

**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΑΘΗΝΩΝ**

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

Δ΄ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

Διευθυντής: Καθηγητής Δ.Τ. ΜΠΟΥΜΠΑΣ

**ΓΕΝΕΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΥΠΡΙΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ
ΣΗΠΤΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΣΕ ΕΔΑΦΟΣ ΧΡΟΝΙΑΣ
ΝΕΦΡΙΚΗΣ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑΣ**

ΠΑΝΑΓΙΔΟΥ ΑΛΕΞΙΑ

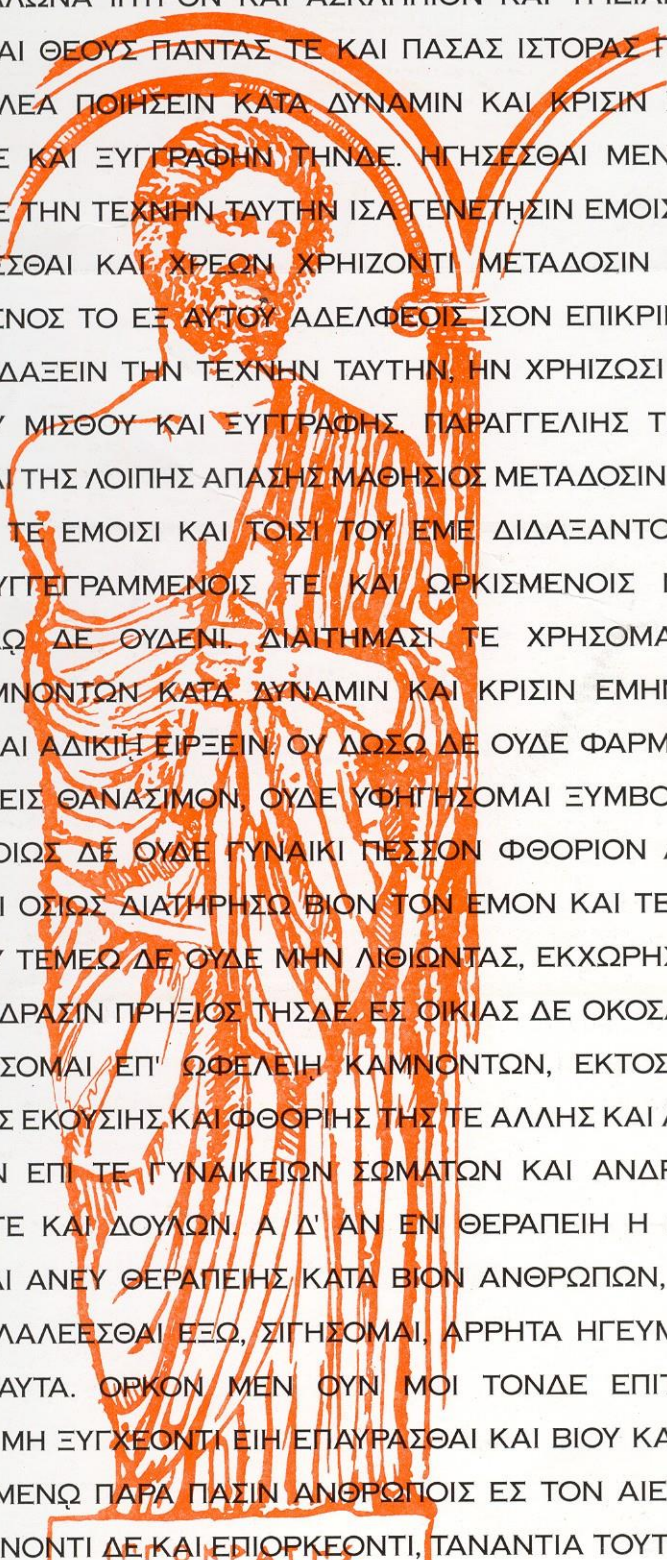
Παθολόγος - Νεφρολόγος

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΑΘΗΝΑ 2015

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 ΧΡΕΩΝ 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 ΩΡΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ ΙΗΤΡΙΚΩ, ΑΛΛΩ ΔΕ ΟΥΔΕΝΙ ΔΙΑΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ, ΕΠΙ ΔΗΛΗΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΗ ΕΙΡΕΕΙΝ. ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΣΙΜΟΝ, ΟΥΔΕ ΥΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΞΥΜΒΟΥΛΙΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ. ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ ΟΥΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΘΟΡΙΟΝ ΔΩΣΩ. ΑΓΝΩΣ ΔΕ ΚΑΙ ΟΣΙΩΣ 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, ΕΞΕΛΕΥΣΟΜΑΙ 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.

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

Ημερομηνία αίτησης έναρξης διδακτορικής διατριβής:	19.05.2009
Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:	29.06.2009
Ημερομηνία κατάθεσης θέματος και πρωτοκόλλου:	31.08.2009
Ημερομηνία κατάθεσης πρώτης έκθεσης προόδου:	21.10.2010
Ημερομηνία κατάθεσης δεύτερης έκθεσης προόδου:	26.02.2014
Ημερομηνία κατάθεσης τρίτης έκθεσης προόδου:	19.12.2014
Ημερομηνία κατάθεσης τέταρτης έκθεσης προόδου:	22.09.2015
Ημερομηνία κατάθεσης Διδακτορικής Διατριβής:	18.12.2015

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

Ε.Ι. Γιαμαρέλλος - Μπουρμπούλης	Αναπληρωτής Καθηγητής, Επιβλέπον μέλος ΔΕΠ
Ε. Γιαμαρέλλου	Καθηγήτρια
Ε. Κανελλακοπούλου	Καθηγήτρια

Πρόεδρος Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών: Πέτρος Σφηκάκης

Στους ανθρώπους που στιγμάτισαν ευχάριστα όλο το είναι μου:

Στον γιο μου Κυριάκο

Στο σύζυγο μου Χριστόφορο

Στους λατρευτούς μου γονείς

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	ΣΕΛΙΔΑ
ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ	1-2
ΠΡΟΛΟΓΟΣ	3
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
1. Πολυμορφισμοί ιντερλευκίνης-6 και η λειτουργική τους σημασία	5-12
2. Πολυμορφισμοί ιντερλευκίνης-6 και λοιμώξεις	
2α. Ηπατίτιδες	12-17
2β. Μικροβιακές λοιμώξεις	17-24
2γ. Παρασιτικές λοιμώξεις	24-27
3. Πολυμορφισμοί ιντερλευκίνης-6 και καρδιαγγειακά νοσήματα	27-32
4. Πολυμορφισμοί ιντερλευκίνης-6 και χρόνια νεφρική νόσος	32-40
5. Πολυμορφισμοί ιντερλευκίνης-6 και προωρότητα	40-41
6. Η σημασία της ιντερλευκίνης-6 στη χρόνια νεφρική νόσο	42-51
7. Πολυμορφισμοί άλλων κυτταροκινών και χρόνια νεφρική νόσος	51-58
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
Σχεδιασμός μελέτης	60-64
Εργαστηριακή μεθοδολογία	65-70
Στατιστική ανάλυση	71
Αποτελέσματα	71-82
Συζήτηση	83-86
Παράρτημα	87-89
Ελληνική περίληψη	90
Αγγλική περίληψη	91
Βιβλιογραφία	92-104

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

Ημερομηνία γέννησης:16.08.1972

Εγκύκλιες σπουδές: Λύκειο Κύκκου Β΄ Λευκωσία, Ιούνιος 1989,
Βαθμός:20/20

Ιατρικές σπουδές:1989-1996
Ιατρική Σχολή Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών
Βαθμός: Λίαν καλώς

Άσκηση: 9.1996-9.1997
Χειρουργική κλινική του Γ.Ν.Λάρνακας και παθολογική κλινική του
Γ.Ν.Λευκωσίας

Ειδικότητα στην Παθολογία: 1.1998-5.2003
Γενικό νοσοκομείο Λεμεσού: 12.01.1998-5.11.2000
Γενικό νοσοκομείο Λευκωσίας: 26.02.2001-12.05.2003

Απόκτηση τίτλου ειδικότητας στην Παθολογία: 2.12.2003, Ηράκλειο
Κρήτης

Ειδικότητα στη Νεφρολογία: 9.2003-9.2007
Γενικό νοσοκομείο Λευκωσίας

Απόκτηση τίτλου ειδικότητας στη Νεφρολογία: 26.03.2008, Ηράκλειο
Κρήτης

Επαγγελματική εμπειρία: Από 1.11.2006 διορισμός στη Νεφρολογική
κλινική Γ.Ν.Λευκωσίας ως Ιατρικός λειτουργός Α' τάξης

Παρούσα θέση: Μόνιμη θέση ως Ιατρικός λειτουργός Α΄ τάξης στη
Νεφρολογία στο Γενικό νοσοκομείο Λευκωσίας από 1.12.2011

Ξένες γλώσσες: Αγγλική. Επίπεδο GCEs O level

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

1. A.Panayides, A.Ioakeimidou, V.Karamouzos, N.Antonakos, I.Koutelidakis, G.Giannikopoulos, K.Makaritsis, N.Voloudakis, K.Toutouzas, N.Rovina, M.Bristianou, G.Damoraki, C.Routsis, E.J.Giamarellos-Bourboulis. -572G/C single nucleotide polymorphism of *interleukin-6* and sepsis predisposition in chronic renal disease. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2015;34:2439-2446
2. M.Arsali, A.Panayidou, Y.Athanasiou, K. Ioannou, A. Pierides. Ischemic acute kidney failure and tubulointerstitial nephritis with proteinuria from NSAID. A current, frequent and serious medical problem. *Hellen Nephrol* 2007; 19 (1): 58-72
3. Y.Athanasiou, A.Panayidou, M.Arsali, K.Demetriou, M.Zavros, F.Loukaides, A.Pierides. Acute renal failure in patients with 'Endemic typhi'. *Ιατρική Κύπρος* 2003 ;20
4. A. Pierides, A. Panayidou. Secondary hypertension. In the book: "Clinical presentation, investigation and treatment. Nephrological problems in medical practice".
5. M.Arsali, Y.Athanasiou, A.Panayidou, N.Papaminas, A.Pieridis. Πολλαπλούν μύελωμα με νεφρική προσβολή, 6 έτη μετά από επιτυχή θεραπεία για λευχαιμία από τριχωτά κύτταρα. *Ελληνική Νεφρολογία* 2006;18(1):65-70
6. A.Kourouklaris, K.Ioannou, I.Athanasiou, A.Panayidou, K.Demetriou, M.Zavros. Postpartum thrombotic microangiopathy revealed as atypical

haemolytic uremic syndrome successfully treated with eculizimab: a case report. *J Med Case Rep* 2014;8:307

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Κάθε 3,5 περίπου δευτερόλεπτα ένας άνθρωπος χάνει τη ζωή του συνεπεία σηπτικού συνδρόμου. Η βελτίωση της παρακολούθησης των ασθενών και οι ποικίλες ανοσοθεραπείες που έχουν χρησιμοποιηθεί τα τελευταία χρόνια δεν έχουν τα προσδοκώμενα αποτελέσματα. Η πιθανότερη εξήγηση είναι η πλημμελής κατανόηση των παθογενετικών μηχανισμών της νόσου. Ολοένα πληθαίνουν οι ενδείξεις ότι γενετικοί παράγοντες συμμετέχουν στη διαδικασία. Πολυμορφισμοί γονιδίων που κωδικοποιούν σημαντικούς μεσολαβητές φλεγμονής έχουν ενοχοποιηθεί και συσχετιστεί με τροποποίηση του κινδύνου ανάπτυξης, του φαινότυπου και της έκβασης του σηπτικού συνδρόμου.

Οι ασθενείς με χρόνια νεφρική νόσο και ιδιαίτερα αυτοί που βρίσκονται σε τελικό στάδιο παρουσιάζουν αυξημένη προδιάθεση για λοιμώξεις, λόγω καταστολής του ανοσοποιητικού τους συστήματος.

Κίνητρο για το σχεδιασμό της ανά χείρας μελέτης αποτέλεσε η ανάγκη ενίσχυσης των γνώσεων μας σε ότι αφορά την παθογένεια της σήψης στους ασθενείς με χρόνια νεφρική νόσο, προσδοκώντας σε μελλοντική λήψη μέτρων για πρόληψη και πιθανόν στοχευμένη θεραπεία.

Με την ολοκλήρωση του επιστημονικού αυτού έργου θα ήθελα να ευχαριστήσω από καρδιάς τον Αναπληρωτή Καθηγητή κύριο Ευάγγελο Γιαμαρέλλο-Μπουρμπούλη, επιβλέπον μέλος ΔΕΠ για την αμέριστη συμπαράσταση και καθοδήγηση του. Χωρίς τη δική του στήριξη θα ήταν αδύνατη η διεκπεραίωση της μελέτης αυτής. Αποτέλεσε για μένα το ιδανικό παράδειγμα επιστήμονα που συνδιάζει άψογα την κλινική ιατρική με την έρευνα με κεντρικό στόχο την προσφορά στον άνθρωπο.

Την Καθηγήτρια κυρία Ε.Γιαμαρέλλου και την Καθηγήτρια κα Κ.Κανελλακοπούλου, μέλη της τριμελούς Επιτροπής.

Επίσης ένα μεγάλο ευχαριστώ θα ήθελα να απευθύνω στα μέλη της Δ΄ Παθολογικής κλινικής, καθώς και στους επιστημονικούς συνεργάτες της. Ιδιαίτερες ευχαριστίες απευθύνω στην κυρία Γεωργία Δαμοράκη, η οποία αφιέρωσε πολύτιμο χρόνο προσπαθώντας να με μιήσει στο μαγικό κόσμο του Εργαστηρίου της Μοριακής Γενετικής, καθώς και στην κυρία Μαριάννα Γεωργίτση που πραγματοποίησε την ανοσοενζυμική μέθοδο μέτρησης των επιπέδων ιντερλευκίνης-6 στον ορό.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΗΣ- 6 ΚΑΙ Η ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΤΟΥΣ ΣΗΜΑΣΙΑ

Η ιντερλευκίνη-6 είναι μια πλειοτροπική κυτταροκίνη 23,7 kD η οποία διαδραματίζει σημαντικό ρόλο σε ένα ευρύ φάσμα χυμικών και κυτταρικών άνοσων αντιδράσεων, που αφορούν τόσο τη συγγενή όσο και την επίκτητη ανοσία. Το γονίδιο της ιντερλευκίνης-6 εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 7p 21 και περιλαμβάνει 5 εξώνια, 4 εσώνια και την περιοχή του εκκινήτη. (1, 2)

Παράγεται από μια πλειάδα κυττάρων, κυρίως ενεργοποιημένα μονοκύτταρα και μακροφάγα, Β και Τ λεμφοκύτταρα, αλλά και από ινοβλάστες, λιπώδη, μυϊκά, ενδοθηλιακά κύτταρα και οστεοβλάστες, ως αντίδραση σε διάφορα ερεθίσματα και αντιγόνα όπως κυτταροκίνες (TNF-α, IL-1α), βακτηριακές ενδοτοξίνες, ιογενείς λοιμώξεις, οξειδωτικό stress και σωματική άσκηση.(3-9) Υπάρχουν μελέτες που υποστηρίζουν ότι η IL-6 συντίθεται επίσης σε ουροεπιθηλιακά κύτταρα (10), νεφροσωληναριακά κύτταρα, (11) καθώς και σε μεσαγγειακά κύτταρα του νεφρικού σπειράματος (7,12).

Η IL-6 αποτελεί τον κύριο επαγωγέα της οξείας φάσης αντίδρασης στη φλεγμονή και της ηπατικής παραγωγής πρωτεϊνών οξείας φάσης, όπως της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP)(1). Αποτελεί σημαντικό παράγοντα στη μετάβαση από την οξεία φλεγμονή προς την επίκτητη ανοσία ή προς τη χρόνια φλεγμονώδη νόσο. Επάγει την ενεργοποίηση και πολλαπλασιασμό Τ κυττάρων, καθώς και τη διαφοροποίηση Β και Τ κυττάρων. (13) Ασκεί επίσης ρόλο στην αιμοποίηση, στην ογκογένεση και στην ενεργοποίηση οστεοκλαστών.(14) Παράλληλα ασκεί και αντιφλεγμονώδη δράση μειώνοντας την παραγωγή IL-1 και TNF-α και επάγοντας την παραγωγή ανταγωνιστών του υποδοχέα IL-1.(13,15)

Έναυσμα για τη δράση της IL-6 αποτελεί η σύνδεση της με τον υποδοχέα της, ο οποίος αποτελείται από 2 υποομάδες- γλυκοπρωτεΐνες που συνδέονται με τη μεμβράνη, την υποομάδα α (IL-6R) και την υποομάδα β (gp130). Και οι δύο αυτές τρانشμεμβρανικές πρωτεΐνες κυκλοφορούν επίσης στο πλάσμα ως διαλυτά μόρια. Η υποομάδα gp130 διαθέτει το απαραίτητο ενδοκυτταρικό τμήμα για τη μετάδοση του σήματος, ενώ η υποομάδα IL-6Rα στερείται ενδοκυτταρικό τμήματος και δε συμμετέχει ενεργά στη μετάδοση του. Υπάρχουν 2 οδοί-

μονοπάτια ενδοκυττάριας μετάδοσης του σήματος της IL-6: η κλασσική και η εναλλακτική οδός.

Η κλασσική οδός περιορίζεται στα κύτταρα που εκφράζουν και τις δύο μεμβρανικές υπομονάδες του υποδοχέα, όπως στα Β και Τ λεμφοκύτταρα, μονοκύτταρα και μακροφάγα, ουδετερόφιλα και ηπατοκύτταρα. Η έναρξη της κλασσικής οδού σηματοδοτείται με τη σύνδεσή της στον υποδοχέα IL-6R α , που οδηγεί στη μετάδοση σήματος ενδοκυττάρια για κινητοποίηση της φλεγμονώδους απάντησης. Η σύνδεση της IL-6 στον υποδοχέα περιλαμβάνει διαδοχικά στάδια. Αρχικά σχηματίζεται το ετεροδιμερές σύμπλεγμα IL-6 / IL-6R α και ακολουθεί η δημιουργία του τριμερούς συμπλέγματος IL-6 / IL-6R α / gp130. Στη συνέχεια δύο τριμερή συμπλέκονται μεταξύ τους σχηματίζοντας το δραστικό εξαμερές σύμπλεγμα που μεταδίδει το σήμα. Στα λοιπά κύτταρα, που δε διαθέτουν και τις δύο υποομάδες, η μετάδοση του σήματος αρχίζει με τη σύνδεση της IL-6 με τη διαλυτή μορφή της υποομάδας IL-6R α και σχηματισμό του διαλυτού διμερούς IL-6/sIL-6R α , που στη συνέχεια συνδέεται με το μεμβρανικό gp130 και σχηματίζεται το τριμερές IL-6/ IL-6R α / gp130. Ακολουθεί η ίδια διαδικασία με την κλασσική οδό, δηλαδή η συμπλοκή δύο τριμερών και ο σχηματισμός του δραστικού εξαμερούς συμπλέγματος που μεταδίδει το σήμα. (14,16-18) Ο σχηματισμός του εξαμερούς συμπλέγματος, είτε με την κλασσική είτε με την εναλλακτική οδό, πυροδοτεί τη σύνδεση των κινασών JAK, οι οποίες αυτοφωσφορυλιώνονται και στη συνέχεια φωσφορυλιώνουν τυροσίνες του ενδοκυττάριου τμήματος της gp130. Λόγω της φωσφορυλίωσης, το ενδοκυττάριο τμήμα της gp130 αποκτά την ικανότητα σύνδεσης με την πρωτεΐνη SHP-2, η οποία επάγει την οδό των MAP κινασών, αλλά και το μεταγραφικό παράγοντα STAT3, ο οποίος επάγει την οδό JAK/STAT. Ακολουθώντας οι οδοί JAK/STAT και MAP κινασών ευθύνονται για την κινητοποίηση ποικιλίας μεταγραφικών παραγόντων, οι οποίοι εισέρχονται στον πυρήνα, προσδένονται στους εκκινητές των γονιδίων που ρυθμίζονται από την IL-6 και επάγουν τη μεταγραφή τους. (4, 14, 16).

Οι συγκεντρώσεις της ιντερλευκίνης-6 στο πλάσμα διαφέρουν σημαντικά από άτομο σε άτομο, γεγονός που πιθανότατα οφείλεται, τόσο σε γενετικούς όσο και σε περιβαλλοντικούς παράγοντες. Η υπόθεση ότι πολυμορφισμοί στην περιοχή του εκκινητή της IL-6 επηρεάζουν τα επίπεδα της συγκεκριμένης κυτταροκίνης

στο πλάσμα, καθώς και την κλινική εικόνα και έκβαση νοσημάτων αποτέλεσε κίνητρο μελέτης για πολλούς επιστήμονες.(1,2,19) Πρώτοι οι Fishman και συν. (1988) μελέτησαν τον πολυμορφισμό στη θέση *IL-6-174G/C* του εκκινητή της *IL-6* και τη λειτουργικότητα του, δηλ. την πιθανή συσχέτιση του με τα επίπεδα της κυτταροκίνης στο πλάσμα, σε ασθενείς με συστηματική νεανική ιδιοπαθή αρθρίτιδα. Το C αλληλίο στη θέση *IL-6-174G/C* συσχετίστηκε με χαμηλότερα επίπεδα παραγωγής *IL-6*, σε σχέση με το G αλληλίο. Φορείς του γονότυπου GG παρουσίαζαν 2 φορές υψηλότερα επίπεδα *IL-6* στο πλάσμα σε σχέση με φορείς του γονότυπου CC και έτσι, ο γονότυπος GG συσχετίστηκε με τη νόσο (sJIA). Ο προστατευτικός γονότυπος CC ήταν σπανιότερος στους πάσχοντες σε σχέση με τους υγιείς.(20) Επιβεβαίωση της συσχέτισης αυτού του πολυμορφισμού στο γονίδιο της *IL-6* με τη συστηματική νεανική χρόνια αρθρίτιδα επιτεύχθηκε σε μελέτες οικογενειών πάσχόντων από το Ηνωμένο Βασίλειο και τις ΗΠΑ(21) .

Στο ερευνητικό εργαστήριο της PatriciaWoo και συν. ακολούθησαν και άλλες εργασίες σχετικές με τη λειτουργικότητα γενετικών πολυμορφισμών και τη συσχέτιση τους με νοσήματα. Έτσι, πολυμορφισμοί στην περιοχή του εκκινητή της *IL-6* συσχετίστηκαν με μικρότερου βαθμού συστηματική φλεγμονή σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο, καθώς και σε ασθενείς με ανεύρυσμα κοιλιακής αορτής.(19,22,23)

Μελετήθηκαν άνω των 30 πολυμορφισμών σε διάφορες θέσεις του εκκινητή της *IL-6*, όπως -174G/C -1363 G/T, -597 A/G,-572G/C καθώς και στο γονίδιο του υποδοχέα της *IL-6* (*IL-6R*), η λειτουργική σημασία των οποίων είναι αμφιλεγόμενη. Ο περισσότερο μελετημένος όμως, είναι ο πολυμορφισμός *IL-6-174G/C*, ο οποίος αποδείχτηκε ότι συσχετίζεται με ποικίλες κλινικές καταστάσεις.(2)

Έχει περιγραφεί μια πλειάδα νοσημάτων στα οποία τα επίπεδα *IL-6* στο πλάσμα είναι αυξημένα, όπως η νόσος Alzheimer, αθηροσκληρυνση, υπέρταση, καρδιαγγειακή νόσος, μη ινσουλινοεξαρτώμενος σακχαρώδης διαβήτης, σήψη, κακοήθεια.(1) Επίσης αυξημένα επίπεδα *IL-6* παρατηρούνται σε ασθενείς με αυτοάνοσα νοσήματα όπως συστηματικό ερυθρεμάτωδη λύκο και

ρευματοειδή αρθρίτιδα, σε διαβητική νεφροπάθεια, καθώς και σε ασθενείς τελικού σταδίου χρόνιας νεφρικής νόσου.(12,19, 24)

Τα επίπεδα IL-6 στο πλάσμα κυμαίνονται κατά τη διάρκεια του 24ώρου, σε υγιή άτομα, κατά συνέπεια, η ώρα της αιμοληψίας ενδέχεται να επηρεάζει το αποτέλεσμα. Δυστυχώς, σε καμία μελέτη στην οποία μετρούνται τα επίπεδα IL-6 δεν αναφέρεται η ακριβής ώρα συλλογής του δείγματος και ο χρόνος συντήρησης του. (19)

Η συχνότητα συγκεκριμένων πολυμορφισμών ποικίλει ανάλογα με τη φυλή. (1,19,25) Για παράδειγμα το C αλληλίο στη θέση IL-6 -174 απουσιάζει από τους Ιάπωνες, είναι σπάνιο στους Ασιάτες, ενώ παρουσιάζει υψηλή συχνότητα στους Ευρωπαίους και ιδιαίτερα στους Φινλανδούς. Στην Κίνα διαφορετικοί υποπληθυσμοί, παρουσιάζουν επίσης ποικιλία ως προς την υπεροχή αλληλίων της IL-6.(1) Στον υποπληθυσμό των Κινέζων Han, ο πολυμορφισμός -174 G/C, είτε δεν υπάρχει είτε είναι εξαιρετικά σπάνιος.(2) Ο πολυμορφισμός στη θέση -596G/A είναι επίσης πολύ σπάνιος στους Ασιάτες. Από την άλλη το G αλληλίο στη θέση -572 επικρατεί στους Καυκάσιους, ενώ το C αλληλίο είναι πιο συχνό στους Ασιάτες.(26,27)

Οι MinPan και συν μελέτησαν 3 διαφορετικούς πολυμορφισμούς στην περιοχή του εκκινήτη της IL-6: -174 G/C (rs1800795), -597 G/A (rs1800797) και -634 C/G (rs1800796) σε 232 υγιή άτομα σε μια περιοχή της νότιας Κίνας και τη συσχέτιση τους με τα επίπεδα στο πλάσμα της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης, ολικής χοληστερόλης, HDL, LDL και τριγλυκεριδίων. Επίσης, προσδιόρισαν τα επίπεδα στο πλάσμα της IL-6. Στη θέση -174 μόνο ένα άτομο ήταν φορέας του γονότυπου GC και κανένα του γονότυπου CC. Όλοι οι υπόλοιποι έφεραν τον αγρίου τύπου γονότυπο GG. Όσο αφορά τη θέση -597 κανένα άτομο από τα μελετηθέντα δεν παρουσίαζε τον πολυμορφισμό. Όλοι ήταν φορείς του γονότυπου GG. Στην θέση όμως -634 η συχνότητα των πολυμορφισμών ήταν η ακόλουθη: CC:59.48%, CG:37.07%, GG:3.45%. Παρατηρήθηκε ότι οι φορείς του γονότυπου CC είχαν χαμηλότερα επίπεδα στο πλάσμα hs-CRP και IL-6 σε σχέση με τους φορείς του αλληλίου G (CG, GG) ($p=0.0011$, $p=0.0240$ αντίστοιχα). Όσο αφορά τους λοιπούς παράγοντες δεν παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση ανάλογα με το γονότυπο. (1)

Οι FranciscoMendoza-Carrera και συν. μελέτησαν γενετικούς πολυμορφισμούς των: *CRP*+1444C/T, *IL-6* -174G/C και *TNF-α* -308G/A σε 418 Μεξικανούς εφήβους ηλικίας 14-19 ετών και τη συσχέτιση τους με τα επίπεδα στο πλάσμα της hs-CRP. Από τους συμμετέχοντες 27.2% ήταν υπέρβαροι ή παχύσαρκοι. Τα επίπεδα του CRP ήταν υψηλότερα στην ομάδα των υπέρβαρων ατόμων ($p=0.027$). Όσο αφορά τον πολυμορφισμό *IL-6*-174, οι φορείς του C αλληλίου CC, CG (το οποίο έχει αναγνωρισθεί από προηγούμενες μελέτες ως χαμηλής παραγωγής) συσχετίστηκαν με μικρότερα επίπεδα CRP στον ορό σε σχέση με φορείς του γονότυπου GG($p=0.005$). Η παρουσία του αλληλίου αυτού σε υπέρβαρα άτομα πιθανόν να ασκεί προστατευτική δράση στο επίπεδο της φλεγμονής και στην ανάπτυξη νοσημάτων που σχετίζονται με την παχυσαρκία, όπως σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, υπέρταση και καρδιαγγειακά επεισόδια. (3)

Η εργασία των Daniele Sirineu και συν. είχε ως στόχο τη μελέτη πολυμορφισμών γονιδίων, που κωδικοποιούν παράγοντες φλεγμονής και τη συσχέτιση τους με τα αποτελέσματα της φυσικής άσκησης σε ηλικιωμένα άτομα. Γνωρίζοντας ότι οι κυτταροκίνες δρουν αλληλεπιδρώντας μεταξύ τους μελέτησαν όχι μόνο τον κάθε πολυμορφισμό ξεχωριστά, αλλά και τη μεταξύ τους συσχέτιση. Στη μελέτη τους συμμετείχαν 451 γυναίκες άνω των 65 ετών με καθιστικό τρόπο ζωής. Αρχικά εκτιμήθηκε η φυσική τους κατάσταση. Στη συνέχεια οι γυναίκες κατανεμήθηκαν σε 2 ομάδες. Στην πρώτη ομάδα εντάχθηκαν γυναίκες που υποβλήθηκαν σε ασκήσεις μυϊκής ενδυνάμωσης, ενώ στη δεύτερη ομάδα σε αερόβιες ασκήσεις. Το πρόγραμμα είχε συνολική διάρκεια 10 εβδομάδων και περιελάμβανε 30 συνεδρίες με συχνότητα 3 φορές την εβδομάδα υπό επίτηρηση φυσιοθεραπευτή. Μελετήθηκαν οι ακόλουθοι πολυμορφισμοί: *TNF-α*-308G/A, *IL-6* -174G/C, *IL-10* -1082G/C και η συσχέτιση τους με τα επίπεδα στο πλάσμα των αντίστοιχων κυτταροκινών πριν και μετά την άσκηση, καθώς και με εκτίμηση της φυσικής τους κατάστασης. Δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά ανάμεσα στους γονότυπους της *IL-6* (GGvsCC+GC) με τα επίπεδα της *IL-6* στο πλάσμα, ή με τις λειτουργικές παραμέτρους ($p>0.05$). Δεν παρατηρήθηκε επίσης σημαντική συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού της *IL-6* στην επίδραση της άσκησης στη φυσική κατάσταση, ανεξάρτητα από τον τύπο της άσκησης. Διαφορετικά ήταν τα

αποτελέσματα, όταν μελετήθηκε η συσχέτιση της αλληλεπίδρασης ανάμεσα στους 3 πολυμορφισμούς και των αποτελεσμάτων της άσκησης (ανεξαρτήτως τύπου) στη φυσική κατάσταση των γυναικών. Γυναίκες με συνδυασμό των γονότυπων *TNF-α*GG (χαμηλής παραγωγής), *IL-6*CC+CG (χαμηλής παραγωγής), *IL-10*GG (υψηλής παραγωγής) παρουσίασαν μεγαλύτερη βελτίωση της φυσικής τους κατάστασης (TUGtest) με την άσκηση, ανεξαρτήτως τύπου, σε σύγκριση με άλλους γονότυπους ($p=0.001$). Συμπερασματικά, οι γυναίκες μεγάλης ηλικίας με συνδυασμό γονότυπων με αντιφλεγμονώδες προφίλ παρουσίασαν μεγαλύτερο ποσοστό βελτίωσης της φυσικής τους κατάστασης με την άσκηση. Έτσι γενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες, όπως η σωματική άσκηση αλληλεπιδρούν και οδηγούν σε βελτίωση φυσικής κατάστασης ηλικιωμένων γυναικών. (28)

Η συμμετοχή της *IL-6* στην παθογένεια της μετατραυματικής σήψης είναι γνωστή. Η συσχέτιση όμως πολυμορφισμών της *IL-6* με τον κίνδυνο ανάπτυξης μετατραυματικής σήψης, καθώς και την κλινική έκβαση, ασαφής. Έτσι οι WeiGu και συν. μελέτησαν 3 πολυμορφισμούς (-174G/C, -572 C/G, -597 G/A) σε 105 ασθενείς που παρουσίασαν μείζον τραύμα και 348 υγείς στον Κινέζικο υποπληθυσμό Han. Μελέτησαν την πιθανή συσχέτιση τους με τα επίπεδα της *IL-6* στο πλάσμα, καθώς και την ανάπτυξη επιπλοκών και κυρίως μετατραυματικής σήψης. Δεν υπήρχαν διαφορές σε ηλικία, φύλο ή βαθμό σοβαρότητας του τραύματος ανάμεσα στους ασθενείς. Οι 2 από τους 3 πολυμορφισμούς (-174 G/C και -597 G/A) δεν απομονώθηκαν στον συγκεκριμένο πληθυσμό. Απομονώθηκε όμως ο πολυμορφισμός στη θέση -572 C/G. Για να διερευνηθεί η κλινική σημασία του πολυμορφισμού αυτού, μετρήθηκαν τα επίπεδα *IL-6* στο εναιώρημα μετά από εχνίνο ενεργοποίηση των περιφερικών λευκοκυττάρων ασθενών και υγιών (με διαφορετικούς γονότυπους) με λιποπολυσακχαρίδη (LPS). Η παρουσία του G αλληλίου συσχετίστηκε με χαμηλότερα επίπεδα *IL-6* στο πλάσμα σε σχέση με τους φορείς του C αλληλίου. Τα επίπεδα *IL-6* ήταν σημαντικά μικρότερα στους φορείς του γονότυπου GG ($p=0.015$) και του γονότυπου GC ($p=0.034$) σε σχέση με φορείς του γονότυπου CC. Επίσης, επιβεβαιώθηκε ότι η παρουσία του πολυμορφισμού αυτού ήταν άμεσα υπεύθυνη για την παραγωγή της *IL-6* και ότι δεν οφειλόταν σε πιθανούς άλλους πολυμορφισμούς που βρίσκονταν σε

απουσία ισορροπίας με αυτόν. Η παρουσία του G αλληλίου συσχετίστηκε με μικρότερο κίνδυνο ανάπτυξης μετατραυματικής σήψης σε σχέση με φορείς του γονότυπου CC (CC vs CG, $p=0.04$), (CC vs GG, $p=0.007$) και μικρότερου βαθμού σοβαρότητα του σηπτικού συνδρόμου. Επίσης, παρατηρήθηκε κάποια συσχέτιση του με μικρότερο ποσοστό πολυοργανικής ανεπάρκειας, αλλά όχι σε στατιστικά σημαντικό βαθμό. Ο πολυμορφισμός αυτός εντοπίστηκε τόσο σε Δυτικούς πληθυσμούς, όσο και σε Κινέζικους παρόλο που το κυρίαρχο και το έλασσον αλληλίο είναι αντίθετα. Έτσι το έλασσον αλληλίο στη Δύση είναι το C (G-572-C) με συχνότητα 5%, ενώ στους Κινέζους το G (C-572-G) με συχνότητα >20% (2).

Μία άλλη κλινική οντότητα στην οποία οι προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο είναι το σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου. Είναι μια πολυπαραγοντική νόσος του γαστρεντερικού συστήματος, που χαρακτηρίζεται από υποτροπιάζοντα επεισόδια κοιλιακού άλγους και μεταβολή των συνηθειών του εντέρου. Η ακριβής αιτία του συνδρόμου δεν είναι σαφής, ωστόσο έχουν ενοχοποιηθεί πολλοί παράγοντες. Έχει παρατηρηθεί οικογενειακή προδιάθεση στη νόσο, γεγονός που ενισχύει την πιθανότητα συμμετοχής γενετικών παραγόντων στην παθογένεια της. Οι Elham Barkhordari και συν. γνωρίζοντας τη συμμετοχή των προφλεγμονωδών κυτταροκινών στην παθογένεια του συνδρόμου ευερέθιστου εντέρου μελέτησαν πολυμορφισμούς γονιδίων, που κωδικοποιούν τις κυτταροκίνες αυτές. Στη μελέτη τους έλαβαν μέρος 71 ασθενείς με τη νόσο και 140 υγιείς, σε νοσοκομείο του Ιράν. Μελετήθηκαν διάφοροι πολυμορφισμοί φλεγμονωδών κυτταροκινών μεταξύ των οποίων και οι: *IL-6* (-174C/G, nt565A/G). Η συχνότητα του G αλληλίου στη θέση *IL-6* -174 ήταν σημαντικά μεγαλύτερη στην ομάδα των ασθενών (79%) σε σχέση με τους υγιείς(63%),($p=0.002$). Ο γονότυπος της *IL-6*-174GG παρατηρήθηκε σε μεγαλύτερο ποσοστό στους πάσχοντες(66%) από ότι στους υγιείς(30%), ($p=0.001$), ενώ ο γονότυπος *IL-6* -174CG παρουσίαζε σημαντικά μικρότερη συχνότητα στους ασθενείς (26%) σε σχέση με τους μάρτυρες(67%) ($p<0.001$). Επίσης ο απλότυπος GG της *IL-6* (-174, nt565) παρατηρήθηκε σε μεγαλύτερη συχνότητα στους πάσχοντες(79%) από ότι στους υγιείς (62%)($p<0.001$), ενώ αντίθετα ο απλότυπος CG της *IL-6* (-174, nt565) σε μικρότερη συχνότητα στους πάσχοντες(2%), σε σχέση με τους

υγιείς(20%),($p<0.001$). Η μελέτη αυτή συνέβαλε στην προσπάθεια κατανόησης της παθογένειας της νόσου, καθώς πολυμορφισμοί γονιδίων που κωδικοποιούν προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες, ανάμεσα τους και η *IL-6* τροποποιούν την πιθανότητα-κίνδυνο να νοσήσει ένα άτομο. (13)

2.ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΗΣ-6 ΚΑΙ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ.

Οι λοιμώξεις, ακόμα και σήμερα εξακολουθούν να αποτελούν μια από τις σημαντικότερες αιτίες θνητότητας παγκόσμια. Το ευρύ φάσμα κλινικών εκδηλώσεων τους κέντρισε το ενδιαφέρον εκατοντάδων επιστημόνων, που θέλησαν να διεισδύσουν σε βαθύτερα μονοπάτια στην κατανόηση της παθογένειας της νόσου και να επιβεβαιώσουν τις υποψίες για τη συμμετοχή γενετικών πολυμορφισμών φλεγμονωδών κυτταροκινών. Τα ευρήματα, ιδιαίτερα ενδιαφέροντα, κυρίως στο πεδίο μελέτης των ηπατιτίδων, μικροβιακών, αλλά και παρασιτικών λοιμώξεων.

A. ΗΠΑΤΙΤΙΔΕΣ

Οι ηπατίτιδες παρουσιάζουν μεγάλη διαφοροποίηση ως προς την κλινική εκδήλωση και την έκβαση τους. Έχουν γίνει ενδιαφέρουσες προσπάθειες καλύτερης κατανόησης της παθογένειας της νόσου, μελετώντας πολυμορφισμούς γονιδίων που κωδικοποιούν φλεγμονώδεις παράγοντες, η παρουσία των οποίων δυνατόν να τροποποιεί το φαινότυπο της νόσου.

Η ηπατίτιδα C είναι μια από τις συχνότερες αιτίες ηπατικής νόσου, με 180 εκατομμύρια χρόνιους φορείς παγκόσμια.(4) Αποτελεί την κύρια αιτία χρόνιας ηπατικής νόσου στις Δυτικές κοινωνίες.(16) Η λοίμωξη από τον ιό ηπατίτιδας C δυνατό να οδηγήσει σε ποικιλία κλινικών συνδρόμων, από ήπια ηπατική βλάβη, έως κίρρωση και ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα.(4,16,29) Διάφοροι παράγοντες έχει διαπιστωθεί ότι διαδραματίζουν ρόλο στην εξέλιξη της νόσου, όπως η διάρκεια της λοίμωξης, το άρρεν φύλο, η φυλή, η κατανάλωση αλκοόλ, η όψιμη ηλικία κατά τη μόλυνση και η αντίσταση στην ινσουλίνη. Επίσης το στέλεχος του ιού και η συν-λοίμωξη από άλλους ιούς όπως ο HIV επηρεάζουν την

πρόγνωση.(29-32) Οι παράγοντες αυτοί δεν μπορούν από μόνοι τους να δικαιολογήσουν την ποικιλία στην κλινική έκφραση της νόσου. Ολοένα και περισσότερο ενισχύεται η άποψη συμμετοχής γενετικών παραγόντων στην παθογένεια. Διάφοροι πολυμορφισμοί έχουν κατά καιρούς μελετηθεί με αντικρουόμενα αποτελέσματα. Ανάμεσα σε αυτούς και πολυμορφισμοί σε γονίδια κυτταροκινών, όπως *IL-6*, *IL-1*, καθώς είναι γνωστό ότι οι κυτταροκίνες παράγονται σε μεγάλο ποσοστό στην ηπατίτιδα C από μακροφάγα στο ήπαρ και συμμετέχουν ενεργά στη φλεγμονώδη διαδικασία και τη βλάβη του οργάνου. (34)

Μελέτες που διερευνούν πιθανή συσχέτιση πολυμορφισμών στο γονίδιο της *IL-6* με την ανάπτυξη ηπατίτιδας C και ακολούθως με την πορεία-εξέλιξη της νόσου παρουσιάζονται στον πίνακα 1. (4, 16, 29, 35, 36)

Η χρόνια λοίμωξη από τον ιό ηπατίτιδας B είναι συχνή νόσος, με προσβολή του 5% του πληθυσμού της γης. Πάνω από 2 δισεκατομμύρια άτομα έχουν έρθει σε επαφή με τον ιό, και 350-400 εκατομμύρια έχουν αναπτύξει χρόνια νόσο. Η οξεία λοίμωξη παρουσιάζει ευρύ φάσμα κλινικής έκφρασης, που κυμαίνεται από την ασυμπτωματική μορφή μέχρι τη βαριά ικτερική μορφή και σε λίγες περιπτώσεις την κεραυνοβόλο. Η εξέλιξη της οξείας λοίμωξης επίσης ποικίλει από αυτόματη ύφεση έως χρόνια επιμένουσα λοίμωξη, η οποία δυνατόν να εξελιχθεί σε κίρρωση ήπατος ή ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα. Η μεγάλη αυτή διαφοροποίηση ως προς την πορεία της νόσου, ενισχύει έντονα το γενετικό υπόστρωμά της. Αποτέλεσε λοιπόν ένα ενδιαφέρον κίνητρο προς μελέτη γενετικών πολυμορφισμών φλεγμονωδών κυτταροκινών που συμμετέχουν στην παθογένεια της νόσου.(27)

Μελέτες που ασχολήθηκαν με πιθανή συσχέτιση πολυμορφισμών στο γονίδιο της *IL-6* με τον κίνδυνο ανάπτυξης, την έκφραση και εξέλιξη της ηπατίτιδας B παρουσιάζονται στον πίνακα 2.(26, 27)

Στην εργασία των Shengli Tang και συν. εκτός από το γονοτυπικό έλεγχο, έγινε υπολογισμός των επιπέδων της ιντερλευκίνης-6 στον ορό με ανοσοενζυμική μέθοδο (ELISA). Παρατηρήθηκαν σημαντικά αυξημένες συγκεντρώσεις ιντερλευκίνης-6 στον ορό στις ομάδες ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα B HBV (CHB), κίρρωση ήπατος (LC) και ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα

(HCC) σε σχέση με τους υγιείς. Οι τιμές αντίστοιχα ήταν οι ακόλουθες : $(3.58 \pm 1.39 \text{ pg/ml vs } 1.15 \pm 0.59 \text{ pg/ml, } p=0.034)$, $(13.38 \pm 2.72 \text{ pg/ml vs } 1.15 \pm 0.59 \text{ pg/ml, } p<0.001)$, $(17.81 \pm 3.86 \text{ pg/ml vs } 1.15 \pm 0.59 \text{ pg/ml, } p<0.001)$. Επίσης έγινε σύγκριση τιμών IL-6 στον ορό στις διάφορες ομάδες ασθενών. Τα επίπεδα ήταν σημαντικά μεγαλύτερα στους ασθενείς με HCC και LC σε σύγκριση με αυτούς με CHB. $(17.81 \pm 3.86 \text{ pg/ml vs } 3.58 \pm 1.39 \text{ pg/ml, } p<0.001)$, $(13.38 \pm 2.72 \text{ pg/ml vs } 3.58 \pm 1.39 \text{ pg/ml, } p<0.001)$ αντίστοιχα. Επιπλέον υπήρχε μεγαλύτερη έκφραση IL-6 στους ασθενείς με HCC σε σύγκριση με αυτούς σε LC $(17.81 \pm 3.86 \text{ pg/ml vs } 13.38 \pm 2.72 \text{ pg/ml, } p=0.039)$. Μια άλλη αξιόλογη παρατήρηση ήταν ότι τα επίπεδα έκφρασης της IL-6 ήταν μεγαλύτερα όσο πιο προχωρημένο ήταν το στάδιο του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος. Τιμές σε τελικό στάδιο (D) HCC: $23.85 \pm 6.79 \text{ pg/ml vs } 7.89 \pm 1.63 \text{ pg/ml}$ σε στάδια A και B, $p=0.024$. Το γεγονός αυτό αποδεικνύει τη σημασία της ιντερλευκίνης-6 στην παθοφυσιολογία της λοίμωξης.(27)

ΠΙΝΑΚΑΣ1.ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ IL-6 ΜΕ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ C

ΒΙΒΛ.	ΜΕΛΕΤΗΘΗΣ SNP	ΠΛΗΘΥΣΜΟΙ	ΚΥΡΙΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ
4	-1363G/T -597G/A -572G/C -174G/C +2954G/C	424 Καυκάσιοι ασθενείς με χρόνια Ηπατίτιδα C (HCV) και 344 μάρτυρες-υγιείς (Ιταλία)	<p>Μετά πολυπαραγοντική ανάλυση, διαπιστώθηκε ότι μόνο ο -174 SNP συσχετίστηκε με τη HCV λοίμωξη, ανεξάρτητα από ηλικία και φύλο($p<0.02$). (OR: 1.85,95%CI:1.13-3.04 για τον CG γονότυπο και 2.02, 95%CI:1.23-3.30 για τον GG γονότυπο)</p> <p><u>Ανάλυση συχνότητας διπλότυπων στις θέσεις -597G/A και -174G/C :</u></p> <p>Συχνότητα διπλότυπου G-G (υψηλής παραγωγής=HP) 59.3% στους ασθενείς vs 40.7% στους μάρτυρες ($p<0.01$)</p> <p>Συχνότητα διπλότυπου A-C (χαμηλής παραγωγής=LP) 42.7% στους ασθενείς vs57.3% στους μάρτυρες ($p<0.01$)</p> <p>Το Ishak staging score>2 συσχετίστηκε με την αλληλεπίδραση του άρρενος φύλου με τον διπλότυπο GG (υψηλής παραγωγής). Συχνότητα άρρενων ασθενών με GGδιπλότυπο και Ishak staging score>2: 30.2% vs Ishak staging score≤ 2: 18.8% ($p<0.005$). Επιβεβαίωση και στην πολυπαραγοντική ανάλυση.</p>
16	-1363G/T -597G/A -572G/C -174G/C +2954G/C	121 Καυκάσιοι , ασθενείς μεHCV, με επιμένουσες φυσιολογικές τιμές αμινοτρανσφερασών (PNALT) και αρχική βιοψία ήπατος με Ishakstaging score ≤4 (Ιταλία)	<p>Συχνότητα -174 Γαλληλίου στους ασθενείς με επιδείνωση >1 βαθμό στο Ishak grading score:79.2% vs 67.2% στους ασθενείς με επιδείνωση ≤1 βαθμό ($p=0.036$).</p> <p>Συχνότητα -174 Γαλληλίου στους ασθενείς με επιδείνωση >1 βαθμό στο Ishak staging score: 84.6% vs 70% στους ασθενείς με επιδείνωση ≤1 βαθμό ($p=0.035$). Καλλήλιο - προστατευτική δράση.</p> <p>Συχνότητα -572 Καλληλίου στους ασθενείς με επιδείνωση >1 βαθμό στο Ishak staging score :13.5% vs 4.7%% στους ασθενείς με επιδείνωση ≤1 βαθμό ($p=0.025$).</p> <p>Συσχέτιση SNP -174G/Cμε εξέλιξη της νόσου ≥ 2 βαθμούς σύμφωνα με το Ishak grading score ($p=0.047$).</p> <p>Συσχέτιση SNP -174G/C και -572G/C με την εξέλιξη της νόσου νόσου ≥ 2 βαθμούς σύμφωνα με το Ishak</p>

			<p>staging score ($p=0.062$ και $p=0.045$ αντίστοιχα).</p> <p>Στην πολυπαραγοντική ανάλυση ,(με συμμετοχή διαφόρων κλινικών και εργαστηριακών μεταβλητών) το αλληλίο -174G συσχετίστηκε ανεξάρτητα με επιδείνωση νόσου ≥ 2 βαθμούς σύμφωνα με το Ishak grading score ($p=0.023$), ενώ το αλληλίο -572C με επιδείνωση ≥ 2 βαθμούς στο Ishak staging score ($p=0.012$).</p>
29	-174G/C (rs1800795)	606 Καυκάσιοι ασθενείς με HCV που έλαβαν αγωγή με ιντερφερόνη. (Ην. Βασίλειο)	Δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση γονότυπων με την αρνητικοποίηση του HCV-RNA.
35	-174G/C (rs1800795)	92 γυναίκες με επιμένουσα HCV και 66 γυναίκες με αυτόματη κάθαρση του ιού -μάρτυρες (Ιρλανδία)	<p>Συχνότητα γονότυπου CC στους ασθενείς (LP) 12% vs 27.3% στους μάρτυρες ($p=0.02$).</p> <p>Συχνότητα γονότυπων G+GC (HP) στους ασθενείς 88% vs 72.7% στους μάρτυρες ($p=0.02$).</p>
36	rs1880242 rs2056576 rs2069827 rs1800797 rs1800796 rs1800795 rs2069830 rs2069837 rs1554606 rs2069845	487 χρόνια φορείς HCV (αφροαμερικανοί και καυκάσιοι) σε αγωγή με ιντερφερόνη (SVR= αρνητικοποίηση HCV-RNA 6 μήνες μετά τη διακοπή της αγωγής με ιντερφερόνη)	<p>Οι ακόλουθες παρατηρήσεις σημειώθηκαν μόνο στην ομάδα των Καυκάσιων ασθενών:</p> <p>Συχνότητα του απλότυπου TTGGGGCAGA στους ασθενείς με SVR 30.9% vs 41.1% στους ασθενείς χωρίς SVR ($p=0.0261$).</p> <p>Συχνότητα ασθενών χωρίς SVR που έφεραν τον απλότυπο rs1800797(G)rs1800796(G)rs1800795(G) 57% vs 43% των μη φορέων του απλότυπου ($p=0.0081$). Αυτό επιβεβαιώθηκε και στην πολυπαραγοντική ανάλυση ($p=0.0489$)</p> <p>Συχνότητα ασθενών χωρίς SVR που έφεραν τον απλότυπο rs1800796(G)-rs1800795(G)-rs2069830(C) 58% vs 42% των μη φορέων ($p=0.0065$).</p>

Πίνακας 2. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ *IL-6* ΜΕ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β

26	-572C/G (rs1800796)	900 ασθενείς με HBV (Υποπληθυσμός Han- Κίνα)	Συχνότητα CG και GGγονότυπου στους άρρενες ασθενείς με HCC:36%και 3.9% vs 28.6% και 1.4% στους μη πάσχοντες από HCC (p=0.039 και p=0.042 αντίστοιχα) . Συχνότητα Gaλληλίου στους άρρενες ασθενείς με HCC :21.9% vs 15.7% στους μη πάσχοντες από HCC (p=0.009).
27	-572 C/G (rs1800796)	641 ασθενείς με HBV και 265 μάρτυρες-υγιείς (Υποπληθυσμός Han-Κίνα)	Ο SNP δε συσχετίστηκε με την εξέλιξη της HBV.

B. ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΕΣ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ

Η σήψη ορίζεται ως η συστηματική φλεγμονώδης απάντηση σε λοίμωξη από βακτήρια, αλλά και ιούς, μύκητες ή παράσιτα λόγω ανεπάρκειας ενεργοποίησης του ανοσοποιητικού συστήματος. Μπορεί να οδηγήσει σε πολυοργανική ανεπάρκεια με αυξημένη θνητότητα. Αποτελεί την κύρια αιτία θανάτου σε μονάδες εντατικής θεραπείας. Παρά την σημαντική ενίσχυση των γνώσεων μας σε σχέση με την παθογένεια της σήψης και τη χρήση νέων φαρμάκων, η θνητότητα δεν έχει παρουσιάσει σημαντική μείωση την τελευταία δεκαετία. Το ποσοστό θνητότητας από σοβαρή σήψη, σηπτική καταπληξία και πολυοργανική ανεπάρκεια είναι ιδιαίτερα υψηλό 30-50%.⁽³⁷⁾ Η σοβαρή σήψη αποτελεί επίσης την κυριότερη αιτία θανάτου στα παιδιά. Έχει βέβαια επιτευχθεί σημαντική μείωση της θνητότητας από σήψη στα παιδιά τις προηγούμενες δεκαετίες.

Ενδεικτικά η θνητότητα των παιδιών από σήψη στις ΗΠΑ το 1966 πλησίαζε το 97%, ενώ το 1995 το 10.3% .(37)

Η IL-6 διαδραματίζει ουσιαστικό ρόλο στην παθογένεια και την έκβαση του σηπτικού συνδρόμου, με την αύξηση των επιπέδων της στο πλάσμα να έχει συσχετιστεί με αύξηση της θνητότητας. (15, 37,38)

Το γεγονός ότι το ποσοστό θνητότητας από σήψη εξακολουθεί να είναι μεγάλο, μας οδηγεί στην υπόθεση ότι πιθανότατα υπάρχει ισχυρό γενετικό υπόστρωμα που συμμετέχει στην παθοφυσιολογία της νόσου ποικιλοτρόπως.(37) Διάφοροι ερευνητές ασχολήθηκαν με την πιθανή συμμετοχή μονήρων γονιδιακών πολυμορφισμών, περισσότερο δε με τον -174 G/C, τα αποτελέσματα όμως ήταν αντιφατικά, έτσι δεν έχει επακριβώς διευκρινιστεί ο ρόλος τους στην ανάπτυξη του σηπτικού συνδρόμου.

Η συσχέτιση ή όχι των μελετηθέντων πολυμορφισμών της IL-6 με την προδιάθεση για ανάπτυξη σήψης, την εκδήλωση και έκβαση του σηπτικού συνδρόμου παρουσιάζεται στον πίνακα 3. (15,17,37-47)

Σε κάποιες μελέτες, παράλληλα με το γονοτυπικό έλεγχο, υπολογίστηκαν τα επίπεδα ιντερλευκίνης-6 στον ορό και διερευνήθηκε πιθανή συσχέτιση τους με διαφορετικούς γονότυπους.

Στην εργασία των J.J.WTischendorf και συν. υπολογίστηκαν τα επίπεδα IL-6 στον ορό σε 61 ασθενείς με σοβαρή σήψη πριν προηγηθεί οποιοσδήποτε θεραπευτικός χειρισμός, καθώς και η ex vivo απέκκριση IL-6 από λευκοκύτταρα του περιφερικού αίματος μετά από ενεργοποίηση με LPS. Στη συνέχεια διερευνήθηκε πιθανή συσχέτιση με τους γονότυπους των ασθενών στη θέση -174 G/C. Τα επίπεδα IL-6 στον ορό ήταν μεγαλύτερα σε ασθενείς με τον GG γονότυπο (μέση τιμή:2209 pg/ml), ακολουθούμενα από τον GC γονότυπο (μέση τιμή: 1113 pg/ml). Τα μικρότερα επίπεδα παρατηρήθηκαν σε φορείς του CC γονότυπου (μέση τιμή :256 pg/ml). Δεν παρατηρήθηκαν όμως στατιστικά σημαντικές διαφορές. Όσον αφορά την ex vivo έκκριση IL-6, η μέση τιμή των επιπέδων στους ασθενείς με GG γονότυπο ήταν 276 pg/ml, ενώ στους φορείς του γονότυπου GC και CC ήταν σημαντικά μεγαλύτερη (535 pg/ml και 555 pg/ml) ($p=0.005$). Ενώ παρατηρήθηκε συσχέτιση γονότυπων με την ex vivo

έκκριση IL-6, δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση των επιπέδων αυτών με την ανάπτυξη σηπτικής καταπληξίας και την επιβίωση των ασθενών. Σημαντική παρατήρηση στη μελέτη αυτή είναι η αντίστροφη συσχέτιση των επιπέδων IL-6 στον ορό και των επιπέδων ex vivo έκκρισης με τους γονότυπους στην περιοχή -174 του εκκινήτη της IL-6. Η παρατήρηση αυτή επιβεβαιώνει τον πολύπλοκο μηχανισμό έκφρασης της IL-6 κατά τη διάρκεια της σηπτικής καταπληξίας, ο οποίος καθορίζεται σε σημαντικό βαθμό από γενετικούς παράγοντες.(38)

Στη μελέτη των Schluter και συν. τα επίπεδα IL-6 συσχετίστηκαν στενά με την έκβαση του σηπτικού συνδρόμου ($p < 0.001$), αλλά δε συσχετίστηκαν με τους διαφορετικούς γονότυπους στη θέση -174 G/C της IL-6. (39)

Στην εργασία των A.Palumbo και συν. υπολογίστηκαν επίσης τα επίπεδα IL-6 στον ορό σε 50 ασθενείς με έγκαυμα 15-80% της επιφάνειας σώματος και 79 μάρτυρες-υγιείς. Η μέση τιμή των επιπέδων της IL-6, ήταν σημαντικά αυξημένη στους εγκαυματίες την 3^η ημέρα νοσηλείας σε σχέση με τους υγιείς (175 vs 7.6 pg/ml, $p < 0.0001$). Τα επίπεδα IL-6 ήταν επίσης σημαντικά αυξημένα στους εγκαυματίες με έκταση εγκαύματος 15-30% της επιφάνειας σώματος την 3^η μέρα νοσηλείας σε σχέση με τους υγιείς (217 vs 9 pg/ml, $p = 0.0062$). Σε ότι αφορά στη συσχέτιση του πολυμορφισμού με τα επίπεδα στο πλάσμα ιντερλευκίνης-6 παρατηρήθηκε ότι οι σηπτικοί ασθενείς- φορείς του Γαλληλίου (GG, GC) συνοδεύονταν με μεγαλύτερες μέσες τιμές IL-6 στο πλάσμα (166 pg/ml) σε σχέση με τους μη σηπτικούς ασθενείς- φορείς του Γαλληλίου (13pg/ml) ($p < 0.05$). (44)

Πίνακας 3. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ *IL-6* ΚΑΙ ΣΗΠΤΙΚΟΥ ΣΥΝΔΡΟΜΟΥ

Βιβλ	Μελετητής SNP	ΠΛΗΘΥΣΜΟΙ	ΕΥΡΗΜΑΤΑ
15	-174G/C (rs1800795)	100 Καυκάσιοι ασθενείς με πνευμονιοκοκκική πνευμονία της κοινότητας (χωρίς ανοσοκαταστολή) και 50 μάρτυρες-υγιείς (Γερμανία)	Συχνότητα ασθενών με γονότυπο GG και εξωπνευμονική διασπορά :10.3% vs30.9% ασθενών με γονότυπους GC+CC(p=0.04)
17	<u><i>IL-6R</i></u> : <i>IL-6R1</i> rs4845617 G/A <i>IL6R2</i> rs6427641 A/G <i>IL-6R3</i> rs4601580 T/A <i>IL-6R4</i> rs4845371 T/C <i>IL-6R5</i> rs8192284 A/C <u><i>IL-6</i></u> : -174C/G (rs1800795) rs1474347	511 νεοσύλλεκτοι στρατιώτες (126 με βρ.άσθμα και 385 χωρίς άσθμα) (Φινλανδία) Παρακολούθηση για 6 μήνες και καταγραφή λοιμώξεων αναπνευστικού συστήματος (0 vs >1 επεισόδια λοιμώξεων και 0-2 vs ≥ 3 επεισόδια λοιμώξεων)	Στην πολυπαραγοντική ανάλυση επιβεβαιώθηκε ότι το αλληλίο <i>IL-6R1A</i> και το αλληλίο <i>IL-6R2G</i> αποτελούν σημαντικούς ανεξάρτητους παράγοντες κινδύνου για ανάπτυξη λοιμώξεων (p1=0.012, p2=0.015) Το αλληλίο <i>IL-6R3A</i> αποτελεί παράγοντα κινδύνου για συχνά επεισόδια λοιμώξεων (p=0.017)

37	<p>-174G/C (rs1800795)</p> <p>-572G/C (rs1800796)</p>	<p>421 ασθενείς 0-19 ετών σε ΜΕΘ παιδών με σηπτικό σύνδρομο και 644 υγείς 34-56 ετών</p> <p>(Τσεχία)</p>	<p>Συχνότητα γονότυπων στη θέση -174 ασθενών / μαρτύρων GG (31.1% vs 24.8%), GC (54.5% vs 53.6%), CC (14.4% vs 21.6%), (p=0.02)</p> <p>Συχνότητα γονότυπων στη θέση -174 εμπύρετων ασθενών vs ασθενών με σηπτική καταπληξία και πολυοργανική ανεπάρκεια:GG (27.9% vs 38.9%), GC (59.3% vs 27.8%),CC (12.8% vs 33.3%), (p=0.032)</p> <p>Συχνότητα γονότυπων στη θέση -174 στην υποομάδα ασθενών με SIRS vs ομάδα με σηπτική καταπληξία-MODS:GG (30.8% vs 38.9%), GC (55.4% vs 27.8%), CC (13.8% vs 33.3%), (p=0.038)</p> <p>Συχνότητα γονότυπων στη θέση -174 στους ασθενείς με σηπτική καταπληξία-MODS vs μάρτυρες: GG (38.9% vs 24.8%), GC (27.8% vs 53.6%), CC (33.3% vs 21.6%), (p=0.018)</p> <p>Στη θέση -572 παρατηρούνται οριακά σημαντικές διαφορές στη συχνότητα γονότυπων ανάμεσα σε ασθενείς και υγείς GG (1.7% vs 0.3%),GC (9% vs 8.1%), CC (89.3% vs 91.6%), (p=0.049)</p>
38	<p>-174G/C (rs1800795)</p>	<p>112 ασθενείς σε ΜΕΘ με σοβαρή σήψη (27) και σηπτική καταπληξία (85)</p> <p>(Γερμανία)</p>	<p>Συχνότητα παρουσίας του C αλληλίου (GC+CC) στους ασθενείς με σηπτική καταπληξία: 75.3% vs 51.8% στους ασθενείς χωρίς σηπτική καταπληξία (p=0.02)</p>
39	<p>-174 G/C</p>	<p>326 Καυκάσιοι ασθενείς σε ΜΕΘ μετά από χειρουργείο και μάρτυρες-υγείς</p> <p>(Γερμανία)</p>	<p>Συχνότητα γονότυπου GG μικρότερη στους ασθενείς που απεβίωσαν σε σχέση με τους επιβιώσαντες (p=0.008)</p>

40	-174G/C 1753C/G 2954G/C	228 ασθενείς με σοβαρή σήψη	Ποσοστό θνητότητας εντός 28 ημερών σε φορείς 2 αντιγράφων των απλότυπων C/C/G, G/G/G, G/C/C :40% vs 26%σε φορείς ενός ή κανενός αντίγραφου ($p=0.02$)
41	-174G/C (rs1800795)	44 παιδιά με σοβαρή σήψη (0-15 ετών) και 77 υγιείς μάρτυρες (Τουρκία)	Χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά στη συχνότητα γονότυπων-αλληλίων μεταξύ ασθενών και υγιών ($p>0.05$)
42	-174 G/C (rs1800795)	356 νεογνά (Καυκάσιοι) πολύ χαμηλού βάρους γέννησης (VLBW) (Γερμανία)	<p>Συχνότητα GG γονότυπου στους ασθενείς με σήψη: 19.8% vs 11.1% στους ασθενείς χωρίς σήψη ($p=0.035$).</p> <p>Επιβεβαίωση GG γονότυπου ως ανεξάρτητου παράγοντα κινδύνου ανάπτυξης σήψης στην πολυπαραγοντική ανάλυση ($p=0.039$)</p> <p>Συχνότητα ασθενών με GG γονότυπο και σήψη από Gram+ βακτήρια: 11.6% vs ασθενών με σήψη από Gram- βακτήρια 3.3% ($p<0.05$)</p> <p>Σε 2 κέντρα χορηγήθηκε προφυλακτικά τεικοπλανίνη σε νεογνά που έφεραν ενδοφλέβιους καθετήρες:</p> <p>Συχνότητα ασθενών με τους GG, GC,CC γονότυπους και σήψη από Gram+ βακτήρια όταν δε χορηγήθηκε ως προφύλαξη τεικοπλανίνη: 16.5%, 6%, 4.2% ($p=0.015$).</p> <p>Αντίστοιχα ποσοστά μετά από χορήγηση τεικοπλανίνης: 2.4%, 1.2%, 1.7% ($p=1$)</p>

43	-174G/C (rs1800795)	293 νεογνά <1500gr υποστηριζόμενα με μηχανικό αερισμό την 1η εβδομάδα γέννησης (233 Αφροαμερικανοί, 57 Καυκάσιοι και 3 Ισπανόφωνοι) και 264 μάρτυρες- υγιή νεογνά (168 Αφροαμερικανοί και 96 Καυκάσιοι) (ΗΠΑ)	ΤοC αλληλίο (CG, CC) συσχετίστηκε με αυξημένη συχνότητα όψιμης βακτηριαιμίας στους Αφροαμερικανούς. Συχνότητα όψιμης βακτηριαιμίας στους ασθενείς με γονότυπους CG και CC: 69% vs 46% στους ασθενείς με γονότυπο GG (p=0.021)
44	-174G/C (rs1800795)	71 ασθενείς με έγκαυμα 15-80% της ολικής επιφάνειας σώματος και 109 μάρτυρες-υγιείς (Ιταλία)	Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στη συχνότητα γονότυπων ανάμεσα στους εγκαυματίες και υγιείς, ούτε ανάμεσα στους σηπτικούς και μη ασθενείς.
45	-174G/C (rs1800795) 1753C/G (rs2069840) 2954G/C (rs1548216)	1246 Καυκάσιοι ασθενείς με πνευμονία της κοινότητας και 2 ομάδες μαρτύρων (1η ομάδα:953 υγιείς και 2η ομάδα:434 ασθενείς χωρίς κανένα ιστορικό σχετικών λοιμώξεων) (Ισπανία) 306 ασθενείς:P-CAP (πνευμονιοκοκκική πνευμονία)	Συχνότητα γονότυπων ασθενών με P-CAP και σηπτική καταπληξία: -174 GG:12.5%, GC:24.8%, CC: 29.7% (p=0.006). Συχνότητα γονότυπων ασθενών με P-CAP και ARDS: -174 GG: 2.2%, GC: 9.8%, CC:10.8% (p=0.002). Συχνότητα γονότυπων ασθενών με P-CAP και πολυοργανική ανεπάρκεια: -174 GG:11.8%, GC: 21.8% ,CC: 27% (p=0.02). Συχνότητα γονότυπων ασθενών με P-CAP που παρουσίασαν ενδονοσοκομειακή θνητότητα: -174 GG: 2.2%, GC:8.3%, CC:8.1% αντίστοιχα (p=0.048).

46	-174 G/C (rs1800795)	81 ασθενείς με οστεομυελίτιδα και 110 μάρτυρες-υγιείς (Ελλάδα)	<p>Συχνότητα γονότυπων ασθενών: GG:43.2%, GC:35.8%, CC:21% vs γονότυπων μαρτύρων: GG:61%, GC:34.5%, CC:4.54% (p<0.01)</p> <p>Ο -174 CC γονότυπος συσχετίστηκε με 7 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο ανάπτυξης οστεομυελίτιδας (OR: 6.51, 95%CI: 2.29-19.12) vs (OR:1.46, 95% CI:0.78- 2.75) στο γονότυπο GC</p> <p>Συσχέτιση CC γονότυπου και μικροοργανισμού (σταφυλόκοκκος και Gram- βακτήρια (p<0.001)</p>
47	-174G/C rs1800795 -572G/C rs1800796 (δείγμα αίματος από πλακούντα)	107 νεογνά <1500 γραμ ή ηλικίας κύησης <32 εβδομάδων (Φινλανδία) 44% με χοριοαμνιονίτιδα	<p>Μετά <u>πολυπαραγοντική ανάλυση</u>:</p> <p>Συσχέτιση -174GG και -572G με χοριοαμνιονίτιδα:</p> <p>-174GG vs CC: OR:6.31, 95%CI:1.51-26.43 (p=0.012)</p> <p>-174GG vs GC: OR:5.56, 95%CI:1.73-17.85 (p=0.004)</p> <p>-572CG vs GG: OR:16.22,95%CI: 1.15-228.43, (p=0.039)</p> <p>Συσχέτιση -174CC με ανάπτυξη σήψης CC vs GC: OR: 18.27, 95%CI:1.98-168.37 (p=0.010)</p>

Γ. ΠΑΡΑΣΙΤΙΚΕΣ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ

Η ελονοσία από το *Plasmodium vivax* αποτελεί μια μεγάλη παγκόσμια απειλή, με 2-3 δισεκατομμύρια ανθρώπους να βρίσκονται σε κίνδυνο προσβολής. (48) Η κλινική εικόνα ποικίλει από ασυμπτωματική λοίμωξη έως

επιπλεγμένη νόσο, δυνητικά θανατηφόρο.(48,49) Το παράσιτο της ελονοσίας και τα κύτταρα του αίματος που έχουν προσβληθεί από αυτό ενεργοποιούν τα δενδριτικά κύτταρα, τα οποία παρουσιάζουν αντιγόνα του παρασίτου στα Helper (Th)1 κύτταρα και στη συνέχεια ενεργοποιούν μια σειρά φλεγμονωδών αντιδράσεων, στις οποίες παράγονται φλεγμονώδεις κυτταροκίνες, όπως IL-1, IL-6, IL-12, TNF-α, IFN-γ. Αυτό γίνεται ως απάντηση στη λοίμωξη και προσπάθεια καταπολέμησης της. Ο κίνδυνος επιδείνωσης στη σοβαρότερη μορφή της νόσου από το *Plasmodium falciparum*, πιθανόν να οφείλεται και σε γενετικούς παράγοντες.(50) Η κατανόηση του παθογενετικού μηχανισμού, με τον οποίο οι παράγοντες αυτοί επηρεάζουν το νόσημα, θα δώσει τη δυνατότητα ανάπτυξης καλύτερων θεραπευτικών στρατηγικών, καθώς και προγραμμάτων πρόληψης με εμβολιασμό.

Η πυρηνική πρωτεΐνη HLA-B-associated transcript 1 (BAT1) είναι μια RNA ελικάση που κωδικοποιείται από το γονίδιο *DDX39B* και ασκεί αρνητικό ρυθμιστικό ρόλο στην έκφραση των TNF και IL-6. Έτσι ασκεί προστατευτικό ρόλο σε ποικίλες διαταραχές στις οποίες συμμετέχει το ανοσοποιητικό σύστημα.(51) Οι πολυμορφισμοί -22C/G και -348C/T στην περιοχή του εκκινήτη του *DDX39B* φάνηκε από μελέτες ότι επηρεάζουν τη μεταγραφική δραστηριότητα σε αυτές τις θέσεις.(52) Οι παράγοντες TNF και IL-6, είναι μεσολαβητές κλειδιά που σχετίζονται με τα συμπτώματα της ελονοσίας και τα επίπεδα τους στο πλάσμα παρουσιάζουν αύξηση ανάλογα με τη σοβαρότητα της λοίμωξης.(53,54)

Σκοπός της μελέτης των Vitor RR Mendonca και συν. ήταν να διευκρινιστεί κατά πόσο μεταλλάξεις στα γονίδια των *DDX39B*, *TNF* και *IL-6*, σχετίζονται με διαφορετική κλινική εικόνα και έκβαση ασθενών με ελονοσία. Μελετήθηκε λοιπόν η συχνότητα των πολυμορφισμών: *DDX39B*(-22C/G και -348 C/T), *TNF* (-308G/A) και *IL-6* (-176G/C) σε 257 ασθενείς από 2 περιοχές της Βραζιλίας, που προσβλήθηκαν από *Plasmodium vivax* και παρουσίαζαν διαφοροποίηση στην κλινική εικόνα από ασυμπτωματική λοίμωξη, ήπια μαλάρια, επιπλεγμένη μαλάρια, έως και μη λοίμωξη, παρά την προσβολή. Παράλληλα έγιναν μετρήσεις στο αίμα των επιπέδων των TNF, IL-6, CRP, CXCL10. Δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ αλληλίων και γονότυπων της *IL-6-176G/C*, *TNF-α-308G/A*, *DDX39B* (-22C>G και -348 C>T), με τις διάφορες μορφές

εκδήλωσης της νόσου (ασυμπτωματική, ήπια, εκδηλωμένη νόσος). Δεν παρατηρήθηκαν συσχετίσεις γονότυπων με τα επίπεδα IL-6 στον ορό. Ο διπλότυπος GC/CC/GG/GG (*DDX39B-22/DDX39B-348/TNF-308/IL-6-176*) παρουσίαζε μειωμένο κίνδυνο εκδήλωσης μαλάριας ($p=0.0428$), ενώ ο διπλότυπος GG/CT/GG/GG (*DDX39B-22/DDX39B-348/TNF-308/IL-6-176*) παρουσίαζε αντίθετα αυξημένο κίνδυνο ($p=0.0361$) σε σχέση με ασυμπτωματικούς ασθενείς. Ο διπλότυπος GC/CC/GG/GG συσχετίστηκε επίσης με μειωμένα επίπεδα TNF και IL-6 στο πλάσμα ($p=0.0070$, $p=0.0057$ αντίστοιχα). (48).

Σε μια άλλη αξιολογη εργασία, οι Vinicius A και συν. μελέτησαν γενετικούς πολυμορφισμούς της *IL-6*, *1L-12B* και *VDR* σε 167 ασθενείς (διαφορετικής καταγωγής) με λοίμωξη από *Plasmodium vivax* στην Βραζιλία. Οι ασθενείς έλαβαν αγωγή με 1500 mg χλωροκίνη και 210 mg πριμακίνης για 7 ημέρες. Αξιολογήθηκαν ως προς την βαρύτητα των συμπτωμάτων που ανέπτυξαν, σε κλίμακα από 0 έως το 4 (απουσία συμπτωμάτων, ήπια, μέτριου, σοβαρού βαθμού συμπτώματα). Επίσης υπολογίστηκε στο αίμα η πυκνότητα γαμετοκυττάρων ανά μL αίματος, δηλ. τα επίπεδα παρασιταιμίας και γαμετοκυταιμίας. Ακολούθησε γονοτυπικός έλεγχος των ακόλουθων πολυμορφισμών: *IL-6 -174C/G*, *IL-12B (735T/C, 458A/G, 159A/C)*, *VDR (FokI, TaqI, BsmI)*.

Υψηλότερα επίπεδα παρασιταιμίας παρατηρήθηκαν στους φορείς του αλληλίου *IL-6-174C (CC,GC)* σε σχέση με τους φορείς του γονότυπου *GG* ($p=0.02$). Επίσης ασθενείς-φορείς του αλληλίου *IL-6 -174C* παρουσίαζαν σοβαρότερη μορφή της νόσου, σε σύγκριση με τους ασθενείς με γονότυπο *IL-6 -174GG* ($p=0.001$). Συμπερασματικά η εργασία αυτή συνέβαλε στην προσπάθεια βελτίωσης των γνώσεων μας, όσον αφορά τη συμμετοχή γενετικών παραγόντων στην εκδήλωση λοιμώξεων. Απέδειξε ότι πολυμορφισμοί γονιδίων των *IL-6*, *1L-12B* και *VDR*, επηρεάζουν την κλινική σοβαρότητα της ελονοσίας, το βαθμό παρασιταιμίας και γαμετοκυταιμίας. (55)

Η λεισμανίαση είναι μία παρασιτική λοίμωξη που οφείλεται σε πρωτόζωα του γένους *Leishmani*. Η *IL-6* είναι μια πλειοτροπική κυτταροκίνη, η οποία μεταξύ των πολλών δράσεων της, επάγει την διαφοροποίηση των *CD4+Th2* κυττάρων,

ενώ αναστέλλει τη διαφοροποίηση των CD4+Th1 κυττάρων. Γενετικοί πολυμορφισμοί στο γονίδιο της *IL-6*, πιθανόν να επηρεάζουν την παραγωγή της και τα επίπεδα της στο πλάσμα και να επηρεάζουν επίσης την εκδήλωση της δερματικής και βλεννοδερματικής μορφής λεισμανίασης. Αυτό ακριβώς αποτέλεσε κίνητρο για τους Lea Castellucci και συν., οι οποίοι μελέτησαν τον πολυμορφισμό *IL-6* -174G/C σε ασθενείς με Δερματική και Βλεννοδερματική Λεισμανίαση και σε μάρτυρες από περιοχές της Βραζιλίας όπου ενδημεί η *L.Brasiliensis*. Επίσης μέτρησαν τα επίπεδα *IL-6* στα μακροφάγα. Η παρουσία του Καλλιλίου ήταν συχνότερη στους ασθενείς με βλεννοδερματική μορφή της νόσου, σε σχέση με ασθενείς με δερματική μορφή ($p=0.005$) και σε σχέση με υγιείς ($p=0.01$). Επίσης τα επίπεδα *IL-6* στα μακροφάγα ήταν χαμηλότερα σε άτομα με τον γονότυπο *IL-6* -174CC σε σχέση με άτομα με τον γονότυπο *IL-6* -174GG (είτε ανενεργά μακροφάγα είτε μετά τη διέγερση τους με το αντιγόνο της λεισμανίας ($p=0.03$, $p=0.009$ αντίστοιχα)). Συμπερασματικά η *IL-6* πιθανόν να ρυθμίζει τύπου 1 προφλεγμονώδεις αντιδράσεις, καθιστώντας άτομα με χαμηλά επίπεδα, *IL-6* στα μακροφάγα, υψηλού κινδύνου για ανάπτυξη βλεννοδερματικής μορφής της νόσου. (56)

3. ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ *IL-6* ΚΑΙ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

Τα καρδιαγγειακά νοσήματα αποτελούν τη σημαντικότερη αιτία νοσηρότητας και θνητότητας παγκόσμια. Θεωρούνται πραγματική μάστιγα για την ανθρωπότητα καθώς τείνουν να μετατραπούν σε πανδημία με τεράστιες κοινωνικές και οικονομικές επιπτώσεις. Εκτός από τους παραδοσιακούς παράγοντες κινδύνου, που είναι το κληρονομικό ιστορικό, το άρρεν φύλο, η αρτηριακή υπέρταση, ο σακχαρώδης διαβήτης, η δυσλιπιδαιμία, η παχυσαρκία και το κάπνισμα, ολοένα και περισσότερο ενισχύεται η άποψη ότι μη παραδοσιακοί παράγοντες συμβάλλουν στην παθογένεια της νόσου. Ανάμεσα σε αυτούς, το οξειδωτικό stress και η φλεγμονή. (57)

Τα αυξημένα επίπεδα *IL-6* στο πλάσμα υγιών ατόμων αποδείχτηκε ότι συσχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο για ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και ανάπτυξη καρδιαγγειακών συμβαμάτων. Ο Paul M.Ridker και συν. ανέφεραν συσχέτιση υψηλών επιπέδων *IL-6* στο πλάσμα υγιών αντρών με αυξημένο

κίνδυνο ανάπτυξης στο μέλλον εμφράγματος μυοκαρδίου (58), ενώ οι TakuHoshi και συν. απέδειξαν ότι τα αυξημένα επίπεδα IL-6 και hs-CRP στο πλάσμα συσχετίζονται με μεγαλύτερη συχνότητα σιωπηλών εγκεφαλικών εμφράκτων σε υγιείς ενήλικες, ανεξάρτητα από τους παραδοσιακούς παράγοντες κινδύνου. (59)

Η φλεγμονή συμμετέχει ενεργά στη διεργασία αθηροσκλήρυνσης, αν και ο ακριβής μηχανισμός είναι ασαφής. Μεγάλο ποσοστό επίσης ασθενών σε τελικό στάδιο χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας σε αιμοκάθαρση παρουσιάζει αυξημένα επίπεδα στο πλάσμα προφλεγμονωδών κυτταροκινών, κυρίως IL-6 και CRP. (57) Τα υψηλά επίπεδα IL-6 υποστηρίχτηκε ότι αποτελούν ισχυρό προγνωστικό δείκτη για ανάπτυξη σοβαρής στεφανιαίας νόσου, αρτηριοσκλήρυνσης καρωτίδων και θνητότητας σε αυτούς τους ασθενείς. (60,61) Για κάθε αύξηση των επιπέδων IL-6 στο πλάσμα κατά 1pg/ml αυξάνεται ο σχετικός κίνδυνος κατά 4.4%. (62)

Οι H.Kikuchi και συν. μελέτησαν την πιθανότητα συσχέτισης των υψηλών επιπέδων IL-6 στο πλάσμα (που παρατηρούνται σε ασθενείς σε τελικό στάδιο νεφρικής ανεπάρκειας υπό αιμοκάθαρση) με σιωπηλά εγκεφαλικά έμφρακτα σε 50 Ιάπωνες ασθενείς σε Αιμοκάθαρση. Τα σιωπηλά εγκεφαλικά έμφρακτα διαπιστώνονται στο MRI εγκεφάλου, είναι μικρά <15mm σε διάμετρο και εντοπίζονται στη λευκή ουσία, βασικά γάγγλια, θάλαμο και κάτωθεν του σκηνιδίου της παρεγκεφαλίδας. Οφείλονται σε απόφραξη μικρών εγκεφαλικών αρτηριών. Προδιαθεσικοί παράγοντες είναι η υπέρταση, ο σακχαρώδης διαβήτης, η δυσλιπιδαιμία, η ισχαιμική καρδιοπάθεια καθώς και το κάπνισμα. Όλοι οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε MRI εγκεφάλου και χωρίστηκαν σε δύο κατηγορίες ανάλογα με την παρουσία (27) ή όχι (23) σιωπηλών εγκεφαλικών εμφράκτων (SBI). Τα επίπεδα IL-6 στο πλάσμα, ήταν υψηλότερα στους πάσχοντες με σιωπηλό εγκεφαλικό έμφρακτο και στην πολυπαραγοντική ανάλυση που ακολούθησε επιβεβαιώθηκε η ισχυρή αυτή συσχέτιση ($p < 0.0001$). Το γεγονός αυτό επιβεβαιώνει τη συμμετοχή της φλεγμονής στην πρόκληση νόσου μικρών εγκεφαλικών αγγείων, που ως γνωστό προδιαθέτει σε αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια και άνοια. (63)

Πολυμορφισμοί γονιδίων που κωδικοποιούν φλεγμονώδεις κυτταροκίνες πιστεύεται ότι επηρεάζουν την έκφραση τους, καθορίζοντας έτσι το βαθμό φλεγμονώδους συμμετοχής και κατά συνέπεια την προδιάθεση για ανάπτυξη καρδιαγγειακών επεισοδίων.(57)

Ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 επίσης συνοδεύεται από συστηματική υποκλινική φλεγμονή ,που οφείλεται σε αυξημένα επίπεδα στο αίμα πρωτεϊνών οξείας φάσεως και φλεγμονωδών μεσολαβητών όπως ιντερλευκίνης-6. Οι παράγοντες αυτοί πιστεύεται ότι συμμετέχουν στην παθογένεια της νόσου. Προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες όπως IL-6 και TNF-α προάγουν την εξέλιξη της νόσου, ενώ αντιφλεγμονώδεις κυτταροκίνες όπως η IL-10 ασκούν προστατευτική δράση. (64) Γενετικοί πολυμορφισμοί στην περιοχή του υποκινητή της *IL-6*, *TNF-α* και *IL-10* πιθανόν να αποτελούν παράγοντες κινδύνου στην ανάπτυξη ΣΔ τύπου 2. (64)

Στον πίνακα 4 που ακολουθεί αναφέρονται σημαντικές εργασίες όπου μελετήθηκε πιθανή συσχέτιση πολυμορφισμών της *IL-6* με ανάπτυξη καρδιαγγειακών νοσημάτων, σακχαρώδη Διαβήτη και χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια (ΧΑΠ) και τα σημαντικότερα τους συμπεράσματα. (57, 64-70)

Στη μελέτη των Julie Sanders και συν. σε 366 Καυκάσιους ασθενείς, που υποβλήθηκαν σε καρδιοπνευμονικό bypass στο Λονδίνο υπολογίζονταν τα επίπεδα IL-6 στο πλάσμα πριν την επέμβαση, 6 ώρες καθώς και 24 ώρες μετά. Επίσης μελετούντο οι πολυμορφισμοί *IL-6* -174G/C και -572G/C και πιθανή συσχέτιση τους με την ανάπτυξη μετεγχειρητικών επιπλοκών και έκβαση της επέμβασης (πίνακας 4), καθώς και με τα επίπεδα IL-6 στον ορό. Τα επίπεδα IL-6 στο πλάσμα, παρουσίαζαν σημαντική αύξηση 6 ώρες μετά τη χειρουργική επέμβαση σε σχέση με τα επίπεδα προ της επέμβασης ($p=0.00005$) και εξακολουθούσαν να παραμένουν σε υψηλά επίπεδα, άνωθεν αυτών προ του χειρουργείου, 24 ώρες μετά ($p=0.0005$). Τα επίπεδα IL-6 πριν το χειρουργείο και 24 ώρες μετά ήταν μεγαλύτερα στους ασθενείς που ανέπτυξαν μετεγχειρητικές επιπλοκές τόσο κατά τη διάρκεια παραμονής τους στη ΜΕΘ, όσο και μετά και συσχετίστηκαν με την πρόγνωση. Όσον αφορά τους γενετικούς πολυμορφισμούς δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά στα επίπεδα IL-6 είτε πριν το χειρουργείο, είτε 6 και 24 ώρες μετά, ανάμεσα σε φορείς των CC/GC

και CC γονότυπων στις θέσεις -174G/C και -572G/C. Όταν όμως λήφθηκαν υπόψιν τα επίπεδα IL-6 στον ορό συνολικά, παρατηρήθηκε συσχέτιση των επιπέδων IL-6 με τον -572 G/C γονότυπο ($p=0.04$). (65)

Πίνακας 4 ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΗΣ-6 ΚΑΙ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

57	-174G/C (rs1800795)	463 Καυκάσιοι, ασθενείς σε τελικό στάδιο χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας (87.2% σε αιμοκάθαρση και 12.8% σε περιτοναϊκή κάθαρση) (Γερμανία) Υποβλήθηκαν σε στεφανιογραφία :218 με ευρήματα στεφανιαίας νόσου και 245 χωρίς 32 μήνες παρακολούθηση	Συχνότητα καρδιαγγειακών επιπλοκών (ανάγκη επαναγγείωσης, EM, θνητότητα) σε φορείς του γονότυπου 174 CC:85.2% vs 66.5% σε φορείς γονότυπων GG και GC ($p<0.05$). Συχνότητα άρρενων ασθενών με CC γονότυπο που παρουσίαζαν EM:25.6% vs 13.1% άρρενων ασθενών με GG και GC γονότυπους ($p<0.05$). Θνητότητα ασθενών ηλικίας ≤ 55 ετών με CC γονότυπο:20% vs 7.4% ασθενών με GG/GC γονότυπους ($p<0.05$) Επιβεβαίωση ότι ο γονότυπος -174 CC αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για αυξημένη θνητότητα μετά πολυπαραγοντική ανάλυση (OR:3.58, CI 95%: 1.41-9.07), ($p<0.01$)
65	-174G/C (rs1800795) -572G/C (rs1800796)	366 Καυκάσιοι ασθενείς που υποβλήθηκαν σε καρδιοπνευμονικό bypass (Λονδίνο)	Χωρίς σημαντική διαφορά στη συχνότητα γονότυπων και αλληλίων ανάμεσα στους ασθενείς με ή χωρίς μετεγχειρητικές επιπλοκές.
66	-174G/C (rs1800795)	150 ασθενείς με ρευματική καρδιακή νόσο (βαλβιδοπάθεια μιτροειδούς) και 204 υγιείς (Πακιστάν)	Συχνότητα GG γονότυπου στους ασθενείς 14% vs 6% στους μάρτυρες ($p=0.015$).

67	-174G/C (rs1800795)	50 παιδιά με ρευματική καρδιακή νόσο και 98 μάρτυρες -υγιείς (Αίγυπτο)	Χωρίς στατιστικά σημαντικές διαφορές στη συχνότητα αλληλίων και γονότυπων ασθενών και μαρτύρων
68	-174G/C (rs1800795)	38 παιδιά (5-15 ετών) με οξύ ρευματικό πυρετό και 40 παιδιά υγιή-μάρτυρες (Τουρκία)	Μεγαλύτερη συχνότητα CCγονότυπου (LP) σε ασθενείς με ανεπάρκεια τριγλώχινας βαλβίδας (p=0.002)
69	-572 G/C (rs1800796) -174 G/C (rs1800795) -597 G/A (rs1800797)	434 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε καρδιοπνευμονικό bypass (οι 52 παρουσίασαν μετεγχειρητικά ΕΜ) (ΗΠΑ)	Συσχέτιση πολυμορφισμού -572 G/C με κίνδυνο ανάπτυξης μετεγχειρητικά ΕΜ . OR: 2.8 (95% CI:1.27-5.83), (p=0.0077). Επιβεβαίωση και στην πολυπαραγοντική ανάλυση.
70	rs2069825 rs2069827 rs1800797 rs2069840 rs1554606 rs2069849 rs2069861 rs1818879	361 Καυκάσιοι ασθενείς με χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια-ΧΑΠ (πρώην ή νυν καπνιστές) και 195 υγιείς (καπνιστές) (Ολλανδία)	Συχνότητα ελάσσονος αλληλίου στους ασθενείς 39% vs 32% στους μάρτυρες στη θέση 7592G/A(rs1818879) (p=0.02). Συσχέτιση ελάσσονος αλληλίου με αυξημένο κίνδυνο ΧΑΠ
64	IL-6 -597A/G (rs 1800797) TNF-a	213 ασθενείς με Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2 (ΣΔ 2) και 140 υγιείς-μάρτυρες (Ινδία)	Ο διπλός συνδυασμός απουσίας των γονότυπων IL-6-597 GA, TNF-α -308 GG (46.9% των ασθενών vs 8.9%των μαρτύρων) συσχετίστηκε με αύξηση του κινδύνου ανάπτυξης ΣΔ κατά 21 φορές

-308G/A (rs1800629) IL-10 -592C/A (rs1800872)	(OR: 21.376 CI 95%:10.253-44.565)(p<0.001) Ο τριπλός συνδυασμός των γονότυπων IL-6-597 AA, TNF-a -308 GA/AA και IL-10-592 CA(5.6% των ασθενών vs 3.2% των μαρτύρων) συσχετίστηκε με αύξηση του κινδύνου κατά 314 φορές (OR: 314.011 CI 95%:36.302-2716.146),(p<0.001)
---	---

4. ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ IL-6 ΚΑΙ ΧΡΟΝΙΑ ΝΕΦΡΙΚΗ ΝΟΣΟΣ

Η χρόνια νεφρική νόσος (ΧΝΝ) είναι το κλινικό σύνδρομο που χαρακτηρίζεται από προοδευτική και μη αναστρέψιμη μείωση της νεφρικής λειτουργίας που οδηγεί σε διάμεση ίνωση, ατροφία σωληναρίων και σπειραματοσκλήρυνση. (71). Η επίπτωση της στο γενικό πληθυσμό συνεχώς αυξάνεται. Η συχνότητα του τελικού σταδίου χρόνιας νεφρικής νόσου έχει λάβει επιδημικές διαστάσεις παγκόσμια. (5,72)

Στους παράγοντες δυσμενούς έκβασης ανήκουν η αιτία της χρόνιας νεφρικής νόσου, η αρτηριακή υπέρταση, η πρωτεϊνουρία, η αναιμία, η υπερφωσφαταιμία, η μεταβολική οξέωση κ.α. Από μόνοι τους οι παράγοντες αυτοί δεν μπορούν να εξηγήσουν το ευρύ φάσμα εκδηλώσεων της νόσου. Η παρουσία φλεγμονής, ανήκει στους μη παραδοσιακούς παράγοντες κινδύνου. Πρόκειται για μια συστηματική φλεγμονώδη διεργασία που συνυπάρχει στον οργανισμό και αποτελεί ουσιώδη παράγοντα στην παθοφυσιολογία τόσο της πρωτοπαθούς νεφρικής νόσου όσο και στην εξέλιξη της σε τελικό στάδιο.(5,71,72) Η φλεγμονή επίσης συμμετέχει στην ανάπτυξη και εξέλιξη της καρδιαγγειακής νόσου. Πρόκειται ουσιαστικά για δύο διαδικασίες που εξελίσσονται παράλληλα με κοινό παθογενετικό μηχανισμό.(71) Διάφορες προφλεγμονώδεις και αντιφλεγμονώδεις κυταροκίνες συμμετέχουν στην

φλεγμονώδη διεργασία και στην εξέλιξη της ΧΝΝ, όπως IL-2, IL-4, IL-6, IL-1 (IL-1A, IL-1B). (5,72) Η IL-6 ασκεί προφλεγμονώδεις και αντιφλεγμονώδεις δραστηριότητες, ενώ σε αντίθεση η IL-10 μειώνει τη φλεγμονώδη διεργασία (5,72). Η διαταραχή της ισορροπίας ανάμεσα στην παραγωγή προφλεγμονωδών (IL-1, IL-6, TNF-α, IL-2, IL-8) και αντιφλεγμονωδών κυτταροκινών (IL-4, IL-10, IL-13) ασκεί θεμελιώδη ρόλο στην ανάπτυξη φλεγμονής, καθώς και στην ανάπτυξη και εξέλιξη της ΧΝΝ.(73,74)

Η συμμετοχή της IL-6 στην παθογένεια και εξέλιξη της χρόνιας νεφρικής νόσου καθώς και στις διάφορες επιπλοκές που σχετίζονται με αυτή, θεωρείται πλέον δεδομένη. Παράδειγμα, η διαβητική νεφροπάθεια που καταλαμβάνει την 1η θέση στο κατάλογο των νεφροπαθειών. Η χρόνια φλεγμονή η οποία συνυπάρχει και τα αυξημένα επίπεδα IL-6 έχουν συσχετιστεί με την ανάπτυξη, εξέλιξη και σοβαρότητα της διαβητικής νεφροπάθειας. (12,75)

Ανάμεσα στις μελέτες που διερεύνησαν πιθανή συσχέτιση των επιπέδων φλεγμονωδών κυτταροκινών με την ανάπτυξη νεφρικής βλάβης, ήταν και αυτή των Τράμμα και συν. Στη μελέτη αυτή υπολογίστηκαν τα επίπεδα IL-6 και IL-8 στα ούρα παιδιών με ουλοποίηση νεφρικού παρεγχύματος μετά από λοίμωξη του ανώτερου ουροποιητικού συστήματος ενώ γινόταν υπερηχογράφημα νεφρών 1 μήνα μετά την ουρολοίμωξη, κυστεοουρηθρογραφία καθώς και σπινθηρογράφημα DMSA 6 μήνες μετά. Τα παιδιά κατατάσσονταν σε 2 ομάδες ανάλογα με την παρουσία ή όχι νεφρικών ουλών (A,B) και ακολούθως σε 2 ακόμα υποομάδες έκαστη, ανάλογα με την παρουσία ή όχι κυστεοουρητηρικής παλινδρόμησης.(A1, A2, B1, B2,). Τα επίπεδα IL-6 στα ούρα δεν ήταν ανιχνεύσιμα στην ομάδα παιδιών που δεν ανέπτυξαν νεφρική ουλοποίηση, ενώ ήταν ανιχνεύσιμα στην ομάδα παιδιών με νεφρική ουλοποίηση. Δεν υπήρχε όμως σημαντική διαφορά στις υποομάδες ανάλογα δηλαδή με την παρουσία ή όχι κυστεοουρητηρικής παλινδρόμησης, αν και αυτό μπορεί να οφείλεται στον μικρό αριθμό ασθενών. Όσο δε μεγαλύτερος ήταν ο βαθμός ουλοποίησης ,τόσο υψηλότερα ήταν τα επίπεδα IL-6 στα ούρα. (76)

Πληθώρα μελετών έχει επικεντρωθεί σε πολυμορφισμούς στο γονίδιο της IL-6 και την πιθανή συσχέτιση τους με την ανάπτυξη και εξέλιξη της χρόνιας

νεφρικής νόσου. Στον πίνακα 5, αναφέρονται οι σημαντικότερες μελέτες στο πεδίο αυτό και τα αξιόλογα συμπεράσματα τους. (5-7,12,24,72-73,77-82).

Σε κάποιες από τις μελέτες παράλληλα με το γονοτυπικό έλεγχο υπολογίστηκαν τα επίπεδα ιντερλευκίνης-6 στον ορό και συγκρίθηκαν οι τιμές ανάμεσα στους ασθενείς και υγιείς, καθώς και ανάμεσα στους ασθενείς διαφορετικών φαινότυπων και γονότυπων.

Στη μελέτη των Dimitrijeva και συν. σε 71 νοσηλευόμενα νεογνά με 1ο επεισόδιο εμπύρετης ουρολοίμωξης (73.2% με οξεία πυελονεφρίτιδα και 26.8% με λοίμωξη του κατώτερου ουροποιητικού συστήματος) παράλληλα με το γονοτυπικό έλεγχο, υπολογίστηκαν τα επίπεδα IL-6 στον ορό. Παρατηρήθηκε ότι τα επίπεδα IL-6 ήταν σημαντικά μεγαλύτερα και στις δύο ομάδες ασθενών σε σχέση με τους μάρτυρες-υγιείς ($p < 0.001$), ενώ μεγαλύτερα ήταν επίσης στην ομάδα των παιδιών με οξεία πυελονεφρίτιδα σε σχέση με αυτών με λοίμωξη του κατώτερου ουροποιητικού συστήματος ($p < 0.01$). Δεν παρατηρήθηκε όμως διαφορά στα επίπεδα IL-6 στον ορό παιδιών που ανέπτυξαν ή όχι νεφρική ουλοποίηση. Επίσης δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση με τους γονότυπους -174 GG, GC, CC, εκτός από μια τάση αύξησης των επιπέδων σε παιδιά με το CC γονότυπο. Ένα σημαντικό συμπέρασμα της μελέτης είναι ότι ο πολυμορφισμός *IL-6-174G/C* δεν αποτελεί παράγοντα κινδύνου για ανάπτυξη οξείας πυελονεφρίτιδας και ότι τα επίπεδα IL-6 στο πλάσμα αποτελούν μεν χρήσιμο αλλά όχι διαγνωστικό δείκτη λοίμωξης του ανώτερου ουροποιητικού συστήματος σε παιδιά. (6).

Οι Ryu και συν. διερεύνησαν την πιθανή συσχέτιση πολυμορφισμών IL-6 -634C/G και -174G/C με τη συνολική διάρκεια διατήρησης της βατότητας της αγγειακής προσπέλασης. Στη μελέτη συμμετείχαν 80 ασθενείς σε τελικό στάδιο χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας (ΤΣΧΝΝ) σε αιμοκάθαρση (ΑΚ) στη Σεούλ και 89 μάρτυρες χωρίς σακχαρώδη διαβήτη, αρτηριακή υπέρταση και ΧΝΝ. Εκτός από το γονοτυπικό έλεγχο τα αποτελέσματα του οποίου περιγράφονται στον πίνακα 5, υπολογίστηκαν τα επίπεδα IL-6 στον ορό των ασθενών. Δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση τους με τους διάφορους γονότυπους στη θέση -634 CC,GC,GG, ούτε και όταν εξαιρέθηκαν οι ασθενείς με Σακχαρώδη Διαβήτη. (24)

Οι Sharma και συν. μελέτησαν την πιθανή συσχέτιση πολυμορφισμών της IL-6 -174G/C,-572C/G με την ανάπτυξη υποθρεψίας σε ασθενείς σε ΤΣΧΝΝ. Στη μελέτη τους στρατολόγησαν 257 ασθενείς σε ΤΣΧΝΝ σε ΑΚ και 200 υγιείς-μάρτυρες στην Ινδία. Παράλληλα υπολόγισαν τα επίπεδα IL-6 στον ορό. Αυτά ήταν σημαντικά μεγαλύτερα στους ασθενείς σε σχέση με τους υγιείς και ιδιαίτερα στους ασθενείς με υποθρεψία ($p=0.03$) και ενδείξεις φλεγμονής, δηλ. υψηλό CRP ($p=0.008$). Όσο αφορά τη συσχέτιση των γονότυπων -174 G/C και -572 C/G με τα επίπεδα IL-6 στον ορό παρατηρήθηκε ότι φορείς των γονότυπων -174 CC και -572 GG παρουσίαζαν μεγαλύτερες τιμές IL-6 στον ορό ($p=0.02$, $p=0.05$). (79)

Στην εργασία επίσης των Kitamura και συν. σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη, εκ των οποίων 162 χωρίς μικροαλβουμινουρία, 138 με μικροαλβουμινουρία, 154 με μακροαλβουμινουρία και 142 μάρτυρες-υγιείς, εκτός από το γονοτυπικό έλεγχο στη θέση -634 C/G μετρήθηκαν τα επίπεδα IL-6 σε εναιώρημα ενεργοποιημένων περιφερικών λευκοκυττάρων (PBMC) στους μάρτυρες-υγιείς. Παρατηρήθηκε ότι φορείς του G αλληλίου στη θέση -634 C/G (rs1800796) παρουσίαζαν υψηλότερα επίπεδα IL-6 στον ορό, ($p<0.05$). (80)

Πίνακας 5 ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ IL-6 ΚΑΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΗ ΝΕΦΡΙΚΗ ΝΟΣΟ

5	<p>IL-6 -174G/C</p> <p>IL-2 -330T/G</p> <p>IL-4</p> <p>Intron3B1/B2</p>	<p>193 ασθενείς σε ΤΣΧΝΝ σε ΑΚ και 180 υγιείς-μάρτυρες (Βόρεια Ινδία)</p>	<p>Συχνότητα γονότυπων IL-6-174 GG, GC, CC στους ασθενείς: 73.1%, 10.3%, 16.6% vs 60.6%, 17.2%, 22.2% στους μάρτυρες (p=0.032)</p> <p>O -174GG γονότυπος συσχετίστηκε με μεγαλύτερο κίνδυνο ανάπτυξης ΤΣΧΝΝ (OR:1.617,95% CI:0.95-2.74)</p> <p>Συχνότητα γονότυπων IL-4 B1B1,B1B2,B2B2 στους ασθενείς: 5.2%, 32.1%, 62.7% vs 0.5%, 52.8%, 46.7% στους μάρτυρες (p<0.001)</p> <p>Συχνότητα ασθενών με συνδυασμό γονότυπων IL-4 B2B2 (LP) και IL-6 -174GG (HP) :62.8% vs 37.2% μαρτύρων (p<0.001) OR:3.48, 95%CI:1.88-6.42</p> <p>Συχνότητα ασθενών με συνδυασμό γονότυπων IL-4 B2B2 (LP) και IL-6 -174GC,CC (LP): 58.5% vs 41.5% μαρτύρων (p=0.005) OR:2.90, 95%CI:1.37-6.12</p>
6	<p>-174G/C (rs1800795)</p>	<p>71 νεογνά (1-24 μηνών) με 1ο επεισόδιο εμπύρετης ουρολοίμωξης (73.2%: οξεία πυελονεφρίτιδα και 26.8% :λοίμωξη του κατώτερου ουροποιητικού συστήματος) και 105 υγιείς ενήλικες Παρακολούθηση για 2 χρόνια (Σερβία)</p>	<p>Μεγαλύτερος αριθμός WBC στους ασθενείς με οξεία πυελονεφρίτιδα, φορείς του -174 CC γονότυπου σε σχέση με φορείς του GG γονότυπου (p<0.05)</p>

7	-634C/G (rs1800796)	541 Καυκάσιοι με πρωτοπαθή σπειραματονεφρίτιδα (ΣΝ) (338 σε ΤΣΧΝΝ) και 253 μάρτυρες-υγιείς (Πολωνία)	Στην πολυπαραγοντική ανάλυση επιβεβαιώση ότι το G αλληλίο αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου προς εξέλιξη σε ΤΣΧΝΝ ($p < 0.001$)
12	rs 2069827 rs1800796 rs1800795 rs2069837 rs2069840 rs2069861	295 ασθενείς με ΣΔ 2 (138 με πρωτεϊνουρία και 157 με ΧΝΝ) και 174 υγιείς-μάρτυρες (Σιγκαπούρη)	Συχνότητα απλότυπου G-G-G-A-G-C σε ασθενείς με ΧΝΝ /ΤΣΧΝΝ: 25.5% vs 15.4% στους μάρτυρες ($p = 0.0016$)
24	-634C/G (rs1800796) -174G/C (rs1800795)	80 ασθενείς σε ΤΣΧΝΝ σε ΑΚ >3 μήνες, σε καλή γεν. κατάσταση με $kt/v > 1.2$ και 89 μάρτυρες, χωρίς ΣΔ, ΑΥ, ΧΝΝ 2 ομάδες : 1η με διάρκεια επιβίωσης της αγγειακής προσπέλασης <1 έτους και 2η με διάρκεια >1 έτους (Σεούλ)	Συχνότητα του-634 GG γονότυπου στους ασθενείς: 13.8% vs 7.9% στους μάρτυρες ($p = 0.049$). Συχνότητα G αλληλίου στους ασθενείς: 30% vs 18% στους μάρτυρες ($p = 0.009$) OR του G αλληλίου στους ασθενείς: 1.77, 95%CI:1.08-2.92), ($p = 0.009$) Ίδια αποτελέσματα όταν εξαιρέθηκαν οι ασθενείς με ΣΔ (OR: 2.13, 95% CI:1.18-3.87), ($p = 0.005$)
72	rs1800795 rs1800796 rs1800797 rs2069827	664 λήπτες νεφρικού μοσχεύματος και 577 υγιείς δότες νεφρού (Ην. Βασίλειο)	Χωρίς συσχέτιση με την ανάπτυξη νεφρικής νόσου.

	rs2069861 rs2969840 rs2069837		
73	IL-6 -572C/G (rs1800796) IL-4 33T/C (rs 2070874)	546 ασθενείς με ΧΝΝ και 2777 μάρτυρες χωρίς ΧΝΝ (10 περιοχές της Ιαπωνίας)	Μεγαλύτερες μέσες τιμές eGFR σε ασθενείς με το -572 GG γονότυπο (LP): 76.9 vs 74.2 ml/min/1.73 m ² σε ασθενείς με το CC γονότυπο (p=0.004) Μεγαλύτερες μέσες τιμές eGFR σε ασθενείς με το γονότυπο IL-4 33 CC (HP): 75.8 vs 73.4 ml/min/1.73 m ² σε ασθενείς με τον TT γονότυπο (p=0.012) Η συχνότητα των γονότυπων IL-4 33 CC (HP) και IL-4 33 TT σε ασθενείς με ΧΝΝ: 11.4% vs 17.8, (p=0.009) Ο συνδιασμός των γονότυπων -572 GG και IL-4 33 CC συσχετίστηκε με τις μεγαλύτερες τιμές eGFR (79.1 ml/min/1.73 m ²) (p=0.041) και τη μικρότερη συχνότητα ΧΝΝ (0%) Αντίθετα ο συνδιασμός των γονότυπων IL-6-572CC και IL-4 33TT συσχετίστηκε με τις χαμηλότερες τιμές eGFR (73.4 ml/min/1.73 m ²) και τη μεγαλύτερη συχνότητα ΧΝΝ (17.9%)
77	-174G/C (rs1800795)	167 Καυκάσιοι ασθενείς με IgA νεφροπάθεια και 400 υγιείς -μάρτυρες (Φινλανδία)	Χωρίς συσχέτιση με ανάπτυξη και εξέλιξη IgA νεφροπάθειας (παρακολούθηση για 11 χρόνια)
78	-174G/C (rs1800795)	71 ασθενείς με Εστιακή τμηματική σπειραματοσκλήρυνση (ΕΤΣΣ) και 100 υγιείς-μάρτυρες	Χωρίς συσχέτιση με την εξέλιξη της νόσου (παρακολούθηση για 6 χρόνια)

79	<p>IL-6</p> <p>-174G/C</p> <p>-572C/G</p> <p>IL-10</p> <p>-1082A/G</p> <p>-592C/A</p> <p>-819C/T</p> <p>TNF-α</p> <p>-308G/A</p> <p>-238G/A</p> <p>-850C/T</p>	<p>257 ασθενείς σε ΤΣΧΝΝ σε ΑΚ και 200 υγιείς-μάρτυρες (Ινδία)</p> <p>Ομαδοποίηση ανάλογα με το βαθμό θρέψης</p>	<p><u>Ο συνδυασμός 5-8 αλληλίων:</u></p> <p><u>Υψηλής παραγωγής (HP):</u> IL-6-174C, IL-6 -572G, TNF-α-308A, TNF-α -238A, TNF-α -850T και</p> <p><u>Χαμηλής παραγωγής (LP):</u> IL-10-1082A, IL-10-819T, IL-10-592A συσχετίστηκε με αυξημένο κίνδυνο ΤΣΧΝΝ (OR:1.6, 95%CI:1.1-2.3, p=0.02), καθώς και με αυξημένο κίνδυνο υποθρεψίας (OR:1.9 ,95%CI: 1.1-3.4, p=0.02)</p>
80	<p>-634 C/G</p> <p>(rs1800796)</p>	<p>Ασθενείς με ΣΔ 2 :</p> <p>162 νορμοαλβουμινουρία</p> <p>138 μικροαλβουμινουρία</p> <p>154 μακροαλβουμινουρία</p> <p>και 142 μάρτυρες-υγιείς (Ιαπωνία)</p>	<p>Συχνότητα Γαλληλίου σε ασθενείς με μακροαλβουμινουρία:24.7% vs 15.1% σε ασθενείς με νορμοαλβουμινουρία, (p=0.0101)</p> <p>OR G αλληλίου σε σχέση με ανάπτυξη μακροαλβουμινουρίας: 1.84, 95%CI: 1.23-2.74 (p=0.0104)</p>
81	<p>IL-6-174C/G</p> <p>(rs1800795)</p>	<p>231 λήπτες νεφρικού μοσχεύματος (106 υπό MMF)</p> <p>(Τυνησία)</p>	<p>Χωρίς συσχέτιση γονότυπων με συχνότητα επεισοδίων οξείας απόρριψης ή χρόνιας δυσλειτουργίας του μοσχεύματος</p>

82	IL-6-174C/G (rs1800795)	66 λήπτες νεφρικού μοσχεύματος και 28 δότες νεφρού (Βουλγαρία)	Στους ασθενείς που παρουσίασαν χρόνια νεφροπάθεια του μοσχεύματος (CAN) υπήρχε μεγαλύτερη συχνότητα του γονότυπου IL-6-174 CC (χαμηλής παραγωγής,LP) και μικρότερη συχνότητα -174GG (υψηλής παραγωγής,HP) στους δότες ($p=0.019$) σε σύγκριση με ασθενείς με φυσιολογική λειτουργία μοσχεύματος (SGF)
----	----------------------------	---	---

5. ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ IL-6 ΚΑΙ ΠΡΟΩΡΟΤΗΤΑ

Η πρόωρη γέννηση νεογνών ορίζεται ως η γέννηση πριν την 37η εβδομάδα κύησης. Η προωρότητα αποτελεί την κυριότερη αιτία θνητότητας νεογέννητων χωρίς συγγενείς ή χρωμοσωμικές ανωμαλίες. Οδηγεί επίσης σε αυξημένη νοσηρότητα των επιβιωσάντων νεογνών, περιλαμβανομένης καθυστέρησης της ανάπτυξης του νευρικού συστήματος, χρόνιων παθήσεων του αναπνευστικού συστήματος, τύφλωσης, κώφωσης κ.α. Παρά τις προσπάθειες περιορισμού του φαινομένου προωρότητας, η συχνότητα του εξακολουθεί να βρίσκεται σε υψηλά επίπεδα. Δεν υπάρχει πλήρης κατανόηση της παθογένειας και ως εκ τούτου δεν μπορούν να ληφθούν μέτρα πρόληψης. Πιστεύεται ότι η αιτιολογία είναι πολύπλοκη και πολυπαραγοντική και σε αυτή συμμετέχουν γενετικοί παράγοντες που αφορούν τόσο τη μητέρα, όσο και το έμβρυο. Μια γονιδιακή θέση που πιθανόν να συμμετέχει στην παθογένεια, είναι η περιοχή του εκκινητή της *IL-6*. Ο πολυμορφισμός -174 G/C είναι ο περισσότερο μελετημένος.

Σε διάφορες μελέτες ανευρέθηκαν υψηλά επίπεδα *IL-6* στον ορό της μητέρας, σε τραχηλο-κολπικές εκκρίσεις και στο αμνιακό υγρό. Ο γονότυπος -174CC έχει συσχετιστεί με χαμηλότερα επίπεδα *IL-6* στο πλάσμα, σε σχέση με τους

γονότυπους GC ή GG. Οι Simhankai συν. παρατήρησαν ότι ο γονότυπος CC είναι προστατευτικός σε σχέση με τους CG και GG. (83) Τα αποτελέσματα των διαφόρων μελετών, όσον αφορά τη συσχέτιση των διαφόρων γονότυπων με τον κίνδυνο προωρότητας, είναι όμως αντικρουόμενα. Μελετώντας βέβαια τον παγκόσμιο γονιδιακό χάρτη, η παρουσία του C αλληλίου διαφέρει σημαντικά σε διαφορετικούς πληθυσμούς ατόμων. Έτσι, ενώ το C αλληλίο στη θέση -174 παρουσιάζεται σε υψηλή συχνότητα σε Ευρωπαϊκούς πληθυσμούς, απουσιάζει σε Ασιάτες, Ιάπωνες, Νιγηριανούς. Η ετερογένεια λοιπόν στον πληθυσμό συμμετοχής είναι και ο σημαντικότερος λόγος που οι μέχρι στιγμής υπάρχουσες εργασίες είχαν αντιφατικά αποτελέσματα, όπως επίσης και η διαφορά στη μεθοδολογία που χρησιμοποιήθηκε, καθώς και ο μικρός αριθμός ασθενών.

Οι Wilfred Wu και συν. στην προσπάθεια να εκτιμήσουν συνολικά τις διάφορες εργασίες που αφορούσαν το φαινόμενο της προωρότητας, διενέργησαν μια μεταανάλυση. Τα 10 από τα άρθρα που μελέτησαν αφορούσαν μητρικό γονοτυπικό έλεγχο σε 1165 πρόωρες γεννήσεις και 3830 τελειόμηνες ως μάρτυρες, ενώ 4 άρθρα αφορούσαν εμβρυικό γονοτυπικό έλεγχο, σε 785 πρόωρες γεννήσεις και 882 τελειόμηνες. Ο γονοτυπικός έλεγχος αφορούσε τη τον πολυμορφισμό *IL-6-174*. Κάθε μελέτη διαστρωματοποιήθηκε με βάση την καταγωγή του συμμετέχοντος πληθυσμού σε Ευρωπαϊκούς και σε άλλους ετερογενείς πληθυσμούς. Στο μητρικό γονοτυπικό έλεγχο ο σχετικός κίνδυνος (OR) για ανάπτυξη προωρότητας στο γονότυπο CC έναντι των CG+GG ήταν 0.74 (95%CI: 0.58-0.96) δηλωτικό του προστατευτικού ρόλου του γονότυπου CC. Στην υποομάδα των γυναικών Ευρωπαϊκής καταγωγής ο OR για το γονότυπο CC έναντι των CG+GG ήταν 0.68 (95%CI: 0.51-0.91), ενώ σε άλλους πληθυσμούς όπου ο γονότυπος CC δεν υπάρχει ή υπάρχει σε πολύ χαμηλό ποσοστό δεν ήταν δυνατό να παρατηρηθεί προστατευτική δράση. Στον εμβρυικό γονοτυπικό έλεγχο ο OR για το γονότυπο CC έναντι των CG+GG ήταν 0.98 (95%CI: 0.72-1.33). Μολονότι ο εμβρυικός γονότυπος CC παρουσίασε μια προστατευτική δράση σε Ευρωπαϊκούς πληθυσμούς, αυτή δεν ήταν σημαντική. (25)

6. Η ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΗΣ ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΗΣ 6 ΣΤΗ ΝΕΦΡΙΚΗ ΝΟΣΟ

Η θνητότητα σε ασθενείς τελικού σταδίου χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας εξακολουθεί να παραμένει υψηλή παρά τη βελτίωση των μεθόδων υποκατάστασης της νεφρικής λειτουργίας και της ιατρικής παρακολούθησης των ασθενών. Η κυριότερη αιτία είναι η αθηροσκληρυντική καρδιαγγειακή νόσος. Παρά το ότι σε ένα μεγάλο ποσοστό των ασθενών η κύρια αιτία νεφρικής νόσου είναι ο σακχαρώδης διαβήτης και η αρτηριακή υπέρταση, καταστάσεις που αυξάνουν τον κίνδυνο καρδιαγγειακής νοσηρότητας και θνητότητας, η έκταση και σοβαρότητα των καρδιαγγειακών επιπλοκών στους ασθενείς αυτούς δεν μπορεί να δικαιολογηθεί από την παρουσία και μόνον των κλασσικών παραγόντων κινδύνου.(84) Αυτή ακριβώς η παρατήρηση οδήγησε εκατοντάδες επιστήμονες στη διερεύνηση μη παραδοσιακών παραγόντων κινδύνου για την ανάπτυξη καρδιαγγειακής νόσου σε ασθενείς με χρόνια νεφρική νόσο.

Τα τελευταία χρόνια ολοένα πληθαίνουν οι ενδείξεις συμμετοχής φλεγμονωδών παραγόντων στην παθογένεια ποικίλων κλινικών καταστάσεων όπως καρδιαγγειακή νόσος, διαβήτης, παχυσαρκία, υποθρεψία, ακόμα και στην αυξημένη ηλικία. (84) Η χρόνια νεφρική νόσος, χαρακτηρίζεται επίσης από παρουσία φλεγμονωδών διεργασιών που συνδέονται παράλληλα με οξειδωτικό stress, ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, αγγειακές επασβεστώσεις και υποθρεψία.(84) Η φλεγμονή αποτελεί ένα ουσιώδες παθοφυσιολογικό φαινόμενο που συνοδεύει τη χρόνια νεφρική νόσο, κυρίως τελικού σταδίου. (85) Αποτελεί παράγοντα κινδύνου για ανάπτυξη και εξέλιξη τόσο της νεφρικής νόσου, όσο και της καρδιαγγειακής νόσου. (8, 85-88). Έχει ενοχοποιηθεί και συσχετιστεί με όλα τα αίτια θνητότητας τόσο σε ασθενείς τελικού σταδίου χρόνιας νεφρικής νόσου, όσο και στο γενικό πληθυσμό. (8, 85, 89)

Σε ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια τελικού σταδίου που υποβάλλονται σε περιοδικό πρόγραμμα αιμοκάθαρσης παρατηρούνται αυξημένα επίπεδα στο πλάσμα φλεγμονωδών δεικτών, όπως WBC, CRP, IL-6 και TNF-α, η παρουσία των οποίων έχει συσχετιστεί με την πρόγνωση και αύξηση της θνητότητας.(84,85) Η αιτιολογία της ενεργοποίησης της

πολύπλοκης διεργασίας της φλεγμονής είναι πολυπαραγοντική. Από τους παράγοντες που ενοχοποιούνται σημαντικότεροι είναι το ουραιμικό περιβάλλον, η κακή θρέψη, η επαφή του αίματος με τα φίλτρα αιμοκάθαρσης, η κακή ποιότητα νερού της αιμοκάθαρσης, η μη επαρκής κάθαρση, οι διαταραχές του ανοσοποιητικού συστήματος, οι συχνές λοιμώξεις, η επαφή με το περιτοναϊκό διάλυμα, η παρουσία ξένων σωμάτων όπως κεντρικοί φλεβικοί καθετήρες και αρτηριοφλεβικά μοσχεύματα. (74,84,85,88,89)

Η επαφή του αίματος με τα φίλτρα της αιμοκάθαρσης συγκεκριμένα, οδηγεί σε ουδετεροπενία και σε λειτουργικές και μορφολογικές αλλοιώσεις των πολυμορφοπύρηνων λευκοκυττάρων, όπως διέγερση και αποκοκκίωση τους. Ακολουθεί απελευθέρωση φλεγμονωδών μεσολαβητών. Επίσης, γίνεται ενεργοποίηση των μονοκυττάρων, που οδηγεί σε απελευθέρωση IL-1 και στη συνέχεια IL-2. Οι 3 κύριες κυτταροκίνες, η παραγωγή των οποίων απορρυθμίζεται στο ουραιμικό περιβάλλον και οδηγεί σε αύξηση της καρδιαγγειακής νοσηρότητας και στην υποθρεψία είναι η IL-6, IL-10, και TNF- α . Διάφοροι πολύπλοκοι μηχανισμοί αναπτύσσονται και οδηγούν σε αλληλεπίδραση των διαφόρων κυτταροκινών μεταξύ τους. Έτσι αύξηση της έκφρασης μιας συγκεκριμένης κυτταροκίνης, δυνατόν να οδηγεί σε αύξηση ή μείωση της έκφρασης άλλων. Επίσης αντιφλεγμονώδεις κυτταροκίνες όπως IL-10 ανταγωνίζονται προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες.(84)

Η IL-6 διαθέτει προφλεγμονώδεις, αλλά και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Ενώ οι πλείστες άλλες κυτταροκίνες ασκούν τη δράση τους μέσω αυτοκρινικών και παρακρινικών μηχανισμών, οι κύριες δράσεις της IL-6 οφείλονται στην παρουσία της στην κυκλοφορία. Ασκή βέβαια και τοπικές δράσεις. Σε τελικό στάδιο χρόνιας νεφρικής νόσου μειώνεται η κάθαρση της από τους νεφρούς, αυξάνεται όμως και η παραγωγή της. Έχει ενοχοποιηθεί για τη συμμετοχή της στην ανάπτυξη και εξέλιξη της αθηροσκλήρυνσης μέσω διαφόρων μηχανισμών. Ένας από αυτούς έχει σχέση με τη μέσω IL-6 αύξηση της παραγωγής CRP από το ήπαρ, που ως γνωστόν μειώνει την έκφραση της eNOS (endothelial nitricoxide synthase). Επίσης έχει ενοχοποιηθεί για την παθογένεια της υποθρεψίας. Γενικά έχει χαρακτηριστεί ως 'κακή' κυτοκίνη και συσχετιστεί με φτωχή πρόγνωση και αυξημένη θνητότητα των ασθενών. (84)

Οι JamesBWetmore και συν. προσπάθησαν να διερευνήσουν τη συσχέτιση φλεγμονωδών δεικτών με τη θνητότητα σε ασθενείς τελικού σταδίου χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας σε πρόγραμμα αιμοκάθαρσης. Στη μελέτη εντάχθηκαν 236 ασθενείς από 4 διαφορετικές μονάδες αιμοκάθαρσης του San Francisco σε πρόγραμμα για τουλάχιστον 2 μήνες. Οι συμμετέχοντες δεν παρουσίαζαν ενεργό φλεγμονή ή κακοήθεια, δεν ελάμβαναν κορτικοειδή και δεν είχαν νοσηλευτεί πρόσφατα σε νοσοκομείο. Παρακολουθήθηκαν για μέσο όρο 2,5 περίπου χρόνια. Οι φλεγμονώδεις δείκτες που μελετήθηκαν ήταν η hs-CRP, IL-6, αλβουμίνη και το αμυλοειδές Α. Η φλεγμονή και η υποθρεψία είναι αλληλένδετες οντότητες που συμβάλλουν στην αύξηση της θνητότητας. Η υπαλβουμιναιμία είναι δείκτης υποθρεψίας σε αιμοκαθαιρόμενους ασθενείς και έχει συσχετιστεί με αυξημένη θνητότητα στον πληθυσμό αυτό. Το αμυλοειδές ανήκει στην οικογένεια των πρωτεϊνών οξείας φάσης και δε μελετήθηκε ιδιαίτερα από άλλους ερευνητές. Από τους συμμετέχοντες ποσοστό 36% απεβίωσε κατά τη διάρκεια της μελέτης και το 49% των θανάτων οφειλόταν σε καρδιαγγειακά αίτια. Από τα σημαντικότερα συμπεράσματα της μελέτης ήταν ότι η IL-6 παρουσίαζε την ισχυρότερη συσχέτιση με τη θνητότητα ως ανεξάρτητος παράγοντας ($p=0.0002$), ακολουθούμενη στενά από τα χαμηλά επίπεδα αλβουμίνης ($p=0.0005$). Η CRP συσχετίστηκε οριακά με τη θνητότητα ($p=0.046$), ενώ το αμυλοειδές Α δεν παρουσίασε συσχέτιση ($p=0.161$). (85)

Η γνώση, ότι η φλεγμονή κατέχει δεσπόζουσα θέση στη χρόνια νεφρική νόσο αλλά η απουσία δεδομένων σχετικά με το στάδιο στο οποίο αναπτύσσεται, σε συνδυασμό με τα αποτελέσματα της μελέτης Framingham offspring όπου τόσο ο σπλαχνικός, όσο και ο υποδόριος λιπώδης ιστός φάνηκε ότι σχετίζονται με αυξημένη παραγωγή κυτταροκινών και αποτελούν παράγοντα κινδύνου στη ΧΝΝ, κέντρισαν το ενδιαφέρον των B.Sprotto και συν.(90) Είναι γνωστό ότι η περίσσεια λίπους σχετίζεται με χρόνια φλεγμονώδη αντίδραση, από παθολογική έκφραση κυτταροκινών, αύξηση των πρωτεϊνών οξείας φάσης και παραγωγής IL-6 και TNF- α .(91) Σχεδιάστηκε λοιπόν μια μελέτη στην οποία συμμετείχαν 75 ασθενείς σε διάφορα στάδια ΧΝΝ (2-5) εκ των οποίων 21 ήταν παχύσαρκοι, 28 υπέρβαροι και 26 με βάρος εντός φυσιολογικών ορίων. Επίσης συμμετείχαν 33 υγιείς μάρτυρες. Σε όλους τους συμμετέχοντες υπολογίστηκε το eGFR χρησιμοποιώντας την εξίσωση MDRD (92) και μετρήθηκαν στο πλάσμα τα

επίπεδα IL-6 και TNF- α . Σε μια άλλη ομάδα από 19 ασθενείς σε ΧΝΝ προτελικού σταδίου, εκ των οποίων 3 παχύσαρκοι, 8 υπέρβαροι, 8 φυσιολογικού βάρους και 17 μάρτυρες-υγιείς λήφθηκε βιοψία υποδόριου λίπους από το οποίο απομονώθηκε το mRNA και μετρήθηκε έτσι η έκφραση φλεγμονωδών κυτταροκινών IL-1 β , IL-6, IL-8 και TNF- α . Συγκρίθηκαν έτσι τα επίπεδα έκφρασης των ίδιων κυτταροκινών στο πλάσμα και στον υποδόριο λιπώδη ιστό. Παρατηρήθηκε ότι τα επίπεδα IL-6 στο πλάσμα ήταν σημαντικά μεγαλύτερα στους ασθενείς με ΧΝΝ σε σχέση με τους υγιείς ($p < 0.001$) και η αύξηση αυτή παρατηρήθηκε από τα αρχικά στάδια ΧΝΝ, χωρίς περαιτέρω αύξηση όσο εξελισσόταν η ΧΝΝ, δηλαδή δεν σχετίζονταν με το e-GFR. Αντίθετα τα επίπεδα TNF- α παρουσίαζαν αύξηση στο πλάσμα σε σχέση με τους υγιείς, όμως είχαν διαφορετική δυναμική και αντίστροφη συσχέτιση με το e-GFR ($p < 0.001$). Τα επίπεδα mRNA των IL-6, TNF- α , IL- β , IL-8 δεν παρουσίαζαν σημαντική διαφορά σε σχέση με τους υγιείς, δηλαδή δεν υπήρχε υπερέκφραση των κυτταροκινών αυτών στο υποδόριο λίπος. Επίσης τα επίπεδα στο πλάσμα των κυτταροκινών αυτών δεν είχαν καμία σχέση με την έκφραση τους στον υποδόριο λιπώδη ιστό. Η συστηματική φλεγμονή που υφίστατο στους ασθενείς σε ΧΝΝ, ήταν ως εκ τούτου ανεξάρτητη από την γονιδιακή έκφραση των κυτταροκινών στον υποδόριο λιπώδη ιστό. Μελέτες για έκφραση κυτταροκινών στο σπλαχνικό λιπώδη ιστό πιθανόν να αναδείξουν διαφορετικά αποτελέσματα και πιθανή υπερέκφραση τους να οδηγεί σε αύξηση της IL-6 και TNF- α στο πλάσμα και να επηρεάζει έτσι τη συστηματική φλεγμονώδη αντίδραση. (91)

Η υπερχοληστερολαιμία είναι γνωστό ότι αποτελεί σημαντικό παράγοντα κινδύνου αθηροσκληρυντικής καρδιαγγειακής νόσου. Σε ασθενείς σε τελικό στάδιο χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας επικρατεί ακριβώς το αντίθετο-παράδοξο, δηλαδή τα υψηλά επίπεδα χοληστερόλης μοιάζουν να είναι προστατευτικά και να μειώνουν την καρδιαγγειακή θνητότητα, ενώ ασθενείς με χαμηλά επίπεδα χοληστερόλης έχουν αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο. Το παράδοξο αυτό φαινόμενο πιθανότατα οφείλεται στην παρουσία φλεγμονής στους ασθενείς αυτούς. Η υπόθεση ότι υποχοληστερολαιμικοί και υπερχοληστερολαιμικοί ασθενείς σε ΤΣΧΝΝ υπό αιμοκάθαρση αντιδρούν με εντελώς διαφορετικό τρόπο στο φλεγμονώδες και αθηροσκληρυντικό ερέθισμα οδήγησε τους Γιώργο Τσιρπανλή και συν. στον σχεδιασμό μελέτης στην οποία μετρήθηκε η ex-vivo

απελευθέρωση τριών διαλυτών παραγόντων του συστήματος IL-6 από περιφερικά μονοπύρρηνα κύτταρα, ενεργοποιημένα ή όχι (PBMCs). Τα κύτταρα αυτά απομονώθηκαν από ασθενείς σε αιμοκάθαρση εκ των οποίων κάποιοι είχαν υψηλά επίπεδα χοληστερόλης και άλλοι χαμηλά. Επίσης λήφθηκαν κύτταρα και από ομάδα μαρτύρων. Μετρήθηκε η απελευθέρωση IL-6, sIL-6R (διαλυτός υποδοχέας της IL-6) και sgr130. Στη μελέτη εντάχθηκαν 22 ασθενείς σε ΑΚ με επίπεδα χοληστερόλης ≤ 200 mg/dl και 23 ασθενείς με επίπεδα χοληστερόλης > 200 mg/dl, εκ των οποίων κανείς δεν ελάμβανε υπολιπιδαιμική αγωγή. Επίσης αποκλείστηκαν ασθενείς με ενεργό λοίμωξη, κακοήθεια, νόσο κολλαγόνου, τραύμα και μείζον καρδιαγγειακό επεισόδιο. Σε όλους τους ασθενείς χρησιμοποιείτο το ίδιο φίλτρο αιμοκάθαρσης, διάλυμα και νερό. 21 μάρτυρες, με $GFR \geq 80$ ml/min επίσης εντάχθηκαν στη μελέτη. Λήφθηκαν δείγματα αίματος και απομονώθηκαν περιφερικά μονοπύρρηνα κύτταρα εκ των οποίων άλλα διεγέρθηκαν και άλλα όχι. Μετρήθηκαν τα επίπεδα IL-6 στο πλάσμα και στο υπερκείμενο διάλυμα των κυττάρων, καθώς και τα επίπεδα των sIL-6R και gr130 (όπως αναφέρθηκε στην εισαγωγή το gr 130 ανταγωνίζεται την δράσης της IL-6 σε αντίθεση με το sIL-6R). Παρατηρήθηκε ότι τα επίπεδα IL-6 στον ορό ήταν σημαντικά μεγαλύτερα και στις 2 ομάδες ασθενών (χωρίς ουσιαστική διαφορά) ,σε σχέση με τους μάρτυρες ($p < 0.001$). Τα επίπεδα του sIL-6R (solubleIL-6R) ήταν μεγαλύτερα, στην ομάδα των μαρτύρων από ότι στους αιμοκαθαιρόμενους ασθενείς ($p = 0.022$), αλλά το συνολικό αποτέλεσμα δράσης και των 2 παραγόντων, που δρουν αγωνιστικά στο σύστημα της IL-6 δηλαδή sIL-6R x IL-6 ήταν υψηλότερο στους αιμοκαθαιρόμενους ασθενείς. Τα επίπεδα του gr130 στο πλάσμα δεν διέφεραν στις 3 ομάδες ($p = 0.471$) .Τα επίπεδα LDL σχετίστηκαν θετικά με τα επίπεδα στο πλάσμα IL-6 στους μάρτυρες. Στη συνέχεια μετρήθηκε η απελευθέρωση των παραγόντων αυτών από μη ενεργοποιημένα PBMCs. Η απελευθέρωση IL-6 δε διέφερε σημαντικά στις 3 ομάδες ($p = 0.714$). Η απελευθέρωση sIL-6R ήταν μικρή και στις 3 ομάδες, αλλά μεγαλύτερη στην ομάδα των μαρτύρων από ότι στην ομάδα αιμοκαθαιρομένων με υψηλά επίπεδα χοληστερόλης ($p = 0.05$). Η απελευθέρωση sgr130 από μη ενεργοποιημένα PBMCs δε διέφερε στις 3 ομάδες ($p = 0.111$) Οι ίδιες μετρήσεις έγιναν και σε κύτταρα PBMCs ενεργοποιημένα με λιποπολυσακχαρίδη(LPS). Τα επίπεδα IL-6 ήταν μεγαλύτερα στους ασθενείς με χαμηλά επίπεδα χοληστερόλης σε σχέση με τους

ασθενείς με υψηλά επίπεδα χοληστερόλης ($p=0.011$). Τα επίπεδα sIL-6R ήταν σημαντικά μεγαλύτερα και στις 2 ομάδες αιμοκαθαιρόμενων ασθενών (με τιμές χοληστερόλης κάτω ή άνω των 200 mg/dl) σε σχέση με τους μάρτυρες ($p<0.001$, $p=0.006$ αντίστοιχα). Ανάμεσα στις δύο ομάδες ασθενών τα επίπεδα sIL-6R ήταν μεγαλύτερα στους ασθενείς με χαμηλά επίπεδα χοληστερόλης ($p=0.031$). Τα επίπεδα του gp130 ήταν μεγαλύτερα στους αιμοκαθαιρόμενους ασθενείς με χαμηλή χοληστερόλη σε σχέση με τους μάρτυρες ($p<0.001$). Συμπερασματικά λοιπόν η έκκριση των διαφόρων παραγόντων του συστήματος IL-6 από ενεργοποιημένα PBMCs κύτταρα παρουσιάζει αντίστροφη συσχέτιση με τα επίπεδα χοληστερόλης στο πλάσμα αιμοκαθαιρομένων ασθενών. Τα αποτελέσματα της εργασίας αυτής συνέβαλαν σημαντικά στην προσπάθεια κατανόησης του παράδοξου αυτού φαινομένου.(18)

Η IL-6 όπως αναφέρθηκε και στην εισαγωγή παράγεται από μια πλειάδα κυττάρων, κυρίως ενεργοποιημένα μακροφάγα και λεμφοκύτταρα. Κύτταρα όμως του λιπώδους και μυϊκού ιστού αποτελούν δυνητικά μια μικρότερου βαθμού πηγή παραγωγής. Η IL-6 mRNA εκφράζεται στα κύτταρα σκελετικών μυών που βρίσκονται σε ηρεμία και αυξάνεται κατά την σύσπαση του μυός.(8) Διάφορα φυσιολογικά και παθολογικά ερεθίσματα ενεργοποιούν τους μηχανισμούς απελευθέρωσης IL-6 από τους μύες. Η IL-6 που παράγεται από τους μύες πιθανότατα διαδραματίζει ρόλο στην ομοίωση του μεταβολισμού, ενεργοποιώντας τη λιπόλυση σε περιόδους αυξημένων μεταβολικών αναγκών. Έτσι η σωματική άσκηση αποτελεί ένα ερέθισμα απελευθέρωσης IL-6.(93) Η ινσουλίνη επίσης αυξάνει την γονιδιακή έκφραση IL-6 στους σκελετικούς μύες ατόμων με αντίσταση στην ινσουλίνη. (94) Η παχυσαρκία παρατηρήθηκε ότι οδηγεί σε αύξηση της απελευθέρωσης IL-6 από μυς του βραχίονα. (95)

Το κατά πόσο η ουραιμία προκαλεί αλλαγές στο μεταβολισμό της IL-6 στους μύς ουδέποτε διερευνήθηκε και αυτό αποτέλεσε κίνητρο μελέτης από τους G.Garibotto και συν. Έτσι μελέτησαν κατά πόσο σε συνθήκες ουραιμίας η IL-6 παράγεται στους σκελετικούς μύς και ακολούθως μεταφέρεται σε άλλους ιστούς. Αρχικά μελετήθηκε η ανταλλαγή IL-6 στην περιοχή του βραχίονα (που αποτελείται ως επί το πλείστον από σκελετικούς μύς) σε ασθενείς σε ΧΝΝ σταδίων 3,4 και 5 υπό αιμοκάθαρση. Στη συνέχεια διερευνήθηκε κατά πόσο τα μυϊκά κύτταρα αποτελούν πηγή *per se* παραγωγής IL-6, υπολογίζοντας την

έκφραση IL-6 με ανοσοιστοχημεία και υπολογισμό του IL-6 mRNA στα μυϊκά κύτταρα. Υπολογίστηκαν σε όλους τους συμμετέχοντες τα επίπεδα IL-6 στο αρτηριακό και φλεβικό αίμα του βραχίονα και ο ρυθμός ανταλλαγής τους, καθώς και τα επίπεδα IL-6 στο πλάσμα. Στη μελέτη συμμετείχαν 16 ασθενείς σε ΧΝΝ σταδίων 3 και 4, 15 ασθενείς σε Αιμοκάθαρση και 6 υγιείς-μάρτυρες.

Στους υγιείς-μάρτυρες τα αρτηριακά επίπεδα IL-6 δε διέφεραν από τα επίπεδα στο πλάσμα. Επίσης τα φλεβικά επίπεδα αν και παρουσίασαν αυξητική τάση εντούτοις δεν είχαν σημαντική διαφορά από τα αρτηριακά. 7 από τους 16 ασθενείς με ΧΝΝ σταδίου 3 και 4 και 10 από τους 15 αιμοκαθαιρόμενους είχαν αρτηριακά επίπεδα IL-6 >5 pg/ml. Σε αυτούς τους ασθενείς τα φλεβικά επίπεδα IL-6 ήταν σημαντικά μεγαλύτερα από τα αρτηριακά. Στους λοιπούς ασθενείς με επίπεδα IL-6 <5 pg/ml η απελευθέρωση από τους περιφερικούς ιστούς παρατηρήθηκε ως μια απλή τάση. Στο σύνολο πάντως των ασθενών με ΧΝΝ σταδίων 3 και 4 και αυτών σε αιμοκάθαρση η αρνητική αρτηριο-φλεβική διαφορά της IL-6 ήταν στατιστικά σημαντική ($p < 0.05$). Η απελευθέρωση IL-6 ήταν 7 φορές μεγαλύτερη στους αιμοκαθαιρόμενους ασθενείς σε σχέση με τους λοιπούς νεφροπαθείς και σε αυτή την κατηγορία ασθενών η απελευθέρωση IL-6 επηρέαζε τα επίπεδα IL-6 στο πλάσμα. Αυτό δεν παρατηρήθηκε σε σημαντικό βαθμό στους ασθενείς προτελικού σταδίου νεφρικής ανεπάρκειας, παρά μόνο σε αυτούς με στοιχεία φλεγμονής, δηλαδή υψηλά επίπεδα IL-6 στο πλάσμα. Η έκφραση IL-6 mRNA στους σκελετικούς μύες παρουσίαζε αύξηση στους ασθενείς με προχωρημένη νεφρική ανεπάρκεια. Η έκφραση της IL-6 με ανοσοιστοχημεία παρουσίαζε επίσης αύξηση στους σκελετικούς μύς των ουραιμικών ασθενών. Συμπερασματικά, η απελευθέρωση IL-6 από τους σκελετικούς μύς ασθενών με προχωρημένη ΧΝΝ σε αιμοκάθαρση συμβάλλει σημαντικά στον καθορισμό των επιπέδων της IL-6 στο πλάσμα. Αυτό δεν συμβαίνει σε ασθενείς ΧΝΝ προτελικού σταδίου και ο λόγος πιθανότατα να είναι αφενός η μικρότερου βαθμού φλεγμονή στους ασθενείς αυτούς, αφετέρου δε η υπολειπόμενη νεφρική λειτουργία που οδηγεί στην αποβολή IL-6.(8)

Η κατάθλιψη αποτελεί τη συχνότερη ψυχιατρική διαταραχή που παρατηρείται σε ασθενείς τελικού σταδίου νεφρικής ανεπάρκειας σε κάθαρση. Σχετίζεται με φτωχότερη πρόγνωση των ασθενών και αυξημένη θνητότητα. Δεδομένης της γνώσης ότι η φλεγμονή αποτελεί κυρίαρχη οντότητα στους ασθενείς αυτούς,

που σχετίζεται με αυξημένη νοσηρότητα και θνητότητα οι Makrouhi Sonikian και συν. μελέτησαν την πιθανό ρόλο της φλεγμονής στην παθογένεια της κατάθλιψης, καθώς και στη βαρύτητα της.

Έτσι σχεδίασαν μια μελέτη στην οποία ενέταξαν 44 ασθενείς σε τελικό στάδιο νεφρικής ανεπάρκειας, εκ των οποίων οι 27 σε Αιμοκάθαρση και οι 17 σε περιτοναϊκή κάθαρση, καθώς και 20 υγιείς-μάρτυρες. Απέκλεισαν ασθενείς καπνιστές, με εξάρτηση στο αλκοόλ, λήπτες αντικαταθλιπτικής αγωγής, με χρόνια λοίμωξη, νόσο κολλαγόνου, ενδοκρινική νόσο, σοβαρή καρδιαγγειακή νόσο, καρδιακή ανεπάρκεια, ή χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια. Τα καταθλιπτικά συμπτώματα αξιολογήθηκαν χρησιμοποιώντας την κλίμακα Zung Self-Rating Depression scale (ZS).(96) Γίνονταν δύο αιμοληψίες με διαφορά 30 ημερών σε όλους τους συμμετέχοντες και εκτός από πλήρη αιματολογικό και βιοχημικό έλεγχο υπολογίζονταν τα επίπεδα IL-6, TNF- α , IL-10 στο πλάσμα. Παρατηρήθηκε ότι ασθενείς τελικού σταδίου χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας είχαν υψηλότερα ZS scores σε σύγκριση με τους μάρτυρες. Επίσης είχαν υψηλότερα επίπεδα IL-6, TNF- α , ESR και WBC. Δεν παρατηρήθηκε διαφορά στα επίπεδα CRP και IL-10 ανάμεσα στους πάσχοντες και υγιείς. Οι αιμοκαθαιρόμενοι ασθενείς με σοβαρού βαθμού κατάθλιψη είχαν διπλάσιες τιμές IL-6 στον ορό σε σύγκριση με ασθενείς χωρίς κατάθλιψη ($p=0.02$). Η IL-6 είναι η μόνη παράμετρος που συσχετίστηκε θετικά με το βαθμό κατάθλιψης και πιθανότατα διαδραματίζει ρόλο στην παθογένεια της κατάθλιψης σε ασθενείς τελικού σταδίου χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας. (88)

Σε μια άλλη μελέτη των Kuo-Chin Hung και συν. μελετήθηκε η πιθανή συσχέτιση της κατάθλιψης σε ασθενείς που βρίσκονται σε τελικό στάδιο χρόνιας νεφρικής νόσου με διάφορες δημογραφικές, κοινωνικοοικονομικές, κλινικές και εργαστηριακές μεταβλητές. Έτσι 146 ασθενείς σε Αιμοκάθαρση αξιολογήθηκαν για πιθανή ύπαρξη κατάθλιψης (με βάση το Beck Depression Inventory) και ακολούθως εκτιμήθηκε η κοινωνικοοικονομική τους κατάσταση και η παρουσία παραγόντων συν-νοσηρότητας. Επίσης υπολογίστηκαν διάφορες εργαστηριακές παράμετροι μεταξύ των οποίων αλβουμίνη, ολική χοληστερόλη, τριγλυκερίδια, επίπεδα IL-6 στον ορό. Εκτιμήθηκε επίσης η επάρκεια κάθαρσης με τη χρήση URR (ureareductionratio) και του Kt/V. Το ποσοστό κατάθλιψης στους ασθενείς αυτούς ήταν ιδιαίτερα υψηλό (45.9%) και υπήρχαν περισσότεροι

παράγοντες συν-νοσηρότητας. Τα επίπεδα IL-6 στο πλάσμα ήταν ιδιαίτερα αυξημένα σε σύγκριση με τους ασθενείς χωρίς κατάθλιψη ($p < 0.001$). Ο βαθμός κατάθλιψης συσχετίστηκε αρνητικά με τα επίπεδα αλβουμίνης ($p = 0.006$), το δείκτη επάρκειας κάθαρσης (Kt/V) και την ηλικία ($p = 0.007$). Επίσης συσχετίστηκε άμεσα με την παρουσία παραγόντων συννοσηρότητας ($p = 0.037$). Η συσχέτιση του βαθμού κατάθλιψης με τα επίπεδα IL-6 στο πλάσμα επιβεβαιώθηκε στην πολυπαραγοντική ανάλυση ($p = 0.001$).⁽⁹⁷⁾

Οι ασθενείς με μεταμόσχευση νεφρού αποτελούν μια ιδιαίτερη ομάδα ασθενών με αυξημένη νοσηρότητα και θνητότητα. Οι Blach και συν. οργάνωσαν μια αξιολογη μελέτη σε ασθενείς με μεταμόσχευση νεφρού και ύπαρξη περιοδοντίτιδας, μιας χρόνιας φλεγμονώδους νόσου του περιοδοντίου που οφείλεται σε βακτήρια που υπάρχουν στην οδοντική πλάκα και το υγρό των ούλων. Σκοπός ήταν να διερευνηθεί η συσχέτιση της οντότητας αυτής με τα επίπεδα φλεγμονωδών δεικτών στο πλάσμα. Σε περίπτωση που η χρόνια αυτή φλεγμονή επηρέαζε σημαντικά τα επίπεδα των φλεγμονωδών δεικτών, τότε η αντιμετώπιση της θα ήταν μεγάλης σημασίας στους μεταμοσχευμένους ασθενείς, καθώς θα συνέβαλλε ουσιαστικά στη μείωση της καρδιαγγειακής νοσηρότητας και θνητότητας. Έτσι οι επιστήμονες αυτοί οργάνωσαν μια μελέτη στην οποία ενέταξαν 117 ασθενείς με μεταμόσχευση νεφρού, οι οποίοι εξετάζονταν από οδοντίατρο για πιθανή ύπαρξη περιοδοντίτιδας και κατατάσσονταν σε υποκατηγορίες ανάλογα με τη βαρύτητα αυτής. Στη μελέτη εντάχθηκαν επίσης 36 υγιείς-μάρτυρες με φυσιολογική νεφρική λειτουργία και χωρίς παρουσία περιοδοντίτιδας ή περιοδοντίτιδα ήπιου-μέτριου βαθμού. Από το σύνολο των ασθενών οι 35 (1η ομάδα) διαγνώστηκαν με σοβαρού βαθμού περιοδοντίτιδα, ενώ οι λοιποί (2η ομάδα) είτε δεν παρουσίαζαν καθόλου στοιχεία φλεγμονής ή είχαν ήπιου-μέτριου βαθμού φλεγμονή. Σε όλους τους συμμετέχοντες υπολογίζονταν μεταξύ άλλων τα επίπεδα στον ορό IL-6, TNF- α , hs-CRP. Δεν παρατηρήθηκε διαφορά στη λειτουργικότητα του μοσχεύματος ανάμεσα στις δύο ομάδες ασθενών. Και στις 2 ομάδες ασθενών παρατηρήθηκαν μεγαλύτερες τιμές στο πλάσμα TNF- α , από ότι στους υγιείς ($p_1 = 0.005$, $p_2 = 0.0017$), ενώ οι τιμές της IL-6 και CRP ήταν μεγαλύτερες μόνο στην ομάδα ασθενών με σοβαρού βαθμού περιοδοντίτιδα σε σχέση με τους υγιείς ($p = 0.0026$, $p = 0.0001$ αντίστοιχα). Δεν παρατηρήθηκε διαφορά στα

επίπεδα IL-6 και TNF-α στον ορό ανάμεσα στις 2 ομάδες ασθενών ενώ τα επίπεδα CRP ($p=0.006$) ήταν σημαντικά μεγαλύτερα στην ομάδα ασθενών με σοβαρού βαθμού περιοδοντίτιδα. Η 1η ομάδα ασθενών παρουσίασε αυξημένο κίνδυνο θνητότητας ($p=0.001$), αλλά όχι διαφορετικό κίνδυνο απώλειας λειτουργικότητας του μοσχεύματος ή διπλασιασμού των επιπέδων κρεατινίνης ($p=0.12$). Επίσης τα επίπεδα IL-6 στον ορό συσχετίζονταν σε σημαντικό βαθμό με την ηλικία ($p=0.0004$). Κατά τη διάρκεια των 60 μηνών παρακολούθησης των ασθενών αυτών 4 ασθενείς απεβίωσαν, 24 απώλεσαν το νεφρικό μόσχευμα και 4 διπλασίασαν τα επίπεδα κρεατινίνης τους στο πλάσμα.

Το καταληκτικό συμπέρασμα της μελέτης ήταν ότι η σοβαρού βαθμού περιοδοντίτιδα στους ασθενείς με μεταμόσχευση νεφρού συσχετίζεται με αυξημένες τιμές hs-CRP και IL-6 στο πλάσμα και με αυξημένο κίνδυνο θνητότητας. Δεν είναι ξεκάθαρο κατά πόσο η θεραπεία της περιοδοντίτιδας σε αυτούς τους ασθενείς δύναται να μειώσει την θνητότητα. Είναι βέβαιο όμως ότι οι ασθενείς θα πρέπει να υποβάλλονται περιοδικά σε εξέταση από οδοντίατρο και αν χρειάζεται να υποβληθούν σε θεραπευτική αγωγή.(98)

7. ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ ΑΛΛΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ ΣΤΗ ΧΡΟΝΙΑ ΝΕΦΡΙΚΗ ΝΟΣΟ

Η συχνότητα της χρόνιας νεφρικής νόσου και του τελικού σταδίου νεφρικής ανεπάρκειας ολοένα αυξάνεται παγκόσμια. Αποτελεί ένα πολύ σοβαρό πρόβλημα που οδηγεί σε αύξηση της νοσηρότητας και θνητότητας. Η εξέλιξη της χρόνιας νεφρικής νόσου εξαρτάται από τους παραδοσιακούς και μη παράγοντες κινδύνου. Στους παραδοσιακούς παράγοντες κινδύνου ανήκουν η αρτηριακή υπέρταση, η δυσλιπιδαιμία, η πρωτεϊνουρία, η πρωτοπαθής νεφρική νόσος, το κάπνισμα. Στους μη παραδοσιακούς παράγοντες κινδύνου ανήκουν η φλεγμονή, το οξειδωτικό stress, άνοσες διαδικασίες κ.α. (98) Η φλεγμονώδης διεργασία οδηγεί σε απελευθέρωση προφλεγμονωδών κυτταροκινών και χυμοκινών, που προωθούν αυξημένη εισροή λευκοκυττάρων στο νεφρικό παρέγχυμα και ανάπτυξη διάμεσης νεφρίτιδας και εξελικτικής ίνωσης. (98) Γενετικοί παράγοντες πιστεύεται ότι διαδραματίζουν επίσης σπουδαίο ρόλο στην ανάπτυξη ή/και εξέλιξη της χρόνιας νεφρικής νόσου, καθώς και στις

επιπλοκές της, γι αυτό και πολλοί ερευνητές ασχολούνται με μελέτη γενετικών πολυμορφισμών, που δυνατόν να ενοχοποιούνται στην παθογένεια. Οι γνώσεις σε αυτό το δύσβατο, αλλά υποσχόμενο ερευνητικό πεδίο ολοένα αυξάνονται, μαζί με την ελπίδα αναγνώρισης ατόμων υψηλού κινδύνου για ανάπτυξη νεφρικής νόσου και λήψη μέτρων πρόληψης και έγκαιρης αντιμετώπισης. (99)

Σε αυτό το ερευνητικό πεδίο κινήθηκε οι Sousa και συν. Στόχος τους ήταν η διερεύνηση κατά πόσο διάφοροι μονήρεις νουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί που επηρεάζουν φλεγμονώδεις και άνοσες διαδικασίες, σχετίζονται με την εξέλιξη της χρόνιας νεφρικής νόσου. Πρόκειται για μια αναδρομική μελέτη στην οποία εντάχθηκαν 276 λήπτες πτωματικού νεφρικού μοσχεύματος από 1995-2008 και 288 υγιείς-μάρτυρες, όλοι Καυκάσιοι. Μελετήθηκαν συνολικά 36 πολυμορφισμοί κάποιοι από τους οποίους ενοχοποιήθηκαν και σε άλλες εργασίες ως σχετιζόμενοι με τη χρόνια νεφρική νόσο και την εξέλιξη της. Σημαντική συσχέτιση με το τελικό στάδιο χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας παρατηρήθηκε σε 4 από τους μελετηθέντες πολυμορφισμούς: rs1801275 A/G στο γονίδιο του IL-4R, rs301640 A/G (που αποτελεί μια μεσογονιδιακή θέση σύνδεσης για τον παράγοντα STAT), CCL2 rs4586 C/T (το γονίδιο CCL2 κωδικοποιεί μια χυμοκίνη-κλειδί στη φλεγμονώδη διαδικασία) και rs7830G/T (κωδικοποιεί τη nitricoxidesynthase 3 NOS3). Συγκεκριμένα ο γονότυπος AG στη θέση rs1801275 (IL-4R) συσχετίστηκε με μειωμένο κίνδυνο ανάπτυξης ΤΣΧΝΝ ($p=0.025$). Στη θέση rs4586 (CCL2), η παρουσία κάθε επιπλέον αντιγράφου του ελάσσονος αλληλίου C, σχετίστηκε με μειωμένη πιθανότητα ΤΣΧΝΝ ($p=0.005$). Στη θέση rs301640, η παρουσία κάθε επιπλέον αλληλίου A συσχετίστηκε με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ΤΣΧΝΝ ($p=0.006$). Επίσης η παρουσία του T αλληλίου στη θέση rs7830 (NOS3) συσχετίστηκε με αυξημένη πιθανότητα ΤΣΧΝΝ ($p=0.043$). Συμπερασματικά, αυτοί οι πολυμορφισμοί είτε ευοδώνουν την εξέλιξη της ΧΝΝ, είτε δρουν προστατευτικά.(99)

Όπως προαναφέρθηκε η σημαντικότερη αιτία νοσηρότητας και θνητότητας σε ασθενείς ΤΣΧΝΝ είναι η αθηροσκληρυντική καρδιαγγειακή νόσος και η φλεγμονή διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεια της. Ο υποδοχέας PPAR- γ ανήκει στην οικογένεια των πυρηνικών ορμονικών υποδοχέων μεταγραφικών παραγόντων, εκφράζεται κυρίως στα λιπώδη κύτταρα και δρα ως ο κύριος ρυθμιστής της φλεγμονής και της αθηροσκλήρυνσης , καθώς και του

μεταβολισμού λιπιδίων και γλυκόζης. Πρόσφατα αναπτύχθηκε η υπόθεση ότι αγωνιστής του PPAR- γ πιθανότατα να μειώνει τον κίνδυνο ανάπτυξης αθηροσκλήρυνσης.

Οι Q.Yao και συν. μελέτησαν τη συσχέτιση μεταξύ δύο πολυμορφισμών του PPAR- γ με τα κυκλοφορούντα επίπεδα φλεγμονωδών βιοδεικτών, καθώς και με όλα τα αίτια θνητότητας σε ασθενείς τελικού σταδίου χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας. Στη μελέτη εντάχθηκαν 229 Καυκάσιοι ασθενείς σε τελικό στάδιο νεφρικής ανεπάρκειας, αμέσως πριν την υποκατάσταση της νεφρικής λειτουργίας και 207 υγιείς-μάρτυρες. Από τους ασθενείς, 122 εντάχθηκαν σε περιτοναϊκή κάθαρση, 103 σε αιμοκάθαρση και 4 μεταμοσχεύτηκαν. Στο διάστημα παρακολούθησης (περίπου 4.5 χρόνια) από το σύνολο των ασθενών οι 71 απεβίωσαν, εκ των οποίων 51 από καρδιαγγειακά συμβάματα. Έγιναν αιμοληψίες σε όλους τους ασθενείς και υπολογίστηκαν τα επίπεδα CRP, TNF- α και IL-6, καθώς και άλλες βιοχημικές παράμετροι. Εκτιμήθηκε ο δείκτης μάζας σώματος (BMI) και η κατάσταση θρέψης των ασθενών. Ακολούθησε γονοτυπικός έλεγχος 2 πολυμορφισμών στο γονίδιο του PPAR- γ . Παρατηρήθηκε ότι η πλειονότητα των ασθενών ήταν φορείς των γονότυπων PPAR- γ 161CC (77.7%) και PPAR- γ 2 Pro12Pro (78.6%) με σημαντική διαφορά από ότι στο γενικό πληθυσμό ($p < 0.01$, $p < 0.01$ αντίστοιχα). Επίσης ο γονότυπος Pro12Pro συσχετίστηκε με υψηλότερα επίπεδα hs-CRP ($p < 0.05$) και TNF- α ($p < 0.01$), ενώ ο γονότυπος PPAR- γ 161CC συσχετίστηκε με ιδιαίτερα αυξημένα επίπεδα hs-CRP στο πλάσμα ($p < 0.01$). Επίσης υψηλότερα ποσοστά θνητότητας παρατηρήθηκαν στους ασθενείς με το γονότυπο PPAR- γ 2Pro12Pro ($p < 0.05$). Συμπερασματικά, παρατηρήθηκε συσχέτιση του γονοτυπικού προφίλ σε ότι αφορά το γονίδιο του PPAR- γ με τη φλεγμονώδη διεργασία και την επιβίωση των ασθενών.(100)

Είναι γεγονός ότι οι γνώσεις σε ότι αφορά την παθογένεια της ΧΝΝ σε μοριακό επίπεδο εξακολουθούν να είναι περιορισμένες. Οι Weiru Zhang και συν. έκαναν μια σημαντική προσπάθεια κατανόησης των μηχανισμών παθογένειας της χρόνιας νεφρικής νόσου και υπέρτασης σε μοριακό επίπεδο, αυξάνοντας τις ελπίδες για μελλοντική ανάπτυξη θεραπευτικών στρατηγικών. Διερεύνησαν έτσι τους παράγοντες που είναι υπεύθυνοι για την αύξηση των

επιπέδων IL-6 στη ΧΝΝ, το ρόλο της IL-6 στην παθογένεια της ΧΝΝ, καθώς και δυνητικές θεραπευτικές προσεγγίσεις.

Στο πρώτο στάδιο της εργασίας τους διενήργησαν βιοψίες νεφρού σε 15 υγιείς μάρτυρες, 38 ασθενείς με ΧΝΝ και ΑΥ και 28 ασθενείς με ΧΝΝ, χωρίς ΑΥ. Υπολόγισαν την έκφραση στους ιστούς της IL-6 με ανοσοιστοχημεία. Παρατήρησαν ότι τα επίπεδα IL-6 ήταν μεγαλύτερα στα σπειράματα και σωληνάρια ατόμων με ΧΝΝ σε σχέση με τους υγιείς ($p < 0.05$) και ακόμα μεγαλύτερα σε νεφρούς ατόμων με ΧΝΝ και ΑΥ ($p < 0.05$). Στη συνέχεια επειδή ήταν δύσκολη η διερεύνηση της σημασίας των υψηλών επιπέδων IL-6 στους νεφρούς των ασθενών, το επόμενο μέρος της έρευνας διενεργήθηκε σε ποντίκια. Συγκεκριμένα δημιουργήθηκαν 2 ομάδες ποντικών, η πρώτη (wild type) και η δεύτερη που αφορούσε ποντίκια γενετικά τροποποιημένα με έλλειψη IL-6. Σε αριθμό ποντικών των δύο ομάδων χορηγήθηκε η αγγειοτενσίνη II, ενώ στα υπόλοιπα χορηγήθηκε φυσιολογικός ορός. Η αγγειοτενσίνη II είναι μια αγγειοσυσπαστική ουσία, η οποία ενοχοποιείται για την πρόκληση αρτηριακής υπέρτασης και νεφρικής δυσλειτουργίας. Χορηγήθηκε σε συνεχή έγχυση για 2 εβδομάδες υποδόρια. Έγιναν διάφορες μετρήσεις σε όλες τις ομάδες ποντικών, όπως της έκφρασης IL-6 mRNA στους νεφρούς των ποντικών, του βαθμού νεφρικής ίνωσης, της αρτηριακής πίεσης, της λευκωματουρίας ως ένδειξη νεφρικής βλάβης και της ενδοθηλίνης 1 στο νεφρό. Παρατηρήθηκε ότι η έκφραση IL-6 mRNA στους νεφρούς ποντικών στα οποία χορηγήθηκε ATII ήταν σημαντικά μεγαλύτερη σε σχέση με τα ποντίκια-μάρτυρες μετά από 2 εβδομάδες χορήγησης ($p < 0.05$). Τα επίπεδα λευκωματουρίας, δηλ. ο βαθμός νεφρικής βλάβης ήταν σημαντικά μεγαλύτερος στα ποντίκια στα οποία χορηγήθηκε ATII σε σχέση με τους μάρτυρες και έφθανε στο μέγιστο επίπεδο την 14η ημέρα συνεχούς χορήγησης ($p < 0.05$). Σε αντίθεση τα επίπεδα πρωτεϊνουρίας ήταν σημαντικά μικρότερα στα ποντίκια με έλλειψη IL-6 μετά από χορήγηση ATII ($p < 0.05$). Αυτή η παρατήρηση οδήγησε στο συμπέρασμα ότι η IL-6 είναι ένας σημαντικός μεσολαβητής στην ανάπτυξη νεφρικής βλάβης από ATII. Επίσης παρακολούθηθηκε η ανάπτυξη ίνωσης στα νεφρικά σπειράματα με χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης. Ο βαθμός της ίνωσης ήταν σημαντικά μεγαλύτερος στα ποντίκια στα οποία χορηγήθηκε ATII, ενώ η ίνωση ήταν μικρότερη στα νεφρικά σπειράματα ποντικών με έλλειψη IL-6 στα οποία

χορηγήθηκε ATII ($p < 0.05$). Ο ρόλος λοιπόν της IL-6 στο μηχανισμό πρόκλησης νεφρικής βλάβης από ATII είναι ουσιαστικός. Όσον αφορά την αρτηριακή πίεση, παρατηρήθηκε αύξηση της στα ποντίκια στα οποία χορηγήθηκε ATII, ($p < 0.05$), αλλά αυτή παρουσιάστηκε πριν την ανάπτυξη νεφρικής βλάβης και ίνωσης. Η ΑΠ στα ποντίκια με έλλειψη IL-6 ήταν σημαντικά μικρότερη. Έτσι ένα άλλο θεμελιώδες συμπέρασμα που εξήχθηκε ήταν ότι η IL-6 διαδραματίζει ουσιαστικό ρόλο και στην ανάπτυξη αρτηριακής υπέρτασης. Ακολούθως για να εξακριβωθεί κατά πόσο η μέσω IL-6 νεφρική ίνωση που αναπτύσσεται στα ποντίκια όταν χορηγηθεί ATII σχετίζεται με την έκφραση γονιδίων που κωδικοποιούν μεσολαβητές ίνωσης, μελετήθηκε η έκφραση γονιδίων στο νεφρικό ιστό σε όλες τις κατηγορίες ποντικών. Παρατηρήθηκε ότι η έκφραση γονιδίων-μεσολαβητών της ίνωσης στο νεφρό, όπως προκολλαγόνο, TGF- β , Plaminogen activator inhibitor-1 mRNAs ήταν μεγαλύτερη στα ποντίκια στα οποία χορηγήθηκε ATII, ($p < 0.05$), ενώ στα ποντίκια με έλλειψη IL-6 η έκφραση ήταν μικρότερη. (86)

Η ενδοθηλίνη 1 είναι ένα πεπτίδιο που αποτελείται από 21 αμινοξέα και ασκεί ρόλο-κλειδί στην ρύθμιση του αγγειακού τόνου και στη νεφρική λειτουργία (ασκεί σημαντικό ρόλο στην αιμοδυναμική του νεφρού όπου υπάρχουν πολλοί υποδοχείς της, αλλά και στη σωληναρική λειτουργία). Η αγγειοτενσίνη II διεγείρει την παραγωγή ενδοθηλίνης 1.(86) Σε καταστάσεις με αυξημένο όγκο αίματος, όπου το σύστημα PAA καταστέλλεται και κατά συνέπεια επηρεάζεται η νεφρική παροχή αίματος, η ET-1 διατηρεί την αιματική ροή στο νεφρό μέσω αγγειοδιαστολής. Αύξηση της διέγερσης της έχει συσχετιστεί με υπέρταση, πρωτεϊνουρία και ίνωση των νεφρών. Με βάση αυτά τα δεδομένα οι ερευνητές προσπάθησαν να διερευνήσουν την υπόθεση, ότι αυξημένα επίπεδα IL-6 στο νεφρό πιθανόν να διεγείρουν την παραγωγή ενδοθηλίνης1 μέσω ATII. Έτσι, προχώρησαν σε μετρήσεις *preproET-1* mRNA στο νεφρικό παρέγχυμα των διαφόρων ομάδων ποντικών. Παρατηρήθηκε ότι η έκφραση της *preproET-1* ήταν σημαντικά μεγαλύτερη στα ποντίκια στα οποία χορηγήθηκε ATII ($p < 0.05$). Στα γενετικά τροποποιημένα ποντίκια με έλλειψη IL-6 παρατηρήθηκαν σημαντικά μειωμένα επίπεδα *preproET-1* mRNA και ET-1 όταν χορηγήθηκε ATII ($p < 0.05$). Ακολούθησαν και άλλες μετρήσεις σε καλλιέργεια νεφρικών κυττάρων των ποντικών και τελικά εξήχθη το συμπέρασμα ότι η IL-6 ευοδώνει –διεγείρει τις δράσεις της ATII στην πρόκληση ίνωσης. (86)

Η ιντερφερόνη- γ είναι μια προφλεγμονώδης κυτταροκίνη. Δρα αυξάνοντας την έκφραση άλλων προφλεγμονωδών μεσολαβητών, όπως TNF- α και IL-6. Επίσης κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες προκαλεί άμεσα ενεργοποίηση του προφλεγμονώδους παράγοντα NF- κ B (nuclear transcription factor- κ B). Έτσι η IFN- γ αποτελεί κλειδί στην παθογένεια διαφόρων φλεγμονωδών νόσων.(74)

Είναι σπάνιες οι μελέτες που αφορούν γενετικούς πολυμορφισμούς στο γονίδιο της IFN- γ , το οποίο εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 12 (12q15). Στην αρχική θέση του ιντρονίου της IFN- γ , η αντικατάσταση της αδενίνης από θυμίνη στη θέση +874 συσχετίστηκε με αύξηση της έκφρασης IFN- γ . Ο μεταγραφικός παράγοντας NF- κ B συνδέεται επιλεκτικά με το +874T αλληλίο. Έτσι ως συνέπεια αυτής της σύνδεσης είναι η πιθανή ενεργοποίηση φλεγμονωδών διεργασιών, στις οποίες συμμετέχει ο παράγοντας αυτός.(74) Αυτό ακριβώς αποτέλεσε ερευνητικό κίνητρο για τον Biolo G και συν. Μελέτησαν τους γονιδιακούς πολυμορφισμούς στο γονίδιο της IFN- γ και τη συσχέτιση του με τα επίπεδα έκφρασης της IFN- γ , καθώς και άλλων προ- και αντιφλεγμονωδών κυτταροκινών σε 123 ασθενείς σε τελικό στάδιο χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας σε αιμοκάθαρση (χωρίς κακοήθεια ή ανοσοκατασταλτική αγωγή) στην Ιταλία και 54 μάρτυρες-υγιείς. Στους συμμετέχοντες έγινε γονοτυπικός έλεγχος στη θέση +874T/A της IFN- γ , ο οποίος συγκρίθηκε με τα επίπεδα mRNA των κυτταροκινών σε κύτταρα ολικού αίματος, καθώς και με τα επίπεδα CRP στο πλάσμα (τα οποία υπολογίζονταν ανά μήνα). Η μελέτη διήρκησε 2 χρόνια. Συμπέρασμα της μελέτης ήταν ότι ο γονότυπος IFN- γ +874 AA ήταν χαμηλής παραγωγής και συσχετίστηκε με μειωμένα επίπεδα mRNA της IFN- γ ($p < 0.05$) και IL-6 ($p < 0.05$), καθώς και χαμηλότερα επίπεδα στο αίμα CRP σε σχέση με τους γονότυπους +874AT (μέτριας παραγωγής) ή +874TT (υψηλής παραγωγής) ($p < 0.05$). (74)

Στη διαδικασία εξέλιξης της χρόνιας νεφρικής νόσου σε τελικό στάδιο, σημαντικό ρόλο κατέχει το σύστημα Ρενίνης-Αγγειοτενσίνης-Αλδοστερόνης (PPA). Πολλές μελέτες έχουν επικεντρωθεί στον TGF- β 1, ο οποίος μεσολαβεί στη δράση της αγγειοτενσίνης. Η κυτταροκίνη αυτή ασκεί θεμελιώδη ρόλο στην παραγωγή και συσσώρευση εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας και ίνωση στο νεφρό. Αυξημένη γονιδιακή έκφραση του TGF- β 1 και υπερπαραγωγή της κυτταροκίνης αυτής οδηγεί σε εξέλιξη της ΧΝΝ, αλλά και σε ανάπτυξη

αρτηριακής υπέρτασης. Έχουν περιγραφεί διάφοροι μονήρεις γονιδιακοί πολυμορφισμοί του *TGF-β1*, τρεις εκ των οποίων επηρεάζουν την παραγωγή της κυτταροκίνης. Οι περισσότεροι μελετημένοι πολυμορφισμοί που συσχετίστηκαν με την ανάπτυξη και εξέλιξη της ΧΝΝ είναι οι rs1982073 (+869T/C) και rs1800471 (+915G/C).(101)

Στην μελέτη των Katarzyna Nabrdalik και συν. διερευνήθηκε η συσχέτιση μεταξύ του SNP rs1800471 (+915G/C) με την ανάπτυξη και εξέλιξη της χρόνιας νεφρικής νόσου, καθώς και με την ανάπτυξη αρτηριακής υπέρτασης σε 109 Καυκάσιους ασθενείς με χρόνια νεφρική νόσο και eGFR<60 ml/min/1.73m² (με τη μέθοδο MDRD) και 111 Καυκάσιους, πολύ μεγάλης ηλικίας χωρίς σημεία χρόνιας νεφρικής νόσου και αρτηριακής υπέρτασης. Λήφθηκαν υπόψη διάφοροι παράγοντες όπως η αιτία της ΧΝΝ και υπολογίστηκε ο ρυθμός μείωσης του eGFR ανά έτος. Μείωση της νεφρικής λειτουργίας ≥ 4 ml/min ανά έτος θεωρήθηκε ως σοβαρή επιδείνωση. Δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ του rs1800471 (+915G/C) με την εξέλιξη της ΧΝΝ. Η παρουσία του C αλληλίου στις γυναίκες, σε αντίθεση με τους άντρες συσχετίστηκε με μεγαλύτερο κίνδυνο ανάπτυξης ΧΝΝ ($p=0.035$) Ο γονότυπος GG συσχετίστηκε με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης αρτηριακής υπέρτασης ($p=0.0021$). (101)

Σε διάφορες άλλες μελέτες που αφορούσαν πολυμορφισμούς του *TGF-β1* και την ανάπτυξη και εξέλιξη της νεφρικής νόσου παρουσιάστηκαν διαφορετικά, αλλά και αντικρουόμενα αποτελέσματα. Η έρευνα προς την κατεύθυνση αυτή πρέπει να συνεχιστεί.

Τα T-helper 17 κύτταρα (Th17), και η παραγόμενη από αυτά IL-17, αυξάνουν την έκφραση διαφόρων προφλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως IL-6, CXCL1, CXCL8, CCL2, οδηγώντας στη συνέχεια σε βλάβη οργάνων-στόχων. Σε διάφορες μελέτες τα T-helper 17 κύτταρα και η IL-17 αποδείχτηκε ότι συμμετέχουν στις διαδικασίες ανάπτυξης φλεγμονώδους νεφρικής νόσου, όπως στη νεφρίτιδα του λύκου, απόρριψη νεφρικού μοσχεύματος, κ.α. Τα αποτελέσματα των μελετών αποτέλεσαν ερευνητικό κίνητρο για τους Kim YG και συν. οι οποίοι επικεντρώθηκαν στη μελέτη της συσχέτισης πολυμορφισμών του γονιδίου της *IL-17* με την ανάπτυξη τελικού σταδίου χρόνιας νεφρικής νόσου. Στη μελέτη τους ενέταξαν 290 ασθενείς σε τελικό στάδιο χρόνιας

νεφρικής ανεπάρκειας είτε με υποκατάσταση της νεφρικής λειτουργίας, είτε προγραμματιζόμενους για έναρξη κάθαρσης ή μεταμόσχευση και 289 υγιείς-μάρτυρες σε 3 νοσοκομεία της Κορέας από το 2000-2009. Μελετήθηκαν 13 SNPs σε 4 γονίδια ιντερλευκινών της οικογένειας *IL-17*: *IL 17A*, *IL 17E*, *IL 17RA*, *IL 17RB*. Από τους 13 πολυμορφισμούς που μελετήθηκαν, 2 συσχετίστηκαν με το τελικό στάδιο χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας: οι *IL 17E* (rs10137082, $p=0.01$) και *IL 17RA* (rs 4819554, $p=0.01$). Έτσι, οι ασθενείς σε ΤΣΧΝΝ παρουσίαζαν σε μεγαλύτερη συχνότητα τα αλληλία: *IL 17E* rs10137082C και *IL 17RA* rs4819554A. Η παρουσία των αλληλίων αυτών συσχετίστηκε με αύξηση του κινδύνου ανάπτυξης τελικού σταδίου χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας. (102)

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Πρόκειται για μια προοπτική περιγραφική πολυκεντρική μελέτη στην οποία συμμετείχαν 25 κλινικές από νοσοκομεία της Ελλάδας καθώς και από τη νεφρολογική κλινική του Γενικού Νοσοκομείου Λευκωσίας Κύπρου, η οποία διενεργήθηκε από τον Αύγουστο του 2009 έως τον Αύγουστο του 2015. Το πρωτόκολλο έχει λάβει έγκριση από τις επιτροπές ηθικής και δεοντολογίας των νοσοκομείων τα οποία συμμετείχαν, καθώς και από την Εθνική Επιτροπή Βιοηθικής Κύπρου (Αρ.πρωτοκόλλου: ΕΕΒΚ/ΕΠ/2009/24). Οι ασθενείς εντάχθηκαν στη μελέτη μετά από έγγραφη συγκατάθεση των ιδίων ή συγγενών πρώτου βαθμού στην περίπτωση που δεν ήταν δυνατό να υπογράψουν οι ίδιοι για ιατρικούς λόγους. Ο κάθε ασθενής εντάχθηκε μόνο μια φορά στη μελέτη.

Κριτήρια εισαγωγής στη μελέτη:

1. Ηλικία ≥ 18 ετών
2. Ασθενείς Καυκάσιοι
3. Σήψη οφειλόμενη σε λοίμωξη του κατώτερου αναπνευστικού συστήματος, οξεία πυελονεφρίτιδα, ενδοκοιλιακή λοίμωξη, πρωτοπαθή βακτηριαμία ή βακτηριαμία από κεντρικό φλεβικό καθετήρα.
4. Χρόνια νεφρική νόσος με κάθαρση κρεατινίνης ≤ 50 ml/min σύμφωνα με την εξίσωση Cockcroft Gault. (103)
5. Αιμοληψία εντός 24 ωρών από την εμφάνιση σήψης

Κριτήρια αποκλεισμού από τη μελέτη:

1. Λοίμωξη από τον ιό επίκτητης ανοσολογικής ανεπάρκειας (HIV).
2. Ουδετεροπενία άλλης αιτιολογίας εκτός από το σηπτικό σύνδρομο, οριζόμενη ως απόλυτος αριθμός ουδετερόφιλων πολυμορφοπύρηνων μικρότερος των $1000/\text{mm}^3$
3. Χρόνια λήψη κορτικοστεροειδών, οριζόμενη ως λήψη $>$ του 0.4mg/Kg βάρους σώματος ημερησίως πρεδνιζόνης ή ισοδύναμου για διάστημα μεγαλύτερο των 15 ημερών.

Οι ασθενείς ταξινομήθηκαν ανάλογα με τη βαρύτητα του σηπτικού συνδρόμου ως πάσχοντες από:

- σήψη
- σοβαρή σήψη
- σηπτική καταπληξία
- πολυοργανική ανεπάρκεια (MODS) σύμφωνα με τα διεθνώς αναγνωρισμένα κριτήρια της ACCP/SCCM(104).

Τα κριτήρια ταξινόμησης της σήψης ήταν κάθε κλινικά ή μικροβιολογικά τεκμηριωμένη λοίμωξη η οποία συνοδεύεται με τουλάχιστον δύο από τα ακόλουθα:

- Θερμοκρασία $>38^{\circ}\text{C}$ ή $<36^{\circ}\text{C}$
- Καρδιακή συχνότητα $>90/\text{λεπτό}$
- Αριθμός αναπνοών $>20/\text{λεπτό}$ ή $\text{PaCO}_2 <32 \text{ mmHg}$
- Αριθμός λευκών αιμοσφαιρίων $>12000/\text{mm}^3$ ή $<4000/\text{mm}^3$ ή $>10\%$ άωρες μορφές.

Τα κριτήρια ταξινόμησης της σοβαρής σήψης ήταν σήψη η οποία συνοδεύεται από ανεπάρκεια τουλάχιστον ενός οργάνου.

- Αναπνευστική ανεπάρκεια: $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 200$ και διάχυτα διάμεσα διηθήματα στην απλή ακτινογραφία θώρακος
- Οξεία νεφρική ανεπάρκεια: Ποσότητα αποβαλλόμενων ούρων $<0.5 \text{ ml}/\text{ώρα}/\text{Kg}$ βάρους σώματος εντός των δύο τελευταίων ωρών, εφόσον έχει αποκατασταθεί το αρνητικό ισοζύγιο υγρών του ασθενούς (δεν ισχύει για ασθενείς σε τελικό στάδιο χρόνιας νεφρικής νόσου που είναι ανουρικοί)
- Μεταβολική οξέωση: $\text{pH} < 7.30$ ή έλλειμμα βάσης $> 5 \text{ mmol/L}$ και τιμή γαλακτικού οξέος > 2 φορές την ανώτερη φυσιολογική τιμή
- Οξεία διαταραχή πήξεως: Αιμοπετάλια $< 100.000/\text{mm}^3$ ή $\text{INR} > 1.5$
- Διαταραχή του κεντρικού νευρικού συστήματος (ΚΝΣ): Οξεία μεταβολή του επιπέδου συνείδησης
- Δυσλειτουργίες άλλων οργάνων/συστημάτων π.χ. ήπατος, εντέρου κ.α

Στη συγκεκριμένη μελέτη όπου οι συμμετέχοντες (ασθενείς με σήψη και μάρτυρες) είχαν ως υποκείμενο νόσημα χρόνια νεφρική ανεπάρκεια (Cl/creat <50 ml/min), η μείωση της διούρησης, καθώς και η μεταβολική οξέωση δεν αποτελούσαν κριτήρια σοβαρής σήψης σε όλους τους ασθενείς, ιδιαίτερα στους ασθενείς τελικού σταδίου χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας σε περιοδικό πρόγραμμα αιμοκάθαρσης με Cl/creat <5-10 ml/min.

Τα κριτήρια ταξινόμησης της σηπτικής καταπληξίας ήταν σοβαρή σήψη, η οποία συνοδεύεται από συστολική αρτηριακή πίεση <90 mmHg ή μέση αρτηριακή πίεση <70 mmHg για την οποία παρά την επαρκή υποκατάσταση του ελλείμματος υγρών απαιτείται χορήγηση ινóτροπων ή αγγειοσυσπαστικών φαρμάκων.

Τα κριτήρια ταξινόμησης της πολυοργανικής ανεπάρκειας ήταν ανεπάρκεια δύο ή περισσότερων από τα προαναφερθέντα συστήματα για τα οποία απαιτείται εξωγενής παρέμβαση για τη διατήρηση της λειτουργίας τους (μηχανικός αερισμός, μεταγγίσεις, ινóτροπα φάρμακα). (105)

Η διάγνωση των λοιμώξεων έγινε με βάση διεθνώς αναγνωρισμένα κριτήρια.

Τα κριτήρια διάγνωσης λοίμωξης του κατώτερου αναπνευστικού συστήματος ήταν:

- Θερμοκρασία >38°C ή <36 °C
- WBC >12.000 /mm³ στη γενική αίματος
- Συμβατή ακτινογραφία θώρακος

Τα κριτήρια διάγνωσης οξείας πυελονεφρίτιδας ήταν:

- Θερμοκρασία >38°C ή <36 °C
- Άλγος κατά την πλήξη στην οσφυϊκή χώρα
- ≥10 πυοσφαίρια /οπτικό πεδίο σε δείγμα φυγοκεντρημένων ούρων ή ≥2+ σε stick ούρων για πυοσφαίρια και νιτρώδη
- Απεικονιστική εξέταση συμβατή με οξεία πυελονεφρίτιδα

Τα κριτήρια διάγνωσης οξείας ενδοκοιλιακής λοίμωξης ήταν:

- Θερμοκρασία >38°C ή <36 °C
- >12.000 WBC/mm³ στη γενική αίματος
- Ευαισθησία κατά τη ψηλάφηση της κοιλιακής χώρας
- Απεικονιστική εξέταση συμβατή με ενδοκοιλιακή λοίμωξη

Τα κριτήρια διάγνωσης της πρωτοπαθούς βακτηριαμίας ή μυκηταιμίας ήταν :

- Θετική καλλιέργεια περιφερικού αίματος για Gram+ ή Gram- βακτήρια ή για Candida spp
- Απουσία οποιασδήποτε πρωτοπαθούς εστίας που θα μπορούσε να δικαιολογήσει την προέλευση του παθογόνου

Τα κριτήρια διάγνωσης της βακτηριαμίας από κεντρικό καθετήρα ήταν:

- Θετική καλλιέργεια αίματος από κεντρικό φλεβικό καθετήρα, καθώς και από περιφερική φλέβα.
- Παρουσία κεντρικού φλεβικού καθετήρα

Για κάθε ασθενή με σήψη που εντάχθηκε στη μελέτη ήταν απαραίτητα τα ακόλουθα:

1. Λήψη λεπτομερούς ιστορικού-υποκείμενα νοσήματα
2. Ενδεδλεχής φυσική εξέταση
3. Εργαστηριακός έλεγχος: γενική αίματος, βιοχημικός έλεγχος, έλεγχος πηκτικότητας
4. Εκτίμηση νεφρικής λειτουργίας με την εξίσωση Cockcroft-Gault
5. Αέρια αίματος
6. Καλλιέργειες αίματος από κεντρικές και περιφερικές γραμμές
7. Καλλιέργεια ούρων (στους ασθενείς που δεν ήταν ανουρικοί)
8. Ακτινογραφία θώρακος
9. Αξονική τομογραφία θώρακος ή/και κοιλίας (αν κρινόταν απαραίτητο)
10. Καλλιέργειες τραχειοβρογχικών εκκρίσεων (αν κρινόταν απαραίτητο)
11. Εκτίμηση της σοβαρότητας της σήψης σύμφωνα με τις βαθμολογίες κατά APACHE II και SOFA. (παράρτημα 1, 2).

Επιπλέον εντός 24 ωρών από την εισαγωγή του ασθενούς, γίνονταν οι ακόλουθες ενέργειες :

1. Συμπλήρωση της φόρμας συγκατάθεσης από τον ασθενή ή από συγγενή πρώτου βαθμού στην περίπτωση που ο ασθενής αδυνατούσε για διάφορους ιατρικούς λόγους.
2. Συλλογή 10 ml αίματος από παρακέντηση φλέβας στο αντιβράχιο. Από αυτά τα 3ml συλλέγονταν σε σωληνάρια με επικάλυψη EDTA (Becton Dickinson, Cockeysville, Md) και τα 7 ml σε αποστειρωμένα και ελεύθερα πυρετογόνων σωληνάρια (Becton Dickinson) που φυγοκεντρώντο. Τα σωληνάρια αποστέλλονταν στο κεντρικό εργαστήριο λοιμώξεων και αντιμικροβιακής θεραπείας της Δ΄ Παθολογικής κλινικής του Αττικού Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Αθηνών. Η φύλαξη γινόταν στους -80°C .

Παρακολούθηση ασθενών

Οι ασθενείς παρακολουθούντο καθημερινά από τους θεράποντες ιατρούς για τυχόν μεταβολές στην κλινική τους εικόνα μέχρι το εξιτήριο τους και ακολούθως στα εξωτερικά ιατρεία για συνολικό διάστημα 28 ημερών. Σε περίπτωση θανάτου γινόταν καταγραφή της αιτίας θανάτου (λοιμώδη, μη λοιμώδη καρδιαγγειακά αίτια).

Τα κλινικά και δημογραφικά χαρακτηριστικά καταγράφονταν στη φόρμα παρακολούθησης των ασθενών.

Για σύγκριση των αποτελεσμάτων μας, στη μελέτη εντάχθηκαν επίσης μάρτυρες, οι οποίοι πληρούσαν τα ακόλουθα κριτήρια:

1. Ηλικία >18 ετών
2. Καυκάσιοι
3. Απουσία ιστορικού βακτηριακής λοίμωξης τα τελευταία 2 χρόνια
4. Παρουσία χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας με κάθαρση κρεατινίνης ≤ 50 ml/min, σύμφωνα με την εξίσωση Cockcroft-Gault). Ένα ποσοστό βρισκόταν σε τελικό στάδιο χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας (ΤΣΧΝΝ) σε αιμοκάθαρση.

Τα κριτήρια αποκλεισμού των μαρτύρων ήταν ίδια με των ασθενών.

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Συλλογή του αίματος:

10 ml αίματος συλλέγονταν με παρακέντηση περιφερικής φλέβας στο αντιβράχιο υπό άσηπτες συνθήκες εντός 24 ωρών από την έναρξη του σηπτικού συνδρόμου. Από αυτά τα 3 ml τοποθετούντο σε σωληνάρια με επικάλυψη EDTA (Becton Dickinson, Cockeysville Md) και φυλάσσονταν στους -80° C μέχρι την απομόνωση του DNA. Τα υπόλοιπα 7 ml τοποθετούντο σε απλά σωληνάρια αποστειρωμένα και ελεύθερα πυρετογόνων (Becton Dckinson), φυγοκεντρώντο. Ο ορός επίσης φυλασσόταν στους -80° C.

Γονοτυπικός έλεγχος:

Η απομόνωση του γενετικού υλικού από τα λευκοκύτταρα έγινε με την τυποποιημένη συσκευασία Purigen Blood Core kit C (Qiagen, Hilden, Germany) σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Η μελέτη των πολυμορφισμών -174 και -572 στην περιοχή του εκκινητή της *IL-6* έγινε με την αντίδραση πολυμορφισμού του μήκους των θραυσμάτων DNA μετά από επώαση με περιοριστικά ένζυμα (RFLP-PCR: Restriction Fragment Length Polymorphism). Πρόκειται για αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης με προσθήκη ολιγονουκλεοτιδικών εκκινητών για οριοθέτηση και πολλαπλασιασμό της αλληλουχίας του DNA που περιέχει τον εκάστοτε πολυμορφισμό και ακολούθως επώαση με περιοριστική ενδονουκλεάση για εντοπισμό του. Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης είναι μια ευρέως χρησιμοποιούμενη τεχνική της μοριακής βιολογίας που επιτρέπει την παραγωγή εκατομμυρίων αντιγράφων μιας αλληλουχίας του DNA. Περιλαμβάνει 3 στάδια: το 1ο στο οποίο το DNA εκτίθεται σε υψηλές θερμοκρασίες (92-94°C) με στόχο την αποδιάταξη των αλυσίδων του DNA, το 2ο στο οποίο σε πολύ χαμηλότερες θερμοκρασίες (42-72°C) οι ειδικά σχεδιασμένοι ολιγονουκλεοτιδικοί εκκινητές προσδένονται μέσω δεσμών υδρογόνου μεταξύ συμπληρωματικών βάσεων στη μήτρα του DNA εκατέρωθεν (πρόσθιος, ανάστροφος εκκινητής) και το 3ο στο οποίο η DNA πολυμεράση αντιγράφει τους δύο κλώνους του DNA σε θερμοκρασία 72°C. Αυτά τα 3 βήματα αποτελούν ένα κύκλο της PCR στο τέλος του οποίου η αλληλουχία του DNA έχει διπλασιαστεί. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται αρκετές

φορές (25-40 κύκλοι) και δημιουργούνται εκατομμύρια αντίγραφα της αλληλουχίας-στόχου. Ακολουθεί επώαση με περιοριστική ενδονουκλεάση.

Η προετοιμασία των PCR αντιδράσεων έγινε στον αποστειρωμένο χώρο του θαλάμου νηματικής ροής Heraeus (Heraeus Instruments GmbH) και του UV cabinet της εταιρίας Kendro Laboratory Products.

Για τον ενζυμικό πολλαπλασιασμό των υπό μελέτη περιοχών παρασκευάστηκε ένα αρχικό διάλυμα (mastermix) που περιείχε 50ng γενωμικού DNA, 50mmol/L MgCl₂ (New England BioLabs, Ipswich, Massachusetts), 20mmol/L dNTPs (New England BioLabs, Ipswich, Massachusetts) and 1mmol/L *Taq* polymerase (New England BioLabs, Ipswich, Massachusetts, USA) σε τελικό όγκο 27μl με την προσθήκη κατάλληλων εκκινήτων.

Για τον πολυμορφισμό -174G/C (rs1800795) δημιουργήθηκε ένα θραύσμα 303bp με τη χρήση του πρόσθιου εκκινήτη (FP-174): 5'-TTG TCA AGA CAT GCC AAA GTG CT-3' και του ανάστροφου εκκινήτη (RP-174): 5'-GCC TCA GAC ATC TCC AGT CC -3'. Οι συνθήκες της PCR για τον πολυμορφισμό αυτό ήταν οι εξής: αρχική αποδιάταξη στους 95°C για 4 min (initial denaturation) ακολουθούμενη από 45 επαναλαμβανόμενους κύκλους με αποδιάταξη της μήτρας του DNA στους 95°C για 30 sec (denaturation), πρόσδεση των εκκινήτων με τις συμπληρωματικές προς αυτούς ακολουθίες στους 62°C για 1min (annealing) και επιμήκυνση των συνδεδεμένων εκκινήτων και σύνθεση DNA με κατεύθυνση 5'→3' στους 68°C για 1 min (elongation). Ακολουθούσε ένα τελικό στάδιο επιμήκυνσης για 5 min στους 68°C (final extension). Για την ανίχνευση του πολυμορφισμού *IL-6* -174, σε 10μl από το προϊόν της τελικής αντίδρασης της PCR προστέθηκε 0.5U περιοριστικού ενζύμου *NlaIII* (New England BioLabs, Ipswich, Massachusetts, USA) με επώαση στους 37°C για 30 min.

Για τον πολυμορφισμό -572 G/C δημιουργήθηκε ένα θραύσμα 163 bp με τη χρήση του πρόσθιου εκκινήτη (FP-572): 5'-GGA GAC GCC TTG AAG TAA CTG C -3', και του ανάστροφου εκκινήτη (RP-572): 5'-GAG TTT CCT CTG ACT CCA TCG CAG -3'. Οι συνθήκες της PCR για τον -572 ήταν οι ακόλουθες: αρχική αποδιάταξη στους 95° C για 5 min (initial denaturation) ακολουθούμενη

από 35 επαναλαμβανόμενους κύκλους αντίδρασης με αποδιάταξη της μήτρας στους 95° για 1min (denaturation), πρόσδεση των εκκινητών με τις συμπληρωματικές προς αυτούς ακολουθίες στους 55°C για 1min (annealing), επιμήκυνση των συνδεδεμένων εκκινητών και σύνθεση DNA με κατεύθυνση 5'→3' στους 72°C για 1 min (elongation). Ακολουθούσε ένα τελικό στάδιο επιμήκυνσης για 10 min στους 72°C (final extension). Για την ανίχνευση του πολυμορφισμού *IL-6 -572*, σε 10μl από το προϊόν της τελικής αντίδρασης της PCR προστέθηκε 0.5U περιοριστικού ενζύμου BrsBI (New England BioLabs, Ipswich, Massachusetts, USA) με επώαση στους 37°C για 30 min.

Η διεξαγωγή της αντίδρασης έγινε στον θερμικό κυκλοποιητή Sensquest Göttigen, Germany.

Μετά το πέρας της PCR-RFLP ακολούθησε ηλεκτροφορητική ανάλυση των προϊόντων σε πήκτωμα αγαρόζης 2% (η ταχύτητα μέσα στο πήκτωμα είναι ανάλογη με το αρνητικό λογαρίθμο του μήκους των θραυσμάτων). Η ποσότητα που ηλεκτροφορήθηκε από το κάθε δείγμα ήταν 10 μl προϊόντος μαζί με 2 μl ρυθμιστικού διαλύματος 6X (New England BioLabs, Ipswich, Massachusetts). Η ηλεκτροφόρηση έγινε σε συνεχή ηλεκτρική τάση 5 volt/cm, ενώ το διάλυμα ηλεκτροφόρησης ήταν TBE 1X (AppliChem, Darmstadt, GmbH).

Στη συνέχεια έγινε οπτικοποίηση των προϊόντων της ηλεκτροφόρησης με χρήση υπεριώδους ακτινοβολίας (UV) μετά από προσθήκη 1 μg/ml βρωμιούχου αιθιδίου (Ethidium bromide) για χρώση. Εμφανίστηκαν τρία διαφορετικά πρότυπα ζωνώσεων, το μέγεθος των οποίων υπολογίστηκε με ποσοτικοποιημένο μοριακό δείκτη 100 bp (DNA ladder).

Για τον SNP -174 το ένα πρότυπο περιλαμβάνει μια ζώνη μεγέθους 233 bp που αντιστοιχεί στον GG γονότυπο, το δεύτερο δύο ζώνες μεγέθους 233 bp και 122 bp που αντιστοιχούν στο GC γονότυπο και το τρίτο πρότυπο μια ζώνη μεγέθους 122 bp που αντιστοιχεί στον CC γονότυπο. (εικόνα 1)

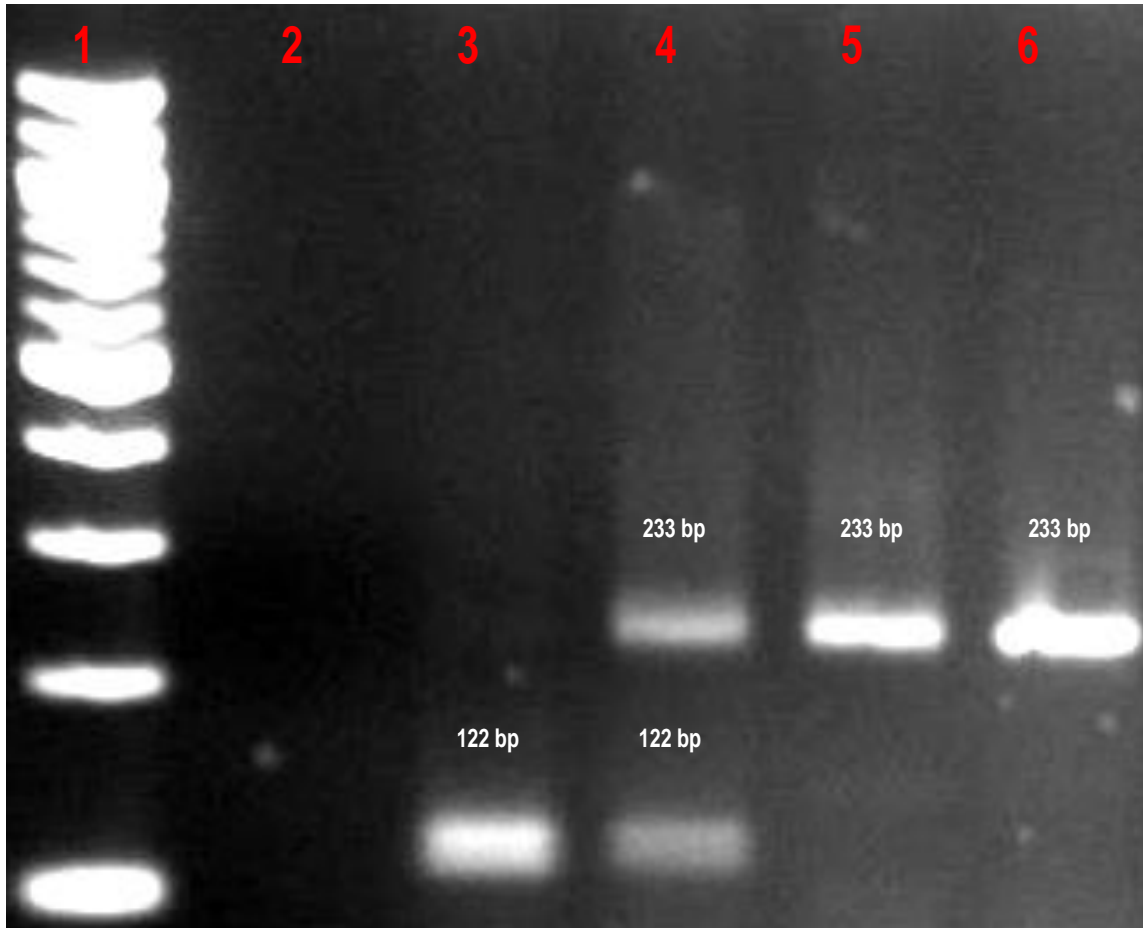
Για τον SNP -572 το ένα πρότυπο περιλαμβάνει δύο ζώνες μεγέθους 102 και 61bp που αντιστοιχούν στο GG γονότυπο, το δεύτερο περιλαμβάνει τρεις ζώνες μεγέθους 163 bp, 102 bp και 61bp που αντιστοιχούν στο GC γονότυπο

και το τρίτο πρότυπο περιλαμβάνει μια ζώνη μεγέθους 163 bp και αντιστοιχεί στο CC γονότυπο. (εικόνα 2)

Υπολογισμός επιπέδων IL-6 στον ορό

Παράλληλα με το γονοτυπικό έλεγχο, γινόταν υπολογισμός των επιπέδων IL-6 στον ορό με ανοσοενζυμική μέθοδο (eBiosciences). Το κατώτερο όριο ανίχνευσης ήταν 20 pg/ml.

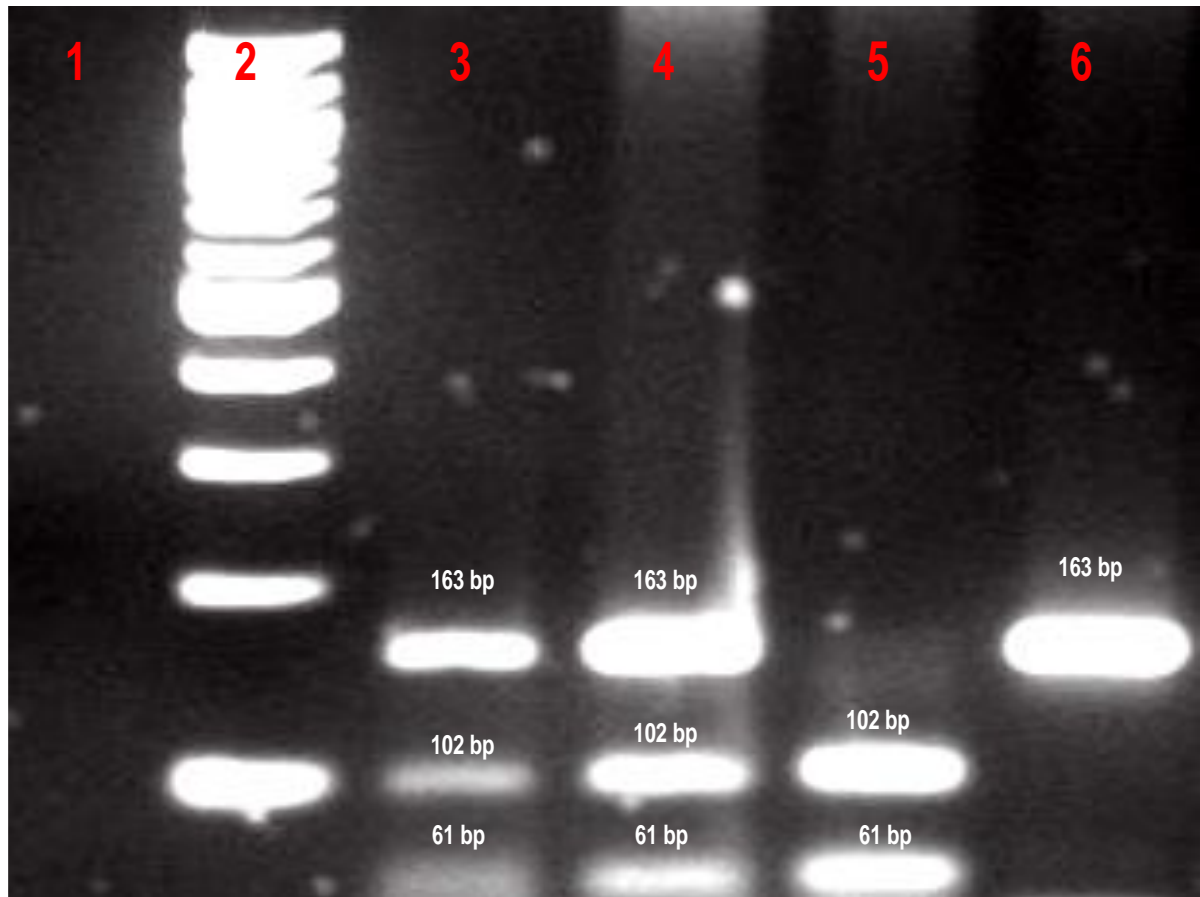
Εικόνα 1 Ηλεκτροφόρηση προϊόντων PCR σε πήκτωμα αγαρόζης 2% για το SNP -174.



-174G/C

Στη διαδρομή 1: δείκτης μοριακού βάρους (ανά 100 bp), στη διαδρομή 2: “τυφλό” δείγμα, στη διαδρομή 3: ζώνη μεγέθους 122 bp για το CC γονότυπο, στην διαδρομή 4: ζώνες μεγέθους 233 bp και 122 bp για τον CG γονότυπο και στις διαδρομές 5,6: ζώνες μεγέθους 233 bp για τον GG γονότυπο

Εικόνα 2. Ηλεκτροφόρηση προϊόντων PCR σε πήκτωμα αγαρόζης 2% για το SNP -572.



-572G/C

Στη διαδρομή 1: “τυφλό” δείγμα, στη διαδρομή 2: δείκτης μοριακού βάρους (ανά 100 bp), στις διαδρομές 3,4: ζώνες μεγέθους 163 bp, 102 και 61bp για το GC γονότυπο, στην διαδρομή 5: ζώνες μεγέθους 102 bp και 61bp για το GG γονότυπο και στη διαδρομή 6: ζώνη μεγέθους 163bp για το CC γονότυπο.

ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η σύγκριση της κατανομής των συχνοτήτων γονότυπων και αλληλίων ανάμεσα στους ασθενείς και στην ομάδα ελέγχου (μάρτυρες) έγινε χρησιμοποιώντας το χ^2 test.

Η σύγκριση δημογραφικών, κλινικών και εργαστηριακών χαρακτηριστικών ανάμεσα σε ασθενείς με διαφορετικούς γονότυπους έγινε χρησιμοποιώντας το χ^2 test για ποιοτικά χαρακτηριστικά και το Mann Whitney U test για ποσοτικά χαρακτηριστικά.

Ο σχετικός κίνδυνος (Odds ratios-OR) και τα 95% όρια αξιοπιστίας σχετικού κινδύνου (CI) υπολογίστηκαν με τη μέθοδο Mantel-Haenszel's.

Επίσης χρησιμοποιήθηκε η πολυπαραγοντική ανάλυση (logistic regression analysis) για να εξακριβωθεί ποιοι παράγοντες συσχετίζονταν ανεξάρτητα με την ανάπτυξη σηπτικού συνδρόμου.

Κάθε τιμή του $p < 0.05$ θεωρήθηκε στατιστικώς σημαντική.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Συνολικά 198 ασθενείς με χρόνια νεφρική νόσο (κάθαρση κρεατινίνης ≤ 50 ml/min) και σηπτικό σύνδρομο εντάχθηκαν στη μελέτη. Από αυτούς οι 136 βρίσκονταν σε προτελικό στάδιο χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας και οι 62 σε τελικό στάδιο χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας σε περιοδικό πρόγραμμα αιμοκάθαρσης. Επίσης στη μελέτη εντάχθηκαν 115 ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια (κάθαρση κρεατινίνης ≤ 50 ml/min) χωρίς σηπτικό σύνδρομο, ως ομάδα ελέγχου-μαρτύρων. Από αυτούς οι 84 βρίσκονταν σε προτελικό στάδιο χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας και οι 31 σε τελικό στάδιο χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας σε περιοδικό πρόγραμμα αιμοκάθαρσης. (σχήμα 1)

Τα δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών και μαρτύρων εμφανίζονται στον πίνακα 1.

Τόσο στους ασθενείς με σηπτικό σύνδρομο όσο και στους μάρτυρες έγινε γονοτυπικός έλεγχος στις θέσεις -572 G/C (rs1800796) και -174G/C (rs1800795) του εκκινητή της *ιντερλευκίνης-6*. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 2.

Η κατανομή των γονότυπων στην ομάδα των μαρτύρων βρισκόταν σε ισορροπία Hardy Weinberg τόσο στη θέση -572G/C όσο και στη -174G/C. Η κατανομή των γονότυπων στην ομάδα των ασθενών με ΧΝΝ και σηπτικό σύνδρομο στη θέση -174 G/C βρισκόταν επίσης σε ισορροπία Hardy Weinberg. Στη θέση όμως -572 G/C απουσίαζε η ισορροπία Hardy Weinberg μεταξύ των ασθενών.

Όσον αφορά τη θέση *IL-6* -572G/C (rs1800796) , τα αποτελέσματα στους ασθενείς με ΧΝΝ προτελικού σταδίου (v=136) και σηπτικό σύνδρομο ήταν τα εξής: GG: v=105, (77.2%), GC: v=27 (19.8%) και CC: v=4 (2.9%), ενώ τα αντίστοιχα αποτελέσματα στους ασθενείς τελικού σταδίου χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας (v=62) με σηπτικό σύνδρομο ήταν: GG: v=50 (80.6%), GC: v=10 (16.1%) και CC: v= 2 (3.22%).

Τα αντίστοιχα αποτελέσματα για το SNP *IL-6*-572G/C στους μάρτυρες με ΧΝΝ προτελικού σταδίου (v=84) ήταν: GG: v=51 (60.7%), GC: v=28 (33.3%) και CC: v=5 (5.9%), ενώ στους μάρτυρες τελικού σταδίου (v=31) GG: v=21 (67.7%), GC: v=9 (29%) και CC: v=1 (3.2%).

Στη θέση *IL-6*-174G/C (rs1800795) ο γονοτυπικός έλεγχος ήταν ανεπιτυχής σε 13 ασθενείς. Τα αποτελέσματα στους πάσχοντες με ΧΝΝ προτελικού σταδίου και σηπτικό σύνδρομο ήταν τα εξής: GG: v=83 (66.4%), GC: v=40 (32%) και CC: v=2 (1.6%), ενώ τα αντίστοιχα αποτελέσματα στους ασθενείς τελικού σταδίου χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας με σηπτικό σύνδρομο ήταν: GG: v=41 (68.3%), GC: v=17 (28.3%) και CC: v=2 (3.33%).

Τα αποτελέσματα για το SNP *IL-6*-174G/C (rs1800795) στους μάρτυρες με ΧΝΝ προτελικού σταδίου ήταν: GG: v=61 (76.3%), GC: v=18 (22.5%) και CC: v=1 (1.25%), ενώ στους μάρτυρες τελικού σταδίου χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας ήταν: GG: v=18 (64.3%), GC: v=8 (28.6%) και CC: v=2 (7.14%).

Επειδή η κατανομή των γονότυπων ανάμεσα στους ασθενείς προτελικού και τελικού σταδίου χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας δεν παρουσίαζε διαφορά, οι δύο αυτές ομάδες αναλύθηκαν ως μια οντότητα.

Η κατανομή των διαφόρων γονότυπων στη θέση -572 G/C διέφερε σε στατιστικά σημαντικό βαθμό ανάμεσα στους ασθενείς και τους μάρτυρες. Συγκεκριμένα ο γονότυπος GG και το G αλληλίο παρουσιάζονταν συχνότερα στους ασθενείς με σηπτικό σύνδρομο. Αντίθετα η σύγκριση της κατανομής των γονότυπων στις θέσεις -174G/C δεν παρουσίαζε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στους ασθενείς με σήψη και τους μάρτυρες.

Ο σχετικός κίνδυνος για σήψη (OR) στους φορείς του γονότυπου GG ήταν 2.07 (95% CIs 1.24-1.34, $p=0.005$).

Όπως παρουσιάζεται στον πίνακα 1, η συχνότητα της χρόνιας καρδιακής ανεπάρκειας, της χρόνιας αποφρακτικής πνευμονοπάθειας και της κακοήθειας συμπαγών οργάνων ήταν μεγαλύτερη στην ομάδα των ασθενών σε σχέση με τους μάρτυρες. Για να επιβεβαιωθεί ο ρόλος του -572 GG γονότυπου ως ανεξάρτητου προδιαθεσικού παράγοντα για ανάπτυξη σηπτικού συνδρόμου ακολούθησε πολυπαραγοντική ανάλυση, στην οποία μελετήθηκαν εξίσου οι 4 παράγοντες: η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια, η καρδιακή ανεπάρκεια, η κακοήθεια συμπαγών οργάνων και ο GG γονότυπος. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης απέδειξαν ότι ο GG γονότυπος συσχετίστηκε ανεξάρτητα με την ανάπτυξη σήψης, όπως και η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια (πίνακας 3).

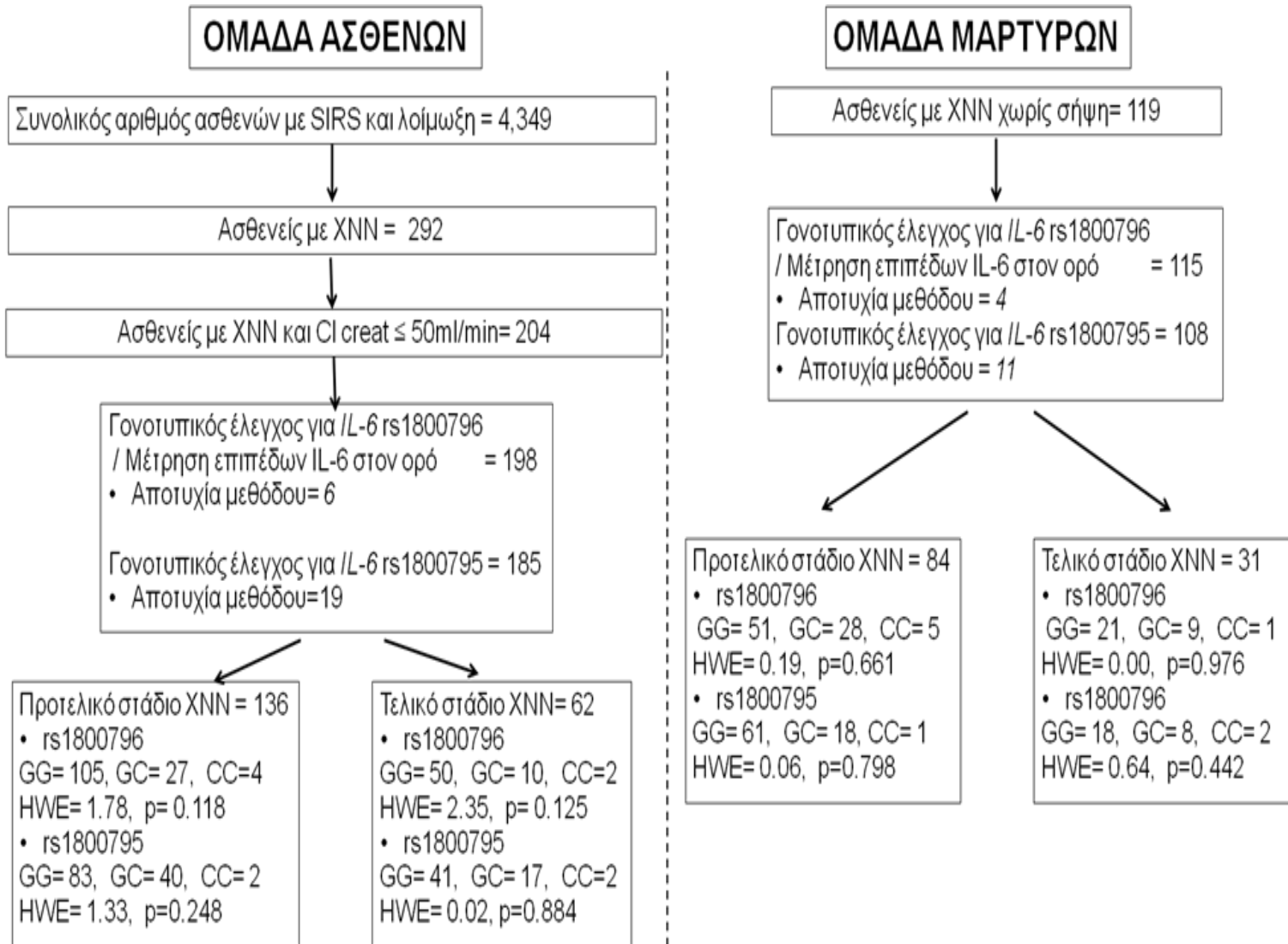
Αφού αποδείχθηκε ο προδιαθεσικός ρόλος του -572 GG γονότυπου στην ανάπτυξη σήψης σε ασθενείς με χρόνια νεφρική νόσο, ο επόμενος στόχος ήταν η διερεύνηση κατά πόσο ο γονότυπος αυτός επηρεάζει το φαινότυπο, δηλ. την κλινική έκφραση του σηπτικού συνδρόμου. Για το σκοπό αυτό έγινε σύγκριση των κλινικών χαρακτηριστικών των ασθενών με το GG γονότυπο σε σχέση με ασθενείς με τους GC και CC γονότυπους (πίνακας 4). Επίσης μελετήθηκε η θνητότητα των ασθενών, και καταγράφηκε η αιτία θανάτου εντός 28 ημερών από την εκδήλωση του σηπτικού συνδρόμου, ως οφειλόμενη στη λοίμωξη ή σε μη λοιμώδη-καρδιαγγειακά αίτια.

Αξιοσημείωτη παρατήρηση ήταν ότι ενώ η θνητότητα όλων των αιτίων στους ασθενείς με σηπτικό σύνδρομο δεν παρουσίαζε διαφορά ανάμεσα στις δύο υποομάδες ασθενών, εν τούτοις η θνητότητα από καρδιαγγειακά αίτια (μη σχετιζόμενα με τη λοίμωξη) ήταν μεγαλύτερη στους ασθενείς με το GG γονότυπο σε σχέση με τους ασθενείς με GC και CC γονότυπους στη θέση rs1800796. Πιο συγκεκριμένα, ανάμεσα στους 80 ασθενείς με σηπτικό σύνδρομο που απεβίωσαν μέχρι την 28η μέρα, η θνητότητα από τη λοίμωξη παρατηρήθηκε στους 22 από τους 62 ασθενείς με το GG γονότυπο (14.6%) και σε 17 από τους 18 ασθενείς με τους γονότυπους GC+CC (39.5%, $p=0.016$). Θάνατος από καρδιαγγειακά αίτια σημειώθηκε στους 40 ασθενείς με το GG γονότυπο (25.8%) και σε 1 ασθενή με GC/CC γονότυπο (2.4%).

Ο σχετικός κίνδυνος θανάτου από καρδιαγγειακά αίτια στους φορείς του γονότυπου GG ήταν 9.35 (95% CI: 1.16-75.05, $p=0.035$).

Όσον αφορά τη διάμεση τιμή των επιπέδων IL-6 στον ορό στους ασθενείς με το GG γονότυπο στη θέση rs1800796 αυτή ήταν: 40 pg/ml (όρια <20-12,400 pg/ml) και 32.5 pg/ml (<20-9,600 pg/ml) σε ασθενείς με τους GC και CC γονότυπους ($p=0.365$), δεν παρουσίαζε δηλαδή στατιστικά σημαντική διαφορά. Ακολούθησε σύγκριση των επιπέδων IL-6 στον ορό στους ασθενείς που παρουσίαζαν πολυοργανική ανεπάρκεια την 1η μέρα εισαγωγής τους σε σχέση με τους ασθενείς που δεν παρουσίαζαν πολυοργανική ανεπάρκεια την 1η μέρα εισαγωγής τους. Παρατηρήθηκε ότι τα επίπεδα IL-6 στον ορό ήταν μεγαλύτερα στους ασθενείς με τους GC και CC γονότυπους σε σχέση με ασθενείς με το GG γονότυπο. Δεν παρατηρήθηκε ανάλογη διαφορά στους ασθενείς που δεν παρουσίαζαν πολυοργανική ανεπάρκεια (εικόνες 1,2). Αυτή η παρατήρηση δηλώνει ότι σε περιπτώσεις που η λοίμωξη εκδηλώνεται με πολυοργανική ανεπάρκεια σε αρχικό στάδιο, οι φορείς των GC και CC γονότυπων παρουσιάζουν πιο έντονη φλεγμονώδη απάντηση από τους φορείς του GG γονότυπου. Αυτό συμβαδίζει με την παρατήρηση ότι η θνητότητα σε αρχικό στάδιο από σήψη είναι μεγαλύτερη σε φορείς των γονότυπων GC και CC.

Σχήμα 1. Ροή μελέτης



Πίνακας 1 Δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά ασθενών και μαρτύρων που εντάχθηκαν στη μελέτη

	Μάρτυρες (115)	Ασθενείς (198)	p-value
Ηλικία (έτη, μέση τιμή ±SD)	69 ± 11.8	67.7 ± 19.5	0.445
Άρρεν φύλο (ν,%)	60 (52.2)	117 (59.1)	0.238
ΤΣΧΝΝ (ν,%)	31 (26.9)	62 (31.3)	0.355
ΣΔ τύπου 2 (ν,%)	52 (45.2)	89 (44.9)	1.000
Χρόνια ΚΑ (ν,%)	32 (27.8)	79 (39.9)	0.037
ΧΑΠ (ν,%)	3 (2.6)	34 (17.2)	<0.0001
Κακοήθεια συμπαγών οργάνων (ν,%)	8 (7.0)	29 (14.6)	0.046
IL-6 (pg/ml, διάμεση τιμή)	<20 (10-1400)	50 (20-124000)	<0.0001

Πίνακας 2 Συχνότητες γονότυπων και αλληλίων των rs1800795 και rs1800796 της *IL-6* ανάμεσα σε ασθενείς με ΧΝΝ (μάρτυρες) και ασθενείς με ΧΝΝ και σηπτικό σύνδρομο (ασθενείς)

		Μάρτυρες	Ασθενείς	p-value**
rs 1800795*	GG γονότυπος (v,%)	79 (73.1)	123 (66.5)	0.465
	GC γονότυπος (v,%)	26 (24.1)	57 (30.8)	
	CC γονότυπος (v,%)	3 (2.8)	5 (2.7)	
		HWE=0.23	HWE=0.28	
		p of HWE=0.631	p of HWE=0.597	
		G αλληλίο (v,%)	184 (85.2)	303 (81.9)
	C αλληλίο (v,%)	32 (14.8)	67 (18.1)	
rs 1800796*	GG γονότυπος (v,%)	72 (62.6)	155 (78.3)	0.011
	GC γονότυπος (v,%)	37 (32.2)	37 (18.7)	
	CC γονότυπος (v,%)	6 (5.2)	6 (3)	
		HWE=0.19	HWE=3.78	
		p of HWE=0.664	P of HWE=0.050	
		G αλληλίο (v,%)	181 (78.7%)	347 (87.6)
	C αλληλίο (v,%)	49 (21.3%)	49 (12.4)	

* επιτυχής γονοτυπικός έλεγχος στο SNP rs1800795 πραγματοποιήθηκε σε 108 μάρτυρες και 185 ασθενείς , ενώ στο SNP rs1800796 σε 115 μάρτυρες και 198 ασθενείς

** με το χ^2 τεστ (Chi-square)

HWE= Hardy-Weinberg equilibrium

Πίνακας 3 Πολυπαραγοντική ανάλυση (logistic regression analysis) παραγόντων που σχετίζονται με την ανάπτυξη σήψης

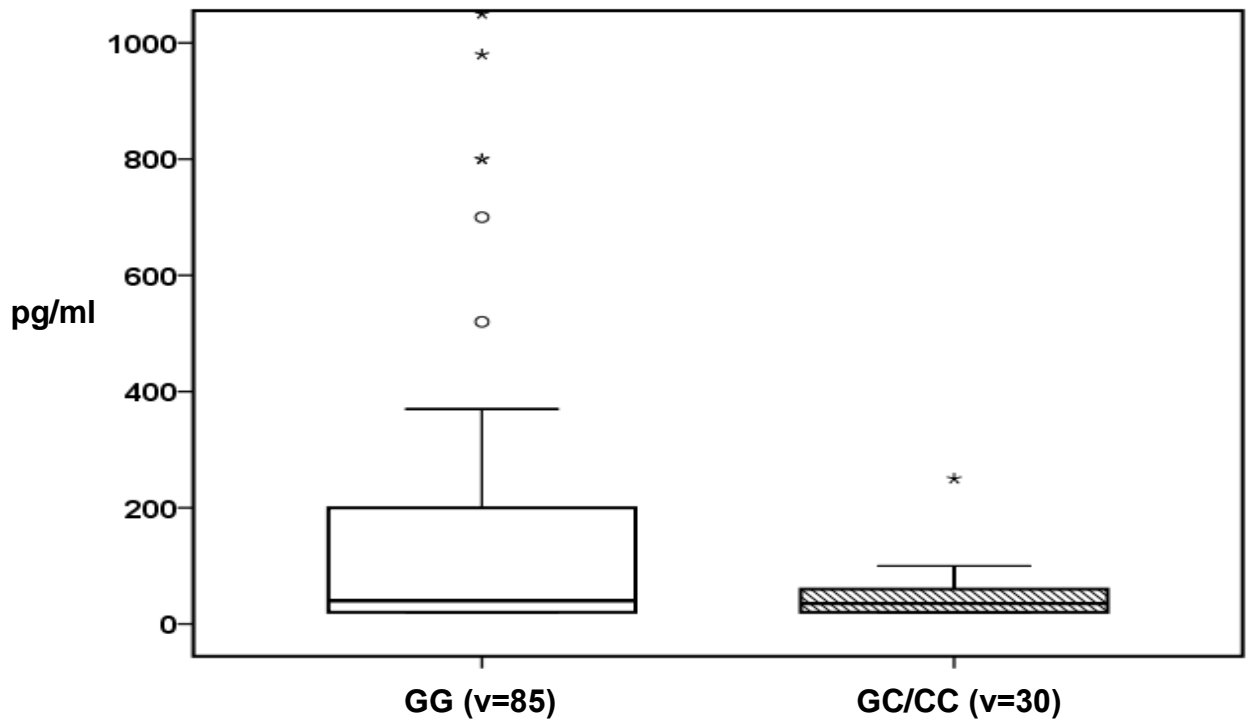
Παράγοντες	Odds ratio	95% CIs	p
GG γονότυπος στη θέση IL-6 rs1800796	2.01	1.18-3.42	0.010
Καρδιακή ανεπάρκεια	1.49	0.89-2.51	0.129
Χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια	6.99	2.07-23.62	0.002
Κακοήθεια συμπαγών οργάνων	2.20	0.94-5.51	0.069

Πίνακας 4 Δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά ασθενών σε σχέση με το γονότυπο *IL-6 rs1800796*

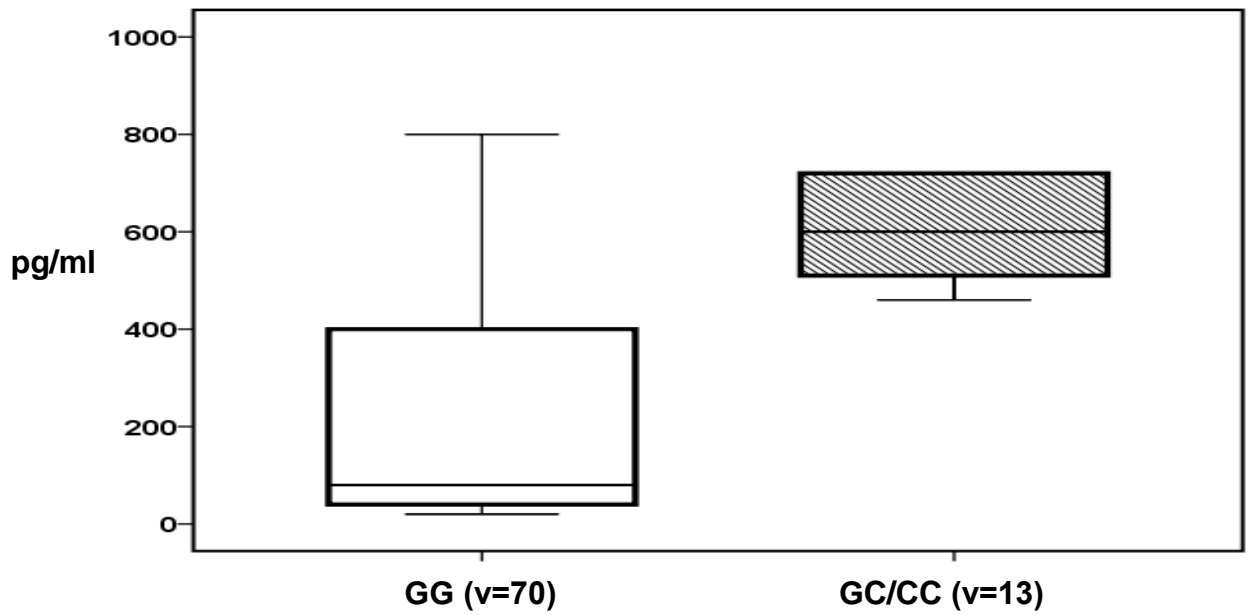
	GG (n=155)	GC, CC (n=43)	p
Άρρεν φύλο (v, %)	96 (61.9)	21 (48.9)	0.039
Ηλικία (έτη, μέση τιμή ± SD)	74.5 ± 13.5	76.3 ± 10.7	0.497
WBC (/mm ³ , μέση τιμή ± SD)	17,989.3 ± 14,121.3	15,443.5 ± 7,356.9	0.274
APACHE II (μέση τιμή ± SD)	21.7 ± 6.7	20.5 ± 6.7	0.434
SOFA score (μέση τιμή ± SD)	7.73 ± 3.84	7.48 ± 4.44	0.791
Σοβαρή σήψη/σηπτική καταπληξία (v, %)	111 (71.6)	25 (58.1)	0.138
Πολυοργανική ανεπάρκεια την 1η μέρα (v, %)	70 (45.2)	13 (30.2)	0.084
Υποκείμενη λοίμωξη (v, %)			
Οξεία πυελονεφρίτιδα	64 (41.3)	20 (46.5)	0.702
Πνευμονία κοινότητας	29 (18.7)	12 (27.9)	
Ενδοκοιλιακό απόστημα	14 (9.0)	2 (4.7)	
Πρωτοπαθής βακτηριαιμία	25 (16.1)	3 (7.0)	
Πνευμονία του αναπνευστήρα	9 (5.8)	3 (7.0)	
Νοσοκομειακή πνευμονία	8 (5.2)	2 (4.6)	
Λοίμωξη από κεντρικό φλεβικό καθετήρα	6 (3.9)	1 (2.3)	
Μικροοργανισμοί στο αίμα (v, %)			
<i>Escherichia coli</i>	21 (13.5)	5 (11.6)	0.803
<i>Acinetobacter baumannii</i>	8 (5.2)	0 (0)	
<i>Staphylococcus aureus</i>	7 (4.5)	3 (6.9)	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6 (3.9)	1 (2.3)	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5 (3.2)	0 (0)	

Άλλοι	8 (5.2)	1 (2.3)	
Μικροοργανισμοί στα ούρα (v, %)			
<i>Escherichia coli</i>	25 (16.1)	11 (25.6)	0.633
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10 (6.5)	2 (4.7)	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5 (3.2)	1 (2.3)	
<i>Proteus mirabilis</i>	5 (3.2)	2 (4.7)	
Άλλοι	3 (1.9)	0 (0)	
Υποκείμενα νοσήματα (v, %)			
Τελικό στάδιο χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας	50 (32.5)	12 (27.9)	0.711
Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2	67 (43.2)	22 (51.2)	0.389
Χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια	63 (40.6)	16 (37.2)	0.728
Χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια	28 (18.1)	6 (14.0)	0.650
Κακοήθεια συμπαγών οργάνων	20 (12.9)	9 (20.9)	0.223
Θνητότητα όλων των αιτίων στις 28 ημέρες (v, %)	62 (40.0)	18 (41.9)	0.862
Θνητότητα από λοίμωξη	22 (14.6)	17 (39.5)	
Θνητότητα από καρδιαγγειακά αίτια	40 (25.8)	1 (2.4)	0.031

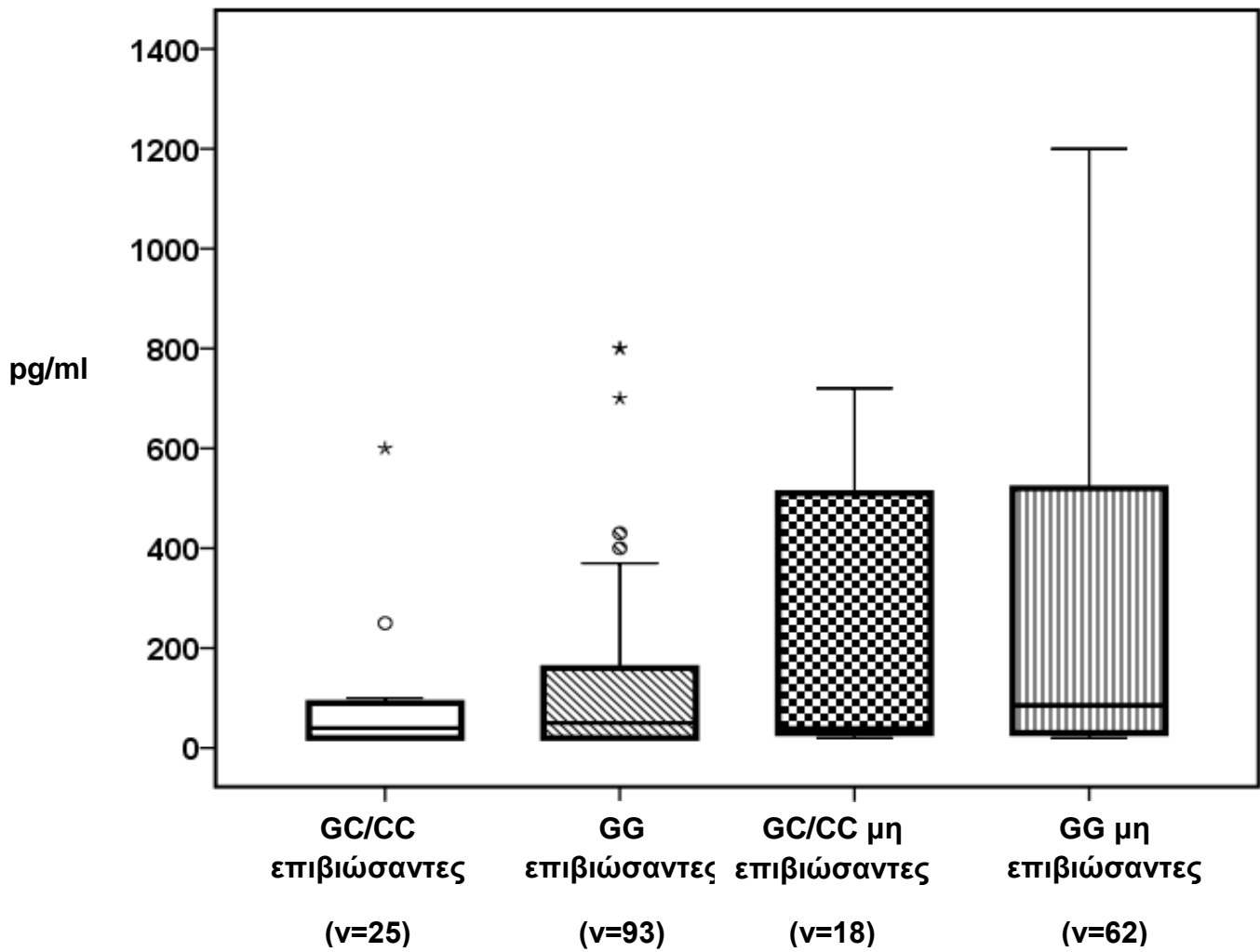
ΕΙΚΟΝΑ 1α. Ασθενείς χωρίς πολυοργανική ανεπάρκεια



ΕΙΚΟΝΑ 1β. Ασθενείς με πολυοργανική ανεπάρκεια



ΕΙΚΟΝΑ 2. Έκβαση σηπτικού συνδρόμου



ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ο ρόλος του πολυμορφισμού -572 (rs1800796) στην περιοχή του εκκινητή της *IL-6* στην ανάπτυξη και κλινική έκφραση νοσημάτων δεν έχει μελετηθεί ιδιαίτερα. Ο περισσότερο μελετημένος πολυμορφισμός είναι ο -174 (rs1800795) στην περιοχή του εκκινητή της *IL-6*. Η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη που περιγράφει ότι ο GG αγρίου τύπου γονότυπος στη θέση -572 αποτελεί ανεξάρτητο προδιαθεσικό παράγοντα για ανάπτυξη σήψης σε ασθενείς με χρόνια νεφρική νόσο. Όταν όμως το σηπτικό σύνδρομο εκδηλωθεί και μάλιστα με τη σοβαρότερη μορφή της πολυοργανικής ανεπάρκειας, φορείς του GG γονότυπου παρουσιάζουν χαμηλότερα επίπεδα *IL-6* στον ορό, λιγότερο δηλαδή φλεγμονώδες προφίλ σε σχέση με φορείς των γονότυπων GC και CC.

Ο γονότυπος δε GG έχει συσχετιστεί με περισσότερους θανάτους οφειλόμενους σε καρδιαγγειακά επεισόδια και όχι στη λοίμωξη. Η παρατήρηση αυτή συμβαδίζει με τα ευρήματα της εργασίας των Loeches M και συν όπου επίσης οι φορείς του GG γονότυπου συσχετίζονται με αυξημένη προδιάθεση θανάτου από καρδιαγγειακά επεισόδια. (45)

Υπάρχουν στη βιβλιογραφία μελέτες που αφορούν το πολυμορφισμό -572 (rs1800796) σε σχέση με την ανάπτυξη και κλινική εκδήλωση ηπατίτιδας B και C.

Στη μελέτη των Cussigh A και συν διερευνήθηκε μεταξύ άλλων πολυμορφισμών στο γονίδιο της *IL-6* η συσχέτιση του -572 (rs1800796) με την ανάπτυξη και εκδήλωση ηπατίτιδας C σε 424 Ιταλούς ασθενείς. Δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση του SNP αυτού με την ανάπτυξη, κλινική έκφραση και έκβαση της νόσου, ενώ ο διπλότυπος G-G στις θέσεις -597G/A και -174G/C συσχετίστηκε με προδιάθεση στην ανάπτυξη της νόσου και μάλιστα με μεγαλύτερο βαθμό σοβαρότητας της ίνωσης στο Ishak staging score στους άρρηνες ασθενείς.(4) Σε άλλη εργασία των Falletti E και συν σε 121 Ιταλούς ασθενείς με ήπια μορφή HCV και επιμένουσες φυσιολογικές τιμές αμινοτρανσφερασών, οι ασθενείς παρακολουθούντο για διάστημα 120 μηνών με επαναλαμβανόμενες βιοψίες ήπατος. Στη μελέτη αυτή παρατηρήθηκε συσχέτιση του -572 C αλληλίου με γρηγορότερη και μεγαλύτερου βαθμού επιδείνωση της νόσου και εξέλιξη της ίνωσης (Ishak staging score).(16) Στην

μελέτη των Yee και συν. σε 487 χρόνιους φορείς HCV υπό αγωγή με ιντερφερόνη παρατηρήθηκε ότι απλότυποι στο γονίδιο της *IL-6* που περιελάμβαναν το G αλληλίο (αγρίου τύπου) στη θέση -572 συσχετίστηκαν με μικρότερη πιθανότητα αρνητικοποίησης του ιού μετά από θεραπεία. (36)

Οι Tang S και συν σε 900 ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα B (HBV) στον υποπληθυσμό Han στην Κίνα παρατήρησαν ότι άρρενες φορείς του G αλληλίου παρουσίασαν σε μεγαλύτερο ποσοστό εξέλιξη σε ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα (26), ενώ σε παρόμοια μελέτη σε 641 ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα B (HBV) στον ίδιο υποπληθυσμό δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση του SNP -572 με την εξέλιξη της νόσου. (27)

Μόνο 2 μελέτες υπάρχουν στη βιβλιογραφία που αφορούν μελέτη του πολυμορφισμού -572 (rs1800796) σε σοβαρές μορφές λοιμώξεων, κυρίως βακτηριακής αιτιολογίας. Στη μελέτη των Michalek J και συν. σε 421 ασθενείς ηλικίας 0-19 ετών σε ΜΕΘ παιδών στην Τσεχία με σηπτικό σύνδρομο παρατηρήθηκαν οριακά σημαντικές διαφορές στη συχνότητα γονότυπων ανάμεσα σε ασθενείς και μάρτυρες, με υπεροχή του GG γονότυπου στους ασθενείς. Δεν παρατηρήθηκε όμως συσχέτιση με τη σοβαρότητα της νόσου. (37) Η άλλη μελέτη των Reiman M και συν. αφορούσε 107 νεογνά πολύ χαμηλού βάρους γέννησης <1500 γρ. ή ηλικίας κύησης <32 εβδομάδων με ανάπτυξη χοριοαμνιονίτιδας στη Φινλανδία. Παρατηρήθηκε ότι φορείς του CG γονότυπου παρουσίασαν αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης χοριοαμνιονίτιδας σε σχέση με φορείς του GG γονότυπου.(47)

Όλες οι υπόλοιπες μελέτες σε σηπτικούς ασθενείς επικεντρώνονται στον πολυμορφισμό -174 (rs1800795) της περιοχής του εκκινητή της *IL-6*. Στις περισσότερες υπάρχει συμφωνία ότι η παρουσία του GG γονότυπου (ομοζυγώτες του αγρίου τύπου G αλληλίου) ασκεί προστατευτική δράση στην ανάπτυξη ανεπάρκειας οργάνων αν και υπάρχουν και άλλες με αντικρουόμενα αποτελέσματα. Στη μελέτη των Loeches IM και συν σε 1246 Καυκάσιους ασθενείς με πνευμονία της κοινότητας (306 με πνευμονιοκοκκική πνευμονία) στην Ισπανία, περιγράφηκε προστατευτική δράση του GG γονότυπου στην ανάπτυξη σηπτικής καταπληξίας, ARDS, πολυοργανικής ανεπάρκειας και ενδονοσοκομειακής θνητότητας.(45). Οι Schaaf B και συν. σε 100 Καυκάσιους

ασθενείς στη Γερμανία με πνευμονιοκοκκική πνευμονία της κοινότητας παρατήρησαν ότι ο GG γονότυπος συσχετίστηκε με μικρότερη πιθανότητα εξωπνευμονικής διασποράς της νόσου.(15) Οι Schluter και συν σε 326 Γερμανούς ασθενείς σε ΜΕΘ μετά από χειρουργείο περιέγραψαν συσχέτιση του GG γονότυπου με μειωμένο κίνδυνο θανάτου από λοίμωξη (39). Στη μελέτη επίσης των Tischendorf και συν. σε 112 ασθενείς με σοβαρή σήψη σε ΜΕΘ στη Γερμανία, η παρουσία του -174C αλληλίου (GC/CC) συσχετίστηκε με αυξημένη προδιάθεση προς ανάπτυξη σηπτικής καταπληξίας.(38) Επίσης οι Baier RJ και συν. σε εργασία τους σε 293 νεογνά βάρους γέννησης <1500 γρ. στις ΗΠΑ σημείωσαν συσχέτιση του C αλληλίου με ανάπτυξη όψιμης βακτηριαιμίας.(43) Σε μελέτη σε 81 ασθενείς με οστεομυελίτιδα στην Ελλάδα επίσης περιγράφηκε προστατευτικός ρόλος του GG γονότυπου στην ανάπτυξη της λοίμωξης. (46) Επίσης στη μελέτη των Michalek και συν. σε 421 ασθενείς ηλικίας 0-19 ετών με σηπτικό σύνδρομο στη Τσεχία, ο CC γονότυπος ασκούσε προδιαθεσικό ρόλο στην εξέλιξη σε σοβαρότερες μορφές σηπτικού συνδρόμου και πολυοργανική ανεπάρκεια. (37)Υπάρχουν λίγες μελέτες με αντιφατικά αποτελέσματα όπως αυτή των Ahrens και συν. σε 356 νεογνά πολύ χαμηλού βάρους γέννησης στη Γερμανία, όπου ο GG γονότυπος συσχετίστηκε ως προδιαθεσικός παράγοντας με την ανάπτυξη σήψης, ιδιαίτερα από Gram + κόκκους. (42)

Στις πλείστες μελέτες που αφορούν λοιμώξεις εντάσσονται ασθενείς με την υπό μελέτη λοίμωξη και ως μάρτυρες υγιή άτομα. Όταν όμως υπάρχουν υποκείμενα νοσήματα, στα οποία ο υπό μελέτη πολυμορφισμός ασκεί προδιαθεσικό ρόλο, τότε η επιλογή υγιών μαρτύρων δυνατό να επιφέρει σύγχυση και λάθη στην εξαγωγή συμπερασμάτων. Στην παρούσα μελέτη, ο πληθυσμός των ασθενών με σηπτικό σύνδρομο είχε ως υποκείμενο νόσημα τη χρόνια νεφρική νόσο. Υπάρχουν στη βιβλιογραφία αρκετές μελέτες που περιγράφουν συσχέτιση του πολυμορφισμού rs1800796 στην περιοχή του εκκινητή της *IL-6* με την ανάπτυξη της ΧΝΝ. Συγκεκριμένα στη μελέτη των Buraczynska και συν. σε 541 ασθενείς με πρωτοπαθή σπειραματονεφρίτιδα στην Πολωνία αποδείχτηκε ότι το G αλληλίο στη θέση rs1800796 αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου στην εξέλιξη σε τελικό στάδιο χρόνιας νεφρικής νόσου.(7) Σε μια άλλη αξιολογη εργασία των Ng DPK και συν. σε 295 ασθενείς στη Σιγκαπούρη με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 ο απλότυπος 6

γονιδίων της *IL-6* που περιελάμβανε το G αλληλίο στη θέση rs1800796 συσχετίστηκε με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ΧΝΝ και ΤΣΧΝΝ.(12) Οι Ryu και συν επίσης σε μελέτη τους σε 80 αιμοκαθαιρόμενους ασθενείς απέδειξαν συσχέτιση του γονότυπου GG στη θέση rs1800796 και του G αλληλίου με αυξημένο κίνδυνο ΤΣΧΝΝ. (24) Η μελέτη των Sharma και συν. και σε 257 ασθενείς σε ΤΣΧΝΝ σε αιμοκάθαρση στην Ινδία οδήγησε στο συμπέρασμα ότι συνδιασμός αλληλίων σε διάφορες θέσεις του γονιδίου της *IL-6*, *IL-10* και *TNF-α* μεταξύ των οποίων και το G αλληλίο στη θέση rs1800796 συσχετίστηκαν με αυξημένο κίνδυνο ΤΣΧΝΝ και υποθρεψίας. (79) Επίσης στη μελέτη των Kitamura και συν σε ασθενείς στην Ιαπωνία με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 το G αλληλίο συσχετίστηκε με ανάπτυξη λευκωματουρίας. (80) Τα αποτελέσματα ήταν αντιφατικά στη μελέτη των Okada R και συν. σε 546 ασθενείς με ΧΝΝ στην Ιαπωνία, όπου ο GG γονότυπος συσχετίστηκε με μεγαλύτερες τιμές eGFR σε σχέση με ασθενείς με το CC γονότυπο.(73)

Στην παρούσα μελέτη λήφθηκε σοβαρά υπόψη το γεγονός ότι ο υπό μελέτη πολυμορφισμός ασκεί προδιαθεσικό ρόλο στην ανάπτυξη και εξέλιξη της χρόνιας νεφρικής νόσου, η οποία με τη σειρά της προδιαθέτει στην ανάπτυξη λοιμώξεων, καθώς αποτελεί μια κατάσταση χρόνιας ανοσοκαταστολής. Ως εκ τούτου στην επιλογή μαρτύρων χρησιμοποιήθηκαν ασθενείς με χρόνια νεφρική νόσο. Η ομοιομορφία ασθενών και μαρτύρων προσδίδει μεγαλύτερη αξιοπιστία και κύρος στην μελέτη.

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης αποδεικνύουν για πρώτη φορά ότι ο GG γονότυπος στη θέση rs1800796 στην περιοχή του εκκινητή της *IL-6* ασκεί προδιαθεσικό ρόλο στην ανάπτυξη λοίμωξης και εφόσον η λοίμωξη εκδηλωθεί, ενισχύει τον κίνδυνο εκδήλωσης καρδιαγγειακών συμβαμάτων και θανάτου οφειλόμενου σε αυτά και όχι στη λοίμωξη.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1: Σύστημα βαθμολογίας κατά APACHE II: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation.

Το συχνότερα χρησιμοποιούμενο σύστημα εκτίμησης της βαρύτητας της νόσου και πρόγνωσης στη ΜΕΘ. Αποτελείται από 3 στοιχεία: Βαθμολογία οξείας φυσιολογίας, βαθμολογία με βάση την ηλικία και βαθμολογία χρόνιας νόσου. Εκτιμούνται 17 μεταβλητές. Η μέγιστη τιμή είναι 71. Η καταγραφή γίνεται το 1ο 24ωρο νοσηλείας. Τιμές ≥ 24 σχετίζονται με νοσοκομειακή θνητότητα $>40\%$ και τιμές ≥ 35 με θνητότητα $>80\%$.

Η ολική βαθμολογία σύμφωνα με το APACHE II score είναι αποτέλεσμα της άθροισης των παραμέτρων 1-12 + Βαθμολογία με βάση την ηλικία + Βαθμολογία χρόνιας νόσου

ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	ΥΨΗΛΕΣ ΜΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΤΙΜΕΣ				ΦΥΣΙΟΛ. ΤΙΜΕΣ	ΧΑΜΗΛΕΣ ΜΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΤΙΜΕΣ			
	+4	+3	+2	+1	0	+1	+2	+3	+4
1.Θερμοκρασία ορθού (°C)	>41	39-40.9		38,5-38,9	36-38,4	34-35,9	32-33,9	30-31,9	<29,9
2. Μέση αρτηριακή πίεση (mmHg)	>160	130-159	110-129		70-109		50-69		<49
3. Καρδιακός ρυθμός (κοιλιακή ανταπόκριση/λεπτό)	>180	140-179	110-139	70-109		55-69		40-54	<39
4. Αναπνευστικός ρυθμός (μηχανικός ή μη)/λεπτό	50	35-49		25-34	12-24	10-11	6-9		<5
5.Οξυγόνωση: AaPO ₂ ή PaO ₂ (mmHg) αναλόγως της τιμής FiO ₂									
α.FiO ₂ >0.5 :υπολογισμός AaPO ₂	>500	350-499	200-349		<200				
β. FiO ₂ <0.5: καταγραφή μόνο PaO ₂					>70	61-70		55-60	<55
6.Αρτηριακό PH (επί	>7,7	7,6-7,69		7,5-7,59	7,33-7,49		7,25-	7,15-	<7,15

απουσίας αερίων αίματος HCO ₃ **)							7,32	7,24	
7.Νάτριο ορού (mmol/L)	>180	160-179	155-159	150-154	130-139		120-129	110-119	<110
8.Κάλιο ορού (mmol/L)	>7	6-6,9		5,6-5,9	3,5-5,4	3-3,4	2,5-2,9		<2,5
9.Κρεατινίνη ορού (mg/dl)(διπλάσια βαθμολογία επί NA	>3,5	2-3,4	1,5-1,9		0,6-1,4		<0,6		
10.Αιματοκρίτης (%)	60		50-59,9	46-49,9	30-45,9		20-29,9		<20
11.Λευκά αιμοσφαίρια (1000/mm ³)	>40		20-39,9	15-19,9	3-14,9		1-2,9		<1
12.Κλίμακα Κώματος Γλασκώβης GCS (Βαθμολογία=15-GCS)	15-GCS=								
ΟΛΙΚΗ ΒΑΘΜΟΛΟΓΙΑ (APS)	Άθροιση της βαθμολογίας των παραμέτρων 1-12=								
HCO ₃ ορού (mmol/L)	52	41-51,9		32-40,9	22-31,9		18-21,9	15-17,9	
**Δεν προτιμάται. Μόνο επί απουσίας αερίων αίματος									

Βαθμολογία με βάση την ηλικία		Βαθμολογία χρόνιας νόσου (αν ο ασθενής έχει ιστορικό σοβαρής οργανικής ανεπάρκειας ή είναι ανοσοκατασταλμένος αποδίδεται η ακόλουθη βαθμολογία)	
<44	0	Μη χειρουργημένος ασθενής ή ασθενής που χειρουργήθηκε σε επείγουσα βάση	Μετεγχειρητικός ασθενής μετά από προγραμματισμένη επέμβαση
45-54	+2	+5 βαθμοί	+2 βαθμοί
55-64	+3		
65-74	+5		
>75	+6		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 2: Σύστημα βαθμολογίας SOFA score (Sequential organ failure assessment):

Σύστημα εκτίμησης οργανικής δυσλειτουργίας και πρόγνωσης στη ΜΕΘ. Εκτιμάται η λειτουργία 6 οργανικών συστημάτων. Η φυσιολογική λειτουργία λαμβάνει τιμή 0, ενώ η πλέον παθολογική λειτουργία τιμή 4. Οι τιμές του συστήματος κυμαίνονται από 0-24. Βαθμολογία >15 σχετίζεται με θνητότητα 90%.

ΟΡΓΑΝΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ	0	1	2	3	4
Αναπνευστικό σύστημα (PaO ₂ /FiO ₂)	>400	<400	<300	<200 με υποστήριξη αναπνευστικού	<100 με υποστήριξη αναπνευστικού
Πήξη (αιμοπετάλια/mm ³)	>150	<150	<100	<50	<20
Ήπαρ (χολερυθρίνη mg/dl)	<1.2	1.2-1.9	2.0-5.9	6.0-11.0	>12.0
Καρδιαγγειακό (υπόταση) (δόσεις ινóτροπων σε μg/Kg/min)	Απουσία υπότασης	MAP<70 mmHg	Dopamine ≤5 ή Doputamine (οποιαδήποτε δόση)	Dopamine ≤5 ή Epinephrine ≤0.1 ή Norepinephrine ≤0.1	Dopamine >15 ή Epinephrine >0.1 ή Norepinephrine >0.1
Κεντρικό νευρικό σύστημα (GCS)	15	13-14	10-12	6-9	<6
Νεφροί (κρεατινίνη σε mg/dl ή αποβολή ούρων)	<1.2	1.2-1.9	2.0-3.4	3.5-4.9 <500 ml/24ωρο	>5.0 <200 ml/24ωρο

PaO₂/FiO₂: Λόγος της μερικής τάσης αρτηριακού οξυγόνου προς το εισπνεόμενο κλάσμα οξυγόνου

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ

ΣΚΟΠΟΣ: Γονιδιακοί πολυμορφισμοί της *IL-6* έχουν συσχετιστεί με προδιάθεση στην ανάπτυξη χρόνιας νεφρικής νόσου (ΧΝΝ). Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση πιθανής συσχέτισης πολυμορφισμών στην περιοχή του εκκινητή της *IL-6* με την ανάπτυξη και εξέλιξη σηπτικού συνδρόμου σε ασθενείς με ΧΝΝ.

ΜΕΘΟΔΟΙ: Μια ομάδα 115 μαρτύρων που περιελάμβανε ασθενείς με ΧΝΝ χωρίς λοίμωξη και μια ομάδα 198 ασθενών με ΧΝΝ και σήψη εντάχθηκαν στη μελέτη. Μελέτη των γονιδιακών πολυμορφισμών στις θέσεις rs1800795 και rs1800796 της περιοχής του εκκινητή της *IL-6* πραγματοποιήθηκε με την αντίδραση πολυμορφισμού του μήκους των θραυσμάτων DNA μετά από επώαση με περιοριστικά ένζυμα (RFLP-PCR: Restriction Fragment Length Polymorphism). Τα επίπεδα *IL-6* στον ορό μετρήθηκαν με ανοσοενζυμική μέθοδο.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ: Η συχνότητα του γονότυπου GG στη θέση rs1800796 ήταν μεγαλύτερη στους ασθενείς (78.3%) σε σύγκριση με τους μάρτυρες (62.6%). Δεν παρατηρήθηκε διαφορά στη συχνότητα γονότυπων ανάμεσα σε ασθενείς και μάρτυρες στη θέση rs1800795. Ο σχετικός κίνδυνος για σήψη (OR) σε ασθενείς με το GG γονότυπο στη θέση rs1800796 ήταν 2.07 (95%CI: 1.24-3.44, $p=0.005$). Το αποτέλεσμα αυτό επιβεβαιώθηκε στην πολυπαραγοντική ανάλυση στην οποία λήφθηκαν υπόψη διάφορες αιτίες συννοσηρότητας. Η θνητότητα από όλα τα αίτια εντός 28 ημερών δε διέφερε στους ασθενείς με το GG γονότυπο σε σύγκριση με ασθενείς με τους GC και CC γονότυπους στη θέση rs1800796, αλλά η θνητότητα από καρδιαγγειακά επεισόδια μη σχετιζόμενα με τη λοίμωξη ήταν μεγαλύτερη σε ασθενείς με το GG γονότυπο (25.8%) σε σχέση με ασθενείς με τους GC, CC γονότυπους (2.4%, $p=0.031$). Τα επίπεδα *IL-6* στον ορό ήταν μεγαλύτερα στους ασθενείς με τους γονότυπους GC και CC στη θέση rs1800796 και πολυοργανική ανεπάρκεια ($p=0.013$).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ: Ο GG γονότυπος στη θέση rs1800796 του εκκινητή της *IL-6* προδιαθέτει στην ανάπτυξη σήψης σε ασθενείς με χρόνια νεφρική νόσο και στη θνητότητα από καρδιαγγειακά αίτια εντός 28 ημερών από την έναρξη του σηπτικού συνδρόμου.

ΑΓΓΛΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ

BACKGROUND: Single nucleotide polymorphisms (SNPs) of *interleukin (IL)-6* are associated with the development of chronic renal disease (CRD). Their impact for sepsis in the field of CRD was investigated.

METHODS: One control cohort of 115 patients with CRD without infection and another case cohort of 198 patients with CRD and sepsis were enrolled. Genotyping at the -174 (rs1800795) and -572 (rs1800796) was done by restriction fragment length polymorphism. Circulating IL-6 was measured by an enzyme immunoassay.

RESULTS: The GG genotype of rs1800796 was more frequent among cases (78.3%) than controls (62.6%). No difference in the genotype frequencies of rs1800795 between cases and controls was found. Odds ratio for sepsis was 2.07 (95% CIs: 1.24-3.44, $p=0.005$) with the GG genotype of rs1800796, which was confirmed by logistic regression analysis taking into consideration the presence of chronic co morbidities. All-cause mortality until day 28 was similar between patients with the GG genotype and the GC/CC genotypes of rs1800796, but death caused from cardiovascular events not-related with infection was more frequent with the GG genotype (25.8% vs 2.4%, $p=0.031$). Circulating IL-6 was greater among patients of the GC/CC genotypes of rs1800796 and multiple organ dysfunction ($p=0.013$).

CONCLUSIONS: The GG genotype of rs1800796 predisposes to sepsis in CRD and to 28-day mortality by sepsis-unrelated cardiovascular phenomena.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1 Pan M, Gao SP, Jiang MH, Guo J, Zheng JG, Zhu JH. Interleukin 6 promoter polymorphisms in normal Han Chinese population: Frequencies and effects on inflammatory markers. *J Investig Med* 2011;59: 272-276.
- 2 Gu W, Du DY, Huang J, Zhang LY, Liu Q, Zhu PF, Wang ZG, Jiang JX. Identification of interleukin-6 promoter polymorphisms in the Chinese Han population and their functional significance. *Crit Care Med* 2008;36:No 5
- 3 Carrera FM, Lopez GR, Martinez NAA, Zapien AGG, Martinez SEF, Corona JS. Influence of CRP, IL6, and TNFA gene polymorphisms on circulating levels of c-reactive protein in Mexican adolescents. *Arch Med Res* 2010;41:472-477.
- 4 Cussigh A, Falleti E, Fabris C, Bitetto D, Cmet S, Fontanini E, Bignulin S, Fornasiere E, Fumolo E, Minisini R, Pirisi M, Toniutto P. Interleukin 6 promoter polymorphisms influence the outcome of chronic hepatitis C. *Immunogenetics* 2011;63:33-41.
- 5 Mittal RD, Manchanda PK. Association of interleukin (IL)-4 intron-3 and IL-6-174 G/C gene polymorphism with susceptibility to end-stage renal disease. *Immunogenetics* 2007;59:159-165.
- 6 Dimitrijeva BS, Zivkovic M, Stankovic A, Stojkovic L, Kostic M. The IL-6-174G/C polymorphism and renal scarring in children with first acute pyelonephritis. *Pediatr Nephrol* 2010;25:2099-2106.
- 7 Buraczynska M, Jozwiak L, Ksiazek P, Borowicz E, Mierzicki P. Interleukin-6 gene polymorphism and faster progression to end-stage renal failure in chronic glomerulonephritis. *Transl Res* 2007;150:101-105.
- 8 Garibotto G, Sofia A, Procopio V, Villaggio B, Tarroni A, Di Martino M, Capelli V, Gandolfo MT, Aloisi F, De Cian F, Sala MR, Verzola D. Peripheral tissue release of interleukin-6 in patients with chronic kidney diseases: Effects of end-stage renal disease and microinflammatory state. *Kidney Int* 2006;70:384-390.
- 9 Rysz J, Banach M, Rysz AC, Stolarek R, Barylski M, Drozd J, Okonski P. Blood serum levels of IL-2, IL-6, IL-8, TNF- α , and IL-1 β in patients on maintenance hemodialysis. *Cell Mol Immunol* 2006;3(2):151-154.

- 10 Hedges S, Agace W, Svensson M, Sjogren AC, Ceska M, Svanborg C. Uroepithelial cells are part of a mucosal cytokine network. *Infect Immun* 1994;62(6):2315-2321
- 11 Roilides E, Papachristou F, Gioulekas E, Tsaparidou S, Karatzas N, Sotiriou J, Tsiouris J. Increased urine interleukin-6 concentrations correlate with pyelonephritic changes on 99mTc-dimercaptosuccinic acid scans in neonates with urinary tract infections. *J Infect Dis* 1999;180(3):904-907
- 12 Ng DPK, Nurbaya S, Ye SHJ, Krolewski AS. An IL-6 haplotype on human chromosome 7p21 confers risk for impairment renal function in type 2 diabetic patients. *Kidney Int* 2008;74:521-527
- 13 Barkhordari E, Rezaei N, Ansaripour B, Larki P, Alighardashi M, Ahmadi-Ashtiani HR, Mahmoudi M, Keramati MR, Habibollahi P, Bashashati M, Ebrahimi-Daryani N, Amirzargar AA. Proinflammatory cytokine gene polymorphisms in irritable bowel syndrome. *J Clin Immunol* 2010;30:74-79.
- 14 Memoli B, Salerno S, Procino A, Postiglione L, Morelli S, Sirico ML, Giordanos F, Ricciardone M, Drioli E, Andreucci VE, De Bartolo L. A translational approach to micro-inflammation in end-stage renal disease: molecular effects of low levels of interleukin-6. *Clin Sci* 2010;119:163-174.
- 15 Schaaf B, Rupp J, Steinhardt MM, Kruse J, Boehmke F, Maass M, Zabel P, Dalhoff K. The interleukin-6 -174 promoter polymorphism is associated with extrapulmonary bacterial dissemination in *Streptococcus pneumoniae* infection. *Cytokine* 2005;31:324-328.
- 16 Falleti E, Fabris C, Vandelli C, Colletta C, Cussigh A, Smirne C, Fontanini E, Cmet S, Minisini R, Bitetto D, Toniutto P, Pirisi M. Genetic polymorphisms of interleukin-6 modulate fibrosis progression in mild chronic hepatitis C. *Hum Immunol* 2010;71:999-1004.
- 17 Rantala A, Lajunen T, Juvonen R, Kassinen SS, Peitso A, Vainio O, Saikku P, Leinonen M. Association of *IL-6* and *IL-6R* gene polymorphisms with susceptibility to respiratory tract infections in young Finish men. *Hum Immunol* 2011;72:63-68.

- 18 Tsirpanlis G, Chatzipanagiotou S, Boufidou F, Kordinas V, Alevyzaki F, Zoga M, Kyritsis I, Ioannou D, Fatourou A, Nicolaou C. Release of Interleukin-6 and its soluble receptors by activated peripheral blood monocytes is elevated in hypocholesterolemic hemodialysis patients. *Am J Nephrol* 2005;25:484-490.
- 19 Woo P, Humphries SE. IL-6 polymorphisms: a useful genetic tool for inflammation research? *J Clin Invest* 2013;123(4):1413-1414.
- 20 Fishman D, Faulds G, Jeffery R, Mohamed-Ali V, Yudkin JS, Humphries S, Patricia W. The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J Clin Invest* 1998;102(7):1369-1376
- 21 Ogilvie EM, Fife MS, Thompson SD, Twine N, Tsoras M, Moroldo M, Fisher SA, Lewis CM, Prieur AM, Glass DN, Woo P. The -174G allele of the interleukin-6 gene confers susceptibility to systemic arthritis in children: a multicenter study using simplex and multiplex juvenile idiopathic arthritis families. *Arthritis Rheum* 2003;48(11):3202-3206.
- 22 Hingorani AD, Casas JP. The interleukin-6 receptor as a target for prevention of coronary heart disease: a mendelian randomisation analysis. *Lancet* 2012 ;379(9822):1214-1224.
- 23 Harrison SC, Smith AJP, Jones GT, Swerdlow DI, Rampuri R, Bown MJ, Folkersen L, Baas AF, de Borst GJ, Blankensteijn JD, Price JF, van der Graaf Y, McLachlan S, Agu O, Hofman A, Uitterlinden AG, Cereceda AF, Ruigrok YM, van 't Hof FN, Powell JT, van Rij AM, Casas JP, Eriksson P, Holmes MV, Asselbergs FW, Hingorani AD, Humphries SE . Interleukin-6 receptor pathways in abdominal aortic aneurysm. *Eur Heart J* 2013;34:3707-3716.
- 24 Ryu JH, Kim SJ. Interleukin-6 -634 C/G and -174G/C polymorphisms in Korean patients undergoing hemodialysis. *Korean J Intern Med* 2012;27:327-337.
- 25 Wu W, Clark EAS, Stoddard GJ, Watkins WS, Esplin MS, Manuck TA, Xing J, Varner MW, Jorde LB. Effect of interleukin-6 polymorphism on risk of preterm birth within population strata: a meta-analysis. *BMC Genet* 2013;14:30.

- 26 Tang S, Yuan Y, He Y, Pan D, Zhang Y, Liu Y, Liu Q, Zhang Z, Liu Z. Genetic polymorphism of interleukin-6 influences susceptibility to HBV-related hepatocellular carcinoma in a male Chinese Han population. *Hum Immunol* 2014;75:297-301.
- 27 Tang S, Liu Z, Zhang Y, He Y, Pan D, Liu Y, Liu Q, Zhang Z, Yuan Y. Rather than rs1800796 polymorphism, expression of interleukin-6 is associated with disease progression of chronic HBV infection in a Chinese Han population. *Dis Markers* 2013;35(6):799-805.
- 28 Pereira DS, Mateo ECC, de Queiroz BZ, Assumpcao AM, Miranda AS, Felicio DC, Rocha NP, da Cruz dos Anjos DM, Pereira DAG, Teixeira AL, Pereira LSM. TNF-a, IL-6, and IL-10 polymorphisms and the effect of physical exercise on inflammatory parameters and physical performance in elderly women. *AGE* 2013;35:2455–2463
- 29 Minton EJ, Smillie D, Smith P, Shipley S, McKendrick MW, Gleeson DC, Underwood JCE, Cannings C, Wilson AG, Trent Hepatitis C study group. Clearance of Hepatitis C virus is not associated with single nucleotide polymorphisms in the IL-1, -6, or -10 genes. *Hum Immunol* 2005;66:127-132.
- 30 Feld JJ, Liang TJ. Hepatitis C-- identifying patients with progressive liver injury. *Hepatology* 2006;43(2 suppl 1):194-206
- 31 Massard J, Ratziu V, Thabut D, Moussalli J, Lebray P, Benhamou Y, Poynard T. Natural history and predictors of disease severity in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2006;44(1):19-24
- 32 Missiha SB, Ostrowski M, Heathcote EJ. Disease progression in chronic hepatitis C: Modifiable and nonmodifiable factors. *Gastroenterology* 2008;134(6):1699-1714
- 33 Muir AJ, Bornstein JD, Killenberg PG. Peginterferon alfa-2b and ribavirin for the treatment of chronic hepatitis C in blacks and non-Hispanic whites. *N Engl J Med* 2004;350(22):2265-2271
- 34 Mosbrugger TL, Duggal P, Goedert JJ, Kirk GD, Hoots WK, Tobler LH, Busch M, Peters MG, Rosen HR, Thomas DL, Thio CL. Large scale candidate gene analysis of spontaneous clearance of hepatitis C virus. *J Infect Dis* 2010;201(9):1371-1380

- 35 Barrett S, Collins M, Kenny C, Ryan E, Keane CO, Crowe J. Polymorphisms in Tumor necrosis factor- α , Transforming growth factor- β , Interleukin-10, Interleukin-6, Interferon- γ , and outcome of hepatitis C virus infection. *J Med Virol* 2003;71:212-218.
- 36 Yee LJ, Im K, Borg B, Yang H, Liang TJ. Interleukin-6 haplotypes and the response to therapy of chronic hepatitis C virus infection. *Genes Immun* 2009;10:365-372.
- 37 Michalek J, Svetlikova P, Fedora M, Klimovic M, Klapacova L, Bartosova D, Hrstkova H, Hubacek JA.. Interleukin-6 gene variants and the risk of sepsis development in children. *Hum Immunol* 2007;68:756-760.
- 38 Tischendorf JJW, Yagmur E, Scholten D, Vidacek D, Koch A, Winograd R, Gressner AM, Trautwein C, Wasmuth HE, Lammert F. The interleukin-6 (*IL-6*) -174 G/C promoter genotype is associated with the presence of septic shock and the *ex vivo* secretion of IL-6. *Int J Immunogenet* 2007;34:413-418.
- 39 Schluter B, Raufhake C, Erren M, Schotte H, Kipp F, Rust S, van Aken H, Assmann G, Berendes E. Effect of the interleukin-6 promoter polymorphism (-174 G/C) on the incidence and outcome of sepsis. *Crit Care Med* 2002;30(1):32-37.
- 40 Sutherland AM, Walley KR, Manocha S, Russell JA. The association of interleukin 6 haplotype clades with mortality in critically ill adults. *Arch Intern Med* 2005;165(1):75-82.
- 41 Sipahi T, Pocan H, Akar N. Effect of various genetic polymorphisms on the incidence and outcome of severe sepsis. *Clin Appl Thromb Hemost* 2006;12(1):47-54.
- 42 Ahrens P, Kattner E, Kohler B, Hartel C, Seidenberg J, Segerer H, Moller J, Gopel W. Mutations of genes involved in the innate immune system as predictors of sepsis in very low birth weight infants. *Pediatr Res* 2004;55(4):652-656.
- 43 Baier RJ, Loggins J, Yanamandra K. IL-10, IL-6 and CD14 polymorphisms and sepsis outcome in ventilated very low birth weight infants. *BMC Med* 2006;4:10.
- 44 Palumbo AA, Forte GI, Pileri D, Vaccarino L, Conte F, D'Amelio L, Palmeri M, Triolo A, D'Arpa N, Scola L, Misiano G, Milano S, Lio D.

- Analysis of IL-6, IL-10 and IL-17 genetic polymorphisms as risk factors for sepsis development in burned patients. *Burns* 2012;38:208-213.
- 45 Loeches IM, Violan JS, de Castro FR, Laorden MIG, Borderias L, Blanquer J, Rajas O, Briones ML, Aspa J, Herrera-Ramos E, Marcos-Ramos JA, Sologuren I, Gonzalez-Quevedo N, Ferrer-Aguero JM, Noda J, Rodriguez-Gallego C. Variants at the promoter of the interleukin-6 gene are associated with severity and outcome of pneumococcal community-acquired pneumonia. *Intensive Care Med* 2012;38:256-262.
- 46 Tsezou A, Poultides L, Kostopoulou F, Zintzaras E, Satra M, Kitsiou-Tzeli S, Malizos KN. Influence of Interleukin 1 α (IL-1 α), IL-4, and IL-6 polymorphisms on genetic susceptibility to chronic osteomyelitis. *Clin Vaccine Immunol* 2008;15(12):1888-1890.
- 47 Reiman M, Kujari H, Ekholm E, Lapinleimu H, Lethonen L, Haataja L, Pipari study group. Interleukin-6 polymorphism is associated with chorioamnionitis and neonatal infections in preterm infants. *J Pediatr* 2008;153:19-24.
- 48 Mendonca VRR, Souza LCL, Garcia GC, Magalhaes BML, Lacerda MVG, Andrade BB, Goncalves MS, Barral-Netto M. *DDX39B (BAT1)*, *TNF* and *IL6* gene polymorphisms and association with clinical outcomes of patients with *Plasmodium vivax* malaria. *Malar J* 2014;13:278.
- 49 Andrade BB, Barral-Netto M. Biomarkers for susceptibility to infection and disease severity in human malaria. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2011;106(1):70-78.
- 50 Mackinnon MJ, Mwangi TW, Snow RW, Marsh K, Williams TN. Heritability of malaria in Africa. *PLoS Med* 2005;2(12):e340.
- 51 Allcock RJ, Williams JH, Price P. The central MHC gene, *BAT1*, may encode a protein that down-regulates cytokine production. *Genes Cells* 2001;6(5):487-494.
- 52 Price P, Wong AM, Williamson D, Voon D, Baltic S, Allcock RJ, Boodhoo A, Christiansen FT. Polymorphisms at positions -22 and -348 in the promoter of the *BAT1* gene affect transcription and the binding of nuclear factors. *Hum Mol Genet* 2004;13(9):967-974.
- 53 Sohail M, Kaul A, Bali P, Raziuddin M, Singh MP, Singh OP, Dash AP, Adak T. Alleles -308A and -1031 C in the TNF-alpha gene promoter do

- not increase the risk but associated with circulating levels of TNF-alpha and clinical features of vivax malaria in Indian patients. *Mol Immunol* 2008;45(6):1682-1692.
- 54 Aubouy A, Deloron P, Migot-Nabias F. Plasma and in vitro levels of cytokines during and after a Plasmodium falciparum malaria attack in Gabon. *Acta Trop* 2002;83(3):195-203.
- 55 Sortica VA, Cunha MG, Ohnishi MDO, Souza JM, Ribeiro-dos-Santos AKC, Santos SEB, Hutz MH. Role of *IL6*, *IL12B* and *VDR* gene polymorphisms in *Plasmodium vivax* malaria severity, parasitemia and gametocytemia levels in an Amazonian Brazilian population. *Cytokine* 2014;65:42-47.
- 56 Castellucci L, Menezes E, Oliveira J, Magalhaes A, Guimaraes LH, Lessa M, Ribeiro S, Reale J, Noronha EF, Wilson ME, Duggal P, Beaty TH, Jeronimo S, Jamieson SE, Bales A, Blackwell JM, Ribeiro de Jesus A, Carvalho EM. *IL-6* -174G/C promoter polymorphism influences susceptibility to mucosal but not localized cutaneous Leishmaniasis in Brazil. *J Infect Dis* 2006;194:519-527.
- 57 Aker S, Bantis C, Reis P, Kuhr N, Schwandt C, Grabensee B, Heering P, Ivens K. Influence of interleukin-6 G-174-C gene polymorphism on coronary artery disease, cardiovascular complications and mortality in dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2009;24:2847-2851.
- 58 Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ, Hennekens CH. Plasma concentration of Interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation* 2000;101:1767-1772.
- 59 Hoshi T, Kitagawa K, Yamagami H, Furukado S, Hougaku H, Hori M. Relations of serum high-sensitivity c-reactive protein and interleukin-6 levels with silent brain infarction. *Stroke* 2005;36:768-772.
- 60 Hasuike Y, Nonoguchi H, Ito K, Naka M, Kitamura R, Nanami M, Tokuyama M, Kida A, Otaki Y, Kuragano T, Nakanishi T. Interleukin-6 is a predictor of mortality in stable hemodialysis patients. *Am J Nephrol* 2009;30(4):389-398.
- 61 Panichi V, Maggiore U, Taccola D, Migliori M, Rizza GM, Consani C, Bertini A, Sposini S, Perez-Garcia R, Rindi P, Palla R, Tetta C. Interleukin-6 is a stronger predictor of total and cardiovascular mortality

- than C-reactive protein in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19(5):1154-1160.
- 62 Bologa RM, Levine DM, Parker TS, Cheigh JS, Serur D, Stenzel KH, Rubin AL. Interleukin-6 predicts hypoalbuminemia, hypocholesterolemia, and mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1998;32(1):107-114.
- 63 Kikuchi H, Anan F, Kaneda K, Nawata T, Eshima N, Saikawa T, Yoshimatsu H. Interleukin-6 and silent cerebral infarction in hemodialysis patients: a cross-sectional study. *Eur J Neurol* 2011;18:625-630.
- 64 Saxena M, Srivastava N, Banerjee M. Association of *IL-6*, *TNF* and *IL-10* gene polymorphisms with type 2 diabetes mellitus. *Mol Biol Rep* 2013;40:6271-6279.
- 65 Sanders J, Hawe E, Brull DJ, Hubbart C, Lowe GDO, Rumley A, Humphries SE, Montgomery HE. Higher IL-6 levels but not IL6 -174G>C or -572G>C genotype are associated with post-operative complications following coronary artery bypass graft (CABG) surgery. *Atherosclerosis* 2009;204:196-201.
- 66 Rehman S, Akhtar N, Saba N, Munir S, Ahmed W, Mohyuddin A, Khanum A. A study on the association of TNF- α -308, IL-6-174, IL-10-1082 and IL-1Ra VNTR gene polymorphisms with rheumatic heart disease in Pakistani patients. *Cytokine* 2013;61:527-531.
- 67 Settin A, Abdel-Hady H, EL-Baz R, Saber I. Gene polymorphisms of TNF-alpha (-308), IL-10(-1082), IL-6(-174), and IL-1Ra(VNTR) related to susceptibility and severity of rheumatic heart disease. *Pediatr Cardiol* 2007;28(5):363-371.
- 68 Col-Araz N, Pehlivan S, Baspinar O, Oguzkan-Balci S, Sever T, Balat A. Role of cytokine gene (IFN- γ , TNF- α , TGF- β 1, IL-6, and IL-10) polymorphisms in pathogenesis of acute rheumatic fever in Turkish children. *Eur J Pediatr* 2012;171:1103-1108.
- 69 Podgoreanu MV, White WD, Morris RW, Mathew JP, Stafford-Smith M, Welsby IJ, Grocott HP, Milano CA, Newman MF, Schwinn DA, PEGASUS investigative team. Inflammatory gene polymorphisms and risk of postoperative myocardial infarction after cardiac surgery. *Circulation* 2006;114(1):1275-1281.

- 70 Yanbaeva DG, Dentener MA, Spruit MA, Houwing-Duistermaat JJH, Kotz D, Passos VL, Wouters EFM. *IL-6* and *CRP* haplotypes are associated with COPD risk and systemic inflammation: a case-control study. *BMC Med Genet* 2009;10:23
- 71 Wong C, Kanetsky P, Raj D. Genetic polymorphisms of the RAS-cytokine pathway and chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol* 2008;23:1037-1051.
- 72 Buckham TA, McKnight AJ, Benevente D, Courtney AE, Patterson CC, Simmonds M, Gough S, Middleton D, Borrow R, Maxwell AP. Evaluation of five interleukin genes for association with end stage renal disease in white Europeans. *Am J Nephrol* 2010;32:103-108.
- 73 Okada R, Wakai K, Naito M, Morita E, Kawai S, Hamajima N, Hara M, Takashima N, Suzuki S, Takezaki T, Ohnaka K, Arisawa K, Hirohata, Matsuo K, Mikami H, Kubo M, Tanaka H. Pro-/anti inflammatory cytokine gene polymorphisms and chronic kidney disease: a cross sectional study. *BMC Nephrol* 2012;13:2
- 74 Biolo G, Amoroso A, Savoldi S, Bosutti A, Martone M, Pirulli D, Bianco F, Ulivi S, Bertok S, Artero M, Barazzoni R, Zanetti M, Grassi G, Guarnieri G, Panzetta G. Association of interferon- γ +874A polymorphism with reduced long-term inflammatory response in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21:1317-1322.
- 75 Saraheimo M, Teppo AM, Forsblom C, Fagerudd J, Groop PH. Diabetic nephropathy is associated with low-grade inflammation in Type 1 diabetic patients. *Diabetologia* 2003;46(10):1402-1407.
- 76 Tramma D, Hatzistylianou M, Gerasimou G, Lafazanis V. Interleukin-6 and interleukin-8 levels in the urine of children with renal scarring. *Pediatr Nephrol* 2012;27:1525-1530.
- 77 Syrjanen J, Hurme M, Lehtimaki T, Mustonen J, Pasternack A. Polymorphism of the cytokine genes and IgA nephropathy. *Kidney Int* 2002;61(3):1079-1085.
- 78 Bantis C, Heering PJ, Luther Y, Aker S, Kuhr N, Grabensee B, Ivens K. Influence of cytokine gene polymorphisms on focal segmental glomerulosclerosis. *Am J Nephrol* 2004;24(4):427-431.

- 79 Sharma R, Agrawai S, Saxena A, Sharma RK. Association of IL-6, IL-10, and TNF- α gene polymorphism with malnutrition inflammation syndrome and survival among end stage renal disease patients. *J Interf Cytok Res* 2013;33:No 7.
- 80 Kitamura A, Hasegawa G, Obayashi H, Kamiuchi K, Ishii M, Yano M, Tanaka T, Yamaguchi M, Shigeta H, Ogata M, Nakamura N, Yoshikawa T. Interleukin-6 polymorphism (-634C/G) in the promotor region and the progression of diabetic nephropathy in type 2 diabetes. *Diabet Med* 2002;19(12):1000-1005.
- 81 Dhaouadi T, Sfar I, Bardi R, Jendoubi-Ayed S, Abdallah TB, Ayed K, Gorgi Y. Cytokine gene polymorphisms in kidney transplantation. *Transplant Proc* 2013;45:2152-2157.
- 82 Nikolova PN, Ivanova MI, Michailova SM, Myhailova AP, Baltadjieva DN, Simeonov PL, Pakalev EK, Naumova EJ. Cytokine gene polymorphism in kidney transplantation Impact of TGF- β 1, TNF- α , and IL-6 on graft outcome. *Transpl Immunol* 2008;18:344-348.
- 83 Simhan HN, Krohn MA, Roberts JM, Zeevi A, Caritis SN. Interleukin-6 promoter -174 polymorphism and spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2003;189(4):915-918.
- 84 Stevinkel P, Ketteler M, Johnson RJ, Lindholm B, Filho RP, Rielia M, Heimbürger O, Cederholm T, Girndt M. IL-10, IL-6 and TNF- α : Central factors in the altered cytokine network of uremia. The good, the bad, and the ugly. *Kidney Int* 2005;67:1216-1233.
- 85 Wetmore JB, Lovett DH, Hung AM, Wiens GC, Mahnken JD, Sen S, Johansen KL. Associations of interleukin-6, C-reactive protein and serum amyloid A with mortality in haemodialysis patients. *Nephrology* 2008;13:593-600.
- 86 Zhang W, Wang W, Yu H, Zhang Y, Dai Y, Ning C, Tao L, Sun H, Kellems RE, Blackburn MR, Xia Y. Interleukin-6 underlies Angiotensin II-induced hypertension and chronic renal damage. *Hypertension* 2012;59:136-144.
- 87 Dounousi E, Kolioussi E, Papagianni A, Ioannou K, Zikou X, Katopodis K, Kelesidis A, Tsakiris D, Siamopoulos KC. Mononuclear leukocyte

- apoptosis and inflammatory markers in patients with chronic kidney disease. *Am J Nephrol* 2012;36:531-536.
- 88 Sonikian M, Metaxaki P, Papavasileiou D, Boufidou F, Nikolaou C, Vlassopoulos D, Vlahakos DV. Effects of interleukin-6 on depression risk in dialysis patients. *Am J Nephrol* 2010;31:303-308.
- 89 Hasuike Y, Nonoguchi H, Ito K, Naka M, Kitamura R, Nanami M, Tokuyama M, Kida A, Otaki Y, Kuragano T, Nakanishi. Interleukin-6 is a predictor of mortality in stable hemodialysis patients. *Am J Nephrol* 2009;30:389-398.
- 90 Young JA, Hwang SJ, Sarnak MJ, Hoffmann U, Massaro JM, Levy D, Benjamin EJ, Larson MG, Vasani RS, O'Donnell CJ, Fox CS. Association of visceral and subcutaneous adiposity with kidney function. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008;3(6):1786-1791.
- 91 Spoto B, Leonardis D, Parlongo RM, Pizzini P, Pisano A, Cutrupi S, Testa A, Tripepi G, Zoccali C, Mallamaci F. Plasma cytokines, glomerular filtration rate and adipose tissue cytokines gene expression in chronic kidney disease (CKD) patients. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2012;22:981-988.
- 92 Levey AS, Coresh J, Greene T, Marsh J, Stevens LA, Kusek JW, Van Lente F. Expressing the modification of diet in renal disease study equation for estimating glomerular filtration rate with standardized serum creatinine values. *Clin Chem* 2007;53(4):766-772
- 93 Febbraio MA, Pedersen BK. Muscle-derived interleukin-6: mechanisms for activation and possible biological roles. *Faseb J* 2002;16(11):1335-1347
- 94 Carey AL, Lamont B, Andrikopoulos S, Koukoulas I, Proietto J, Febbraio MA. Interleukin-6 gene expression is increased in insulin-resistant rat skeletal muscle following insulin stimulation. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;302(4):837-840
- 95 Corpeleijn E, Saris WH, Jansen EH, Roekaerts PM, Feskens EJ, Blaak EE. Postprandial interleukin-6 release from skeletal muscle in men with impaired glucose tolerance can be reduced by weight loss. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90(10):5819-5824

- 96 Fountoulakis KN, Iacovides A, Kleanthous S, Samolis S, Gougoulas K, Tsiptsios I, Kaprinis GS, Bech P. Reliability, validity and psychometric properties of the Greek translation of the major depression inventory. *BMC Psychiatry* 2003;3:2
- 97 Hung KC, Wu CC, Chen HS, Ma WY, Tseng CF, Yang LK, Hsieh HL, Lu KC. Serum IL-6, albumin and comorbidities are closely correlated with symptoms of depression in patients on maintenance haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2011;26:658-664.
- 98 Blach A, Franek E, Witula A, Kolonko A, Chudek J, Drugacz J, Wiecek A. The influence of chronic periodontitis on serum TNF- α , IL-6 and hs-CRP concentrations, and function of graft and survival of kidney transplant recipients. *Clin Transplant* 2009;23:213-219.
- 99 Sousa MAJ, Lopez E, Rondriquez AF, Tamayo E, Navarro PF, Roda LS, Heredia M, Gomez-Herreras JI, Bustamante J, Garcia-Gomez JM, Bermejo-Martin JF, Resino S . Genetic polymorphisms located in genes related to immune and inflammatory processes are associated with end-stage renal disease: a preliminary study. *BMC Med Genet* 2012;13:58
- 100 Yao Q, Nordfors L, Axelsson J, Heimbürger O, Qureshi AR, Barany P, Lindholm B, Lonnqvist F, Schalling M, Stevinkel P. Peroxisome proliferator-activated receptor γ polymorphisms affect systemic inflammation and survival in end-stage renal disease patients starting renal replacement therapy. *Atherosclerosis* 2005;182:105-111.
- 101 Nabrdalik K, Gumprecht J, Adamczyk P, Kosiorz SG, Zywiec J, Grzeszczak. W. Association of rs1800471 polymorphism of *TGFB1* gene with chronic kidney disease occurrence and progression and hypertension appearance. *Arch Med Sci* 2013;9(2):230-237.
- 102 Kim YG, Kim EY, Ihm CG, Lee TW, Lee SH, Jeong KH, Moon JY, Chung JH, Kim YH. Gene polymorphisms of interleukin-17 and interleukin-17 receptor are associated with end-stage kidney disease. *Am J Nephrol* 2012;36:472-477
- 103 Froissart M, Rossert J, Jacquot C, Paillard M, Houillier P. Predictive performance of the modification of diet in renal disease and Cockcroft-Gault equations for estimating renal function. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:763-773.

- 104 Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal SM, Vincent JL, Ramsay G. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International sepsis definitions conference. *Crit Care Med* 2003;31(4):1250-1256.
- 105 Marshall JC, Cook DJ, Christou NV, Bernard GR, Sprung CL, Sibbald WJ. Multiple organ dysfunction score: a reliable descriptor of a complex clinical outcome. *Crit Care Med* 1995;23(10):1638-1652.
- 106 Calandra T, Cohen J. The international sepsis forum consensus conference on definitions of infection in the intensive care unit. *Crit Care Med* 2005;33(7):1538-1548.