunodeficiency disorders: division into distinct clinical phenotypes. *Blood*. 2008;112(2):277-86.
26. Chapel H, Lucas M, Patel S, Lee M, Cunningham-Rundles C, Resnick E, et al. Confirmation and improvement of criteria for clinical phenotyping in common variable immunodeficiency disorders in replicate cohorts. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;130(5) :1197-1198.
27. Chen Y, Stirling RG, Paul E, Hore-Lacy F, Thompson BR, Douglass JA. Longitudinal decline in lung function in patients with primary immunoglobulin deficiencies. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;127(6):1414-7.
28. Conley ME, Notarangelo LD, Etzioni A. Diagnostic criteria for primary immunodeficiencies. Representing PAGID (Pan-American Group for Immunodeficiency) and ESID (European Society for Immunodeficiencies). *Clin Immunol*. 1999;93(3):190-7.
29. Cooper MD, Faulk WP, Fudenberg HH, Good RA, Hitzig W, Kunkel H, et al. Classification of primary immunodeficiencies. *N Engl J Med*. 1973;288:966–967.

30. Cunningham-Rundles C, Bodian C. Common variable immunodeficiency: clinical and immunological features of 248 patients. *Clin Immunol.* 1999;92(1):34-48.
31. Cunningham-Rundles C. How I treat common variable immunodeficiency. *Blood* 2010; 116(1):7-15.
32. Cunningham-Rundles C. The many faces of common variable immunodeficiency. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2012; 2012: 301–305.
33. Cunningham-Rundles C, Maglione PJ. Common variable immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol.* 2012;129(5):1425-1426.
34. de Albuquerque Campos R, Sato MN, da Silva Duarte AJ. IgG anti-IgA subclasses in common variable immunodeficiency and association with severe adverse reactions to intravenous immunoglobulin therapy. *J Clin Immunol.* 2000;20:77–82.
35. Dhalla F, da Silva SP, Lucas M, Travis S, Chapel H. Review of gastric cancer risk factors in patients with common variable immunodeficiency disorders, resulting in a proposal for a surveillance programme. *Clin Exp Immunol.* 2011;165(1):1-7.
36. Driessen GJ, van Zelm MC, van Hagen PM, Hartwig NG, Trip M, Warris A, et al. B-cell replication history and somatic hypermutation status identify distinct pathophysiologic backgrounds in common variable immunodeficiency. *Blood.* 2011;118(26):6814-23.
37. Duletić-Nacinović A, Stifter S, Marijić B, Lucin K, Valković T, Petranović D, et al. Serum IL-6, IL-8, IL-10 and beta2-microglobulin in association with International Prognostic Index in diffuse large B cell lymphoma. *Tumori.* 2008;94(4):511-7.
38. Ebbo M, Gerard L, Carpentier S, Vely F, Cypowyj S, Farnarier C, et al. Low Circulating Natural Killer Cell Counts are Associated With Severe Disease in Patients With Common Variable Immunodeficiency. *EBioMedicine.* 2016;6:222-230.
39. ESID. ESID Registry—working definitions for clinical diagnosis of PID. http://esid.org/content/download/13053/372959/file/ESIDRegistry_ClinicalCriteria.pdf 2015.

40. Faulkner GC, Burrows SR, Khanna R, Moss DJ, Bird AG, Crawford DH. X-Linked agammaglobulinemia patients are not infected with Epstein-Barr virus: implications for the biology of the virus. *J Virol*. 1999;73(2):1555-64.
41. Fernandez Romero DS, Juri MC, Paolini MV, Malbran A. Common variable immunodeficiency. Epidemiology and clinical manifestations in 69 patients. *Medicina (B Aires)*. 2013;73(4):315-23.
42. Ferrer G, Hodgson K, Pereira A, Juan M, Elena M, Colomer D, et al. Combined analysis of levels of serum B-cell activating factor and a proliferation-inducing ligand as predictor of disease progression in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma*. 2011;52(11):2064-8.
43. Fudenberg H, Good RA, Goodman HC, Hitzig W, Kunkel HG, Roitt IM, et al. Primary immunodeficiencies. Report of a World Health Organization Committee. *Pediatrics*. 1971 May;47(5):927-46.
44. Fuss IJ, Friend J, Yang Z, He JP, Hooda L, Boyer J, et al. Nodular regenerative hyperplasia in common variable immunodeficiency. *J Clin Immunol*. 2013;33(4):748-58.
45. Gathmann B, Binder N, Ehl S, Kindle G; ESID Registry Working Party. The European internet-based patient and research database for primary immunodeficiencies: update 2011. *Clin Exp Immunol*. 2012;167(3):479-91.
46. Gathmann B, Mahlaoui N; CEREDIH, Gerard L, Oksenhendler E, Warnatz K, et al. Clinical picture and treatment of 2212 patients with common variable immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;134(1):116-26.
47. Gharagozlou M, Ebrahimi FA, Farhoudi A, Aghamohammadi A, Bemanian MH, Chavoshzadeh Z, et al. Pulmonary complications in primary hypogammaglobulinemia: a survey by high resolution CT scan. *Monaldi Arch Chest Dis*. 2006;65(2):69-74.
48. Gharib A, Caperton C, Gupta S. Anaphylaxis to IGIV in immunoglobulin-naïve common variable immunodeficiency patient in the absence of IgG anti-IgA antibodies: successful administration of low IgA-containing immunoglobulin. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2016; 12: 23. doi:10.1186/s13223-016-0132-2.

49. Giovannetti A, Pierdominici M, Mazzetta F, Marziali M, Renzi C, Mileo AM, et al. Unravelling the complexity of T cell abnormalities in common variable immunodeficiency. *J Immunol*. 2007;178(6):3932-43.
50. Goto Y, Omachi S, Sanjoba C, Matsumoto Y. Elevation of serum B-cell activating factor levels during visceral leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg*. 2014;91(5):912-4.
51. Gottenberg JE, Busson M, Cohen-Solal J, Lavie F, Abbed K, Kimberly RP, et al. Correlation of serum B lymphocyte stimulator and beta2 microglobulin with autoantibody secretion and systemic involvement in primary Sjogren's syndrome. *Ann Rheum Dis*. 2005;64(7):1050-5.
52. Gottenberg JE, Miceli-Richard C, Ducot B, Goupille P, Combe B, Mariette X. Markers of B-lymphocyte activation are elevated in patients with early rheumatoid arthritis and correlated with disease activity in the ESPOIR cohort. *Arthritis Res Ther*. 2009;11(4): R114. doi: 10.1186/ar2773.
53. Graziano V, Pecoraro A, Mormile I, Quaremba G, Genovese A, Buccelli C, et al. Delay in diagnosis affects the clinical outcome in a cohort of covid patients with marked reduction of iga serum levels. *Clin Immunol*. 2017;180:1-4.
54. Gregersen S, Aalokken TM, Mynarek G, Kongerud J, Aukrust P, Froland SS, et al. High resolution computed tomography and pulmonary function in common variable immunodeficiency. *Respir Med*. 2009;103(6):873-80.
55. Hel Z, Huijbregts RP, Xu J, Nechvatalova J, Vlkova M, Litzman J. Altered serum cytokine signature in common variable immunodeficiency. *J Clin Immunol*. 2014;34(8): 971-8.
56. Hermansen ML, Hummelshøj L, Lundsgaard D, Hornum L, Keller P, Fleckner J, et al. Increased serum β 2-microglobulin is associated with clinical and immunological markers of disease activity in systemic lupus erythematosus patients. *Lupus*. 2012;21(10):1098-104.
57. Hermaszewski RA, Webster AD. Primary hypogammaglobulinaemia: a survey of clinical manifestations and complications. *Q J Med*. 1993;86(1):31-42.
58. Horn J, Thon V, Bartonkova D, Salzer U, Warnatz K, Schlesier M, et al. Anti-IgA antibodies in common variable immunodeficiency (CVID): diagnostic workup and therapeutic strategy. *Clin Immunol*. 2007;122(2):156-62.

59. Jacobi AM, Huang W, Wang T, Freimuth W, Sanz I, Furie R, et al. Effect of long-term belimumab treatment on B cells in systemic lupus erythematosus: extension of a phase II, double-blind, placebo-controlled, dose-ranging study. *Arthritis Rheum.* 2010;62(1):201-10.
60. Janeway CA, Apt L, Gitlin D. Agammaglobulinemia. *Trans Assoc Am Physicians.* 1953; 66:200-2.
61. Jee HM, Choi BS, Kim KW, Sohn MH, Han MY, Kim KE. Increased B cell-activating factor (BAFF) level in the sputum of children with asthma. *Korean J Pediatr.* 2010;53(8):795-800.
62. Jin R, Kaneko H, Suzuki H, Arai T, Teramoto T, Fukao T, et al. Age-related changes in BAFF and APRIL profiles and upregulation of BAFF and APRIL expression in patients with primary antibody deficiency. *Int J Mol Med.* 2008;21(2):233–8.
63. Joshi AY, Iyer VN, Hagan JB, Sauver JLS, Boyce TG. Incidence and temporal trends of primary immunodeficiency: a population based cohort study. *Mayo Clin Proc.* 2009;84(1):16–22.
64. Jurišić V. Characteristics of natural killer cell. *Srp Arh Celok lek.* 2006; 134(1-2): 71-6.
65. Kainulainen L, Varpula M, Liippo K, Svedström E, Nikoskelainen J, Ruuskanen O. Pulmonary abnormalities in patients with primary hypogammaglobulinemia. *J Allergy Clin Immunol.* 1999;104(5):1031-6.
66. Kalled SL. The role of BAFF in immune function and implications for autoimmunity. *Immunol Rev.* 2005;204:43-54.
67. Kara IO, Sahin B, Gunesacar R. Expression of soluble CD27 and interleukins-8 and -10 in B-cell chronic lymphocytic leukemia: correlation with disease stage and prognosis. *Adv Ther.* 2007;24(1):29-40.
68. Kasztalska K, Ciebiada M, Cebula-Obrzut B, Górski P. Intravenous immunoglobulin replacement therapy in the treatment of patients with common variable immunodeficiency disease: an open-label prospective study. *Clin Drug Investig.* 2011;31(5):299-307.
69. Kerstjens HA, Rijcken B, Schouten JP, Postma DS. Decline of FEV1 by age and smoking status: facts, figures and fallacies. *Thorax* 1997;52:820-7.

70. Kienzler AK, Hargreaves CE, Patel SY. The role of genomics in common variable immunodeficiency disorders. *Clin Exp Immunol*. 2017;188(3):326-332.
71. Knight AK, Radigan L, Marron T, Langs A, Zhang L, Cunningham-Rundles C. High serum levels of BAFF, APRIL, and TACI in common variable immunodeficiency. *Clin Immunol*. 2007; 124(2):182–9.
72. Kreuzaler M, Rauch M, Salzer U, Birmelin J, Rizzi M, Grimbacher B, et al. Soluble BAFF levels inversely correlate with peripheral B cell numbers and the expression of BAFF receptors. *J Immunol*. 2012;188(1):497-503.
73. Kutukculer N, Gulez N, Karaca NE, Aksu G, Berdeli A. Three different classifications, B lymphocyte subpopulations, TNFRSF13B (TACI), TNFRSF13C (BAFF-R), TNFSF13 (APRIL) gene mutations, CTLA-4 and ICOS gene polymorphisms in Turkish patients with common variable immunodeficiency. *J Clin Immunol*. 2012;32(6):1165-79.
74. Kutukculer N, Azarsiz E, Karaca NE, Ulusoy E, Koturoglu G, Aksu G. A Clinical and Laboratory Approach to the Evaluation of Innate Immunity in Pediatric CVID Patients. *Front Immunol*. 2015;6:145.doi: 10.3389/fimmu.2015.00145
75. Lake-Bakaar G, Jacobson I, Talal A. B cell activating factor (BAFF) in the natural history of chronic hepatitis C virus liver disease and mixed cryoglobulinaemia. *Clin Exp Immunol*. 2012;170(2):231-7.
76. Lanteri A, Sobanski V, Langlois C, Lefevre G, Hauspie C, Sanges S, et al. Serum free light chains of immunoglobulins as biomarkers for systemic sclerosis characteristics, activity and severity. *Autoimmun Rev*. 2014;13(9):974-80.
77. Latiff AHA, Kerr MA. The clinical significance of immunoglobulinA deficiency. *Ann Clin Biochem* 2007;44(2):131-9.
78. Lee JJ, Ozcan E, Rauter I, Geha RS. Transmembrane activator and calcium-modulator and cyclophilin ligand interactor mutations in common variable immunodeficiency. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2008;8(6):520-6.
79. Lee PP, Chen TX, Jiang LP, Chan KW, Yang W, Lee BW, et al. Clinical characteristics and genotype-phenotype correlation in 62 patients with X-linked agammaglobulinemia. *J Clin Immunol*. 2010;30(1):121-31.

80. Lied GA, Berstad A. Functional and clinical aspects of the B-cell-activating factor (BAFF): a narrative review. *Scand J Immunol.* 2011;73(1):1-7.
81. Loebinger MR, Wells AU, Hansell DM, Cinyanganya N, Devaraj A, Meister M, et al. Mortality in bronchiectasis: a long-term study assessing the factors influencing survival. *Eur Respir J* 2009;34:843-9.
82. Maarschalk-Ellerbroek LJ, Hoepelman AI, van Montfrans JM, Ellerbroek PM. The spectrum of disease manifestations in patients with common variable immunodeficiency disorders and partial antibody deficiency in a university hospital. *J Clin Immunol.* 2012;32(5):907-21.
83. Maarschalk-Ellerbroek LJ, Oldenburg B, Mommers IM, Hoepelman AI, Brosens LA, Offerhaus GJ, et al. Outcome of screening endoscopy in common variable immunodeficiency disorder and X-linked agammaglobulinemia. *Endoscopy.* 2013;45(4): 320-3.
84. Maarschalk-Ellerbroek LJ, de Jong PA, van Montfrans JM, Lammers JW, Bloem AC, Hoepelman AI, et al. CT screening for pulmonary pathology in common variable immunodeficiency disorders and the correlation with clinical and immunological parameters. *J Clin Immunol.* 2014;34(6):642-54.
85. Mackay F, Browning JL. BAFF: a fundamental survival factor for B cells. *Nat Rev Immunol.* 2002; 2(7):465-75.
86. Maffucci P, Filion CA, Boisson B, Itan Y, Shang L, Casanova JL, et al. Genetic Diagnosis Using Whole Exome Sequencing in Common Variable Immunodeficiency. *Front Immunol.* 2016;7:220.doi: 10.3389/fimmu.2016.00220
87. Maglione PJ, Overbey JR, Radigan L, Bagiella E, Cunningham-Rundles C. Pulmonary radiologic findings in common variable immunodeficiency: clinical and immunological correlations. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2014;113(4):452-9.
88. Maglione PJ. Autoimmune and Lymphoproliferative Complications of Common Variable Immunodeficiency. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2016;16(3):19.doi: 10.1007/s11882-016-0597-6.
89. Mahlaoui N, Gathmann B, Kindle G, Ehl S; ESID Registry Working Party; ESID Society. The European Society for Immunodeficiencies (ESID) Registry: recent

- advancements in the epidemiology of Primary Immunodeficiencies and how does that translate in clinical care. *RARE Journal* 2014;1(4):25-7.
90. Malamut G, Ziol M, Suarez F, Beaugrand M, Viallard JF, Lascaux AS, et al. Nodular regenerative hyperplasia: the main liver disease in patients with primary hypogammaglobulinemia and hepatic abnormalities. *J Hepatol.* 2008;48(1):74-82.
 91. Malamut G, Verkarre V, Suarez F, Viallard JF, Lascaux AS, Cosnes J, et al. The enteropathy associated with common variable immunodeficiency: the delineated frontiers with celiac disease. *Am J Gastroenterol.* 2010;105(10):2262-75.
 92. Mannon PJ, Fuss IJ, Dill S, Friend J, Groden C, Hornung R, et al. Excess IL-12 but not IL-23 accompanies the inflammatory bowel disease associated with common variable immunodeficiency. *Gastroenterology.* 2006;131(3):748-56.
 93. Martínez García MA, de Rojas MD, Nauffal Manzur MD, Muñoz Pamplona MP, Compte Torrero L, Macián V, et al. Respiratory disorders in common variable immunodeficiency. *Respir Med.* 2001;95(3):191-5.
 94. Martini H, Enright V, Perro M, Workman S, Birmelin J, Giorda E, et al. Importance of B cell co-stimulation in CD4(+) T cell differentiation: X-linked agammaglobulinemia, a human model. *Clin Exp Immunol.* 2011;164(3):381-7.
 95. Mellor-Pita S, Citores MJ, Castejon R, Yebra-Bango M, Tutor-Ureta P, Rosado S, et al. Monocytes and T lymphocytes contribute to a predominance of interleukin 6 and interleukin 10 in systemic lupus erythematosus. *Cytom B Clin Cytom.* 2009; 76(4):261–70.
 96. Miyagaki T, Fujimoto M, Sato S. Regulatory B cells in human inflammatory and autoimmune diseases: from mouse models to clinical research. *Int Immunol.* 2015; 27(10):495-504.
 97. Modell V, Gee B, Lewis DB, Orange JS, Roifman CM, Routes JM, et al. Global study of primary immunodeficiency diseases (PI) diagnosis, treatment, and economic impact: an updated report from the Jeffrey Modell Foundation. *Immunol Res* 2011;51(1):61-70.
 98. Mohammadinejad P, Pourhamdi S, Abolhassani H, Mirminachi B, Havaei A, Masoom SN, et al. Primary Antibody Deficiency in a Tertiary Referral Hospital: A 30-Year Experiment. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2015;25(6):416-25.

99. Moratto D, Gulino AV, Fontana S, Mori L, Pirovano S, Soresina A, et al. Combined decrease of defined B and T cell subsets in a group of common variable immunodeficiency patients. *Clin Immunol*. 2006;121(2):203-14.
100. Morbach H, Eichhorn EM, Liese JG, Girschick HJ. Reference values for B cell subpopulations from infancy to adulthood. *Clin Exp Immunol*. 2010;162(2):271-9.
101. Mouillot G, Carmagnat M, Gerard L, Garnier JL, Fieschi C, Vince N, et al. B-cell and T-cell phenotypes in CVID patients correlate with the clinical phenotype of the disease. *J Clin Immunol*. 2010;30(5):746-55.
102. Mullighan CG, Fanning GC, Chapel HM, Welsh KI. TNF and lymphotoxin-alpha polymorphisms associated with common variable immunodeficiency: role in the pathogenesis of granulomatous disease. *J Immunol*. 1997;159(12):6236-41.
103. Murray PJ. Understanding and exploiting the endogenous interleukin-10/STAT3-mediated anti-inflammatory response. *Curr Opin Pharmacol*. 2006;6(4):379-86.
104. Musabak UH, Demirel F, Yesillik S, Baysan A, Selcuk A, Kartal Ö, et al. Adults with common variable immunodeficiency: a single-center experience. *Turk J Med Sci*. 2017; 47(1):1-12.
105. Nduati E, Gwela A, Karanja H, Mugenyi C, Langhorne J, Marsh K, et al. The plasma concentration of the B cell activating factor is increased in children with acute malaria. *J Infect Dis*. 2011;204(6):962-70.
106. Ng TH, Britton GJ, Hill EV, Verhagen J, Burton BR, Wraith DC. Regulation of adaptive immunity; the role of interleukin-10. *Front Immunol*. 2013;4:129. doi: 10.3389/fimmu.2013.00129.
107. Nonas S. Pulmonary Manifestations of Primary Immunodeficiency Disorders. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2015;35(4):753-66.
108. North ME, Spickett GP, Webster AD, Farrant J. Raised serum levels of CD8, CD25 and beta 2-microglobulin in common variable immunodeficiency. *Clin Exp Immunol*. 1991;86(2):252-5.
109. Notarangelo LD, Fischer A, Geha RS, Casanova JL, Chapel H, Conley ME, et al. Primary immunodeficiencies: 2009 update. *J Allergy Clin Immunol*. 2009;124:1161–1178.

110. Nourizadeh M, Aghamohammadi A, Moazzeni SM, Mahdavi M, Jalili A, Rezaei N, et al. Altered dendritic cell function in response to sera of common variable immunodeficiency patients. *Inflamm Res*. 2007;56(12):527-32.
111. Ochtrop ML, Goldacker S, May AM, Rizzi M, Draeger R, Hauschke D, et al. T and B lymphocyte abnormalities in bone marrow biopsies of common variable immunodeficiency. *Blood*. 2011;118(2):309-18.
112. Oksenhendler E, Gerard L, Fieschi C, Malphettes M, Mouillot G, Jaussaud R, et al. Infections in 252 patients with common variable immunodeficiency. *Clin Infect Dis*. 2008;46(10):1547-54.
113. Oliveira JB, Fleisher TA. Laboratory evaluation of primary immunodeficiencies. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;125(2 Suppl 2):S297-S305.
114. Orange JS, Hossny EM, Weiler CR, Ballou M, Berger M, Bonilla FA, et al. Use of intravenous immunoglobulin in human disease: a review of evidence by members of the Primary Immunodeficiency Committee of the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology. *J Allergy Clin Immunol*. 2006;117(4 Suppl):S525-53.
115. Pan J, Sun Y, Zhang N, Li J, Ta F, Wei W, et al. Characteristics of BAFF and APRIL factor expression in multiple myeloma and clinical significance. *Oncol Lett*. 2017;14(3): 2657-2662.
116. Park JH, Levinson AI. Granulomatous-lymphocytic interstitial lung disease (GLILD) in common variable immunodeficiency (CVID). *Clin Immunol*. 2010;134(2):97-103.
117. Patuzzo G, Barbieri A, Tinazzi E, Veneri D, Argentino G, Moretta F, et al. Autoimmunity and infection in common variable immunodeficiency (CVID). *Autoimmun Rev*. 2016;15(9):877-82.
118. Petri M, Stohl W, Chatham W, McCune WJ, Chevrier M, Ryel J, et al. Association of plasma B lymphocyte stimulator levels and disease activity in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2008; 58(8):2453-9.
119. Pierson W, Liston A. A new role for interleukin-10 in immune regulation. *Immunol Cell Biol*. 2010;88(8):769-70.
120. Piqueras B, Lavenu-Bombled C, Galicier L, Bergeron-van der Cruyssen F, Mouthon L, Chevret S, et al. Common variable immunodeficiency patient

- classification based on impaired B cell memory differentiation correlates with clinical aspects. *J Clin Immunol.* 2003;23(5):385-400.
121. Pituch-Noworolska A, Zwonarz K, Błaut-Szlósarczyk A, Szaflarska A, Kowalczyk D, Siedlar M. T lymphocytes and NK cells in X-linked agammaglobulinemia. *Przegl Lek.* 2013;70(12):1048-50.
122. Polverino F, Baraldo S, Bazzan E, Agostini S, Turato G, Lunardi F, et al. A novel insight into adaptive immunity in chronic obstructive pulmonary disease: B cell activating factor belonging to the tumor necrosis factor family. *Am J Respir Crit Care Med.* 2010;182(8):1011-9.
123. Quinti I, Soresina A, Spadaro G, Martino S, Donnanno S, Agostini C, et al. Long-term follow-up and outcome of a large cohort of patients with common variable immunodeficiency. *J Clin Immunol.* 2007;27(3):308-16.
124. Quinti I, Soresina A, Agostini C, Spadaro G, Matucci A, Sfika I, et al. Prospective study on CVID patients with adverse reactions to intravenous or subcutaneous IgG administration. *J Clin Immunol.* 2008;28(3):263-7.
125. Ramirez-Vargas N, Arablin-Oropeza SE, Mojica-Martinez D, Yamazaki-Nakashimada MA, de la Luz Garcia-Cruz M, Teran-Juarez LM, et al. Clinical and immunological features of common variable immunodeficiency in Mexican patients. *Allergol Immunopathol (Madr).* 2014;42(3):235-40.
126. Reisi M, Azizi G, Kiaee F, Masiha F, Shirzadi R, Momen T, et al. Evaluation of pulmonary complications in patients with primary immunodeficiency disorders. *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* 2017;49(3):122-128.
127. Resnick ES, Moshier EL, Godbold JH, Cunningham-Rundles C. Morbidity and mortality in common variable immune deficiency over 4 decades. *Blood.* 2012;119(7):1650-1657.
128. Rezaei N, Aghamohammadi A, Notarangelo L. Primary immunodeficiency diseases: definition, diagnosis, and management. 1st ed. Berlin: Springer, 2008.
129. Sabat R, Grütz G, Warszawska K, Kirsch S, Witte E, Wolk K, et al. Biology of interleukin-10. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2010;21(5):331-44.
130. Said EA, Dupuy FP, Trautmann L, Zhang Y, Shi Y, El-Far M, et al. Programmed death-1-induced interleukin-10 production by monocytes impairs CD4+ T cell activation during HIV infection. *Nat Med.* 2010;16(4):452-9.

131. Sanchez-Ramon S, Radigan L, Yu JE, Bard S, Cunningham-Rundles C. Memory B cells in common variable immunodeficiency: clinical associations and sex differences. *Clin Immunol.* 2008;128(3):314-21.
132. Schmidt NW, Thieu VT, Mann BA, Ahyi AN, Kaplan MH. Bruton's tyrosine kinase is required for TLR-induced IL-10 production. *J Immunol.* 2006; 177(10):7203-10.
133. Schreiber JR. Role of Toll like receptors in the antibody response to encapsulated bacteria. *Front Biosci (Elite Ed).* 2012;4:2638-46.
134. Scott-Taylor TH, Green MR, Eren E, Webster AD. Monocyte derived dendritic cell responses in common variable immunodeficiency. *Clin Exp Immunol.* 2004;138(3):484-90.
135. Shouval DS, Ouahed J, Biswas A, Goettel JA, Horwitz BH, Klein C, et al. Interleukin 10 receptor signaling: master regulator of intestinal mucosal homeostasis in mice and humans. *Adv Immunol.* 2014;122:177-210.
136. Smet J, Mascart F, Schandené L. Are the reference values of B cell subpopulations used in adults for classification of common variable immunodeficiencies appropriate for children? *Clin Immunol.* 2011;138(3):266-73.
137. Stagg AJ, Funauchi M, Knight SC, Webster AD, Farrant J. Failure in antigen responses by T cells from patients with common variable immunodeficiency (CVID). *Clin Exp Immunol.* 1994;96(1):48-53.
138. Stenken JA, Poschenrieder AJ. Bioanalytical chemistry of cytokines-a review. *Anal Chim Acta.* 2015;853:95-115.
139. Strannegard O, Björkander J, Hellstrand K, Pacsa A, Hermodsson S, Hanson LA. Interferon and beta 2-microglobulin in patients with common variable immunodeficiency or selective IgA deficiency. *Int Arch Allergy Appl Immunol.* 1987;84(3):217-22.
140. Stray-Pedersen A, Abrahamsen TG, Froland SS. Primary immunodeficiency diseases in Norway. *J Clin Immunol.* 2000 Nov;20(6):477-85.
141. Sullivan KE, Puck JM, Notarangelo LD, Fuleihan R, Caulder T, Wang C, et al. USIDNET: A Strategy to Build a Community of Clinical Immunologists. *J Clin Immunol.* 2014;34(4):428-435.

142. Sullivan KE, Stiehm ER. Stiehm's Immune Deficiencies. 1st ed. London: Elsevier, 2014.
143. Thickett KM, Kumararatne DS, Banerjee AK, Dudley R, Stableforth DE. Common variable immune deficiency: respiratory manifestations, pulmonary function and high-resolution CT scan findings. *Q J Med* 2002; 95:655-662.
144. Thien M, Phan TG, Gardam S, Amesbury M, Basten A, Mackay F, et al. Excess BAFF rescues self-reactive B cells from peripheral deletion and allows them to enter forbidden follicular and marginal zone niches. *Immunity*. 2004;20(6):785-98.
145. Thon V, Wolf HM, Sasgary M, Litzman J, Samstag A, Hauber I, et al. Defective integration of activating signals derived from the T cell receptor (TCR) and costimulatory molecules in both CD4+ and CD8+ T lymphocytes of common variable immunodeficiency (CVID) patients. *Clin Exp Immunol*. 1997;110(2):174-81.
146. Touw CM, van de Ven AA, de Jong PA, Terheggen-Lagro S, Beek E, Sanders EA, et al. Detection of pulmonary complications in common variable immunodeficiency. *Pediatr Allergy Immunol*. 2010;21(5):793-805.
147. Tseng CW, Lai KL, Chen DY, Lin CH, Chen HH. The Incidence and Prevalence of Common Variable Immunodeficiency Disease in Taiwan, A Population-Based Study. *Speletas M, ed. PLoS ONE*. 2015;10(10):e0140473.
148. Turner DM, Williams DM, Sankaran D, Lazarus M, Sinnott PJ, Hutchinson IV. An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter. *Eur J Immunogenet*. 1997; 24(1):1-8.
149. Unger S, Seidl M, Schmitt-Graeff A, Bohm J, Schrenk K, Wehr C, et al. Ill-defined germinal centers and severely reduced plasma cells are histological hallmarks of lymphadenopathy in patients with common variable immunodeficiency. *J Clin Immunol*. 2014;34(6):615-26.
150. van de Ven AA, de Jong PA, Hoytema van Konijnenburg DP, Kessels OA, Boes M, Sanders EA, et al. Airway and interstitial lung disease are distinct entities in paediatric common variable immunodeficiency. *Clin Exp Immunol*. 2011;165(2):235-42.

151. Varzaneh FN, Keller B, Unger S, Aghamohammadi A, Warnatz K, Rezaei N. Cytokines in common variable immunodeficiency as signs of immune dysregulation and potential therapeutic targets - a review of the current knowledge. *J Clin Immunol*. 2014;34(5):524-43.
152. Vincent FB, Morand EF, Mackay F. BAFF and innate immunity: new therapeutic targets for systemic lupus erythematosus. *Immunol Cell Biol*. 2012;90(3):293-303.
153. Visco C, Vassilakopoulos TP, Kliche KO, Nadali G, Viviani S, Bonfante V, et al. Elevated serum levels of IL-10 are associated with inferior progression-free survival in patients with Hodgkin's disease treated with radiotherapy. *Leuk Lymphoma*. 2004; 45(10):2085-92.
154. Warnatz K, Denz A, Drager R, Braun M, Groth C, Wolff-Vorbeck G, et al. Severe deficiency of switched memory B cells (CD27(+)IgM(-)IgD(-)) in subgroups of patients with common variable immunodeficiency: a new approach to classify a heterogeneous disease. *Blood*. 2002;99(5):1544-51.
155. Warnatz K, Voll RE. Pathogenesis of autoimmunity in common variable immunodeficiency. *Frontiers in Immunology*. 2012;3:210. doi:10.3389/fimmu.2012.00210.
156. Watts WJ, Watts MB, Dai W, Cassidy JT, Grum CM, Weg JG. Respiratory dysfunction in patients with common variable hypogammaglobulinemia. *Am Rev Respir Dis*. 1986; 134:699–703.
157. Webb DB, Kendra JR, Gross E, Stamatakis JD. Infusion of intravenous immunoglobulin via implantable subcutaneous catheter. *Lancet*. 1991;337(8757): 1617-8.
158. Wehr C, Kivioja T, Schmitt C, Ferry B, Witte T, Eren E, et al. The EUROclass trial: defining subgroups in common variable immunodeficiency. *Blood*. 2008;111(1):77-85.
159. Wehr C, Gennery AR, Lindemans C, Schulz A, Hoenig M, Marks R, et al. Multicenter experience in hematopoietic stem cell transplantation for serious complications of common variable immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;135(4):988-97.

160. Weinberger T, Maglione P, Cunningham-Rundles C. Differences in Pulmonary Complications in Common Variable Immunodeficiency and X-Linked Agammaglobulinemia. *J Allergy Clin Immunol.* 2017;139(2):Supplement, AB111.
161. Woodward J, Gkrania-Klotsas E, Kumararatne D. Chronic norovirus infection and common variable immunodeficiency. *Clin Exp Immunol.* 2017;188(3):363-370.
162. Wright JJ, Wagner DK, Blaese RM, Hagengruber C, Waldmann TA, Fleisher TA. Characterization of common variable immunodeficiency: identification of a subset of patients with distinctive immunophenotypic and clinical features. *Blood.* 1990; 76(10):2046-51.
163. Wheat WH, Cool CD, Morimoto Y, Rai PR, Kirkpatrick CH, Lindenbaum BA, et al. Possible role of human herpesvirus 8 in the lymphoproliferative disorders in common variable immunodeficiency. *J Exp Med.* 2005;202(4):479-84.
164. Xiao X, Miao Q, Chang C, Gershwin ME, Ma X. Common variable immunodeficiency and autoimmunity--an inconvenient truth. *Autoimmun Rev.* 2014;13(8):858-64.
165. Yang C, Li N, Wang Y, Zhang P, Zhu Q, Li F, et al. Serum levels of B-cell activating factor in chronic hepatitis B virus infection: association with clinical diseases. *J Interferon Cytokine Res.* 2014;34(10):787-94.
166. Yazdani R, Seify R, Ganjalikhani-Hakemi M, Abolhassani H, Eskandari N, Golsaz-Shirazi F, et al. Comparison of various classifications for patients with common variable immunodeficiency (CVID) using measurement of B-cell subsets. *Allergol Immunopathol (Madr).* 2017;45(2):183-192.
167. Zhang P, Liu X, Guo A, Xiong J, Fu Y, Zou K. B Cell-Activating Factor as a New Potential Marker in Inflammatory Bowel Disease. *Dig Dis Sci.* 2016;61(9):2608-18.
168. Zhou Z, Huang R, Danon M, Mayer L, Cunningham-Rundles C. IL-10 production in common variable immunodeficiency. *Clin Immunol Immunopathol.* 1998;86(3):298-304.

SPISAK SKRAĆENICA

Ag	antigen
AIHA	autoimuna hemolizna anemija
ANOVA	jednofaktorska analiza varijanse
At	antitelo
BAFF	B ćelijski aktivacioni faktor
CD	klaster diferencijacije
21low	niska ekspresija antigena 21
CMV	citomegalovirus
CVID	česta varijabilna imunodeficijencija
DC	dendritske ćelije
DLCO	difuzijski kapacitet pluća za ugljen monoksid
EBV	Epštajn-Bar virus
ESID	evropsko udruženje za imunodeficijencije
FACS	protočna citometrija
FEV1	forsirani ekspirijumski volumen u prvoj sekundi
FEV1/FVC	odnos forsiranog ekspiratornog volumena u prvoj sekundi i forsiranog vitalnog kapaciteta
FVC	forsirani vitalni kapacitet
GIT	gastrointestinalni
GLILD	granulomatozno-limfocitna intersticijska plućna bolest
HIV	sindrom stečene imunodeficijencije
HOBP	hronična opstruktivna bolest pluća
IBD	inflamatorna bolest debelog creva
ICOS	inducibilni T ćelijski kostimulator

IL	interleukin
Ig	imunoglobulin
ITP	idiopatska trombocitopenija
IVIG	intravenski imunoglobulini
J	jedinica
KCS	Klinički centar Srbije
L	ligand
MDD	minimalna detektovana doza
MSCT	multislajzni skener
NK	urođenoubilačke
n.v.	normalna vrednost
PAD	imunodeficijencije sa predominantnom deficijencijom antitela
PAGID	panameričke grupe za imunodeficijencije
PID	primarne imunodeficijencije
PPD	prečišćeni proteinski derivat
SCID	teška kombinovana imunodeficijencija
SCIG	subkutani imunoglobulini
SD	standardna devijacija
SEL	sistemski eritemski lupus
TACI	transmembranski kalcijum-modulišući ciklofilinski ligand
VC	vitalni kapacitet
XAG	X vezana agamaglobulinemija

BIOGRAFIJA AUTORA

Dr Radovan Mijanović je rođen u Beogradu 30. maja 1970. Medicinski fakultet u Beogradu je završio 1994. sa prosečnom ocenom 9,68. Opšti klinički i specijalistički staž je obavio u Kliničkom centru Srbije. Bio je stipendista Ministarstva za nauku i tehnologiju republike Srbije od 1995-97. Od avgusta 2000. godine je zaposlen na Klinici za alergologiju i imunologiju Kliničkog centra Srbije. Specijalistički ispit iz Interne medicine je položio juna 2001. i od tada radi u Internističkoj intenzivnoj nezi Urgentnog centra.

Titulu magistar medicinskih nauka je dobio marta 2009. odbranom rada „Analiza faktora rizika i dijagnostika preosetljivosti na opšte anestetike, miorelaksanse i lateks“. Titulu supspecijalista alergologije i kliničke imunologije je dobio jula 2009. odbranom rada „Uticaj atopije i prethodnih operativnih zahvata u opštoj anesteziji na učestalost pozitivnih In vivo testova sa opštim anestheticima i miorelaksansima“. Ministarstvo zdravlja republike Srbije mu je dodelilo titulu Primarijusa januara 2014.

Autor i koautor je u 27 stručna rada i publikacija, od kojih je 3 *in extenso* u časopisima sa JCR liste, 1 ceo rad u zborniku nacionalnog skupa, 18 apstrakata sa međunarodnih i 5 apstrakata sa domaćih kongresa. Učestvovao je kao saradnik u dve kliničke studije, koje su se bavile ispitivanjem uloge rekombinantnog C1 inhibitora u lečenju hereditarnog angioedema. Član je stručnog saveta Udruženja za hereditarni angioedem Srbije, evropske akademije alergologa i kliničkih imunologa i evropskog udruženja za imunodeficijencije. Aktivno se služi računarima i engleskim jezikom.

Prilog 1.

Izjava o autorstvu

Potpisani-a Radovan Mijanović

broj upisa _____

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

„Ispitivanje kliničkih, imunoseroloških, imunofenotipskih i citokinskih profila pacijenata

sa čestom varijabilnom imunodeficijencijom“

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 05.12.2017.

Pleijadobut

Prilog 2.

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora Radovan Mijanović

Broj upisa _____

Studijski program _____

Naslov rada „Ispitivanje kliničkih, imunoseroloških, imunofenotipskih i citokinskih profila pacijenata sa čestom varijabilnom imunodeficijencom“

Mentor Prof.dr Branka Bonači-Nikolić

Potpisani Radovan Mijanović

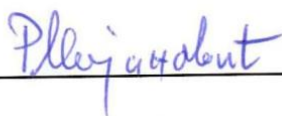
izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 05.12.2017.



Prilog 3.

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

„Ispitivanje kliničkih, imunoseroloških, imunofenotipskih i citokinskih profila pacijenata sa čestom varijabilnom imunodeficijencijom“

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1) Autorstvo

2. Autorstvo - nekomercijalno
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerade
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poleđini lista).

Potpis doktoranda

U Beogradu, 05.12.2017.

