

**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**Β΄Κλινική Εντατικής Θεραπείας
Διευθυντής: Καθηγητής Η. Τσαγκάρης**

**ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΑΝΟΣΟΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΚΑΙ
ΑΝΟΣΟΠΑΡΑΛΥΣΗΣ ΣΤΗ ΣΗΨΗ**

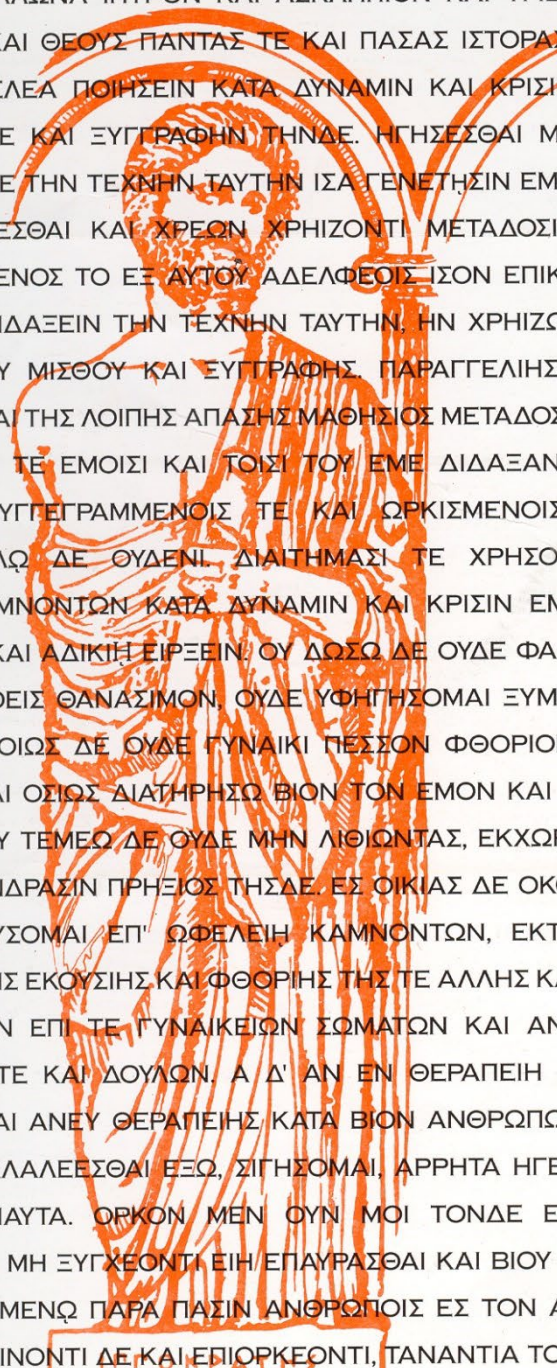
**ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ Δ. ΛΕΒΕΝΤΟΓΙΑΝΝΗΣ
ΙΑΤΡΟΣ, ΕΙΔΙΚΟΣ ΕΣΩΤΕΡΙΚΗΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΑΘΗΝΑ 2025

ΙΠΠΟΚΡΑΤΙΚΟΣ ΟΡΚΟΣ

ΚΕΙΜΕΝΟ



ΟΜΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΙΗΤΡΟΝ ΚΑΙ ΑΣΚΛΗΠΙΟΝ ΚΑΙ ΥΓΙΕΙΑΝ ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ ΙΣΤΟΡΑΣ ΠΟΙΕΥΜΕΝΟΣ, ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ. ΗΓΗΣΕΣΘΑΙ ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΞΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΣΕΣΘΑΙ ΚΑΙ ΧΡΕΟΝ ΧΡΗΖΟΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΕΣΘΑΙ ΚΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΞ ΑΥΤΟΥ ΑΔΕΛΦΕΙΣ ΙΣΟΝ ΕΠΙΚΡΙΝΕΕΙΝ ΑΡΡΕΣΙ ΚΑΙ ΔΙΔΑΞΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ, ΗΝ ΧΡΗΖΩΣΙ ΜΑΝΘΑΝΕΙΝ, ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΣ. ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΗΣ ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΛΟΙΠΗΣ ΑΠΑΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΕΣΘΑΙ ΥΙΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣΙ ΚΑΙ ΤΟΙΣΙ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΞΑΝΤΟΣ ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΑΙΣΙ ΞΥΓΓΕΓΡΑΜΜΕΝΟΙΣ ΤΕ ΚΑΙ ΟΡΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ ΙΗΤΡΙΚΩ, ΑΛΛΩ ΔΕ ΟΥΔΕΝΙ ΔΙΑΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ, ΕΠΙ ΔΗΛΗΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΗ ΕΙΡΞΕΙΝ, ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΣΙΜΟΝ, ΟΥΔΕ ΥΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΞΥΜΒΟΥΛΙΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ· ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ ΟΥΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΘΟΡΙΟΝ ΔΩΣΩ. ΑΓΝΩΣ ΔΕ ΚΑΙ ΟΣΙΟΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ. ΟΥ ΤΕΜΕΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΛΙΘΙΩΝΤΑΣ, ΕΚΧΩΡΗΣΩ ΔΕ ΕΡΓΑΤΗΣΙΝ ΑΝΔΡΑΣΙΝ ΠΡΗΕΙΟΣ ΤΗΣΔΕ. ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ ΕΣΙΩ, ΕΣΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ, ΕΚΤΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΙΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΙΗΣ ΤΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ ΤΕ ΓΥΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΕΙΩΝ, ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΤΕ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ. Α Δ' ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΗ Η ΙΔΩ Η ΑΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΕΙΗΣ ΚΑΤΑ ΒΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, Α ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΛΑΛΕΕΣΘΑΙ ΕΞΩ, ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ, ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟΙΑΥΤΑ. ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΕΟΝΤΙ ΚΑΙ ΜΗ ΞΥΓΧΕΟΝΤΙ ΕΙΗ/ΕΠΑΥΡΑΣΘΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ, ΔΟΞΑΖΟΜΕΝΩ ΠΑΡΑ ΠΑΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΣ ΤΟΝ ΑΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ· ΠΑΡΑΒΑΙΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΕΟΝΤΙ, ΤΑΝΑΝΤΙΑ ΤΟΥΤΕΩΝ.

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 16/03/2018
Ημερομηνία κατάθεσης πρωτοκόλλου διδακτορικής διατριβής: 21/12/2018
Ημερομηνία κατάθεσης θέματος: 07/01/2019
Ημερομηνία κατάθεσης πρώτης έκθεσης προόδου: 19/09/2022
Ημερομηνία κατάθεσης δεύτερης έκθεσης προόδου: 13/02/2023
Ημερομηνία κατάθεσης τρίτης έκθεσης προόδου: 08/01/2024
Ημερομηνία κατάθεσης διδακτορικής διατριβής: 10/01/2025

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Καθηγητής Ηρακλής Τσαγκάρης, Επιβλέπον Μέλος ΔΕΠ
Καθηγητής Ευάγγελος Ι. Γιαμαρέλλος-Μπουρμπούλης
Καθηγητής Γεώργιος Δημόπουλος

Πρόεδρος Ιατρικής Σχολής: Καθηγητής Ν. Αρκαδόπουλος

Ημερομηνία ορισμού επταμελούς εξεταστικής επιτροπής: 03/02/2025

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή:

1. Ηρακλής Τσαγκάρης
2. Ευάγγελος Γιαμαρέλλος-Μπουρμπούλης
3. Γεώργιος Δημόπουλος
4. Αντώνιος Παπαδόπουλος
5. Ελένη Μπουτάτη
6. Γαρυφαλλιά Πουλάκου
7. Νικολέτα Ροβίνα

Ημερομηνία υποστήριξης Διδακτορικής Διατριβής : 05/03/2025
Βαθμολογία : «ΑΡΙΣΤΑ»

Αφιερώνω την διατριβή μου

στη σύζυγο μου Υρώ και στην κόρη μας, στην οικογένειά μου,

που με στηρίζουν με την αμέριστη αγάπη τους και την

υπομονή τους ώστε να πραγματοποιήσω τα όνειρά μου...

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Σελ.
• Βιογραφικό σημείωμα	6-13
• Αντί προλόγου/Ευχαριστίες	14
• Γενικό Μέρος	15-43
• Ειδικό Μέρος	
Εισαγωγή/Μέθοδοι	44-52
Αποτελέσματα	53-81
Συζήτηση	82-86
• Ελληνική περίληψη	87
• Αγγλική περίληψη	88
• Βιβλιογραφία	89-113

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΟΝΟΜΑ: ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ

ΕΠΩΝΥΜΟ: ΛΕΒΕΝΤΟΓΙΑΝΝΗΣ

ΟΝΟΜΑ ΠΑΤΡΟΣ: ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΓΕΝΝΗΣΗΣ: 02/08/1978

ΤΟΠΟΣ ΓΕΝΝΗΣΗΣ: ΠΕΙΡΑΙΑΣ

ΒΑΣΙΚΕΣ ΣΠΟΥΔΕΣ

06/1996: Αποφοίτηση από το 1ο Γενικό Λύκειο Νίκαιας

5/10/2011: Αποφοίτηση από Ιατρική Σχολή. Βαθμός Πτυχίου «Λίαν Καλώς»
(Γενικός μέσος όρος 8,22 στα 10)

ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

30/9/2020: Απόκτηση Τίτλου Ιατρικής Ειδικότητας Εσωτερικής Παθολογία
(Αρ.Πρωτ.: 11665/30-9-2020)

ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ

ΑΓΓΛΙΚΑ

12/1993: “Certificate of Advanced English (CAE)” University of Cambridge

ΔΕΞΙΟΤΗΤΕΣ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΩΝ

Microsoft Office (Word, Excel, Powerpoint)

SPSS Statistics

ΠΡΟΫΠΗΡΕΣΙΑ

9/8/2006 έως 9/8/2007: Εκπλήρωση στρατιωτικής θητείας

1/10/2012 έως 1/7/2015: Επιστημονικός συνεργάτης στη Δ΄ Πανεπιστημιακή
Παθολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου «ΑΤΤΙΚΟΝ»
(Διευθυντής Καθηγητής Γεώργιος Πετρίκκος)

24/7/2015 έως 23/7/2020: Ειδικευόμενος ιατρός Παθολογίας για την ειδικότητα της Εσωτερικής Παθολογίας στην 4^η Πανεπιστημιακή Παθολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου «ΑΤΤΙΚΟΝ» (Διευθυντής: Καθηγητής Δημήτριος Μπούμπας)

1/3/2021-31/8/2023: Ακαδημαϊκός Υπότροφος Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ στη Δ΄ Πανεπιστημιακή Παθολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου «ΑΤΤΙΚΟΝ» (Διευθυντής Καθηγητής Δημήτριος Μπούμπας) με γνωστικό αντικείμενο «ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ-ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΛΟΙΜΩΞΕΩΝ» με κλινικό, διδακτικό και ερευνητικό αντικείμενο (υπεύθυνος Καθηγητής κ. Γιαμαρέλλος-Μπουρμπούλης)

ΠΑΡΟΥΣΑ ΘΕΣΗ

1/9/2023 έως ΣΗΜΕΡΑ: Ιατρός Εσωτερικής Παθολογίας
Επιστημονικός συνεργάτης στη Δ΄ Πανεπιστημιακή Παθολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου «ΑΤΤΙΚΟΝ» (Διευθυντής Καθηγητής Σωτήριος Τσιόδρας) υπαγόμενος στο τμήμα Ανοσολογίας Λοιμώξεων (υπεύθυνος Καθηγητής κ. Γιαμαρέλλος-Μπουρμπούλης)

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΑ ΙΑΤΡΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ ΜΕΤΑ ΚΡΙΣΗ

1. Hölle T, Rehn P, **Leventogiannis K**, Kotsaki A, Kanni T, Antonakos N, Psarrakis C, Damoraki G, Schenz J, Schmitt FCF, Uhle F, Weigand MA, Giamarellos-Bourboulis EJ, Dietrich M. .Evaluation of the Novel Sepsis Biomarker Host-Derived Delta-like Canonical Notch Ligand 1-A Secondary Analysis of 405 Patients Suffering from Inflammatory or Infectious Diseases. *Int J Mol Sci*. 2023 May 23;24(11):9164.
2. Tsilika M, Mitrou J, Antonakos N, Tseti IK, Damoraki G, **Leventogiannis K**, Giamarellos-Bourboulis EJ. An active new formulation of iron carried by aspartyl casein for iron-deficiency anemia: results of the ACCESS trial. *Ann Hematol*. 2023 Jun;102(6):1341-1349

3. Kyriazopoulou E, **Leventogiannis K**, Tavoulareas G, Mainas E, Toutouzas K, Mathas C, Prekates A, Sakka V, Panagopoulos P, Syrigos K, Giamarellos-Bourboulis EJ. Presepsin as a diagnostic and prognostic biomarker of severe bacterial infections and COVID-19. *Sci Rep*. 2023 Mar 7;13(1):3814.
4. **Leventogiannis K**, Mouktaroudi M, Giamarellos-Bourboulis EJ. Clinical evidence supporting ceftaroline fosamil and ceftobiprole for complicated skin and soft tissue infections. *Curr Opin Infect Dis*. 2023 Apr 1;36(2):89-94.
5. Akinosoglou K, Kotsaki A, Gounaridi IM, Christaki E, Metallidis S, Adamis G, Fragkou A, Fantoni M, Rapti A, Kalomenidis I, Chrysos G, Boni G, Kainis I, Alexiou Z, Castelli F, Serino FS, Bakakos P, Nicastrì E, Tzavara V, Safarika A, Ioannou S, Dagna L, Dimakou K, Tzatzagou G, Chini M, Bassetti M, Kotsis V, Angheben A, Tsoukalas G, Selmi C, Spiropoulou OM, Samarkos M, Doumas M, Damoraki G, Masgala A, Papanikolaou I, Argyraki A, Negri M, **Leventogiannis K**, Sympardi S, Gatselis NK, Petrakis V, Netea MG, Panagopoulos P, Sakka V, Milionis H, Dalekos GN, Giamarellos-Bourboulis EJ. Efficacy and safety of early soluble urokinase plasminogen receptor plasma-guided anakinra treatment of COVID-19 pneumonia: A subgroup analysis of the SAVE-MORE randomised trial. *EClinicalMedicine*. 2023 Feb; 56:101785.
6. **Leventogiannis K**, Kyriazopoulou E, Antonakos N, Kotsaki A, Tsangaris I, Markopoulou D, Grondman I, Rovina N, Theodorou V, Antoniadou E, Koutsodimitropoulos I, Dalekos G, Vlachogianni G, Akinosoglou K, Koulouras V, Komnos A, Kontopoulou T, Prekates A, Koutsoukou A, van der Meer JWM, Dimopoulos G, Kyprianou M, Netea MG, Giamarellos-Bourboulis EJ. Toward personalized immunotherapy in sepsis: The PROVIDE randomized clinical trial. *Cell Rep Med*. 2022 Nov 15;3(11):1008
7. Tsilika M, Taks E, Dolianitis K, Kotsaki A, **Leventogiannis K**, Damoulari C, Kostoula M, Paneta M, Adamis G, Papanikolaou I, Stamatelopoulos K, Bolanou A, Katsaros K, Delavinia C, Perdios I, Pandi A, Tsiakos K, Proios N, Kalogianni E, Delis I, Skliros E, Akinosoglou K, Perdikouli A, Poulakou G, Milionis H, Athanassopoulou E, Kalpaki E, Efstratiou L, Perraki V, Papadopoulos A, Netea MG, Giamarellos-Bourboulis EJ. Corrigendum:

- ACTIVATE-2: A double-blind randomized trial of BCG vaccination against COVID-19 in individuals at risk. *Front Immunol.* 2022 Aug 31; 13:1018384.
8. Tsilika M, Taks E, Dolianitis K, Kotsaki A, **Leventogiannis K**, Damoulari C, Kostoula M, Paneta M, Adamis G, Papanikolaou I, Stamatelopoulos K, Bolanou A, Katsaros K, Delavinia C, Perdios I, Pandi A, Tsiakos K, Proios N, Kalogianni E, Delis I, Skliros E, Akinosoglou K, Perdikouli A, Poulakou G, Milionis H, Athanassopoulou E, Kalpaki E, Efstratiou L, Perraki V, Papadopoulos A, Netea MG, Giamarellos-Bourboulis EJ. ACTIVATE-2: A Double-Blind Randomized Trial of BCG Vaccination Against COVID-19 in Individuals at Risk. *Front Immunol.* 2022 Jul 5; 13:873067.
 9. Dalekos GN, Stefos A, Georgiadou S, Lygoura V, Michail A, Ntaios G, Samakidou A, Giannoulis G, Gabeta S, Vlychou M, Petinaki E, **Leventogiannis K**, Giamarellos-Bourboulis EJ, Gatselis NK. .Lessons from pathophysiology: Use of individualized combination treatments with immune interventional agents to tackle severe respiratory failure in patients with COVID-19. *Eur J Intern Med.* 2021 Jun; 88:52-62.
 10. Grondman I, de Nooijer AH, Antonakos N, Janssen NAF, Mouktaroudi M, **Leventogiannis K**, Medici M, Smit JWA, van Herwaarden AE, Joosten LAB, van de Veerdonk FL, Pickkers P, Kox M, Jaeger M, Netea MG, Giamarellos-Bourboulis EJ, Netea-Maier RT. The Association of TSH and Thyroid Hormones With Lymphopenia in Bacterial Sepsis and COVID-19 *J Clin Endocrinol Metab.* 2021 Jun 16;106(7):1994-2009.
 11. Doulou S, **Leventogiannis K**, Tsilika M, Rodencal M, Katrini K, Antonakos N, Kyprianou M, Karofylakis E, Karageorgos A, Koufargyris P, Christopoulos G, Kassianidis G, Stamatelopoulos K, Newberry R, Giamarellos-Bourboulis EJ. A novel optical biosensor for the early diagnosis of sepsis and severe Covid-19: the PROUD study. *BMC Infect Dis.* 2020 Nov 19;20(1):860.
 12. Sweeney TE, Liesenfeld O, Wacker J, He YD, Rawling D, Remmel M, Coyle S, Midic U, Kotsaki A, Kanavou A, **Leventogiannis K**, Kontogeorgou I, Giamarellos-Bourboulis EJ. Validation of Inflammopathic, Adaptive, and Coagulopathic Sepsis Endotypes in Coronavirus Disease 2019. *Crit Care Med.* 2021 Feb 1;49(2):e170-e178.

13. Velissaris D, Dimopoulos G, Parissis J, Alexiou Z, Antonakos N, Babalis D, Gerakari S, Kaldis V, Koutoukas P, Lada M, **Leventogiannis K**, Pantazopoulos I, Papadopoulos A, Polyzogopoulou E, Gogos C, Armaganidis A, Giamarellos-Bourboulis EJ. Prognostic Role of Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor at the Emergency Department: A Position Paper by the Hellenic Sepsis Study Group. *Infect Dis Ther*. 2020 Sep;9(3):407-416.
14. **Leventogiannis K**, Gkolfakis P, Spithakis G, Tsatali A, Pistiki A, Sioulas A, Giamarellos-Bourboulis EJ, Triantafyllou K. Correction to: Effect of a Preparation of Four Probiotics on Symptoms of Patients with Irritable Bowel Syndrome: Association with Intestinal Bacterial Overgrowth. *Probiotics Antimicrob Proteins*. 2019 Jun;11(2):635-637.
15. **Leventogiannis K**, Gkolfakis P, Spithakis G, Tsatali A, Pistiki A, Sioulas A, Giamarellos-Bourboulis EJ, Triantafyllou K. Effect of a Preparation of Four Probiotics on Symptoms of Patients with Irritable Bowel Syndrome: Association with Intestinal Bacterial Overgrowth Probiotics Antimicrob Proteins. 2019 Jun;11(2):627-634.
16. Kyriazopoulou E, **Leventogiannis K**, Norrby-Teglund A, Dimopoulos G, Pantazi A, Orfanos SE, Rovina N, Tsangaris I, Gkavogianni T, Botsa E, Chassiou E, Kotanidou A, Kontouli C, Chaloulis P, Velissaris D, Savva A, Cullberg JS, Akinosoglou K, Gogos C, Armaganidis A, Giamarellos-Bourboulis EJ; Hellenic Sepsis Study Group. Macrophage activation-like syndrome: an immunological entity associated with rapid progression to death in sepsis. *BMC Med*. 2017 Sep 18;15(1):172.
17. Georgitsi MD, Vitoros V, Panou C, Tsangaris I, Aimoniotou E, Gatselis NK, Chasou E, Kouliatsis G, **Leventogiannis K**, Velissaris D, Belesiotou E, Dioritou-Aggaliadou O, Giannitsioti E, Netea MG, Giamarellos-Bourboulis EJ, Giannikopoulos G, Alexiou Z, Voloudakis N, Koutsoukou A; Hellenic Sepsis Study Group. Individualized significance of the -251 A/T single nucleotide polymorphism of interleukin-8 in severe infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2016 Apr;35(4):563-70.

18. Chounta A, Ellinas C, Tzanetakou V, Pliarhopoulou F, Mplani V, Oikonomou A, **Leventogiannis K**, Giamarellos-Bourboulis EJ. Serum soluble urokinase plasminogen activator receptor as a screening test for the early diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Liver Int.* 2015 Feb;35(2):601-7.
19. Giamarellos-Bourboulis EJ, Spyridaki A, Savva A, Georgitsi M, Tsaganos T, Mouktaroudi M, Raftogiannis M, Antonopoulou A, Papaziogas V, Baziaka F, Sereti K, Christopoulos P, Marioli A, Kanni T, Maravitsa P, Pantelidou I, **Leventogiannis K**, Tsiaoussis P, Lymberopoulou K, Koutelidakis IM. Intravenous paracetamol as an antipyretic and analgesic medication: the significance of drug metabolism. *J Pharmacol Sci.* 2014;124(2):144-52.

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ ΤΟΥ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟΥ

1. G.N. Dalekos, A. Stefos, S. Georgiadou, V. Lygoura, A. Michail, G. Ntaios, A. Samakidou, G. Giannoulis, S. Gabeta, M. Vlychoy, E. Petinaki, **K. Leventogiannis**, E.J. Giamarellos-Bourboulis, N. Gatselis. Lessons from pathophysiology: Use of individualized combination treatments with immune interventional agents to tackle severe respiratory failure in patients with COVID-19 infection. 19th European Congress of Internal Medicine, Μάρτιος 2021 (αναρτημένη ανακοίνωση PV276 / #1805)
2. G.N. Dalekos, A. Stefos, S. Georgiadou, V. Lygoura, D. Sagris, P. Arvaniti, A. Michail, G. Ntaios, A. Samakidou, G. Giannoulis, G. Vatidis, D. Stergioula, S. Gabeta, M. Vlychoy, E. Petinaki, **K. Leventogiannis**, E.J. Giamarellos-Bourboulis, N. Gatselis. Need of personalized combination immunotherapies for SARS-CoV-2 infection: Final report of a large cohort of COVID-19 patients. 9η Πανελλήνια Συνάντηση «AIDS, Ηπατίτιδες & Αναδυόμενα Νοσήματα, 23 Σεπτεμβρίου 2021 (αναρτημένη ανακοίνωση AA06)
3. Damoulari C., Kanni T., Koufargyris P., Katrini K., Stergianou D., **Leventogiannis K.**, Giamarellos-Bourboulis E. J. Modulation of Hydrogen Sulfide in Hidradenitis Suppurativa. 12th Hybrid Conference of the EHSF 2023 Hidradenitis Suppurativa. Φεβρουάριος 2023 (αναρτημένη ανακοίνωση #142)

4. **Konstantinos Leventogiannis**, Panagiotis Koufargyris, Konstantina Katrini, Evangelos J. Giamarellos-Bourboulis, Antigone Kotsaki. Hhydrogen sulfide in sepsis according to the state of immune activation. 20th Congress of the European Shock Society - ESS 2023. Σεπτέμβριος 2023 (αναρτημένη ανακοίνωση #205)
5. A. Gogos, T. Kanni, **K. Leventogiannis**, E. Giamarellos-Bourboulis. Depression severity in adults with hidradenitis suppurativa. 13th Conference of the European Hidradenitis Suppurativa Foundation, Φεβρουάριος 2024 (αναρτημένη ανακοίνωση #126)
6. C. Damoulari, K. Katrini, **K. Leventogiannis**, E. Nikolaou, T. Kanni, E. Giamarellos-Bourboulis. Modulation of cytokine production in patients with hidradenitis suppurativa by COVID medical history. 13th Conference of the European Hidradenitis Suppurativa Foundation, Φεβρουάριος 2024 (αναρτημένη ανακοίνωση #134)
7. S Doulou, K Dakou, **K Leventogiannis**, E Giamarellos-Bourboulis. Score 2 as a prediction severity score for patients with community acquired pneumonia: an analysis of the access study. 43rd International Symposium on Intensive Care & Emergency Medicine. Μάρτιος 2024 (αναρτημένη ανακοίνωση P211)
8. I Mitrou, C Psarrakis, N Antonakos, **K Leventogiannis**, E Giamarellos-Bourboulis. Probiotics as modifiers of the innate immune response in covid-19 and ARDS: a case-control study. 43rd International Symposium on Intensive Care & Emergency Medicine. Μάρτιος 2024 (αναρτημένη ανακοίνωση P218)
9. Stavroula P Chachali, **Konstantinos Leventogiannis**, Konstantina Katrini, Evangelos J. Giamarellos-Bourboulis, Nikolaos Antonakos. Innate immune characteristics of Covid pneumonia: impact of the period of the pandemic. 43rd International Symposium on Intensive Care & Emergency Medicine. Μάρτιος 2024 (αναρτημένη ανακοίνωση P164)

10. I. Nikolakakis, E. Tasouli, S. Gerakari, S. Sympardi, P. Thanasoulas, E. Polyzogou, J. Parissis, E. Giamarellos-Bourboulis, **K. Leventogiannis**. Evaluating the MeMed BV® score in adult patients presenting with respiratory infections: a prospective multicenter observational trial (CRONUS study). 43rd International Symposium on Intensive Care & Emergency Medicine. Μάρτιος 2024 (αναρτημένη ανακοίνωση P006)

ΟΜΙΛΙΕΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

1. Πανελλήνιο Συνέδριο της Ελληνικής Ομάδας Μελέτης της Σήψης, Σεπτέμβριος 2023. Στρογγυλό Τραπέζι με θέμα: «Προβιοτικά και διεθνείς κατευθυντήριες συστάσεις»
2. 28^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελικοβακτηριδίου του Πυλωρού και λοιπών Λοιμώξεων του Πεπτικού. Απριλίου 2023. Στρογγυλό Τραπέζι με θέμα: «Προβιοτικά και μικροβίωμα»
3. 29^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελικοβακτηριδίου του Πυλωρού και Ανθρώπινου Μικροβιώματος. Απριλίου 2024. Στρογγυλό Τραπέζι με θέμα: «Το μικροβίωμα ως θεραπευτικός στόχος»
4. Συνέδριο 100 χρόνια Ιατρικού Συλλόγου Αθηνών, Μάιος 2024. Στρογγυλό Τραπέζι με θέμα: «Νεότερες εξελίξεις στις λοιμώξεις – εμβόλια ενηλίκων και παιδιών»

ΚΡΙΤΗΣ ΣΕ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

1. Scientific Reports
2. International Journal of Antimicrobial Agents
3. Journal of Innate Immunity

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στο Ερευνητικό Εργαστήριο Ανοσολογίας Λοιμώξεων της Δ΄ Πανεπιστημιακής Παθολογικής Κλινικής και τη Β΄ Πανεπιστημιακής Κλινική Εντατικής Θεραπείας του Νοσοκομείου «ΑΤΤΙΚΟΝ».

Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμότερες ευχαριστίες μου στην τριμελή επιτροπή τον επιβλέποντα Καθηγητή κ. Η.Τσαγκάρη, τον Καθηγητή κ. Δημόπουλο και κυρίως τον Καθηγητή κ.Ευάγγελο Γιαμαρέλλο-Μπουρμπούλη για την επιστημονική καθοδήγηση, εμπιστοσύνη και στήριξη όλα αυτά τα χρόνια .

Σε όλους τους ιατρούς που συμμετείχαν σε αυτή την κλινική μελέτη καθώς και στους ασθενείς και τις οικογένειες τους για τη συνεργασία.

Σε όλους τους εργαζόμενους του Ελληνικού Ινστιτούτου Μελέτης της Σήψης για την πολύτιμη βοήθειά τους σε διοικητικά και οργανωτικά ζητήματα της μελέτης.

Σε όλους τους συνεργάτες του Ερευνητικού Εργαστηρίου Ανοσολογίας Λοιμώξεων στο Π.Γ.Ν. «Αττικόν» για την πολύτιμη βοήθεια τους στη διαχείριση του μεγάλου όγκου των βιολογικών δειγμάτων.

Στη συνάδελφο Παθολόγο κ.Μαρία Μουκταρούδη , θα ήθελα να εκφράσω ιδιαίτερω την ευγνωμοσύνη μου, γιατί με εμπιστεύτηκε και με ενθάρρυνε στα πρώτα μου ιατρικά βήματα και με τιμά όλα αυτά τα χρόνια με τη φιλία της.

Στους γονείς μου Δημήτρη και Γεωργία, την αδερφή μου Έυα για την στήριξη τους όλα αυτά τα χρόνια.

Στη σύζυγο μου Υρώ για την υπομονή της ,τη στήριξη της και τη βαθιά κατανόηση που με ενδυναμώνει και μου εμπνέει συναισθηματική σταθερότητα όλα αυτά τα χρόνια της κοινής μας διαδρομής .

Κωνσταντίνος Δημ. Λεβεντογιάννης
Ιατρός-Ειδικός Εσωτερικής Παθολογίας

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

A.ΑΙΜΟΦΑΓΟΚΥΤΤΑΡΙΚΑ ΣΥΝΔΡΟΜΑ

I.ΑΙΜΟΦΑΓΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ (HLH)

Το αιμοφαγοκυτταρικό σύνδρομο ή αλλιώς αιμοφαγοκυτταρική λεμφοϊστιοκυττάρωση (HLH), εκτός από μια σπάνια και δυνητικώς θανατηφόρα πάθηση των παιδών και των ενηλίκων, αποτελεί ένα ετερογενές κλινικοεργαστηριακό σύνδρομο που χαρακτηρίζεται από τη δυσλειτουργία των κυτοκινών και την ανεξέλεκτη συσσώρευση και ενεργοποίηση των T λεμφοκυττάρων και των ιστιοκυττάρων. Η αδυναμία της μείωσης της έντασης της ανοσολογικής απάντησης οδηγεί σε διάφορες κλινικές εκδηλώσεις, σε υπερφλεγμονώδεις καταστάσεις και σε καταστροφικές βλάβες στα τελικά όργανα. Η HLH αναμφισβήτητα σε αρκετές περιπτώσεις διαλάθει της προσοχής και υποδιαγιγνώσκεται, γιατί έχει την ικανότητα να μιμείται άλλες παρόμοιες καταστάσεις και παθήσεις. Τα τελευταία χρόνια με την εξέλιξη της μοριακής γενετικής και της καλύτερης κατανόησης της παθογένειας του συνδρόμου, καθώς κι ένα σύνολο διαγνωστικών κριτηρίων, μπορεί να βοηθήσει τον κλινικό στην έγκαιρη διάγνωση της πάθησης νωρίς, διαχειρίζοντάς την έτσι, προκειμένου να αποτρέψει σημαντικά τη νοσηρότητα και τον θάνατο.¹

Οι πρώτες αναφορές του συνδρόμου έγιναν το 1939 από τους παιδιάτρους Scott και Robb-Smith.² Το σύνδρομο μπορεί να παρατηρηθεί σε όλες τις ηλικίες και η επιβίωση εκτιμάται < 10% σε ασθενείς που δεν θα λάβουν ανοσοχημειοθεραπεία.³ Η πλειονότητα των προοπτικών μελετών, κλινικά και θεραπευτικά πρωτόκολλα, αφορούν παιδιατρικούς ασθενείς, καθώς σε αυτήν την ηλικιακή ομάδα έχει περιγραφεί καλύτερα.^{3 4} Κύρια χαρακτηριστικά αποτελούν η αυξημένη διαφοροποίηση και ενεργοποίηση μακροφάγων κυττάρων, με συνοδό φαγοκυττάρωση. Διακρίνεται σε πρωτοπαθές και δευτεροπαθές και αποτελεί σπάνια οντότητα. Η επικρατούσα θεωρία που έχει αναπτυχθεί για την εξήγηση του συνδρόμου, τόσο του πρωτοπαθούς όσο και του δευτεροπαθούς, είναι η δυσλειτουργία ή η έλλειψη δραστηριότητας των κυττάρων φυσικών φονέων (NK cells), καθώς και των κυτταροτοξικών T

λεμφοκυττάρων.⁵ Παράλληλα παρατηρείται - λόγω υψηλής διέγερσης, χωρίς αποτελεσματική ανοσολογική ανταπόκριση- υπερκυτοναιμία η οποία πιθανά είναι συνέπεια κληρονομικής ή επίκτητης αδυναμίας του ανοσοποιητικού συστήματος να αντιμετωπίσει το ερέθισμα που προέρχεται τις περισσότερες φορές από κάποιο μολυσματικό αίτιο-παράγοντα. Οι λοιμώξεις, οι νεοπλασίες, τα αυτοάνοσα νοσήματα, οι διάφορες μεταβολικές παθήσεις, οι ανοσοανεπάρκειες (AIDS,ιατρογενείς) όπως και οι μεταμοσχεύσεις αποτελούν καταστάσεις που μπορούν να οδηγήσουν σε αιμοφαγοκυτταρική λεμφοϊστοκυττάρωση (HLH).

Το αιμοφαγοκυτταρικό σύνδρομο χαρακτηρίζεται από μεγάλο αριθμό συμπτωμάτων και ευρημάτων.Τα πιο συχνά από αυτά είναι ο εμμένων πυρετός, η ηπατοσπληνομεγαλία, οι κυτταροπενίες και η παρουσία ενεργών μακροφάγων στα αιμοποιητικά όργανα², ενώ σε αρκετές περιπτώσεις μιμείται άλλες καταστάσεις που συναντάμε στους βαρέως πάσχοντες ασθενείς καθώς και σε ασθενείς με σηπτική καταπληξία. Σε αυτή την περίπτωση η συστηματική ανοσολογική απάντηση εκδηλώνεται ως μια μορφή «έκρηξης» με εμφάνιση προοδευτικής πολυοργανικής ανεπάρκειας και διαταραχές στην πήξη.⁶ Ο «καταρράκτης» της φλεγμονώδους απάντησης αποτελεί την κύρια αιτία στην παθογένεση της HLH οδηγώντας στην υπερενεργοποίηση των CD8 (+) T λεμφοκυττάρων και των μακροφάγων, την αύξηση και τη διήθηση των φλεγμονωδών κυττάρων στα όργανα καθώς και την χωρίς έλεγχο παραγωγή κυτταροκινών τύπου I από τα T helper κύτταρα. Τόσο η σοβαρή και συχνά απειλητική για την ζωή φλεγμονώδης κατάσταση,όσο και η ανοσολογικού τύπου καταστροφή των οργάνων στόχων, βάζουν την κλινική διάγνωση στο αιμοφαγοκυτταρικό σύνδρομο.⁷⁻⁹

Η παρουσία αντιγονικού ερεθίσματος-είτε αυτό προέρχεται από κάποιον λοιμογόνο παράγοντα, είτε από νεοπλασματικά κύτταρα, είτε από κάποιο αυτοάνοσο ερέθισμα- οδηγεί σε μια συνέργεια μακροφάγων, λεμφοκυττάρων και δενδριτικών κυττάρων που έχει ως αποτέλεσμα την υπερέκκριση των φλεγμονωδών κυτταροκινών με απώτερο σκοπό την εξουδετέρωση του αντιγονικού ερεθίσματος, μέσω ενεργοποίησης κλώνων κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων και κυττάρων φυσικών φονέων.

Ο μηχανισμός μέσω του οποίου επιτυγχάνεται η εξουδετέρωση του συγκεκριμένου ερεθίσματος είναι η εξωκυττάρωση λόγω των κυτταρολυτικών πρωτεασών που εκλύονται εκ των κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων και από τα κύτταρα φυσικούς φονείς κοκκίων. Η αδυναμία των συγκεκριμένων κυττάρων να εξουδετερώσουν τον αντιγονικό ερεθισμό οδηγεί στην παραμονή και επίταση της φλεγμονώδους αντίδρασης με αποτέλεσμα την ανάπτυξη του αιμοφαγοκυτταρικού συνδρόμου τόσο με κλινικές εκδηλώσεις όσο και με εργαστηριακά ευρήματα. Τα ανωτέρω ισχύουν εξίσου στην πρωτοπαθή και τη δευτεροπαθή HLH.⁵

Ιστορική αναδρομή : Το αιμοφαγοκυτταρικό σύνδρομο (HLH) έχει μελετηθεί τα τελευταία ογδόντα χρόνια περίπου. Μια από τις πρώτες περιγραφές του συνδρόμου έγινε το 1939 από τους Scott και Robb-Smith¹⁰, οι οποίοι ανέφεραν μια διαταραχή που χαρακτηριζόταν από ερυθροφαγοκυττάρωση και πολλαπλασιασμό των ιστοκυττάρων στον λεμφικό ιστό, την οποία ονόμασαν «ιστιοκυτταρική μυελική δικτύωση» ή HMR (Histiocytic medullary reticulosis). Αργότερα, η πάθηση αυτή κατατάχθηκε στην κακοήθη ιστοκυττάρωση. Το 1952, οι Farguhar και Claireaux¹¹ παρουσίασαν μια πληρέστερη περιγραφή της οικογενούς μορφής του HLH, περιγράφοντας δύο περιπτώσεις αδελφών που απεβίωσαν από την ασθένεια, με συμπτώματα όπως πυρετό, κυτταροπενίες, οργανομεγαλία και διαταραχές της πήξης^{11,12}. Το 1958, ένα ακόμα παιδί της ίδιας οικογένειας έχασε τη ζωή του από το HLH με παρόμοιο τρόπο¹³. Ο Risdall ήταν από τους πρώτους που συνέδεσαν μια ιογενή λοίμωξη με το HLH, προτείνοντας τον όρο «ιογενές HLH» για να διαχωρίσει την πάθηση από τις κακοήθεις ιστοκυτταρώσεις¹⁴. Με τα χρόνια, οι έρευνες εντόπισαν ένα ευρύ φάσμα παθήσεων που συνδέονται με το HLH, ενώ αναγνωρίστηκε ότι συχνά η εκδήλωση της ασθένειας ενεργοποιείται από μια λοίμωξη, είτε στην πρωτοπαθή είτε στη δευτεροπαθή μορφή της. Ανεξαρτήτως αιτιολογίας, το HLH χαρακτηρίζεται από δυσλειτουργία των κυτταροτοξικών κυττάρων, υπερδραστηριότητα των μακροφάγων και υπερβολική παραγωγή κυτοκινών, οδηγώντας σε ανοσολογική αποδιοργάνωση και ιστική βλάβη. Χωρίς θεραπεία, η κατάσταση μπορεί να προκαλέσει σοβαρή ουδετεροπενία, με τους ασθενείς να πεθαίνουν συχνά από βακτηριακές, μυκητιασικές ή άλλες λοιμώξεις.

Η πάθηση έχει υψηλή νοσηρότητα και θνητότητα¹⁵, με την επιβίωση το 1983 να εκτιμάται κάτω από 4% και τη μέση διάρκεια ζωής να είναι μικρότερη από δύο μήνες.¹⁶ Το 1968 αναπτύχθηκε η μέθοδος 51Cr για τη μελέτη της κυτταροτοξικότητας που προκαλείται από κύτταρα και σχετίζεται με αντιγόνα (antibody dependent cell-mediated cytotoxicity)¹², ενώ το 1991 προτάθηκε η μετονομασία του συνδρόμου σε «Αιμοφαγοκυτταρική Λεμφοϊστικοκυττάρωση». Στη δεκαετία του 1990 και 2000 ξεκίνησαν οι πρώτες πολυκεντρικές μελέτες, ενώ ανακαλύφθηκαν οι πρώτες γενετικές μεταλλάξεις (perforin-1 το 1999) και αναγνωρίστηκε ο ρόλος των κυτοκινών. Επιπλέον, δημιουργήθηκαν τα πρώτα ζωικά μοντέλα για την αναπαραγωγή της νόσου.¹²

II. ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ

Τα Τ λεμφοκύτταρα και τα κύτταρα φυσικοί φονείς (NK) αποτελούν κρίσιμα στοιχεία του ανοσοποιητικού συστήματος. Υπάρχουν δύο κύριοι τύποι ανοσίας που διακρίνονται ανάλογα με το στόχο και τη φύση της ανοσολογικής απόκρισης: η εγγενής (φυσική) ανοσία, η οποία αντιδρά σε παθογόνα με μη ειδικό τρόπο, και η προσαρμοστική (επίκτητη) ανοσία, που στοχεύει συγκεκριμένα παθογόνα με μεγαλύτερη ακρίβεια. Τα Τ λεμφοκύτταρα προέρχονται από αρχέγονα κύτταρα του μυελού των οστών και αποκτούν τις λειτουργικές τους ικανότητες στον θύμο αδένα. Υπάρχουν δύο κατηγορίες Τ λεμφοκυττάρων: τα κύτταρα αβ και τα κύτταρα γδ, τα οποία διακρίνονται βάσει της δομής του υποδοχέα τους (TCR). Τα κύτταρα NK, τα Τ λεμφοκύτταρα, τα λεμφοκύτταρα τύπου NK (NK-like T cells), καθώς και τα γδ Τ λεμφοκύτταρα αποτελούν μέρος της φυσικής ανοσίας και παίζουν σημαντικό ρόλο στο ανοσοποιητικό σύστημα των βλεννογόνων και του δέρματος. Το κύριο χαρακτηριστικό τους είναι ότι δεν απαιτούν την παρουσία αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων για να ενεργοποιηθούν. Αντίθετα, η προσαρμοστική ανοσία είναι πιο εξειδικευμένη, καθώς διαθέτει ειδικότητα απέναντι στα αντιγόνα και σχετίζεται με την ανάπτυξη ανοσολογικής μνήμης.¹⁷⁻

Τα κυτταροτοξικά Τ λεμφοκύτταρα (CTLs) και τα κύτταρα φυσικοί φονείς (NK) αποτελούν δύο ξεχωριστές, αλλά λειτουργικά συγγενείς κυτταρικές σειρές που παίζουν σημαντικό ρόλο στην άμυνα κατά των καρκινικών κυττάρων και των παθογόνων. Παρά τον κοινό σκοπό τους, που είναι η εξουδετέρωση των κυττάρων-στόχων και η παραγωγή ανοσορυθμιστικών κυτοκινών, οι τρόποι με τους οποίους αναγνωρίζουν τους στόχους διαφέρουν σημαντικά. Τα CTLs, που είναι CD8 Τ κύτταρα, αναγνωρίζουν στόχους μέσω της αλληλεπίδρασης των υποδοχέων TCRs με πεπτιδία που παρουσιάζονται από τα μόρια του μείζονος συστήματος ιστοσυμβατότητας (MHC) τάξης I, αποτελώντας μέρος της προσαρμοστικής ανοσολογικής απόκρισης. Τα μόρια MHC τάξης I εκφράζονται σε όλα τα κύτταρα, επιτρέποντας στα CTLs να επιθεωρούν τους ιστούς για την παρουσία παθογόνων ή καρκινικών πεπτιδίων.^{22,23}

Αντίθετα, τα NK κύτταρα ανήκουν στη φυσική ανοσία και επιτίθενται σε κύτταρα που δεν εκφράζουν MHC τάξης I, τα οποία συνήθως περιλαμβάνουν παθογόνα ή ογκογόνα κύτταρα. Η κυτταροτοξικότητα των NK και των CTLs εκφράζεται μέσω της ικανότητάς τους να καταστρέφουν κύτταρα-στόχους. Όταν αυτή η ικανότητα επηρεάζεται, όπως σε ορισμένα υπολειπόμενα γενετικά σύνδρομα, οι ασθενείς παρουσιάζουν ανοσοανεπάρκεια. Στο οικογενές αιμοφαγοκυτταρικό σύνδρομο, η κυτταροτοξικότητα διαταράσσεται λόγω μεταλλάξεων στο γονίδιο της περφορίνης, με αποτέλεσμα σοβαρή ανοσοανεπάρκεια και ανεξέλεγκτες λοιμώξεις, όπως από CMV, HSV, και EBV.

Η διαταραγμένη λειτουργία των CTLs μπορεί να συμβάλει στην εμφάνιση αυτοάνοσων νοσημάτων, αντιδράσεων υπερευαισθησίας, της νόσου μοσχεύματος έναντι ξενιστή (GvHD) και απόρριψης μοσχεύματος. Για να διατηρείται η ισορροπία μεταξύ της εξόντωσης των μολυσμένων κυττάρων και της προστασίας των υγιών, υπάρχουν πολυάριθμοι ρυθμιστικοί μηχανισμοί που ελέγχουν την κυτταροτοξική λειτουργία.²³

Η κυτταροτοξικότητα επιτυγχάνεται μέσω δύο κύριων μονοπατιών που χρησιμοποιούν τα κυτταροτοξικά κύτταρα για την καταστροφή των στόχων τους: το μονοπάτι της περφορίνης/γρανζυμών (perforin/granzyme-mediated lysis) και τον επαγόμενο θάνατο μέσω των υποδοχέων FasL(CD178)-Fas(CD95), οι οποίοι προάγουν την απόπτωση (*fig.2*).^{23,24}

Η δράση των CTLs (κυτταροτοξικών Τ λεμφοκυττάρων) ενεργοποιείται μετά από διαφοροποίηση και ενεργοποίηση, ενώ τα NK κύτταρα σκοτώνουν τους στόχους τους αυθόρμητα, χωρίς προηγούμενη διέγερση. Τόσο τα CTLs όσο και τα NK κύτταρα εκκρίνουν κυτοκίνες, όπως η ιντερφερόνη- γ (IFN- γ)²³, που ενισχύουν την ανοσολογική απόκριση.

Το μονοπάτι της περφορίνης-γρανζυμών λειτουργεί ως εξής: Η περφορίνη, μία πρωτεΐνη που δημιουργεί πόρους στη μεμβράνη του κυττάρου-στόχου, επιτρέπει στις θρυμματίνες (granzymes), που είναι πρωτεάσες σερίνης, να εισέλθουν στο κύτταρο. Αυτές οι πρωτεάσες προκαλούν τον κυτταρικό θάνατο είτε άμεσα, μέσω της καταστροφής των νουκλεϊκών οξέων, είτε έμμεσα, ενεργοποιώντας έναν καταρράκτη πρωτεασών. Η διαδικασία αυτή ξεκινά με την αλληλεπίδραση των TCR υποδοχέων των CTLs με τα πεππίδια του MHC τάξης I.^{23,24}

Τα λυτικά κοκκία των CTLs πολυμερίζονται και επιτρέπουν στην περφορίνη να δημιουργεί πόρους τόσο στην πλασματική όσο και στη λυσοσωμική μεμβράνη του κυττάρου-στόχου. Με αυτόν τον τρόπο, οι θρυμματίνες μπορούν να διεισδύσουν στο κύτταρο και να επιφέρουν τον θάνατο του. Ένα βασικό υπόστρωμα στη δράση των γρανζυμών είναι η πρωτεΐνη BID (BH3-interacting domain death agonist), η οποία προκαλεί τον κυτταρικό θάνατο μέσω μιτοχονδριακών μεσολαβητών, όπως το κυτόχρωμα c, που ενισχύουν τον καταρράκτη της απόπτωσης.²⁵

Το μονοπάτι των υποδοχέων που επάγουν απόπτωση αποτελεί μια εναλλακτική οδό θανάτωσης των κυττάρων-στόχων από τα κυτταροτοξικά κύτταρα. Αυτό το σύστημα βασίζεται σε μέλη της υπεροικογένειας των υποδοχέων του παράγοντα νέκρωσης όγκου (TNFR). Οι υποδοχείς αυτοί διαθέτουν ένα ενδοκυττάριο σηματοδοτικό στοιχείο, το λεγόμενο «death domain», που συγχρονίζει μόρια, όπως το FADD (Fas-associated death domain), για να μεταδώσουν το σήμα του κυτταρικού θανάτου. Τα πιο γνωστά μέλη αυτής της οδού είναι το Fas (CD95) και το TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand).²⁵ Το Fas εκφράζεται σε πολλούς ιστούς, ενώ το Fas-Ligand (FasL) ενεργοποιείται κυρίως από τα CTLs και τα NK κύτταρα, όταν απελευθερώνεται από τα λυτικά κοκκία τους προς τις μεμβράνες των κυττάρων-

στόχων. Το μονοπάτι Fas/FasL παίζει κεντρικό ρόλο στη ρύθμιση του αριθμού των Τ λεμφοκυττάρων μέσω του μηχανισμού ενεργοποίησης-επαγόμενου κυτταρικού θανάτου (activation-induced cell death, AICD) και συμβάλλει στην απόρριψη ορισμένων όγκων.²⁶ Τόσο τα CTLs όσο και τα NK κύτταρα συμμετέχουν στην ρύθμιση της ανοσολογικής απόκρισης και παράγουν κυτοκίνες, με σημαντικότερες την ιντερφερόνη-γ (IFN-γ) και τον παράγοντα νέκρωσης όγκου (TNF). Αυτές οι φλεγμονώδεις κυτοκίνες ενεργοποιούν τα μακροφάγα και τα λεμφοκύτταρα κατά τη διάρκεια λοιμώξεων. Η IFN-γ ενισχύει την ενεργοποίηση των T-helper cell-1 (Th1) και ρυθμίζει τη διαφοροποίηση των CTLs. Τα NK κύτταρα αποτελούν επίσης πηγή του παράγοντα διέγερσης αποικιών κοκκιοκυττάρων-μακροφάγων (GM-CSF). Επιπλέον, τόσο τα CTLs όσο και τα NK κύτταρα είναι ικανά να εκκρίνουν χημοκίνες, που παίζουν ρόλο στην ανοσολογική απάντηση και τη φλεγμονή.²⁷

Τα CD8 Τ λεμφοκύτταρα αναπτύσσονται στον θύμο αδέν, όπου επιλέγονται ώστε να μπορούν να αναγνωρίζουν ξένα πεπτιδία που παρουσιάζονται από τα μόρια του MHC τάξης I. Μετά την έξοδό τους από τον θύμο αδέν, αυτά τα κύτταρα ονομάζονται παρθένα (naive) και κυκλοφορούν στα περιφερικά λεμφικά όργανα, όπως ο σπλήνας και οι λεμφαδένες. Η κατανομή των λεμφοκυττάρων στους ιστούς καθορίζεται από τρεις κατηγορίες πρωτεϊνών: τις σελεκτίνες, τους υποδοχείς των χημοκινών και τις ιντεγκρίνες.²⁷ Τα παρθένα και τα ενεργά CD8 Τ λεμφοκύτταρα εκφράζουν διαφορετικά αυτές τις πρωτεΐνες. Τα παρθένα κύτταρα έχουν υψηλά επίπεδα L-selectin (CD62L) στους λεμφαδένες και CCR7, που βοηθούν στην καθοδήγησή τους στις περιοχές όπου παράγονται υποδοχείς χημοκινών που αναγνωρίζουν τις χημοκίνες CC19 και CC21. Στους λεμφαδένες, τα παρθένα Τ λεμφοκύτταρα αλληλεπιδρούν με αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (APCs), ειδικά με τα δένδριτικά κύτταρα (DCs). Αν δε συναντήσουν κάποιο αντιγόνο που να παρουσιάζεται από MHC τάξης I, εγκαταλείπουν τον λεμφαδέν.²⁷ Ωστόσο, αν αναγνωρίσουν το κατάλληλο αντιγόνο, ενεργοποιούνται, αλλάζουν δραματικά τις ιδιότητές τους και πολλαπλασιάζονται. Μετά την ενεργοποίηση, τα CTLs αποκτούν τη δυνατότητα να μεταναστεύουν μέσω της κυκλοφορίας του αίματος σε μη λεμφικές περιοχές, όπως το δέρμα, το πεπτικό σύστημα, οι πνεύμονες και

τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Σε επόμενες λοιμώξεις, τα ενεργοποιημένα μνημονικά CTLs μπορούν να χρησιμοποιηθούν άμεσα για την αντιμετώπιση των παθογόνων. Τα CTLs ανταποκρίνονται στην οξεία λοίμωξη σε τρεις φάσεις. Στην πρώτη φάση, της αρχικής ενεργοποίησης στους λεμφαδένες, τα CTLs έρχονται σε επαφή με τα APCs, όπου γίνεται παρουσίαση και επεξεργασία πεπτιδικών συμπλεγμάτων από το MHC τάξης I, σε μια διαδικασία που ονομάζεται ανοσοεπιτήρηση. Για να δοθεί το αρχικό σήμα ενεργοποίησης των CTLs, πρέπει να υπάρξει ειδική αναγνώριση του αντιγόνου από τον TCR υποδοχέα.²⁸ Η ενεργοποίηση του TCR προάγει τον πολλαπλασιασμό των T κυττάρων και δημιουργεί την ανοσολογική σύναψη, η οποία ενισχύει την αλληλεπίδραση μεταξύ του TCR και των APCs. Μόρια προσκόλλησης και συνδιεγερτικά μόρια στην επιφάνεια των κυττάρων υποστηρίζουν την κλωνική επέκταση των CTLs, επιτρέποντας την εξειδίκευση ως προς το αντιγόνο δράσης τους.²⁸ Ωστόσο, κάποια αντιγόνα δεν εκφράζονται από τα APCs, καθιστώντας αδύνατη την ενεργοποίηση των CTLs για να δράσουν. Η διασταυρούμενη παρουσίαση (cross-presentation) είναι η διαδικασία κατά την οποία τα φαγοσώματα αλληλεπιδρούν με το MHC τάξης I, επιτρέποντας την αναγνώριση των αντιγόνων (cross-priming) από τα CTLs.²⁹ Μετά την ενεργοποίησή τους στα δευτερογενή λεμφικά όργανα, τα CTLs πολλαπλασιάζονται ταχύτατα, με τον κυτταρικό τους κύκλο να διαρκεί περίπου 6 ώρες. Σε κάποιες λοιμώξεις, ο αριθμός των CTLs αυξάνεται δραματικά³⁰. Ακολουθεί το στάδιο της συστολής του πληθυσμού τους, το οποίο αποτρέπει την υπερβολική καταστροφή των υγιών ιστών από την κυτταροτοξικότητα και την υπερβολική απελευθέρωση κυτοκινών.³⁰

Τα μνημονικά κυτταροτοξικά CTLs είναι ικανά να ανταποκρίνονται γρήγορα και αποτελεσματικά σε νέες λοιμώξεις, παράγοντας κυτοκίνες όπως η IFN- γ . Αυτή η ενισχυμένη απόκριση οφείλεται στον επαναπρογραμματισμό της γονιδιακής έκφρασης μέσω επιγενετικών αλλαγών στη μεθυλίωση του DNA. Τα μνημονικά CTLs χωρίζονται σε τρεις τύπους: τα effector memory (TEM) κύτταρα, τα central memory (TCM) κύτταρα και τα tissue-resident memory (TRM) κύτταρα. Η επιβίωση και διατήρηση της δεξαμενής των T κυττάρων

υποστηρίζεται από τη βοήθεια των CD4 T κυττάρων, καθώς και από κυτοκίνες όπως η IL-15 και η IL-7.^{27,30}

Οι βασικές λειτουργίες των CTLs περιλαμβάνουν την άμυνα έναντι ιών όπως ο HIV, ο ιός Epstein-Barr (EBV), ο ιός του ροχ και ο κυτταρομεγαλοϊός (CMV), καθώς και βακτηρίων όπως η *Listeria monocytogenes*, παρασίτων όπως το *Plasmodium falciparum* και το *Toxoplasma gondii*. Επιπλέον, τα CTLs παίζουν σημαντικό ρόλο στην άμυνα έναντι πρωτοπαθών και μεταστατικών όγκων, καθώς και στην ενίσχυση του Graft-versus-Leukemia (GVL) effect. Ωστόσο, η ανεξέλεγκτη κυτταροτοξικότητα μπορεί να οδηγήσει σε αυτοάνοσα νοσήματα, αντιδράσεις υπερευαισθησίας, απόρριψη μοσχεύματος και τη νόσο του μοσχεύματος κατά ξενιστή (GvHD).^{22,23}

Τα CTLs συνεργάζονται στενά με τα CD4 T κύτταρα και τα NK κύτταρα για να εξουδετερώσουν τα κύτταρα-στόχους και τα παθογόνα.(fig.4) Τα CD4 κύτταρα βοηθούν στη σύνδεση των αντιγόνων με τα CTLs, πιθανώς μέσω κυτοκινών όπως η IL-2 και η IL-21, προάγοντας την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό τους^{31,32}. Τα NK κύτταρα, από την πλευρά τους, ενεργοποιούνται γρήγορα και ρυθμίζουν την ανοσολογική απόκριση των T κυττάρων μέσω κυτταρολυτικών μηχανισμών ή της έκκρισης κυτοκινών, όπως η IL-2 και η IFN-γ.³³

Σε παθολογικές καταστάσεις, όπως το αιμοφαγοκυτταρικό σύνδρομο (HLH), υπάρχει διαταραχή στη σχέση μεταξύ των NK κυττάρων και των T λεμφοκυττάρων, με αποτέλεσμα την αύξηση των T κυττάρων, των μακροφάγων και των φλεγμονωδών κυτοκινών.^{34,35} Το HLH συχνά σχετίζεται με γενετικές βλάβες που επηρεάζουν την κυτταροτοξικότητα της περφορίνης, οδηγώντας σε δυσλειτουργία των NK κυττάρων και ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό των T κυττάρων.³⁶⁻³⁸

Τα κύτταρα φυσικοί φονείς (NK cells) αποτελούν περίπου το 10-15% των λεμφοκυττάρων του περιφερικού αίματος. Είναι μεγάλα κοκκιώδη κύτταρα με ισχυρή κυτταροτοξική δράση και ικανότητα να παράγουν κυτοκίνες, που ενισχύουν την ανοσολογική απόκριση.³⁹ Πειραματικά μοντέλα σε μύων έχουν δείξει ότι, εκτός από την παρουσία τους στο περιφερικό αίμα, τα NK κύτταρα ανευρίσκονται φυσιολογικά σε μικρά ποσοστά σε διάφορους ιστούς: 1% στους

λεμφαδένες (LNs), 2% στον σπλήνα, 5% στο ήπαρ και 10% στους πνεύμονες.⁴⁰ Στο περιφερικό αίμα εμφανίζονται δύο πληθυσμοί NK κυττάρων. Ο ένας πληθυσμός περιλαμβάνει κοκκιώδη λεμφοκύτταρα με ανοσοφαινότυπο CD3-CD16+ CD56+ και CD94+. Τα NK κύτταρα εδώ δεν εκφράζουν κυτταρικούς δείκτες T ή B, όμως ο δεύτερος πληθυσμός, εκφράζει δείκτες για T και για NK κύτταρα (CD3+ CD16+ CD56+ ή CD16-, CD56+). Αυτά τα κύτταρα είναι γνωστά και σαν natural killer T cells (NKT cells) και τα άλλα μεγάλα κοκκιώδη λεμφοκύτταρα. Τα NK και τα NKT κύτταρα, έχουν διαφορετικές λειτουργίες. Τα NK κύτταρα αποτελούν μέρος της φυσικής ανοσίας του οργανισμού και επιτίθενται στα προσβεβλημένα κύτταρα από κάποιον μολυσματικό παράγοντα, ή στα καρκινικά κύτταρα. Αναγνωρίζουν και λύουν κύτταρα που δεν υπάγονται στο μείζων σύστημα ιστοσυμβατότητας (MLA class I), σε αντίθεση με τα NKT κύτταρα, τα οποία έχουν χαμηλή κυτταρολυτική ικανότητα και απαιτείται αντιγονοπαρουσίαση. Η ενεργοποίηση ή η καταστολή των NK και των NKT κυττάρων, υπαγορεύεται από τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των κυτταρικών υποδοχέων και των HLA class IB μορίων ή των CD1 μορίων στα κύτταρα στόχους. Τα NK κύτταρα φέρουν στην επιφάνειά τους υποδοχείς αναγνώρισης αντιγόνων και πρωτεϊνών, τους CD94 τύπου 2 "lectin like" (οι οποίοι εκφράζονται και στην επιφάνεια των T κυτταροτοξικών κυττάρων-CTLs), οι οποίοι σχηματίζουν ζεύγη με τους NKG2A, B, C, E ή F, με λειτουργίες όπως ενεργοποίησης ή καταστολής των NK κυττάρων. Επιπλέον οι υποδοχείς KIR (Killer cell immunoglobulin-like Receptors) υπάγονται στην οικογένεια 15 πολυμορφικών γονιδίων και 2 ψευδογονιδίων στο χρωμόσωμα 19 και είναι πρωτεΐνες άγκυρας στη μεμβράνη των κυττάρων που αυτές με τη σειρά τους έχουν ρόλο στην λειτουργία των NK κυττάρων. Τα NK κύτταρα χαρακτηρίζονται από την θεωρία του "missing self", δηλαδή ότι τα κύτταρα αυτά, δεν έχουν ειδικότητα στο να αναγνωρίζουν τα προσβεβλημένα από ιούς ή μικρόβια κύτταρα ή τα κακοήθη κύτταρα και θα μπορούσαν να επιτεθούν σε οποιοδήποτε κύτταρο, αλλά δεν επιτίθενται σε ό,τι ανήκει στο μείζων σύστημα ιστοσυμβατότητας (MHC I), τα φυσιολογικά δηλαδή κύτταρα, μέσω των προαναφερθέντων υποδοχέων.

Οι υποδοχείς CD94-NKG2A και B και οι KIRs , κωδικοποιούνται από το HLA σύστημα και λαμβάνουν σήμα από ενδοκυττάρια μονοπάτια μέσω των ITIMs (immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motifs) ή των πρωτεϊνών DAP10 και DAP12 προκειμένου να αυξήσουν ή αντίστοιχα να μειώσουν την δράση των NK λεμφοκυττάρων. Κατά προσέγγιση, το 95% των NK κυττάρων εκφράζουν το δείκτη CD56 και λογίζονται σαν CD56^{dim}. Αυτά τα κύτταρα λύουν τα κύτταρα στόχους χρησιμοποιώντας την περφορίνη και τα granzymes. Τα CD56^{dim}cells επιπλέον εκφράζουν CD16 τα οποία έχουν χαμηλή σηνάφεια με τον υποδοχέα Fc-γ (gamma) των αντισωμάτων και αυτό έχει σαν αποτέλεσμα τα NK cells να συνδέονται με τα αντισώματα και να εκλύουν περφορίνη και granzymes στα κύτταρα στόχους. Αυτός ο μηχανισμός είναι γνωστός σαν antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC).Ενα 5% των NK κυττάρων, εκφράζουν CD56^{bright}. Αυτός ο πληθυσμός δεν περιέχει περφορίνη και δεν είναι κυτταροτοξικός. Τα CD56^{bright} κύτταρα εκκρίνουν ιντερφερόνη-γ (IFN-γ) και άλλες προφλεγμονώδεις κυττοκίνες όπως IL-5 IL-13 και TNF-α.

Τα NK λεμφοκύτταρα έχουν σπουδαίο ρόλο στην εγγενή ανοσία και την αντιμετώπιση των ιών, της μετάστασης των καρκινικών κυττάρων και στην αντιμετώπιση των λοιμώξεων από μικρόβια και μύκητες, ακόμα και από τα πρώιμα στάδια της προσβολής του οργανισμού. Εχουν επίσης σπουδαίο ρόλο με την έμμεση συμμετοχή τους στις ευκαιριακές λοιμώξεις, όπως από candida albicans και aspergillus στους ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς. Η παραγωγή INF-γ από τους μη κυτταροτοξικούς πληθυσμούς των NK κυττάρων, ενεργοποιεί τα μακροφάγα λεμφοκύτταρα και τα ουδετερόφιλα, να φονεύσουν τους μύκητες.

Τα φυσικά T κύτταρα φονείς έχουν χαρακτηριστικά και από τα NK αλλά και από τα T λεμφοκύτταρα, φέροντας TCR υποδοχείς. Μέσω αυτών των υποδοχέων απελευθερώνουν perforin και granzymes στα κύτταρα στόχους, όπως και INF-γ, IL-2, IL-4, IL-12 και IL-13 που ρυθμίζουν την δράση των Th1 και Th2. Τέλος αναγνωρίζουν μέσω των CD1 αντιγόνα όπως ένα γλυκολιπίδιο, το alpha galactosylceramide (α-GalCer).⁴¹⁻⁴⁷

Τα δενδριτικά κύτταρα αποτελούν την τρίτη ομάδα αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων (APCs) και είναι εκκινήτες και ρυθμιστές στην ανοσολογική απάντηση και ενώ στην αρχή παρατηρήθηκαν το 1868, σαν

κύτταρα Langerhans(LCs) στο δέρμα, ο ιδιαίτερος ρόλος τους έγινε γνωστός τα τελευταία 25 χρόνια. Έχουν την ικανότητα να ρυθμίζουν την λειτουργία των T και των B λεμφοκυττά⁴⁸. Τα B και τα T κύτταρα είναι μεσολαβητές της ανοσίας, αλλά οι λειτουργίες τους είναι κάτω από την επίβλεψη των DC, τα οποία αιχμαλωτίζουν και επεξεργάζονται τα αντιγόνα που εκφράζουν MHC στην επιφάνειά τους.⁴⁹⁻⁵² Μεταναστεύουν στα λεμφικά όργανα, όπως στον σπλήνα και τους λεμφαδένες όπου και ολοκληρώνουν την ωριμανσή τους, εκκρίνουν κυττοκίνες και χημοκίνες έλκοντας έτσι τα T και B λεμφοκύτταρα για την έναρξη της ανοσιακής απάντησης, ενεργοποιούν και επιτηρούν τα T λεμφοκύτταρα έναντι των αντιγόνων και ελαχιστοποιούν τις αυτοάνοσες αντιδράσεις. Συναντιούνται στο δέρμα στους αεραγωγούς και στα λεμφοποιητικά όργανα,⁵⁶ χωρίζονται σε ώριμα DC και σε ανώριμα, με τα πρώτα να έχουν ενεργό ρόλο στην ενεργοποίηση των T λεμφοκυττάρων, αλλά και των B κυττάρων με τον σχηματισμό των αντισωμάτων. Έχουν ρόλο στην ενεργοποίηση των μακροφάγων και την έκκριση κυτταροκινών. Από την άλλη τα ανώριμα DC παγιδεύουν αντιγόνα και τα επεξεργάζονται, με MHC συνάφεια.⁴⁹⁻⁵² Τα δενδριτικά κύτταρα επηρεάζουν τη λειτουργία των B κυττάρων και τελικά την έκκριση ανοσοσφαιρινών μέσω της ρυθμιστικής τους δράσης στα T βοηθητικά λεμφοκύτταρα από τη μια, αλλά και τα παρθένα (naïve) B κυττάρα από την άλλη. Εκκρίνουν κυτταροκίνες όπως η IL-12, η IL-10 και ο TGF-β. Επίσης, ενορχηστρώνουν την δράση των ανοσοσφαιρινών. Μια άλλη κατηγορία DC κυττάρων που εξορμάται από τα μεσεγγυματικά κύτταρα, τα λεμφοοζιδιακά DC (FDCs), βοηθούν στη βιωσιμότητα, την ανάπτυξη και τη διαφοροποίηση των B κυττάρων, έχουν υποδοχείς για το συμπλήρωμα και Fc υποδοχείς, δημιουργώντας έτσι σύμπλεγματα αντίσωμα-αντιγόνο και επεξεργάζονται τα αντιγόνα στην επιφάνειά τους.⁵⁷⁻⁵⁹ Τα DC αλληλεπιδρούν με τα NK κύτταρα στις λοιμώξεις, προάγουν την κυτταροτοξικότητα και παράγουν κυτοκίνες και χημοκίνες.⁶⁰ Τα DCs προάγουν την επιβίωση των NK κυττάρων, την ενεργοποίηση και την διαφοροποίησή τους στους λεμφαδένες με διάφορους μηχανισμούς, όπως με την έκκριση κυτταροκινών, IL-12,IL-1, IL-18 και IL-15.⁶¹ Τα ώριμα DCs εκκρίνουν μεγάλη ποσότητα IL-12 και ενισχύουν την κυτταρομεσολαβούμενη κυτταροτοξικότητα των NK κυττάρων και την

παραγωγή IFN- γ .⁶² Τέλος, μαζί τα DC με τα T κύτταρα ενεργοποιούν τα NK κύτταρα,⁶³ ενώ τα τελευταία με την σειρά τους εκκρίνουν GM-CSF παράγοντα ο οποίος βοηθάει στην επιβίωση και τη διαφοροποίηση των DCs και των μονοκυτταρικών προβαθμίδων.⁶⁴

III. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΑΙΜΟΦΑΓΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΛΕΜΦΟΪΣΤΙΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗΣ

Η Αιμοφαγοκυτταρική λεμφοιστιοκυττάρωση (HLH) από τα μακροφάγα, απαντάται σε όλες τις ηλικιακές ομάδες, δεν είναι μια πάθηση αλλά ένα ομοιάζον με σήψη κλινικό σύνδρομο, που μπορεί να ακολουθεί μια ποικιλία από υποκείμενες καταστάσεις, που οδηγούν στον ίδιο φλεγμονώδη φαινότυπο.⁶⁵ Η αιμοφαγοκυτταρική λεμφοιστιοκυττάρωση (HLH), διακρίνεται σε δύο μεγάλες κατηγορίες, οι οποίες περιλαμβάνουν τις πρωτοπαθείς ή γενετικές μορφές της HLH και τις επίκτητες ή δευτεροπαθείς μορφές.

Γενετικές μορφές HLH: Η πρωτοπαθής μορφή της HLH, κληρονομείται είτε με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τρόπο, είτε με φυλοσύνδετο τρόπο και κατηγοριοποιείται, σε δύο υποομάδες: Στην familial HLH (FHLH), στην οποία το κλινικό σύνδρομο της HLH είναι η μόνη εκδήλωση και τα σύνδρομα ανοσολογικής ανεπάρκειας Chediak-Higashi (CHS 1), το σύνδρομο Griscelli (GS2) και το X-linked proliferative syndrome (XLP), τα οποία έχουν διακριτά κλινικά χαρακτηριστικά, παράλληλα με τη σποραδική, αν και συχνή ανάπτυξη HLH.^{66,67}

Επίκτητη μορφή HLH: Η επίκτητη μορφή της HLH αιμοφαγοκυτταρικής λεμφοιστιοκυττάρωσης, μπορεί να εμφανιστεί σε όλες τις ηλικιακές ομάδες. Είχε περιγραφεί πρώτα από τον Risdall και τους συνεργάτες του, σε ενήλικες με ιογενή λοίμωξη μετά από μεταμόσχευση οργάνων.⁶⁸ Στη συνέχεια έγινε πιο ξεκάθαρο από παρατηρήσεις, ότι επρόκειτο για ένα σύνδρομο που αναπτύσσονταν γενικότερα σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς με λοιμώξεις, όχι απαραίτητα ιογενείς, όπως βακτηριακές, από πρωτόζωα και μύκητες και οι οποίοι θα μπορούσε να είχαν αιμοφαγοκυτταρική λεμφοιστιοκυττάρωση.^{69,70} Συνεπώς ο όρος virus-associated hemophagocytic syndrome (VAHS) άλλαξε σε infection-associated hemophagocytic syndrome (IAHS). Συχνές ιογενείς λοιμώξεις που βρίσκονται στο φάσμα του HLH είναι ο Epstein-Barr virus (EBV), ο κυτταρομεγαλοϊός (CMV) και ο HIV. Μια πολύ συχνή επίσης μη ιογενής λοίμωξη στα παιδιά, είναι η leishmania.⁷¹⁻⁷³ Η ταυτοποίηση ενός παθογόνου δεν βοηθάει στο να γίνει διάκριση μεταξύ γενετικού και δευτεροπαθούς αιμοφαγοκυτταρικού συνδρόμου, γιατί στα περισσότερα επεισόδια στη γενετική μορφή, η αιτία είναι μια λοίμωξη.^{74,75}

Όσον αφορά το δευτεροπαθές αιμοφαγοκυτταρικό σύνδρομο σε σχέση με τις κακοήθειες-ιδιαίτερα τα λεμφώματα (lymphoma-associated hemophagocytic syndrome, LAHS)-το συναντάμε περισσότερο στους ενήλικες.^{76,77} Επίσης η HLH μπορεί να αναπτυχθεί σε ασθενείς με κακοήθεια, πριν ή κατά την θεραπεία και να μην γνωρίζουμε τον εκλυτικό παράγοντα. Ένα άλλο ενδιαφέρον σχετικά με τη σχέση ανάμεσα στην HLH, τα λεμφώματα και τις ιογενείς λοιμώξεις, είναι ότι σε ασθενείς με LAHS στην Ιαπωνία, το γένωμα του ιού EBV ανευρίσκεται σπάνια σε ασθενείς που πάσχουν από B-cell λέμφωμα, αλλά είναι παρόν σε πάνω από 80% σε ασθενείς με T/ NK cell λέμφωμα.⁷⁸ Σε αυτούς τους ασθενείς, η λοίμωξη από EBV εμφανίζεται να παίζει μεγάλο ρόλο στην ανάπτυξη του LAHS, τόσο όσο και η HLH από EBV χωρίς λέμφωμα.⁷⁹

Το σύνδρομο MAS -macrophage-activation syndrome είναι μια άλλη ειδική μορφή HLH που θα δούμε παρακάτω, στα παιδιά και τους ενήλικες και σχετίζεται με αυτοάνοσα νοσήματα, όπως η νεανική ιδιοπαθής αρθρίτιδα (sJIA)⁸⁰, η νόσος του Still και ο ερυθματώδης λύκος (SLE). Η παθοφυσιολογία του συνδρόμου δεν είναι πλήρως κατανοητή.^{81,82}

Στους ασθενείς με μεταμόσχευση συμπαγών οργάνων ή στην αλλογενή μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων (ASCT), μπορούμε να συναντήσουμε HLH. Επίσης πιο σπάνια σε κάποιες σοβαρές μεταβολικές παθήσεις, στη γαλακτοζεμία, έλλειψη βιοτινιδάσης και κοβαλαμίνης c, στην ασθένεια Niemann Pick.⁸³⁻⁸⁶ Τέλος σπάνια σε ασθενείς με παρεντερική σίτιση και σε ασθενείς με cytophagic histiocytic panniculitis (CHP).⁸⁷

IV. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Η επίπτωση της HLH στο γενικό πληθυσμό, είναι 1,2 περιπτώσεις / εκατομμύριο το χρόνο, ωστόσο οι μη δημοσιευμένες παρατηρήσεις εκτιμούν ότι τα στοιχεία έχουν ελαφρώς αυξηθεί με την πάροδο του χρόνου λόγω της βελτιωμένης ανίχνευσης, οπότε αυτό σημαίνει 1 περίπτωση σε κάθε 50.000 γεννήσεις.⁸⁸ Οι μεταλλάξεις της περφορίνης όσον αφορά την FHL υπολογίζονται στο 20%, με μια επικράτηση στον Τουρκικό πληθυσμό όπου ανέρχεται στο 30%. Οι μεταλλάξεις στο χρωμόσωμα 9q είναι περίπου στο 10% στο FHL. Οι υπόλοιπες μεταλλάξεις στα γονίδια που αφορούν το FHL δεν είναι ακόμα

γνωστές.⁸⁹ Οι μεταλλάξεις στην πρωτοπαθή αιμοφαγοκυτταρική λεμφοϊστοκυττάρωση φαίνεται να έχουν διαφορετική κατανομή και διείσδυση, τόσο στις διαφορετικές εθνότητες, όσο και στις διαφορετικές ηλικίες. Πρέπει να αναφέρουμε εδώ, ότι σε ένα δείγμα ασθενών στην Ευρώπη και συγκεκριμένα στη Σουηδία, την Αγγλία και την Ιταλία, δεν επιβεβαιώθηκαν διαφορές στον πληθυσμό και τις εθνότητες.⁹⁰ Στο δευτεροπαθές HLH και στους ενήλικες ασθενείς η γεωγραφική κατανομή του συνδρόμου φαίνεται να σχετίζεται με τον αιτιολογικό παράγοντα που το προκάλεσε, είτε αυτό είναι ιογενής λοίμωξη, (EBV) πχ, είτε κάποιο λέμφωμα (T ή NK). Στους ενήλικες επίσης, ο επιπολασμός στο θήλυ φύλο, φαίνεται να υπερέχει και η μέση ηλικία διάγνωσης τα 50 έτη.⁹¹ Στο FHL ο μέσος όρος επιβίωσης σε ποικίλες μελέτες είναι 2-6 μήνες μετά τη διάγνωση. 10% είναι η πιθανότητα ένας ασθενής να επιβιώσει 3 έτη.⁹²

Χωρίς θεραπεία η επιβίωση είναι < 10%, αλλά ακόμα και με τη χορήγηση ανοσοχημειοθεραπείας στο HLH-94 φαίνεται ότι η 5ετής συνολική επιβίωση ήταν 54%, με το 94% των θανάτων τις πρώτες 8 εβδομάδες στους ασθενείς χωρίς ύφεση της νόσου.⁹³ Η ύφεση είναι πάντα προσωρινή και η υποτροπή είναι αναπόφευκτη. Μόνη θεραπεία είναι η αλλογενής μεταμόσχευση μυελού των οστών.⁹⁴ Η επίπτωση της HLH, πολλές φορές είναι δύσκολο να εκτιμηθεί, καθώς και άλλες παθήσεις και καταστάσεις σήψης μπορεί να χαρακτηρίζονται με φλεγμονώδη φαινότυπο. Ωστόσο προκειμένου να γίνει μια καλύτερη εκτίμηση της επίπτωσης της HLH, εφαρμόστηκαν τα κριτήρια HLH-2004, όπου ο φαινότυπος των ασθενών ήταν βαρέως πάσχοντες ασθενείς σε κρίσημη γενική κατάσταση και ανοσοκατεσταλμένοι, οι οποίοι διακρίνονταν σαφώς από άλλους βαριά πάσχοντες με άλλα νοσήματα. Στην προσπάθεια κατανόησης της γενετικής βάσης της κληρονομικής μορφής της νόσου, στη Σουηδία στο HLH-2004 σε μια περίοδο 6 ετών ταυτοποιήθηκαν μεταλλάξεις που συνδέονταν με HLH⁹³ και ένα ποσοστό 40-80% είχε αποδεδειγμένα την κληρονομική μορφή του συνδρόμου HLH. Έτσι σε μια καταγραφή ταυτοποιήθηκε συχνότητα όσον αφορά την πρωτοπαθή HLH, 1,5 περιπτώσεις⁹⁵ / εκατομμύριο, από 1,2 περιπτώσεις / εκατομμύριο σε προηγούμενες μελέτες. Στην Βόρεια Αμερική, η συχνότητα των γονιδιακών βλαβών ποικίλει σημαντικά σε εθνότητα και φυλή και υπάρχει

γενετική ετερογένεια από την παρουσία μεταλλάξεων στις διαφορετικές εθνότητες και στη συχνότητα της επίπτωσης της HLH σε παιδιά και ενήλικες.⁹⁶

V. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΚΑΙ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ

Ο παρατεταμένος πυρετός, η διόγκωση του ήπατος και του σπληνός και οι κυτταροπενίες, είναι τα κυρίαρχα συμπτώματα της αιμοφαγοκυτταρικής λεμφοιστιοκυττάρωσης (HLH). Η λεμφαδενοπάθεια, το εξάνθημα, ο ίκτερος και η νευρολογική συμπτωματολογία, όπως οι επιληπτικές κρίσεις ή η παράλυση των κρανιακών νεύρων, είναι λιγότερο συχνή.^{66, 73,74,97}

Συχνά προσβάλλονται εσωτερικά όργανα εκτός από το ήπαρ και τον σπλήνα, όπως οι πνεύμονες, συνήθως μετά από προσβολή τους από αναπνευστικούς ιούς, με συμπτώματα τον βήχα, τη δύσπνοια και τελικά την αναπνευστική ανεπάρκεια.⁹⁸ Η HLH επίσης στους ενήλικες μπορεί να εμφανιστεί με εγκεφαλοπάθεια, ασκιτική συλλογή και φλεβοαποφρακτική νόσο.^{99,100} Τελικά οι μισοί περίπου ασθενείς χρειάζονται εντατική παρακολούθηση.¹⁰¹ Η κλινική εικόνα της αιμοφαγοκυτταρικής λεμφοιστιοκυττάρωσης και η προσβολή των εσωτερικών οργάνων, εξαρτάται και από την αιτία που την προκάλεσε. Έτσι για παράδειγμα σε ασθενείς με προσβολή του γαστρεντερικού συστήματος από ελκώδη κολίτιδα, το αίτιο μπορεί να είναι λοίμωξη από CMV ή άλλη υποκείμενη αιτία για φλεγμονώδη νόσο του εντέρου. Σε μία πιθανή προσβολή του ΚΝΣ, το αίτιο να είναι προσβολή από πλασμώδιο ή κάποιο υποκείμενο λέμφωμα. Στις αιμορραγίες οργάνων στους ασθενείς με αιμοφαγοκυτταρικό σύνδρομο η αιτία μπορεί να είναι η διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη (DIC) ή μία οξεία αιμορραγική παγκρεατίτιδα απότοκος της υπερτριγλυκεριδαιμίας που συνυπάρχει σαν εργαστηριακό εύρημα σε αυτούς τους ασθενείς.¹⁰² Χαρακτηριστικά εργαστηριακά ευρήματα, περιλαμβάνουν υψηλά επίπεδα στα τριγλυκερίδια, υψηλή φερριτίνη, υψηλές τρανσαμινάσες, χολερυθρίνη και LDH αλλά και υποινωδογοναιμία και άλλες διαταραχές της πήξης, απότοκες της ηπατικής δυσλειτουργίας όπως θα δούμε και παρακάτω.^{66,73,74,97} Οι alpha αλυσίδες του υποδοχέα της διαλυτής ιντερλευκίνης-2 (sCD25), είναι υπολογίσιμος παθολογικός δείκτης, εξαιτίας των συνεχώς αυξημένων επιπέδων τους κατά

την διάρκεια της ενεργού HLH.¹⁰³ Η αιμοφαγοκυττάρωση συχνά απουσιάζει στην αρχή, αλλά ανευρίσκεται με την πρόοδο της νόσου. Στα παιδιά, στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό, υπάρχει μια ήπια αύξηση στα κύτταρα ή και αύξηση της πρωτεΐνης στους μισούς ασθενείς. Πολύ σημαντική για τη διάγνωση της αιμοφαγοκυτταρικής λεμφοϊστιοκυττάρωσης τόσο στη γενετική μορφή της, όσο και στη δευτεροπαθή, είναι η μειωμένη, μπορεί και απύουσα, λειτουργία των NK cells καθώς και των κυτταροτοξικών T-cells (CTL).¹⁰⁴ Στους ασθενείς με FHLH, ο αριθμός των NK cell είναι φυσιολογικός, όμως η λειτουργία τους είναι μόνιμα βεβλαμμένη. Οι ασθενείς με δευτεροπαθή HLH έχουν χαμηλό αριθμό NK cells, αλλά με αυξημένη την λειτουργία τους. Η λειτουργία των NK υποστρέφει σε κανονικά επίπεδα μετά την θεραπεία. Όλα τα συμπτώματα του HLH δικαιολογούνται από την υψηλή συγκέντρωση των φλεγμονωδών κυττοκινών και την διήθηση των οργάνων από ενεργά λεμφοκύτταρα και ιστιοκύτταρα: Ο πυρετός πυροδοτείται από την IL-1 και την IL-6 και η παγκυτταροπενία είναι μάλλον συνέπεια των υψηλών επιπέδων του παραγοντα νέκρωσης των όγκων-α (TNF α) και της ιντερφερόνης γ περισσότερο από την αιμοφαγοκυττάρωση. Ο TNF α αναστέλλει την λιποπρωτεϊνική λιπάση με κύρια έκφραση την υπερτριγλυκεριδαιμία. Τα ενεργά μακροφάγα όχι μόνο εκκρίνουν φερριτίνη, αλλά ενεργοποιούν κιόλας τον ενεργοποιητή του πλασμινογόνου, στα οποία οφείλονται τα υψηλά επίπεδα πλασμίνης και η υπερινοδύλωση.^{105,106} Η απενεργοποίηση της φερροπορτίνης μέσω της επίδρασης του GDF15 από τα μακροφάγα σε αυτούς τους ασθενείς, συμβάλλει επίσης στην υπερφερριτιναιμία. Επίσης η απενεργοποίηση του CD47 που εμποδίζει την φαγοκυττάρωση μέσω της αλληλεπίδρασης του με την signal regulatory protein a (SIRPA), έχει πρόσφατα περιγραφεί στα stem cells των ασθενών αυτών.¹⁰⁷ Τα ενεργά λεμφοκύτταρα είναι η προέλευση της υψηλής συγκέντρωσης της α -αλυσίδας του υποδοχέα της ιντερλευκίνης-2 στους ασθενείς με HLH. Τελικά η ηπατοσπληνομεγαλία, τα υψηλά ηπατικά ένζυμα και η χολερυθρίνη, όπως και τα νευρολογικά σημεία, είναι συνέπεια της επινέμεσης των οργάνων από ενεργοποιημένα λεμφοκύτταρα και ιστιοκύτταρα. Για την ανάδειξη του κυρίαρχου ρόλου της INF γ μαζί με τα κυτταροτοξικά CD8+T cells στην ανάπτυξη του HLH, αποδείχθηκε στα perforin knock-out πειραματικά μοντέλα

μυών.¹⁰⁸ Πολλά από αυτά τα συμπτώματα που περιγράφησαν παραπάνω, μπορούμε να τα συναντήσουμε και σε ανοσοεπαρκείς ασθενείς, σαν αποτέλεσμα κάποιου λοιμώδους παράγοντα. Στην πράξη, ανάπτυξη οργανομεγαλίας, κυτταροπενίες και βιοχημικοί παράμετροι, θα πρέπει να υποψιάζουν και προς την κατεύθυνση του αιμοφαγοκυτταρικού συνδρόμου.

VI. ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΚΑΙ ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ

Κατά την ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος από κάποιο παθογόνο, τα μακροφάγα και τα δενδριτικά κύτταρα μαζί με τα NK cells και τα CTLs, ενεργοποιούνται και με σε μία αμοιβαία συνεργασία διεγείρουν το ένα το άλλο. Αυτή η συντονισμένη δράση οδηγεί σε θάνατο του μολυσμένου κυττάρου, απομάκρυνση του αντιγόνου και τερματισμό της ανοσοαπόκρισης. Η ελαττωματική κυτταροτοξική δράση, εμποδίζει την εξάλειψη των κυτταρικών στόχων που εκφράζουν αντιγόνα, αλλά επίσης και την απορύθμιση της ανοσοαπόκρισης.¹⁰⁹ Αν και ο παθοφυσιολογικός μηχανισμός δεν έχει αποσαφηνισθεί πλήρως, η μειωμένη δράση των NK κυττάρων έχει ως αποτέλεσμα την αυξημένη ενεργοποίηση και ανάπτυξη των T κυττάρων, με αποτέλεσμα την παραγωγή μεγάλων ποσοτήτων κυταροκινών συμπεριλαμβανομένης της INF- γ του TNF α και του παράγοντα GM-CSF κι έτσι υπάρχει συνεχής ενεργοποίηση των μακροφάγων, ιστική διήθηση και παραγωγή IL-1 και IL-6.¹¹⁰ Η παρατεταμένη ανοσολογική ανταπόκριση, μαζί με την επίμονη υπερκυτοναιμία, συνθέτουν την κλινική εικόνα στο HLH.¹⁰⁹

Τα NK cells και τα κυτταροτοξικά T λεμφοκύτταρα θανατώνουν τους στόχους τους μέσω των κυτταρολυτικών κοκκίων *vesicles*, όπως περιγράψαμε στο κεφάλαιο II, τα οποία περιέχουν περφορίνη και granzymes. Όποτε υπάρχει επαφή μεταξύ του κυττάρου φονέα και του κυττάρου στόχου σε μία ανοσολογική σύναψη, τα κυτταρολυτικά κοκκία *vesicles* μεταφέρονται στην πλευρά της πλασματοκυτταρικής μεμβράνης και απελευθερώνουν το περιεχόμενό τους.¹¹⁰ Οι γενετικές ανωμαλίες που συνοδεύουν την πρωτοπαθή HLH, είναι μεταλλάξεις που αφορούν διάφορα γονίδια όπως μεταλλάξεις στο *PFR 1*¹¹⁰ και μείωση της παραγωγής της περφορίνης με αποτέλεσμα να μην μπορούν τα κυτταρολυτικά

μόρια να εισαχθούν στα κύτταρα στόχους και να προκληθεί απόπτωση. Η μετάλλαξη στο *UNC 13D*¹¹¹ μειώνει την δυνατότητα εξωκυττάρωσης των κυτταρολυτικών κοκκίων μετά την πρόσδεσή τους στη μεμβράνη. Μία άλλη μετάλλαξη που σχετίζεται με το FHLH είναι αυτή στο γονίδιο *STX 11*.¹¹² Η πρωτεΐνη που κωδικοποιείται, η t-SNARE *syndaxin 11*, έχει ρόλο στην ενδοκυττάρια μεταφορά ουσιών. Δεδομένου ότι η πρωτεΐνη εντοπίστηκε μόνο στα μονοκύτταρα, η μετάλλαξη στο *STX 11* μπορεί να βλάψει την κυτταρολυτική δραστηριότητα που προκύπτει από την αλληλεπίδραση μεταξύ των δενδριτικών κυττάρων DC και των NK φυσικών φονέων. Η μετάλλαξη αυτή ενώ φαίνεται να έχει διείσδυση στον γενικό πληθυσμό και ιδιαίτερα στους λαούς της Μέσης Ανατολής (Τούρκοι), στη Βόρεια Αμερική καταγράφεται στο 1% των μεταλλάξεων. Από τις προαναφερθείσες μεταλλάξεις και ανάλογα με την εθνική καταγωγή, το 13%-50% είναι στην *PFR 1* και το 17%-30% στη *UNC 13D*. Πρόσφατα, έχει περιγραφεί άλλη μια γονιδιακή βλάβη που αφορούσε 2 HLH οικογένειες από το Πακιστάν, η οποία ωστόσο δεν έχει ταυτοποιηθεί ακόμα.¹¹³⁻

115

Στο σύνδρομο Chediak-Higashi τύπου 1, υπάρχει μετάλλαξη στο γονίδιο *LYST* και αφορά κυστίδια μεταφοράς, ενώ μεταλλάξεις στο *RAB 27A* περιγράφονται στο σύνδρομο Griscelli τύπου 2,¹¹⁶ όπου υπάρχει διαταραχή στην προσκόλληση των κυστιδίων στη μεμβράνη. Μεταλλάξεις στο *Rab 27a* μαζί με το *Munc 13-4*; φαίνεται οι μεταλλάξεις αυτού του συμπλέγματος να είναι σημαντικές στην ένωση των εκκριτικών κοκκίων με την πλασματική μεμβράνη. Στο *X-linked* λεμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο, οι μεταλλάξεις στο *SH2D1A* κωδικοποιούν την πρωτεΐνη SAP και διαταράσσεται η μεταφορά σήματος και η ενεργοποίηση των λεμφοκυττάρων.¹¹⁷

Δεν είναι ξεκάθαρο με ποιόν τρόπο διαταράσσεται η λειτουργία των NK κυττάρων και των CTLs στους ανοσοικανούς ασθενείς με δευτεροπαθή HLH. Οι ιοί μπορούν ίσως να παρέμβουν μέσω της λειτουργίας των CTL σε ειδικές πρωτεΐνες, ενώ υψηλή συγκέντρωση κυτοκινών μπορεί να έχει το ίδιο αποτέλεσμα. Κάποιοι ασθενείς έχουν κάποια γενετική ευπάθεια, στους οποίους μπορεί να ταυτοποιηθούν μικρά συμβάματα οφειλόμενα σε HLH. Η κυρίαρχη επικράτηση των HLH σε σχέση με τον EBV στην Ασία, συνιστά γενετική βάση

γύρω από την αιτία. Η έκκριση κυτοκινών από τα κακοήθη κύτταρα σε ασθενείς με λέμφωμα, είναι επίσης μία εξήγηση.

VII. ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΑ ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Το HLH μπορεί να διαγνωσθεί με βάση ένα σύνολο από κλινικές και εργαστηριακές παραμέτρους.¹¹⁸ Κάθε ένα εύρημα από μόνο του είναι μη ειδικό για την τελική διάγνωση και μόνο μία ολοκληρωμένη σύνθετη εικόνα από κλινικά και εργαστηριακά ευρήματα μπορεί να καταλήξει στην διάγνωση του συνδρόμου.¹¹⁹ Το 1991 η ομάδα μελέτης του HLH κατέληξε σε ένα σύνολο από διαγνωστικά κριτήρια και το 2004 η εταιρία μελέτης των ιστικυτταρώσεων εμπλούτισε την αρχική μελέτη και στην οποία χρειάζεται να πληρούνται 5 από τα 8 κριτήρια για να τεθεί η διάγνωση.¹²⁰ Ο πυρετός μπορεί να απουσιάζει από τα νεογνά, οι χαμηλές τιμές των ουδετερόφιλων και η υποινωγογοναιμία από κατανάλωση με υψηλές τις τιμές στα D-Dimers σε έναν εμπύρετο ασθενή, εμφανίζονται συνήθως αργά. Οι τιμές των αιμοπεταλίων είναι πολύ χρήσιμες γιατί πολύ γρήγορα απαντούν είτε προς την βελτίωση, είτε προς την επιδείνωση της κατάστασης. Τα επίπεδα φερριτίνης είναι θέμα προς συζήτηση αν θα πρέπει να αναθεωρηθούν (πιθανώς χρειάζονται υψηλότερες τιμές).¹²⁰ Αν και σημαντικότερο διαγνωστικό εύρημα στην HLH, η αιμοφαγοκυττάρωση, μπορεί να απουσιάζει αρχικά. Οι τρανσαμινάσες ως επί το πλείστον μπορεί να είναι από μέτρια έως σοβαρά αυξημένες και να τεθεί λανθασμένη διάγνωση από άλλες ηπατοπάθειες.

Μερικές εργαστηριακές διαγνωστικές παράμετροι που είναι επηρεασμένες στην HLH, είναι η μείωμένη λειτουργία των NK κυττάρων και οι αυξημένες συγκέντρωσεις της sCD25, των επιπέδων των κυτοκινών IFN-γ, TNF, IL-6, IL-10, IL-18, η αύξηση των δεικτών που εκκρίνονται από τα μακροφάγα όπως της β2-μικροσφαιρίνης, του MIP-1a και της sCD163 υποδοχέα .αποδόμησης της αιμοσφαιρίνης. Επίσης αυξημένα είναι τα επίπεδα της νεοπτερίνης και της heme oxygenase-1.¹²¹⁻¹²⁴ Στο 1/3 των ασθενών με FHL παρουσιάζεται νευρολογική συμπτωματολογία με διαταραχές συνείδησης, μηνιγγισμό και παράλυση των καρνιακών νεύρων, οπότε πρέπει να

γίνεται MRI στην οποία φαίνεται η προσβολή του ΚΝΣ με αμφοτερόπλευρες πολύμορφες βλάβες τόσο περικολιακά, όσο και στην περιοχή του θαλάμου και στα βασικά γάγγλια. Η οσφυονωτιαία παρακέντηση πρέπει να γίνεται για την ανεύρεση κυττάρων και πρωτεΐνης (ανευρίσκεται στο 1/2 των παιδιών).¹²⁵

Η θεραπεία της HLH θα πρέπει να βασίζεται εκτός από την ανοσοκαταστολή και στην αιτία που το προκάλεσε.¹⁴¹ Έτσι οι ιογενείς αιτίες όπως πχ οι ερπητοϊοί, οι αδενοϊοί, ο παρβοϊός B19 και η influenza, είναι πιο συχνοί και θα πρέπει να ανιχνεύονται με PCR. Οι ορολογικές εξετάσεις δείχνουν αν ο ασθενής προηγουμένως είχε εκτεθεί σε κάποιον εκλυτικό παράγοντα. Η κληρονομική μορφή είναι λιγότερο πιθανή αν ο ασθενής έχει ήδη πρωτολοίμωξη από ιό πχ EBV χωρίς να έχει αναπτύξει HLH. Η λείψμανίαση θα πρέπει να αποκλείεται με PCR από τον μυελό των οστών. Όλοι οι ασθενείς στους οποίους υπάρχει η υποψία για HLH, θα πρέπει να υποβάλλονται σε οστεομυελική βιοψία και μυελόγραμμα. Η πιθανότητα μίας υποκείμενης κακοήθειας αυξάνεται με την ηλικία και το λέμφωμα η λευχαιμία και άλλες κακοήθειες, θα πρέπει να αποκλείονται σε ασθενείς που δεν μπορεί να ταυτοποιηθεί κάποια λοίμωξη, ρευματολογική νόσος ή κάποιο γενετικό έλλειμα. Οι υπερφλεγμονώδεις καταστάσεις που αφορούν ρευματολογικά νοσήματα όπως η νεανική ρευματοειδής πολυαρθρίτιδα (sJIA), εκδηλώνονται με ουδετεροφιλία και θρομβοφιλία, αλλά και με αύξηση των πρωτεϊνών οξείας φάσης, του ινωδογόνου και της φερριτίνης. Σ' αυτούς τους ασθενείς, στα αρχικά στάδια η αρθρίτιδα μπορεί να απουσιάζει και το MAS (macrophage activation syndrome) να είναι η πρώτη εκδήλωση.^{126,127}

Όσον αφορά στην πρωτοπαθή HLH, η διάγνωση περιλαμβάνει το οικογενειακό ιστορικό, την κλινική εικόνα (αλφισμός) στα GS2, CHS, και HPS2 και εντεροπάθεια με χρόνια διάρροια στην πρώιμη έναρξη της FHL5,¹²⁸ κολίτιδα στο XIAP def¹²⁹ και ανεύρεση γιγάντιων κοκκίων στα ουδετερόφιλα στους ασθενείς με CHS.¹²⁸ Αν και η πρωτοπαθής HLH ανευρίσκεται στα παιδιά, όλο και περισσότερο ανακαλύπτεται ότι γενετικές βλάβες μπορεί να αφορούν και ενήλικες και το αντίστροφο, η δευτεροπαθής HLH να αφορά τη παιδική και νεογνική περίοδο.¹³⁰ Το κύριο διαγνωστικό πρόβλημα στην HLH, είναι ότι μπορεί να έχει το "προσωπείο" μίας κοινής λοίμωξης και να δίδεται μικρή προσοχή στη

βαρύτητα των συμπτωμάτων και έτσι χάνεται πολύτιμος χρόνος στην αντιμετώπιση της λοίμωξης με την παρατεταμένη αντιβιοτική αγωγή. Μπορεί να μας παραπλανήσει επίσης το γεγονός ότι κάποιοι ασθενείς προσωρινά βελτιώνονται με μη ειδικές παρεμβάσεις, όπως με μεταγγίσεις παραγώγων. Έτσι οι εργαστηριακές τιμές βελτιώνονται και ο πυρετός υφίεται παροδικά. Αν οι ασθενείς δεν παρακολουθούνται ενδελεχώς, τότε σημεία όπως η προοδευτική αναιμία και η εμμένουσα σπληνομεγαλία, μπορεί να διαλάθουν της προσοχής, εάν δε απουσιάζει και η φαγοκυττάρωση, τότε η διάγνωση του HLH, μπορεί να αποκλεισθεί αδικαιολόγητα.

VIII.ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΚΑΙ ΠΡΟΓΝΩΣΗ

Σημαντική πρόοδος έχει γίνει τα τις τελευταίες 2 δεκαετίες στην διαχείριση και την θεραπεία της αιμοφαγοκυτταρικής λεμφοιστιοκυττάρωσης (HLH).^{131,132} Η βελτίωση όσο αφορά την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα στις συνιστώμενες θεραπείες, έχει απασχολήσει την εταιρία ιστοκυττάρωσης καθώς και άλλες ομάδες στον κόσμο που ασχολούνται με την HLH. Σήμερα η εταιρία των ιστοκυτταρώσεων προτείνει 2 βήματα προσέγγισης της HLH. Σε πρώτη φάση πρέπει να γίνει η απόκτηση του ελέγχου της φλεγμονώδους διαδικασίας μέσω της καταστροφής του λοιμώδους αιτίου εάν υπάρχει και θα πρέπει να ακολουθείται με μείωση της ενεργοποίησης και της παραγωγής των T λεμφοκυττάρων μέσω της χρήσης στεροειδών, ετοπιοσίδης και anti-T-cell παραγόντων. Τα παγκόσμια πρωτόκολλα που ανέπτυξε η εταιρία ιστοκυτταρώσεων, έχουν καταγράψει έναν ρυθμό ύφεσης της τάξης του 71% και 5 έτους επιβίωσης μετά την αλλογενή μεταμόσχευση, με πιθανότητα στο 54% +/- 6%. Πολύ πρόσφατα ένα HLH πρωτόκολλο περιελάμβανε σχήμα μειωμένης έντασης (reduced intensity chemotherapy [RIC]) μαζί με το μονοκλωνικό αντίσωμα alemtuzumab, που στοχεύει στο CD52 και στα ώριμα λεμφοκύτταρα, χορηγώντας το 2 εβδομάδες πριν την έγχυση των κυττάρων του δότη, φαίνεται να έχει πολύ καλά αποτελέσματα.^{133,134} Σε ένα κέντρο έχει δοθεί αντιθυμοκυτταρικός ορός (ATG) και μεθύλπρεδνιζολόνη, με ακόλουθη HSCT και 55% συνολική επιβίωση.¹³⁵ Ευρωπαϊκές και Βορειοαμερικανικές πιλοτικές μελέτες με παρόμοια θεραπευτικά πρωτοκολλα, έχουν προσθέσει την

ετοποσίδη και τον αντιθυμοκυτταρικό ορό στους καταγεγραμμένους ασθενείς, ενώ Γαλλικές μελέτες έχουν αναπτύξει τον ρόλο του alemtuzumab σαν πρώτης γραμμής θεραπεία. Οι ασθενείς με mild HLH χαρακτηριστικά ή μερική νόσο, είναι πιθανό να οφεληθούν από τη θεραπεία που βασίζεται στα στεροειδή και στις ενδοφλέβιες ανοσοσφαιρίνες,¹³⁶ χωρίς κυτταροστατικά και μονοκλωνικά αντισώματα. Η φαρμακοδυναμική της ετοποσίδης έχει πρόσφατα καταγραφεί σε πειραματικά μοντέλα μυών με FHL-2, στα οποία κυριαρχεί η εξάλειψη των ενεργοποιημένων T-cells η καταστολή της παραγωγής των φλεγμονοδών κυτοκινών.¹³⁷ Ανάμεσα στις άλλες χημειοθεραπείες, θέση στην θεραπεία της HLH έχει η κυκλοφωσφαμίδη και η μεθοτρεξάτη, όπως φαίνεται σε πειραματικά μοντέλα μυών. Σε προσβολή του ΚΝΣ, θεραπευτικά πρωτόκολλα εφαρμόζουν ανοσοκατασταλτική θεραπεία και ενδοραχιαία θεραπεία μαζί.¹³⁸ Στοχευμένες θεραπείες με anti-CD25 (daclizumab) έχουν καταγραφεί.¹³⁹ Πρόσφατα στοχευμένες θεραπείες στην IFN γ (emapalumab) έχουν καταγραφεί πολύ καλά αποτελέσματα και υπόσχεση για θεραπεία που στοχεύει αποκλειστικά στην HLH, στο δευτεροπαθές (sJIA) αλλά και στο HLH malignancy-associated.¹⁴⁰ Άλλα αντισώματα σε μελέτες, είναι το tocilizumab (anti-IL-6), όπως και τα anti-IL-1 και anti-IL-18.¹⁴¹ Στο ΜΑΣ και στη συστηματική νεανική ιδιοπαθή αρθρίτιδα, καταγράφονται οι ανοσοσφαιρίνες, τα γλυκοκορτικοειδή, το anakinra (anti-IL-1 β), η κυκλοσπορίνη Α και η ετοποσίδη.¹²⁶ Η ριτουξιμάμπη έχει θέση στο HLH όπου εμπλέκεται ιογενής λοίμωξη με EBV.¹⁴² Στους ασθενείς που θα μας απασχολήσουν πιο κάτω με συνοδό σήψη και εικόνα HLH, προεξάρχει η θεραπεία με αντιβιοτικά, κορτικοστεροειδή και ανοσοσφαιρίνη IV για έλεγχο της υπερκυτοναιμίας καθώς και η υποστηρικτική θεραπεία.¹⁴³

Β.ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΜΑΚΡΟΦΑΓΩΝ

Το αιμοφαγοκυτταρικό σύνδρομο (HLH) συνδέεται ορισμένες φορές με αυτοάνοσες και υπερφλεγμονώδεις καταστάσεις, που συχνά περιγράφονται με τον όρο MAS (σύνδρομο ενεργοποίησης μακροφάγων). Αυτή η κατάσταση μπορεί να είναι εξίσου σοβαρή με άλλες μορφές του HLH. Ωστόσο, οι κλινικές και εργαστηριακές παράμετροι που ορίζουν το MAS παραμένουν αντικείμενο συζήτησης. Συνήθως, εμφανίζεται συχνότερα στη νεανική ιδιοπαθή αρθρίτιδα

(JIA) στα παιδιά, στη νόσο του Still και στον συστηματικό ερυθηματώδη λύκο (SLE) στους ενήλικες.

Πρόσφατα, έχει αναδειχθεί μια σύνδεση μεταξύ του MAS και των βαρέως πασχόντων ασθενών με σήψη, τόσο σε επίπεδο παθογένεσης όσο και σε σχέση με τη διαφοροποιημένη θεραπευτική προσέγγιση που ενδείκνυται για αυτούς τους ασθενείς. Η ανάλυση αυτής της θεραπείας θα παρουσιαστεί στη συνέχεια.

Η διάκριση ανάμεσα στην πρωτοπαθή και τη δευτεροπαθή μορφή του HLH παραμένει ασαφής. Ωστόσο, οι γονιδιακές μελέτες σε ασθενείς με νεανική ιδιοπαθή αρθρίτιδα (JIA) και MAS έχουν εντοπίσει με αυξημένη συχνότητα ετερόζυγες λειτουργικές μεταλλάξεις και πολυμορφισμούς σε γονίδια που σχετίζονται με την HLH. Αυτό υποδηλώνει ότι, σε ορισμένες περιπτώσεις, το MAS μπορεί να συνδέεται με υποκείμενες γενετικές ανωμαλίες, παρόμοιες με εκείνες που παρατηρούνται στις πρωτοπαθείς μορφές HLH. Αυτή η γενετική προδιάθεση ενισχύει την κατανόηση της παθοφυσιολογίας του MAS, αναδεικνύοντας τη σύνθετη σχέση μεταξύ γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων στην ενεργοποίηση της υπερφλεγμονώδους αυτής κατάστασης.^{144,145}

Γενικά αυτοί οι ασθενείς έχουν κατεσταλμένη τη λειτουργία των NK κυττάρων, όπως και της έκφρασης της περφορίνης και αυξημένα τα επίπεδα sIL2R και CD163¹⁴⁶. Μέσα σε μία “καταιγίδα κυτταροκινών” (cytokine storm) είναι πιθανό να λαμβάνουν μέρος η interferon- γ , IL-1, IL-6, IL-18 και ο TNF.¹⁴⁷¹⁴⁸ Επίσης η σημαντική αύξηση της φερριτίνης είναι αποτέλεσμα της δράσης της αιμοοξυγενάσης-1 στο σίδηρο προκειμένου να αποφευχθεί το οξειδωτικό stress. Είναι σημαντικό ότι οι κυτοκίνες επίσης διεγείρουν περαιτέρω την παραγωγή της φερριτίνης στο ήπαρ και αυτό συμβάλλει στην ηπατική δυσλειτουργία. Όσον αφορά το γενετικό υπόβαθρο του MAS, αυτό μπορεί να συνδέεται με διαλληλικές βλάβες στο γονίδιο που αφορά την κυτταρολυτική οδό μέσω της περφορίνης από τα NK κύτταρα και τα CD8 T λεμφοκύτταρα όπως αποδεικνύουν πειραματικά μοντέλα.^{149,150} Είναι γεγονός ότι υπάρχουν πολλαπλές οδοί οι οποίες τελικά μπορεί να συνδέονται σε μια κοινή παθολογία με την κλινική εικόνα του MAS και περιλαμβάνουν κυτταρολυτικές οδούς, που δεν συνοδεύονται από γονιδιακές βλάβες και έχει αποδειχθεί σε πειραματικά μοντέλα μυών με MAS, το

οποίο δημιουργούνται από τη συνεχή διέγερση της κυτταρικής ανοσίας μέσω του toll-like υποδοχέα (TLR), η έκλυση συνδρόμου ομοιάζον με MAS μετά από ανοσοθεραπεία σε ανθεκτική λευχαιμία.^{151,152} Έτσι φαίνεται να γίνεται αποδεκτή η υπόθεση του πολλαπλού χτυπήματος, ότι δηλαδή υπάρχει ένα γενετικό υπόβαθρο και κάποιος φλεγμονώδης υποκινητής, ερέθισμα, που ευοδώνει τη δημιουργία του συνδρόμου. πχ λοίμωξη, καρκίνος, ανοσοανεπάρκεια, αυτοάνοσο νόσημα κλπ.^{153,154}

Διάφορες φλεγμονώδεις αιτίες και λοιμώξεις μπορεί να πυροδοτήσουν MAS όπως οι από την οικογένεια των ερπητοϊών όπως ο Epstein-Barr virus (EBV), ο κυτταρομεγαλοϊός (CMV) και ο ανθρώπινος ερπητοϊός 6 (HHV6), ο HIV-1 και ο H1N1 και μικροβιακές λοιμώξεις από *Staphylococcus* και *Salmonella*, *Legionella*, *Mycoplasma*, *Ehrlichia*, *Histoplasma*, *Cryptococcus*, και παράσιτα. Το MAS που συνοδεύει κακοήθειες όπως γίνεται αντιληπτό συνδέεται από μεγαλύτερη θνητότητα και το συναντούμε πιο συχνά σε πρωτοπαθείς όγκους όπως στον ηπατοκυτταρικό καρκίνο, στον καρκίνο του πνεύμονα, στο λέμφωμα Hodgkin και στο non-Hodgkin λέμφωμα.¹⁵⁵ Στις υπερφλεγμονώδεις καταστάσεις και στις αυτοάνοσες διαταραχές, σε νοσήματα όπως η συστηματική νεανική ιδιοπαθής νεανική αρθρίτιδα που χαρακτηρίζεται από πυρετό, ορογονίτιδα και αυξημένα φλεγμονώδη στοιχεία και καμιά φορά στα παιδιά, δυσκολεύει η διάκριση μεταξύ της έξαρσης της νόσου και των συμπτωμάτων του συνδρόμου.¹⁵⁶ Στον συστηματικό λύκο (SLE) στους ενήλικες ο οποίος επιπλέκεται με MAS, θα πρέπει να γίνεται διάκριση στα συμπτώματα, καθώς απασχολεί κι εδώ ο πυρετός, η παγκυτταροπενία και η σπληνομεγαλία.^{157,158} Άλλες ρευματολογικές παθήσεις που συνδέονται με MAS, μπορεί να είναι οι αγγειίτιδες, οι σπονδυλαρθρίτιδες και η νόσος Kawasaki (KD) στα παιδιά. Η KD είναι η τρίτη πιο κοινή ρευματολογική πάθηση στα παιδιά, που μπορεί να αποτελέσει το έναυσμα για το σύνδρομο ενεργοποίησης των μακροφάγων. Η νόσος Kawasaki χαρακτηρίζεται από διάταση στα στεφανιαία αγγεία, ανευρύσματα και μυοκαρδιακά συμβάματα στην πορεία της ζωής και έχει αποδειχθεί σε πειραματικά μοντέλα, ότι στην KD με MAS, εκλύεται IL-1β που εμπλέκεται με φλεγμονή στα στεφανιαία αγγεία. Ενδιαφέρον παρουσιάζει η καταστολή (block) της IL-1 στα παιδιά με KD και MAS που βελτιώνεται έτσι η

παθολογία των στεφανιαίων σε αυτούς τους ασθενείς.¹⁵⁹⁻¹⁶⁵ Τέλος το οικογενές αιμοφαγοκυτταρικό σύνδρομο (fHLH) μπορεί να συνδέεται με το σύνδρομο των ενεργοποιημένων μακροφάγων. Σε μια πρόσφατη δημοσίευση από το Μαρόκο, γίνεται λόγος για MAS σε τριών ετών αγόρι με σύνδρομο Griscelli τύπου-2.¹⁶⁶

Παρά την πληθώρα παθήσεων που συνδέονται με την ανάπτυξη του MAS, τα κλινικά χαρακτηριστικά του εμφανίζουν ομοιότητες ανεξαρτήτως της υποκείμενης αιτίας. Ο πυρετός είναι συχνά υψηλός και παρατεταμένος, ωστόσο, όταν το MAS εμφανίζεται σε ασθενείς με ρευματολογικές παθήσεις που λαμβάνουν βιολογικούς παράγοντες, όπως αναστολείς της IL-1, IL-6 και του TNF, η αντιπυρετική δράση αυτών των φαρμάκων μπορεί να καλύψει την εμφάνιση πυρετού. Επίσης, αν και έχει αναφερθεί ότι οι αναστολείς των κυτταροκινών προκαλούν MAS, αυτό δεν υποστηρίζεται από τα δεδομένα. Άλλα χαρακτηριστικά του MAS περιλαμβάνουν την οργανομεγαλία, όπως ηπατομεγαλία, σπληνομεγαλία ή και τα δύο, καθώς και την εμπλοκή του κεντρικού νευρικού συστήματος, η οποία εμφανίζεται σε πάνω από 50% των περιπτώσεων. Τα νευρολογικά συμπτώματα κυμαίνονται από ήπια σύγχυση έως επιληπτικές κρίσεις και κώμα. Επίσης, αιμορραγικές εκδηλώσεις, παρόμοιες με αυτές του διάχυτου ενδαγγειακού πήγματος (DIC), παρατηρούνται συχνά και συνδέονται με ηπατική δυσπραγία, κατανάλωση ινωδογόνου και θρομβοπενία.

Στους βαρέως πάσχοντες ασθενείς, η διάκριση μεταξύ MAS και DIC λόγω σήψης είναι κρίσιμη. Η θεραπευτική αντιμετώπιση διαφέρει και περιλαμβάνει, αφενός, ευρέως φάσματος αντιβιοτικά για τη σήψη και, αφετέρου, ανοσοκατασταλτικά για το MAS. Επιπλέον, το MAS μπορεί να επιπλέξει τη βακτηριακή σήψη, αυξάνοντας σημαντικά τη θνησιμότητα των ασθενών.¹⁶⁷⁻¹⁷¹

Ένα από τα πιο χαρακτηριστικά εργαστηριακά ευρήματα στο MAS είναι οι εξαιρετικά υψηλές τιμές φερριτίνης (πάνω από 10.000 ή ακόμη και πάνω από 100.000 ng/ml).¹⁷² Ωστόσο, χαμηλότερα επίπεδα φερριτίνης δεν αποκλείουν τη διάγνωση του MAS. Επιπλέον, άλλες εργαστηριακές ενδείξεις περιλαμβάνουν αυξημένα επίπεδα ασπαρτικής αμινοτρανσφεράσης (AST), LDH, υπερτριγλυκεριδαίμια, υπονατρίαίμια, αυξημένη CRP, καθώς και διαλυτά CD25 και CD163. Επίσης, παρατηρούνται αυξημένα D-Dimers και υποϊνωδογόναίμια,

ενώ η χαμηλή ταχύτητα καθίζησης των ερυθρών (ΤΚΕ) είναι συχνό εύρημα λόγω της υποινωδογοναιμίας.¹⁶⁷ Οι χαμηλές τιμές της ΤΚΕ, σε συνδυασμό με την αύξηση της πρωτεΐνης follistatin-like 1, συνδέονται άμεσα με την ανάπτυξη του MAS, προσφέροντας περαιτέρω διαγνωστική αξία για την αναγνώριση της κατάστασης.¹⁷³

Όπως και η πρωτοπαθής μορφή του αιμοφαγοκυτταρικού συνδρόμου (fHLH), έτσι και το MAS είναι δυνητικά θανατηφόρο αν δεν διαγνωστεί έγκαιρα. Συχνά υποδιαγιγνώσκεται στις μονάδες αυξημένης φροντίδας, καθώς μπορεί να εκληφθεί λανθασμένα ως σήψη με αρνητικές καλλιέργειες, σύνδρομο πολυοργανικής ανεπάρκειας ή σύνδρομο συστηματικής φλεγμονώδους αντίδρασης (SIRS).¹⁷⁰ Αν λάβουμε υπόψη ότι γονιδιακές μεταλλάξεις και πολυμορφισμοί που σχετίζονται με το HLH απαντώνται στο 4% των Βορειοαμερικανών και στο 10% του γενικού πληθυσμού, είναι σαφές ότι ένας σημαντικός αριθμός ατόμων βρίσκεται σε κίνδυνο να αναπτύξει MAS.¹⁵³

Τα τελευταία χρόνια έχει αναπτυχθεί και επικυρωθεί ένα νέο διαγνωστικό μοντέλο, από μια ευρύτερη κατηγορία του ενεργού αιμοφαγοκυτταρικού συνδρόμου (HS) και ονομάζεται Hscore, από τον Fardet et al. Αυτό η βαθμολογία έχει αναπτυχθεί πάνω σε μία πολυκεντρική αναδρομική μελέτη, όπου συμμετείχαν 312 ασθενείς, οι οποίοι κατηγοριοποιήθηκαν σε αυτούς με ενεργό HS (n=162), σε αυτούς χωρίς ενεργό HS (n=104) και σε αυτούς με αμφίβολα ενεργό HS (n=46), ενώ χρησιμοποιήθηκαν εννέα μεταβλητές, τρεις κλινικές, πέντε βιολογικές και μια κυτταρολογική. Η μέση βαθμολογία σε ασθενείς με HS είναι 212.¹⁷⁴⁻¹⁷⁶

Η βασική θεραπεία που εφαρμόζεται για την θεραπεία MAS περιλαμβάνει υψηλές δόσεις etoposide, κορτικοειδή και κυκλοσπορίνη Α με γέφυρα για αλλογενή μεταμόσχευση μυελού των οστών.¹⁷⁷ Πολλές θεραπείες αναπτύχθηκαν για να θεραπεύσουν το MAS στα παιδιά με sJIA. Χρησιμοποιούνται υψηλές δόσεις κορτικοστροειδών (υψηλότερες από αυτές που χρησιμοποιούνται στο HLH-2004. Τυπικά, η ώση μεθυλπρεδνιζολόνης είναι αποτελεσματική στο σύνδρομο ενεργοποίησης των μακροφάγων από αυτοάνοση αιτιολογία, ακόμα και στο MAS από λοιμώδες έναυσμα.¹⁷⁸ Επιπρόσθετα η κυκλοσπορίνη Α είχε αναγνωρισθεί νωρίς ως γενεαλλακτική

θεραπεία στις περιπτώσεις με ανθεκτικό MAS στα κορτικοειδή.¹⁷⁹ Η βιολογική θεραπεία επίσης έχει οφέλη στις ανθεκτικές στη θεραπεία μορφές MAS. Η χρήση της ανοσοσφαιρίνης έχει βοηθήσει αρχικά τις περιπτώσεις MAS λοιμώδους αιτιολογίας και η αντιθυμοκυτταρική σφαιρίνη επίσης έχει καταγραφεί σε ανθεκτικές μορφές του συνδρόμου. Πιο πρόσφατα, υπάρχουν εκτενείς αναφορές για τα οφέλη από τη χρήση των μονοκλωνικών αντισωμάτων και του rituximab (anti-CD20) για τη θεραπεία του MAS που οφείλεται στον ιό EBV.¹⁸⁰ Μπλοκάροντας τις προφλεγμονώδεις κυττοκίνες με νέους βιολογικούς παράγοντες, αποτελεί επαναστατική θεραπεία στο πεδίο των σοβαρών αυτοάνοσων και αυτοφλεγμονοδών καταστάσεων. Αναφέρονται σαν μη δημοσιευμένες θεραπείες MAS οι ανασταλτές του TNF, όμως εκφράζονται και ανησυχίες μήπως τέτοιοι ανασταλτές μπορεί να πυροδοτούν MAS.^{181,182} Πρόσφατα σχετικά, το μπλοκάρισμα της IL-1 με τον ανασυνδυασμένο ανταγωνιστή του υποδοχέα της IL-1 anakinra, χρησιμοποιήθηκε επιτυχώς για τη θεραπεία του MAS που οφείλεται σε sJIA,⁷ αλλά και σε άλλης αιτιολογίας πρόκλησης του συνδρόμου.¹⁸³ Όμοίως η καταστολή της IL-6 μέσω μονοκλωνικών αντισωμάτων στον υποδοχέα της IL-6 βρέθηκε να έχει καλά αποτελέσματα στη διάσπαση της "καταιγίδας των κυτταροκινών" που παράγονται από τη θεραπεία T ανθεκτικών λευχαιμιών.¹¹ Η δράση μέσω των ανταγωνιστών στην interferon- γ σαν θεραπεία είναι υπό μελέτη.¹⁸⁴

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η σήψη ορίζεται ως μια απειλητική για τη ζωή δυσλειτουργία των οργάνων που οφείλεται στη δυσρυθμισμένη αντίδραση του ξενιστή σε μια λοίμωξη.¹⁸⁵ Ο ορισμός αυτός, βασισμένος στα αποτελέσματα εκτεταμένων ερευνών που διεξήχθησαν τις τελευταίες τρεις δεκαετίες, είχε ως στόχο να επισημάνει τη σημασία της δυσρύθμισης της ανοσολογικής αντίδρασης του ξενιστή. Τις τελευταίες δύο δεκαετίες, μεγάλες τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές με ανοσοτροποποιητές στη σήψη απέτυχαν να παρουσιάσουν κάποιο όφελος.¹⁸⁶ Μια σημαντική ερμηνεία για αυτές τις αποτυχίες είναι η μεγάλη ετερογένεια των κλινικών και ανοσολογικών φαινοτύπων της σήψης. Τα άκρα των φαινοτύπων ανοσολογικής απορρύθμισης στη σήψη είναι μια κατάσταση υπερφλεγμονής και μια κατάσταση ανοσολογικής παράλυσης, αμφότερες επιζήμιες για τη βραχυπρόθεσμη και μακροπρόθεσμη έκβαση. Εάν μπορέσουμε να κατανοήσουμε στην πρώιμη φάση της σήψης ποιος ασθενής πάσχει από ποιον τύπο ανοσολογικής απορρύθμισης, ίσως μπορέσουμε να σχεδιάσουμε εξατομικευμένες συμπληρωματικές ανοσοθεραπευτικές προσεγγίσεις που μπορεί να είναι πιο αποτελεσματικές από τη συνήθη ανοσοθεραπεία.

Οι ασθενείς σε υπερφλεγμονώδη κατάσταση διατρέχουν υψηλό κίνδυνο θανάτου κατά τις πρώτες 10 ημέρες. Αυτοί οι ασθενείς έχουν υπερβολική παραγωγή ιντερλευκίνης (IL)-1β από τα ιστικά μακροφάγα, που οδηγεί σε πανκυτταροπενία, αιμοφαγοκυττάρωση του μυελού των οστών, ηπατική δυσλειτουργία και διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη (ΔΕΠ), ένα σύμπλεγμα χαρακτηριστικών που ονομάστηκε σύνδρομο ενεργοποίησης των μακροφάγων (MAS).¹⁸⁷ Χρησιμοποιώντας τη βαθμολογία HS¹⁸⁸ και τα κριτήρια που πρότειναν οι Shakoooy και συν.¹⁸⁹ διαπιστώθηκε ότι χαρακτηριστικά του MAS μπορεί να παρουσιάζονται στο 3,7% έως 4,3% του συνόλου των ασθενών με σήψη, μια οντότητα που ονομάζετε πλέον ως σύνδρομο ομοιάζον με την ενεργοποίηση των μακροφάγων (MALS). Οι συγκεντρώσεις φερριτίνης που υπερβαίνουν τα 4.420 ng/mL έχουν ειδικότητα 98,0% και αρνητική προγνωστική αξία 97,2% για τη διάγνωση του MALS.¹⁹⁰ Η post hoc ανάλυση μιας μεγάλης τυχαιοποιημένης κλινικής δοκιμής έδειξε ότι η υποομάδα των ασθενών με MALS παρουσίασε

όφελος επιβίωσης κατά τη θεραπεία με τον ανασυνδυασμένο ανταγωνιστή του υποδοχέα IL-1, anakinra).¹⁹⁰

Στο άλλο άκρο της ανοσιακής ενεργοποίησης βρίσκονται οι ασθενείς που παρουσιάζουν ανοσοπαράλυση.¹⁹¹ Τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος βρίσκονται σε εξαντλημένη κατάσταση και αυτό έχει ως αποτέλεσμα την ευαισθησία σε δευτερογενείς λοιμώξεις, την παρατεταμένη νοσηλεία και την αυξημένη θνητότητα. Η μείωση της έκφρασης του ανθρώπινου λευκοκυτταρικού αντιγόνου (HLA)-DR στη μεμβράνη των κυκλοφορούντων μονοκυττάρων έχει προταθεί ως χαρακτηριστικό γνώρισμα της ανοσοπαράλυσης.¹⁹² Πιλοτικές μελέτες έχουν δείξει ότι η κατάσταση αυτή μπορεί να αντιστραφεί μετά τη θεραπεία με την ανασυνδυασμένη ανθρώπινη ιντερφερόνη-γ (rhIFNγ).¹⁹³ Δεδομένου ότι μια μειοψηφία ασθενών παρουσιάζει ανοσοπαράλυση (πιθανώς όχι περισσότερο από 25%-30%), είναι άσκοπο, και ίσως ακόμη και επικίνδυνο, να θεραπεύονται όλοι οι ασθενείς με σήψη χρησιμοποιώντας το rhIFNγ.

Η PROVIDE (εξατομικευμένη τυχαίοποιημένη δοκιμή επικύρωσης και αποκατάστασης της δυσλειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος σε σοβαρές λοιμώξεις και σήψη) είναι μια τυχαίοποιημένη κλινική δοκιμή φάσης II, που διεξήχθη με δύο κύριους στόχους: (1) να παράσχει εργαλεία για την ταξινόμηση της ανοσολογικής κατάστασης των ασθενών με σήψη ως MALS, ενδιάμεση ή ανοσοπαράλυση και να διερευνήσει εάν η ταξινόμηση αυτή αντανάκλα την τελική έκβαση (όπως ορίζεται από την επιβίωση) και (2) να αξιολογήσει εάν η θεραπεία με anakinra ή η rhIFNγ σε ασθενείς με MALS και ανοσοπαράλυση, αντίστοιχα, μπορεί να επηρεάσει την έκβαση των ασθενών.

ΜΕΘΟΔΟΙ

Η PROVIDE είναι μια διπλά-τυφλή, διπλά-εικονική τυχαιοποιημένη κλινική δοκιμή που πραγματοποιήθηκε μεταξύ Νοεμβρίου 2017 και Δεκεμβρίου 2019 σε 14 κέντρα μελέτης στην Ελλάδα (εννέα Μονάδες Εντατικής Θεραπείας και πέντε κλινικές παθολογίας) (EudraCT 2017-002171-26, έγκριση από την Εθνική Επιτροπή Δεοντολογίας της Ελλάδας 78/17, έγκριση IS 75-17 από τον Εθνικό Οργανισμό Φαρμάκων της Ελλάδας, καταχώριση στο Clinicaltrials.gov NCT03332225). Οι συμμετέχοντες ήταν ενήλικες (ηλικίας ≥ 18 ετών) ανεξαρτήτως φύλου με λοίμωξη του κατώτερου αναπνευστικού συστήματος (πνευμονία της κοινότητας ή νοσοκομειακή πνευμονία ή πνευμονία που σχετίζεται με αναπνευστήρα) ή πρωτοπαθή βακτηριαιμία ή οξεία χολαγγειίτιδα και σήψη. Οι λοιμώξεις ορίστηκαν σύμφωνα με διεθνή κριτήρια (Πίνακας 1).¹⁹⁴ Η σήψη ορίστηκε ως συνολική βαθμολογία διαδοχικής αξιολόγησης της ανεπάρκειας των οργάνων (SOFA) 2 ή περισσότερο για τις νέες εισαγωγές ή ως αύξηση της συνολικής βαθμολογίας SOFA κατά 2 ή περισσότερες μονάδες για τους νοσηλευόμενους ασθενείς. Η σηπτική καταπληξία ορίστηκε ως επιμένουσα μέση αρτηριακή πίεση κάτω από 65mmHg παρά την επαρκή ενδοφλέβια χορήγηση υγρών με γαλακτικό πλάσματος μεγαλύτερο από 2 mmol/L που καθιστά αναγκαία τη θεραπεία με αγγειοπιεστικά. Κριτήρια αποκλεισμού ήταν: άλλου τύπου λοιμώξεις, κακοήθειες σταδίου IV, λοίμωξη HIV, πρωτοπαθής ανοσοανεπάρκεια, χρόνια λήψη κορτικοστεροειδών που ορίζεται ως συνολική ημερήσια δόση ίση ή μεγαλύτερη από 0,4 mg/kg ισοδύναμης πρεδνιζόνης για περισσότερες από τις τελευταίες 15 ημέρες, λήψη βιολογικών παραγόντων κατά των κυτταροκινών, ιστορικό συστηματικού ερυθρηματώδους λύκου, ιστορικό απομυελινωτικών διαταραχών, εγκυμοσύνη, θηλασμός και απόφαση μη αναζωογόνησης. Όλοι οι ασθενείς υπέβαλαν γραπτό έντυπο συγκατάθεσης μετά από ενημέρωση (ICF) είτε οι ίδιοι είτε οι νόμιμοι εκπρόσωποί τους.

Πίνακας S3. Προσδιορισμός αποδεκτών λοιμώξεων. Σχετικά με τις λεπτομέρειες των μεθόδων.

Λοίμωξη	Όλα τα ακόλουθα	Τουλάχιστον 2 από τα ακόλουθα	Τουλάχιστον 1 από τα ακόλουθα
Οξεία χολαγγειίτιδα	<ul style="list-style-type: none"> • Άλγος στο δεξιό υποχόνδριο • Πυρετός (θερμοκρασία τυμπάνου ή στόματος $\geq 38^{\circ}\text{C}$, πρωκτική $\geq 38,3^{\circ}\text{C}$) 	Δεν εφαρμόζεται	Συμβατά ευρήματα στο υπερηχοτομογράφημα ή στην υπολογιστική τομογραφία
Πρωτογενής βακτηριαιμία	<ul style="list-style-type: none"> • Τουλάχιστον 1 θετική καλλιέργεια αίματος • Αποτυχία εντοπισμού της πρωτοπαθούς θέσης λοίμωξης παρά τη διεξοδική κλινική και ακτινολογική διερεύνηση 	Δεν εφαρμόζεται	Δεν εφαρμόζεται
Πνευμονία της κοινότητας	Νέο ή εξελισσόμενο διήθημα στην απλή ακτινογραφία θώρακος	<ul style="list-style-type: none"> • Νέα έναρξη ή επιδείνωση προϋπάρχοντος βήχα • Δύσπνοια • Ακροαστικά ευρήματα συμβατά με λοίμωξη του κατώτερου αναπνευστικού συστήματος 	<ul style="list-style-type: none"> • Προκαλσιτονίνη ≥ 0.25 ng/ml • Υποξαιμία ($pO_2 \leq 60$ mmHg ή κορεσμός οξυγόνου $\leq 90\%$ στον ατμοσφαιρικό αέρα) • Αναπνευστικός ρυθμός ≥ 20 αναπνοές/λεπτό
Ενδονοσοκομειακή πνευμονία	<ul style="list-style-type: none"> • Έναρξη >48 ώρες από την εισαγωγή στο νοσοκομείο 	<ul style="list-style-type: none"> • Νέα έναρξη ή επιδείνωση προϋπάρχοντος βήχα 	<ul style="list-style-type: none"> • Προκαλσιτονίνη $\geq 0,25$ ng/ml

	<p>χωρίς να είναι σε επώαση κατά την εισαγωγή στο νοσοκομείο</p> <ul style="list-style-type: none"> • Νέο ή εξελισσόμενο διήθημα στην ακτινογραφία θώρακος 	<ul style="list-style-type: none"> • Δύσπνοια • Ακροαστικά ευρήματα συμβατά με λοίμωξη του κατώτερου αναπνευστικού συστήματος 	<ul style="list-style-type: none"> • Υποξαιμία ($pO_2 \leq 60 \text{ mmHg}$ ή κορεσμός οξυγόνου $\leq 90\%$ στον ατμοσφαιρικό αέρα) • Αναπνευστικός ρυθμός ≥ 20 αναπνοές/λεπτό
<p>Πνευμονία που συνδέεται με το μηχανικό αερισμό</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Έναρξη >48 ώρες από την εφαρμογή μηχανικού αερισμού χωρίς να είναι σε επώαση κατά την εφαρμογή μηχανικού αερισμού • Νέο ή εξελισσόμενο διήθημα στην απλή ακτινογραφία θώρακος 	<ul style="list-style-type: none"> • Πυώδεις τραχειοβρογχικές εκκρίσεις • Ακροαστικά ευρήματα συμβατά με λοίμωξη του κατώτερου αναπνευστικού συστήματος 	<ul style="list-style-type: none"> • Προκαλσιτονίνη $\geq 0,25 \text{ ng/ml}$ • Κλινική βαθμολογία πνευμονικής λοίμωξης (CPIS) ≥ 6

Η PROVIDE αποτελούνταν από ένα στάδιο διαλογής/παρατήρησης και ένα στάδιο παρέμβασης. Κατά τη διάρκεια του σταδίου διαλογής/παρατήρησης γινόταν καθημερινή καταγραφή των ακόλουθων μεταβλητών: τύπος λοίμωξης, συννοσηρότητες, ολικός αριθμός αιμοσφαιρίων, εξετάσεις πήξης, νεφρική και ηπατική βιοχημεία, αέρια αρτηριακού αίματος, αποτελέσματα καλλιέργειας αίματος, ούρων και τραχειοβρογχικών εκκρίσεων, αποτελέσματα απεικόνισης και συνολική επιβίωση. Σε κάθε ασθενή έγινε αιμοληψία 10mL μέσω περιφερικής φλέβας εντός των πρώτων 24 ωρών από την ένταξη στη μελέτη (ημέρα 1), η οποία επαναλήφθηκε μετά από 24 ώρες (ημέρα 2). Τα δείγματα συλλέχθηκαν σε καθαρά φιαλίδια με επάλυψη EDTA και μεταφέρθηκαν μέσω ταχυ-ταχυδρομείου στο κεντρικό εργαστήριο. Η φερριτίνη μετρήθηκε στον ορό με ενζυμική μέθοδο ανοσοπροσρόφησης (ORGENTEC Diagnostika GmbH, Mainz, Γερμανία-κατώτερο όριο ανίχνευσης 75 ng/mL). Χρησιμοποιώντας ολικό αίμα από το φιαλίδιο EDTA, τα λευκά αιμοσφαίρια επωάστηκαν για 15 λεπτά στο σκοτάδι με τα ακόλουθα μονοκλωνικά αντισώματα: anti-CD14 FITC, anti-HLA-DR-PE, anti-CD45 PC5 (Immunotech, Marseille, Γαλλία) και Quantibrite HLA-DR/anti-monocyte PerCP-Cy5 (Becton Dickinson, Cockeysville Md). Μετά την επώαση, τα κύτταρα αναλύθηκαν με κυτταρομετρητή ροής FC500 σε σύγκριση με κύτταρα που χρωματίστηκαν με anti-CD45 PC5 και αντι-ιδιοτυπική IgG1. Τα μόρια HLA-DR στα μονοκύτταρα CD14/CD45 εκφράστηκαν ως ποσοστό των θετικά χρωματισμένων κυττάρων και ως αριθμός μορίων ανά κύτταρο.

Το MALS ορίσθηκε ως φερριτίνη άνω των 4420 ng/mL και στα δύο δείγματα ή στο δείγμα της 2ης ημέρας, ανεξάρτητα από τα αποτελέσματα της κυτταρομετρίας ροής.¹⁹⁰ Η ανοσοπαράλυση διαγνώστηκε ως έκφραση HLA-R/CD14/CD45 μικρότερη από 30% και τις δύο ημέρες ή στο δείγμα της ημέρας 2, υπό την προϋπόθεση ότι η συγκέντρωση της φερριτίνης ήταν ≤ 4420 ng/ml¹⁹². Οι ασθενείς που δεν μπορούσαν να ταξινομηθούν ως MALS ή ανοσοπαράλυση θεωρήθηκαν ότι βρίσκονταν σε ενδιάμεση ανοσολογική κατάσταση.

Τα μονοπύρνα κύτταρα του περιφερικού αίματος (PBMC) απομονώθηκαν από κάθε δείγμα αίματος EDTA με φυγοκέντρηση σε διαβάθμιση πυκνότητας Ficoll-Hyraque. Μετά από τρεις πλύσεις σε παγωμένο PBS (φυσιολογικός ορός ρυθμισμένος με φωσφορικά άλατα, pH: 7,2), τα PBMC

καταμετρήθηκαν χρησιμοποιώντας πλάκα Neubauer με αποκλεισμό των νεκρών κυττάρων μετ'από χρώση με μπλε της τρυπτάνης και διανεμήθηκαν σε πλάκα 96 θέσεων σε τελικό όγκο 200 mL και πυκνότητα $2,5 \times 10^6/\text{mL}$. Τα PBMC επωάστηκαν σε RPMI 1640 (SigmaAldrich, Βερολίνο, Γερμανία) εμπλουτισμένο με 2 mM L-γλουταμίνης, 100 U/mL πενικιλίνης G, 0,1 mg/mL στρεπτομυκίνης χωρίς/με 10 ng/mL λιποπολυσακχαρίτη (LPS) του *Escherichia coli* O55:B5 ή 5 mg/mL φυτοαιμοσυγκολλητίνης (PHA). Μετά από επώαση για 48 ώρες στους 37°C και 5% CO₂ τα υπερκείμενα συλλέχθηκαν και η συγκέντρωση του παράγοντα νέκρωσης όγκων α (TNF-α) μετρήθηκε εις διπλούν με τη χρήση ενζυμική μέθοδο ανοσοπροσρόφησης (Invitrogen Waltham, Massachusetts-κατώτερο όριο ανίχνευσης 20 pg/mL).

Στους ασθενείς με σηπτική καταπληξία MALS ή ανοσοπαράλυση τυχαιοποιήθηκαν σε θεραπεία είτε με εξατομικευμένη ανοσοθεραπεία είτε με εικονικό φάρμακο. Η θεραπεία ήταν επικουρική της καθιερωμένης θεραπείας. Αν ταξινομούνταν ως MALS, οι ασθενείς τυχαιοποιούνταν σε χορήγηση anakinra (Kineret, Swedish Orphan Biovitrum, Αθήνα) 200 mg ενδοφλεβίως (iv) σε 20mL φυσιολογικού ορού κάθε 8 ώρες (q8h) για 7 ημέρες και εικονικό φάρμακο αποτελούμενο από 0,5mL NaCl 0.9% υποδόρια (sc) κάθε 48 ώρες (q48h) για 15 ημέρες. Εάν ταξινομούνταν με ανοσοπαράλυση, τους χορηγούνταν 20mL NaCl 0,9% iv q8h για 7 ημέρες ή 100mg rhIFNγ (Immukine, Boehringer Ingelheim, Αθήνα) σε 0,5 mL sc q48h για 15 ημέρες. Στους ασθενείς που τυχαιοποιήθηκαν στο σκέλος του εικονικού φαρμάκου χορηγούνταν NaCl 0,9% iv και sc όπως περιγράφεται ανωτέρω. Η παραπάνω δόση του anakinra προσαρμόστηκε στα 100 mg q8h όταν η κάθαρση κρεατινίνης ήταν μικρότερη από 30 ml/min. Τα ανεπιθύμητα συμβάντα καταγράφονταν καθημερινά. Για κάθε κέντρο μελέτης ετοιμάστηκε ξεχωριστή ακολουθία κατανομής μέσω υπολογιστή και η προετοιμασία του φαρμάκου της μελέτης έγινε από μη τυφλό φαρμακοποιό. Η αιμοληψία για τη μέτρηση της φερριτίνης και της έκφρασης των HLA-DR/CD14/CD45 επαναλήφθηκε πριν από την έναρξη του φαρμάκου της μελέτης και τις ημέρες 4 και 7.

Το πρωτογενές καταπληκτικό σημείο του σταδίου διαλογής/παρατήρησης ήταν η συσχέτιση του ανοσολογικού ενδοτύπου με την έκβαση της επιβίωσης των

28 ημερών. Το πρωτογενές καταληκτικό σημείο της μελέτης του σταδίου παρέμβασης ήταν η επίδραση της εξατομικευμένης ανοσοθεραπείας στη θνητότητα των 28 ημερών. Τα δευτερεύοντα καταληκτικά σημεία ήταν η θνητότητα των 90 ημερών, η επίπτωση των δευτερογενών λοιμώξεων και η καταλληλότητα της ανοσολογικής ταξινόμησης χρησιμοποιώντας το σύνολο των ασθενών που εξετάστηκαν από το αρχικό στάδιο διαλογής. Διερευνητικό τελικό σημείο ήταν η επιβίωση με μείωση της βαθμολογίας SOFA στο τέλος της θεραπείας. Χρησιμοποιώντας την υπόθεση ότι η ανοσοθεραπεία θα μείωνε τη θνητότητα από MALS από 60% σε 35% και τη θνητότητα από ανοσοπαράλυση από 50% σε 35%, υπολογίστηκε ότι θα πρέπει να εγγραφούν 278 ασθενείς για να καταδειχθούν αυτές οι διαφορές με ισχύ 80% σε επίπεδο σημαντικότητας 10%.

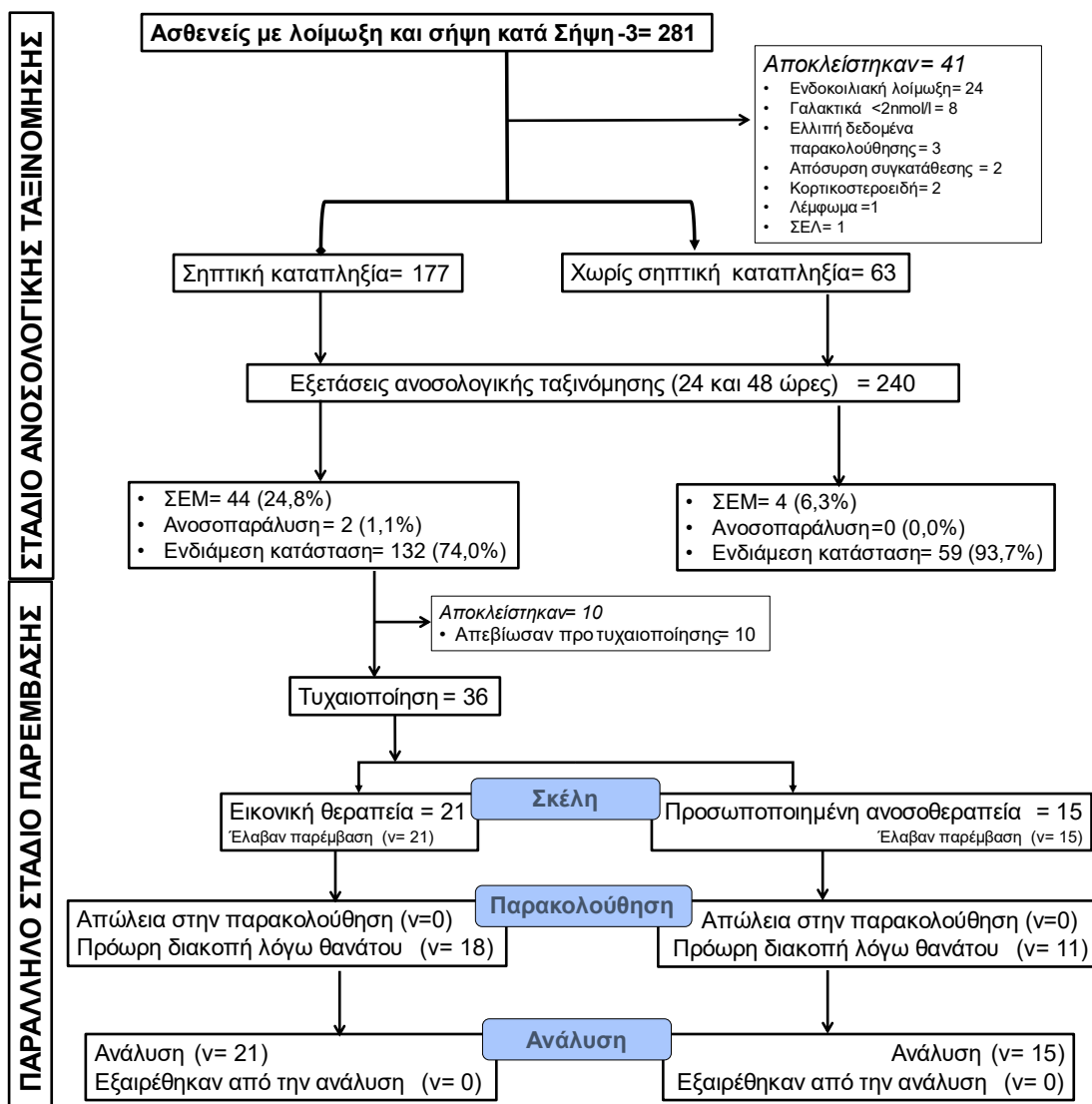
Οι ποιοτικές μεταβλητές εκφράστηκαν ως ποσοστά και 95% διαστήματα εμπιστοσύνης (ΔΕ) και συγκρίθηκαν με τη δοκιμασία Fisher exact. Οι ποσοτικές μεταβλητές εκφράστηκαν ως μέσος όρος \pm SD (τυπική απόκλιση) ή SE (τυπικό σφάλμα) και συγκρίθηκαν με τις δοκιμασίες t-test κατά Student ή Mann Whitney U test. Οι συγκρίσεις ανά ζεύγη πραγματοποιήθηκαν με τη δοκιμασία Wilcoxon. Η προγνωστική απόδοση του ποσοστού και του απόλυτου αριθμού των μορίων HLA-DR στα μονοκύτταρα για τη θνητότητα των 28 ημερών μελετήθηκε με ανάλυση καμπύλης ROC. Επιλέχθηκαν οι συντεταγμένες που παρουσίαζαν τη βέλτιστη αναλογία ευαισθησίας και ειδικότητας (δείκτης Youden). Χρησιμοποιήθηκε πολυμεταβλητή ανάλυση βηματικής παλινδρόμησης κατά Cox για να επικυρωθεί εάν η ανοσολογική ταξινόμηση αποτελούσε ανεξάρτητο παράγοντα δυσμενούς έκβασης στην οποία υπολογίστηκαν ο σχετικός κίνδυνος (HR) και τα 95% ΔΕ. Κάθε τιμή του στατιστικού κριτηρίου p μικρότερη από 0,05 θεωρήθηκε στατιστικά σημαντική.

Η δοκιμή PROVIDE είναι καταχωρισμένη στη βάση δεδομένων EudraCT με αριθμό 2017-002171-26 και στη βάση δεδομένων Clinicaltrials.gov με αριθμό NCT03332225.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Πληθυσμός ασθενών

Το διάγραμμα ροής και των δύο σταδίων της μελέτης PROVIDE παρουσιάζεται στο Σχήμα 1. Κατά το πρώτο στάδιο του ανοσολογικού ελέγχου, μελετήθηκαν 240 ασθενείς, 177 με σηπτική καταπληξία και 63 ασθενείς χωρίς σηπτική καταπληξία. Οι περισσότεροι ασθενείς ήταν άνδρες. Η συχνότερη λοίμωξη που οδήγησε σε σήψη ήταν η πνευμονία της κοινότητας. Οι συχνότερες συννοσηρότητες ήταν η χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια και η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια (Πίνακας 1). Χρησιμοποιώντας τη φερριτίνη και την έκφραση του HLA-DR στα CD14-μονοκύτταρα, οι ασθενείς ταξινομήθηκαν σε τρεις καταστάσεις ανοσολογικής λειτουργίας, δηλαδή MALS, ανοσοπαράλυση που προκαλείται από σήψη και ενδιάμεση κατάσταση (Πίνακας 2). Μεταξύ των 177 ασθενών με σηπτική καταπληξία, 46 πληρούσαν τα κριτήρια ένταξης για το δεύτερο παρεμβατικό στάδιο της PROVIDE. Τελικά, 36 ασθενείς τυχαιοποιήθηκαν στην τυφλή παρέμβαση, καθώς 10 ασθενείς απεβίωσαν πριν από την τυχαιοποίηση.



Σχήμα 1. Ροή των ασθενών κατά τα δύο στάδια της δοκιμής PROVIDE

Το πρώτο στάδιο του ανοσολογικού ελέγχου αποσκοπούσε στην ταξινόμηση των ασθενών με σηπτική καταπληξία και χωρίς σηπτική καταπληξία σε MALS (σύνδρομο ομοιάζον με ενεργοποίηση μακροφάγων), ανοσοπαράλυση και ενδιάμεση κατάσταση. Το δεύτερο στάδιο παρέμβασης ήταν μια τυχαιοποιημένη διπλά τυφλή, διπλά εικονική κλινική δοκιμή όπου οι ασθενείς με ω και MALS ή ανοσοπαράλυση έλαβαν τυφλή συμπληρωματική θεραπεία με εικονικό φάρμακο ή εξατομικευμένη ανοσοθεραπεία. SLE, συστηματικός ερυθρεμάτης λύκος.

Πρώτο στάδιο μελέτης

Κατά το πρώτο στάδιο, διαπιστώθηκε ότι η συχνότητα του MALS ήταν σημαντικά υψηλότερη σε ασθενείς με σηπτική καταπληξία (44 από 177 ασθενείς, 24,9%) από ό,τι σε ασθενείς χωρίς σηπτική καταπληξία (4 από 63 ασθενείς, 6,3%, $p = 0,001$). Όταν ολοκληρω η κοόρτη των 240 ασθενών που μελετήθηκαν χωρίστηκε σε εκείνους με MALS (όπως διαγνώστηκε με φερριτίνη >4.420 ng/mL) και σε εκείνους χωρίς MALS (όπως διαγνώστηκε με φερριτίνη ≤ 4.420 ng/mL), διαπιστώσαμε ότι η ηπατική δυσλειτουργία και η διάχυτη ενδαγγειακή πήξη ήταν πιο συχνές σε MALS. Πιο συγκεκριμένα, οι ασθενείς με MALS είχαν χαμηλότερο απόλυτο αριθμό αιμοπεταλίων, υψηλότερο διεθνές κανονικοποιημένο πηλίκο (INR), παρατεταμένο χρόνο ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης (aPTT) και υψηλότερα επίπεδα ασπαρατικής αμινοτρανσφεράσης (AST), αλανινικής αμινοτρανσφεράσης (ALT) και ολικής χολερυθρίνης (Σχήματα 1 ως 6). Τα ευρήματα αυτά επιβεβαιώνουν ότι τα επίπεδα φερριτίνης άνω των 4.420 ng/mL συνάδουν με τα χαρακτηριστικά του MALS.

Πίνακας 2. Τρόπος ταξινόμησης των ανοσολογικών καταστάσεων της σήψης στη μελέτη PROVIDE

	Σύνδρομο ομοιάζον με την ενεργοποίηση των μακροφάγων	Ανοσοπαράλυση	Ενδιάμεση κατάσταση
Φερριτίνη	$>4,420$ ng/mL	$\leq 4,420$ ng/mL	$\leq 4,420$ ng/mL
% έκφρασης HLA-DR στα CD45/CD14 μονοκύτταρα	Όλες οι τιμές	$<30\%$	$\geq 30\%$

Πίνακας 1. Χαρακτηριστικά ασθενών ανάλογα με την ανοσολογική τους ταξινόμηση

	Ενδιάμεση κατάσταση (n=89)	Ανοσοπαράλυση (n=103)	MALS (n=48)	p
Ηλικία, έτη, μέση τιμή ± SD	71,7 ± 16,5	74,2 ± 12,5	70,8 ± 14,2	0,308*
Ανδρας, φύλο, n (%)	50 (56,2)	63 (61,2)	29 (60,4)	0,767**
CCI, μέση τιμή ± SD	4,8 ± 2,3	5,2 ± 2,4	4,9 ± 2,3	0,398*
Σηπτική καταπληξία, n, %	55(61,8)	78 (75,7)	44 (91,7)	0,001**
Βαθμολογία APACHE II, μέση τιμή ± SD	21,1 ± 8,7	24,9 ± 8,5	29,5 ± 9,2	<0,0001*
Βαθμολογία SOFA, μέση τιμή ± SD	9,4 ± 4,0	11,0 ± 3,8	13,8 ± 3,5	<0,0001*
CRP, mg/L, μέση τιμή ± SD	108,4 ± 105,7	108,6 ± 102,1	96,8 ± 104,8	0,843*
Τύπος λοίμωξης, n (%)				
Πνευμονία της κοινότητας	40 (44,9)	45 (43,7)	19(39,6)	0,740**
Νοσοκομειακή πνευμονία	21 (23,5)	21 (20,4)	12 (25,0)	0,407**
Πνευμονία που συνδέεται με το μηχανικό αερισμό	8 (9,0)	15(14,6)	5(10,4)	0,465**
Πρωτοπαθής βακτηριαιμία	13(14,6)	16(15,5)	10(20,8)	0,620**
Οξεία χολαγγειίτιδα	7 (7,9)	6 (5,8)	2 (4,2)	0,676**
Gram αρνητικά παθογόνα, n (%)	19(21,3)	23 (19,4)	11 (22,9)	0,825**
Παθογόνα, n (%)				
<i>Escherichia coli</i>	1 (1,1)	1 (0,9)	1 (2,1)	0,840**
<i>Acinetobacter baumannii</i>	3 (3,3)	7 (6,7)	1 (2,1)	0,338**
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5 (5,6)	2(1,9)	4 (8,4)	0,182**
<i>Staphylococcus aureus</i>	2 (2,2)	6 (5,8)	2 (4,2)	0,465**
<i>Candida albicans</i>	4 (4,5)	2(1,9)	2 (4,2)	0,578**
Κύριες συννοσηρότητες, n (%)				
Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2	27 (30,7)	27 (26,2)	16(33,3)	0,639**

Χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια	17(19,1)	28 (27,2)	17(35,4)	0,105**
Χρόνια νεφρική νόσος	9(10,1)	12 (11,7)	5(10,4)	0,938**
Χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια	21 (23,6)	25 (24,3)	12 (25,0)	0,983**
Χορηγούμενα αντιμικροβιακά, n (%)				
Πιπερακιλλίνη/ταζομπακτάμη	35 (42,7)	37 (37,8)	13(27,7)	0,236**
Καρβαπενέμες	25 (30,5)	34 (34,3)	21 (44,7)	0,261**
Τιγκεκυκλίνη	11 (13,4)	19(19,4)	12 (25,5)	0,223**
Κολιστίνη	25 (30,5)	34 (34,3)	25 (53,2)	0,029**
Βανκομυκίνη	17(20,7)	24 (24,2)	9(19,1)	0,690**

*Σύγκριση με τη δοκιμασία ANOVA, **Σύγκριση με τη δοκιμασία χ^2 κατά Pearson

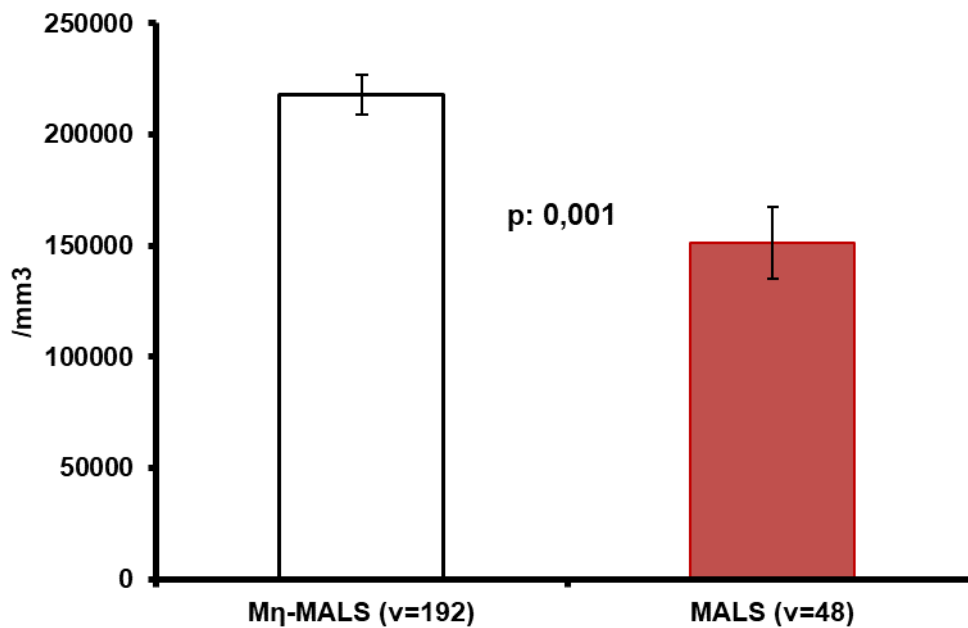
APACHE: αξιολόγηση οξείας φυσιολογίας και χρόνιας κατάστασης υγείας

CCI: δείκτης συννοσηρότητας Charlson

CRP: C-αντιδρώσα πρωτεΐνη

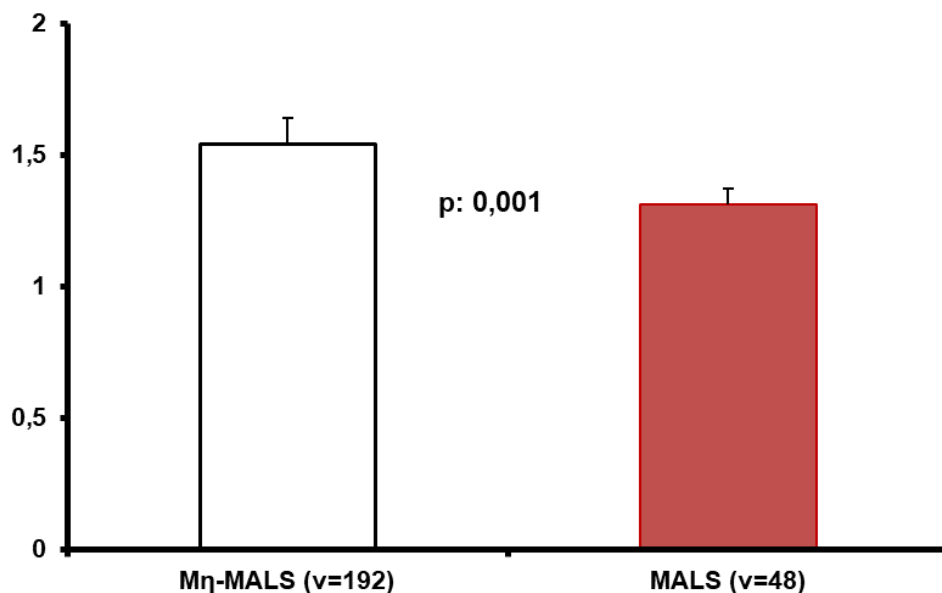
SD: σταθερή απόκλιση

SOFA: διαδοχική αξιολόγηση οργανικής ανεπάρκειας,



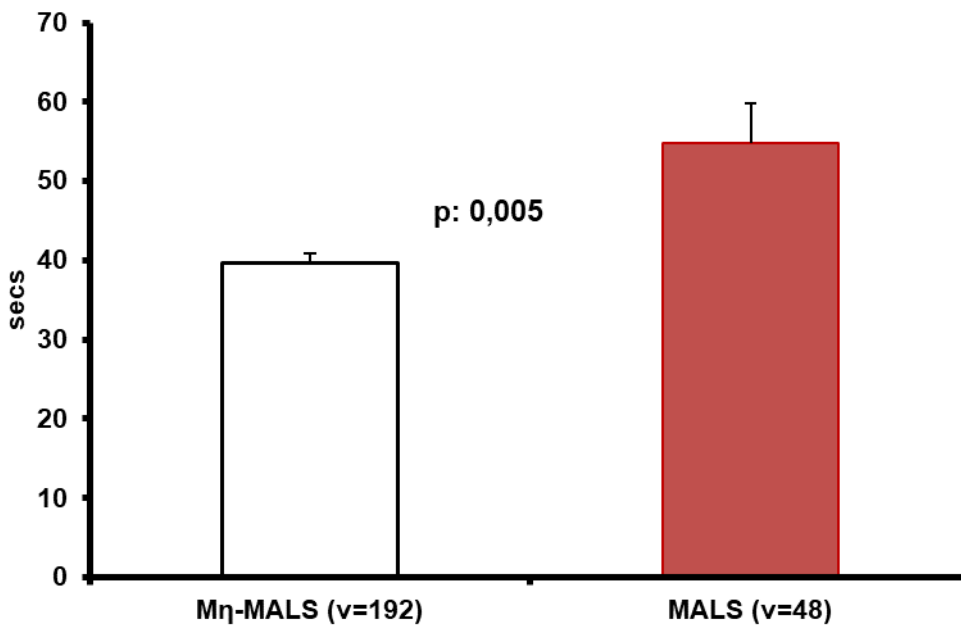
Σχήμα 1 Διαφορές απόλυτου αριθμού αιμοπεταλίων μεταξύ ασθενών που ταξινομούνται σε σύνδρομο που ομοιάζει με την ενεργοποίηση των μακροφάγων (MALS) και όχι.

Η ταξινόμηση γίνεται χρησιμοποιώντας τη φερριτίνη (MALS ως >4.420 ng/ml, μη-MALS ως φερριτίνη ≤4.420 ng/ml).



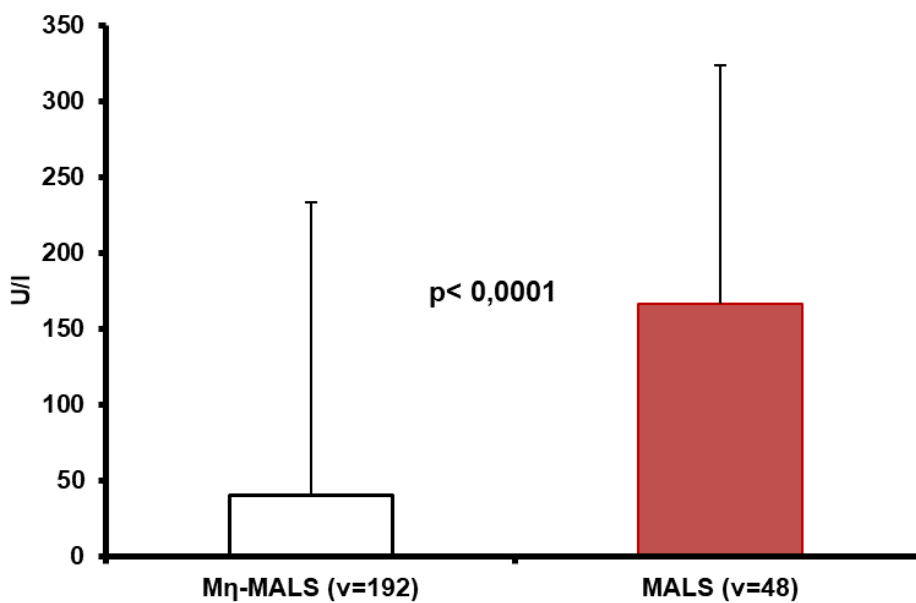
Σχήμα 2 Διαφορές διεθνούς κανονικοποιημένου πηλίκου (INR) μεταξύ ασθενών που ταξινομούνται σε σύνδρομο που ομοιάζει με την ενεργοποίηση των μακροφάγων (MALS) και όχι.

Η ταξινόμηση γίνεται χρησιμοποιώντας τη φερριτίνη (MALS ως >4.420 ng/ml, μη-MALS ως φερριτίνη ≤ 4.420 ng/ml).



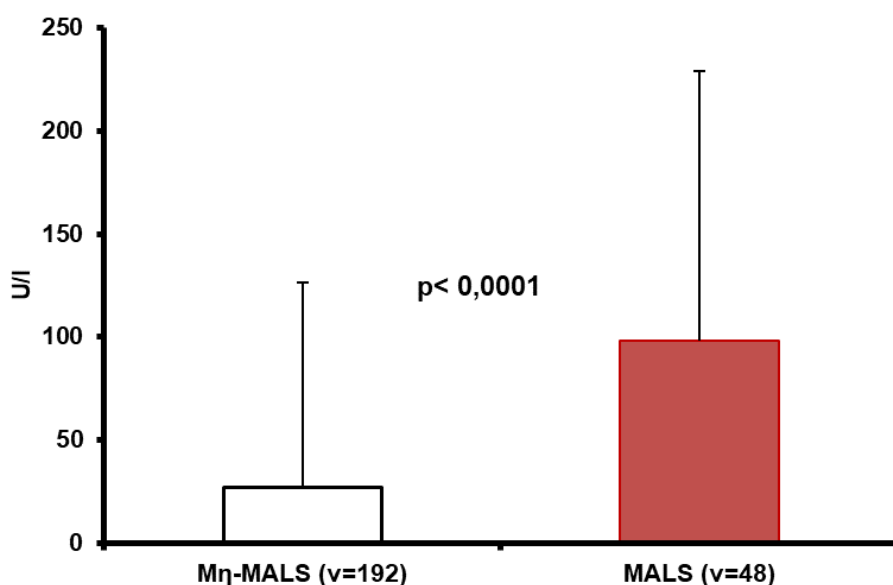
Σχήμα 3 Διαφορές ενεργοποιημένου χρόνου μερικής θρομβοπλαστίνης (aPTT) μεταξύ ασθενών που ταξινομούνται σε σύνδρομο που ομοιάζει με την ενεργοποίηση των μακροφάγων (MALS) και όχι.

Η ταξινόμηση γίνεται χρησιμοποιώντας τη φερριτίνη (MALS ως >4.420 ng/ml, μη-MALS ως φερριτίνη ≤ 4.420 ng/ml).



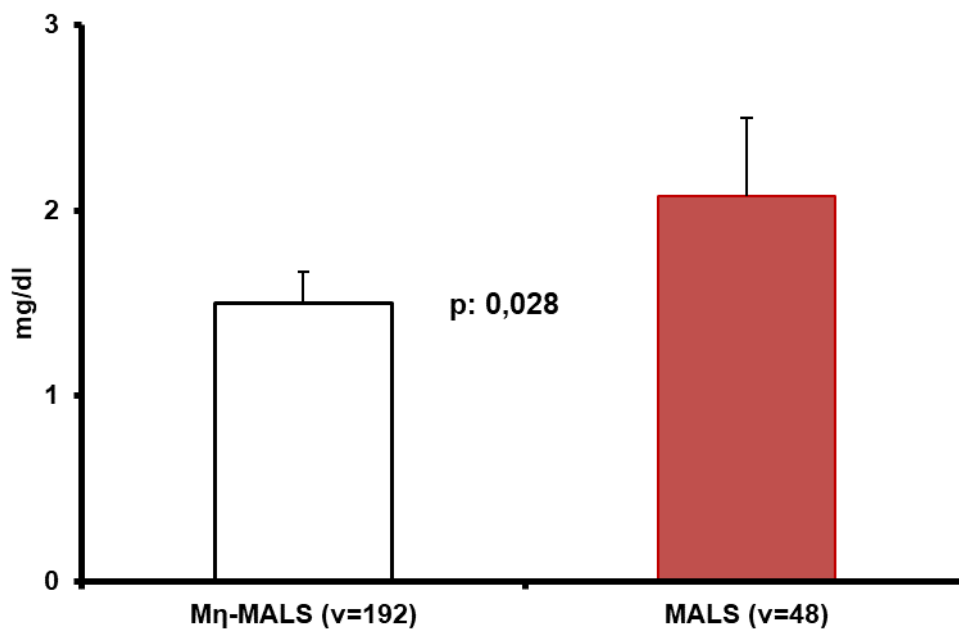
Σχήμα 4 Διαφορές ασπαραγινικής αμινοτρανσφεράσης (AST) μεταξύ ασθενών που ταξινομούνται σε σύνδρομο που ομοιάζει με την ενεργοποίηση των μακροφάγων (MALS) και όχι.

Η ταξινόμηση γίνεται χρησιμοποιώντας τη φερριτίνη (MALS ως >4.420 ng/ml, μη-MALS ως φερριτίνη ≤4.420 ng/ml).



Σχήμα 5 Διαφορές αλανινικής αμινοτρανσφεράσης (ALT) μεταξύ ασθενών που ταξινομούνται σε σύνδρομο που ομοιάζει με την ενεργοποίηση των μακροφάγων (MALS) και όχι.

Η ταξινόμηση γίνεται χρησιμοποιώντας τη φερριτίνη (MALS ως >4.420 ng/ml, μη-MALS ως φερριτίνη ≤4.420 ng/ml).

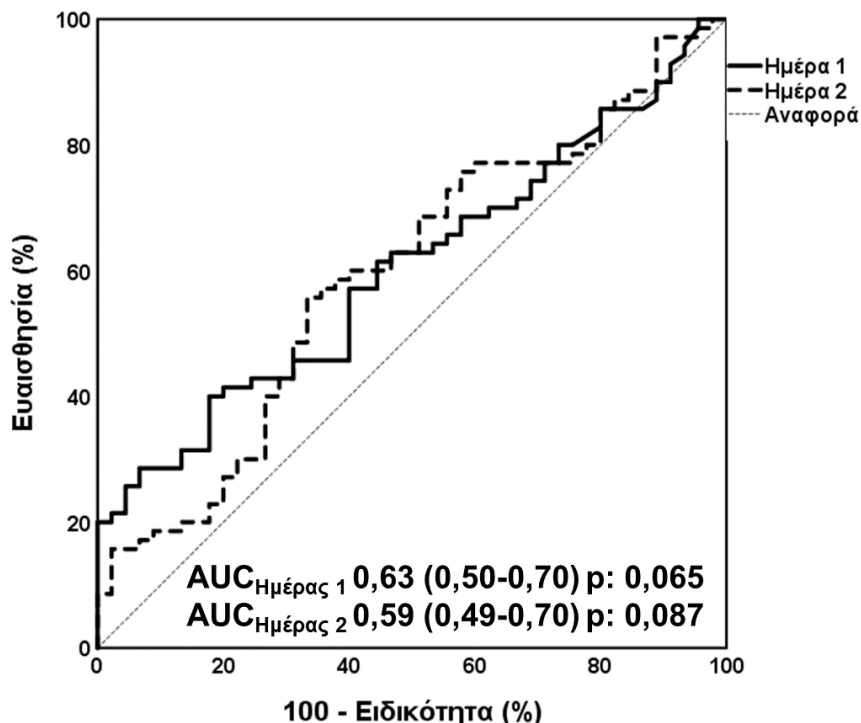


Σχήμα 6 Διαφορές ολικής χολερυθρίνης μεταξύ ασθενών που ταξινομούνται σε σύνδρομο που ομοιάζει με την ενεργοποίηση των μακροφάγων (MALS) και όχι.

Η ταξινόμηση γίνεται χρησιμοποιώντας τη φερριτίνη (MALS ως >4.420 ng/ml, μη-MALS ως φερριτίνη ≤ 4.420 ng/ml).

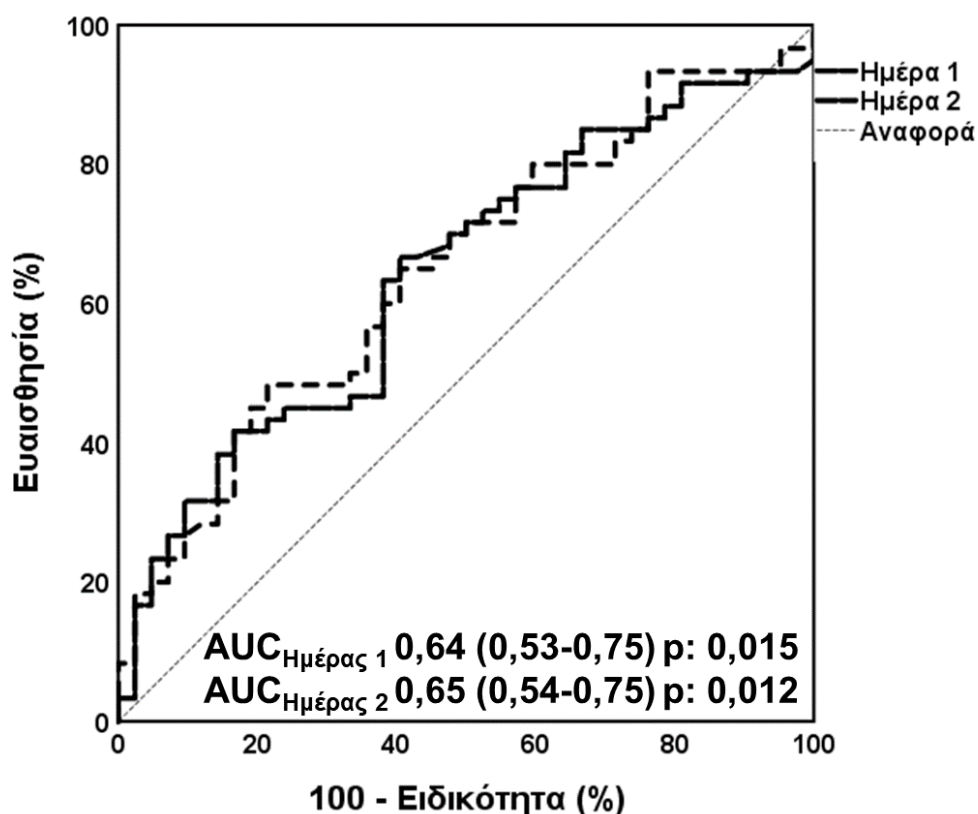
Στην παρούσα μελέτη, χρησιμοποιήθηκε η έκφραση του αντιγόνου επιφανείας HLA-DR στα CD14-μονοκύτταρα σε ποσοστό μικρότερο του 30% για την ταξινόμηση των ασθενών με ανοσοπαράλυση, όπως περιγράφηκε σε προηγούμενη μελέτη.¹⁹² Αυτό το όριο έκφρασης HLA-DR συσχετίστηκε με μεγαλύτερη πιθανότητα θανάτου μετά από 28 ημέρες. Παραδόξως, μόνο δύο ασθενείς είχαν έκφραση HLA-DR στα CD14-μονοκύτταρα μικρότερη από 30% προκειμένου να ταξινομηθούν στην κατηγορία της ανοσοπαράλυσης. Αυτό μας οδήγησε στο συμπέρασμα ότι το ποσοστό HLADR/CD14/CD45 δεν αποτελεί κατάλληλο εργαλείο για τη διάγνωση της ανοσοπαράλυσης. Δεδομένου ότι η έκφραση του HLA-DR στα CD14-μονοκύτταρα αποτελεί έμμεσο μέτρο του κινδύνου για τη θνητότητα των 28 ημερών, διερευνήσαμε το όριο του ποσοστού HLA-DR/CD14/CD45 που είναι προγνωστικό για το θάνατο. Πραγματοποιήσαμε ανάλυση καμπύλης λειτουργικών χαρακτηριστικών δέκτη (ROC) του πληθυσμού που ελέγχθηκε, χωρίς να ληφθούν υπόψη οι ασθενείς με MALS. Διαπιστώθηκε

ότι η προγνωστική απόδοση του ποσοστού του HLA-DR/CD14/CD45 για τη θνητότητα των 28 ημερών ήταν χαμηλή (Σχήμα 7).



Σχήμα 7 Καμπύλη ROC του ποσοστού των υποδοχέων HLA-DR/μονοκύτταρο κάθε ημέρας (ημέρα 1 και ημέρα 2) ως προγνωστικού παράγοντα θνητότητας. AUC: επιφάνεια κάτω από την καμπύλη

Προκειμένου να καταστεί ο αριθμός των υποδοχέων HLA-DR στα μονοκύτταρα CD14/CD45 ως εργαλείο ταξινόμησης για την ανοσοπαράλυση που προκαλείται από σήψη, εφαρμόστηκαν τέσσερα κριτήρια: (1) η συσχέτιση με τη θνητότητα, (2) η συμβατότητα με την ανοσολογική εξάντληση της ανοσοπαράλυσης που προκαλείται από τη σήψη, (3) η συσχέτιση με την επιδείνωση των ασθενών¹⁹⁵ και (4) η έλλειψη σημείων ενεργοποίησης των μακροφάγων. Για το κριτήριο (1) επαναλάβουμε την ανάλυση καμπύλης ROC για τον αριθμό των υποδοχέων HLA-DR στα μονοκύτταρα CD14/CD45 και η προγνωστική απόδοση βελτιώθηκε σημαντικά (Σχήμα 8).



Σχήμα 8 Καμπύλη ROC του απόλυτου αριθμού των υποδοχέων HLA-DR/μονοκύτταρο κάθε ημέρας (ημέρα 1 και ημέρα 2) ως προγνωστικού παράγοντα θνητότητας. AUC: επιφάνεια κάτω από την καμπύλη

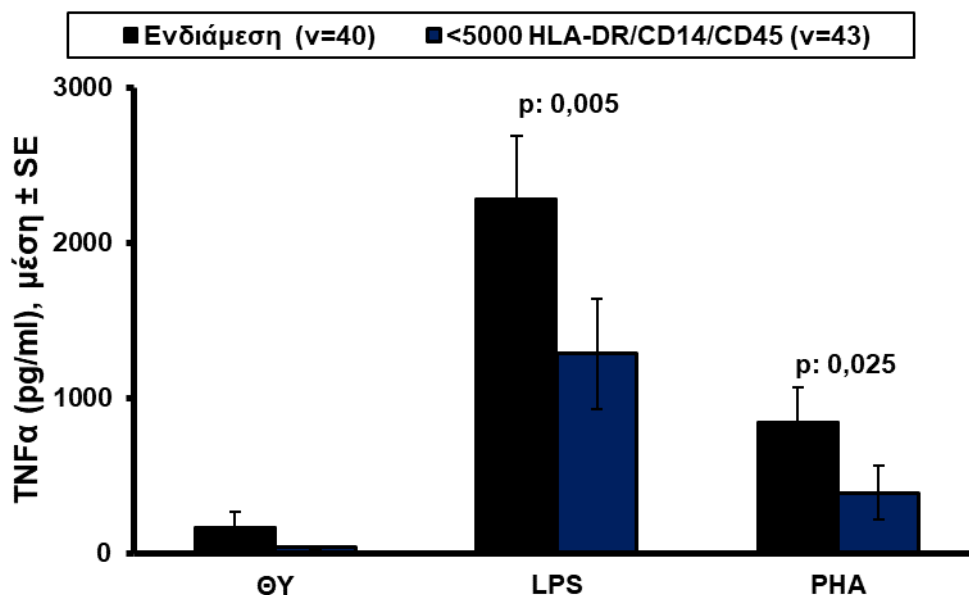
Χρησιμοποιώντας την ανάλυση του δείκτη Youden, βρέθηκε ότι ένα όριο υποδοχέων HLA-DR μικρότερο από 5.000/μονοκύτταρο ήταν καλύτερος προγνωστικός δείκτης θανάτου μετά από 28 ημέρες και θα μπορούσε να θεωρηθεί ως διαγνωστικό εργαλείο της ανοσοπαράλυσης (Πίνακας 3). Στην τιμή αυτή το πηλίκo πιθανοτήτων για θάνατο τις πρώτες 28 ημέρες ήταν 2,82 (95% ΔΕ 1,58-5,14, $p < 0.0001$).

Πίνακας 3 Προγνωστική απόδοση του αριθμού των υποδοχέων HLA-DR ανά μονοκύτταρο για τη θνητότητα των 28 ημερών

	Θάνατος (ν)	Επιβίωση (ν)	Σύνολο (ν)
<5000 HLA-DR/ κύτταρο	69 Ευαισθησία 65,1% ΘΠΑ 67,0%	34	103
≥5000 HLA-DR/ κύτταρο	37	52 Ειδικότητα 60,5% ΑΠΑ 58,4%	89
Σύνολο (ν)	106	86	192

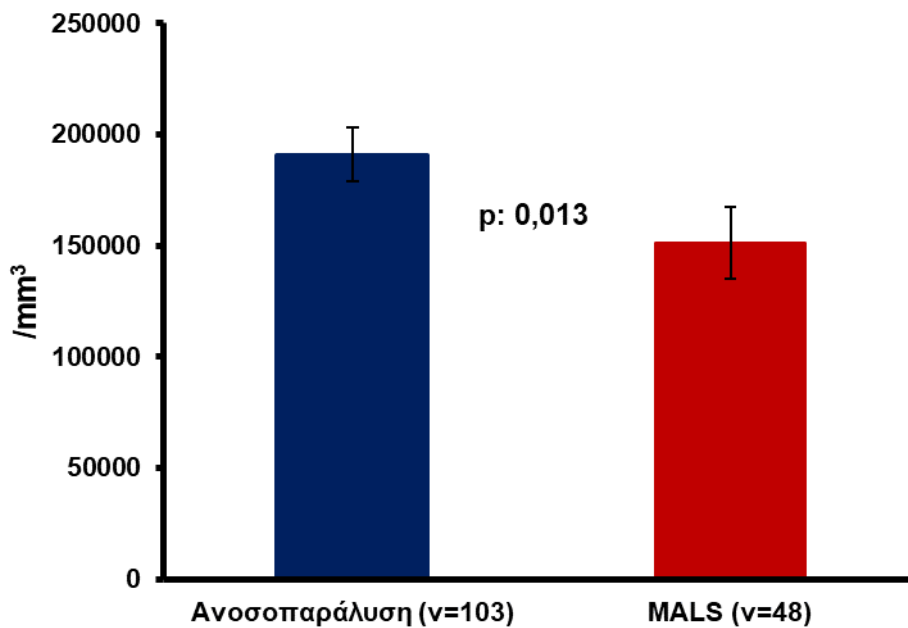
Συντομογραφίες ΑΠΑ: αρνητική προγνωστική αξία, ΘΠΑ: θετική προγνωστική αξία, ν: αριθμός ασθενών

Για το κριτήριο (2), διαπιστώσαμε ότι οι ασθενείς με λιγότερους από 5.000 HLA-DR/μονοκύτταρο είχαν χαμηλότερη ικανότητα παραγωγής του παράγοντα νέκρωσης όγκων α (TNFα) από τα μονοπύρρηνα κύτταρα του περιφερικού αίματος (PBMC) (Σχήμα 9).

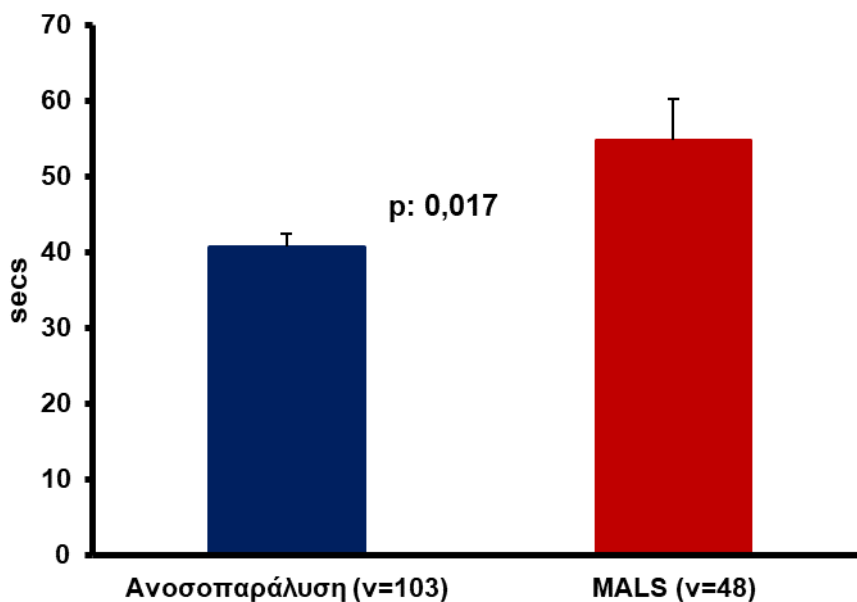


Σχήμα 9 Σύγκριση της δυνατότητας των μονοπύρρηνων κυττάρων του περιφερικού αίματος για την παραγωγή του παράγοντα νέκρωσης όγκων άλφα (TNFα), μετά από διέγερση με ενδοτοξίνη (LPS) και φυτοαιμοσυγκολλητίνη (PHA), μεταξύ ασθενών με <5.000 μόρια HLA-DR/μονοκύτταρο και με ενδιάμεση κατάσταση. Οι τιμές παρέχονται ως μέσοι όροι και τυπικό σφάλμα.

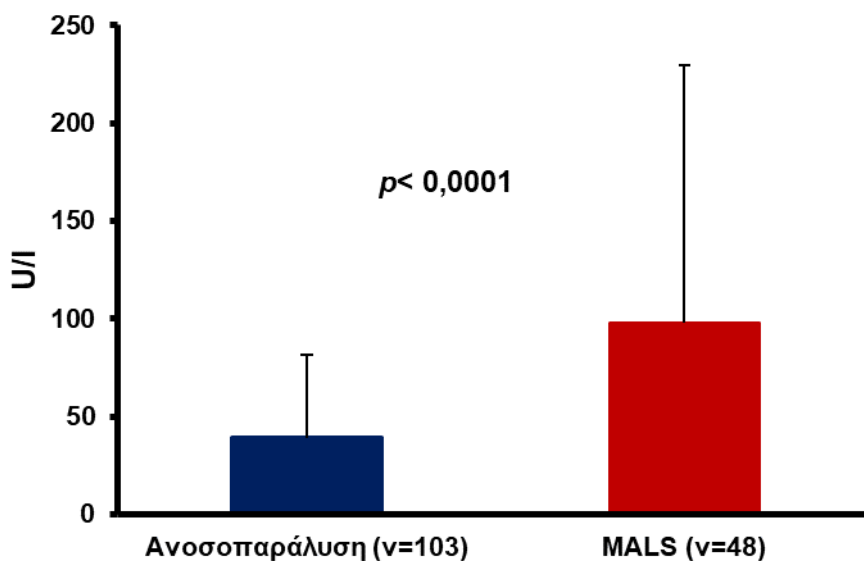
Για το κριτήριο (3), αναλύθηκε η συχνότητα εμφάνισης δυσλειτουργίας πολλαπλών οργάνων, η οποία αποτελεί έμμεσο μέτρο της επιδείνωσης του ασθενούς. Αυτή ήταν 21,3% (19 ασθενείς) μεταξύ των ασθενών με ενδιάμεση ανοσολογική κατάσταση και 35,9% (37 ασθενείς) μεταξύ των ασθενών με λιγότερους από 5.000 υποδοχείς HLA-DR ανά CD14-μονοκύτταρο ($p=0,038$). Για το κριτήριο (4), διαπιστώσαμε ότι τα εργαστηριακά αποτελέσματα των διαταραχών πήξης και της ηπατικής δυσλειτουργίας ήταν λιγότερο εμφανή μεταξύ των ασθενών με λιγότερους από 5.000 HLA-DR/μονοκύτταρο από ό,τι μεταξύ των ασθενών με MALS (Σχήματα 10 ως 13).



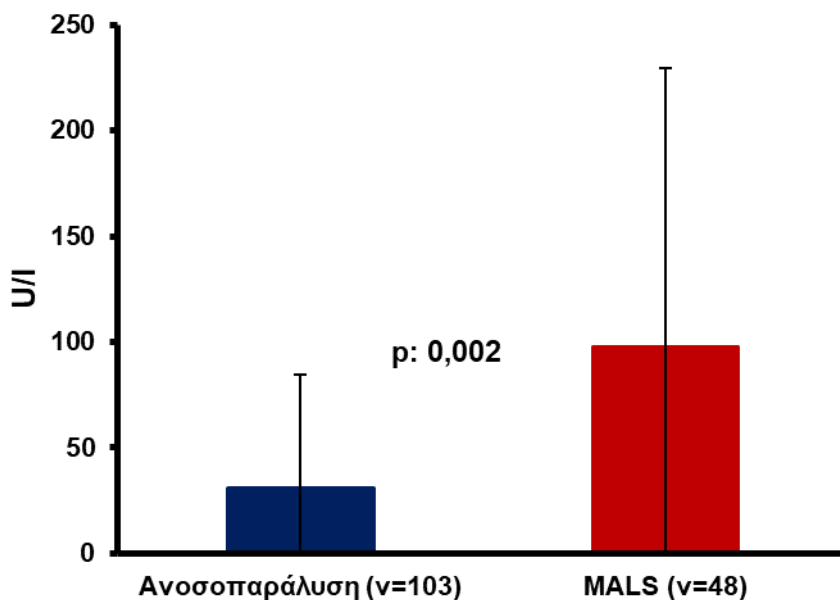
Σχήμα 10 Σύγκριση του απόλυτου αριθμού των αιμοπεταλίων μεταξύ της ομάδας ανοσοπαράλυσης και της ομάδας του MALS (σύνδρομο ομοιάζον με την ενεργοποίηση των μακροφάγων). Δίνεται η τιμή του στατιστικού κριτηρίου p της σύγκρισης.



Σχήμα 11 Σύγκριση του ενεργοποιημένου χρόνου μερικής θρομβοπλαστίνης μεταξύ της ομάδας ανοσοπαράλυσης και της ομάδας του MALS (σύνδρομο ομοιάζον με την ενεργοποίηση των μακροφάγων). Δίνεται η τιμή του στατιστικού κριτηρίου p της σύγκρισης.



Σχήμα 12 Σύγκριση της ασπαραγινικής αμονοτρασφεράσης μεταξύ της ομάδας ανοσοπαράλυσης και της ομάδας του MALS (σύνδρομο ομοιάζον με την ενεργοποίηση των μακροφάγων). Δίνεται η τιμή του στατιστικού κριτηρίου p της σύγκρισης.



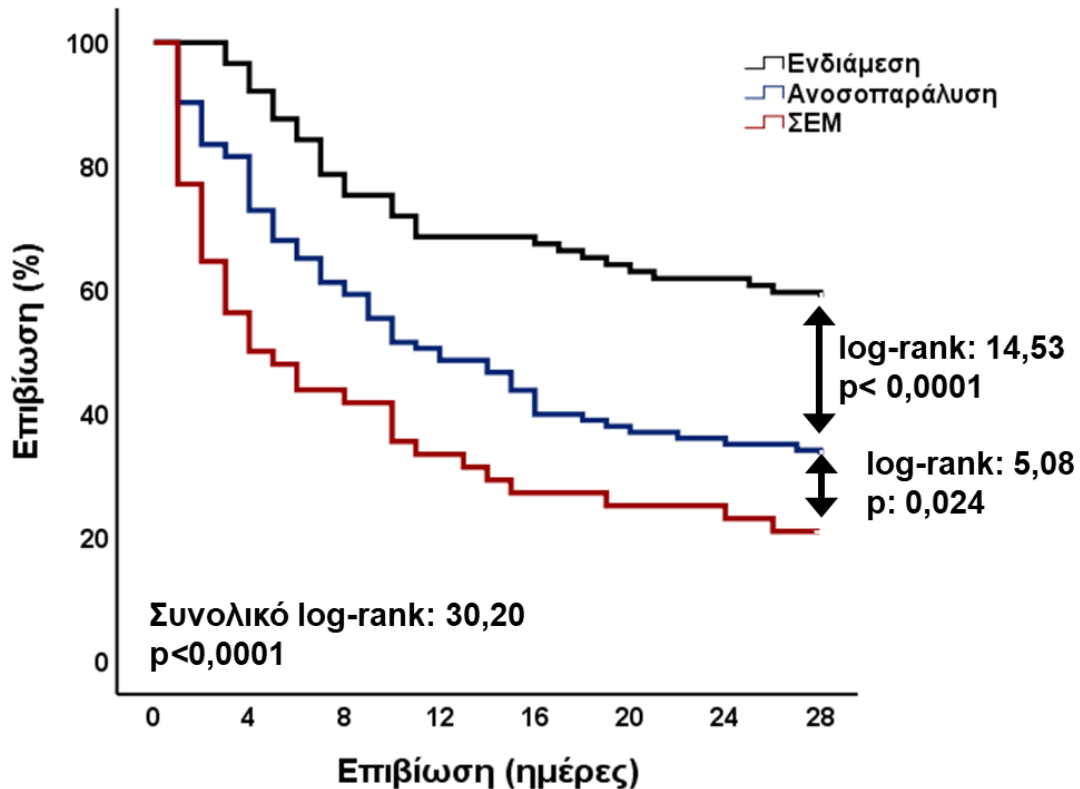
Σχήμα 13 Σύγκριση της αλανινικής αμονοτρασφεράσης μεταξύ της ομάδας ανοσοπαράλυσης και της ομάδας του MALS (σύνδρομο ομοιάζον με την ενεργοποίηση των μακροφάγων). Δίνεται η τιμή του στατιστικού κριτηρίου p της σύγκρισης.

Ωστόσο, δεδομένου ότι η ανάλυση αυτή δεν ήταν διαθέσιμη μέχρι το τέλος της δοκιμής, ήταν πολύ αργά για να χρησιμοποιηθεί για τη διάγνωση σε πραγματικό χρόνο της ανοσοπαράλυσης και την επακόλουθη τυχαιοποίηση για θεραπεία με εικονικό φάρμακο/rhIFN γ κατά τη διάρκεια της δοκιμής. Χρησιμοποιώντας το όριο των λιγότερων από 5.000 HLA-DR/μονοκύτταρο, επέτρεψε να αναγνωρισθούν αναδρομικά 103 ασθενείς ως πάσχοντες από ανοσοπαράλυση.

Μεταξύ των ασθενών που δεν διαγνώστηκαν ούτε με MALS ούτε με ανοσοπαράλυση, 21 (23,6%) είχαν συγκεντρώσεις φερριτίνης μεταξύ 1.000 και 4.420 ng/ml, γεγονός που συνάδει με έντονη φλεγμονώδη αντίδραση.¹⁹⁵ Επίσης, 23 από αυτούς τους ασθενείς (25,9%) είχαν υποδοχείς HLA-DR μεταξύ 5.000 και 8.000/μονοκύτταρο, εύρημα που συνάδει με μερική δυσλειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος.¹⁹⁵

Τελικά, οι 240 ασθενείς κατατάχθηκαν σε τρεις ομάδες ανοσολογικής ενεργοποίησης: ομάδα MALS (n= 48) (20,0%), ανοσοπαράλυση (n= 103) (42,9%) και ενδιάμεση ανοσολογική κατάσταση (n= 89) (37,1%). Η επαναληψιμότητα αυτής της ταξινόμησης μεταξύ της πρώτης και της δεύτερης ημέρας δειγματοληψίας ήταν 88,5%. Η σύγκριση των κλινικών χαρακτηριστικών αυτών των τριών ομάδων παρουσιάζεται στον Πίνακα 1. Εκτός από τις μεγαλύτερες τιμές στις βαθμολογίες σοβαρότητας και τη μεγαλύτερη συχνότητα σηπτικής καταπληξία στο MALS, δεν διαπιστώθηκαν άλλες διαφορές. Οι ομάδες ταξινόμησης διέφεραν σημαντικά ως προς τη θνητότητα των 28 ημερών: η θνητότητα της ομάδας MALS ήταν 79,1% (95% ΔΕ 65,7%-88,3%), της ομάδας ανοσοπαράλυσης 66,9% (95% ΔΕ 56,4%-74,4%) και της ομάδας ενδιάμεσης κατάστασης 41,6% (95% ΔΕ 31,9%-51,9%) (Σχήμα 14). Η πολυπαραγοντική ανάλυση έδειξε ότι αυτή η ανοσολογική ταξινόμηση ήταν ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας θανάτου εντός των πρώτων 28 ημερών (σχετικός κίνδυνος [HR]_{ανοσοπαράλυσης έναντι ενδιάμεσης κατάστασης} 1,76, 95% ΔΕ 1,17-2,64 και HR_{MALS έναντι ενδιάμεσης κατάστασης} 2,38, 95% ΔΕ 1,49-3,81), ανεξάρτητα από τις βαθμολογίες σοβαρότητας και την παρουσία σηπτικής καταπληξίας (Πίνακας 4). Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι τα περισσότερα από τα χορηγούμενα

αντιμικροβιακά ήταν παρόμοια σε όλες τις ομάδες ταξινόμησης, επομένως η διαφορά στην επιβίωση δεν αποδίδεται σε διαφορές στη φαρμακευτική αγωγή.



Σχήμα 14. Συσχέτιση της ανοσολογικής ταξινόμησης της σήψης και της θνητότητας των πρώτων 28 ημερών

Δίνονται οι καμπύλες επιβίωσης για κάθε ομάδα ταξινόμησης: των ασθενών με MALS (ΣΕΜ, σύνδρομο ομοιάζον την ενεργοποίηση των μακροφάγων), ανοσοπαράλυση και ενδιάμεση κατάσταση. Παρουσιάζονται οι δοκιμασίες σύγκρισης κατά log-rank μεταξύ των ομάδων και οι αντίστοιχες τιμές του στατιστικού κριτηρίου p.

Πίνακας 4 Παράγοντες κινδύνου που σχετίζονται με τη θνητότητα είκοσι οκτώ(28) ημερών μετά από μονομεταβλητή και πολυμεταβλητή ανάλυση παλινδρόμησης Cox. Παρουσιάζονται οι λόγοι κινδύνου (HR), τα 95% διαστήματα εμπιστοσύνης (CI) και οι τιμές p.

Παράμετροι (n, %)	Επιβίωση	Θάνατος	Μονοπαραγοντική Ανάλυση		Πολυπαραγοντική Ανάλυση	
	(N=96)	(N=144)	ΣΚ (95% ΔΕ)	p	ΑΚ (95% ΔΕ)	p
Ανοσολογική ταξινόμηση						
Ενδιάμεση κατάσταση	52 (54,2)	37 (25,7)	1 (Βασικός ΣΚ)	-	(Βασικός ΣΚ)	-
Ανοσοπαράλυση	34 (35,4)	69 (47,9)	2,82 (1,58-5,14)	<0,0001	1,79 (1,19-2,68)	0,005
MALS	10 (10,4)	38 (26,4)	3,08 (1,45-1,65)	0,003	2,39 (1,49-3,84)	<0,0001
Βαθμολογία APACHE \geq 27*	25 (26,0)	69 (47,9)	2,18 (1,57-3,02)	<0,0001	1,48 91,05-2,10)	0,024
Βαθμολογία SOFA \geq 8*	60 (62,5)	133 (92,4)	4,19 (2,26-7,76)	<0,0001	2,39 (1,37-4,16)	0,002
Καρδιακή ανεπάρκεια	17 (17,7)	45 (31,3)	2,11 (1,12-3,97)	0,024		**
Σηπτική καταπληξία	54 (56,3)	123 (85,4)	2,77 (1,74-4,40)	<0,0001		**

APACHE, αξιολόγηση οξείας φυσιολογίας και χρόνιας υγείας, MALS, σύνδρομο ομοιάζον την ενεργοποίηση των μακροφάγων, SOFA, διαδοχική αξιολόγηση οργανικής ανεπάρκειας.

*Οι τιμές αντιπροσωπεύουν τον δείκτη Youden των καμπυλών ROC για τη θνητότητα.

**Δεν εισέρχονται στην εξίσωση μετά από τέσσερα στάδια εμπρόσθιας ανάλυσης.

Δεύτερο στάδιο: Παρεμβατική δοκιμή

Όπως παρουσιάζεται στο Σχήμα 1, 36 ασθενείς εγγράφηκαν στο διπλά τυφλό, τυχαιοποιημένο κλινικό στάδιο της μελέτης PROVIDE και τυχαιοποιήθηκαν σε χορήγηση εξατομικευμένης ανοσοθεραπείας (n= 15) ή εικονικού φαρμάκου (n= 21). Ο πρώτος ασθενής τυχαιοποιήθηκε στις 2 Δεκεμβρίου 2017 και ο τελευταίος την 1η Δεκεμβρίου 2019. Τον Δεκέμβριο του 2019, αποφασίστηκε η πρόωρη διακοπή της μελέτης λόγω της αργής εγγραφής ασθενών. Ο αργός ρυθμός εγγραφής οφειλόταν στο γεγονός ότι το όριο του 30% του HLA-DR/CD14/CD45 που χρησιμοποιήθηκε ως εργαλείο εγγραφής στη μελέτη για τους ασθενείς με ανοσοπαράλυση ήταν ακατάλληλο, όπως αναφέρθηκε παραπάνω. Από τους δύο ασθενείς που ταξινομήθηκαν με ανοσοπαράλυση, ο ένας τυχαιοποιήθηκε για να λάβει rhIFN γ και ο άλλος για να λάβει εικονικό φάρμακο (Πίνακας 5).

Η επιβίωση 28 ημερών δεν διέφερε μεταξύ των ομάδων (Σχήμα 15): 18 θάνατοι σημειώθηκαν στο σκέλος του εικονικού φαρμάκου (θνητότητα 28 ημερών 85,7%, 95% ΔΕ 65,4%-95,1%) και 14 θάνατοι στο σκέλος της εξατομικευμένης ανοσοθεραπείας (θνητότητα 28 ημερών 93,3%, 95% ΔΕ 70,2%-98,8%). Η θνητότητα μετά από 90 ημέρες ήταν η ίδια. Δεν διαπιστώθηκε διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων όσον αφορά στη συχνότητα εμφάνισης δευτερογενών λοιμώξεων.

Το διερευνητικό καταλυτικό σημείο της μελέτης ήταν η επιβίωση που σχετίζεται με τη μείωση του SOFA στο τέλος της θεραπείας. Δεδομένου ότι μόνο ένας ασθενής έλαβε θεραπεία με rhIFN γ , περιορίσαμε την ανάλυση στους ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με anakinra. Μέχρι την 7η ημέρα (το τέλος της θεραπείας με anakinra), δύο ασθενείς που είχαν λάβει εικονικό φάρμακο ήταν ζωντανοί με μείωση της βαθμολογίας SOFA (10%) σε σύγκριση με έξι (42,9%) ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με anakinra (Σχήμα 16). Την ίδια ημέρα 7, παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της ALT και του INR (εργαστηριακά χαρακτηριστικά του MALS, Σχήματα 17 ως 22). Αυτό, πιθανότατα, υποδεικνύει μια θετική θεραπευτική επίδραση του anakinra σε στους ασθενείς με MALS. Ωστόσο, αυτό δεν μεταφράστηκε σε βελτίωση της θνητότητας ως την ημέρα 28,

πιθανότητα επειδή η θεραπεία με ανακίνηρα διακόπηκε πρόωρα την ημέρα 7, όταν οι ασθενείς παρουσίαζαν ακόμη σημαντικά υπερφλεγμονώδη χαρακτηριστικά.

Πίνακας 5. Κλινικά χαρακτηριστικά των ομάδων θεραπείας

	Εικονικό φάρμακο (n=21)	Εξατομικευμένη ανοσοθεραπεία (n=15)	p
Ηλικία, έτη, μέση τιμή ± SD	69,7 ± 10,8	70,6 ± 15,1	0,838*
Άνδρας, φύλο, n (%)	12 (57,1)	10(66,7)	0,732**
CCI, μέση τιμή ± SD	4,3 ± 2,2	5,7 ± 2,2	0,062*
Βαθμολογία APACHE II, μέση τιμή ± SD	18,2 ± 8,7	30,5 ± 9,4	0,376*
Βαθμολογία SOFA, μέση τιμή ± SD	14,5 ± 2,8	14,3 ± 3,1	0,843*
Είδος λοίμωξης, n (%)			
Πνευμονία κοινότητας	10 (47,6)	2 (13,3)	0,040**
Ενδονοσοκομειακή πνευμονία	6 (28,6)	8 (58,3)	0,175**
Πνευμονία που συνδέεται με το μηχανικό αερισμό	3 (14,3)	3 (20,0)	0,677
Άλλη	2 (13,3)	2 (13,3)	1,00
Κύριες συννοσηρότητες, n (%)			
Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2	6 (28,6)	6 (40,0)	0,499**
Χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια	4 (19,0)	8 (53,3)	0,071**
Χρόνια νεφρική νόσος	0 (0)	4 (26,6)	0,023**
Χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια	7 (33,3)	3 (20,0)	0,468**
Χορηγούμενα αντιβιοτικά, n (%)			
Πιπερακιλλίνη/ταζομπακτάμη	3 (14,3)	2 (13,3)	1,00**
Καρβαπενέμες	10 (47,6)	12 (80,0)	0,083*
Τιγκεκυκλίνη	6 (28,6)	3 (20,0)	0,705**
Κολιστίνη	13 (61,9)	10 (66,7)	1,00*
Βανκομυκίνη	3 (14,3)	4 (26,7)	0,418**

Αντιμικροβιακή αγωγή σύμφωνα με τις κατευθυντήριες γραμμές της ESCMID	18 (85,7)	12 (80,0)	0,677**
Υποκατάσταση υδροκορτιζόνης	19 (90,5)	10 (80,0)	0,639**

*Σύγκριση με τη δοκιμασία t Student. **Σύγκριση με την ακριβή δοκιμασία του Fisher.

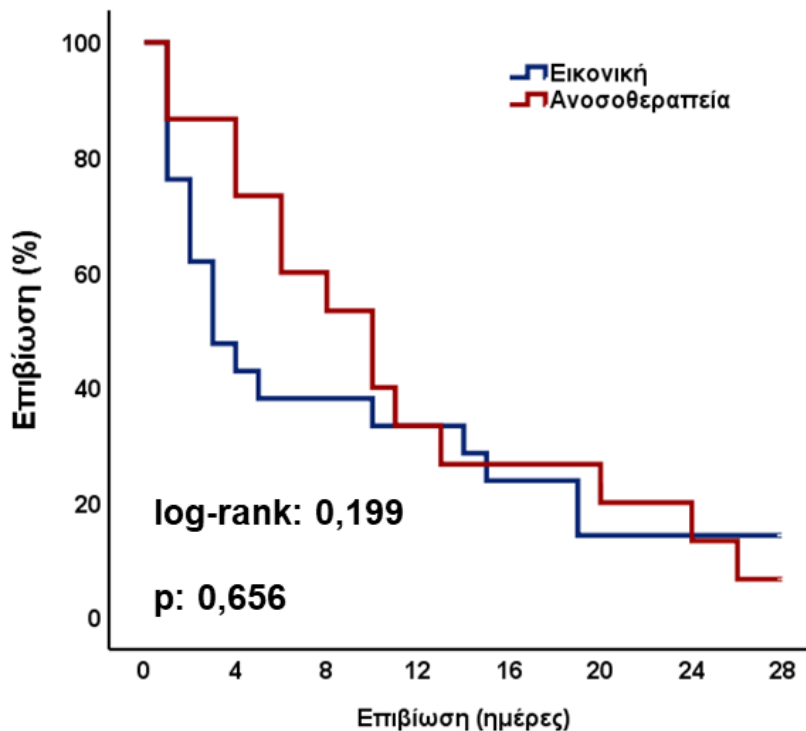
APACHE, αξιολόγηση οξείας φυσιολογίας και χρόνιας υγείας

CCI, δείκτης συννοσηρότητας Charlson

ESCMID, Ευρωπαϊκή Εταιρεία Κλινικής Μικροβιολογίας και Λοιμωδών Νοσημάτων

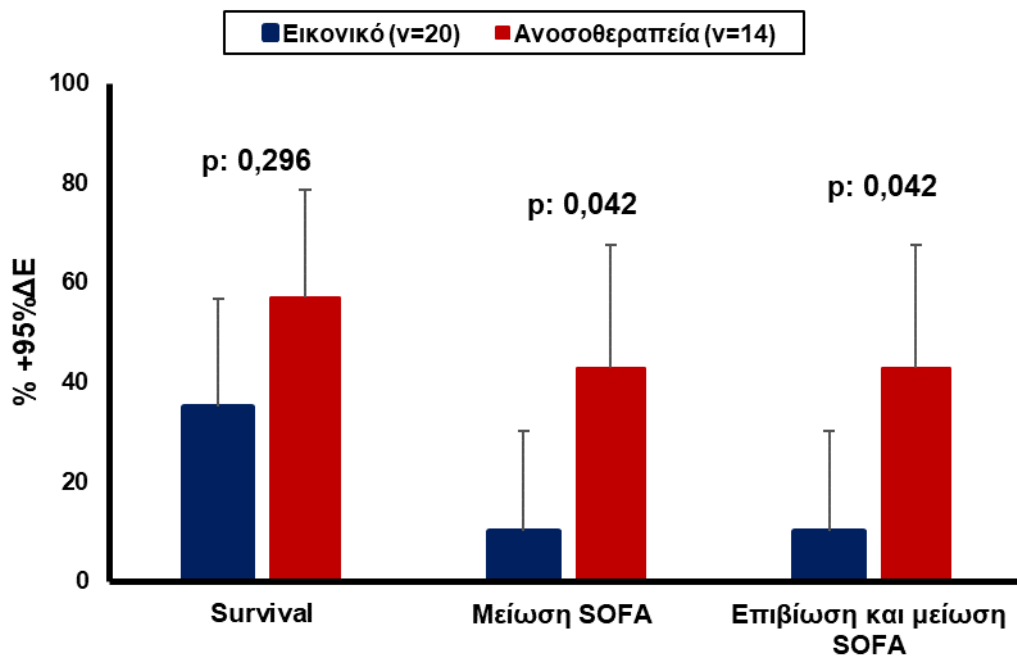
SD, τυπική απόκλιση

SOFA, αξιολόγηση διαδοχικής οργανικής ανεπάρκειας.

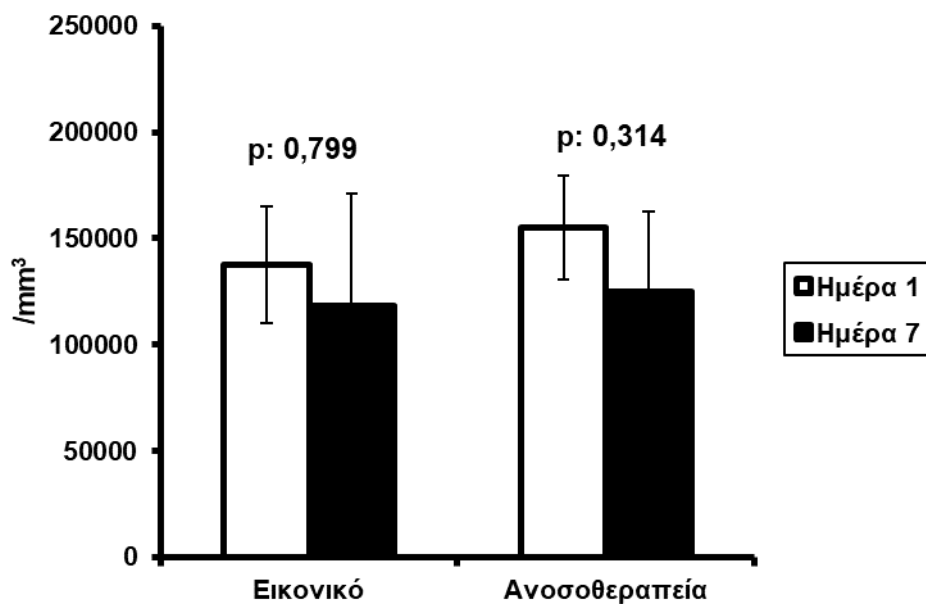


Σχήμα 15 Καμπύλες επιβίωσης των δύο σκελών θεραπείας.

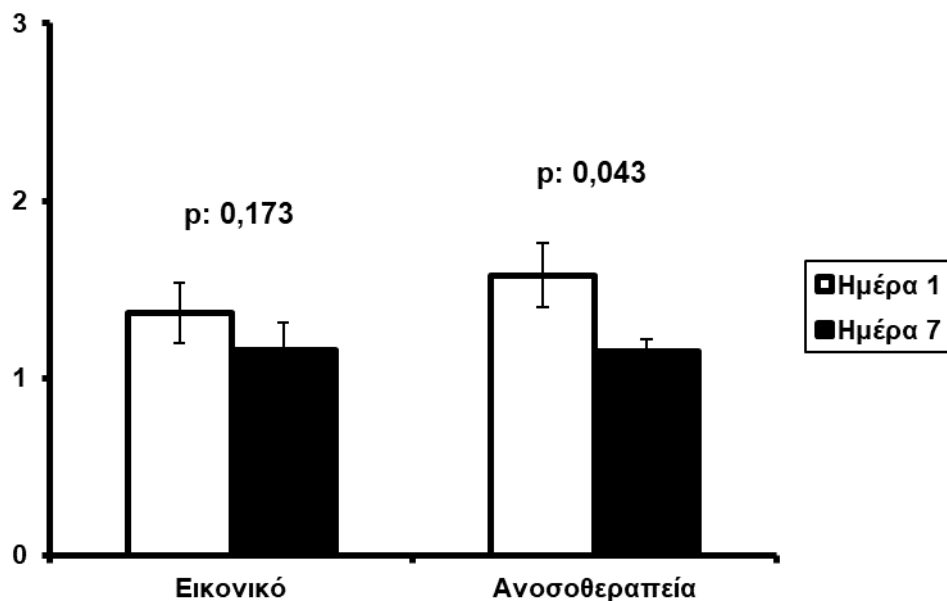
Παρουσιάζονται η τιμή της δοκιμασίας log-rank και η τιμή του στατιστικού κριτηρίου p.



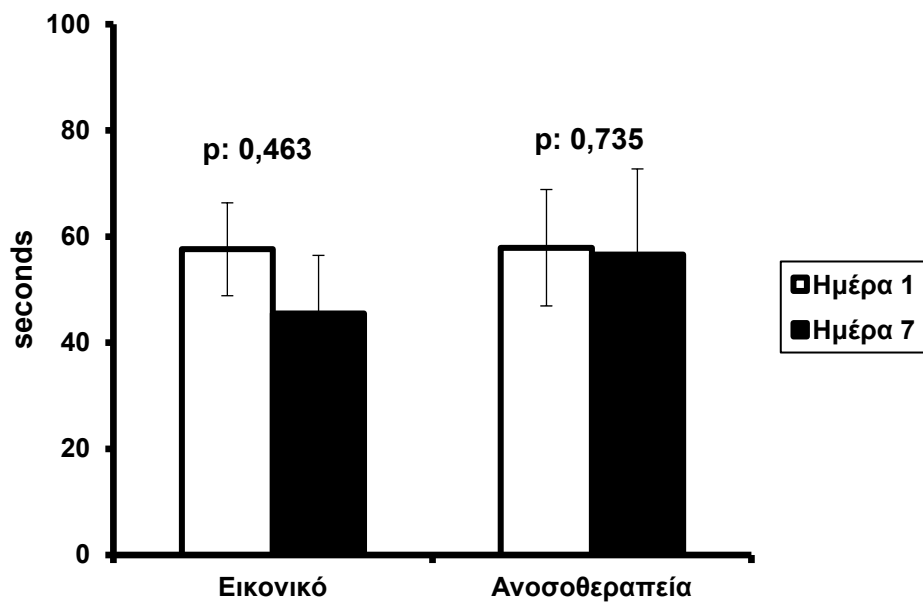
Σχήμα 16 Κατάσταση των ασθενών την ημέρα 7. Οι ασθενείς παρουσιάζονται σύμφωνα με την επιβίωση, τη μείωση της βαθμολογίας SOFA συγκριτικά με την τιμή πριν την έναρξη του φαρμάκου μελέτης ή και τα δύο. Δίνονται οι αντίστοιχες τιμές του κριτηρίου p σύγκρισης των δύο ομάδων. ΔΕ: διάστημα εμπιστοσύνης, SOFA: διαδοχική αξιολόγηση της οργανικής ανεπάρκειας.



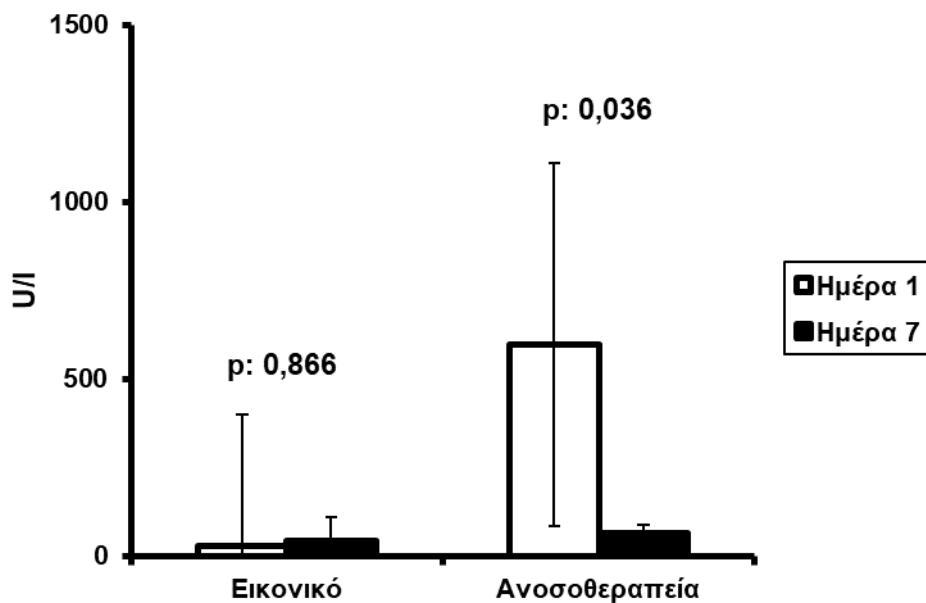
Σχήμα 17 Σύγκριση του απόλυτου αριθμού αιμοπεταλίων μεταξύ των ημερών 1 και 7 για κάθε σκέλος θεραπείας. Παρουσιάζονται οι τιμές p της αντίστοιχης στατιστικής σύγκρισης.



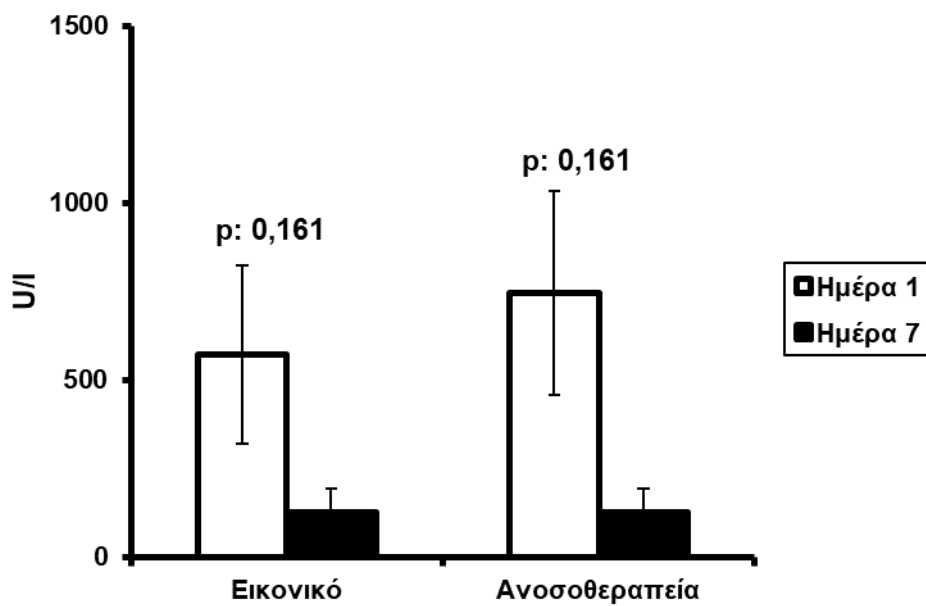
Σχήμα 18 Σύγκριση του διεθνούς κανονικοποιημένου πηλίκου (INR) μεταξύ των ημερών 1 και 7 για κάθε σκέλος θεραπείας. Παρουσιάζονται οι τιμές p της αντίστοιχης στατιστικής σύγκρισης.



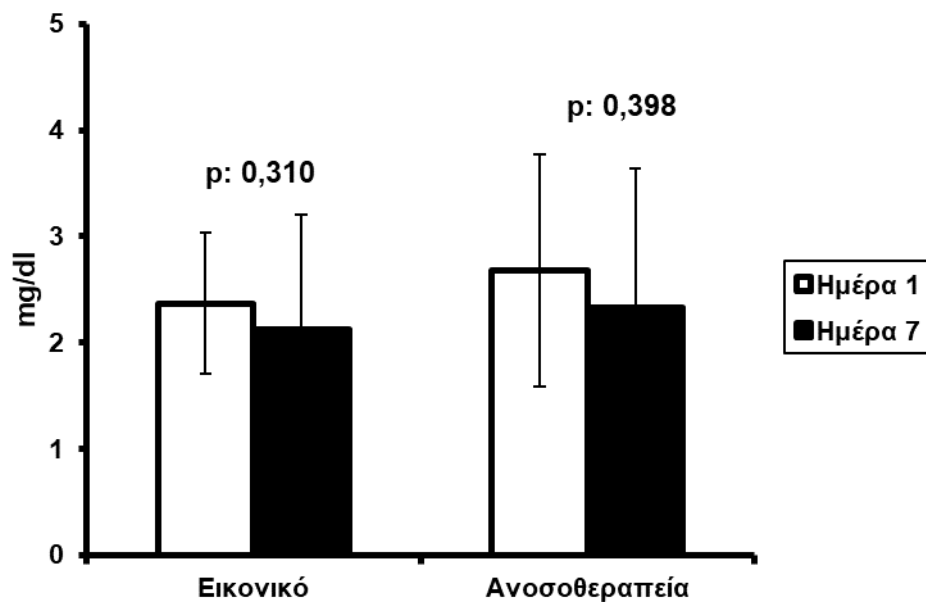
Σχήμα 19 Σύγκριση του χρόνου ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης (aPTT) μεταξύ των ημερών 1 και 7 για κάθε σκέλος θεραπείας. Παρουσιάζονται οι τιμές p της αντίστοιχης στατιστικής σύγκρισης.



Σχήμα 20 Σύγκριση της αλανινικής αμινοτρανσφεράσης (ALT) μεταξύ των ημερών 1 και 7 για κάθε σκέλος θεραπείας. Παρουσιάζονται οι τιμές p της αντίστοιχης στατιστικής σύγκρισης.

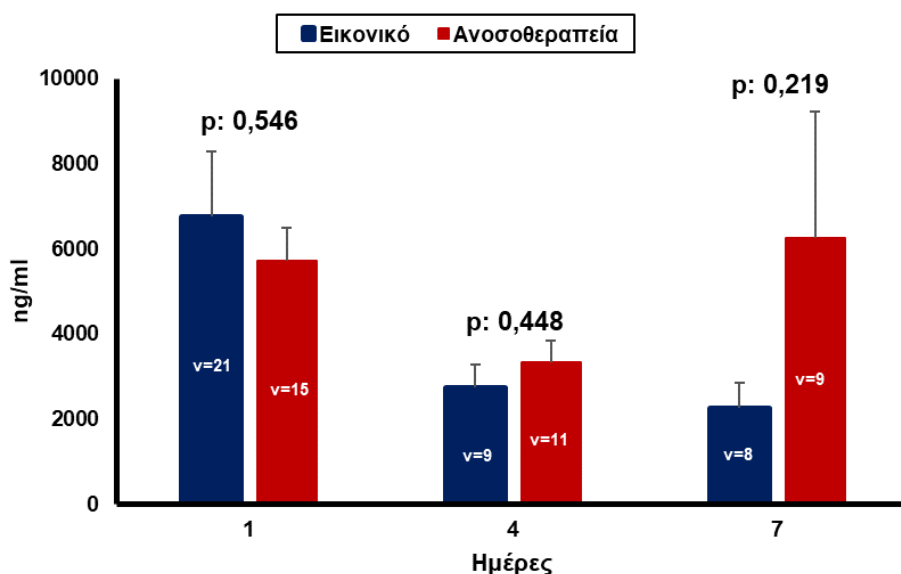


Σχήμα 21 Σύγκριση της ασπαραγινικής αμινοτρανσφεράσης (AST) μεταξύ των ημερών 1 και 7 για κάθε σκέλος θεραπείας. Παρουσιάζονται οι τιμές p της αντίστοιχης στατιστικής σύγκρισης.



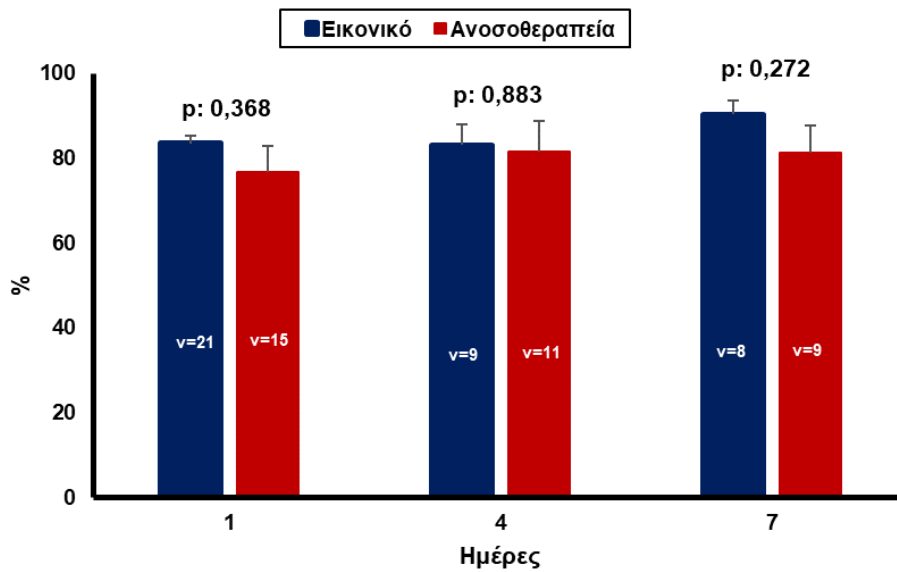
Σχήμα 22 Σύγκριση της ολικής χολερυθρίνης μεταξύ των ημερών 1 και 7 για κάθε σκέλος θεραπείας. Παρουσιάζονται οι τιμές p της αντίστοιχης στατιστικής σύγκρισης.

Οι μετρήσεις παρακολούθησης της φερριτίνης και της έκφρασης των HLA-DR/CD14/CD45 δεν διέφεραν μεταξύ του σκέλους του εικονικού φαρμάκου και του σκέλους της εξατομικευμένης ανοσοθεραπείας κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης των ασθενών (Σχήματα 23 ως 25).



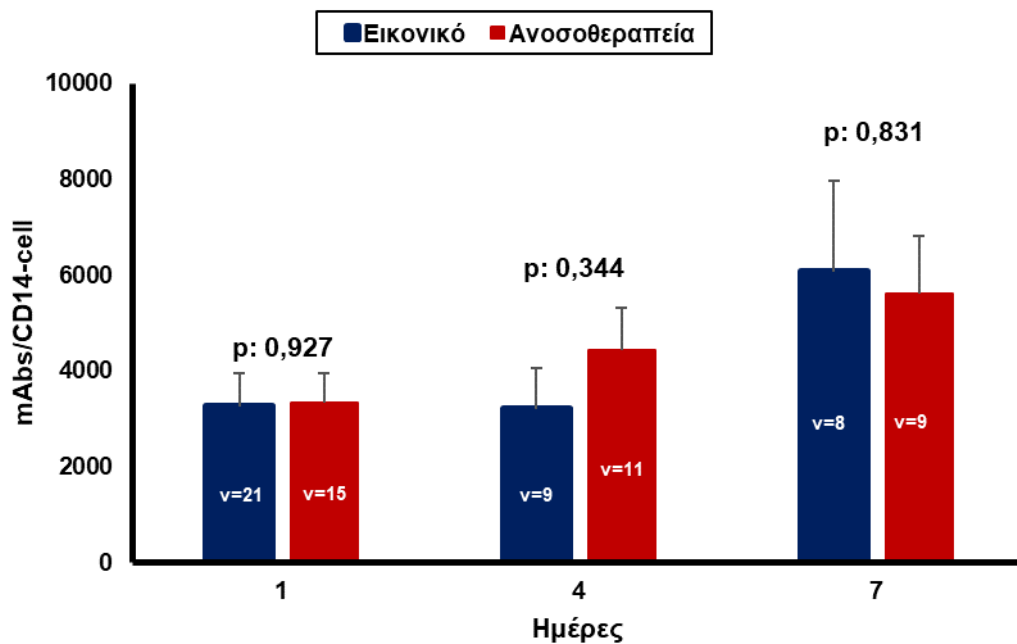
Σχήμα 23 Συγκεντρώσεις φερριτίνης αίματος κατά την παρακολούθηση των ασθενών που τυχαιοποιήθηκαν στο σκέλος της εικονικής ή της εξατομικευμένης ανοσοθεραπείας.

Οι τιμές P δηλώνουν συγκρίσεις μεταξύ των ασθενών. Δίνεται επίσης ο αριθμός (n) των ασθενών που αναλύθηκαν σε κάθε ημέρα παρακολούθησης.



Σχήμα 24 Ποσοστιαία έκφραση του αντιγόνου επιφανείας HLA-DR επί των CD45/CD14-μονοκυττάρων κατά την παρακολούθηση των ασθενών που τυχαιοποιήθηκαν στο σκέλος της εικονικής ή της εξατομικευμένης ανοσοθεραπείας.

Οι τιμές P δηλώνουν συγκρίσεις μεταξύ των ασθενών. Δίνεται επίσης ο αριθμός (n) των ασθενών που αναλύθηκαν σε κάθε ημέρα παρακολούθησης.



Σχήμα 25 Απόλυτος αριθμός των υποδοχέων HLA-DR επί των CD45/CD14-μονοκυττάρων κατά την παρακολούθηση των ασθενών που τυχαιοποιήθηκαν στο σκέλος της εικονικής ή της εξατομικευμένης ανοσοθεραπείας.

Οι τιμές P δηλώνουν συγκρίσεις μεταξύ των ασθενών. Δίνεται επίσης ο αριθμός (n) των ασθενών που αναλύθηκαν σε κάθε ημέρα παρακολούθησης.

Δεν υπήρξε διαφορά στη συχνότητα εμφάνισης ανεπιθύμητων ενεργειών μεταξύ των δύο σκελών της μελέτης (Πίνακας 6).

Πίνακας 6 Ανεπιθύμητα συμβάντα που καταγράφηκαν κατά τη διάρκεια της τυχαιοποιημένης κλινικής δοκιμής

	Εικονικό θεραπεία (n=21)	Εξατομικευμένη ανοσοθεραπεία (n=15)	p**
Συχνότητα εμφάνισης τουλάχιστον ενός σοβαρού ανεπιθύμητου συμβάντος*, n (%)	4 (19,0)	4 (16,7)	0,694
Κοιλιακή ταχυκαρδία	0 (0)	2 (13,3)	0,167
Ισχαιμία κάτω άκρων	0 (0)	2 (13,3)	0,167
Οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου	1 (4,8)	0 (0)	1,00
Μετάσταση όγκου στον εγκέφαλο	1 (4,8)	0 (0)	1,00
Αποφρακτικός ιλεός	1 (4,8)	0 (0)	1,00
Πνευμονική εμβολή	1 (4,8)	0 (0)	1,00
Τουλάχιστον ένα μη σοβαρό ανεπιθύμητο συμβάν, n (%)	2 (9,5)	0 (0)	0,500
Υπερκαλιαιμία βαθμού I	1 (4,8)	0 (0)	1,00
Αύξηση γGT βαθμού III	1 (4,8)	0 (0)	1,00

*δεν περιλαμβάνει τον αριθμό των θανάτων

**με την ακριβή δοκιμασία κατά Fisher

Συντομογραφία γGT: γ-γλουταμυλο-τρανσπεπτιδάση, n: αριθμός ασθενών

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Σε αυτή την πιλοτική μελέτη αποδείχθηκε ότι οι ασθενείς με σήψη μπορούν να ταξινομηθούν ανοσολογικά σε τρεις ομάδες: τους ασθενείς με MALS (που προσδιορίζεται από φερριτίνη ορού >4.420 ng/mL), μια ενδιάμεση ομάδα χωρίς ακραία ανοσολογική δυσλειτουργία και μια ομάδα ανοσοπαράλυσης (που προσδιορίζεται από <5.000 HLA-DR/μονοκύτταρο). Αυτή η διάκριση επέτρεψε να μελετηθεί προοπτικά η εξατομικευμένη ανοσοθεραπεία σε μια τυχαίοποιημένη διπλή-τυφλή δοκιμή.

Στους ασθενείς με MALS που τυχαίοποιήθηκαν για να λάβουν anakinra, διαπιστώθηκε ότι η βαθμολογία SOFA, η ALT και η INR βελτιώθηκαν κατά την πρώτη εβδομάδα της θεραπείας. Ωστόσο, η μείωση του SOFA δεν μεταφράστηκε σε όφελος επιβίωσης, πιθανώς λόγω της ανάγκης για πιο παρατεταμένη θεραπεία. Ο λόγος για την έλλειψη μακροπρόθεσμου οφέλους του anakinra είναι πιθανότατα η πρόωρη διακοπή της θεραπείας, τη στιγμή που εξακολουθούσε να υπάρχει υπερφλεγμονώδης αντίδραση. Από την άποψη αυτή, είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι οι συγκεντρώσεις φερριτίνης συνέχιζαν να είναι σημαντικά αυξημένες όταν διακόπηκε το anakinra. Τα δεδομένα αυτά συνηγορούν έντονα υπέρ μιας μελλοντικής προσέγγισης κατά την οποία το anakinra θα χορηγείται για μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα, κατά προτίμηση μέχρι την ομαλοποίηση των φλεγμονωδών δεικτών.

Η ιδέα ότι το anakinra θα μπορούσε να είναι ωφέλιμο σε ασθενείς με MALS προήλθε από μια αναδρομική ανάλυση μιας κλινικής δοκιμής φάσης III για την αποτελεσματικότητα της ενδοφλέβιας χορήγησης anakinra σε σοβαρή σήψη.¹⁹⁶ Η δοκιμή αυτή δεν είχε καταφέρει να δείξει όφελος επιβίωσης, αλλά η post hoc ανάλυση έδειξε 30% μείωση της θνητότητας στη μικρή υποομάδα των 43 ασθενών με ηπατική δυσλειτουργία και DIC.¹⁸⁹ Παρόλο που οι συγκεντρώσεις φερριτίνης ορού δεν μετρήθηκαν, αυτή η ομάδα ασθενών πιθανότατα έπασχε από MALS. Στην μελέτη αυτή, το anakinra χορηγήθηκε μόνο για 3 ημέρες, αλλά σε σημαντικά υψηλότερη δόση, δηλαδή 2 mg/kg ανά ώρα σε συνεχή έγχυση, που θα σήμαινε για ένα άτομο 70 κιλών ημερήσια δόση 3.360 mg ανά ημέρα. Στη μελέτη PROVIDE χρησιμοποιήσαμε σταθερή δόση 600 mg ανά ημέρα. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, με βάση τα ευρήματά μας ότι η υπερφλεγμονώδης

απόκριση δεν έχει υποχωρήσει μετά από 7 ημέρες, υποστηρίζουμε την παρατεταμένη θεραπεία με ανακίνητα και ίσως μια υψηλότερη δόση σε μελλοντικές δοκιμές.

Στο άλλο άκρο του φάσματος της ανοσολογικής απορρύθμισης της σήψης, εντοπίζεται η ανοσοπαράλυση, υπεύθυνη για τις μεταγενέστερες λοιμώξεις επιπλοκές και την επιδείνωση της κατάστασης των ασθενών με σήψη. Οι μετρήσεις του απόλυτου αριθμού των υποδοχέων HLA-DR στα μονοκύτταρα έδειξαν ότι η ανοσοπαράλυση είναι παρούσα στο 42,9% των ασθενών από την έναρξη της σήψης και ότι εμφανίζεται σε ασθενείς με σήψη με ή χωρίς καταπληξία και συνδέεται με υψηλή θνητότητα. Καθώς η ανοσοδιέγερση αποτελεί μια φιλόδοξη θεραπευτική στρατηγική για την ανοσοπαράλυση¹⁹⁷, συμπεριλάβαμε ένα σκέλος rhIFN γ στη δοκιμή PROVIDE. Αυτό βασίστηκε στα αποτελέσματα μιας μικρής ανοικτής μη τυχαιοποιημένης κλινικής δοκιμής, στην οποία χορηγήθηκε θεραπεία με rhIFN γ σε εννέα ασθενείς με σηπτική καταπληξία. Επιτεύχθηκε αναστροφή της ανοσοπαράλυσης και στους εννέα ασθενείς, με αύξηση της έκφρασης των μορίων HLA-DR στα μονοκύτταρα παράλληλα με την *ex vivo* αύξηση της παραγωγής TNF α μετά από διέγερση με LPS. Στην εν λόγω μελέτη, σημειώθηκε παράλληλα κλινική βελτίωση σε οκτώ ασθενείς.¹⁹⁸ Πρόσθετα δεδομένα που υποστηρίζουν τη στρατηγική της ανοσοδιέγερσης προέρχονται από μια μελέτη σε έξι υγιείς εθελοντές, στους οποίους προκλήθηκε ανοσοπαράλυση με βακτηριακή ενδοτοξίνη. Τα άτομα αυτά έλαβαν rhIFN γ υποδόρια ή εικονικό φάρμακο. Στους εθελοντές που έλαβαν rhIFN γ , παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της έκφρασης του HLA-DR στα μονοκύτταρα.¹⁹³

Ο αρχικός δείκτης που είχε επιλεγεί για τη διάγνωση της ανοσοπαράλυσης, δηλαδή η έκφραση του HLA-DR στα CD14-μονοκύτταρα σε ποσοστό μικρότερο του 30%, απέτυχε να εντοπίσει ασθενείς με ανοσοπαράλυση και δυσμενή έκβαση. Ως αποτέλεσμα, πολύ λίγοι ασθενείς ταξινομήθηκαν ως πάσχοντες από ανοσοπαράλυση και, ως εκ τούτου, ήταν επιλέξιμοι για να τυχαιοποιηθούν σε θεραπεία με rhIFN γ ή με αντίστοιχο εικονικό φάρμακο. Αντίθετα, ο συνολικός αριθμός των μορίων HLA-DR στα μονοκύτταρα (όπως εκτιμήθηκε με το Quantibrite), προσφέρει μια καλύτερη εναλλακτική λύση.

Ασθενείς με λιγότερους από 5.000 υποδοχείς HLA-DR στα CD14-μονοκύτταρα πληρούν και τα τέσσερα εφαρμοζόμενα κριτήρια για την ταξινόμηση της ανοσοπαράλυσης, δηλαδή μεγαλύτερο κίνδυνο θανάτου, συσχέτιση με ανοσολογική εξάντληση των PBMCs, μεγαλύτερο κίνδυνο για εξέλιξη σε δυσλειτουργία πολλαπλών οργάνων και απουσία σημείων MALS. Σε μια πρόσφατη μεγάλη προοπτική μελέτη 592 ασθενών στη μονάδα εντατικής θεραπείας, διαπιστώθηκε ότι η πορεία προς τη μείωση του απόλυτου αριθμού των υποδοχέων HLA-DR στα CD14-μονοκύτταρα σχετίζεται με μεγαλύτερη πιθανότητα για δευτερογενείς λοιμώξεις, με τους συγγραφείς να χρησιμοποιούν μείωση μικρότερη από 8.000 υποδοχείς HLA-DR ανά CD14-κύτταρο.¹⁹⁹ Αν και αυτό το όριο είναι υψηλότερο από αυτό που προέρχεται από την ανάλυση της μελέτης PROVIDE, η θεραπεία με rhIFN γ σε 13 ασθενείς με δευτερογενείς λοιμώξεις και ανοσοπαράλυση οδήγησε σε αύξηση των HLA-DR πάνω από 8.000/κύτταρο σε εννέα από τους 13 ασθενείς και μείωση της βαθμολογίας SOFA σε 10 από τους 13 ασθενείς²⁰⁰.

Ένα σχετικό ερώτημα είναι πώς η ανοσολογική διαστρωμάτωση που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη σχετίζεται με άλλους ανοσολογικούς ενδοτύπους που περιγράφονται στη βιβλιογραφία. Οι ενδοτύποι έχουν οριστεί ως μια συλλογή μηχανισμών της νόσου που ερμηνεύουν την έκφραση της νόσου σε ομάδες ασθενών.²⁰¹ Δύο πρόσφατες μελέτες έχουν προτείνει ενδοτύπους της σήψης που σχετίζονται με δυσμενή έκβαση. Η πρώτη μελέτη είναι η GAINs (UK Genomic Advances in Sepsis), η οποία ανέλυσε 384 ασθενείς με sepsis λόγω πνευμονίας της κοινότητας, οι οποίοι χωρίστηκαν σε μία κοόρτη ανακάλυψης (n = 270) και μία κοόρτη επικύρωσης (n = 114). Εντοπίστηκαν δύο μεταγραφικές υπογραφές απόκρισης στη σήψη (SRS): SRS1 και SRS2. Η γονιδιακή έκφραση των *DYRK2*, *CCNB1IP1*, *TDRD9*, *ZAP70*, *ARL14EP*, *MDC1* και *ADGRE3* οδηγεί στην ταξινόμηση με SRS1, η οποία χαρακτηρίζεται από την μειωμένη ενεργοποίηση του HLA-DR και την ενεργοποίηση των T-κυττάρων. Οι ασθενείς με το SRS1 έχουν χειρότερη έκβαση από το SRS2 τόσο στην ομάδα ανακάλυψης όσο και στην ομάδα επιβεβαίωσης και αυτό είναι ανεξάρτητο από την ηλικία, το φύλο και τον τύπο του παθογόνου.²⁰² Πρόσφατα οι Scicluna και συν. ανέφεραν τέσσερις ενδοτύπους στη σήψη βάσει μεταγραφικών χαρακτηριστικών.²⁰³ Οι εν

λόγω συγγραφείς μελέτησαν δύο ομάδες, μια ομάδα ανακάλυψης με 306 ασθενείς και μια πρώτη ομάδα επιβεβαίωσης με 216 ασθενείς, οι οποίες συγκεντρώθηκαν στο πλαίσιο της μελέτης MARS (Molecular Diagnosis and Risk Stratification of Sepsis). Μελετήθηκε επίσης μια δεύτερη κοόρτη επιβεβαίωσης με 265 ασθενείς από τη μελέτη GAINs. Οι ασθενείς ταξινομήθηκαν σε τέσσερις ενδότυπους, δηλαδή Mars1 έως Mars 4, χρησιμοποιώντας τα ανοσολογικά μονοπάτια που τους χαρακτήρισαν. Ο ενδότυπος Mars1 χαρακτηριζόταν από έντονη μείωση της ανοσολογικής λειτουργίας, ιδίως της παρουσίασης αντιγόνων και της λειτουργίας των T-κυττάρων. Οι ασθενείς αυτοί είχαν τη χειρότερη έκβαση απ' όλες τις κοόρτες. Οι συγγραφείς της μελέτης ζηγούν την ανάγκη εντοπισμού μεμονωμένων γονιδιακών εκφράσεων ως βιοδεικτών ευκολότερων στη χρήση για την ταχεία διάγνωση του ενδοτύπου κάθε ασθενούς²⁰³. Στη μελέτη PROVIDE, δεν διαθέτουμε δεδομένα γονιδιακή έκφρασης ώστε να συγκρίνουμε την ταξινόμησή μας με τους μεταγραφικούς ενδότυπους, αλλά θα μπορούσαμε να υποθέσουμε ότι ο ανοσολογικός τύπος της ανοσοπαραγωγής μας θα συμπίπτει τουλάχιστον εν μέρει με τον ενδότυπο Mars1. Απαιτούνται μελλοντικές μελέτες για να διερευνηθεί αυτό.

Αυτή η πιλοτική μελέτη, η οποία ξεκίνησε από τον ερευνητή, έχει αρκετούς περιορισμούς. Πρώτον, λόγω των περιορισμών από τη χρήση του ποσοστού HLA-DR, δεν μπορέσαμε να εγγράψουμε περισσότερους από λίγους ασθενείς στο σκέλος της rhIFN γ . Δεύτερον, η θεραπεία με anakinra πιθανότατα διακόπηκε πρόωρα, γεγονός που οδήγησε στην απώλεια του θεραπευτικού οφέλους μετά το τέλος της θεραπείας. Τρίτον, η θεραπεία με anakinra ξεκίνησε μόνο την ημέρα 2 μετά τη διάγνωση, λόγω της ανάγκης επιβεβαίωσης σε δύο διαδοχικές ημέρες των υψηλών συγκεντρώσεων φερριτίνης. Αυτό οδήγησε σε καθυστερημένη χορήγηση του φαρμάκου, με υψηλή θνητότητα την πρώτη ημέρα μετά την ένταξη. Καθώς η συσχέτιση μεταξύ των συγκεντρώσεων φερριτίνης στους ασθενείς ήταν πολύ καλή, υποστηρίζουμε την ταχεία έναρξη της θεραπείας σε μελλοντικές δοκιμές.

Η μελέτη PROVIDE ορίζει μια ταχεία ταξινόμηση της σήψης από ανοσολογικής άποψης, ώστε το MALS και η ανοσοπαραγωγή να αποτελέσουν τη βάση ενός αλγορίθμου εξατομικευμένης ανοσοθεραπείας. Στη μελέτη μας, η

Θεραπεία με anakinra ήταν πολλά υποσχόμενη, καθώς παρουσίασε θεραπευτικό αποτέλεσμα κατά τη διάρκεια της θεραπείας, αν και χρήζει βελτιστοποίησης. Με βάση την παρούσα μελέτη, βρίσκεται σε εξέλιξη μια νέα τυχαioποιημένη πολυκεντρική δοκιμή εξατομικευμένης ανοσοθεραπείας (αριθμός EudraCT 2020-005768-74- Clinicaltrials.gov NCT04990232). Τα διδάγματα που αντλήθηκαν από την PROVIDE (μεγαλύτερης διάρκειας θεραπεία με anakinra, νέος βιοδείκτης ανοσοπαραγωγής με βάση τον αριθμό των μορίων HLA-DR ανά μονοκύτταρο) είναι ζωτικής σημασίας για τη βελτίωση των πιθανοτήτων επιτυχίας σε μελλοντικές δοκιμές ανοσοθεραπείας στη σήψη.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η κατάσταση της ανοσολογικής ενεργοποίησης μπορεί να οδηγήσει τη στοχευμένη ανοσοθεραπεία στη σήψη. Σε μια διπλή τυφλή, διπλά εικονική, τυχαιοποιημένη κλινική μελέτη, 240 ασθενείς με σήψη λόγω πνευμονικής λοίμωξης, βακτηραιμίας ή οξείας χολαγγειίτιδας υποβλήθηκαν σε μέτρηση της φερριτίνης ορού και του HLA-DR/CD14. Οι ασθενείς με ομοιάζον σύνδρομο ενεργοποίησης μακροφάγων (MALS) ή ανοσοπαράλυση τυχαιοποιήθηκαν σε θεραπεία με anakinra ή ανασυνδυασμένη ιντερφερόνη γ ή εικονικό φάρμακο. Η θνητότητα στις πρώτες 28 ημέρες ήταν το πρωτεύον καταλυτικό σημείο. Η ανοσολογική ταξινόμηση της σήψης ήταν το δευτερεύον καταλυτικό σημείο. Χρησιμοποιώντας φερριτίνη >4.420 ng/mL και <5.000 HLA-DR υποδοχείς/μονοκύτταρο ως βιοδείκτες, οι ασθενείς ταξινομήθηκαν σε MALS (20,0%), ανοσοπαράλυση (42,9%) και ενδιάμεση (37,1%). Η θνητότητα ήταν 79,1%, 66,9% και 41,6%, αντίστοιχα. Επιβίωση μετά από 7 ημέρες με μείωση της βαθμολογίας SOFA επιτεύχθηκε στο 42,9% των ασθενών του σκέλους της ανοσοθεραπείας και στο 10,0% του σκέλους του εικονικού φαρμάκου (p=0,042). Συμπερασματικά, τρία ανεξάρτητα επίπεδα ανοσολογικής ταξινόμησης αναγνωρίζονται στη σήψη. Το MALS και η ανοσοπαράλυση προτείνονται ως διαστρωμάτωση για εξατομικευμένη επικουρική ανοσοθεραπεία.

ΑΓΓΛΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ

The state of immune activation may guide targeted immunotherapy in sepsis. In a double-blind, double-dummy randomized clinical study, 240 patients with sepsis due to lung infection, bacteremia or acute cholangitis are subject to measurements of serum ferritin and HLA-DR/CD14. Patients with macrophage activation-like syndrome (MALS) or immunoparalysis are randomized to treatment with anakinra or recombinant interferon-gamma or placebo. 28-day mortality is the primary endpoint; sepsis immune classification is the secondary endpoint. Using ferritin $>4,420$ ng/ml and $< 5,000$ HLA-DR receptors/monocytes as biomarkers, patients are classified into MALS (20.0%), immunoparalysis (42.9%) and intermediate (37.1%). Mortality is 79.1%, 66.9% and 41.6% respectively. Survival after 7 days with SOFA score decrease is achieved in 42.9% of patients of the immunotherapy arm and 10.0% of the placebo arm (p: 0.042). Three independent immune classification strata are recognized in sepsis. MALS and immunoparalysis are proposed as stratification for personalized adjuvant immunotherapy.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΚΑ

1. Mayson E, Saverimuttu J, Warburton P. Two Faced HLH-comparative review of two cases of adult. *Lancet* 213;595
2. Scott R.B, Robb-Smith AH. Histiocytic medullary reticulocytosis. *Lancet* 1939,234:194-198
3. Ishii E, Ohga S, Imashuku S, et al. Nationwide survey of hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Japan Int J Hematol* 2007; 86: 58-65.
4. Janka GE. Familial and acquired hemophagocytic lymphohistiocytosis, *Eur J Pediatr* 2007; 166:95-109. and 1983; 140:221-230
5. Allen M, De Fusco C, Clementi R, et al. Familial hemophagocytic lymphohistiocytosis how late can the onset be? *Haematologica* 2001; 86:499-503.
6. Ramos-Casals M, Brito-Zerón P, Lopez-Guillermo A, et al. Adult haemophagocytic syndrome. *Lancet* 2014; 383: 1503-1516.
7. Jordan MB, Allen CE, Weitzman S, et al. How I treat hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood* 2011;118: 4041-4052
8. Rosado FG, Kim AS. Hemophagocytic lymphohistiocytosis: an update on diagnosis and pathogenesis. *Am J Clin Pathol.* 2013; 139:713-727.
9. Schram AM, Berliner N. How I treat hemophagocytic lymphohistiocytosis in the adult patient. *Blood* 2015; 125:2908-2914.
10. Scott R.B, Robb-Smith AH. Histiocytic medullary reticulocytosis, *Lancet* 1939, 234:194-198.

11. Farguhar JW, Claireaux AE. Familial haemophagocytic reticulosis. *Arch Dis Child* 1952;27(136):519-525.
12. Chondropoulos S. Haemophagocytic Syndromes. Gennimatas General Hospital, *Athens* 2018
13. Farguhar JM, Macgregor AR, Richmond J. Familial haemophagocytic reticulosis. *BMJ* 1958; 2:1561-1564
14. Risdall RJ, McKenna RW, Nesbit ME, et al. Virus-associated hemophagocytic syndrome: a benign histiocytic proliferation distinct from malignant histiocytosis. *Cancer* 1979; 3:993-1002.
15. Janka G. hemophagocytic lymphohistiocytosis: When the immune system runs amok. *Klinische padiatrie* 2009; 5:278-285
16. Janka GE. Familial hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Eur J Pediatr* 1983.
17. Henter JI, Elinder G, Ost A, and the FHL Study Group of the histiocyte society. Diagnostic guidelines for haemophagocytic lymphohistiocytosis. *Semin oncol* 1991; 18:29-33
18. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. WHO Classification of tumors of Haematopoietic and Lymphoid tissues. 4th edition, *Lyon* 2008
19. Jaffe ES. Pathobiology of peripheral T-cell lymphomas. *Am Soc Hema Educ Progr* 2006; 317-322.
20. Delves PJ, Roitt IM. The immune system. First of two parts. *N Engl J Med* 2000; 343:37-49 124

21. Torro JR, Liewehr DJ, Pabby N, et al. Gamma-delta T-cell phenotype is associated with significantly decreased survival in cutaneous T-cell lymphoma. *Blood* 2003; 101:3407-3412.
22. Sun JC, Lanier LL. NK cell development, homeostasis and function: parallels with CD8+ T cells. *Nat Rev Immunol* 2011; 11:645-57.
23. Voskoboinik I, Whisstock JC, Trapani JA. Perforin and granzymes function , disfunction and human pathology. *Nat Rev Immunol* 2015; 6:388-400.
24. Vikendiou M. " The Cytometry in immunology ' , *cytotoxicity* 2016
25. Strasser A, Jost PJ, Nagata S. The many roles of FAS receptor signaling in the immune system. *Immunity* 2009; 30:180-92.
26. Johnstone RW, Frew AJ, Smyth MJ. The TRAIL apoptotic pathway in cancer onset, progression and therapy. *Nat Rev Cancer* 2008; 8:782-98.
27. Mueller SN, Gebhart T, Carbone FR, et al. Memory T cell subsets, migration patterns and tissue residence. *Annu Rev Immunol* 2013; 31:137-61.
28. Dustin ML. The immunological synapse. *Cancer Immunol Res* 2014; 2:1023-33.
29. Norbury CC. Defining cross presentation for a wider audience. *Curr Opin Immunol* 2016; 40:110-16.
30. Chang JT, Wherry EJ, Goldrath AW. Molecular regulation of effector and memory T cell differentiation. *Nat Immunol* 2014; 15:1104-15.
31. Cox MA, Harrington LE, Zajac AJ. Cytokines and the inception of CD8 T cell responses. *Trends Immunol* 2011; 32:180-6.

32. Greyer M, Whitney PG, Stock AT, et al. T cell help amplifies innate signals in CD8+ DCs for optimal CD8+ T Cell Priming. *Cell Rep* 2016;586-97.
33. Mempel T.R, Henrickson SE, Von Andrian U. T cell priming by dendritic cells in lymph nodes occurs in the three distinct phase. *Nature* 2004; 427:154-59
34. Yuan D, Koh CY, Wilder JA. Interactions between NK cells and B lymphocytes. *Faseb J* 1994; 13:1012-8
35. Favara BE. Hemophagocytic lymphohistiocytosis: a hemophagocytic syndrome. *Semin Diagn Pathol* 1992; 1:63-74.
36. Stepp SE, Dufourcq-Lagelouse R, Le Deist F, et al. Perforin gene defects in familial hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Science* 1999; 286(5446):1957-1959.
37. Kogava K, Lee SM, Villanueva J, et al. Perforin expression in cytotoxic lymphocytes from patients with hemophagocytic lymphohistiocytosis and their family members. *Blood* 2004; 99:61-66.
38. Sullivan KE, Delaat CA, Douglas SD, et al. Defective natural Killer cell function in patients with hemophagocytic lymphohistiocytosis and in first degree relatives. *Pediatr.Res* 1998; 44:465-468
39. Psarra A. Immune system cells, Immunology Seminar, *Athens* 2005.
40. Gregoire C, Chasson L, Luci C, et al. The trafficking of natural killer cells. *Immunology Rev* 2007; 220:169-182.

41. Chung KF. Individual cytokines contributing to asthma pathophysiology, Valid targets for asthma therapy? *Curr Opin Investig Drugs* 2003; 11:1320-6.
42. Colonna M, Borsellino G, Falco M, et al: HLA-C is the inhibitory Ligand that determines dominant resistance to lysis by NK1 and NK2 specific natural Killer cells, *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 24:12000.
43. Dorak MT. Role of natural Killer cells and killer immunoglobulin-like receptor polymorphisms: Association of HLA and KIRs. *Methods Mol MED* 2007; 134:123.
44. Falk Cs Steinle A, Schendel DJ. Expression of HLA-C molecules confers target cell Resistance To Some Non-Major Histocompatibility Complex-restricted T cells in a manner analogous to allospecific natural Killer cells, *J Exp Med* 1995; 4:1005.
45. Perussia B. Lymphokine-activated killer cells, natural killer cells and cytokines. *Curr Opin Immunol* 1991; 1:49.
46. Sankhla SK, Nadkarni JS, Bhagwati SN. Adoptive immunotherapy using lymphokine-activated Killer cells (LAK) and interleukine-2 for recurrent malignant primary brain tumors, *J Neurooncol* 1996; 2:133.
47. Sullivan LC, Clements CS, Beddoe T. The heterodimeric assembly of the CD94-NKG2 receptor family and implications for human leukocyte antigen-E recognition. *Immunity* 200; 6:900.
48. Steinmman R. M. *Fundamental Immunology* (ed Paul, W. E) 4th edn (Lippincott-Raven, Philadelphia in the press).

49. Inaba K, Inaba M, Romani N, et al. Generation of large numbers of dendritic cells from mouse bone marrow cultures supplemented with granulocyte/macrophage colony stimulating factor. *J Exp Med* 1992; 176:1693-1702.
50. Caux C, Dezutter-Dambuyant C, Schmitt D, et al. GM-CSF and TNF- α cooperate in the generation of dendritic Langerhans cells. *Nature* 1992; 360:258-261.
51. Reddy A, Sapp M, Feldman M, et al. A monocyte conditioned medium is more effective than defined cytokines in mediating the terminal maturation of human dendritic cells. *Blood* 1997;90: 3640-3646.
52. Sallusto F, Cella M, Ranielli C, et al. Dendritic cells use macropinocytosis and the mannose receptor to concentrate antigen in the MHC class II compartment. Down regulation by cytokines and bacterial products. *J Exp Med* 1985; 182:389-400.
53. Kitajima T, Arizumi K, Bergstresser PR, et al. A novel mechanism of glucocorticoid-induced immune suppression: The inhibition of T cell-mediated terminal maturation of a murine dendritic cell line. *J Clin Invest*, 1996;126:142-147.
54. Adema GJ, Hartgers F, Verstraten R, et al. A dendritic cell derived C-C chemokine that preferentially attracts naïve T cells. *Nature* 1997; 387:713-717.
55. Brocker T. Survival of mature CD4 T lymphocytes is dependent on major histocompatibility complex class II-expressing dendritic cells. *J Exp Med* 1997; 186:1223-1232.

56. Winzler C, Rovere P, Rescigno M, et al. Maturation stages of mouse dendritic cells. *J Exp Med* 1997; 186:837-844.
57. Fayette J, Dubois B, Vandenabeele S, et al. Human dendritic cells skew isotype switching of CD40-activated naive B cells towards IgA1 and IgA2. *J Exp Med* 185 1997; 1909:1918.
58. Matsumoto M, Fu YX, Molina H et al. Distinct roles of lymphotoxin-a and type 1 TNF receptor in the establishment of follicular dendritic cells from non-bone marrow-derived cells. *J Exp Med* 1997; 186:1997-2004.
59. Liu YJ, Grouard G, De Bouteiller O, et al. Follicular dendritic cells and germinal centers, *Int Rev Cytology* 1996;166:139-176.
60. Moretta A. Natural Killer cells and Dendritic cells: rendezvous in abused tissues. *Nat Rev Immunol* 2002; 2:957-964.
61. Fehniger TA, Caligiuri M.A. Interleukin 15: biology and relevance to human disease. *Blood* 2001; 97:14-32.
62. Trinchieri G. Interleukin-12 and the regulation of innate resistance adaptive immunity. *Nat Rev Immunol* 2003; 3:133-146.
63. Vitale M, Bottino C, Sivori S, et al. Nkp44, novel triggering surface molecule specifically expressed by activated natural killer cells, is involved in non-major histocompatibility complex-restricted tumor cell lysis. *J Exp Med* 1998;187: 2065-2072.

64. Chiesa MD, Vitale M, Carlomagno S, et al. The natural killer cell-mediated killing of autologous dendritic cells is confined to a cell subset expressing CD94/NKG2A but lacking inhibitory killer Ig like receptors. *Eur J Immunol* 2003; 33:1657-1666.
65. Gritta GE, Lehmborg K. Hemophagocytic syndromes-an update. *Blood Rev.* 2014; 21:245-253.
66. Janka GE. Familial Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *Eur J Pediatr* 1983;221-30.
67. Arico M, Janka G, Fischer A, et al. Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. Report of 122 children from the international registry. FHL Study Group of the Histiocyte Society. *Leukemia* 1996; 10:197-203.
68. Risdall RJ, McKenna RW, Nesbit ME, et al. Virus-associated 128 hemophagocytic syndrom: a benign hystiocytic proliferation distinct from malignant histiocytosis. *Cancer* 1979; 44:993-1002.
69. Janka G, Imashuku S, Elinder G, et al. Infection-and malignancy-associated hemophagocytic syndromes. Secondary hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *Hematol Oncol Clin North Am* 1998; 12:435-44
70. Fisman DN. Hemophagocytic syndromes and infection. *Emerg infect Dis* 2000; 6:601-8.
71. Fardet L, Lambotte O, Meynard JL et al. Reactive haemophagocytic syndrome in 58 HIV-1- infected patients: clinical features underlying diseases and prognosis. *Aids* 2010; 24:1299-306.

72. Gagnaire MH, Galambrun C, Stephan JL. Hemophagocytic syndrome: A misleading complication of visceral leishmaniasis in children a series of 12 cases. *Pediatrics* 2000;106: E58.
73. Janka G. Familial and acquired hemophagocytic Lymphohistiocytosis. Epubaheadofprint. *Eur J Pediatr* 2006.
74. Arico M, Nespoli L, Maccario R, et al. Natural cytotoxicity impairment in familial haemophagocytic Lymphohistiocytosis. *Arch Dis Child* 1988;63:292-6
75. Henter JL, Ehrnst A, Andersson J, Elinder G. Familial hemophagocytic Lymphohistiocytosis and viral infections. *Acta Paediatr* 1993; 82:369-72
76. Schaer DJ, Schaer CA, Schoedon G, et al. Hemophagocytic macrophages constitute a major compartment of heme oxygenase expression in sepsis *Eur J Haematol* 2006; 77:432-6.
77. Jaffe ES, Costa J, Fauci AS, Cossman J, Tsokos M. Malignant Lymphoma and erythrophagocytosis simulating malignant histiocytosis. *Am J Med* 1983; 75:741-9.
78. Falini B, Pileri S, De Solas I, et al. Peripheral T-cell Lymphoma associated with hemophagocytic syndrome. *Blood* 1990; 75:434-44.
79. Takahashi N, Chubachi A, Miura I, et al. Lymphoma-associated hemophagocytic syndrome in Japan. *Rinsho Ketsueki* 1999;40:542-9.
80. Quintanilla Martinez L, Kumar S, Fend F, et al. Fulminant EBV(+) T-cell Lymphoproliferative disorder follow acute/ chronic EBV infection: a distinct clinicopathologic syndrome. *Blood* 2000;96:443-51

81. Atteritano M, David A, Bagnato G, et al. Haemophagocytic syndrome in rheumatic patients: A systematic review. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2012; 16:1414-24.

82. Behrens EM, Canna SW, Slade K, et al. Repeated TLR9 stimulation results in macrophage activation syndrome-like disease in mice. *J Clin Invest* 2011; 121:2264-77.

83. Kardas F, Patiroglu T, Unal E, et al. Hemophagocytic syndrome in a 4-month-old infant with biotinidase def. *Pediatr Blood Cancer* 2013; 59:191-3

84. Wu S, Gonzalez-Gomez I, Coates T, Yano S. Cobalamin C disease 129 presenting with hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Pediatr Hematol Oncol* 2005; 22:717-21.

85. Karaman S, Urganci N, Gunsei K, Cinkaya F, Niemann-Pick disease association with hemophagocytic syndrome. *Turk J Haematol Oncol* 2012; 29:92-8.

86. Kundak AA, Zenciroglu A, Yarali N, et al. An unusual presentation of Galactosemia: Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *Turk J Haematol*, 2012;29:401-4.

87. Aronson IK, Worobec SM. Cytophagic histiocytic panniculitis and hemophagocytic lymphohistiocytosis: an overview. *Dermatol Ther* 2010; 23:389-402.

88. Mallory CA, Polinski C, Alkan S, et al. Hemophagocytic Lymphohistiocytosis presenting with nonimmune hydrops fetalis. *J Perinatol*. 2004; 7:458-460.

89. Ericson KG, Fadeel B, Andersson M, et al. Sequence analysis of the granulysin and granzyme B genes in familial hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *Hum Genet.* 2003 ;1 :98-9
90. Arico M, Danesino C, Pende D, Moretta L. Pathogenesis of haemophagocytic Lymphohistiocytosis. *Br J Haematol.* 2001; 4:761-9.
91. Ramos MC, Pilar BZ, Armando LG, et al. Adult Haemophagocytic Syndrome, Epidemiology Seminar. Nov 27, 2013.
92. Arico M, Janka G., Fischer A, et Al. HLH. Report of 122 children from the international registry. FHL Study Group of the histiocyte Society. *Leukemia* 1996; 2:197-203
93. Meeths M, Chiang SC, Wood SM et al. FHL type 3 caused by deep intronic mutation and inversion in UNC13D. *Blood* 2011;118:5783-5793.
94. Sung L, King SM, Carcao M, et al. Adverse outcomes in primary HLH. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2002; 7:550-4.
95. Jordan MB, Allen CE, Weitzman S, et al. How I treat HLH. *Blood* 2011; 118:4041-4052.
96. Meeths M, Horne A, Sabel M, et al. Incidence and clinical presentation of primary HLH in Sweden. *Pediatr Blood Cancer* 2014; 2:346-352.
97. Henter JI, Arico M, Elinder G, et al. Familial HLH. Primary hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Hematol Oncol Clin North Am* 1998; 12:417-33.

98. Rubio Barbon S, Gonzalez Garcia ME, Cienfuegos Basanta MC. Gonzalez Huerta AJ. Hemophagocytic syndrome. Study of 16 cases *Med Clin* 2009; 133:74-75
99. De Kerguenec C, Hillaire S, Molinie V, et al. Hepatic manifestations of hemophagocytic syndrome: a study of 30 cases. *Am J Gastroenterol* 2001; 96:852-57.
100. Nakatsuka A, Wada J, Nagase R, et al. Hemophagocytic syndrome associated with fatal veno-occlusive disease in the liver. *Inter Med* 2007; 46:495-499.
101. Buyse S, Teixeira L, Galicier L, et al. Critical care management of patients with HLH. *Intensive Care Med* 2010; 36:1695-1702.
102. Coman T, Dalloz MA, Coolen N, et al. Plasmapheresis for the treatment of acute pancreatitis induced by hemophagocytic syndrome related to hypertriglyceridemia. *J Clin Apher* 2003; 18:129-131.
103. Komp DM, MacNamara J, Buckley P. Elevated soluble interleukin-2 receptor in childhood hemophagocytic histiocytic syndromes, *Blood* 1989;73:2128-2132.
104. Schneider EM, Lorenz I, Muller-Rosenberger M, et al. HLH is associated with deficiencies of cellular cytotoxicity but normal expression of transcripts relevant to killer-cell-mediated apoptosis. *Blood* 2002; 8:2891-2898.
105. Henter JI, Elinder G, Soder O, et al. Hypercytonemia in FHL. *Blood* 1991; 78:2918-2922.

106. Jordan MB, Hildeman D, Kappler J, Marrack P. An animal model of HLH: CD8+ T cells and interferon gamma are essential for the disorder. *Blood* 2004; 104:735-743.
107. Kuriyama T, Takenaka K, Kohno K, et al. Engulfment of hematopoietic stem cells caused by down-regulation of CD47 is critical in the pathogenesis of HLH. *Blood* 2012; 120:4058-4067.
108. Jordan MB, Hildeman D, Kappler J, Marrack P. An animal model of hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH): CD8+ T cells and interferon gamma are essential for the disorder. *Blood* 2004; 104:735-743.
109. Stinchcombe J, Bossi G, Griffiths GM. Linking albinism and immunity: the secrets of secretory lysosomes. *Science* 2004; 305:55-59.
110. Stepp SE, Dufourcq-Lagelouse R, Le Deist F, et al. Perforin gene defects in familial HLH. *Science* 1999; 286:1957-1959.
111. Feldmann J, Callebaut I, Raposo G, et al. Munc13-4 is essential for cytolytic granules fusion and is mutated in a form of familial HLH (FHL3). *Cell* 2003; 115:461-473.
112. Zur Stadt U, Schmidt S, Kasper B, et al. Linkage of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis type-4 to chromosome 6q24 and identification of mutations of syntaxin 11. *Hum Mol Genet* 2005; 14:827-834
113. Ohadi M, Lalloz MR, Sham P, et al. Localization of the gene for familial HLH at chromosome 9q21.3-22 by homozygosity mapping. *Am J Hum Genet* 1999; 64:165-171.

- 114.Zur Stadt U, Beutel K, Kolberg S, et al. Mutation spectrum in children with primary hemophagocytic lymphohistiocytosis: molecular and functional analyses of PRF1, UNC13D, STX11, and RAB27A. *Hum Mutat* 2006;27:62-68.
- 115.Marsh RA, Satake N, Biroshak J, et al. STX11 mutations and clinical phenotypes of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis in North America. *Pediatr Blood Cancer* 2010; 1:134-140.
- 116.Menasche G, Pastural E, Feldmann J, et al. Mutations in RAB27A cause Griscelli syndrome associated with haemophagocytic syndrome. *Nat Genet* 2000; 25:173-176.
- 117.Coffey AJ, Brooksbank RA, Brandau O, et al. Host response to EBV infection in X-linked lymphoproliferative disease results from mutations in an SH2-domain encoding gene. *Nat Genet* 1998; 20:129-135.
- 118.Lehmberg K, Ehl S. Diagnostic evaluation of patients with suspected haemophagocytic lymphohistiocytosis. *Br J Haematol* 2013; 160:275-287.
- 119.Trottestam H, Berglof E, Horne A, et al. Risk factors for early death in children with HLH. *Acta Paediatr* 2011; 101:313-318.
- 120.Henter JI, Horne A, Arico M, et al. HLH-2004: Diagnostic and therapeutic guidelines for hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Pediatr Blood Cancer* 2007; 2:124-131.
- 121.Wada T, Muraoka M, Yokoyama T, et al. Cytokine profiles in children with primary Epstein-Barr virus infection. *Pediatr Blood Cancer* 2013;60: E46-8.

122.Hibi S, Ikushima S, Fujiwara F, et al. Serum and urine beta-2-microglobulin in hemophagocytic syndrome. *Cancer* 1995; 75:1700-1705.

123.Teruya-Feldstein J, Setsuda J, Yao X, et al. MIP-1alpha expression in tissues from patients with hemophagocytic syndrome. *Lab Invest* 1999; 79:1583-1590.

124.Emmeneger U, Schaer DJ, Larroche C, Neftel KA. Haemophagocytic syndromes in adults: current concepts and challenges ahead. *Swiss Med Wkly* 2005;135:299-314.

125.Horne A, Trottestam H Arico M, Egelaer RM, et al. Frequency and spectrum of central nervous system involvement in 193 children with HLH.*Br J Haematol* 2008;140:327-335.

126.Ravelli A, Grom AA, Behrens EM, Cron RQ. Macrophage activation syndrome as part of systemic juvenile idiopathic arthritis: diagnosis, genetics, pathophysiology and treatment. *Genes Immun* 2012; 13:289-298.

127.Lehmberg K, Pink I, Eulendurg C, et al. Differentiating macrophage activation syndrome in systemic juvenile idiopathic arthritis from other forms of HLH. *J Pediatr* 2013; 162:1245-1251.

128.Pagel J, Beutel K, Lehmberg K, et al. Distict mutations in STXBP2 are associated with variable clinical presentations in patients with familial hemophagocytic lymphohistiocytosis type 5 (FHL5). *Blood* 2012; 119:6016-6024.

129.Speckmann C, Lehmberg K, Albert MH, et al. X-linked inhibitor of apoptosis (XIAP) deficiency: the spectrum of preseting manifestations beyond hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Clin Immunol* 2013; 149:133-141.

130.Brycenson YT, Pende D, Maul-Pavicic A, et al. A prospective evaluation of

degranulation assays in the rapid diagnosis of familial hemophagocytic syndromes. *Blood* 2012; 119:2754-2763.

131. Jordan MB, Allen CE, Weitzman S, et al. How I treat HLH. *Blood* 2011; 115:4041-4052.

132. Zhang K, Jordan MB, March RA, et al. Hypomorphic mutations in PRF1, MUNC13-4, and STXBP2 are associated with adult-onset familial HLH. *Blood* 2011; 117:5794-5798.

133. March RA, Vaughn G, Kim MO, et al. Reduced-intensity conditioning significantly improves survival of patients with hemophagocytic lymphohistiocytosis undergoing allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood* 2010; 116:5824-5831.

134. Cooper N, Rao K, Gilmour K, et al. Stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning for HLH. *Blood* 2006; 107:1233-1236.

135. Mahlaoui N, Ouachee-charin M, De Saint Baasile G, et al. Immunotherapy of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis with antithymocyte globulins: a single-center retrospective report of 38 patients. *Pediatrics* 2007; 120:e622-8.

136. Chen RL, Lin KH, Lin DT, et al. Immunomodulation treatment for childhood virus-associated haemophagocytic lymphohistiocytosis. *Br J Haematol* 1995; 89:282-290.

137. Johnson TS, Terrell CE, Millen SH, et al. Etoposide selectively ablates activated T cells to control the immunoregulatory disorder HLH. *J Immunol* 2013; 192:84-91.

138.Jackson J, Titman P, Butler S, et al. Cognitive and psychosocial function post hematopoietic stem cell transplantation in children with HLH. *J Allergy Clin Immunol* 2013; 132:889-895.

139.Olin RL, Nichols KE, Naghashpour M, et al. Successful use of the anti-CD25 antibody daclizumab in an adult patient with HLH.*Am J Hematol* 2008; 83:747-749.

140.Jordan M, Locatelli F, Allen C et al. A novel targeted approach to the treatment of HLH with an anti-interferon gamma (IFN γ) monoclonal antibody (mAB) NI-0501: first results from a pilot phase 2 study in children with primary HLH. *Blood* 2015; 126:LBA-3.

141.Barrett DM, Teachey DT, Grupp SA. Toxicity management for patients receiving novel T-cell engaging therapies. *Curr Opin Pediatr* 2014; 26:43-49.

142.Chellapandian D, Das R, Zelle K, et al. Treatment of Epstein Barr Virus induced HLH with rituximab-containing chemoimmunotherapeutic regimens. *Br J Haematol* 2013; 162:376-382.

143.Castillo L, Carcillo J. Secondary HLH and severe sepsis, systemic inflammatory response syndrome, multiorgan dysfunction syndrome, macrophage activation syndrome, share common intermediate phenotypes on a spectrum of inflammation. *Pediatr Crit Care Med* 2009; 10:387-392.

144.Zhang M, Behrens EM, Atkinson TP et al. Genetic defects in cytolysis in macrophage activation syndrome. *Curr Opin Rheumatol* 2010; 22:561-566.

145.Kaufman KM, Linghu B, Szustakowski JD et al. Whole-exome sequencing reveals overlap between macrophage activation syndrome in systemic juvenile idiopathic arthritis and familial hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Arthritis Rheumatol* 2014; 66:3486-3495.

146.Bleesing J, Prada A, Siegel DM et al. The diagnostic significance of soluble CD163 and soluble interleukin-2 receptor alpha-chain in macrophage activation syndrome and untreated new-onset systemic juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheumatol* 2007; 56:965-971.

147.Grom AA, Mellins ED. Macrophage activation syndrome: advances towards understanding pathogenesis. *Curr Opin Rheumatol* 2010; 5:561-566.

148.Ravelli A, Grom AA, Behrens EM, Cron RQ. Macrophage activation syndrome as part of systemic juvenile idiopathic arthritis: diagnosis, genetics, pathophysiology and treatment. *Genes Immun* 2012; 4:289-298.

149.Janka GE. Familial and acquired hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Annu Rev Med* 2012; 63:233-246.

150.Jenkins MR, Rudd-Schmidt JA, Lopez JA, et al. Failed CTL/NK cell killing and cytokine hypersecretion are directly linked through prolonged synapse time. *J Exp Med* 2015; 3:307-317.

151.Behrens EM, Canna SW, Slade K, et al. Repeated TLR9 stimulation results in macrophage activation syndrome-like disease in mice. *J Clin Invest* 2011; 6:2264-2277.

152.Maude SL, Frey N, Shaw PA, et al. Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia. *N Engl J Med* 2014; 16:1507-1517.

153.Zhang M, Behrens EM, Atkinson TP, et al. Genetic defects in cytolysis in macrophage activation syndrome. *Curr Rheumatol Rep* 2014; 9:439-446.

154.Weaver LK, Behrens EM. Hyperinflammation, rather than hemophagocytosis, is the common link between macrophage activation syndrome and hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Curr Opin Rheumatol* 2014; 5:562-569.

155.Zhang L, Zhou J, Sokol L. Hereditary and aquired hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Cancer Contr* 2014; 4:301-312.

156.Davi S, Lattanzi B, Demirkaya E, et al. Toward the development of new diagnostic criteria for macrophage activation syndrome in systemic juvenile idiopathic arthritis. *Ann Pediatr Rheumatol* 2012; 1:1-7.

157.Behrens EM, Beukelman T, Paessler M, Cron RQ. Occult macrophage activation syndrome in patients with systemic juvenile idiopathic arthritis. *J Rheumatol* 2007; 5:1-8.

158.Bleesing J, Prada A, Siegel DM, et al. The diagnostic significance of soluble CD163 and soluble interleukin-2 receptor alpha-chain in macrophage activation syndrome and untreated new onset systemic juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum* 2007; 3:965-971.

159.Atteritano M, David A, Bagnato G, et al. Haemophagocytic syndrome in rheumatic patients. A systematic review. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2012; 10:1414-1424.

160.Parodi A, Davi S, Pringe AB, et al. Macrophage activation syndrome in juvenile systemic lupus erythematosus: a multinational multicenter study of thirty-eight patients. *Arthritis Rheum* 2009; 11:3388-3399.

161. Latino GA, Manlhiot C, Yeung RS, et al. Macrophage activation syndrome in the acute phase of Kawasaki disease. *J Pediatr Hematol Oncol* 2010; 7:527-531.
162. Daniels LB, Gordon JB, Burns JC. Kawasaki disease: late cardiovascular sequelae. *Curr Opin Cardiol* 2012; 6:572-577.
163. Dinarello CA. A clinical perspective of IL-1beta as the gatekeeper of inflammation. *Eur J Immunol* 2011; 5:1203-1217.
164. Lee Y, Schulte DJ, Shimada K, et al. Interleukin-1 beta is crucial for the induction of coronary artery inflammation in a mouse model of Kawasaki disease. *Circulation* 2012; 12:1542-1550.
165. Shafferman A, Birmingham JD, Cron RQ. High dose anakinra for treatment of severe neonatal Kawasaki disease: a case report. *Pediatr Rheumatol online J* 2014;12:26.
166. Zakia S, Hasbaoui B, Kili A, et al. Macrophage activation syndrome associated with griscelli syndrome type2: case report and review of literature. *Pan Afr Med J* 2018; 29:7
167. Minoia F, Davi S, Horne A, et al. Clinical features, treatment, and outcome of macrophage activation syndrome complicating systemic juvenile idiopathic arthritis: a multinational, multicenter study of 362 patients. *Arthritis Rheumatol* 2014; 11:3160-3169.
168. Nigrovic PA, Mannion M, Prince FH, et al. Anakinra as first-line disease-modifying therapy in systemic juvenile idiopathic arthritis: report of forty-six patients from an international multicenter series. *Arthritis Rheum* 2011; 2:545-555.

169.Efthimiou P, Kadavath S, Mehta B. Life-threatening complications of adult-onset Still's disease. *Clin Rheumatol* 2014; 3:305-314.

170.Castillo L, Carcillo J. Secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis and severe sepsis/systemic inflammatory response syndrome/multiorgan dysfunction syndrome/macrophage activation syndrome share common intermediate phenotypes on a spectrum of inflammation. *Pediatr Crit Care Med* 2009; 3:387-392.

171.Tothova Z, Berliner N. Hemophagocytic syndrome and critical illness: new insights into diagnosis and management. *J Intensive Care Med* 2015; 7:401-412.

172.Rogers JT, Andriotakis JL, Lacroix L, et al. Translational enhancement of H-ferritin mRNA by interleukin-1 beta acts through 5' leader sequences distinct from the iron responsive element. *Nucleic Acids Res* 1994; 13:2678-86.

173.Gorelic M, Fall N, Altaye M, et al. Follistatin-like protein-1 and the ferritin/erythrocyte sedimentation are potential biomarkers for dysregulated gene expression and macrophage activation syndrome in systemic juvenile idiopathic arthritis. *J Rheumatol* 2013; 7:1191-1199.

174.Henter JI, Home A, Arico M, et al. HLH-2004: Diagnostic and therapeutic guidelines for hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Pediatr Blood Cancer* 2007; 2:124-131.

175.Fardet L, Galicier L, Lambotte O, et al. Development and validation of a score for the diagnosis of reactive hemophagocytic syndrome (Hscore). *Arthritis Rheumatol* 2014; 9:2613-2620.

176.Hejblum G, Lambotte O, Galicier L, et al. A web based delphi study for eliciting helpful criteria in the positive diagnosis of hemophagocytic syndrome in adult patients. *Plos One* 2014; 7: e94024.

177.Jordan MB, Allen CE, Weitzman S, et al. How I treat hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood* 2011; 15:4041-4052.

178.Hadchouel M, Prieur AM, Griscelli C. Acute hemorrhagic, hepatic and neurologic manifestations in juvenile rheumatoid arthritis: possible relationship to drugs or infection. *J Pediatr* 1985; 4:561-566.

179.Stephan JL, Kone-Paut I, Galambrun C, et al. Reactive haemophagocytic syndrome in children with inflammatory disorders. A retrospective study of 24 patients. *Rheumatology (Oxford)* 2001; 40:11.

180.Chen RL, Lin KH, Lin DT, et al. Immunomodulation treatment for childhood virus associated HLH.*Br J Haematol* 1995; 2:282-290.

181.Henzan T, Nagafuji K, Tsukamoto H, et al. Succes with infliximab in treating refractory hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Am J Hematol* 2006; 1:59-61.

182.Prahalad S, Bove KE, Dickens D, et al. Etanercept in the treatment of macrophage activation syndrome. *J Rheumatol* 2001; 9:2120-2124.

183.Sterba G, Sterba Y, Stempel C, et al. Macrophage activation syndrome induced by etanercept in a patient with systemic sclerosis. *Isr Med Assoc J* 2010; 7:443-445.

184.Jordan MB, Hildeman D, Kappler J, Marrack P. An animal model of hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH):CD8+ T cells and interferon γ are essential for the disorder.*Blood* 2004;3:735-743.

185.Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3). *JAMA* 2016; 315: 801-810.

186.Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock: 2016. *Crit Care Med* 2017; 45:486-452.

187.Minoia F, Davì S, Horne A, et al. Clinical features, treatment, and outcome of macrophage activation syndrome complicating systemic juvenile idiopathic arthritis: a multinational, multicenter study of 362 patients. *Arthritis Rheumatol* 2014; 66:3160-3169.

188.Fardet L, Galicier L, Lambotte O, et al. Development and validation of the HScore, a score for the diagnosis of reactive hemophagocytic syndrome. *Arthritis Rheumatol* 2014; 66:2613-2620.

189.Shakoory B, Carcillo JA, Chatham WW, et al. Interleukin-1 receptor blockade is associated with reduced mortality in sepsis patients with features of macrophage activation syndrome: reanalysis of a prior phase III trial. *Crit Care Med* 2016; 44:275-281.

190.Kyriazopoulou E, Leventogiannis K, Norrby-Teglund A, et al. Macrophage activation-like syndrome: an immunological entity associated with rapid progression to death in sepsis. *BMC Med* 2017; 15:172.

191.Hotchkiss RS, Monneret G, Payen D. Immunosuppression in sepsis: a novel understanding of the disorder and a new therapeutic approach. *Lancet Infect Dis* 2013; 13: 260-268.

192.Monneret G, Lepape A, Voirin A, et al. Persisting low monocyte human leukocyte antigen-DR expression predicts mortality in septic shock. *Intensive Care Med* 2006; 32: 1175-1183.

193. Leentjens J, Kox M, Koch RM, et al. Reversal of immunoparalysis in humans in vivo: a double-blind, placebo-controlled, randomized pilot study. *Am J Respir Crit Care Med* 2012; 186: 838-845.
194. Calandra T, Cohen J. The international sepsis forum consensus conference on definitions of infection in the intensive care unit. *Crit Care Med* 2005; 33:1538-1548.
195. Venet F, Tissot S, Debard AL, et al. Decreased monocyte human leukocyte antigen-DR expression after severe burn injury: Correlation with severity and secondary septic shock. *Crit Care Med* 2007; 35:1910-1917.
196. Opal SM, Fisher CJ Jr, Dhainaut JF, et al. Confirmatory interleukin-1 receptor antagonist trial in severe sepsis: A phase III, randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter trial. *Crit Care Med* 1997; 25:1115-1124.
197. Allantaz-Frager F, Turrel-Davin F, Venet F, et al. Identification of biomarkers of response to IFN γ during endotoxin tolerance: application to septic shock. *PLoS One*. 2013; 8:e68218.
198. Döcke WD, Randow F, Syrbe U, et al. Monocyte deactivation in septic patients: restoration by IFN- γ treatment. *Nat Med* 1997; 3:678-681.
199. De Roquetaillade C, Dupuis C, Faivre V, et al. Monitoring of circulating monocyte HLA-DR expression in a large cohort of intensive care patients: relation with secondary infections. *Ann Intensive Care* 2022; 12:39
200. Payen D, Faivre V, Miatello J, et al. Multicentric experience with interferon gamma therapy in sepsis induced immunosuppression. A case series. *BMC Infect Dis* 2019; 19:931

201. Agache I, Akdis CA. Precision medicine and phenotypes, endotypes, genotypes, regiotypes, and theratypes of allergic diseases. *J Clin Invest* 2019; 129:1493-1503.

202. Davenport EE, Burnham KL, Radhakrishnan J, et al. Genomic landscape of the individual host response and outcomes in sepsis: a prospective cohort study. *Lancet Resp Med* 2016; 4:259-271.

203. Scicluna BP, van Vught LA, Zwinderman AH, et al. Classification of patients with sepsis according to blood genomic endotype: a prospective cohort study. *Lancet Respir Med* 2017; 5:816-82

