

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΛΟΙΜΩΞΙΟΛΟΓΙΑ»

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Ε. Ι. ΓΙΑΜΑΡΕΛΛΟΣ-ΜΠΟΥΡΜΠΟΥΛΗΣ

ΕΜΜΑΝΟΥΗΛ ΒΡΕΝΤΖΟΣ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΠΟΥ ΔΕΣΜΕΥΕΙ ΤΗΝ ΗΠΑΡΙΝΗ ΣΤΗΝ
ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΤΗΣ COVID-19**

ΑΘΗΝΑ 2021

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η πρωτεΐνη που δεσμεύει την ηπαρίνη (HBP) αποτελεί έναν σημαντικό και κύριο μεσολαβητή της φλεγμονής και έχει αναδειχθεί σε σημαντικό διαγνωστικό και προγνωστικό βιοδείκτη της οργανικής ανεπάρκειας που οφείλεται στη σήψη.

Ως “σήψη” θεωρούμε μία απειλητική για τη ζωή δυσλειτουργία ενός οργάνου που προκαλείται από μία μη ρυθμιζόμενη απόκριση του ξενιστή σε μία λοίμωξη. Είναι μία σοβαρή κατάσταση με σημαντική νοσηρότητα και θνησιμότητα παγκοσμίως, καθώς και μία από τις κυριότερες αιτίες εισαγωγής σε Μονάδα Εντατικής Θεραπείας.

Ανάλογα με το στάδιο στο οποίο βρίσκεται, εμφανίζει μεγάλη ετερογένεια ως προς την εκδήλωσή της, γεγονός που καθιστά δύσκολη την αναγνώρισή της, αλλά και επιτάσσει την ανάγκη για ένα εργαλείο που θα δύναται να μετρά έγκαιρα και αξιόπιστα την ανοσολογική κατάσταση ενός ασθενούς.

Από παθοφυσιολογικής πλευράς, η HBP έχει άμεση αλληλεπίδραση και με τα ίδια τα παθογόνα, αλλά και με τα κύτταρα του ξενιστή, λειτουργώντας ως επαγωγέας της χημειοταξίας των λευκοκυττάρων ενισχύοντας τη δράση των κυτταροκινών στους διάφορους ιστούς. Ακόμα, εμφανίζεται να επιδρά ποικιλοτρόπως στο αγγειακό ενδοθήλιο οδηγώντας σε αύξηση της αγγειακής διαπερατότητας και η δράση της αυτή είναι καθοριστική στην ανάπτυξη της οργανικής ανεπάρκειας που επάγεται από τη σήψη.

Από το 2019, ένα νέο στέλεχος κοροναϊού, ο SARS-CoV-2, αναγνωρίστηκε ως η αιτία της τρέχουσας πανδημίας από τη νόσο COVID-19. Η σοβαρή νόσος COVID-19 φαίνεται να επάγεται από φλεγμονώδεις διεργασίες που διαδραματίζονται κατά την ενεργοποίηση της ανοσολογικής απόκρισης του ξενιστή και, ως εκ τούτου, εμπίπτει στον ορισμό της σήψης (Sepsis-3). Αν η σοβαρή νόσος COVID-19 ιδωθεί ως σηπτική κατάσταση, η πρωτεΐνη που δεσμεύει την ηπαρίνη μπορεί να αξιολογηθεί ως διαγνωστικός και προγνωστικός βιοδείκτης της. Αποδείχθηκε ότι οι συγκεντρώσεις της HBP και της IL-6 κατά την εισαγωγή του ασθενούς αποτελούν ανεξάρτητους παράγοντες κινδύνου για θνησιμότητα εντός 28 ημερών καθώς και για εκδήλωση αναπνευστικής ανεπάρκειας.

ABSTRACT

Heparin-binding protein (HBP) is an important and major mediator of inflammation and has been shown to be an important diagnostic and prognostic biomarker of sepsis.

"Sepsis" is a life-threatening malfunction of an organ caused by an unregulated host response to an infection. It is a serious condition with significant morbidity and mortality worldwide, as well as one of the main causes of admission to an Intensive Care Unit. Depending on the stage it is in, it shows great heterogeneity in terms of its manifestation, which makes it difficult to identify, but also imposes the need for a tool that can measure in a timely and reliable manner the immune status of a patient.

From a pathophysiological point of view, HBP has a direct interaction with pathogens, but also with the host cells, acting as an inducer of leukocyte chemotaxis by enhancing the action of cytokines in various tissues. In addition, it appears to affect the vascular endothelium in various ways, leading to an increase in vascular permeability, and its action is crucial in the development of sepsis-induced organic insufficiency.

As of 2019, a new coronavirus strain, SARS-CoV-2, has been identified as the cause of the current COVID-19 pandemic. Severe COVID-19 disease appears to be induced by inflammatory processes involved in activating the host immune response and therefore falls within the definition of sepsis (Sepsis-3). If severe COVID-19 disease is seen as a septic condition, the heparin-binding protein can be evaluated as its diagnostic and prognostic biomarker. Concentrations of HBP and IL-6 at patient admission have been shown to be independent risk factors for mortality within 28 days as well as for the development of severe respiratory failure.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Σελ. 5.....Γενικό μέρος

Σελ. 7.....HBP και σήψη

Σελ. 9.....Ο ρόλος του ενδοθηλίου και η αλληλεπίδραση με τα ουδετερόφιλα μέσω της HBP

Σελ. 12..... HBP και αγγειακή καταπληξία

Σελ. 15..... HBP και κυψελιδικό ενδοθήλιο

Σελ. 19..... HBP και νεφρική σωληναριακή οξέωση

Σελ. 23..... Ειδικό μέρος

Σελ. 30 Συμπεράσματα

Σελ. 31 Βιβλιογραφία

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Η πρωτεΐνη που δεσμεύει την ηπαρίνη (HBP) είναι μέλος της οικογένειας των πρωτεασών σερίνης και αποτελείται από 221 αμινοξέα. Παρά τη σχετικά μικρή δραστικότητα πρωτεάσης σερίνης αναφορές δείχνουν ότι η HBP έχει την ικανότητα αποκοπής ορισμένων πρωτεϊνών (IGFBP-1, IGFBP-2 και IGFBP-4), έχει την ικανότητα ρύθμισης της φλεγμονής καθώς και επούλωση τραύματος. Σε μία από τις μεταλλάξεις της HBP, η ιστιδίνη στη θέση 41 μεταλλάσσεται σε σερίνη και έτσι εκτίθεται στην επιφάνεια του μορίου, και αυτό έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζει σημαντικά τον αντιμικροβιακό ρόλο της HBP καθώς και την ικανότητα αυτής της πρωτεΐνης να δεσμεύεται σε μονοκύτταρα. Η τρισδιάστατη δομή της HBP αποκαλύπτει ένα εξαιρετικά κατιονικό μόριο που αποτελείται από δεκαέξι βασικά τμήματα που είναι συμπυκνωμένα στον έναν πόλο του μορίου. Αυτή η κατιονική περιοχή έχει αποδειχθεί ότι σχετίζεται με δέσμευση προσδεμάτων καθώς και με αντιμικροβιακή δραστηριότητα. Η ηπαρίνη, ένα πρόσδεμα της HBP, συνδέεται με την N-τερματική περιοχή της, και όταν η HBP δεσμεύει την ηπαρίνη, η αντιμικροβιακή της δράση αναστέλλεται²¹.

Η HBP ανακαλύφθηκε αρχικά το 1984 ως αποτέλεσμα της ισχυρής αντιβακτηριδιακής δραστηριότητάς της έναντι των αρνητικών κατά Gram παθογόνων. Αργότερα, ανακαλύφθηκε ότι ένας αριθμός θετικών κατά gram οργανισμών, όπως ο *Streptococcus pyogenes* και η *Listeria monocytogenes*, ήταν επίσης ευαίσθητα στην HBP. Το πεπτίδιο 20-44 της HBP παίζει ουσιαστικό ρόλο στην αντιμικροβιακή της δραστηριότητα καθώς δεσμεύεται απευθείας στον μικροβιακό πολυσακχαρίτη (LPS). Επιπλέον, ως ανοσολογικό μόριο, η HBP έχει ευρύτερες επιρροές στην άμυνα του ξενιστή. Η HBP είναι προκατασκευασμένη στα πολυμορφοπύρρηνα (PMN) και αποθηκεύεται σε εκκριτικά κυστίδια. Ένα ποσοστό 89% της συνολικής HBP απελευθερώνεται γρήγορα ως απάντηση σε ορισμένες βακτηριακές δομές. Η συγκέντρωση της HBP αυξάνεται ως απόκριση σε έναν αριθμό μολυσματικών ασθενειών όπως η γρίπη A (H1N1), λεπτοσπείρωση, η σήψη και η οξεία νεφρική βλάβη που προκαλείται από σήψη. Επιπλέον, το επίπεδο της HBP στο αίμα συσχετίζεται με το βαθμό σοβαρότητας της νόσου²¹.

Η HBP είναι απαραίτητος διαμεσολαβητής της φλεγμονής και πολλοί παράγοντες όπως αντιγόνα, κυτοκίνες, ένζυμα και παράγοντες φλεγμονής, μπορεί να διεγείρουν

τα PMN να εκκρίνουν HBP. Συνήθως, η απελευθέρωση της HBP προκαλείται από μια εξαρτώμενη από την εισροή ασβεστίου αποκοκκίωση, ωστόσο διάφοροι παράγοντες και διαφορετικά μοναδικά μονοπάτια συμβάλουν επίσης στην έκκρισή της²¹.

Γενικά, τα PMN θεωρούνται τα μόνα κύτταρα που απελευθερώνουν HBP, ωστόσο έχει βρεθεί ότι τα μονοκύτταρα ήταν επίσης σε θέση να απελευθερώσουν HBP σε μικρές ποσότητες, ειδικά παρουσία LPS. Η αγγειακή διαρροή είναι μία κοινή απόκριση σε διάφορες μολυσματικές ασθένειες, και αυτή η διαρροή ακολουθείται από διείσδυση ουδετερόφιλων και μονοκυττάρων. Μελέτες έχουν δείξει ότι η HBP παίζει ουσιαστικό ρόλο στην αύξηση της αγγειακής διαπερατότητας του ενδοθηλίου (Σχήμα 2)²¹. Η επαγόμενη φλεγμονή χαρακτηρίζεται από μια πρώιμη εισροή PMN που ακολουθείται από ένα δεύτερο κύμα εισροής μονοκυττάρων και η HBP που προέρχεται από τα PMN είναι ένα ισχυρός μεσολαβητής γι' αυτό το γεγονός. Η HBP ενεργοποιεί άμεσα τον υποδοχέα χημειοκίνης μοτίβου C-C 2 (CCR2) που υπάρχει στα μονοκύτταρα, και αυτή η ενεργοποίηση πολλαπλασιάζει τη φλεγμονή και βλάβη των ιστών²¹.

Κατόπιν τούτων θα αναπτυχθεί στη συνέχεια του γενικού μέρους η συμμετοχή της HBP στη σήψη και τη σηπτική καταπληξία, η αλληλεπίδραση της HBP με το ενδοθήλιο και το κυψελιδικό ενδοθήλιο καθώς και η σχέση της HBP με τη νεφρική σωληναριακή οξέωση, ενώ θα οδηγηθούμε στο ειδικό μέρος όπου θα παρουσιαστεί ο ρόλος της HBP στη νόσο Covid-19.

HBP ΚΑΙ ΣΗΨΗ

Η σήψη είναι μια απρόβλεπτη και δυναμική κατάσταση. Υπάρχουν βιοδείκτες ανεπάρκειας οργάνων που μπορούν να χρησιμεύσουν ως πρώιμοι, αξιόπιστοι και ακριβείς προγνωστικοί παράγοντες σοβαρής σήψης πριν από την εμφάνιση τυπικών κλινικών συμπτωμάτων σε σύγκριση με παραδοσιακούς δείκτες σοβαρής σήψης, όπως το γαλακτικό οξύ και η κρεατινίνη. Έχει βρεθεί ότι μόρια όπως η αγγειοποιητίνη – 2, η πρωτεΐνη που δεσμεύει την ηπαρίνη καθώς και η προκαλσιτονίνη είναι ισχυροί προγνωστικοί παράγοντες σοβαρής σήψης. Προγνωστικοί βιοδείκτες που μπορούν να προβλέψουν την εξέλιξη της νόσου πριν από την εμφάνιση κλινικών συμπτωμάτων θεωρούνται κλινικά πολύτιμοι⁴.

Οι μικροβιακές λοιμώξεις παραμένουν ένα μείζων ιατρικό και κοινωνικό πρόβλημα καθώς ανήκουν στις κοινές αιτίες θνητότητας και θνησιμότητας. Υπάρχει ολοένα και αυξανόμενη ανάγκη για κλινικά και εργαστηριακά εργαλεία ανίχνευσης ασθενών με σοβαρές λοιμώξεις, καθώς και διάκριση αυτών σε βακτηριακές και μη. Η πρωτεΐνη που δεσμεύει την ηπαρίνη (Heparin-binding protein, HBP) είναι ένας πολλά υποσχόμενος δείκτης ο οποίος πιθανά να μπορεί να διακρίνει τους ασθενείς αυτούς, σε καταστάσεις μικροβιακών λοιμώξεων. Η HBP ανιχνεύεται σε υψηλούς τίτλους στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό σε ασθενείς με βακτηριακή μηνιγγίτιδα, ανιχνεύεται στα ούρα σε λοιμώξεις ουροποιητικού, ενώ έχει αποδειχθεί ότι η HBP έχει θέση στη διάγνωση πνευμονικής φλεγμονής και τον έλεγχο της πνευμονικής λειτουργικότητας σε νεαρούς ασθενείς με κυστική ίνωση⁵.

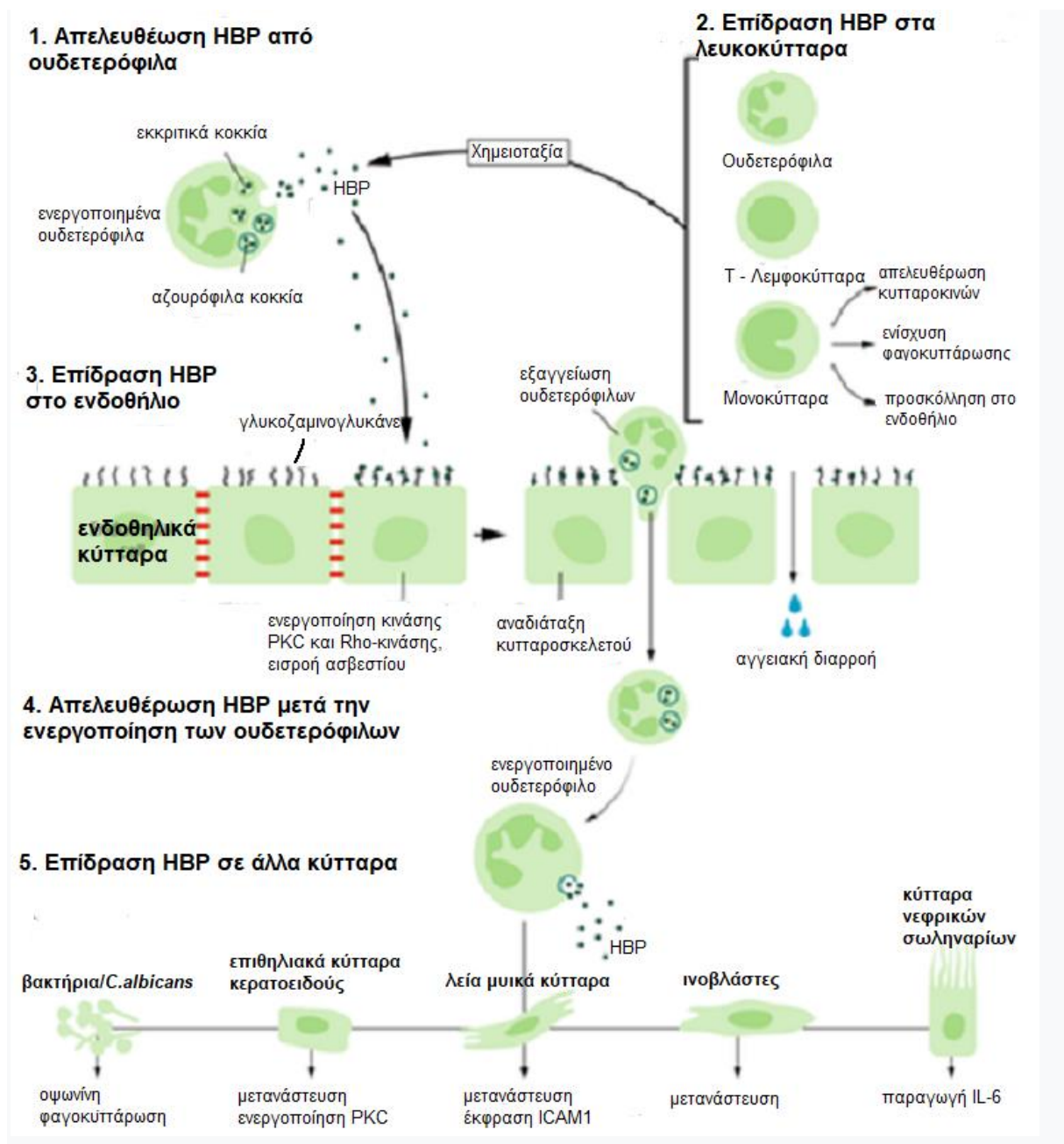
Είναι γνωστό ότι η HBP είναι ένας άριστος προγνωστικός βιοδείκτης επειδή είναι προκατασκευασμένος και άμεσα κινητοποιήσιμος από τα μεταναστευμένα ουδετερόφιλα σε απάντηση σε βακτηριακές λοιμώξεις. Η HBP προκαλεί μεταξύ άλλων αγγειακή διαρροή και σχηματισμό οιδήματος, ενώ έχει προφλεγμονώδεις επιδράσεις σε μια ποικιλία λευκών αιμοσφαιρίων και επιθηλιακών κυττάρων. Η δυσλειτουργία των αγγειακών φραγμών και οι κυτταρικές φλεγμονώδεις αποκρίσεις μπορούν στη συνέχεια να οδηγήσουν στη δυσλειτουργία οργάνων. Πράγματι, έχει αποδειχθεί ότι ασθενείς με σήψη εκφράζουν αυξημένα επίπεδα HBP στο πλάσμα αρκετές ώρες πριν αναπτυχθεί υπόταση ή δυσλειτουργία οργάνων¹, ενώ σε μονάδες εντατικής θεραπείας ασθενείς σε κρίσιμη κλινική κατάσταση με εικόνα σήψης / σηπτικού σοκ είχαν πολύ υψηλότερα επίπεδα HBP σε σύγκριση με ασθενείς μη

σηπτικούς⁶. Σε ασθενείς με τραύμα, τα επίπεδα HBP σχετίζονται άμεσα με τη σοβαρότητα του τραυματισμού και το μέγεθος δυσλειτουργίας των οργάνων, ωστόσο η HBP προβλέπει ασθενώς τη σήψη και μόνο σε μεταγενέστερο στάδιο της νοσηλείας. Επιπλέον, η HBP απέτυχε να διακρίνει τη σήψη μετά τον τραυματισμό αφού η φλεγμονή που προκαλείται από το τραύμα αμβλύνει τη προγνωστική απόδοση της HBP⁷. Τέλος γνωρίζουμε ότι τα επίπεδα HBP πλάσματος σε ασθενείς με οξεία πνευμονική βλάβη και σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας των ενηλίκων είναι κατά πολύ υψηλότερα σε σχέση με ασθενείς με καρδιογενές πνευμονικό οίδημα, ενώ αποτελεί ισχυρό προγνωστικό δείκτη βραχυπρόθεσμης θνησιμότητας στις πρώτες δύο καταστάσεις⁸.

Φαίνεται λοιπόν, ότι η HBP παίζει βασικό ρόλο στην παθοφυσιολογία σοβαρών βακτηριακών λοιμώξεων και ως εκ τούτου αντιπροσωπεύει έναν πιθανό διαγνωστικό δείκτη στην θεραπευτική τους προσέγγιση.

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟΥ ΚΑΙ Η ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΜΕ ΤΑ ΟΥΔΕΤΕΡΟΦΙΛΑ ΜΕΣΩ ΤΗΣ ΗΒΡ

Τα ουδετερόφιλα είναι τα αφθονότερα λευκά αιμοσφαίρια στο αίμα και είναι από τα πρώτα κύτταρα απόκρισης σε λοίμωξη, πράγμα που τα καθιστά σημαντικά στοιχεία της ανοσοποιητικής απάντησης. Τα εκκριτικά κυστίδια των ουδετερόφιλων υφίστανται ταχεία εξωκυττάρωση κατά την ενεργοποίηση των ουδετερόφιλων. Η ΗΒΡ αποθηκεύεται προκατασκευασμένη στα εκκριτικά αυτά κυστίδια και απελευθερώνεται όταν ειδικές πρωτεΐνες (ιντεγκρίνες) συνδεθούν στην επιφάνεια των ουδετερόφιλων. Είναι γεγονός ότι παρατηρείται εξωκυττάρωση του 89% της συνολικής ΗΒΡ μετά από μόνο 30 λεπτά βακτηριακής φαγοκυττάρωσης. Τα ουδετερόφιλα ενεργοποιούνται επίσης κατά την επαφή με μόρια κυτταρικής προσκόλλησης στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων, και η επακόλουθη απελευθέρωση ΗΒΡ οδηγεί σε αυξημένη ενδοθηλιακή διαπερατότητα και διευκόλυνση εξαγγείωσης ουδετερόφιλων στο σημείο της λοίμωξης (Σχήμα 1)¹.



Σχήμα 1. Τροποποίηση από "Fisher J, Linder A. Heparin-binding protein: a key player in the pathophysiology of organ dysfunction in sepsis. *J InternMed* 2017 Jun;281(6):562-574". Σχηματική επισκόπηση των επιδράσεων της πρωτεΐνης που δεσμεύει την ηπαρίνη (HBP) σε βακτηριακές λοιμώξεις. **1)** Το HBP απελευθερώνεται από τα εκκριτικά κυστίδια των ενεργοποιημένων ουδετερόφιλων. **2)** Το HBP δρα ως χημειοτακτικός παράγοντας για ουδετερόφιλα, T-λεμφοκύτταρα και μονοκύτταρα και επίσης ενισχύει την απελευθέρωση των κυτταροκινών των μονοκυττάρων, την φαγοκυττάρωση και την προσκόλληση στο ενδοθήλιο. **3)** Το HBP αλληλεπιδρά απευθείας με το ενδοθήλιο δεσμεύοντας τις γλυκοσαμινογλυκάνες. Ενεργοποιεί την πρωτεϊνική κινάση C (PKC) και τη rho-κινάση και προκαλεί εισροή

ασβεστίου στα κύτταρα, οδηγώντας σε αναδιάταξη του κυτταροσκελετού δημιουργώντας «κενά» μεταξύ των κυττάρων. Αυτό οδηγεί σε αυξημένη αγγειακή διαρροή και διευκολύνει επίσης την εξαγγείωση των ουδετερόφιλων. **4)** Μετά την εξαγγείωση ουδετερόφιλων στους ιστούς, περισσότερο HBP απελευθερώνεται από τα αζουρόφιλα κοκκία. **5)** Το HBP έχει διαφορετικά αποτελέσματα σε πολλούς άλλους τύπους κυττάρων. HBP: **(i)** λειτουργεί ως οπωνίνη που προάγει τη φαγοκυττάρωση Gram θετικών και Gram αρνητικών βακτηρίων, καθώς και στελεχών της *Candidaalbicans*, **(ii)** προκαλεί μετανάστευση και ενεργοποίηση της PKC στα επιθηλιακά κύτταρα του κερατοειδούς, **(iii)** προάγει την έκφραση του ICAM1 στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων, **(iv)** επάγει τη μετανάστευση των ινοβλαστών και **(v)** επάγει την παραγωγή της ιντερλευκίνης IL-6 στα κύτταρα των νεφρικών σωληναρίων.

Το ενδοθηλιακό φράγμα “παραβιάζεται” από κυκλοφορούντα λευκά αιμοσφαίρια στο σημείο της λοίμωξης. Η απώλεια του ενδοθηλιακού φραγμού είναι ένας σημαντικός παράγοντας στη σήψη. Η HBP επηρεάζει το ενδοθήλιο με ποικίλους τρόπους. Πρώτον, προκαλεί έκφραση του ICAM1, PECAM-1 καθώς και των ιντεργκρινών α3 και b1 στα ενδοθηλιακά κύτταρα, επάγοντας έτσι την προσκόλληση των ουδετερόφιλων στην ενδοθηλιακή επιφάνεια. Η HBP στη συνέχεια προκαλεί αναδιάταξη του κυτταροσκελετού των ενδοθηλιακών κυττάρων και σχηματισμό κενού μεταξύ τους οδηγώντας σε αύξηση της ενδοθηλιακής διαπερατότητας. Η καταστροφή του ενδοθηλιακού γλυκοκάλυκα εκθέτει διάφορα μόρια προσκόλλησης που ενισχύουν την παγίδευση και τη διαενδοθηλιακή μετανάστευση ενεργοποιημένων λευκών αιμοσφαιρίων. Η βλάβη των δομικών ενδοθηλιακών κυττάρων σχετίζεται με μια προπνηκτική κατάσταση, ενώ η αποτυχία της ρύθμισης του αγγειοκινητικού τόνου διαταράσσουν περαιτέρω τη λειτουργία του ενδοθηλιακού φραγμού. Ο επακόλουθος σχηματισμός οιδήματος του διάμεσου ιστού αποτελεί βασικό χαρακτηριστικό της παθοφυσιολογίας της ανεπάρκειας οργάνων, σε έδαφος σήψης².

Η HBP στοχεύει επίσης στα μιτοχόνδρια των ενδοθηλιακών κυττάρων, προκαλώντας αλλαγές στη μορφολογία τους και μειωμένη έκφραση της υπομονάδας II της οξειδάσης του κυτοχρώματος c. Η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία είναι γνωστό ότι παίζει σημαντικό ρόλο στη πολυοργανική ανεπάρκεια που προκαλείται από τη σήψη¹.

HBP ΚΑΙ ΑΓΓΕΙΑΚΗ ΚΑΤΑΠΛΗΞΙΑ

Είναι κατανοητή η αναγκαιότητα εύρεσης μεθόδων πρώιμης διάγνωσης και θεραπείας ασθενών με αγγειακή καταπληξία δεδομένου του υψηλού ποσοστού θνησιμότητας που τη συνοδεύει. Η βέλτιστη κατανόηση της παθοφυσιολογίας της αγγειακής καταπληξίας είναι καθοριστικής σημασίας για την ανάπτυξη μεθόδων διάγνωσης και διαχείρισης των ασθενών με shock. Από τη μία πλευρά, τα ουδετερόφιλα αναγνωρίζονται ως σημαντικό συστατικό της άμυνας του ξενιστή κατά των βακτηριακών εισβολών. Από την άλλη πλευρά, η υπερενεργοποίηση και συσσώρευση των ουδετερόφιλων προκαλεί οίδημα στους ιστούς, μικροαγγειακή υποαιμάτωση και σύνδρομο συστηματικής φλεγμονώδους απόκρισης (SIRS), σήψη και μετέπειτα πολυοργανική ανεπάρκεια.. Έχει δειχθεί ότι η HBP μπορεί να είναι πρώιμος βιοδείκτης κυκλοφορικής ανεπάρκειας σε σηπτικούς ασθενείς, στους οποίους ανιχνεύθηκαν υψηλά επίπεδα της HBP, και η αύξηση αυτή προηγήθηκε της ανάπτυξης shock έως και 12 ώρες^{9,10}. Θα πρέπει να σημειωθεί ωστόσο, όπως προκύπτει από επιστημονικά δεδομένα που συμπεριέλαβαν την HBP, ότι δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά στα επίπεδα της HBP στο πλάσμα ασθενών με σηπτικό και με μη σηπτικό σοκ, γεγονός που υποδηλώνει ότι μία βακτηριακή σηπτική καταπληξία δεν είναι απαραίτητη για να διεγείρει την έκκριση της HBP από τα ουδετερόφιλα, και ως εκ τούτου η HBP δεν θα πρέπει να θεωρηθεί ισχυρός βιοδείκτης σε ασθενής με πιθανή διάγνωση σηπτικής καταπληξίας¹⁰. Πέραν τούτου έχει αξιολογηθεί η προγνωστική απόδοση της HBP σε ασθενείς με βαριά νόσο, ανεξάρτητα από την υποψία λοίμωξης¹¹. Η HBP έχει καλή απόδοση στην ανίχνευση οργανικής δυσλειτουργίας που οφείλεται σε λοίμωξη, ωστόσο η ικανότητα αυτή είναι ασθενέστερη της CRP λόγω της εξαιρετικής ικανότητας της τελευταίας στην ανίχνευση λοίμωξης. Ωστόσο, σε μια ανάλυση πολλαπλών μεταβλητών η CRP δεν αποδείχθηκε ότι σχετίζεται σημαντικά με δυσλειτουργία οργάνων αλλά μόνο με λοίμωξη. Αυτό έρχεται σε αντίθεση με τη HBP που σχετίζεται τόσο με τη λοίμωξη όσο και με τη δυσλειτουργία των οργάνων.

Η HBP αποδείχθηκε επιπλέον ότι είναι ο καλύτερος προγνωστικός βιοδείκτης ανάπτυξης κρίσιμης λοίμωξης. Χρησιμοποιώντας σαν cut-off την τιμή των 22,85 ng /

mL, η HBP προέβλεψε λοίμωξη με ευαισθησία 78% και ειδικότητα 86%¹¹ Τα αποτελέσματα δείχνουν συνεπώς ότι καθώς αυξάνεται η HBP υπάρχει ταυτόχρονη αύξηση του κινδύνου για κρίσιμη λοίμωξη διευκολύνοντας τον κλινικό ιατρό στη λήψη θεραπευτικών αποφάσεων.

Η ανίχνευση σοβαρής λοίμωξης είναι ιδιαίτερα σημαντική σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς, όπως για παράδειγμα σε ασθενείς με κίρρωση και ασκίτη. Η επίπτωση των λοιμώξεων όπως αυτόματη βακτηριακή περιτονίτιδα (SBP), λοίμωξη ουροποιητικού, πνευμονία και φυματίωση είναι περίπου δεκαπλάσια από τον υπόλοιπο πληθυσμό, συνεπώς η πρώιμη διάγνωση είναι κρίσιμη για την αντιμετώπιση αυτών των ασθενών. Είναι γνωστό ότι οι ασθενείς με ασκίτη παρουσιάζουν αυξημένα επίπεδα προφλεγμονωδών κυτοκινών όπως TNF-α, IL-1, IL-6, καθώς και αυξημένα επίπεδα IgG, IgA και IgE τα οποία συνδέονται, στους ασθενείς αυτούς, με μειωμένο αριθμό CD4+ κυττάρων¹². Η SBP είναι μια κοινή επιπλοκή των ασθενών με ασκίτη η οποία παρουσιάζεται συνήθως με πυρετό, κοιλιακό άλγος και κακουχία, ενώ συχνά (30%) είναι ασυμπτωματική, και για το λόγο αυτό η διάγνωση της είναι κρίσιμη. Η διάγνωση βασίζεται στην διαγνωστική παρακέντηση ασκίτικου υγρού και την ανίχνευση >250 πολυμορφοπύρηνων / ml, ενώ έχουν χρησιμοποιηθεί και βιοδείκτες όπως η CRP, PCT, WBC, δ-διμερή¹². Εδώ αξίζει να τονιστεί ότι μελέτες απέτυχαν να καταδείξουν την αξιοπιστία της μέτρησης της HBP στην πρώιμη διάγνωση της SBP, και στην αποφυγή ανάγκης παρακέντησης, ενώ αντίθετα η μέτρηση των δ-διμερών συσχετίστηκε με τον αριθμό των πολυμορφοπύρηνων στο ασκίτικο υγρό, και μάλιστα υπολογίστηκε ότι η μέτρηση Δ-Διμερών < 1500ng/ml έχει σημαντική αρνητική προγνωστική αξία (92.9%)¹².

Οι ασθενείς που υποβάλλονται σε καρδιακές επεμβάσεις διατηρούν μέσο όρο HBP περίπου 41 ng / mL πριν ακόμη επιτευχθεί η καρδιοπνευμονική παράκαμψη (CPB), ενώ παρατηρήθηκε διάμεση τιμή HPB 150 ng / mL μετά την επαναιμάτωση. Σε σηπτικούς ασθενείς, συγκέντρωση HBP στο πλάσμα υψηλότερη από 15 ng / mL προβλέπει δυσλειτουργία οργάνων και σχετίζεται με τετραπλάσια αύξηση θνησιμότητας. Παρ' ότι τα δύο αυτά κλινικά σενάρια είναι ξεχωριστές ιατρικές οντότητες και σχετικά μή συγκρίσιμες καταστάσεις, παρατηρήθηκαν εξίσου υψηλά επίπεδα HBP κατά τη διάρκεια του CPB. Τόσο οι καρδιοχειρουργικοί ασθενείς όσο και οι σηπτικοί ασθενείς παρουσίαζαν υψηλή ενδοστεφανιαία παραγωγή HBP. Σχετικά με τους πρώτους, σημαντικό ρόλο παίζει η ενεργοποίηση ουδετερόφιλων στην στεφανιαία κυκλοφορία κατά την καρδιακή επαναιμάτωση σε επεμβάσεις

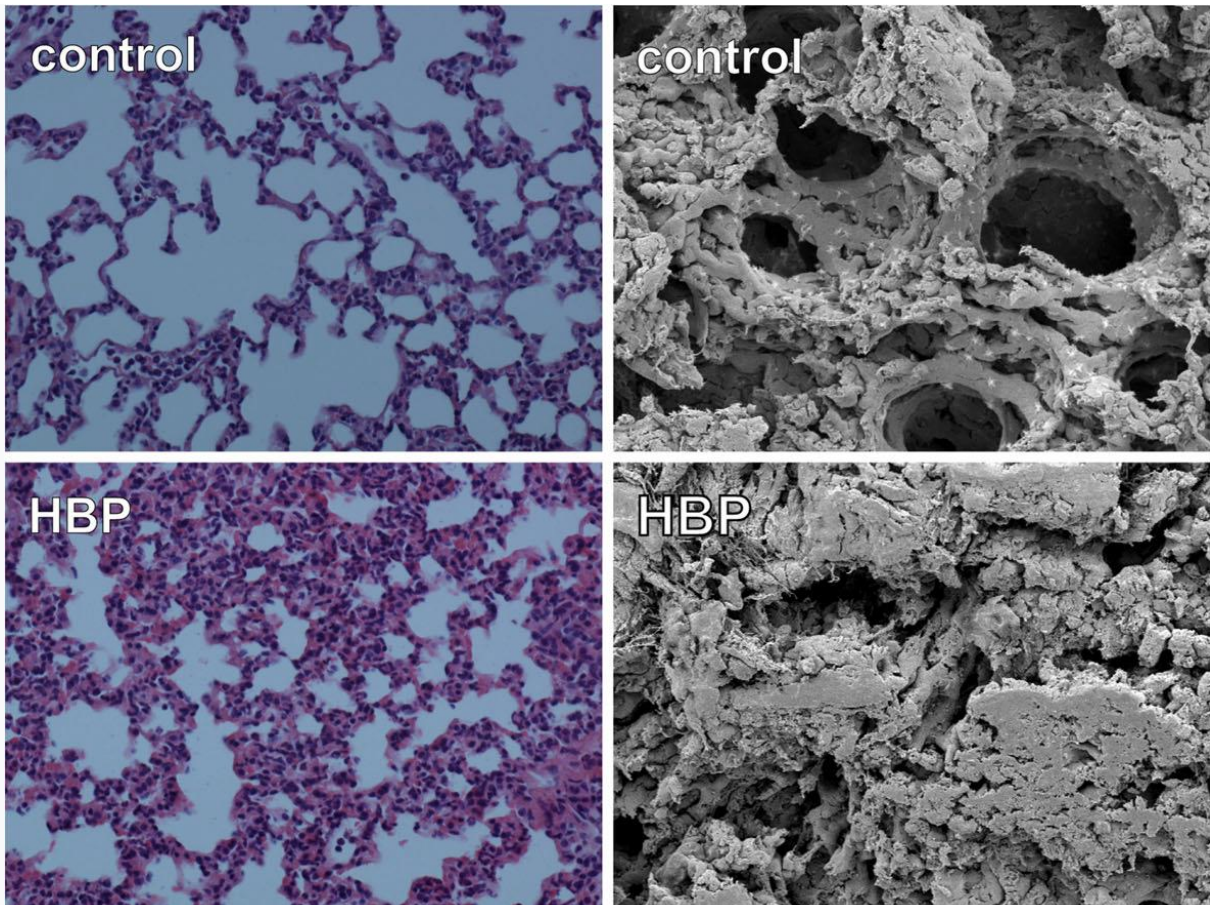
καρδιάς καθώς αυτή οδηγεί σε υψηλή τοπική συγκέντρωση της ΗΒΡ στο στεφανιαίο αγγειακό δίκτυο. Επιπλέον, μετά την επαναιμάτωση της στεφανιαίας κυκλοφορίας παρατηρείται έκκριση ΗΒΡ λόγω του τραυματισμού του μυοκαρδίου. Πειραματικά in vitro και in vivo στοιχεία έχουν καταδείξει την ΗΒΡ σαν μόριο κλειδί στην παθοφυσιολογία της τριχοειδικής διαρροής. Για το λόγο αυτό η ΗΒΡ θεωρείται βασικός χημικός παράγοντας τριχοειδικής διαφυγής στο CPB. Τέλος αξίζει να τονιστεί η λειτουργία της ΗΒΡ ως βιοδείκτης νεφρικής δυσλειτουργίας στην καρδιακή χειρουργική, καθώς όπως προκύπτει από μελέτες η ΗΒΡ προβλέπει οξεία νεφρική βλάβη σε ασθενείς σηπτικούς και μη¹³.

HBP ΚΑΙ ΚΥΨΕΛΙΔΙΚΟ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟ

Η HBP αποτελεί βασικό μεσολαβητή της οξείας πνευμονικής βλάβης που προκαλείται από τη σήψη μέσω αυξημένης ενδοθηλιακής διαπερατότητας. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω αλληλεπίδρασης της HBP με τις γλυκοσαμινογλυκάνες (GAGs) του αυλού και επακόλουθη ενεργοποίηση των οδών της πρωτεϊνικής κινάσης C (PKC) και της Rho-κινάσης, ενώ έχει αποδειχθεί ότι οι αλληλεπιδράσεις αυτές αναστέλλονται από τις ηπαρίνες¹⁴.

Ενώ η HBP συνδέεται με ευρήματα που υποδηλώνουν αυξημένη αγγειακή διαπερατότητα στο σηπτικό σοκ, αυτή η συσχέτιση δεν αποδεικνύει την αιτιότητα, δεδομένου ότι υπάρχουν πολλαπλοί διαμεσολαβητές που συμβάλλουν στην εμφάνιση ARDS. Σε πειραματικά μοντέλα ποντικού ελέγχθηκε η υπόθεση ότι η HBP προκαλεί οξεία πνευμονική βλάβη (ALI), και πράγματι, η χορήγηση HBP προκάλεσε ιστολογικά χαρακτηριστικά γνωρίσματα της ALI και πνευμονική βλάβη, επιδράσεις που δεν εμφανίστηκαν στα πειραματικά μοντέλου ελέγχου. Η ηλεκτρονική μικροσκόπηση ανέδειξε εναποθέσεις πρωτεϊνικών μορίων και σχεδόν πλήρη εξαφάνιση των κυψελίδων (Σχήμα 2)³. Η συγκέντρωση HBP στο πλάσμα των πειραματικών μοντέλων στο τέλος του πειράματος ήταν 400 ± 157 ng / mL στα μοντέλα που έλαβαν HBP και $1,1 \pm 1,5$ ng / mL στα μοντέλα ελέγχου¹⁴.

Μελέτες σε ζώα και ανθρώπους έχουν δείξει ότι σε χοίρους που υποβάλλονται σε πνευμονική βλάβη σχετιζόμενη με τον αναπνευστήρα (VILI), τα επίπεδα της HBP στο βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα (BALF) παρουσίασαν σημαντική αύξηση με την πάροδο του χρόνου, ενώ τα επίπεδα HBP στο πλάσμα δεν παρουσίασαν ανάλογη αύξηση. Υγιείς εθελοντές είχαν χαμηλά επίπεδα HBP στο BALF, ενώ τα επίπεδα HBP ήταν σημαντικά υψηλότερα σε διασωληνωμένους ασθενείς που δεν είχαν τεκμηριωμένη VILI. Τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν τοπική παραγωγή HBP στο κυψελιδικό ενδοθήλιο, στοιχειοθετώντας έτσι έναν πιθανό μηχανισμό VILI¹⁵.



Σχήμα 2. Από "Bentzer et. Al, Heparin-binding protein is important for vascular leak in sepsis,. *Intensive Care Medicine Experimental (2016)*". Σημεία οξείας πνευμονικής βλάβης (ALI) προκαλούμενη από HBP σε ποντίκια. Ποντίκια εγχύθηκαν με ενδοφλέβια πρωτεΐνη που δεσμεύει την ηπαρίνη (HBP). Τα παρασκευάσματα βάφτηκαν με αιματοξυλίνη και ηωσίνη (αριστερά) και αναλύθηκαν με σάρωση ηλεκτρονικής μικροσκοπίας (δεξιά). Control: φυσιολογικός πνεύμονας, HBP : πνεύμονας μετά έγχυσης HBP.

Στους διασωληνωμένους ασθενείς της ΜΕΘ τα επίπεδα HBP στο BALF ήταν υψηλότερα σε σύγκριση με αυτά των υγιών εθελοντών, παρά τον φαινομενικά μη τραυματικό μηχανικό αερισμό. Αυτό πιθανότατα οφείλεται σε φλεγμονώδεις διεργασίες των πνευμόνων εκτός από το VILI, και συνεπώς η μέτρηση των επιπέδων HBP στο BALF δεν προτείνεται ως τρόπος ανίχνευσης τραυματικού αερισμού σε ασθενείς της ΜΕΘ. Η ηπαρίνη βρέθηκε να εξουδετερώνει την ικανότητα της HBP να αυξάνει την αγγειακή διαπερατότητα *in vitro*. Αυτό, σε συνδυασμό με πολλές μελέτες σχετικά με την εισπνοή ηπαρίνης σε οξεία πνευμονική βλάβη (ALI) δείχνει έναν πιθανό μηχανισμό προστασίας των πνευμόνων κατά τη τραυματική διασωλήνωση¹⁵.

Η αυξημένη εξαγγείωση των κοκκιοκυττάρων στις κυψελίδες και η αυξημένη πνευμονική αγγειακή διαπερατότητα είναι χαρακτηριστικά του ARDS. Οι συγκεντρώσεις του HBP που βρέθηκαν στο BALF διασωληνωμένων ασθενών στη ΜΕΘ ήταν πολύ υψηλές σε σύγκριση με τις συγκεντρώσεις που βρέθηκαν στο πλάσμα, παρά το γεγονός ότι υπήρξε μία σχετική αραίωση κατά τη διαδικασία συλλογής του BAL, υποδηλώνοντας ότι η πραγματική συγκέντρωση στις κυψελίδες αυτών των ασθενών ήταν εξαιρετικά υψηλή. Οι συγκεντρώσεις της HBP που χρησιμοποιήθηκαν in vitro για να αυξήσουν την αγγειακή διαπερατότητα ήταν παρόμοιες με αυτές που βρέθηκαν στους διασωληνωμένους ασθενείς. Επιπλέον, σε καταστάσεις αυξημένης αγγειακής διαπερατότητας, είναι δυνατό το HBP να περάσει τις επιθηλιακές και τις ενδοθηλιακές μεμβράνες. Αυτό σημαίνει ότι οι πνεύμονες μπορεί να αποτελούν πηγή HBP σε ασθενείς με βαριά νόσηση¹⁵.

Οι ασθενείς με γρίπη Α (H1N1) αναπτύσσουν γρήγορα σοβαρή αναπνευστική ανεπάρκεια, η οποία συχνά σχετίζεται με πολυοργανική ανεπάρκεια. Στις πρώτες φάσεις του ARDS υπάρχει συσσώρευση υγρού πλούσιου σε πρωτεΐνη και διαταραχή τόσο του κυψελιδικού επιθηλίου όσο και του πνευμονικού τριχοειδικού ενδοθηλίου. Αυτή η φλεγμονώδης διαδικασία προκαλείται από ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα και μακροφάγα. Στην οξεία φλεγμονή παρατηρείται αγγειακή διαρροή σχετιζόμενη με τα ουδετερόφιλα που προάγεται από την HBP. Μελέτες σε ποντίκια με λοίμωξη H1N1 έδειξαν τα εξής: ποντίκια με ένδεια μακροφάγων είχαν υψηλή διείσδυση ουδετερόφιλων, μεγάλη κυψελιδική βλάβη και αυξημένο ιικό φορτίο. Αυτές οι αλλαγές εξελίχθηκαν αργότερα σε ARDS, διάχυτη κυψελιδική βλάβη, πνευμονικό οίδημα, αιμορραγία και υποξαιμία. Αντίθετα, ποντίκια με ένδεια ουδετερόφιλων είχαν μόνο ήπιες παθολογικές αλλαγές στο πνευμονικό παρέγχυμα, αποδεικνύοντας έτσι τον κρίσιμο ρόλο των ουδετερόφιλων στις λοιμώξεις του H1N1¹⁶.

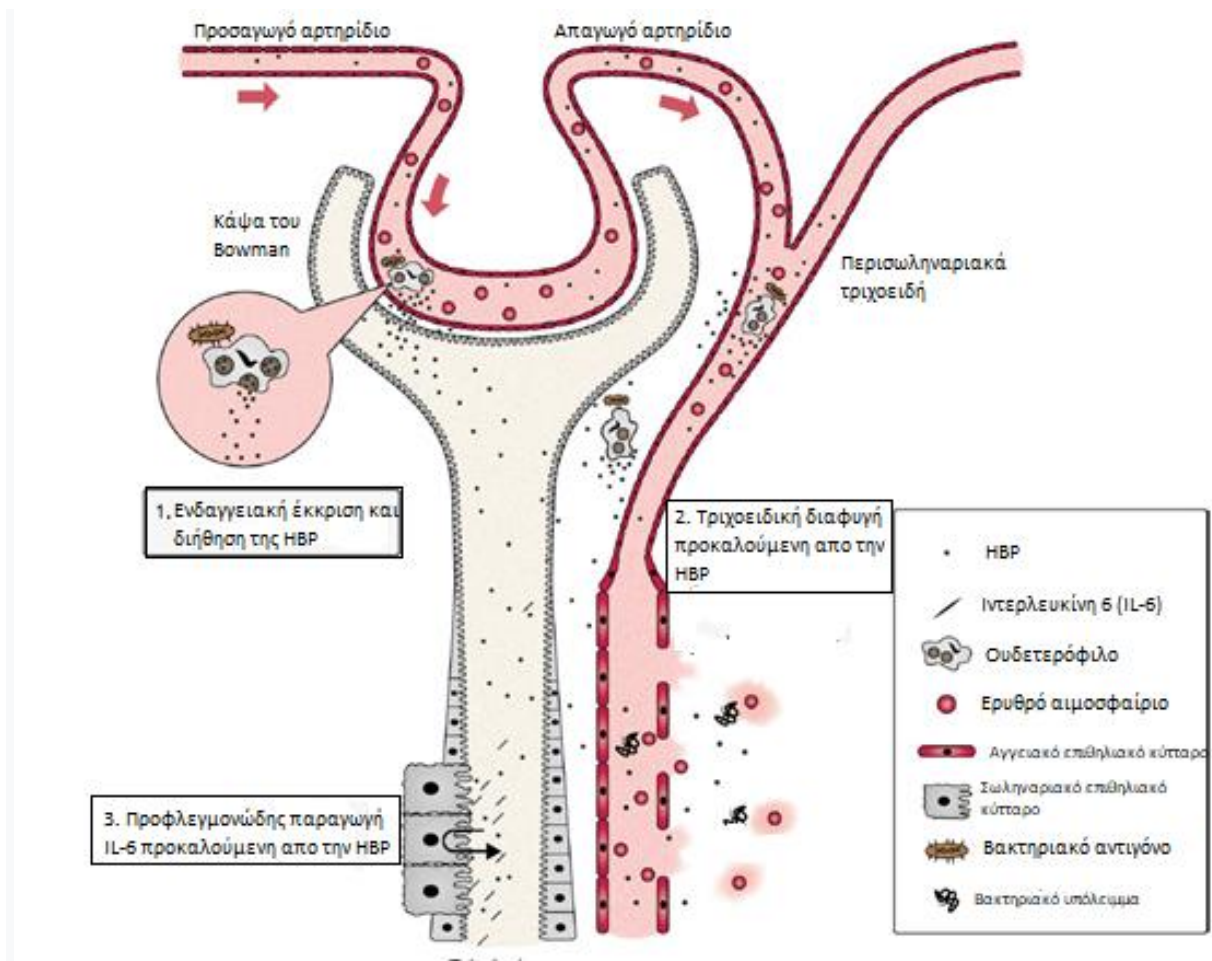
Η HBP είναι ένας σημαντικός μεσολαβητής βακτηριακών λοιμώξεων και σηπτικής καταπληξίας. Σε τέτοιες καταστάσεις, η HBP απελευθερώνεται από ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα με εξωκυττάρωση κόκκων. Η φιλγραστίμη (Filgrastim) διεγείρει την παραγωγή νέων ουδετερόφιλων στο μυελό των οστών ενώ ενισχύει τη λειτουργία των ώριμων. Συνεπώς, αφού η HBP απελευθερώνεται από τα ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα, η διέγερση της παραγωγής και λειτουργίας των ουδετερόφιλων από τη filgrastim θα μπορούσε να οδηγήσει σε αυξημένη έκκριση HBP. Η συσχέτιση των συγκεντρώσεων της HBP με τον αριθμό των WBC έχει μελετηθεί σε αρκετές κλινικές δοκιμές. Σε ένα υποσύνολο ασθενών με σοβαρή σήψη (με ή χωρίς σηπτικό σοκ),

βρέθηκε θετική συσχέτιση μεταξύ HBP & WBC, ενώ δεν βρέθηκε αντίστοιχο μέγεθος συσχέτισης σε ασθενείς με έγκαυμα¹⁷. Αρχικά, η φιλγραστίμη θεωρήθηκε ότι έχει ευεργετικά αποτελέσματα στην έκβαση των ασθενών σε κρίσιμη κατάσταση. Ωστόσο, καμία βελτίωση στη θνησιμότητα δεν μπόρεσε να αποδειχθεί σε ασθενείς με πνευμονία και σοβαρή σήψη ή σηπτικό σοκ σε μια μεγάλη τυχαιοποιημένη, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο δοκιμή¹⁷. Η επιδείνωση της πνευμονικής λειτουργίας και η ανάπτυξη συνδρόμου οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας (ARDS) ήταν μείζον θέμα στους ασθενείς που έλαβαν φιλγραστίμη¹⁷. Η θεραπεία με φιλγραστίμη οδηγεί σε παρατεταμένα και υψηλά επίπεδα HBP, πράγμα το οποίο θα μπορούσε να έχει επιβλαβείς επιπτώσεις στην πνευμονική τριχοειδή διαρροή και πνευμονική λειτουργία. Συνεπώς μελέτες έχουν καταλήξει στο γεγονός ότι η θεραπεία με φιλγραστίμη συνδέεται με αυξημένα επίπεδα HBP σε σύγκριση με εικονικό φάρμακο, ωστόσο ο απόλυτος αριθμός ουδετερόφιλων και ο βαθμός αναπνευστικής ανεπάρκειας δεν ήταν ανάλογος της συγκέντρωσης HBP¹⁷.

HBP ΚΑΙ ΝΕΦΡΙΚΗ ΣΩΛΗΝΑΡΙΑΚΗ ΟΞΕΩΣΗ

Η Οξεία νεφρική βλάβη (ACUTE KIDNEY INJURY - AKI) είναι μια κοινή επιπλοκή των βαριά νοσούντων και σχετίζεται με αυξημένη θνητότητα. Ο εντοπισμός των ασθενών με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης νεφρικής βλάβης θα μπορούσε να συμβάλει στη βελτιστοποίηση της φροντίδας τους ώστε να αποφευχθεί περαιτέρω νεφρική βλάβη, για παράδειγμα ελαχιστοποιώντας τη χρήση νεφροτοξικών φαρμάκων. Πολλοί βιοδείκτες έχουν αξιολογηθεί για την πρόβλεψη της AKI σε ασθενείς βαριά νοσούντες, όπως για παράδειγμα σε ασθενείς σε μονάδα εντατικής θεραπείας. Ενώ ορισμένοι έχουν δείξει καλά αποτελέσματα, όπως η IL-18, κανένα δεν εδραιώθηκε στην κλινική πράξη. Ειδικά δε, σε ασθενείς με σήψη, η ειδικότητα και η ευαισθησία των βιοδεικτών αυτών απεδείχθη χαμηλή.

Οι μηχανισμοί που οδηγούν στην AKI δεν είναι πλήρως κατανοητοί, ωστόσο η αυξημένη αγγειακή διαπερατότητα θεωρείται ότι συμβάλλει στην ανάπτυξη νεφρικής βλάβης στη σήψη και στη νεφρική βλάβη μετά από επαναιμάτωση¹⁸. Η HBP προκαλεί φλεγμονή και τριχοειδή διαρροή στο νεφρό, μηχανισμός που έχει προταθεί για τη παθοφυσιολογία της AKI σε ασθενείς με σήψη (Σχήμα 3)¹⁹. Έχει αποδειχθεί ότι τα υψηλά επίπεδα HBP σε ασθενείς που νοσηλεύονται στη ΜΕΘ για ποικίλα αίτια, σχετίζονται με την εμφάνιση σοβαρής νεφρικής βλάβης κατά τις πρώτες επτά ημέρες παραμονής στη ΜΕΘ¹⁸. Έχει βρεθεί ότι η μέτρηση της HBP πλάσματος σε ασθενείς που εισάγονται στη ΜΕΘ βελτιώνει τη πρόβλεψη της AKI σταδίου 2-3 σε έδαφος σήψης, ενώ έχει διαπιστωθεί ότι οι ασθενείς με αυξημένη HBP πλάσματος (> 20 ng / ml) κατά την είσοδο στη ΜΕΘ έχουν σημαντικά υψηλότερο σκορ SOFA εντός 5 ημερών και αυξημένο κίνδυνο θανάτου εντός 28 ημερών, σε σύγκριση με ασθενείς με χαμηλό HBP πλάσματος κατά την εισαγωγή στη ΜΕΘ¹⁹.

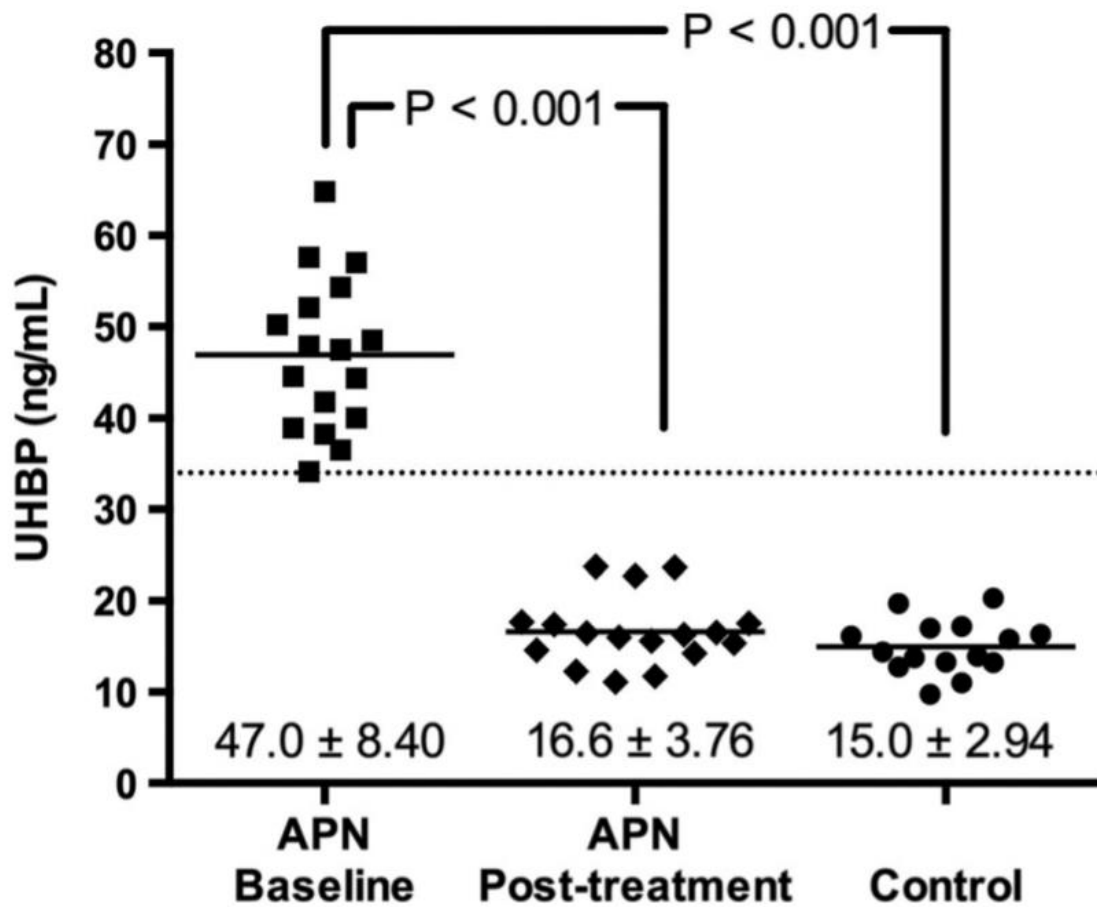


Σχήμα 3. Τροποποίηση από “ Jonas Tverring et.al, Heparin-binding protein (HBP) improves prediction of sepsis-related acute kidney injury”. Προτεινόμενος μηχανισμός για τη συμμετοχή της HBP στην παθοφυσιολογία της AKI που σχετίζεται με τη σήψη. (1) Τα ουδετερόφιλα που ενεργοποιούνται από το βακτηριακό αντιγόνο απελευθερώνουν προπαρασκευασμένη HBP από εκκριτικά κυστίδια σε περιφερικούς ιστούς και αιμοφόρα αγγεία. Η HBP περνά μέσα από τα σπειράματα και τη κάψα του Bowman. (2) Η HBP ενεργεί στα περιφερικά αγγειακά κύτταρα προκαλώντας διαρροή. (3) Η HBP προκαλεί φλεγμονή σε σωληναριακά επιθηλιακά κύτταρα, υποστηριζόμενη από τη παραγωγή ιντερλευκίνης 6 (IL-6).

Η HBP ούρων (UHBP) μελετήθηκε σε παιδιατρικούς ασθενείς με οξεία πυελονεφρίτιδα (APN) και βρέθηκε ότι τα επίπεδα UHBP > 32 ng / mL είναι το βέλτιστο όριο ορισμού της λοίμωξης ουροποιητικού (UTI)²⁰. Η μελέτη αυτή απέδειξε επίσης ότι τα επίπεδα UHBP στα παιδιά με APN 1 μήνα μετά τη θεραπεία ήταν παρόμοια με εκείνα των παιδιών χωρίς APN. Επίπεδα UHBP \geq 34 ng / ml θεωρούνται ικανά για την έναρξη εμπειρικής αντιβιοτικής αγωγής για τη θεραπεία της APN. Σε αυτούς τους ασθενείς, η UHBP πρέπει να χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με

την καλλιέργεια ούρων. Μόνο η καλλιέργεια ούρων παρέχει δεδομένα σχετικά με την ταυτοποίηση των βακτηρίων και τις ευαισθησίες στα αντιβιοτικά για τη βέλτιστη καθοδήγηση και ρύθμιση της κατάλληλης επιλογής αντιβιοτικών, ενώ επίπεδα UHBP <34 ng / mL αποτρέπουν από την αλόγιστη χρήση τους (Σχήμα 4) ²⁰.

Τα επίπεδα UHBP συσχετίστηκαν σημαντικά με τον αριθμό των ουδετερόφιλων, τον αριθμό των αιμοπεταλίων και την πυουρία²⁰. Δεν είναι σαφές εάν η UHBP εκκρίνεται τοπικά στο ουροποιητικό σύστημα ή η μέτρησή της είναι αποτέλεσμα νεφρικής κάθαρσης του HBP. Πιθανά η UHBP εκκρίνεται τοπικά από ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα κατά τη διάρκεια της APN και αυτό υποστηρίζεται από τα εξής : πρώτον, τα επίπεδα της UHBP ήταν σημαντικά αυξημένα σε σύγκριση με τα επίπεδα HBP στον ορό σε ασθενείς με APN και ουροσήςη, και δεύτερον, τα επίπεδα της UHBP συσχετίστηκαν με το βαθμό πυουρίας. Ωστόσο, η σχέση μεταξύ UHBP και πυουρίας θα μπορούσε να εξηγηθεί εν μέρει από το γεγονός ότι η UHBP αυξάνει την αγγειακή διαπερατότητα, η οποία θα μπορούσε, με τη σειρά της, να αυξήσει τη διαενδοθηλιακή μετανάστευση ουδετερόφιλων στην APN²⁰.



Σχήμα 4. Εισαγωγή από "Kanita Lertdumrongluk et.al, Diagnostic accuracy of urine heparin binding protein for pediatric acute pyelonephritis". Συγκεντρώσεις πρωτεΐνης που δεσμεύει ηπαρίνη ούρων (UHBP) σε άτομα με οξεία πυελονεφρίτιδα (APN) κατά την παρουσίαση (APN Baseline) και 1 μήνα μετά τη θεραπεία με αντιβιοτικά (APN Post-treatment) και εμπύρετα άτομα χωρίς πυελονεφρίτιδα (Control).

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Ασθενείς με λοίμωξη από τον ιό SARS-CoV-2 συμπεριλήφθηκαν σε μια προοπτική μελέτη κατά την περίοδο Μαρτίου έως Μαΐου 2020 σε 10 διαφορετικές τοποθεσίες της Ελληνικής ομάδας μελέτης της σήψης (επτά παθολογικά τμήματα και τρεις μονάδες εντατικής θεραπείας). Το πρωτόκολλο μελέτης εγκρίθηκε από τις επιτροπές δεοντολογίας των συμμετεχόντων νοσοκομείων. Γραπτή συγκατάθεση δόθηκε από τους ασθενείς ή συγγενείς πρώτου βαθμού σε περίπτωση ασθενών που δεν μπορούσαν να συναινέσουν. Τα κριτήρια ένταξης ήταν: α) ενήλικες και των δύο φύλων, β) μοριακή ανίχνευση SARS-CoV-2 με RT-PCR χρησιμοποιώντας ρινοφαρυγγικό επίχρισμα, γ) ακτινολογικά σημεία συμβατά με λοίμωξη του κατώτερου αναπνευστικού συστήματος σε ακτινογραφία θώρακος ή αξονική τομογραφία θώρακα, δ) τουλάχιστον δύο σημεία του συνδρόμου συστηματικής φλεγμονώδους απόκρισης (SIRS), και ε) λήψη αίματος εντός 24 ωρών από την έναρξη του SIRS. Ασθενείς με λοίμωξη από τον ιό της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας καθώς και ασθενείς με ουδετεροπενία λόγω αιτιών διαφορετικών από το SIRS, αποκλείστηκαν.

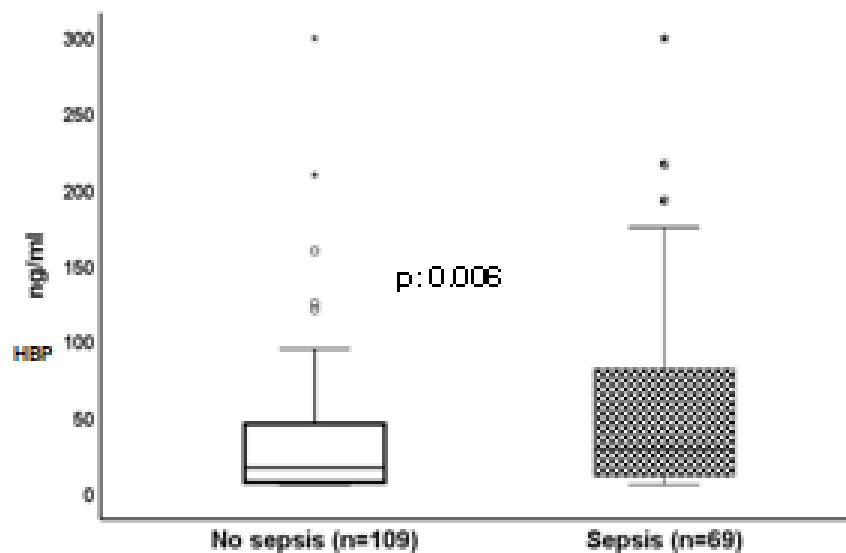
Η δειγματοληψία αίματος πραγματοποιήθηκε κατά την εισαγωγή και μετά από επτά ημέρες. Σε κάθε χρονικό σημείο, 5 ml αίματος λήφθηκαν δείγματα μετά από φλεβοκέντηση υπό άσηπτες συνθήκες και φυγοκεντρήθηκαν. Η ΗΒΡ μετρήθηκε στο πλάσμα με ξηρό ποσοτικό ανοσοπροσδιορισμό φθορισμού χρησιμοποιώντας τον αναλυτή Jet-iStar 800 (Joinstar, Hangzhou, Κίνα), το κατώτερο όριο ανίχνευσης ήταν 5,9 ng / ml. Η ιντερλευκίνη (IL) -6 μετρήθηκε επίσης με ανάλυση ανοσοπροσροφητικού ενζύμου (Invitrogen, Carlsbad, California, USA), το κατώτερο όριο ανίχνευσης ήταν 10 pg / ml.

Οι ακόλουθες πληροφορίες συλλέχθηκαν κατά την έναρξη της μελέτης: α) δημογραφικά στοιχεία και συννοσηρότητες που επιτρέπουν τη μέτρηση του δείκτη συννοσηρότητας του Charlson (CCI), β) βαθμολογία σοβαρότητας APACHE II (φυσιολογία και αξιολόγηση χρόνιας υγείας), δείκτης σοβαρότητας πνευμονίας (PSI) και βαθμολογία SOFA (οργανική ανεπάρκεια), γ) γενική αίματος και δ) βιοχημεία και αέρια αίματος, η μέτρηση των αερίων αίματος έγινε χρησιμοποιώντας ξεχωριστά δείγματα με αρτηριακή παρακέντηση. Οι ασθενείς παρακολουθούνταν καθημερινά για 28 ημέρες για την ανάπτυξη σοβαρής αναπνευστικής ανεπάρκειας (SRF) και

επιβίωση. Το SRF ορίστηκε ως σύνθετο καταληκτικό σημείο και περιελάμβανε ασθενείς με λόγο pO_2 / FiO_2 μικρότερο από 150 mmHg κατά το οποίο απαιτείται διασωλήνωση και μηχανικός αερισμός (MV). Αυτός ο ορισμός περιέχει όλους τους ασθενείς με πραγματική αναπνευστική ανεπάρκεια, δεδομένου ότι καθιστά σαφές ότι το χαμηλό pO_2 / FiO_2 είναι μια κατάσταση που δεν μπορεί να αντιστραφεί χωρίς MV. Η σήψη κατά την εισαγωγή ορίστηκε ως οποιαδήποτε βαθμολογία SOFA ίση ή μεγαλύτερη από σκορ 2.

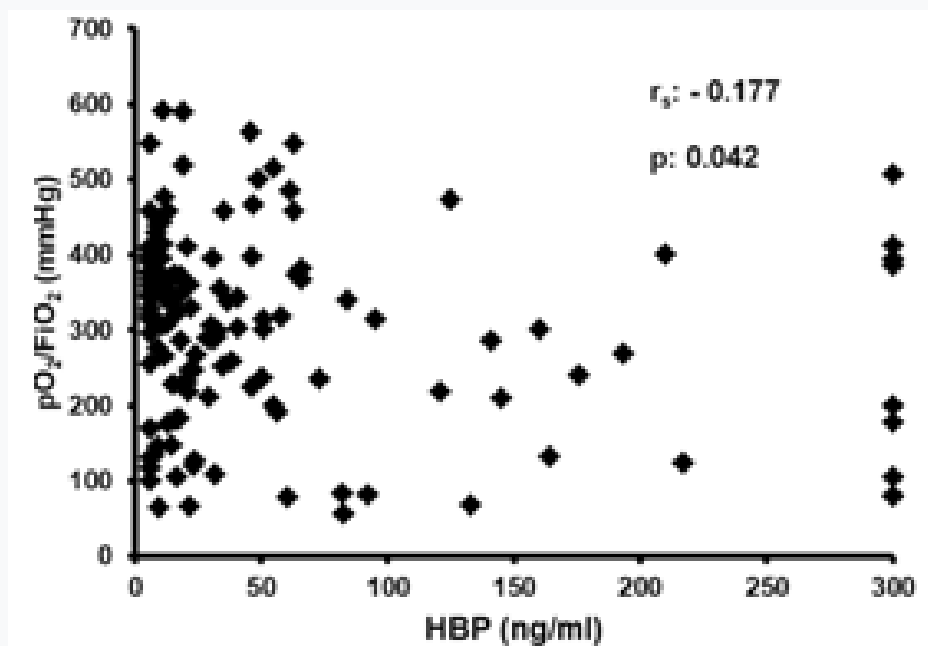
Τα αποτελέσματα των HBP και IL-6 εκφράστηκαν ως διάμεσοι και με 95% διάστημα εμπιστοσύνης (CIs). Έγιναν συγκρίσεις μεταξύ ασθενών που ανέπτυξαν SRF και εκείνων που δεν ανέπτυξαν SRF κατά την παρακολούθηση του τεστ Mann Whitney U. Παρόμοιες συγκρίσεις έγιναν για ποσοτικές μεταβλητές χρησιμοποιώντας το Student t-test και για ποιοτικές μεταβλητές χρησιμοποιώντας το Fisher test. Οι ποσοτικές μεταβλητές μετατράπηκαν σε διωνυμικές μεταβλητές χρησιμοποιώντας τον δείκτη Youden με τα σημεία της ανάλυσης καμπύλης συντονισμού ROC (χαρακτηριστικά χειριστή δέκτη). Υπολογίστηκαν τα CI των ποσοστών. Οι συγκρίσεις μεταξύ ομάδων έγιναν χρησιμοποιώντας την δοκιμή Fisher και τη διόρθωση Bonferroni για πολλαπλές συγκρίσεις. Πραγματοποιήθηκε βήμα-βήμα ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης μεταξύ σημαντικών μεταβλητών προκειμένου να οριστούν μεταβλητές που σχετίζονται ανεξάρτητα με την ανάπτυξη του SRF. Η ανάλυση Cox έγινε μεταξύ σημαντικών μεταβλητών μετά από ανάλυση univariate προκειμένου να καθοριστούν οι μεταβλητές που σχετίζονται ανεξάρτητα με το αποτέλεσμα 28 ημερών. Η συσχέτιση μεταξύ των μεταβλητών έγινε με τη σειρά τάξης του Spearman. Οι συγκρίσεις των συγκεντρώσεων της HBP και της IL-6 μεταξύ εισαγωγής και 7ης ημέρας έγιναν με το τεστ Wilcoxon. Οποιαδήποτε τιμή p μικρότερη από 0,05 θεωρήθηκε στατιστικά σημαντική.

Συνολικά 178 ασθενείς συμπεριλήφθηκαν κατά τη διάρκεια της περιόδου μελέτης. Τα δημογραφικά τους βασικά χαρακτηριστικά παρέχονται στο Σχήμα 11. Εκείνοι που ταξινομήθηκαν με σήψη κατά την εισαγωγή είχαν υψηλότερα επίπεδα HBP (Σχήμα 5).



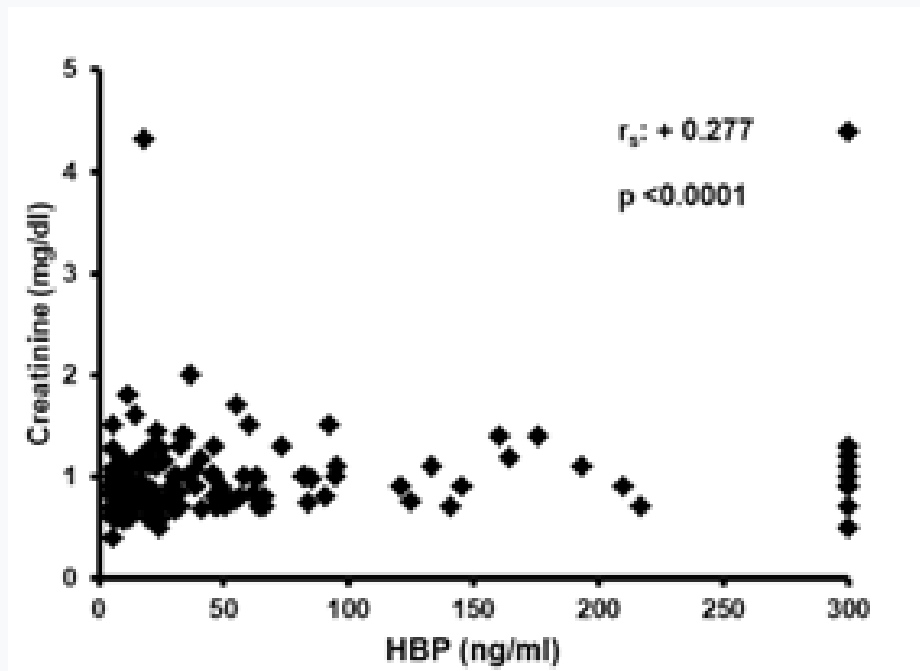
Σχήμα 5. Συσχέτιση μεταξύ της πρωτεΐνης που δεσμεύει την ηπαρίνη (HBP) και δυσλειτουργία οργάνων μεταξύ ασθενών με πνευμονία από τον SARS-CoV-2. Σύγκριση HBP μεταξύ ασθενών χωρίς σήψη με SARS-CoV-2 και σήψη από τον SARS-CoV-2, η τιμή p παρέχεται από τις δοκιμές Mann-Whitney U. Οι κύκλοι υποδηλώνουν ακραίες τιμές και αστερίσκοι άκρα.

Η HBP συσχετίστηκε με δυσλειτουργία οργάνων, καθώς συσχετίστηκε αρνητικά με την αναλογία pO_2 / FiO_2 (Σχήμα 6).



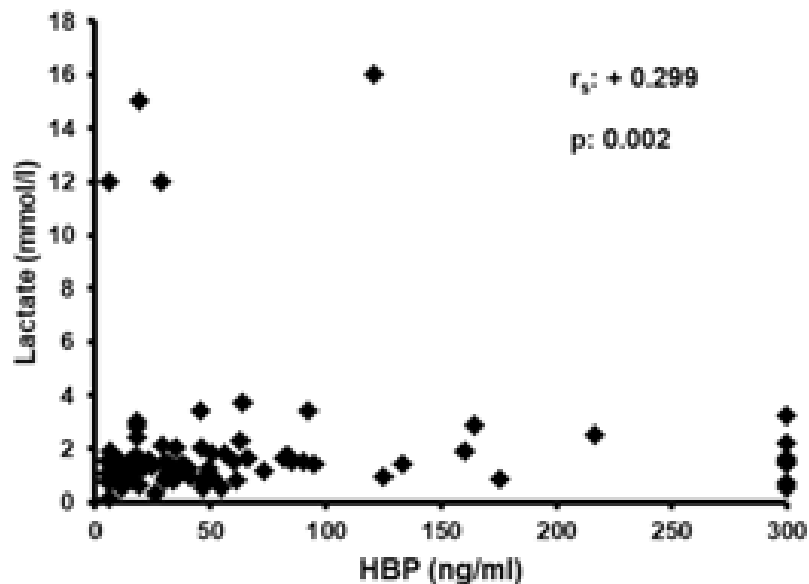
Σχήμα 6. Συσχέτιση μεταξύ HBP και pO_2 / FiO_2 . Η τάξη συσχέτισης κατά Spearman (r_s) και της αντίστοιχης τιμής p παρέχονται.

Συσχετίστηκε θετικά με την κρεατινίνη ορού (Σχήμα 7),



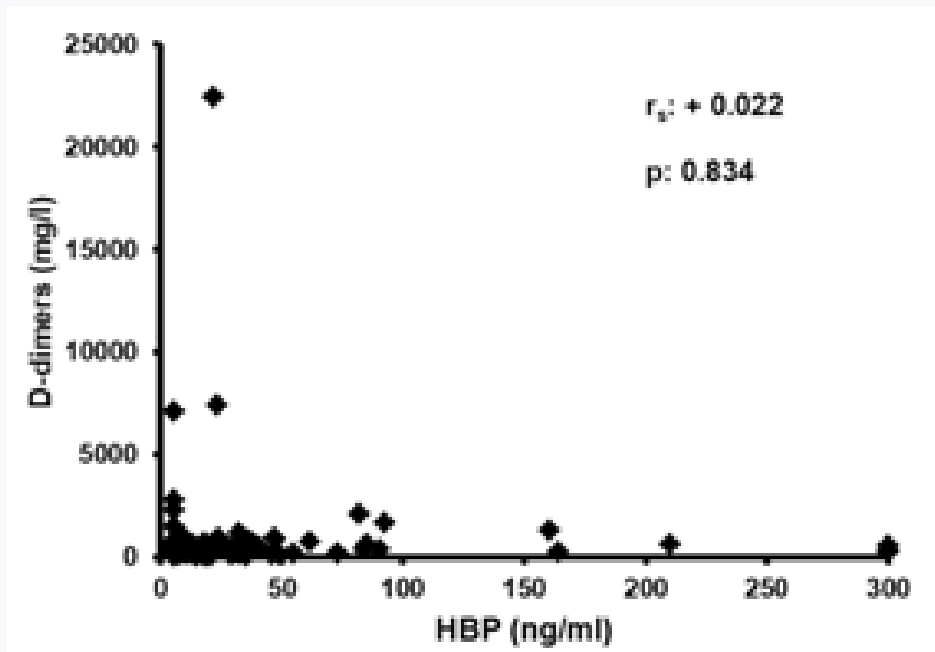
Σχήμα 7. Συσχέτιση μεταξύ HBP και κρεατινίνης πλάσματος. Η τάξη συσχέτισης κατά Spearman (r_s) και της αντίστοιχης τιμής p παρέχονται.

και συσχετίστηκε θετικά με τα επίπεδα του γαλακτικού οξέος στο πλάσμα (Σχήμα 8).



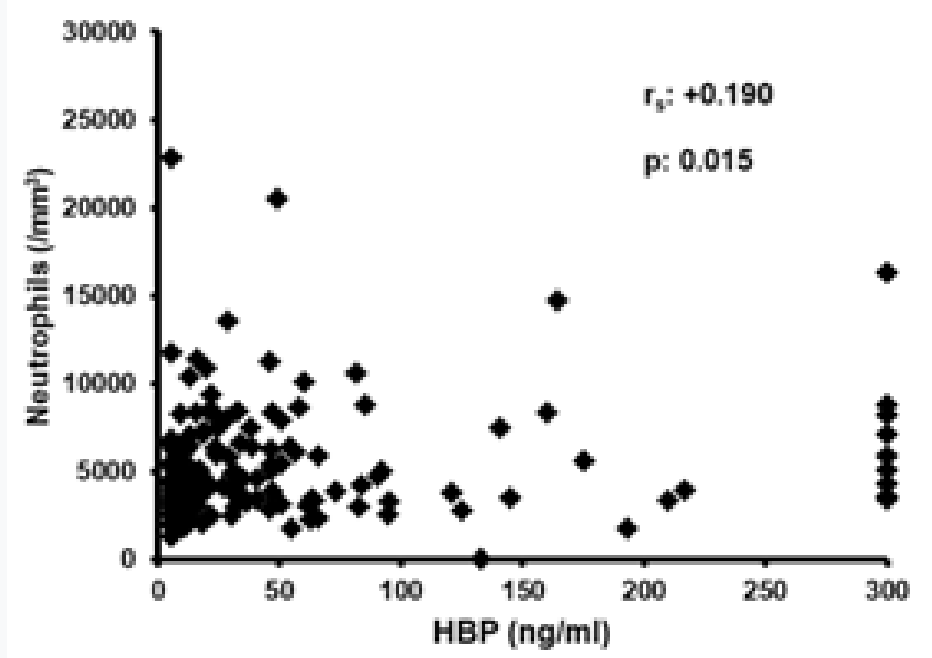
Σχήμα 8. Συσχέτιση μεταξύ HBP και γαλακτικού οξέος στο πλάσμα. Η τάξη συσχέτισης κατά Spearman (r_s) και της αντίστοιχης τιμής p παρέχονται.

Η HBP δεν συσχετίστηκε με τα δ-διμερή πλάσματος (Σχήμα 9),



Σχήμα 9. Συσχέτιση μεταξύ της HBP και των συγκεντρώσεων των δ-διμερών (D-dimers) στο πλάσμα. Η τάξη συσχέτισης κατά Spearman (r_s) και της αντίστοιχης τιμής p παρέχονται.

ενώ συσχετίστηκε θετικά με τον απόλυτο αριθμό ουδετερόφιλων (Σχήμα 10).



Σχήμα 10. Συσχέτιση μεταξύ της HBP και του απόλυτου αριθμού των ουδετερόφιλων. Η τάξη συσχέτισης κατά Spearman (r_s) και της αντίστοιχης τιμής p παρέχονται.

Οι συσχετίσεις με άλλους βιοδείκτες παρέχονται στο Σχήμα 11.

Σχήμα 11 : Βασικά και κλινικά χαρακτηριστικά ασθενών με ανάπτυξη σοβαρής αναπνευστικής ανεπάρκειας (SRF) λόγω πνευμονίας από τον ιό SARS-CoV-2.

	SRF		p- value
	Όχι (n=134)	Ναι (n=44)	
Αρσενικό φύλο (n, %)	86 (64.2)	40 (90.9)	0.0005
Ηλικία (χρόνια, mean ± SD)	58.27 ± 16.80	65.09 ± 11.70	0.015
APACHE II σκορ (mean ± SD)	6.16 ± 3.59	9.81 ± 3.81	9.2 x10 ⁻⁶
CCI (mean ± SD)	1.83± 1.86	2.82 ± 2.14	0.004
SOFA σκορ (mean ± SD)	1.61 ± 1.61	5.90 ± 2.21	9.6 x 10 ⁻²²
PSI (mean ± SD)	66.1±24.8	110.4±35.0	4.1 x 10 ⁻¹²
Main comorbidities (n, %)			
• Σακχαρώδης Διαβήτης	21 (15.7)	9 (20.5)	0.489
• Χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια	3 (2.2)	2 (4.5)	0.598
• Στεφανιαία νόσος	10 (7.5)	6 (13.6)	0.230
• ΧΑΠ	6 (4.5)	4 (9.1)	0.266
• ΧΝΝ	2 (1.5)	1 (2.3)	1.00
• Κακοήθεια συμπαγών οργάνων	1 (0.9)	3 (6.8)	0.047
Εργαστηριακά δεδομένα (mean ± SD)			
Λευκά αιμοσφαίρια (/mm ³)	6637.8± 4128.0	7911.1± 3421.5	0.077
Ουδετερόφιλα (/mm ³)	4769.4±3130.7	6535.9± 3231.5	0.002
Λεμφοκύτταρα (/mm ³)	1262.0± 960.0	995.6 ± 1234.5	0.155
Αιμοπετάλια (x10 ³ /mm ³)	208.9± 86.4	189.7± 69.8	0.197
pO ₂ /FiO ₂ (mmHg, mean ± SD)	351.7 ± 103.8	184.4 ± 101.7	7.4 x 10 ⁻¹⁴

Η σοβαρή νόσος COVID-19 πληρεί τα κριτήρια Sepsis-3 έτσι ώστε να μπορεί να ταξινομηθεί ως ιογενής σήψη. Σε αυτήν την προσέγγιση, τα δεδομένα που παρουσιάστηκαν για την HBP συμφωνούν με αρκετές προηγούμενες μελέτες σε ασθενείς με μικροβιολογικά τεκμηριωμένη ή πολύ υψηλή υποψία σήψης βακτηριακής προέλευσης που δείχνει μια πρώιμη συσχέτιση της HBP με τη δυσλειτουργία των

οργάνων. Αυτό βρέθηκε σε μια ομάδα 128 ασθενών που διακομίστηκαν στο ΤΕΠ²² και επίσης σε μια άλλη ομάδα 93 ασθενών με σήψη²³. Σε μια μελέτη 674 ασθενών που διακομίστηκαν στο ΤΕΠ με λοίμωξη, η τιμή της HBP άνω των 30 ng / ml είχε 78% ευαισθησία για να προβλέψει την εξέλιξη σε σοβαρή σήψη εντός των πρώτων 72 ωρών²⁴. Σε αυτές τις μελέτες, τα επίπεδα HBP που κυμαίνονταν μεταξύ 15 και 30 ng / ml προτάθηκαν ως όριο για τη διάγνωση σήψης. Ωστόσο, πρέπει να υπογραμμιστεί ότι σε όλες τις μελέτες που έχουν δημοσιευτεί μέχρι στιγμής η HBP μετρήθηκε με μια ανάλυση ανοσοπροσοροφητικού ενζύμου και όχι από ανοσοδοκιμασία φθορισμού όπως στη μελέτη μας.

Πρέπει να υποστηριχθεί ποια είναι η παθοφυσιολογική ερμηνεία αυτών των ευρημάτων για τη σοβαρή νόσο COVID-19. Η HBP εκκρίνεται από τα αζουρόφιλα κοκκία των κυκλοφορούντων ουδετερόφιλων. Η HBP και ο απόλυτος αριθμός ουδετερόφιλων συσχετίστηκαν ανεξάρτητα με το SRF. Τα ευρήματά μας είναι απόλυτα συμβατά με αναφορές σε ασθενείς με σήψη όπου η HBP σχετίζεται με υποξία και σοκ, όπως φαίνεται από την αρνητική συσχέτιση με την αναλογία pO_2 / FiO_2 και τη θετική συσχέτιση με το γαλακτικό οξύ. Αυτές οι συσχετίσεις περιγράφηκαν σε ασθενείς με θετική ισοζύγιο υγρών στους πνεύμονες, δηλαδή αύξηση της διαρροής του αγγειακού ενδοθηλίου μέσω επίδρασης στην πρωτεϊνική κινάση C των επιθηλιακών κυττάρων των πνευμόνων²⁵. Παρόλο που η HBP περιγράφεται ότι αλληλεπιδρά με το σύστημα βραδυκινίνης-καλλικρεΐνης και ενεργοποιεί τις οδούς πήξης²⁶, αυτό δεν φαίνεται να συμβαίνει στη μελέτη μας όπου το HBP δεν συσχετίστηκε με τα επίπεδα D-διμερών.

Το μονοπάτι IL-6 έχει περιγραφεί ότι συμμετέχει στη μετάβαση από ήπια και μέτρια σε σοβαρή COVID-19 που απαιτεί μηχανική υποστήριξη αναπνοής²⁷. Μια πρόσφατη ανάλυση 274 ασθενών έδειξε ότι η αυξημένη IL-6 ήταν ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για θνησιμότητα στο νοσοκομείο²⁸. Σε μια άλλη έρευνα 40 ασθενείς χωρίστηκαν σε αυτούς που χρειάζονταν μηχανική υποστήριξη αναπνοής και εισαγωγή σε μονάδα εντατικής θεραπείας (n = 20) και σε αυτούς με σταθερή αλλά σοβαρή νόσο, και έδειξε παρόμοια αύξηση της IL-6²⁹. Αυτό ήταν επίσης το εύρημα μιας ομάδας που συνέκρινε 17 ασθενείς με κρίσιμη νόσο COVID-19 με 85 ασθενείς με ήπια ή μέτρια νόσο.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η πρωτεΐνη που δεσμεύει την ηπαρίνη (HBP) διαδραματίζει βασικό ρόλο στη φλεγμονή και έχει αναδειχθεί σε σημαντικό διαγνωστικό και προγνωστικό βιοδείκτη πολυοργανικής ανεπάρκειας σε ασθενείς με σήψη. Η σοβαρή νόσος COVID-19 πληροί τα κριτήρια του νεότερου ορισμού της Σήψης, έτσι ώστε να ταξινομηθεί ως ιογενή σήψη. Υπό αυτή τη σκοπιά, τα δεδομένα που παρουσιάζονται σχετικά με την HBP είναι σε συμφωνία με αρκετές προηγούμενες μελέτες που συσχετίζουν τη πρόωμη αύξηση της HBP με την οργανική ανεπάρκεια σε ασθενείς με μικροβιολογικά τεκμηριωμένη ή υψηλής υποψίας βακτηριακή σήψη. Η έγκαιρη αναγνώριση των ασθενών με σήψη από COVID-19 και κατ' επέκταση η έγκαιρη θεραπευτική παρέμβαση είναι στην παρούσα χρονική στιγμή ζωτικής σημασίας εργαλείο για την αντιμετώπιση της νόσου.

Λαμβάνοντας υπόψη τις υπάρχουσες γνώσεις σχετικά με τους βιοδείκτες στη σήψη διερευνήθηκε η ικανότητα της HBP να προβλέψει την έκβαση των ασθενών με σήψη από COVID-19. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η HBP μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την πρόγνωση της εκδήλωσης σοβαρής αναπνευστικής ανεπάρκειας χρησιμοποιώντας ως διαχωριστικό όριο τιμής (cut-off) τα 18ng/ml και για την πρόγνωση της θνητότητας εντός 28 ημερών χρησιμοποιώντας ως διαχωριστικό όριο τιμής (cut-off) τα 35ng/ml. Επιπλέον, αποδείχθηκε ότι η HBP σε συνδυασμό με τη IL-6 μπορούν να χρησιμοποιηθούν μαζί ως αξιόπιστοι προγνωστικοί παράγοντες στους ασθενείς με σήψη από COVID-19.

Συμπερασματικά, με βάση όλα τα παραπάνω, προτείνουμε τη δημιουργία μιας αξιόπιστης προγνωστικής κλίμακας για ασθενείς με σήψη από COVID-19 που θα ενσωματώνει τόσο τα επίπεδα της πρωτεΐνης που δεσμεύει την ηπαρίνη όσο και τα επίπεδα της IL-6 κατά την εισαγωγή.

Βιβλιογραφία

- 1) Heparin-binding protein: a key player in the pathophysiology of organ dysfunction in sepsis, J. Fisher & A. Linder, doi: 10.1111/joim.12604
- 2) Heparin-binding protein in sepsis: player! predictor! positioning?, Patrick M. Honore et.al., Ann Intensive Care. 2019; 9: 71. Published online 2019 Jun 20. doi: 10.1186/s13613-019-0546-3
- 3) Heparin-binding protein is important for vascular leak in sepsis, Bentzer et al. Intensive Care Medicine Experimental (2016) 4:33. DOI 10.1186/s40635-016-0104-3
- 4) Sustained increase in angiopoietin-2, heparin-binding protein, and procalcitonin is associated with severe sepsis Xiao-Wei Liu et. Al. S0883-9441(17)31725-2 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2018.01.010> Reference: YJCRC 52838
- 5) Heparin-binding protein in sputum as a marker of pulmonary inflammation, lung function, and bacterial load in children with cystic fibrosis, Gisela Hovold et. al. PMID: PMC6011334 DOI: 10.1186/s12890-018-0668-7
- 6) Elevated plasma levels of heparin-binding protein in intensive care unit patients with severe sepsis and septic shock Adam Linder et. al, PMID: PMC3580636 DOI: 10.1186/cc11353
- 7) Heparin-binding protein as a biomarker of post-injury sepsis in trauma patients H. D. Halldorsdottir et. al, doi: 10.1111/aas.13107
- 8) Increased plasma levels of heparin-binding protein in patients with acute respiratory distress syndrome, Qionghua Lin et. al, Crit Care. 2013; 17(4): R155. Published online 2013 Jul 24. doi: 10.1186/cc12834
- 9) Linder A, Christensson B, Herwald H, Bjo"rck L, Akesson P. Heparin-binding protein: an early marker of circulatory failure in sepsis. Clin Infect Dis. 2009;49:1044–50
- 10) Increased plasma levels of heparin-binding protein in patients with shock: a prospective, cohort study Michelle S. Chew • Adam Linder • Stefan Santen • Anders Ersson • Heiko Herwald • Henrik Thorlacius, Inflamm. Res. (2012) 61:375–379 DOI 10.1007/s00011-011-0422-6

- 11) Heparin-Binding Protein as a Prognostic Biomarker of Sepsis and Disease Severity at the Emergency Department, Fredrik Kahn et. al, Affiliations expand, PMID: 30807529, DOI: [10.1097/SHK.0000000000001332](https://doi.org/10.1097/SHK.0000000000001332)
- 12) Significance of Heparin-Binding Protein and D-dimers in the Early Diagnosis of Spontaneous Bacterial Peritonitis, Tomasz Mikula et. al, Mediators of Inflammation Volume 2018, Article ID 1969108
- 13) Heparin Binding Protein in Adult Heart Surgery. Eero Pesonen et. al, Ann Thorac Surg, 2019 Apr;107:1154-1159., doi: 10.1016/j.athoracsur.2018.10.007. Epub 2018 Nov 14.
- 14) Heparin-binding protein is important for vascular leak in sepsis Peter Bentzer et al. Intensive Care Medicine Experimental (2016) 4:33 DOI 10.1186/s40635-016-0104-3
- 15) Heparin-binding protein in ventilator-induced lung injury, Jonas Tydén et. al, *Intensive Care Medicine Experimental* volume 6, Article number: 33 (2018)
- 16) Heparin-binding protein (HBP) in critically ill patients with influenza A (H1N1) infection, K-M Kaukonen, R Linko, H Herwald, L Lindbom, E Ruokonen, T Ala-Kokko, V Pettilä, . Clin Microbiol Infect, 2013 Dec;19(12):1122-8. doi: 10.1111/1469-0691.12156. Epub 2013 Feb 12.
- 17) Heparin binding protein in patients with acute respiratory failure treated with granulocyte colony-stimulating factor (filgrastim) – a prospective, placebo-controlled, double-blind study, Kaukonen et al. BMC Infectious Diseases 2013
- 18) J Tydén, H Herwald, M Hultin, J Walldén, J Johansson, Heparin-binding protein as a biomarker of acute kidney injury in critical illness, Acta Anaesthesiol Scand, 2017 Aug;61:797-803. doi: 10.1111/aas.12913. Epub 2017 Jun 5
- 19) Jonas Tverring , Suvi T Vaara, Jane Fisher, Meri Poukkanen, Ville Pettilä , Adam Linder, FINNAKI Study Group Heparin-binding protein (HBP) improves prediction of sepsis-related acute kidney injury, Ann Intensive Care, 2017 Oct 18;7(1):105. doi: 10.1186/s13613-017-0330-1
- 20) Diagnostic accuracy of urine heparin binding protein for pediatric acute pyelonephritis, Kanita Lertdumrongluk, Thanunrat Thongmee, Stephen J Kerr, Apiradee Theamboonlers, Yong Poovorawan, Pornpimol Rianthavorn, Eur J Pediatr, 2015 Jan;174(1):43-8., doi: 10.1007/s00431-014-2362-y. Epub 2014 Jun 26

- 21) A Promising Candidate: Heparin-Binding Protein Steps onto the Stage of Sepsis Prediction, Yang Yang et.al. J Immunol Res, 2019 Dec 16;2019:7515346. doi: 10.1155/2019/7515346
- 22) Liu XW, Ma T, Liu W, et al (2018) Sustained increase in angiopoietin-2, heparin-binding protein, and procalcitonin is associated with severe sepsis. J Crit Care 45: 14-19
- 23) Zhou Y, Liu Z, Huang J, et al (2019) Usefulness of the heparin-binding protein level to diagnose sepsis and septic shock according to Sepsis-3 compared with procalcitonin and C reactive protein: a prospective cohort study in China. BMJ Open 9: e02657
- 24) Linder A, Arnold R, Boyd JH, et al (2015) Heparin-binding protein measurement improves the prediction of severe infection with organ dysfunction in the emergency department. Crit Care Med 43: 2378-2386
- 25) Bentzer P, Fisher J, Kong HJ, et al (2016) Heparin-binding protein is important for vascular leak in sepsis. Intensive Care Med Exp 4: 33
- 26) Kenne E, Rasmuson J, Renné T, et al (2019) Neutrophils engage the kallikrein-kinin system to open up the endothelial barrier in acute inflammation. FASEB J 33: 2599-2609
- 27) Giamarellos-Bourboulis EJ, Netea MG, Ronina N, et al (2020) Complex immune dysregulation in COVID-19 patients with severe respiratory failure. Cell Host Microbe 27: 92-100
- 28) Zeng DX, Xu JL, Mao QX, Liu R, Zhang WY, Qian HY, Xu L (2020)Association of Padua prediction score with in-hospital prognosis in COVID-19 patients. QJM doi: 10.1093/qjmed/hcaa224
- 29) McElvaney OJ, McEvoy N, McElvaney OF, et al (2020)Characterization of the inflammatory response to severe COVID-19 illness. Am J Respir Crit Care Med doi: 10.1164/rccm.202005-1583OC
- 30) Maria Saridaki et. al. Integration of heparin-binding protein and interleukin-6 in the early prediction of respiratory failure and mortality in pneumonia by SARS-CoV-2 (COVID-19), Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2021 Jul;40(7):1405-1412. doi: 10.1007/s10096-020-04145-7. Epub 2021 Jan 29.

