

**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**

**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**

**ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**Α΄ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΗ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**"Σύγκριση της επίδρασης των αναστολέων της ιντεγκράσης και των αναστολέων της πρωτεάσης στη μείωση της ανοσολογικής διέγερσης και στη βακτηριακή αλλόθεση, σε HIV (+) άτομα υπό αγωγή και που έχουν επιτύχει αριθμό CD4+>350/μL και μη ανιχνεύσιμο ιικό φορτίο για τουλάχιστον πάνω από 6 μήνες"**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΘΩΜΑΣ Ν. ΝΙΤΣΟΤΟΛΗΣ MD, MSc**

**ΠΑΘΟΛΟΓΟΣ-ΕΝΤΑΤΙΚΟΛΟΓΟΣ-ΛΟΙΜΩΞΙΟΛΟΓΟΣ**

**ΕΠΙΜΕΛΗΤΗΣ Α΄ ΕΣΥ**

**Γ' ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΚΑΙ ΟΜΩΝΥΜΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ**

**ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ ΕΚΠΑ**

**Γ.Ν.Ν.Θ.Α. "Η ΣΩΤΗΡΙΑ"**

**ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ**

**ΜΗΝΑ ΨΥΧΟΓΥΙΟΥ**

**ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ-ΛΟΙΜΩΞΕΩΝ**

**ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ ΕΚΠΑ**

**ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ ΕΚΠΑ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ Φ. ΑΡΚΑΔΟΠΟΥΛΟΣ**

**ΑΘΗΝΑ, 08/05/2024**

ΕΘΝΙΚΟΝ & ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟΝ  
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΝ ΑΘΗΝΩΝ



ΙΠΠΟΚΡΑΤΗΣ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

**ΕΚ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟΥ ΟΡΚΟΥ  
ΚΕΙΜΕΝΟ**

« ΟΜΝΥΜΙ ΤΟΝ ΘΕΟΝ ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ. ΗΓΗΣΕΣΘΑΙ ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΣΚΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ ΔΙΑΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ, ΕΠΙ ΔΗΛΗΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΗ ΕΙΡΞΕΙΝ, ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΤΙΜΟΝ, ΟΥΔΕ ΥΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΞΥΜΒΟΥΛΙΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ. ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ ΟΥΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΘΟΡΙΟΝ ΔΩΣΩ. ΑΓΝΩΣ ΔΕ ΚΑΙ ΟΣΙΩΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ. ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ ΕΣΩ, ΕΞΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ, ΕΚΤΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΙΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΙΗΣ ΤΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ. Α Δ' ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΗ, Η ΪΔΩ Η ΑΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΕΙΗΣ ΚΑΤΑ ΒΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, Α ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΛΛΕΕΣΘΑΙ ΕΞΩ, ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ, ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟΙΑΥΤΑ. ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΕΟΝΤΙ ΚΑΙ ΜΗ ΞΥΓΧΕΟΝΤΙ ΕΙΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ, ΔΟΣΕΖΟΜΕΝΩ ΠΑΡΑ ΠΑΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΣ ΤΟΝ ΑΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ ΠΑΡΑΒΑΙΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΕΟΝΤΙ, ΤΑΝΑΝΤΙΑ ΤΟΥΤΕΩΝ, ΤΑΥΤΗΝ ΤΗΝ ΕΠΑΓΓΕΛΙΑΝ ΕΠΙΤΕΛΟΥΝΤΙ ΕΙΗ ΜΟΙ ΤΟΝ ΘΕΟΝ ΑΡΩΓΟΝ ΚΤΗΣΑΣΘΑΙ ΕΝ ΤΩ ΒΙΩ ».

ΙΠΠΟΚΡΑΤΗΣ

*Στον αείμνηστο πατέρα μου Νικόλαο Θ. Νιτσοτόλη, Δασολόγο-Περιβαλλοντολόγο (Δασάρχη), που με την απεριόριστη αγάπη και υπομονή του με ενθάρρυνε με τη συστηματική ενασχόλησή μου με τις θετικές επιστήμες και με βασικό πάντοτε γνώμονα το σεβασμό και την ανιδιοτελή προσφορά μου στους συνανθρώπους μου. Ελπίζω να έχω καταφέρει να σταθώ (στο ελάχιστο) αντάξιος των προσδοκιών του...*

## ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ ΠΕΡΑΤΩΣΗΣ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

### ΤΙΤΛΟΣ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ:

Σύγκριση της επίδρασης των αναστολέων της ιντεγκράσης και των αναστολέων της πρωτεάσης στη μείωση της ανοσολογικής διέγερσης και στη βακτηριακή αλλόθεση, σε HIV (+) άτομα υπό αγωγή και που έχουν επιτύχει αριθμό CD4+>350/μL και μη ανιχνεύσιμο ιικό φορτίο για τουλάχιστον πάνω από 6 μήνες.

### ΥΠΟΨΗΦΙΟΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΑΣ:

**ΘΩΜΑΣ Ν. ΝΙΤΣΟΤΟΛΗΣ**

### ΜΕΛΗ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ:

**ΜΗΝΑ ΨΥΧΟΓΥΙΟΥ (ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ):** Καθηγήτρια Παθολογίας-Λοιμώξεων, Α΄ Πανεπιστημιακή Παθολογική Κλινική, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

**ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΔΑΪΚΟΣ:** Ομότιμος Καθηγητής Παθολογίας, Ιατρικής Σχολής, Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

**ΜΙΧΑΗΛ ΣΑΜΑΡΚΟΣ:** Καθηγητής Παθολογίας-Λοιμώξεων, Α΄ Πανεπιστημιακή Παθολογική Κλινική, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

**Ημερομηνία αιτήσεως υποψηφίου διδάκτορα για ορισμό τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής για εκπόνηση διδακτορικής διατριβής:** 24/05/2017, σύμφωνα με το άρθρο 9, του Ν3685/08.

**Ημερομηνία συγκρότησης τριμελούς επιτροπής:** 19/07/2017.

**Ημερομηνία υποβολής θέματος διδακτορικής διατριβής:** 11/10/2017.

**Ημερομηνία τροποποίησης τίτλου διδακτορικής διατριβής:** 29/10/2021.

**Υποβολή 1<sup>ης</sup> έκθεσης προόδου:** 16/02/2020.

**Υποβολή 2<sup>ης</sup> έκθεσης προόδου:** 03/12/2021.

**Υποβολή 3<sup>ης</sup> έκθεσης προόδου της διδακτορικής διατριβής:** 6/12/2023 (Αριθμός Πρωτ. 127054/08.12.2023).

**Αποδοχή ξενόγλωσσης δημοσίευσης (Article) σε διεθνές περιοδικό:** *Comparison of Integrase Strand Transfer Inhibitors (INSTIs) and Protease-Boosted Inhibitors (PIs) on the Reduction in Chronic Immune Activation in a Virally Suppressed, Mainly Male Population Living with HIV (PLWH).* **Thomas Nitsotolis, Konstantinos G. Kyriakoulis, Anastasios Kollias, Alexia Papalexandrou, Helen Kalampoka, Elpida Mastrogianni, Dimitrios Basoulis, and Mina Psychogiou.** *Medicina* 2024, 60, 331.

Published: 15 February 2024.

Αίτηση στη Γραμματεία των Διδασκτόρων της Ιατρικής Σχολής του υποψήφιου διδάκτορα Θωμά Νιτσοτόλη για ορισμό 7μελούς επιτροπής: 26/03/2024.

Ορισμός 7μελούς Εξεταστικής Επιτροπής από τη Συνέλευση της Ιατρικής Σχολής: 28/03/2024.

**7μελής Εξεταστική Επιτροπή:**

1. ΜΗΝΑ ΨΥΧΟΓΥΙΟΥ (Επιβλέπουσα Διατριβής), Καθηγήτρια Παθολογίας-Λοιμώξεων Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ, Α΄ Πανεπιστημιακή Παθολογική Κλινική, Γ.Ν.Α. «ΛΑΪΚΟ».
2. ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΔΑΪΚΟΣ, Ομότιμος Καθηγητής Παθολογίας, Ιατρικής Σχολής, Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών (ΕΚΠΑ).
3. ΜΙΧΑΗΛ ΣΑΜΑΡΚΟΣ, Καθηγητής Παθολογίας-Λοιμώξεων Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ, Α΄ Πανεπιστημιακή Παθολογική Κλινική, Γ.Ν.Α. «ΛΑΪΚΟ».
4. ΑΝΑΣΤΑΣΙΟΣ ΚΟΛΛΙΑΣ, Καθηγητής Παθολογίας, Γ΄ Παθολογική Κλινική και Ομώνυμο Εργαστήριο Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ, ΓΝΝΘΑ «Η ΣΩΤΗΡΙΑ».
5. ΑΝΤΩΝΙΟΣ ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΣ, Καθηγητής Παθολογίας-Λοιμώξεων Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ, Δ΄ Πανεπιστημιακή Παθολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο «Αττικόν».
6. ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗΣ, Καθηγητής Επιδημιολογίας και Προληπτικής Ιατρικής, Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ, Εργαστήριο Υγιεινής, Επιδημιολογίας και Ιατρικής Στατιστικής ΕΚΠΑ.
7. ΓΑΡΥΦΑΛΛΙΑ ΠΟΥΛΑΚΟΥ, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παθολογίας-Λοιμώξεων, Γ΄ Παθολογική Κλινική και Ομώνυμο Εργαστήριο Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ, ΓΝΝΘΑ «Η ΣΩΤΗΡΙΑ».

Ημερομηνία, επιτυχούς με ΑΡΙΣΤΑ, πρακτικού κρίσεως υποψήφιου διδάκτορα Θωμά Ν. Νιτσοτόλη, από την 7μελή Εξεταστική Επιτροπή: 25/04/2024.

## ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

### ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

<u>Όνομα:</u>	Θωμάς
<u>Επώνυμο:</u>	Νιτσοτόλης
<u>Πατρώνυμο:</u>	Νικόλαος
<u>Ημερομηνία γέννησης:</u>	21/10/1977
<u>Τόπος γέννησης:</u>	Ιωάννινα
<u>Οικογενειακή κατάσταση:</u>	Έγγαμος
<u>E-mail:</u>	<a href="mailto:tomnitsotolis@gmail.com">tomnitsotolis@gmail.com</a>
<u>Ειδικότητα:</u>	Εσωτερική Παθολογία
<u>Εξειδικεύσεις:</u>	<ol style="list-style-type: none"><li>1. Εντατικολογία</li><li>2. Λοιμωξιολογία</li></ol>
<u>Παρούσα θέση:</u>	<u>Από 13/04/2020 έως 21/04/2023</u> μετακίνηση με την υπ' αριθμ. πρωτ. Γ4α/οικ.21740/31-03-2020 απόφαση του Γεν. Γραμματέα Υπηρεσιών Υγείας

του Υπουργείου Υγείας στο Β΄ Τμήμα Λοιμώξεων της Γ΄ Πανεπιστημιακής Παθολογικής Κλινικής του Γ.Ν.Ν.Θ.Α. «Η ΣΩΤΗΡΙΑ», με σκοπό την κάλυψη έκτακτων υπηρεσιακών αναγκών στο πλαίσιο προστασίας της δημόσιας υγείας από τη διάδοση του κορωνοϊού (SARS-CoV2/νόσος COVID19).

21/04/2023: Σύμφωνα με την υπ΄ αριθμ. πρωτ:Γ4α/Γ.Π.14698/7-4-2023 απόφαση του Υπουργείου Υγείας μετάθεση του ΝΙΤΣΟΤΟΛΗ ΘΩΜΑ του ΝΙΚΟΛΑΟΥ ειδικευμένο ιατρό ειδικότητας Εσωτερικής Παθολογίας με το βαθμό του Επιμελητή Α΄ από το Γ.Ν.Π. «ΤΖΑΝΕΙΟ» σε κενή οργανική θέση αντίστοιχης ειδικότητας του κλάδου ιατρών ΕΣΥ του Γ.Ν.Ν.Θ.Α. «Η ΣΩΤΗΡΙΑ». Ο ιατρός μετατίθεται με το βαθμό που κατέχει. Βεβαίωση Γ.Δ.Ο.Υ. του Υπουργείου Υγείας:1863/07-04-2023. Τοποθέτηση στην Γ΄ Πανεπιστημιακή Παθολογική Κλινική ΕΚΠΑ, Γ.Ν.Ν.Θ.Α. «Η ΣΩΤΗΡΙΑ».

## **ΣΠΟΥΔΕΣ-ΤΙΤΛΟΙ ΣΠΟΥΔΩΝ**

### **ΕΓΚΥΚΛΙΕΣ ΣΠΟΥΔΕΣ**

1995:

Απολυτήριο 5<sup>ου</sup> Γενικού Λυκείου Λάρισας με βαθμό Άριστα (18 και 7/11).

### **ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΕΣ ΣΠΟΥΔΕΣ**



1995-2001: Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων (κατόπιν επιτυχών εισαγωγικών πανελλαδικών εξετάσεων).

Ιούλιος 2001: Απόκτηση πτυχίου Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων με βαθμό Λίαν Καλώς (8 και 11/72).

30/07/2001: Άδεια Ασκήσεως Ιατρικού Επαγγέλματος (Νομαρχία Ιωαννίνων με αριθμ. πρωτ.: 10524/30-7-2001).

### **ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΕΣ ΣΠΟΥΔΕΣ**

#### **ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ**

Μάρτιος 2004 -

Σεπτέμβριος 2008:

Έμμισθος Ειδικευόμενος Βοηθός Εσωτερικής Παθολογίας, σύμφωνα με την αριθμ. Υ106/15152/24-2-04 απόφαση του Υπουργείου Υγείας και Κοινωνικής Αλληλεγγύης, στο Β΄ Παθολογικό Τμήμα του Γ.Ν. Πειραιά «ΤΖΑΝΕΙΟ».

27/11/2008: Απόκτηση τίτλου Ιατρικής Ειδικότητας Εσωτερικής Παθολογίας κατόπιν επιτυχών εξετάσεων. (Νομαρχιακή Αυτοδιοίκηση Αθηνών-Πειραιώς, Νομαρχία Πειραιώς: Διεύθυνση Δημόσιας Υγείας-Τμήμα Αδειών Επαγγελματών-Υπηρεσιών Υγείας. Αριθ. Πρωτ.: Υ8699/27-11-2008).

#### **ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΣΕΙΣ**

Απρίλιος 2009-Απρίλιος 2011 (2 έτη):

Έμμισθος εξειδικευόμενος στην Εντατικολογία στη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας (ΜΕΘ) του Γ.Ν. Πειραιά «Τζάνειο», σύμφωνα με την υπ'αριθμ. Υ10α/Γ.Π.48543/22-04-2009 απόφαση του Υπουργείου Υγείας και Κοινωνικής Αλληλεγγύης.

18/07/2011: Απόκτηση τίτλου Εξειδικεύσεως στην Εντατική Θεραπεία (Εντατικολόγος) κατόπιν επιτυχών εξετάσεων. (Αριθμ. Πρωτ.: Υ7α/ΓΠ 54783, ΑΔΑ: 4ΑΣΥΘ-ΔΨ3. Υπουργείο Υγείας και Κοινωνικής Αλληλεγγύης).

Από 13/10/2014 έως

και 12/10/2016 (2 έτη): Τοποθέτηση ως ειδικευμένος ιατρός κλάδου ΕΣΥ προς εξειδίκευση στη Λοιμωξιολογία στο Γ' Παθολογικό Τμήμα του Γ.Ν. Αθηνών «ΚΟΡΓΙΑΛΕΝΕΙΟ ΜΠΕΝΑΚΕΙΟ» Ε.Ε.Σ., σύμφωνα με την υπ' αριθμ. Υ10α/55043/29-9-2014 απόφαση του Υπουργείου Υγείας.

Κατά τη διάρκεια της εξειδίκευσης επιπρόσθετη εκπαίδευση στην Κλινική Μικροβιολογία στο αντίστοιχο τμήμα του Ν.Ε.Ε.Σ. και στις Λοιμώξεις αιματολογικών και ογκολογικών ασθενών στην Αιματολογική Κλινική και στο αντίστοιχο Τμήμα Μεταμοσχεύσεων του Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών «ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ».

16/12/2016: Απόκτηση τίτλου Εξειδικεύσεως στη Λοιμωξιολογία (Λοιμωξιολόγος) κατόπιν επιτυχών εξετάσεων. (Αριθμ. Πρωτ.: Γ4β/Γ.Π. 76401. Υπουργείο Υγείας. Γενική Δ/νση Δημόσιας Υγείας/Υγείας και Υπηρεσιών Υγείας/Δ/νση Επαγγελματιών Υγείας/Τμήμα Β).

### **ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ MSc**

Φεβρουάριος 2013: Απόκτηση Μεταπτυχιακού Τίτλου Σπουδών MSc «Καρδιοαναπνευστική Αναζωογόνηση», από την Ιατρική Σχολή του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών (ΕΚΠΑ) με βαθμό ΑΡΙΣΤΑ (Αριθμ. Πρωτ. 2198/24-04-2013).

Θέμα διπλωματικής εργασίας (με αντίστοιχη ξενόγλωσση δημοσίευση σε διεθνές περιοδικό): «Η διακριτική ικανότητα της προκαλσιτονίνης και της σπλαχνικής παχυσαρκίας στην πρόβλεψη της εξέλιξης ασθενών νοσηλευόμενων σε ΜΕΘ από οξεία συστηματική φλεγμονώδη αντίδραση (SIRS) σε σήψη».

**ΥΠΟΨΗΦΙΟΣ ΔΙΔΑΚΤΩΡ**  
**PhD(c) ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ**  
**ΕΘΝΙΚΟΥ ΚΑΙ**  
**ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟΥ**  
**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ**  
**ΑΘΗΝΩΝ**

Πρωτόκολλο έρευνας διδακτορικής διατριβής με θέμα: «Σύγκριση της επίδρασης των αναστολέων της ιντεγκράσης και των αναστολέων της πρωτεάσης στη μείωση της ανοσολογικής διέγερσης και στη βακτηριακή αλλόθρεση, σε HIV(+) άτομα υπό αγωγή και που έχουν επιτύχει αριθμό CD4+>350/μL και μη ανιχνεύσιμο ιικό φορτίο για τουλάχιστον πάνω από 6 μήνες». Κρίση με βαθμό **ΆΡΙΣΤΑ** από την 7μελή Εξεταστική Επιτροπή στις 25/04/2024.

### **ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΑ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΑ**

17 Ιανουαρίου 2010:

Εκπαίδευση στην εξειδικευμένη υποστήριξη της ζωής (Advanced Cardiac Life Support, eACLS).

Ιούνιος 2010:

Εκπαίδευση στο Σεμινάριο Εκπαιδευτών στην εξειδικευμένη υποστήριξη της ζωής (Instructor's Development Course).

30 Σεπτεμβρίου 2010: Εκπαίδευση στο Σεμινάριο Ανανηπτών στη βασική υποστήριξη της ζωής και τον Εξωτερικό Απινιδισμό (BLS/AED PROVIDER COURSE).

30 Απριλίου 2012 έως και  
3 Σεπτεμβρίου 2012:

Επιτυχής παρακολούθηση του Εκπαιδευτικού Αντικειμένου με τίτλο: «ΚΑΡΔΙΟΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗ ΑΝΑΖΩΟΓΟΝΗΣΗ ΚΑΙ ΠΡΩΤΕΣ ΒΟΗΘΕΙΕΣ» που οργανώθηκε στο Κέντρο Συνεχιζόμενης Εκπαίδευσης και Επιμόρφωσης του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, στα πλαίσια του Προγράμματος Συμπληρωματικής Εκπαίδευσης με τη χρήση καινοτόμων Μεθόδων εξ Αποστάσεως Εκπαίδευσης.

Βαθμολογία στα επιμέρους μαθήματα:  
«Καρδιοπνευμονική Αναζωογόνηση»: 98%, «Πρώτες Βοήθειες»: 100%.

### **ΣΤΡΑΤΙΩΤΙΚΗ ΘΗΤΕΙΑ**

Εκπλήρωση στρατιωτικής θητείας ως οπλίτης καταδρομέας από Φεβρουάριο 2003 έως Φεβρουάριο 2004 (Ε.Λ.Δ.Υ.Κ.– ΚΥΠΡΟΣ-35<sup>η</sup> Μοίρα Καταδρομέων).

Κατά τη διάρκεια της στρατιωτικής θητείας μου συμμετοχή σε γενικές εφημερίες του Γενικού Νοσοκομείου Λευκωσίας και του Στρατιωτικού Νοσοκομείου Λευκωσίας (βάσει πτυχίου Ιατρικής και διεκπεραίωσης Υπηρεσίας Υπαίθρου προ της κατάταξής μου).

### **ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΥΠΑΙΘΡΟΥ**

Εκπλήρωση της υπηρεσίας υπαίθρου ως αγροτικός ιατρός στο Κέντρο Υγείας Καλαμπάκας του Γ.Ν. Τρικάλων από 10/12/2001 έως και 09/12/2002 (Αναγνώριση της υποχρεωτικής υπηρεσίας υπαίθρου ενός έτους σύμφωνα με την υπ' αριθ. Υ10γ/84307/25-06-2008 απόφαση του Υπουργείου Υγείας και Κοινωνικής Αλληλεγγύης).

## ΥΠΟΤΡΟΦΙΕΣ

- Υποτροφία του Ιδρύματος Κρατικών Υποτροφιών (ΙΚΥ) για τα ακαδημαϊκά έτη 1996-1997, 1998-1999, 1999-2000, 2000-2001.
- Υποτροφία από το Ίδρυμα Ηπειρωτών από το 2<sup>ο</sup> έως και το 6<sup>ο</sup> ακαδημαϊκό έτος των προπτυχιακών σπουδών.

## ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ

Αγγλικά: Άριστα

## ΓΝΩΣΗ Η/Υ

Άριστη

## ΕΡΓΑΣΙΑΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ-ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΑΚΕΣ ΘΕΣΕΙΣ

10/9/2001                      έως  
10/12/2001:                      Τρίμηνη εκπαίδευση στο Γενικό Νοσοκομείο Τρικάλων, σύμφωνα με την αριθμ. Υ10γ/30847/23-8-2001 απόφαση του Υπουργείου Υγείας.

10/12/2001    έως    και  
9/12/2002:                      Εκπλήρωση υπηρεσίας υπαίθρου ως αγροτικός ιατρός στο Κέντρο Υγείας Καλαμπάκας του Γ.Ν. Τρικάλων, σύμφωνα με την αριθμ. Υ10γ/30847/23-08-2001 απόφαση του Υπουργείου Υγείας και Πρόνοιας.

10/12/2002    έως    και  
23/12/2002:

Αγροτικός ιατρός στο Κέντρο Υγείας Καλαμπάκας του Γ.Ν. Τρικάλων με παράταση παραμονής.

19/03/2004 έως και 18/09/2008:

Έμμισθος ειδικευόμενος βοηθός Εσωτερικής Παθολογίας του Β΄ Παθολογικού Τμήματος του Γ.Ν. Πειραιά «ΤΖΑΝΕΙΟ», σύμφωνα με την υπ' αριθμ. Υ10δ/15152/24-02-2004 απόφαση του Υπουργείου Υγείας και Πρόνοιας.

14/1/2008 – 13/4/2008:

Παρακολούθηση και συμμετοχή στις εργασίες και επιστημονικές δραστηριότητες της Μονάδας Εντατικής Θεραπείας (ΜΕΘ) του Γ.Ν. Πειραιά «ΤΖΑΝΕΙΟ».

15/4/2008 -14/7/2008:

Παρακολούθηση και συμμετοχή στις εργασίες και δραστηριότητες της Καρδιολογικής Κλινικής του Γ.Ν. Πειραιά «ΤΖΑΝΕΙΟ».

9/11/2007-9/1/2008 και

15/7/2008 -14/8/2008:

Παρακολούθηση και συμμετοχή στις εργασίες και δραστηριότητες του Διαβητολογικού Κέντρου του Γ.Ν. Πειραιά «ΤΖΑΝΕΙΟ».

19/9/2008 -19/11/2008:

Ειδικευόμενος Παθολογίας στο Β΄ Παθολογικό Τμήμα του Γ.Ν. Πειραιά «ΤΖΑΝΕΙΟ» με παράταση παραμονής, σύμφωνα με το Ν.3580/07.

Νοέμβριος 2008-  
Απρίλιος 2009:

Άμισθη παρακολούθηση στις εργασίες και δραστηριότητες της Μονάδας Εντατικής Θεραπείας (ΜΕΘ) του Γ. Ν. Πειραιά «Τζάνειο».

Απρίλιος 2009-Απρίλιος 2011:

Εξειδικευόμενος στη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας (ΜΕΘ) του Γ. Ν. Πειραιά «Τζάνειο».

14/2/2011 έως και 8/11/2012:

Ανάληψη υπηρεσίας στη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας του Γ. Ν. Πειραιά «Τζάνειο» ως ιατρός του Κέντρου Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ.) με καθήκοντα Επιμελητή Β΄ (υπ' αριθ.

οικ. 20996/24-12-2012 βεβαίωση του ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ του Υπουργείου Υγείας).

<u>9/11/2012</u> <u>20/12/2012:</u>	<u>έως</u>	<u>και</u>	Ιατρός παθολόγος στο Ιατρικό Κέντρο Αθηνών (Μαρούσι).
<u>12/2/2013</u> <u>1/9/2013:</u>	<u>έως</u>	<u>και</u>	Ιατρός παθολόγος στη Γενική Κλινική Πειραιώς «Ιπποκράτης».
<u>2/9/2013</u> <u>30/10/2013:</u>	<u>έως</u>	<u>και</u>	Διορισμός σε θέση Επιμελητή Β΄ Παθολογίας-Εντατικολογίας του κλάδου ιατρών ΕΣΥ στη ΜΕΘ του Γ.Ν. Πατρών κατόπιν της υπ' αριθμ. Υ10α/ΓΠ/105278/2001/21-6-2013 απόφασης του Υπουργείου Υγείας που δημοσιεύθηκε στο ΦΕΚ 859/12-8-2013 τ. Γ.
<u>30/10/2013</u> <u>17/06/2015:</u>	<u>έως</u>	<u>και</u>	Διορισμός σε θέση Επιμελητή Β΄ Παθολογίας του κλάδου ιατρών ΕΣΥ στο Παθολογικό Τμήμα του Ψυχιατρικού Νοσοκομείου Αττικής (Ψ.Ν.Α.), σύμφωνα με την αριθμ. Υ10α/ΓΠ/83096/29-10-2013 απόφαση του Υπουργείου Υγείας που δημοσιεύθηκε στο ΦΕΚ 1214/22-10-2013 τ. Γ΄.
<u>17/06/2015</u> <u>21/04/2023:</u>	<u>έως</u>		Διορισμός σε θέση Επιμελητή Β΄ Παθολογίας του κλάδου ιατρών ΕΣΥ στο Β΄ Παθολογικό Τμήμα του Γ. Ν. Πειραιά «Τζάνειο», σύμφωνα με την υπ' αριθμ. Α2α/Γ.Π./5974/03-04-2015 απόφαση του Υπουργείου Υγείας, η οποία δημοσιεύθηκε στο υπ' αριθμ. 481/27-05-2015 ΦΕΚ τ. Γ΄.  Από 16/12/2016, εξέλιξη στο βαθμό του Επιμελητή Α΄ ΕΣΥ Παθολογίας-Εντατικολογίας-Λοιμωξιολογίας του κλάδου ιατρών ΕΣΥ στο Β΄ Παθολογικό Τμήμα του Γ.Ν. Πειραιά «ΤΖΑΝΕΙΟ», σύμφωνα με την υπ' αριθμ. πρωτ. Α2α/Γ.Π.90777 απόφαση του Υπουργείου Υγείας.

- 13/10/2014 έως και  
12/10/2016: Εξειδικευόμενος Λοιμωξιολογίας για 2 έτη (ως ειδικευμένος ιατρός κλάδου ΕΣΥ) στο Γ΄ Παθολογικό Τμήμα του Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών «ΚΟΡΓΙΑΛΕΝΕΙΟ-ΜΠΕΝΑΚΕΙΟ» Ε.Ε.Σ.
- 19/12/2016: Ένταξη στην Επιτροπή Νοσοκομειακών Λοιμώξεων του Γ.Ν. Πειραιά «Τζάνειο» και Έγκριση Συνταγογράφησης Προωθημένων Αντιβιοτικών.
- Μάρτιος 2017: Έναρξη λειτουργίας τακτικού εξωτερικού Ιατρείου Ηπατιτίδων.
- 19/03/2004 έως και  
σήμερα: Ενεργός συμμετοχή στην εκπαίδευση των 4ετών, 5ετών και δετών φοιτητών της Α΄ Προπαιδευτικής Κλινικής και της Γ΄ Πανεπιστημιακής Παθολογικής Κλινικής της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.
- 02/09/2013 έως και  
σήμερα: Ενεργός συμμετοχή στην εκπαίδευση των ειδικευόμενων ιατρών του εκάστοτε τμήματος που υπηρετήσα.
- 13/04/2020 έως  
21/04/2023: Μετακίνηση με την υπ΄ αριθμ. πρωτ. Γ4α/οικ.21740/31-03-2020 απόφαση του Γεν. Γραμματέα Υπηρεσιών Υγείας του Υπουργείου Υγείας στο Τμήμα Λοιμώξεων Β΄ της Γ΄ Πανεπιστημιακής Παθολογικής Κλινικής του Γ.Ν.Ν.Θ.Α. «Η ΣΩΤΗΡΙΑ», με σκοπό την κάλυψη έκτακτων υπηρεσιακών αναγκών στο πλαίσιο προστασίας της δημόσιας υγείας από τη διάδοση του κορωνοϊού ( SARS CoV2/νόσου COVID19).



Ενεργός συμμετοχή στην εκπαίδευση των τριτοετών, τεταρτοετών και των τελειόφοιτων φοιτητών της Γ΄ Πανεπιστημιακής Παθολογικής Κλινικής της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών (13-04-2020 έως και σήμερα).

#### **ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΕΡΓΟ ΚΑΙ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ**

##### **ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ-ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ**

35 δημοσιεύσεις σε διεθνή συνέδρια και διεθνή ιατρικά περιοδικά (13).

35 δημοσιεύσεις σε Ελληνικά Πανελλήνια Συνέδρια.

##### **ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΑ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΑ**

Συνερευνητής σε 21.

##### **ΣΥΓΓΡΑΦΗ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΙΑΤΡΙΚΑ ΣΥΓΓΡΑΜΑΤΑ-ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ**

Σε 7.

##### **ΟΜΙΛΗΤΗΣ ΣΕ ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ**

Σε 61.

##### **ΠΡΟΕΔΡΕΙΟ ΣΕ ΔΙΑΛΕΞΕΙΣ-ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ**

Σε 15.

##### **ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΣΥΝΕΔΡΙΩΝ**

207 εκ των οποίων 30 διεθνή συνέδρια.

## ΠΕΡΙΟΧΟΜΕΝΑ

1. Πρόλογος-Ευχαριστίες.....	20
1.1 Περίληψη.....	22
1.2 ABSTRACT.....	24
1.3 Abbreviations.....	24

## I. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ-ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΣΥΓΧΡΟΝΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ

2.1 Ταξινόμηση και προέλευση του ιού της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV/Human Immunodeficiency Virus).....	26
2.2 Μοριακή βιολογία του ιού της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV/Human Immunodeficiency Virus).....	27
2.2.1 Δομή, οργάνωση του ιικού γονιδιώματος και μοριακή δομή του HIV ιικού σωματίου (virion). ....	27
2.2.2 Συνοπτική περιγραφή των παραγόμενων πρωτεϊνών του HIV-1. ....	29
2.2.3 Κύκλος αναπαραγωγής (replication) του ιού HIV .....	30
2.2.4 Περιοριστικοί κυτταρικοί μηχανισμοί έναντι της HIV λοίμωξης.....	33
3.1 Ανοσολογία της λοίμωξης που προκαλείται από τον ιό της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (Human Immunodeficiency Virus/HIV).....	35
3.1.1 Ανοσολογία της εισόδου και της διασποράς του HIV στα κύτταρα του ξενιστή.....	35
3.1.2 Ειδική ανοσοαπόκριση στην HIV λοίμωξη.....	37
3.1.2.A Χυμική ανοσοαπόκριση κατά του ιού HIV.....	37
3.1.2.B Κυτταρική ανοσοαπόκριση κατά του ιού HIV.....	38
3.1.2.Γ Δεξαμενές (reservoirs) στην HIV λοίμωξη.....	40
3.1.2.Δ Δυσλειτουργία του ανοσολογικού συστήματος (φυσικής και ειδικής ανοσίας) προκαλούμενη από την HIV λοίμωξη.....	41
3.1.2.Ε Σύνοψη αρχών δράσεων σύγχρονης cART.....	43
4. Εντερικός επιθηλιακός/βλεννογόσιος φραγμός.....	44

## II. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

5. Ερευνητική προσέγγιση του θέματος.....	53
5.1 Ορισμός του ερευνητικού προβληματισμού.....	53
5.2.1 Χρόνια ανοσολογική ενεργοποίηση σε PLWH που λαμβάνουν cART.....	55
5.2.2 Ελλιπής ανοσολογική ανασυγκρότηση παρά τη χορήγηση δραστικής cART.....	56
5.2.3 Βιοδείκτες μικροβιακής εντερικής αλλόθεσης (Markers of Intestinal Microbial Translocation) .....	57
5.2.4 Διαλυτοί βιοδείκτες ενεργοποίησης της ανοσιακής απόκρισης του ξενιστή.....	59
5.3 Ασθενείς και μέθοδοι.....	65
5.4 Μέθοδοι προσδιορισμού των μετρούμενων βιοδεικτών πλάσματος.....	67
5.5 Εξαγόμενα αποτελέσματα/εκβάσεις της μελέτης.....	68
5.6 Στατιστική ανάλυση.....	69
5.7 Αποτελέσματα.....	69
5.7.1 Αρχικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων (PLWH) που συλλέχθηκαν από τα ιατρικά τους αρχεία (κατά τη διάρκεια της επίσκεψης ένταξης).....	69
5.7.2 Πρωτογενής ανάλυση/αποτελέσματα ενδιαφέροντος.....	72
6. Δευτερογενείς αναλύσεις.....	75
6.1 Σύγκριση των υπόλοιπων ανοσολογικών παραμέτρων κατά τη διάρκεια της επίσκεψης ένταξης.....	75
6.2 Σύγκριση των μεταβολικών παραμέτρων κατά τη διάρκεια της επίσκεψης ένταξης.....	76
6.3 Σύγκριση διαχρονικών (longitudinal) εργαστηριακών ανοσολογικών παραμέτρων.....	76
6.4 Σύγκριση διαχρονικών (longitudinal) εργαστηριακών μεταβολικών παραμέτρων.....	76
7. Συμπεράσματα-Συζήτηση-Σύνοψη-Περιορισμοί της μελέτης.....	79
8. Βιβλιογραφικές αναφορές.....	85

## 1. ΠΡΟΛΟΓΟΣ–ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα Διδακτορική Διατριβή βασίστηκε στη βασική παραδοχή ότι η λοίμωξη από τον ιό της επίκτητης ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (Human Immunodeficiency Virus/HIV) με την έλευση της σύγχρονης συνδυαστικής αντιρετροϊκής αγωγής (Highly Active Antiretroviral Therapy/HAART/Combined Antiretroviral Therapy/cART) έχει πλέον ξεκάθαρα μετατραπεί σε μία χρόνια νοσολογική οντότητα, αυξάνοντας θεαματικά το προσδόκιμο επιβίωσης των ατόμων που διαβιούν με HIV λοίμωξη (PLWH). Η αντικειμενικά παρατηρούμενη αύξηση του προσδόκιμου της επιβίωσης των PLWH, που τουλάχιστον έχουν απρόσκοπτη και χωρίς περιορισμούς λήψη της cART, συνοδεύεται με τη στατιστικά σημαντική αύξηση των μη άμεσων (σε πρώτη τουλάχιστον ανάγνωση) με τον HIV καρδιομεταβολικών, οστικών, νεφρικών, ηπατικών, νεοπλασματικών και νευρογνωστικών εκδηλώσεων σε σύγκριση πάντα με τον αντίστοιχο ηλικιακά πληθυσμό των οροαρνητικών ατόμων (Severe Non AIDS Events/SNAEs/Μη σχετιζόμενα άμεσα με τον HIV σοβαρά νοσολογικά συμβάματα).

Καθίσταται πλέον σαφές ότι παρόλο που υπάρχει εντυπωσιακή θεραπευτική ανταπόκριση με τη χορήγηση της cART όσον αφορά στη μη ανίχνευση ιικού HIV φορτίου στο περιφερικό πλάσμα με τις πλέον πιο σύγχρονες μοριακές μεθόδους προσδιορισμού και ανοσολογική ανασυγκρότηση (immune reconstitution), αριθμητικά τουλάχιστον αλλά και ποιοτικά εν μέρει, των CD4+ βοηθητικών και μνημονικών λεμφοκυττάρων, η χρόνια ανοσολογική ενεργοποίηση (chronic immune activation) και η βακτηριακή αλλόθεση (bacterial translocation) ποτέ δεν αμβλύνονται πλήρως, έτσι ώστε αμείλικτα να συνεχίζει να λαμβάνει χώρα το επιβλαβές φαινόμενο της ανοσογήρανσης (inflammaging/immunosenescent), που σχετίζεται άμεσα με την επίπτωση των SNAEs. Οι υποκείμενοι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί αποτελούν αντικείμενο διερεύνησης της παρούσας Διδακτορικής Διατριβής, υπό το πρίσμα της χορηγούμενης cART, που εμπεριέχει πλέον του διπλού συνδυασμού των νουκλεοσιδικών/νουκλεοτιδικών αναστολέων της αντίστροφης μεταγραφάσης (κορμός αγωγής/backbone), τον αποτελεσματικό συνδυασμό τους είτε με αναστολέα πρωτεάσης/φαρμακοενισχυμένο είτε με αναστολέα ιντεγκράσης/ενσωματάσης.

Η επί μακρόν και καθημερινή μου ενασχόληση με την παροχή ιατρικών υπηρεσιών στα PLWH με οδήγησε αρχικά από τον κλινικό προβληματισμό ότι παρόλο που ιολογικά στην πλειοψηφία των περιπτώσεων τα αποτελέσματα ήταν άριστα (ιολογικά κατεσταλμένοι και ικανοποιητικός απόλυτος αριθμός CD4+ λεμφοκυττάρων), η επίπτωση των καρδιομεταβολικών νοσημάτων, όπως αρτηριακή υπέρταση, δυσλιπιδαιμία, προδιαβήτης/ινσουλινοαντίσταση/σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2, σπλαχνική κοιλιακή παχυσαρκία, στεφανιαία νόσος, αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια, Metabolic Dysfunction Associated Liver Disease/MASLD/πρώην οριζόμενο λιπώδες ήπαρ/Metabolic Dysfunction-Associated Steatohepatitis/MASH/πρώην οριζόμενη μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα, οστική μεταβολική νόσος (οστεοπενία/οστεοπόρωση) και νεοπλασίες που δεν σχετίζονται ευθέως με τον ιό HIV

αποτελούσαν βασικές συννοσηρότητες που έπρεπε να παρεμβαίνω με επιθετική, πολλές φορές, χορηγούμενη θεραπευτική αγωγή.

Η πρώτη κλινική μου εξήγηση αποδόθηκε αρχικά ότι για τα ανωτέρω ευθύνεται το γεγονός ότι τα οροθετικά άτομα γηράσκουν και αυτά όπως ο γενικός πληθυσμός λόγω της αποτελεσματικής λήψης cART, αλλά η ανασκόπηση της σχετικής βιβλιογραφίας ανέδειξε ότι η επίπτωση αυτών των νοσολογικών καταστάσεων παραμένει υψηλότερη συγκριτικά με τα οροαρνητικά άτομα της αντίστοιχης ηλικιακής ομάδας. Η επόμενη σκέψη μου ήταν κατά πόσο οι αναστολείς της πρωτεάσης/φαρμακοενισχυμένοι ή οι αναστολείς της ιντεγκράσης θα μπορούσαν να επιδρούν με διαφορετικό τρόπο στον κλινικό φαινότυπο των ανωτέρω νοσολογικών καταστάσεων.

Σε αυτό το σημείο θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές και ειλικρινείς ευχαριστίες μου στον Ομότιμο Αξίτιμο Καθηγητή Παθολογίας κ. **ΓΕΩΡΓΙΟ ΔΑΪΚΟ** της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, στην κ. **ΜΗΝΑ ΨΥΧΟΓΥΙΟΥ (ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΤΗΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ ΜΟΥ)**, Καθηγήτρια Παθολογίας–Λοιμώξεων, της Α΄ Πανεπιστημιακής Παθολογικής Κλινικής, της Ιατρικής Σχολής, του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, που με περίσσεια υπομονή και ενθάρρυνση με καθοδήγησε στη συστηματική ανασκόπηση της σχετικής βιβλιογραφίας, έτσι ώστε να λάβει «σάρκα και οστά» το συγκεκριμένο ερευνητικό πρωτόκολλο. Οι συμβουλές της ήταν κάτι περισσότερο από πολύτιμες και διδακτικές σε συνδυασμό με την αντίστοιχη πάντα έμπρακτη υποστήριξή της «επί του πεδίου» σε κάθε είδους εμπόδιο που αντιμετώπισα. Βέβαια θα ήταν σοβαρή παράλειψή μου να μην εκφράσω τις αντίστοιχες ευχαριστίες και στον κ. **ΜΙΧΑΗΛ ΣΑΜΑΡΚΟ**, Καθηγητή Παθολογίας–Λοιμώξεων, της Α΄ Πανεπιστημιακής Παθολογικής Κλινικής, της Ιατρικής Σχολής, του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Σε ανθρώπινο επίπεδο θα ήταν αδύνατο να μην ευχαριστήσω τους ανωτέρω Καθηγητές, γιατί ενώ υπηρετούσα σε Νοσοκομείο Αναφοράς (Γ.Ν.Ν.Θ.Α. ΣΩΤΗΡΙΑ) για τη νόσο COVID19 καθόλη τη διάρκεια της πανδημίας και πράγματι η ψυχολογική και σωματική πίεση ήταν κοπιώδης, πάντα με στηρίζανε προκειμένου να καταφέρω να ολοκληρώσω μεθοδικά την επιστημονική μου έρευνα. Η συμπαράστασή τους ήταν κάτι παραπάνω από υποδειγματική και είμαι πραγματικά ευγνώμων για αυτό.

Τίποτα από τα ανωτέρω δεν θα τελεσφορούσε αν δεν είχα και την αμέριστη στήριξη της συζύγου μου, Αλεξίας Παπαλεξάνδρου, ιατρού Νεφρολόγου, που με ανιδιοτέλεια και αγάπη στήριξε τόσο εμένα όσο και τα δύο παιδιά μας, στα οποία οφείλω συγγνώμη για το αν κάποιες φορές δεν κατάφερα να είμαι ολοκληρωτικά δίπλα τους. Σε προσωπικό επίπεδο πολλά της οφείλω γιατί η συμβολή της στη συναισθηματική διαχείριση της απώλειας του αείμνηστου πατρός μου, Νικόλαου Νιτσοτόλη, το Δεκέμβριο του 2019, ήταν ανεκτίμητη και με απέτρεψε από το να παραιτηθώ των προσπαθειών μου για την ολοκλήρωση της Διδακτορικής Διατριβής μου.

Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στην κ. Ελένη Καλαμπόκα, που υπηρετεί στο Τμήμα Κλινικής Βιοχημείας του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου

Αθηνών "ΑΤΤΙΚΟΝ", της Ιατρικής Σχολής του ΕΚΠΑ, για την υποδειγματική συνεργασία μας και τις υποδείξεις της όσον αφορά τη μέτρηση και τον προσδιορισμό των βιοδεικτών του ερευνητικού πρωτοκόλλου.

Αντίστοιχες θερμές και εγκάρδιες ευχαριστίες αποδίδω και στον ιατρό κ. Κωνσταντίνο Κυριακούλη για την ουσιαστική του συμβολή στην ορθή στατιστική ανάλυση των δεδομένων του εν λόγω ερευνητικού πρωτοκόλλου. Επίσης αντίστοιχες ευχαριστίες αποδίδω και στον Επιμελητή Α΄ Παθολογίας-Λοιμωξιολογίας κ. Δημήτριο Μπασούλη, της Α΄ Πανεπιστημιακής Παθολογικής Κλινικής του ΓΝΑ "ΛΑΪΚΟ" της Ιατρικής Σχολής του ΕΚΠΑ για τις συμβουλές του στη στατιστική ανάλυση των δεδομένων της μελέτης.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες οφείλω και στον Καθηγητή Παθολογίας της Γ΄ Πανεπιστημιακής Παθολογικής ΕΚΠΑ, Γ.Ν.Ν.Θ.Α. ΣΩΤΗΡΙΑ, κ. Αναστάσιο Κόλλια, που μου στάθηκε στο μέγιστο βαθμό της εφαρμογής της τακτικής του να συνδυάζω τις αυξημένες κλινικές υποχρεώσεις μου με το αντίστοιχο ερευνητικό έργο. Τον ευχαριστώ από καρδιάς.

Στο σημείο αυτό δεν θα ήθελα να παραλείψω την βοήθεια της Αναπληρώτριας Καθηγήτριας Παθολογίας-Λοιμώξεων κ. Γαρυφαλλιάς Πουλάκου της Γ΄ Πανεπιστημιακής Παθολογικής ΕΚΠΑ, Γ.Ν.Ν.Θ.Α. ΣΩΤΗΡΙΑ, για τις ουσιαστικές επιστημονικές της συμβουλές και τη στήριξη μου σε προσωπικό επίπεδο, αφού με αποδέχθηκε στην επιστημονική ομάδα εργασίας κατά τη διάρκεια της πανδημίας της νόσου COVID19, όπου μαζί δώσαμε πολλές καθημερινές «μάχες». Την ευχαριστώ από καρδιάς.

Τέλος, το μεγαλύτερο ευχαριστώ το οφείλω στον αείμνηστο πατέρα μου, Νικόλαο Θ. Νιτσοτόλη, που με τόση αγάπη με μεγάλωσε και μου μεταλαμπάδευσε τον διαρκή και καθημερινό αγώνα για την ανιδιοτελή προσφορά και βοήθεια στους συνανθρώπους μου.

## 1.1 ΠΕΡΙΛΗΨΗ

**Εισαγωγή:** Η σύγχρονη χορήγηση της συνδυασμένης αντιρετροϊκής θεραπείας (cART) έχει οδηγήσει σε θεαματική βελτίωση του προσδόκιμου επιβίωσης των ατόμων που διαβιούν με HIV (PLWH). Ωστόσο, έχει παρατηρηθεί αύξηση των καρδιομεταβολικών, οστικών, νεφρικών, ηπατικών και νευρογνωστικών διαταραχών, καθώς και των νεοπλασιών, γνωστών ως σοβαρών νοσολογικών οντοτήτων που δε σχετίζονται, άμεσα τουλάχιστον, με το σύνδρομο ανάπτυξης AIDS/ serious non-AIDS events/SNAEs, σε σύγκριση

με το γενικό πληθυσμό της αντίστοιχης ηλικίας. Αυτή η αύξηση συνδέεται με ένα επιβλαβές φαινόμενο που ονομάζεται ανοσογήρανση (inflammaging/immunosenescence), το οποίο επάγεται από τη χρόνια, απρόσφορη ανοσολογική ενεργοποίηση και την εντερική βακτηριακή αλλόθεση. Σε αυτή τη μελέτη, εξετάσαμε ανοσολογικές και μεταβολικές παραμέτρους σε άτομα που λάμβαναν σύγχρονη cART.

**Υλικά και Μέθοδοι:** Η μελέτη διεξήχθη στη Μονάδα Λοιμώξεων της Α΄ Πανεπιστημιακής Παθολογικής Κλινικής, στο Λαϊκό Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών. Οι συγκεντρώσεις στο πλάσμα των sCD14, IL-6, SuPAR, I-FABP και LBP προσδιορίστηκαν σε PLWH υπό cART, τα οποία ευρίσκονταν σε πλήρη ιολογική καταστολή και είχαν απόλυτο αριθμό CD4+ λεμφοκυττάρων >350/μL, για τουλάχιστον πάνω από 6 μήνες. Συγκρίναμε τα επίπεδα των ανωτέρω βιοδεικτών μεταξύ PLWH που ελάμβαναν αναστολείς ιντεγκράσης/ενσωματάσης (INSTIs/Integrase Strand Transfer Inhibitors) και αναστολέων πρωτεάσης (PIs/Protease Inhibitors) και διερευνήθηκε τυχόν πιθανή συσχέτισή τους με τη χρόνια ανοσολογική ενεργοποίηση και με τις μεταβολικές παραμέτρους.

**Αποτελέσματα:** Αναλύθηκαν δεδομένα από 28 PLWH, με μέση ηλικία 52 ετών, εκ των οποίων το 93% ήταν άνδρες. Μεταξύ των δύο ομάδων σύγκρισης, τα επίπεδα της IL-6 ήταν υψηλότερα στην ομάδα που ελάμβαναν PIs (5,65 έναντι 7,11 pg/mL,  $p = 0,03$ ). Δεν ανευρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις άλλες μετρούμενες παραμέτρους. Ένα μεγαλύτερο ποσοστό PLWH που ελάμβανε INSTIs είχε επίπεδα LBP εντός φυσιολογικού εύρους (33% έναντι 0%,  $p = 0,04$ ). Όταν χρησιμοποιήθηκε η μεθοδολογία αντίστροφης πιθανότητας στάθμισης θεραπείας, δεν ανευρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις μετρούμενες παραμέτρους μεταξύ των δύο ομάδων (sCD14  $p = 0,511$ , IL-6  $p = 0,383$ , SuPAR  $p = 0,793$ , I-FABP  $p = 0,868$  και LBP  $p = 0,663$ ). Τα επίπεδα γλυκόζης βρέθηκαν να αυξάνονται μετά από την επιτυχή ιογενή καταστολή σε ολόκληρο το δείγμα συμμετεχόντων (92 mg/dL έναντι 98 mg/dL,  $p = 0,009$ ). Τα επίπεδα ολικής (191 mg/dL έναντι 222 mg/dL,  $p = 0,005$ ) και LDL χοληστερόλης (104 mg/dL έναντι 140 mg/dL,  $p = 0,002$ ) ήταν υψηλότερα στην ομάδα των PLWH που ελάμβαναν PIs. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στους δείκτες ηπατικής και νεφρικής λειτουργίας.

**Συμπεράσματα:** Απαιτείται περαιτέρω έρευνα στα PLWH που λαμβάνουν INSTIs παράγοντες στη χορηγούμενη cART για να διερευνηθούν τυχόν πιθανές μειώσεις στη χρόνια ανοσολογική ενεργοποίηση και την εντερική βακτηριακή αλλόθεση.

## 1.2 ABSTRACT

**Background and Objectives:** The success of combined antiretroviral therapy (cART) has led to a dramatic improvement in the life expectancy of people living with HIV (PLWH). However, there has been an observed increase in cardiometabolic, bone, renal, hepatic, and neurocognitive manifestations, as well as neoplasms, known as serious non-AIDS events/SNAEs, compared to the general population of corresponding age. This increase is linked to a harmful phenomenon called inflammaging/immunosenescence, which is driven by chronic immune activation and intestinal bacterial translocation. In this study, we examined immunological and metabolic parameters in individuals receiving current cART.

**Materials and Methods:** The study was conducted at Laiko General Hospital in Athens, Greece. Plasma concentrations of sCD14, IL-6, SuPAR, I-FABP, and LBP were measured in virally suppressed PLWH under cART with at least 350 CD4+ lymphocytes/ $\mu$ L. We compared these levels between PLWH receiving integrase strand transfer inhibitors (INSTIs) and protease inhibitors (PIs) and attempted to correlate them with chronic immune activation and metabolic parameters.

**Results:** Data from 28 PLWH were analyzed, with a mean age of 52 and 93% being males. Among the two comparison groups, IL-6 levels were higher in the PIs group (5.65 vs. 7.11 pg/mL,  $p = 0.03$ ). No statistically significant differences were found in the other measured parameters. A greater proportion of PLWH under INSTIs had normal-range LBP (33% vs. 0%,  $p = 0.04$ ). When using inverse probability of treatment weighting, no statistically significant differences in the measured parameters were found between the two groups (sCD14  $p = 0.511$ , IL-6  $p = 0.383$ , SuPAR  $p = 0.793$ , I-FABP  $p = 0.868$ , and LBP  $p = 0.663$ ). Glucose levels were found to increase after viral suppression in the entire sample (92 mg/dL vs. 98 mg/dL,  $p = 0.009$ ). Total (191 mg/dL vs. 222 mg/dL,  $p = 0.005$ ) and LDL cholesterol (104 mg/dL vs. 140 mg/dL,  $p = 0.002$ ) levels were higher in the PIs group. No significant differences were observed in liver and renal function tests.

**Conclusions:** Further investigation is warranted for PLWH on cART-containing INSTIs regimens to explore potential reductions in chronic immune activation and intestinal bacterial translocation.

**Keywords:** chronic immune activation; IL-6; intestinal bacterial translocation; I-FABP; INSTIs; PIs/boosted; LBP; sCD14; SNAEs; SuPAR

## 1.3 Abbreviations

HIV	Human Immunodeficiency Virus
cART	combined Antiretroviral Treatment



I-FABP	Intestinal Fatty-Acid Binding Protein
IL-6	Interleukin-6
INSTIs	Integrase Strand Transfer Inhibitors
LBP	Lipopolysaccharide-Binding Protein
PIs-boosted	Protease Inhibitors-boosted
sCD14	soluble CD14
SuPAR	Soluble urokinase Plasminogen Activator Receptor
SNAEs	Severe Non-AIDS Events
MASLD	Metabolic Dysfunction Associated Liver Disease
MASH	Metabolic Dysfunction-Associated Steatohepatitis
eGFR	estimated Glomerular Filtration Rate
BMI	Body Mass Index
STIs	Sexually Transmitted Infections
PLWH	People Living With HIV Infection
IPTW	Inverse Probability Treatment Weighting

## I. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### 2.1 Ταξινόμηση και προέλευση του ιού της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV-Human Immunodeficiency Virus).

Ο ιός της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV) ανήκει στο γένος των *Lentivirus* της οικογένειας των Ρετροϊών (*Retroviridae*) και προκαλεί το σύνδρομο της επίκτητης ανοσολογικής ανεπάρκειας (AIDS/Acquired Immunodeficiency Syndrome)<sup>1,2,3</sup>. Βασικό μοριακό βιολογικό χαρακτηριστικό του αποτελεί η ύπαρξη του ενζύμου αντίστροφη μεταγραφάση (RT/Reverse Transcriptase), η οποία καταλύει το σχηματισμό δεοξυριβονουκλεϊκού οξέος (DNA/Deoxyribonucleic acid) από τη μητρική μονή αλυσίδα ριβονουκλεϊκού οξέος (RNA/Ribonucleic acid)<sup>4</sup>. Το προκύπτων δίκλωνο DNA (προϊός) ενσωματώνεται εν συνεχεία στο γονιδίωμα (DNA) των κυττάρων στόχων του προσβεβλημένου ξενιστή<sup>4</sup>. Οι λοιμώξεις που προκαλούνται από το γένος των *Lentivirus* χαρακτηρίζονται από μία χρόνια λανθάνουσα κλινική πορεία πριν την εμφάνιση της μη αναστρέψιμης και εν συνόλω κατάρρευσης/εξάντλησης (exhaustion) της κυτταρικής και χυμικής ανοσίας του ξενιστή<sup>5</sup>.

Ο ιός HIV υποδιαιρείται σε δύο είδη (species), στον HIV-1 και στον HIV-2 με σημαντικές ομοιότητες αλλά και διακριτές διαφορές στα αντίστοιχα γονιδιώματά τους<sup>2</sup>. Ο ιός HIV-2 εμφανίζει χαρακτηριστική γεωγραφική κατανομή και ενδημικότητα που περιορίζεται σε μεγάλο βαθμό στη Δυτική Αφρική<sup>2</sup>.

Επί του παρόντος, έχουν καταγραφεί τέσσερις ξεχωριστές ομάδες: μία μεγάλη που ανιχνεύεται παγκόσμια (M, περιγράφει την "κύρια"), μια σχετικά μικρή ομάδα στην κεντρική Αφρική (O, αναφέρεται στην "άλλη"), και δύο μικρές ομάδες σε άτομα με Δυτικό-Αφρικανική καταγωγή, που υποδηλώνονται ως N και P αντίστοιχα<sup>6</sup>.

Οι ιοί HIV-1 της κύριας ομάδας M εμφανίζουν στενή γενετική συσχέτιση με τον SIV που επικρατεί σε είδη χιμπατζήδων (αναφέρεται ως ιός ανοσοανεπάρκειας SIVcrp, crp, για να υποδείξει τη συγκεκριμένη ζωική δεξαμενή)<sup>6</sup>. Η ομάδα O του HIV-1 συνδέεται στενότερα με τον SIV που υπάρχει στους γορίλλες (που διαβιούν σε δυτικές πεδινές περιοχές της Αφρικής) και στους χιμπατζήδες<sup>6</sup>. Αντίθετα, ο HIV-2 σχετίζεται σε μεγάλο βαθμό με το SIVsmm, που ανευρίσκεται στους πιθήκους του είδους *sooty mangabeys*, οι οποίοι διαβιούν κυρίως στη Δυτική και Κεντρική Αφρική<sup>6</sup>. Οι ιοί της ομάδας M αντιπροσωπεύουν την μεγάλη πλειοψηφία των προκαλούμενων λοιμώξεων στον άνθρωπο, με τουλάχιστον εννέα υποτύπους, που ονοματίζονται με τα αρχικά της Αγγλικής Αλφαβήτου ως: A έως D, F έως H, J, και K<sup>6</sup>.

Μπορεί να επισυμβεί γενετικός ανασυνδυασμός (Recombination) μεταξύ αυτών των υποτύπων (επί παραδείγματι, A/D), αποδίδοντας στο περιφερικό πλάσμα νέους ανασυνδυασμένους ιούς που ταξινομούνται ως κυκλοφορούντες ανασυνδυασμένοι ιοί (CRF/Circulating Recombinant Forms)<sup>6</sup>. Γενετικές και γονιδιακές αναλύσεις εντόπισαν την διαδρομή της HIV επιδημίας από την Αφρική στις ΗΠΑ μέσω της Αϊτής

και τις πρώιμες επεκτάσεις σε μεγάλα μητροπολιτικά αστικά κέντρα, με τη Νέα Υόρκη ως κρίσιμο συνδετικό κρίκο της μετέπειτα εκρηκτικής παγκόσμιας εξάπλωσής της<sup>6</sup>.

## 2.2 Μοριακή βιολογία του ιού της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV/Human Immunodeficiency Virus).

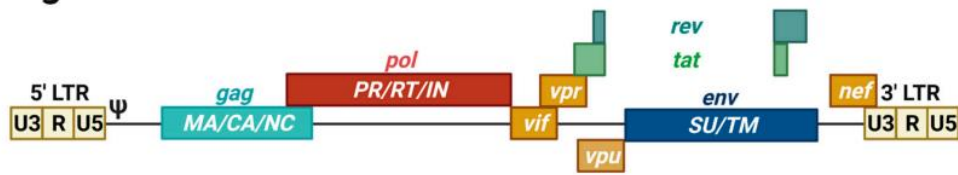
### 2.2.1 Δομή, οργάνωση του ιικού γονιδιώματος και μοριακή δομή του HIV ιικού σωματίου (virion) (Εικόνα 1).

Ο ιός HIV, αρχικά, μετά τη δέσμευση (attachment), σύντηξη (fusion) και την είσοδό του στο κύτταρο στόχο, λαμβάνει τη μορφή ενός ενδιάμεσου δίκλωνου μορίου DNA (dsDNA)<sup>7</sup>. Το ώριμο-μολυσματικό ιικό σωματίο (virion) περιέχει δύο αντίγραφα θετικής φοράς (+ sense) μονόκλωνου (single-stranded) RNA (οριζόμενο ως ιικό ριβονουκλεϊκό οξύ RNA), ενώ το μολυσμένο κύτταρο στόχος του ξενιστή περιέχει το διπλής έλικας ιικό DNA ενσωματωμένο στο γονιδιώμα του (οριζόμενο ως προ-ιός/προϊός)<sup>7</sup>. Σε κάθε άκρο του γονιδιώματος ευρίσκονται οι μη μεταφραζόμενες περιοχές που περιέχουν μια σύντομη επανάληψη νουκλεοτιδικών βάσεων καθώς και μοναδικές ακολουθίες στις περιοχές 5' (U5) και 3' (U3) που αντιγράφονται κατά την διαδικασία αναπαραγωγής (replication) του ιού, δημιουργώντας μια ακολουθία που ονομάζεται περιοχή μακράς επανάληψης (LTR/Long Terminal Repeat) σε κάθε άκρο του προ-ιού (Εικόνα 1)<sup>7</sup>.

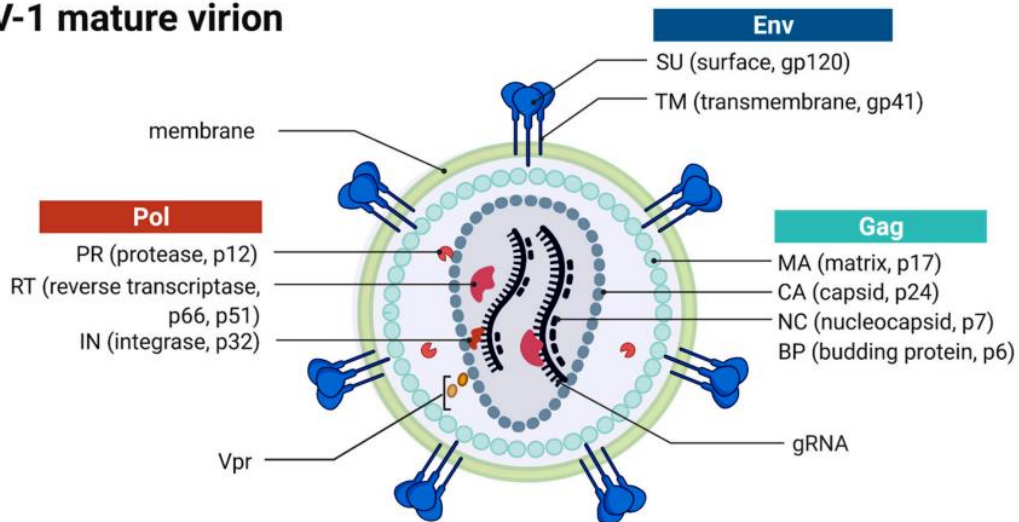
Το γονιδίωμα του HIV (δίκλωνο DNA/προ-ιός) κωδικοποιεί εννέα γονίδια των οποίων τα πρωτεϊνικά προϊόντα απαιτούνται για δομικές, ενζυματικές, ρυθμιστικές λειτουργίες του ίδιου του ιού καθώς και για την ανάπτυξη μηχανισμών διαφυγής του (evasion) από την φυσική ανοσία του ξενιστή (innate immunity) τόσο την ενδοκυττάρια και κυτταροπλασματική όσο και την εξωκυττάρια<sup>7,8</sup> (Εικόνα 1). Ο HIV-1 έχει 3 βασικά γονίδια που κωδικοποιούν τις δομικές πρωτεΐνες του ιού: το γονίδιο *gag* κωδικοποιεί τις πρωτεΐνες (p24, p7, p6) που σχηματίζουν τον πυρήνα (core/p24) και την έξωθεν αυτού μήτρα (matrix/p17)<sup>7,8</sup>. Το γονίδιο *pol* κωδικοποιεί τα ένζυμα που είναι υπεύθυνα για τον ιικό πολλαπλασιασμό (replication) όπως την πρωτεάση, την αντίστροφη μεταγραφάση και την ενσωμάτωση/ιντεγκράση, ενώ το γονίδιο *env* κωδικοποιεί τις γλυκοπρωτεΐνες του ιικού φακέλου/περιβλήματος (gp120/gp41)<sup>7,8</sup> (Εικόνα 1). Ο HIV-1 περιέχει επιπλέον 2 ρυθμιστικά (regulatory) (*tat*, *rev*) και 4 επικουρικά (accessory) γονίδια (*nef*, *vif*, *vpr* και *vpru*), τα οποία κωδικοποιούν τις εμπλεκόμενες πρωτεΐνες στην τροποποίηση των ενδοκυττάρων μηχανισμών του ξενιστή και τη ρύθμιση της έκφρασης των ιικών γονιδίων<sup>7,8</sup> (Εικόνα 1).

Βασική διαφορά μεταξύ του γονιδιώματος του HIV-1 και του HIV-2 αποτελεί το γεγονός ότι ο HIV-2 στερείται του γονιδίου *vpru* και φέρει ένα γονίδιο *vpx* που δεν εμπεριέχεται στον HIV-1<sup>7,8</sup>.

## HIV-1 genome



## HIV-1 mature virion



**Εικόνα 1: HIV-1 γονιδίωμα και δομή ιικού σωματίου (virion). (Κορυφή)** Σχηματική επισκόπηση της οργάνωσης του γονιδιώματος του HIV-1 που περιλαμβάνει τα ανοικτά πλαίσια ανάγνωσης (open reading frames/ORF) που κωδικοποιούν τις διάφορες δομικές, ρυθμιστικές και επικουρικές πρωτεΐνες. Το δύο μονόκλινα γραμμικά γονιδιωματικά RNA έχουν μήκος ~9 kb και πλαισιώνεται έκαστο από τις 5' και 3' τελικές μακρές επαναλήψεις (long terminal repeats/LTRs) που περιέχουν τον ιικό υποκινητή και τις αλληλουχίες που απαιτούνται για την αντίστροφη μεταγραφή, ενσωμάτωση και γονιδιακή έκφραση. Οι LTRs διακρίνονται σε cis-acting ρυθμιστικά στοιχεία, δηλαδή στις περιοχές U3, R και U5 ακολουθούμενες από το σήμα συσκευασίας (packaging signal) Psi (Ψ). Το γονίδιο *Gag* κωδικοποιεί τις δομικές πρωτεΐνες όπως της μήτρας έξωθεν του πυρηνικού καψιδίου (Matrix/MA), του πυρηνικού καψιδίου (CA) και του νουκλεοκαψιδίου (NC) που σχηματίζουν εν συνόλω τον ιικό πυρήνα. Το γονίδιο *Pol* κωδικοποιεί τα ιικά ένζυμα πρωτεάση (PR), αντίστροφη μεταγραφάση (RT) και την ιντεγκράση (IN). Το γονίδιο *Pol* ακολουθείται από τα δύο ρυθμιστικά γονίδια *rev* και *tat* και τρία επικουρικά γονίδια *vif*, *vpr* και *vpu*. Το γονίδιο *Env* κωδικοποιεί τις γλυκοπρωτεΐνες του ιικού φακέλου ήτοι την επιφανειακή μονάδα (SU) gp120 και τη διαμεμβρανική μονάδα (TU) gp41. Το γονίδιο *Env* ακολουθείται από ένα άλλο επικουρικό γονίδιο *nef*. **(Κάτω μέρος)** Το ώριμο ιικό περίβλημα έχει σφαιρικό σχήμα και περιβάλλεται από μια διπλής στιβάδας φωσφολιπιδική μεμβράνη που προέρχεται από το κύτταρο ξενιστή και περιέχει 7-35 τριμερή gp120-gp41. Η εσωτερική επιφάνεια της φωσφολιπιδικής μεμβράνης αγκυροβολεί τις πρωτεΐνες μήτρας (p17/MA) που προέρχονται από το γονίδιο *Gag* και «φιλοξενεί» επίσης τις πρωτεΐνες Vpr και PR. Το πυρηνικό καψίδιο ευρίσκεται εντός του κέντρου του ιικού σωματίου και περιέχει τα δύο αντίγραφα των γονιδιωματικών RNA (gRNA), RT και IN. Το gRNA σταθεροποιείται από τις νουκλεοπρωτεΐνες (NC). **Ακριβής αναπαράσταση από: Yasemin van Heuvel, Stefanie Schatz, Jamila Franca Rosengarten and Jörn Stitz. Infectious RNA: Human Immunodeficiency Virus (HIV) Biology, Therapeutic Intervention, and the Quest for a Vaccine. Toxins 2022, 14, 138. [https:// doi.org/10.3390/toxins14020138](https://doi.org/10.3390/toxins14020138)<sup>8</sup>.**

Η περιοχή μακράς επανάληψης (Long Terminal Repeat/LTR) περιλαμβάνει περιοχές ελέγχου που δεσμεύουν μεταγραφικούς παράγοντες του προσβεβλημένου κυττάρου στόχου από τον ιό HIV (transcription factors: όπως NF-κB/Nuclear Factor/πυρηνικός μεταγραφικός παράγοντας-κΒ, NFAT/Nuclear Factor of Activated T cells/Πυρηνικός παράγοντας των ενεργοποιημένων Τ λεμφοκυττάρων, μεταγραφικός παράγων Sp-1, TATA-binding protein/TBP/Πρωτεΐνη δεσμεύουσα την αλληλουχία νουκλεοτιδίων TATA)<sup>9</sup>. Η LTR απαιτείται για την έναρξη της μεταγραφής του HIV<sup>9</sup>. Περιλαμβάνει RNS trans-acting response element (TAR)-στοιχείο που δεσμεύει αποτελεσματικά τον παράγοντα Tat (Transcriptional activator factor/p14/μεταγραφικός παράγων ενεργοποίησης)<sup>9</sup>.

### 2.2.2 Συνοπτική περιγραφή των παραγόμενων πρωτεϊνών του HIV-1.

Αδρά οι παραγόμενες ιικές πρωτεΐνες σύμφωνα με τα προαναφερθέντα γονίδια διακρίνονται σε βασικές/θεμελιώδεις (ζωτικής σημασίας), ρυθμιστικές και επικουρικές<sup>8</sup>.

Οι δομικές (structural) πρωτεΐνες περιλαμβάνουν τις: p24, p17, p7, και p6 που κωδικοποιούνται από το γονίδιο *gag*<sup>8</sup>.

Οι επιφανειακές πρωτεΐνες του ιικού περιβλήματος/φακέλου περιλαμβάνουν τις: gp120 (SU/επιφανειακή) και gp41 (TM/διαμεμβρανική) που κωδικοποιούνται από το γονίδιο *env*<sup>8</sup>.

Οι πρωτεΐνες RT, PR, IN, RNAase H (p66/51) αντιπροσωπεύουν ζωτικής και κρίσιμης σημασίας ένζυμα για τον αναπαραγωγικό κύκλο (replication cycle) του ιού HIV και κωδικοποιούνται από το γονίδιο *pol*<sup>8,9</sup>.

Οι ρυθμιστικές πρωτεΐνες περιλαμβάνουν τις: *tat*, *rev* που κωδικοποιούνται από τα αντίστοιχα γονίδια *tat* και *rev*<sup>8,9</sup>.

Η πρωτεΐνη *tat* διαδραματίζει εξέχοντα ρόλο στην έναρξη μίας αποτελεσματικής ιικής μεταγραφής<sup>8,9</sup>.

Η πρωτεΐνη *rev* συμβάλει τα μέγιστα στη μετανάστευση/εξαγωγή του ιικού HIV mRNA από τον πυρήνα του μολυνθέντος κυττάρου στο κυτταρόπλασμα, οδηγώντας έτσι την απρόσκοπτη ικανότητα πολλαπλασιασμού (replication) του ιού HIV<sup>8,9</sup>.

Οι επικουρικές πρωτεΐνες περιλαμβάνουν τις: *nef*, *vif*, *vpr*, *vrm* που κωδικοποιούνται από τα αντίστοιχα επικουρικά γονίδια και διαδραματίζουν μείζονα ρόλο στην ανοσοδιαφυγή αλλά και στον ιικό πολλαπλασιασμό του ιού HIV-1<sup>8,9</sup>.

Η επικουρική πρωτεΐνη *nef* κατέχει εξέχοντα ρόλο στην ανοσοδιαφυγή, στη μολυσματικότητα αλλά και στον ιικό πολλαπλασιασμό του HIV<sup>10</sup>. Πιο συγκεκριμένα η πρωτεΐνη *nef* οδηγεί σε μείωση της έκφρασης των μορίων HLA/MHC τάξης I στην επιφάνεια των προσβληθέντων κυττάρων του ξενιστή από τον ιό HIV αλλά ταυτόχρονα και σε σημαντική μείωση έκφρασης των μορίων επιφανείας CD4, CD8, CD28, CD3 αλλά και των περιοριστικών κυτταρικών αντι-ιικών παραγόντων όπως των SERINC3/5 και tetherin<sup>10</sup>.

Η πρωτεΐνη vif (Viral infectivity factor (p23)/Παράγων ιικής μολυσματικής ικανότητας) υπερθεματίζει την ανασταλτική ικανότητα του παράγοντα Apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide 3 APOBEC3G (Απολιποπρωτεΐνη Β αγγελιοφόρο mRNA ένζυμο επεξεργασίας, καταλυτικό πολυπεπτίδιο), εμποδίζοντας τις υπερμεταλλαγές (hypermutations) και την αποδόμηση στο ιικό HIV DNA<sup>9</sup>.

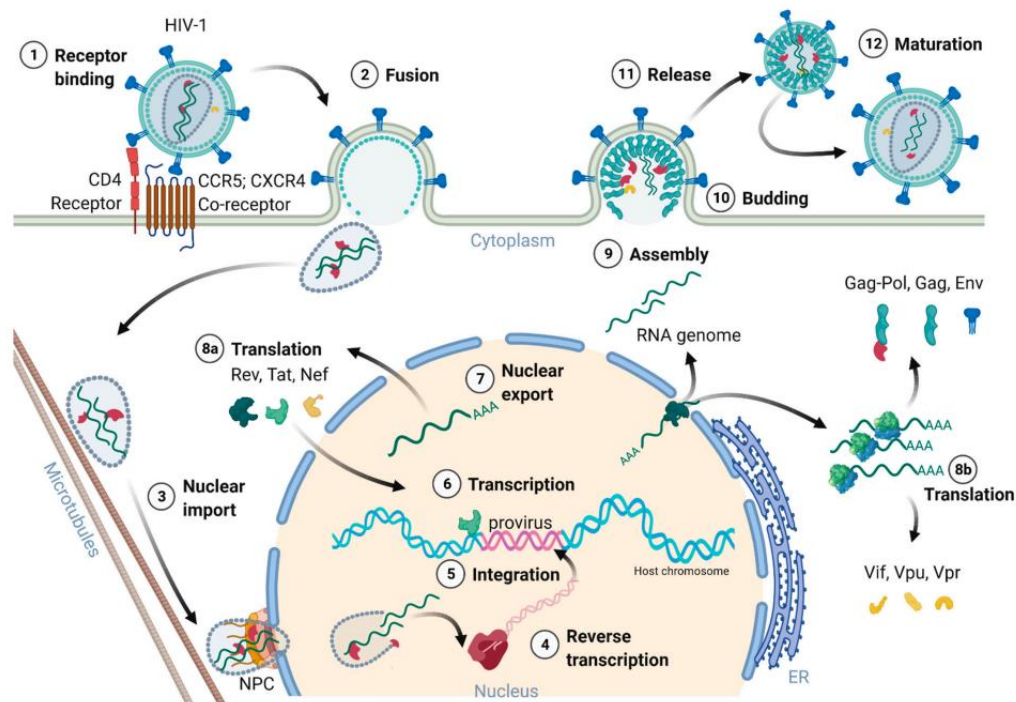
Η ιική πρωτεΐνη R/vpr (Viral protein R/p15) προάγει το «πάγωμα» του κυτταρικού κύκλου στη φάση G2 και ευοδώνει τη μόλυνση των μακροφάγων από τον HIV/κυττάρων βασικών για την εξάπλωση και εγκαθίδρυση της HIV λοίμωξης, κυρίως στη φάση της πρωτολοίμωξης, αλλά εμπλέκεται επίσης ενεργά στην είσοδο του προ-ικού συμπλέγματος στο εσωτερικό του κυτταρικού πυρήνα<sup>10,11</sup>.

Η ιική πρωτεΐνη U (Vpr/Viral protein U) προάγει την απόπτωση και πυρόπτωση των CD4+ T λεμφοκυττάρων και διευκολύνει την εκβλάστηση (budding) του HIV από το μολυσμένο κύτταρο<sup>10,11</sup>. Υπερθεματίζει τις ανασταλτικές δράσεις της τεθερίνης (tetherin), παράγοντα που περιορίζει την απελευθέρωση (εκβλάστηση/budding) του ιικού σωματίου από την κυτταροπλασματική μεμβράνη<sup>9,10,11</sup>. Επίσης η πρωτεΐνη vru διαθέτει την εγγενή ικανότητα να αποδομεί το σύμπλεγμα gp120-CD4+, δημιουργώντας κατά αυτόν τον τρόπο περίσσεια gp120 προάγοντας τη μολυσματική ικανότητα του ιού HIV<sup>12,13</sup>.

### **2.2.3 Κύκλος αναπαραγωγής (replication) του ιού HIV (Εικόνα 2).**

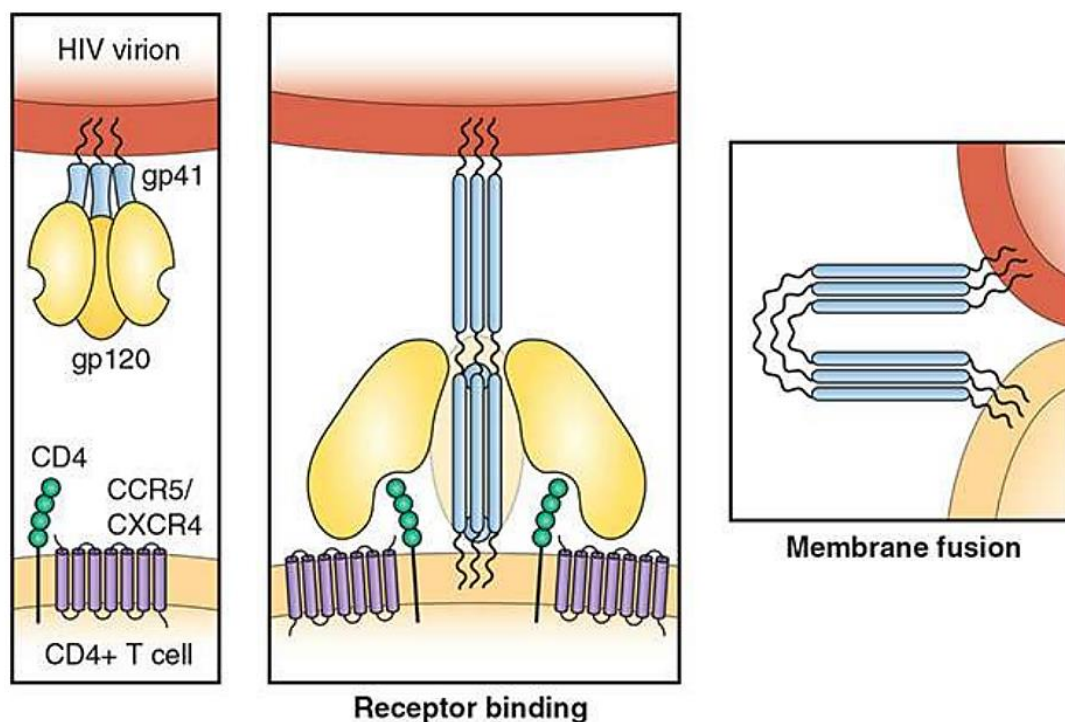
Απαραίτητη προϋπόθεση για την επιτυχή μόλυνση του κυττάρου στόχου του ξενιστή από το ώριμο-μολυσματικό HIV ιικό σωματίο (virion) είναι η προσκόλλησή/αγκυροβόλησή του (attachment) σε αυτό μέσω ειδικών υποδοχέων και η επακόλουθη σύντηξή του (fusion) με την κυτταροπλασματική μεμβράνη, έτσι ώστε να εκχυθεί/εισαχθεί στο κυτταρόπλασμα το περιεχόμενο του ιικού σωματίου<sup>13</sup> (Εικόνα 2).





**Εικόνα 2: Σχηματική αναπαράσταση του κύκλου αναπαραγωγής του ιού HIV-1.** (1) Η HIV-1 λοίμωξη αρχίζει με τη δέσμευση των γλυκοπρωτεϊνών του ιικού φακέλου gr120(SU) στον κύριο υποδοχέα CD4 και στο συν-υποδοχέα της χημειοκίνης (CCR5 ή CXCR4) στην επιφάνεια του κυττάρου στόχου του ξενιστή. (2) Το περιβλήμα/φάκελος του ιικού σωματίου στη συνέχεια συγχωνεύεται με την κυτταρική μεμβράνη, απελευθερώνοντας το ιικό καψίδιο εντός του κυτταροπλάσματος. (3) Το ιικό καψίδιο μετακινείται κατά μήκος των μικροσωληνίσκων προς τον πυρήνα του προσβεβλημένου κυττάρου στόχου. Το ιικό καψίδιο εν συνεχεία συνδέεται με το σύμπλεγμα των πυρηνικών πόρων (nuclear pore complex/NPC) και εισέρχεται μέσω αυτών στον κυτταρικό πυρήνα. (4) Το ιικό καψίδιο υφίστανται μερική απέκδυση (uncoating) κατά την είσοδό του στον κυτταρικό πυρήνα και η αντίστροφη μεταγραφή του ιικού gRNA (genome RNA) σε προ-ιό ολοκληρώνεται εντός του πυρήνα. (5) Η ιική ενσωμάτωση/ιντεγκράση μαζί με ενδοκυτταρικούς συμπαράγοντες προάγουν την τελική ενσωμάτωση του προϊόντος σε εξαιρετικά ενεργές χρωμοσωματικές περιοχές του γονιδιώματος του ξενιστή. (6) Ο παράγοντας Tat ενεργοποιεί εξαιρετικά αποτελεσματικά τη γονιδιακή μεταγραφή του προϊόντος. (7) Η ιική πρωτεΐνη Rev επιστρατεύει διάφορες πρωτεΐνες του ξενιστή για την εξαγωγή από τον κυτταρικό πυρήνα των ιικών mRNA που περιέχουν εσώνια (introns). (8a/8β) Η μετάφραση του ιικού mRNA λαμβάνει χώρα εντός του κυτταροπλάσματος και πρώτα εκφράζονται οι ιικές πρωτεΐνες Rev, Tat και Nef. Οι ιικές πρωτεΐνες που περιέχουν πεπτιδία σήματος όπως η Vpr και η Env εισέρχονται στο ενδοπλασματικό δίκτυο (endoplasmic reticulum/ER) για περαιτέρω μετα-μεταγραφικές τροποποιήσεις (posttranscriptional modifications). Η γλυκοζυλιωμένη γλυκοπρωτεΐνη Env που θα ενσωματωθεί στον ιικό φάκελο εισέρχεται στη συσκευή Golgi και διασπάται από τις κυτταρικές πρωτεάσες που ομοιάζουν με φουρίνη (furin-like proteases) στις ιικές γλυκοπρωτεΐνες gr120-SU και gr41-TM. (9) Δύο ιικά gRNA, οι Gag, Pol, Env και Vpr συγκεντρώνονται σε εκκολαπτόμενα σωματίδια HIV-1 στην κυτταρική μεμβράνη. (10) Ανώριμα HIV-1 σωματίδια εκβλαστάνουν από την κυτταρική μεμβράνη. (11) Ανώριμα HIV-1 σωματίδια κατόπιν απελευθερώνονται από το κύτταρο ξενιστή. (12) Κατά την διαδικασία της ωρίμανσης, οι πρόδρομες πρωτεΐνες Gag και Pol διασπώνται από την ιική πρωτεάση στις υπομονάδες τους MA, CA και NC, καθώς και στα ιικά ένζυμα PR, RT και IN. Μετά την ολοκλήρωση της ωρίμανσης, τα νεοσχηματισμένα HIV-1 σωματίδια (virions) προετοιμάζονται για την επόμενη λοίμωξη των κυττάρων στόχων του ξενιστή, ξεκινώντας εκ νέου έναν νέο κύκλο αντιγραφής/αναπαραγωγής. **Ακριβής αναπαράσταση από: Yasemin van Heuvel, Stefanie Schatz, Jamila Franca Rosengarten and Jörn Stitz. Infectious RNA: Human Immunodeficiency Virus (HIV)**

Η φάση αγκυροβόλησης-πρόσδεσης (attachment) διαμεσολαβείται αποκλειστικά από τη γλυκοπρωτεΐνη επιφανείας του περιβλήματος του HIV (envelope) gp120 (SU), η οποία δεσμεύει δύο ξεχωριστούς υποδοχείς της επιφάνειας των κυττάρων του ξενιστή για προσκόλληση, έναν υποδοχέα και έναν συνυποδοχέα<sup>8,13</sup> (Εικόνα 2). Ο ιός HIV προσκολλάται αρχικά στον υποδοχέα CD4 του κυττάρου στόχου μέσω της επιφανειακής γλυκοπρωτεΐνης gp120 (SU) του περιβλήματός του (envelope), με αποτέλεσμα την στερεοτακτική γεωμετρική (τρισδιάστατη) αλλαγή του τριμερούς gp120-gp41 του περιβλήματος, διευκολύνοντας κατά αυτόν τον τρόπο τη δέσμευση στον συνυποδοχέα επιφανείας (CCR5 ή CXCR4) του προς προσβολή κυττάρου<sup>13</sup> (Εικόνα 3).



**Εικόνα 3: Δέσμευση/Αγκυροβόληση (attachment/binding) και σύντηξη (fusion) του HIV-1 με το κύτταρο-στόχο του.** Ο HIV-1 συνδέεται με το κύτταρο-στόχο του μέσω του μορίου CD4, που φέρει αυτό στην επιφάνειά του, οδηγώντας σε μια γεωμετρική στερεοτακτική αλλαγή στο ιικό μόριο gp120 που του επιτρέπει να συνδεθεί με τον κυτταρικό συνυποδοχέα CCR5 (για ιούς που χρησιμοποιούν R5-R5 τροπισμός) ή τον συνυποδοχέα CXCR4 (για ιούς που χρησιμοποιούν X4-X4 τροπισμός) ή και τους δύο (διπλός τροπισμός/dual tropism). Ο ιός στη συνέχεια συνδέεται στέρα με τη μεμβράνη των κυττάρων του ξενιστή με τρόπο δίκην ελατηρίου σε κάμψη μέσω του πρόσφατα εκτεθειμένου διαμεμβρανικού HIV μορίου γλυκοπρωτεΐνης gp41. Η σύντηξη ιού-κυττάρου λαμβάνει χώρα καθώς η ενδιάμεση μοριακή δομή της gp41 υφίσταται περαιτέρω αλλαγές για να σχηματίσει μια δομή δίκην φουρκέτας που φέρνει τις δύο μεμβράνες σε εγγύτητα. (Ακριβής αναπαράσταση από: D Montefiori, J P Moore. *HIV vaccines. Magic of the occult?* *Science*. 1999 Jan 15;283(5400):336-7. Doi: 10.1126/science.283.5400.336 και Harrison's *Principles of Internal Medicine, Twenty-First Edition (Vol.1 & Vol.2)*. Joseph Loscalzo, Anthony Fauci, Dennis Kasper, Stephen Hauser, Dan Longo, J. Larry Jameson. March 28, 2022.)<sup>13,14</sup>



Η αρχική μόλυνση από τον ιό HIV (founder virus) μπορεί να εδραιωθεί είτε με τη χρήση των CCR5 υποδοχέων είτε μέσω των CXCR4 ή και των δύο ως εναλλακτικών συνυποδοχέων, συνήθως όμως εγκαθίστανται κυρίως μέσω των υποδοχέων CCR5 (R5-τροπισμός)<sup>13</sup>.

Ο γενικός πληθυσμός περιλαμβάνει ένα μικρό ποσοστό ατόμων που φέρει ένα μεταλλαγμένο γονίδιο CCR5 (*CCR5delta32*/Διαγραφή 32 ζευγών βάσεων νουκλεοτιδίων), με αποτέλεσμα αυτή η περιορισμένη υποομάδα ατόμων να συνθέτουν έναν μη λειτουργικό συνυποδοχέα CCR5 και να εμφανίζουν αξιοσημείωτη αντίσταση στην μόλυνση από τον HIV<sup>15,16,17</sup>. Η λοίμωξη με τον HIV ατόμων που είναι ομοζυγώτες για την μεταλλαγή του γονιδίου του CCR5 (*CCR5delta32*) είναι εξαιρετικά σπάνια ~ 1% (κατά βάση Καυκάσιοι), ενώ οι ετεροζυγώτες για τη μεταλλαγή ~ 10% στην Ευρώπη εμφανίζουν και αυτοί μεγαλύτερη ανθεκτικότητα στην HIV μόλυνση αλλά και πολύ βραδύτερη πορεία της νόσου διαχρονικά<sup>15,16,17</sup>.

#### 2.2.4 Περιοριστικοί κυτταρικοί μηχανισμοί έναντι της HIV λοίμωξης.

Φυλογενετικά η ανάπτυξη και διατήρηση κατά την διάρκεια της εξέλιξης καλά ενορχηστρωμένων ενδοκυττάρων ανοσοαποκρίσεων απέναντι σε ιογενείς λοιμώξεις, συμπεριλαμβανομένου και της λοίμωξης από τον ιό HIV περιλαμβάνει ενδοκυτταρικούς παράγοντες περιορισμού της επαπειλούμενης λοίμωξης, που «χαρτογραφούνται» αδρά στην κυτταροπλασματική μεμβράνη, σε ενδοκυττάρια κυστίδια και στο ενδοκυτταροπλασματικό δίκτυο, αλλά δυστυχώς ο ιός HIV μέσω των ρυθμιστικών και επικουρικών πρωτεϊνών, που εκφράζονται από τα αντίστοιχα γονίδια, καταφέρνει με αξιοσημείωτη επιτυχία να διαφεύγει αυτών των μηχανισμών<sup>8</sup>.

Τα πλασμακυτταροειδή δενδριτικά κύτταρα (pDCs) της φυσικής ανοσίας, μέσω έκκρισης ιντερφερόνης τύπου I (IFN $\alpha$ ), επάγουν μία πρωτεΐνη του κυττάρου στόχου του ξενιστή η οποία ανήκει στην ομάδα της οικογένειας του τριμερούς μοτίβου πρωτεϊνών (TRIM/tripartite motif), την TRIM5-alpha (tripartite motif containing 5 $\alpha$ )<sup>18</sup>. Η TRIM5-alpha δύναται να επιταχύνει την διαδικασία της απέκδυσης (uncoating) του πυρηνικού καψιδίου του HIV, καθιστώντας το γονιδίωμά του ανιχνεύσιμο από τους κυτταροπλασματικούς υποδοχείς αναγνώρισης παθολογικών μοριακών προτύπων (Pattern Recognition Receptors/PRRs) και την έναρξη της κυτταροπλασματικής ανοσίας<sup>18</sup>. Η πρωτεΐνη του κυττάρου ξενιστή κυκλοφυλίνη A (CypA) και ο ιικός παράγοντας Env αναστέλλουν την δράση της TRIM5-alpha<sup>18,20</sup>.

Η ιντερφερόνη τύπου 1 (IFN $\alpha$ ), εκκρινόμενη από τα pDCs λόγω της HIV λοίμωξης, έχει επίσης ως αποτέλεσμα την επαγωγή επιπρόσθετων κυτταρικών προστατευτικών γονιδίων από τον ξενιστή, με αποτέλεσμα την σύνθεση πρωτεϊνών της οικογένειας APOBEC3G (ένζυμο επεξεργασίας mRNA της απολιποπρωτεΐνης B, παρόμοιο με καταλυτικό πολυπεπτιδίο/apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide-like) που επί της ουσίας αποτελούν ένζυμα επεξεργασίας και διάσπασης νουκλεϊκών οξέων<sup>19</sup>. Ταυτόχρονα παρατηρείται έκφραση και παραγωγή του αντι-ικικού παράγοντα BST-2 (bone marrow stromal antigen 2/tetherin/τεθερίνη/CD137)<sup>19</sup>.

Η υπεροικογένεια πρωτεϊνών APOBEC είναι ικανές να καταλύουν την απομάκρυνση αμινομάδων από το τμήμα κυτοσίνης της κυτιδίνης<sup>19</sup>. Κατά την αντιγραφή, αυτές οι απαμινωμένες κυτιδίνες ζευγαρώνουν με αδενοσίνη, όχι με γουανίνη, και το καθαρό αποτέλεσμα είναι η εισαγωγή πολλαπλών μεταλλαγών G-αντί-A, με αποτέλεσμα υπερμεταλλαγή (hypermutation) και πλήρη ιική αδρανοποίηση<sup>19</sup>. Ιικό αντίμετρο αποτελεί το προϊόν του ιικού γονιδίου *vif*, η πρωτεΐνη Vif, που συνδέεται απευθείας με τον παράγοντα APOBEC, ανακατευθύνοντάς τον σε αποικοδόμησή του μέσω οδών ουμπικουΐτινοποίησης (ubiquitination)<sup>19</sup>.

Το στρωματικό αντιγόνο 2 του μυελού των οστών (bone marrow stromal antigen 2/tetherin/τεθερίνη/ CD137), έχει τη μοναδική ικανότητα να συνδέεται με την κυτταροπλασματική μεμβράνη, εμποδίζοντας αποτελεσματικά την διαδικασία εκβλάστησης (budding) των ανώριμων ιοσωμάτων<sup>19</sup>. Για την αντιμετώπιση αυτού του ενδογενούς αμυντικού μηχανισμού του κυττάρου του ξενιστή, η κωδικοποιημένη από το γονίδιο *vru* του HIV πρωτεΐνη Vru μπλοκάρει αποτελεσματικά την τεθερίνη (tetherin) με διάφορους μηχανισμούς, συμπεριλαμβανομένης της άμεσης δέσμευσης και ανακατεύθυνσης της πρωτεΐνης σε ενδοκυτταρική αποδόμηση<sup>19</sup>.

Η σύγχρονη εντατική έρευνα έχει εντοπίσει και άλλους περιοριστικούς ιικούς παράγοντες, όπως οι πρωτεΐνες ενσωμάτωσης της σερίνης (SERINC/Serine incorporator) 3 και 5 που μειώνουν τη μολυσματικότητα του ιού HIV<sup>21</sup>. Οι SERINC3 και SERINC5 είναι αναπόσπαστες πρωτεΐνες της κυτταροπλασματικής μεμβράνης που μειώνουν τη μολυσματικότητα όταν ενσωματώνονται στα ανώριμα ιικά σωματίδια (virions) κατά τη διαδικασία εκβλάστησής τους<sup>21</sup>. Η πρωτεΐνη Nef του HIV ανακατευθύνει αποτελεσματικά τους περιοριστικούς ενδοκυτταρικούς παράγοντες SERINC3/5 από την επιφάνεια της κυτταροπλασματικής μεμβράνης, προάγοντας έτσι τη μολυσματική ικανότητα του HIV<sup>21</sup>.

Η IFI16 (Interferon-Gamma Induced Protein 16/Πρωτεΐνη16 που επάγεται από την ιντερφερόνη-γ) και η cGAS (cyclic GMP-AMP synthase) αναγνωρίζουν τα προϊόντα DNA της αντίστροφης μεταγραφάσης (RT) στο κυτοσόλιο<sup>22</sup>. Η cGAS στη συνέχεια σχηματίζει cGAMP, το οποίο ενεργοποιεί το σχηματισμό ιντερφερόνης του κυττάρου μέσω της σηματοδοτικής οδού (pathway) STING και έτσι αυξάνει το σχηματισμό πρωτεϊνών που διεγείρονται από αυτή με σημαντική αντι-ϊκή δράση<sup>22</sup>.

Η MX2 (MX Dynamin Like GTPase 2) αλληλοεπιδρά μέσα στο κύτταρο απευθείας ή μέσω της κυκλοφυλίνης A (CypA) με το πυρηνικό καψίδιο του HIV και εμποδίζει την απέκδυσή του (uncoating) και την αποτελεσματική είσοδο του ιικού DNA στον πυρήνα του κυττάρου στόχου του ξενιστή<sup>23</sup>.

Ο περιοριστικός κυτταρικός αντι-ϊκός παράγοντας SAMHD1 (SAM domain and HD domain-containing protein 1) αναστέλλει την αντιγραφή του ιού HIV-1, εξαντλώντας την ενδοκυτταρική δεξαμενή των διαθέσιμων τριφωσφορικών δεοξυνουκλεοσιδίων<sup>24</sup>. Η ιική πρωτεΐνη Vpx (παρούσα μόνο στον HIV-2) αντιστρέφει αυτό το αποτέλεσμα προωθώντας την πρωτεασωμική αποικοδόμηση του παράγοντα SAMHD1<sup>24</sup>.

Το RIG-I (retinoic acid-inducible gene I/ γονίδιο I που επάγεται από το ρετινοϊκό οξύ) είναι ένας ενδοκυτταροπλασματικός υποδοχέας αναγνώρισης μοριακών προτύπων (Cytosolic pattern recognition receptor/PRR) και αναγνωρίζει τόσο το ιικό RNA του εισβολέα ιού HIV όσο και το νεοπαραχθέν ιικό mRNA<sup>25</sup>. Ωστόσο, μέσω της αποδόμησης του RIG-I μέσω πρωτεάσης, ο HIV μπορεί να διαφύγει της αποτελεσματικής ανοσολογικής ανίχνευσης<sup>25</sup>.

Η ενδοκυτταροπλασματική πρωτεΐνη ZAP (Zinc Finger Antiviral Protein/Αντι-ιική Πρωτεΐνη που περιέχει δακτύλιο ψευδαργύρου) αναγνωρίζει το νεοσχηματισμένο ιικό mRNA στο κυτοσόλιο και δύναται να το αποδομήσει με αποτελεσματικό τρόπο<sup>26</sup>.

### **3.1 Ανοσολογία της λοίμωξης που προκαλείται από τον ιό της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (Human Immunodeficiency Virus/HIV).**

Είναι εξαιρετικά πιθανό ότι η εντατική μελέτη της παθοβιολογίας της HIV λοίμωξης να αποτέλεσε ένα από τα μείζονα γεγονότα σε παγκόσμιο επιστημονικό επίπεδο για τις μετέπειτα καταγιστικές εξελίξεις όχι μόνο σε ιατρικό επίπεδο αλλά και σε επίπεδο βασικών επιστημών έρευνας όπως μοριακής βιολογίας και ανοσολογίας<sup>8,9,13,27</sup>. Γνωρίζουμε σήμερα πως το ανοσολογικό σύστημα ατόμων που μολύνονται από τον ιό HIV αντιδρά ως οφείλει τόσο αρχικά σε επίπεδο φυσικής ανοσίας (innate immunity) όσο και σε επίπεδο προσαρμοστικής ανοσίας (adaptive immunity) ταυτόχρονα και σε ύστερο χρονικό διάστημα<sup>8,9,13,27</sup>. Ενώ αρχικά επέρχεται μια εντελώς οριακή ισορροπία με σημαντική μείωση του εκρηκτικά υψηλού ιικού φορτίου και μερική ανάκαμψη του απόλυτου αριθμού των CD4+ T λεμφοκυττάρων, ο ξενιστής αδυνατεί να εκριζώσει αποτελεσματικά τον χρόνιο ιικό πολλαπλασιασμό από τις δεξαμενές όπου ο HIV διαφεύγει της αποτελεσματικής ανοσολογικής επιτήρησης<sup>8,9,13,27</sup>. Έτσι έχουμε το παράδοξο φαινόμενο ότι η υπέρμετρη και απρόσφορη ανοσολογική απόκριση οδηγεί σε εξάντληση (exhaustion) και ανοσογήρανση (inflammaging) και οι PLWH υπόκεινται τις καταστροφικές συνέπειες της χρόνιας ανοσολογικής απρόσφορης ενεργοποίησης<sup>8,9,13,27</sup>. Επομένως οι PLWH που δε λαμβάνουν με συνέπεια τη σύγχρονη χορηγούμενη cART καταλήγουν στην κλινική ανάπτυξη πλήρους συνδρόμου AIDS, συνήθως κατά μέσο όρο σε μία δεκαετία, εάν δεν έχουν καταλήξει ήδη από την εμφάνιση SNAEs<sup>8,9,13,27</sup>.

#### **3.1.1 Ανοσολογία της εισόδου και της διασποράς του HIV στα κύτταρα του ξενιστή.**

Στις αρχές του 1996, δημοσιεύτηκαν οι πρώτες σημαντικές ερευνητικές εργασίες που παρείχαν ακριβείς παθοφυσιολογικές πληροφορίες για το πώς ο ιός HIV εισέρχεται σε ένα δυνητικά υποψήφιο κύτταρο στόχο του ξενιστή<sup>27</sup>. Ο Cocchi και οι συνεργάτες του, αναγνώρισαν τις φιλοφλεγμονώδεις πρωτεΐνες των μονοκυττάρων-μακροφάγων, τις χημειοκίνες (CC) MIP-1α, MIP-1β και RANTES (Regulated on Activation, Normal T-cell Expressed and Secreted/ρυθμιζόμενη κατά την ενεργοποίηση, φυσιολογικά εκφραζόμενη και απεκκρινόμενη από T-λεμφοκύτταρα), επίσης γνωστές ως CCL3, CCL4 και CCL5, αντίστοιχα, ως κύρια συστατικά των

παραγόντων καταστολής του αναπαραγωγικού κύκλου του ιού HIV που προέρχονται από τα CD8+ CTLs λεμφοκύτταρα<sup>27</sup>.

Οι ανωτέρω περιγραφόμενες χημειοκίνες (chemokines), σε συνδυασμό, θα μπορούσαν να αναστείλουν, *in vitro* τουλάχιστον, υπό τις κατάλληλες συνθήκες, την ευχερή και ευρεία μόλυνση των ενεργοποιημένων CD4+ T λεμφοκυττάρων από στελέχη HIV-1, HIV-2 και του ιού της επίκτητης ανοσοανεπάρκειας του πιθήκου (SIV)<sup>27</sup>. Στη συνέχεια, ένας συνυποδοχέας χημειοκίνης, ο CXCR4, μαζί με τον υποδοχέα CD4, διαπιστώθηκε ότι απαιτείται για την είσοδο των ιών με τροπισμό X4 στα κύτταρα στόχους αλλά δε χρησιμοποιείται από στελέχη με τροπισμό R5 (χρήση συνυποδοχέα CCR5), γεγονός που δε λαμβάνει χώρα στην πρωτολοίμωξη αλλά σε προχωρημένα στάδια της νόσου, γεγονός που αποδεικνύει ότι ο ιός εγκαθίδρυσης στη χρονική φάση της πρωτολοίμωξης (founder virus) χαρακτηρίζεται κυρίως από R5 τροπισμό<sup>27</sup>.

Στη συνέχεια, εν μέσω εντατικών ερευνητικών προσπαθειών, περιεγράφηκε ένα μεταλλαγμένο αλληλόμορφο του γονιδίου *CCR5* που περιείχε μια διαγραφή 32 bp και αυτό είχε ως αποτέλεσμα έναν «περικομμένο» μη λειτουργικό συνυποδοχέα για την κυτταρική είσοδο του ιού HIV στα κύτταρα στόχους του ξενιστή<sup>13,27,28</sup>. Επειδή ο HIV που χρησιμοποιεί τον CCR5 (εμφανίζει εξ' ολοκλήρου τροπισμό R5) είναι σχεδόν εξ ολοκλήρου παγκοσμίως υπεύθυνος για την πρωτολοίμωξη, τα άτομα που είναι ομόζυγα για τη μεταλλαγή *CCR5* φαίνεται να προστατεύονται σχεδόν πλήρως από την προσβολή από τον HIV-1<sup>28,29,30,31</sup>. Η ετεροζυγωτία για τη μεταλλαγή *CCR5* οδηγεί σε μειωμένη έκφραση του CCR5 συνυποδοχέα στην κυτταρική επιφάνεια<sup>28,29,30,31</sup>. Αν και η ετεροζυγωτία για τον CCR5 συνυποδοχέα δεν φαίνεται να παρέχει πλήρη και αποκλειστική προστασία έναντι της λοίμωξης από τον HIV-1, μπορεί να οδηγήσει σε επιβράδυνση της εξέλιξης της νόσου σε PLWH<sup>30,31</sup>.

Τα κύτταρα του συστήματος της φυσικής ανοσίας που φέρουν εξειδικευμένους υποδοχείς αναγνώρισης παθολογικών μοριακών προτύπων (Pattern Recognition Receptors/PRRs), συμπεριλαμβανομένων και αυτών των δενδριτικών κυττάρων (DCs) όπως του ειδικού μορίου 3 διακυτταρικής προσκόλλησης που δεσμεύει μη ιντεγκρίνη (specific intercellular adhesion molecule 3-grabbing nonintegrin/DC-SIGN) και τις σχετικές ασβεστοεξαρτώμενες λεκτίνες, θα μπορούσαν να διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στα πρώιμα γεγονότα μετάδοσης, διασποράς και εγκαθίδρυσης της HIV λοίμωξης<sup>27</sup>.

Σε μακάκους (macaques) που εκτέθηκαν στον SIV ενδοκοιλιακά, τα μυελοειδή δενδριτικά κύτταρα (myeloid dendritic cells/mDCs) στον κολπικό βλεννογόνο ταυτοποιήθηκαν ως τα πρώτα κύτταρα που περιείχαν SIV DNA περίπου 2 ημέρες μετά την έκθεση<sup>27</sup>.

Ένα από τα πρωταρχικά και εν συνεχεία καταστρεπτικά γεγονότα που λαμβάνουν χώρα κατά την φάση της HIV πρωτολοίμωξης αποτελεί η μαζική προσβολή και η επακόλουθη απόπτωση/πυρόπτωση των μνημονικών και τελεστικών λεμφοκυττάρων του λεμφικού ιστού που σχετίζεται με το γαστρεντερικό βλεννογόνο

(GALT/Gut Associated Lymphoid Tissue)<sup>32</sup>. Δυστυχώς ακόμα και με την σύγχρονη χορήγηση cART αυτός ο κυτταρικός πληθυσμός ποτέ δεν υφίσταται πλήρη ανασύσταση (reconstitution), με αρνητικές συνέπειες σε μακροχρόνια βάση την εντερική βακτηριακή αλλόθεση (intestinal bacterial translocation) και την προαγωγή της χρόνιας απρόσφορης χρόνιας φλεγμονής (aberrant chronic inflammation)<sup>27,32</sup>.

### 3.1.2 Ειδική ανοσοαπόκριση στην HIV λοίμωξη.

#### 3.1.2.A Χυμική ανοσοαπόκριση κατά του ιού HIV.

Ένας εξαιρετικά αποτελεσματικός μηχανισμός της επίκτητης/προσαρμοστικής ανοσίας (adaptive immunity) αποτελεί η ανάπτυξη αντισωμάτων έναντι των δυνητικά παθογόνων εισβολέων<sup>33,34,35</sup>. Αυτά παράγονται μετά από σωματικού τύπου υπερμεταλλαγές στους πλασμαβλάστες των βλαστικών κέντρων των λεμφαδένων οι οποίοι δίδουν γένεση στα ώριμα και πλήρως διαφοροποιημένα πλασματοκύτταρα τα οποία αποτελεσματικά εξουδετερώνουν τον «επίδοξο» εισβολέα και κάποια από αυτά μετατρέπονται σε κύτταρα μνήμης, έτσι ώστε άμεσα να γίνει η ανάκλησή τους σε περίπτωση επανέκθεσης στο παθογόνο<sup>33,34,35</sup>.

Η μοριακή δομή των αντισωμάτων είναι μοναδική για τις πολλαπλές λειτουργίες που μπορεί αυτά να επιτελέσουν<sup>33,34,35</sup>. Διακρίνουμε δύο εντελώς διαφορετικές περιοχές από άποψη λειτουργικότητας, την υπερμεταβλητή περιοχή Fab που δεσμεύει περιοχές αντιγονικών επιτόπων και μία σταθερή περιοχή Fc που συνδέει άκρως αποτελεσματικά την αντισωματική απάντηση με το συμπλήρωμα και τα κυτταρικά στοιχεία του ανοσολογικού συστήματος, έτσι ώστε να λειτουργούν λειτουργικά ενιαία<sup>33,34,35</sup>.

Υποδοχείς Fc υπάρχουν εν αφθονία στα NK κύτταρα, στα δενδριτικά κύτταρα και στα μακροφάγα<sup>33,34,35</sup>. Η σύνδεση επομένως του Fc τμήματος των αντισωμάτων με τον αντίστοιχο κυτταρικό υποδοχέα οδηγεί σε κυτταροτοξικότητα/καταστροφή του προσβληθέντος κυττάρου από τον ιό HIV διαμεσολαβούμενη από το αντίσωμα από τα NK κύτταρα (ADCC/Antibody-dependent cellular cytotoxicity)<sup>33,34,35</sup>. Με αντίστοιχο παθοφυσιολογικό μηχανισμό όταν το Fc τμήμα των αντισωμάτων συνδεθεί με τον Fc υποδοχέα των δενδριτικών κυττάρων ή των μακροφάγων οδηγεί σε φαγοκυττάρωση του μολυνθέντος με τον HIV κυττάρου (ADCP, antibody-dependent cellular phagocytosis)<sup>33,34,35</sup>.

Επομένως εύλογα μπορεί να δημιουργηθεί το ερώτημα αδυναμίας εξήγησης γιατί οι PLWH, ενώ σύντομα σε 2 με 3 εβδομάδες από την πρωτολοίμωξη αναπτύσσουν αντισωματική απάντηση έναντι συγκεκριμένων HIV αντιγόνων (εκεί εξάλλου στηρίζεται και η τεκμηρίωση της εν λόγω ιογενούς λοιμώξεως), τίποτα από τα προαναφερθέντα δεν φαίνεται ικανό να αποτρέψει την φυσική πορεία της HIV λοίμωξης;

Τα αρχικά σχηματιζόμενα κυκλοφορούντα αντισώματα αδυνατούν να εξουδετερώσουν τους υπάρχοντες ιούς είτε λόγω του ότι κατευθύνονται όχι μόνο στην επιφανειακή πρωτεΐνη Env του περιβλήματος του HIV αλλά και σε πυρηνικά

αντιγόνα, επομένως δε μπορούν να θεωρηθούν εξουδετερωτικά (non-neutralizing antibodies) και αδυνατούν να εξαλείψουν τα μολυνθέντα από τον HIV κύτταρα<sup>33,34,35</sup>. Η διαδικασία της αντίστροφης μεταγραφής είναι επιρρεπής σε πολλαπλές γενετικές παραλλαγές λόγω των υψηλών ποσοστών εκτροπής της ενδογενούς γενετικής πιστότητας αντιγραφής με αποτέλεσμα να υπάρχουν πολλαπλά γενετικά υποείδη (quasispecies) κυκλοφορούντων ιών HIV<sup>35</sup>. Επιπλέον λόγω της έντονης γλυκοζυλίωσης που υφίσταται η επιφανειακή πρωτεΐνη του περιβλήματος του HIV Env και κατά βάση η gp120 (SU) αποκτά μία ιδιαίτερα αποτελεσματική ασπίδα γλυκάνης (glycan shield), απροσπέλαστη από την ειδική αντισωματική προσβολή<sup>33,34,35</sup>.

Ένα μικρό ποσοστό ατόμων PLWH (περίπου 20%) αναπτύσσουν αντισωματικές απαντήσεις που δύναται να εξουδετερώνουν ταυτόχρονα διαφορετικά στελέχη HIV (broadly neutralizing antibodies)<sup>33,34,35</sup>. Είναι αξιοσημείωτο το γεγονός ότι σε μία μειονότητα αυτών των ατόμων (περίπου 1%) η αντισωματική απόκριση προσεγγίζει το 100% (elite neutralizers)<sup>33,34,35</sup>.

### 3.1.2.B Κυτταρική ανοσοαπόκριση κατά του ιού HIV.

Τα CD8+ CTLs (κυτταροτοξικά) λεμφοκύτταρα, της ειδικής ανοσίας (adaptive immunity) έχουν την εγγενή ικανότητα να αναγνωρίζουν αποτελεσματικά, μέσω του TCR υποδοχέα τους, τα αντιγόνα του HIV που παρουσιάζονται μέσω των μορίων αντιγονοπαρουσίασης τάξης MHC-I/HLA-I<sup>36,37,38,39,40,41,42</sup>. Αυτή η αναγνώριση οδηγεί στην αποτελεσματική τους ενεργοποίηση έτσι ώστε να καθίστανται τελεστικά και ικανά να εκκρίνουν σε ικανές συγκεντρώσεις περφορίνες και γρανζύμα (granzymes) που προάγουν την απόπτωση, την πυρόπτωση και εξάλειψη των μολυσμένων με τον ιό HIV κυττάρων του ξενιστή<sup>36,37,38,39,40,41,42</sup>. Η ανωτέρω ενεργοποίηση των CD8+ λεμφοκυττάρων οδηγεί επίσης και στην έκκριση από αυτά χημειοκινών και φιλοφλεγμονωδών κυτταροκινών όπως των MIP-1β (Macrophage Inflammatory Proteins-1β), interferon-γ, TNF-α, και IL-2, ικανών να αποτρέπουν την παραγωγική μόλυνση από τον ιό HIV νέων κυττάρων στόχων του προσβληθέντος ξενιστή<sup>36,37,38,39,40,41,42</sup>.

Ο ρόλος των CD8+ CTLs λεμφοκυττάρων είναι καταλυτικός και μοναδικός στον έλεγχο της HIV λοίμωξης, τόσο στα αρχικά όσο και στα ύστερα στάδια της φυσικής της εξέλιξης<sup>36,37,38,39,40,41,42</sup>. Παρότι έχουν την απίστευτη ικανότητα να αναγνωρίζουν πολλαπλούς ιικούς επιτόπους, ασκώντας έντονη ανοσολογική πίεση, ο ιός πάντα μέσω συνεχών μεταλλαγών ευρίσκεται πάντα ένα βήμα μπροστά από την ανοσολογική επιτήρηση του ξενιστή<sup>36,37,38,39,40,41,42</sup>.

Στην πρωτολοίμωξη τα CTLs λεμφοκύτταρα περιορίζουν πολύ αποτελεσματικά το υψηλό ιικό φορτίο, έτσι ώστε στο εξάμηνο περίπου αυτό να φθάνει σε «διαχειρίσιμα» πλέον επίπεδα (το επονομαζόμενο viral setpoint) για το ανοσολογικό σύστημα του ξενιστή, που αποτελεί και προγνωστικό παράγοντα της μετέπειτα

φυσικής εξέλιξης της νόσου στην περίπτωση που το μολυσμένο με τον HIV άτομο δεν λάβει σύγχρονη και αποτελεσματική cART<sup>43</sup>.

Παρόλο που τα CTLs CD8+ λεμφοκύτταρα ευρίσκονται σε συνεχή και απρόσφορη ίσως ενεργοποίηση καθόλη την πορεία της νόσου μέχρι και τα τελικά της στάδια αυτό το φαινόμενο τα οδηγεί σε εξάντληση (exhaustion) και ανοσογήρανση (inflammaging) που συνδέεται άρρηκτα με την συχνή εμφάνιση SNAEs και κυρίως στους PLWH που δεν λαμβάνουν cART<sup>44</sup>. Η επικρατούσα θεωρία για τους PLWH άνευ cART αλλά και για την ομάδα αυτών που εξελίσσονται (progressors) παρά τη χρήση cART είναι ότι τα CD8+ CTLs λεμφοκύτταρα δεν εμφανίζουν ευρεία πολυλειτουργικότητα (polyfunctionality) και δυστυχώς εκφράζουν σε πολύ μεγαλύτερο ποσοστό το δείκτη επιφανείας PD-1 (Programmed Death-1) που προάγει φαινότυπο απόπτωσης και ανοσογήρανσης<sup>44</sup>.

Ένα εύλογο ερώτημα που ανακύπτει είναι γιατί τόσο τα ποιοτικά όσο και τα ποσοτικά χαρακτηριστικά των CD8+ CTLs διαφέρουν ουσιαστικά στους Long-Term Non-Progressors (<10% των PLWH/LTNPs/βραδέως εξελισσόμενη νόσος με μικρό φορτίο <2.000 HIV 1-RNA copies/mL χωρίς χρήση cART) και στους Elite Controllers (<1% ECs των PLWH, δεν ανιχνεύεται μικρό φορτίο παρά τη μη χορήγηση cART)<sup>8,44</sup>.

Πιθανές θεωρητικές ερμηνείες θα μπορούσαν να αφορούν πολυμορφισμούς στα γονίδια που ελέγχουν τα αλληλόμορφα HLA-I των CTLs στους LTNPs και ECs, τα CD8+ να συνεχίζουν για κάποιο άγνωστο ακόμα λόγο να είναι πολυλειτουργικά και για τον ίδιο άγνωστο λόγο να εκφράζουν σε πολύ μικρότερο ποσοστό στην επιφάνειά τους το μόριο PD-1, γεγονότα που προσδίδουν πλεονέκτημα επιβίωσης στους LTNPs και ECs έναντι των progressors<sup>8,44</sup>.

Το κύτταρο ενορχηστρωτής του ανοσολογικού συστήματος που με στρατηγικό και μοναδικό τρόπο πλήττεται από τον ιό HIV είναι το CD4+ βοηθητικό λεμφοκύτταρο και αυτό έχει ως αποτέλεσμα την ολοκληρωτική κατάρρευση κάθε τύπου ανοσολογικής απάντησης από τον ξενιστή στα τελικά στάδια της νόσου, εφόσον αυτός δεν σύγχρονη cART<sup>9,45,46</sup>.

Τα CD4+ βοηθητικά λεμφοκύτταρα μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε 6 λειτουργικούς φαινοτύπους ανάλογα με το τι είδους βοήθεια παρέχουν στους υπόλοιπους κυτταρικούς πληθυσμούς του ανοσιακού συστήματος βάσει των καλά οριζόμενων τύπων εκκρινόμενων κυτταροκινών τους<sup>9,45,46</sup>. Συνοπτικά θα μπορούσε να λεχθεί ότι τα Th1 μέσω έκκρισης IFN- $\gamma$  προάγουν την ενεργοποίηση των μακροφάγων και των CD8+ CTLs πληθυσμών και συνδράμουν έτσι τα μέγιστα στην εξουδετέρωση ενδοκυττάρων παθογόνων, τα Th2 εκκρίνοντας IL-4 μετατρέπουν τους πλασμαβλάστες σε ώριμα πλασματοκύτταρα συμβάλλοντας έτσι στην πλήρη έκπτυξη του σκέλους της χυμικής ανοσίας με την παραγωγή αντισωμάτων, τα Th17 μέσω έκκρισης IL-17 ενεργοποιούν τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα συνδράμοντας έτσι στην αντιμετώπιση εξωκυττάρων παθογόνων και μυκήτων, αλλά διατηρούν επίσης ακέραιο τον επιθηλιακό εντερικό φραγμό μειώνοντας κατά αυτό τον τρόπο την βακτηριακή αλλόθεση, που λαμβάνει χώρα από τα πρώτα στάδια της



HIV λοίμωξης<sup>9,45,46</sup>. Τα Th9 εκκρίνοντας IL-2, IL-4, TGF- $\beta$  διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην αντιμετώπιση εξωκυττάρων παράσιτων, συμμετέχουν στην βλεννογονική ανοσία και στην επιτήρηση των καρκινικών κυττάρων, τα θυλακίωδη βοηθητικά λεμφοκύτταρα (Follicular T helper cells/T<sub>FH</sub>) εκκρίνοντας IL-6, IL-21 βοηθούν στην ενεργοποίηση και ωρίμανση των B λεμφοκυττάρων στα βλαστικά κέντρα των λεμφοθυλακίων των λεμφαδένων και τέλος τα ρυθμιστικά λεμφοκύτταρα (regulatory T cells/Tregs) που ρυθμίζουν αρμονικά εν συνόλω την ανοσιακή απάντηση και προστατεύουν από εκτροπές φαινοτυπικές την ενορχηστρωμένη ανοσολογική απάντηση του ξενιστή στον παθογόνο εισβολέα, αλλά και στα φαινόμενα αυτοανοσίας και επιτήρησης των καρκινικών κυττάρων<sup>9,45,46</sup>. Να τονίσουμε σε αυτό το σημείο ότι ο συνυποδοχέας CD4 των T βοηθητικών λεμφοκυττάρων μαζί τον υποδοχέα TCR αναγνωρίζουν αντιγόνα που παρουσιάζονται μέσω των μορίων τάξης HLA-II<sup>9</sup>.

Καθίσταται επομένως σαφές γιατί είναι σημαντική η άμεση, ιδανικά ακόμα και την ίδια ημέρα της διάγνωσης της HIV λοίμωξης, έναρξη λήψης cART για να μπορέσουμε να επιτύχουμε τουλάχιστον αριθμητική συγκράτηση και κατόπιν ανασύσταση του απόλυτου αριθμού των CD4+ λεμφοκυττάρων, όπως αυτά μετρούνται στο περιφερικό πλάσμα<sup>9,45,46</sup>. Παρότι ευρέως μαζί με το ιικό φορτίο στην περιφέρεια τα χρησιμοποιούμε σε καθημερινό κλινικό και πρακτικό επίπεδο δε σημαίνει ότι παίρνουμε και τις αντίστοιχες πληροφορίες για το τι πραγματικά συμβαίνει στο λεμφικό ιστό, το θύμο, στο ΚΝΣ, στο GALT, στο μυελό των οστών και σε άλλα δύσκολα ανατομικά διαμερίσματα π.χ. ουροποιητικό-γεννητικό<sup>9,45,46</sup>.

Θεωρητική προσέγγιση του ανωτέρου γεγονότος θα μπορούσε να θεωρηθεί η ανακατανομή των CD4+ κυττάρων από την περιφερική κυκλοφορία στο λεμφικό ιστό, η μειωμένη παραγωγή CD4+ κυττάρων από το θύμο αδέν (υφίσταται ίνωση στη χρόνια λοίμωξη), από το μυελό των οστών (στη χρόνια φάση παρατηρούνται βλάβες των αρχέγονων πολυδύναμων κυττάρων/progenitors cells και του στρωματικού μυελικού περιβάλλοντος) και η χρόνια απρόσφορη ανοσολογική ενεργοποίηση (aberrant chronic immune activation) με απευθείας απόπτωση/πυρόπωση των CD4+ κυττάρων από τα συνεχώς ενεργοποιημένα CD8+ CTLs κύτταρα<sup>9,45,46</sup>.

### **3.1.2.Γ Δεξαμενές (reservoirs) στην HIV λοίμωξη.**

Ο ιός HIV έχει την εγγενή ικανότητα να ενσωματώνεται με τη μορφή του προ-ιού στο γενετικό υλικό (DNA/χρωματίνη) του μολυνθέντος ξενιστή και κατά προτίμηση σε κύτταρα με μεγάλο χρόνο ημίσειας ζωής (long lived cells), γεγονός που του δίνει συγκριτικό πλεονέκτημα στη διαφυγή του από την αποτελεσματική ανοσολογική ανίχνευση που θα μπορούσε να οδηγήσει στην πλήρη εκρίζωσή του<sup>8,9,13,27,47,52,53</sup>. Μάλιστα ένας εξαιρετικός εξελικτικός μηχανισμός ανοσολογικής διαφυγής του ιού αποτελεί το γεγονός ότι όταν ενσωματώνεται ως προ-ιός στα ανωτέρω κύτταρα, π.χ. μνημονικά λεμφοκύτταρα, παραμένει σε επίπεδο αντιγραφής, μεταγραφής, μετάφρασης σε κατάσταση πλήρους αδράνειας, με αποτέλεσμα να διαφεύγει της ανοσολογικής επιτήρησης, αφού αυτά τα κύτταρα δεν εκφράζουν ιικά ανιχνεύσιμα αντιγόνα, αλλά όταν υπάρξουν οι αντίστοιχες πρόσφορες φλεγμονώδεις συνθήκες να



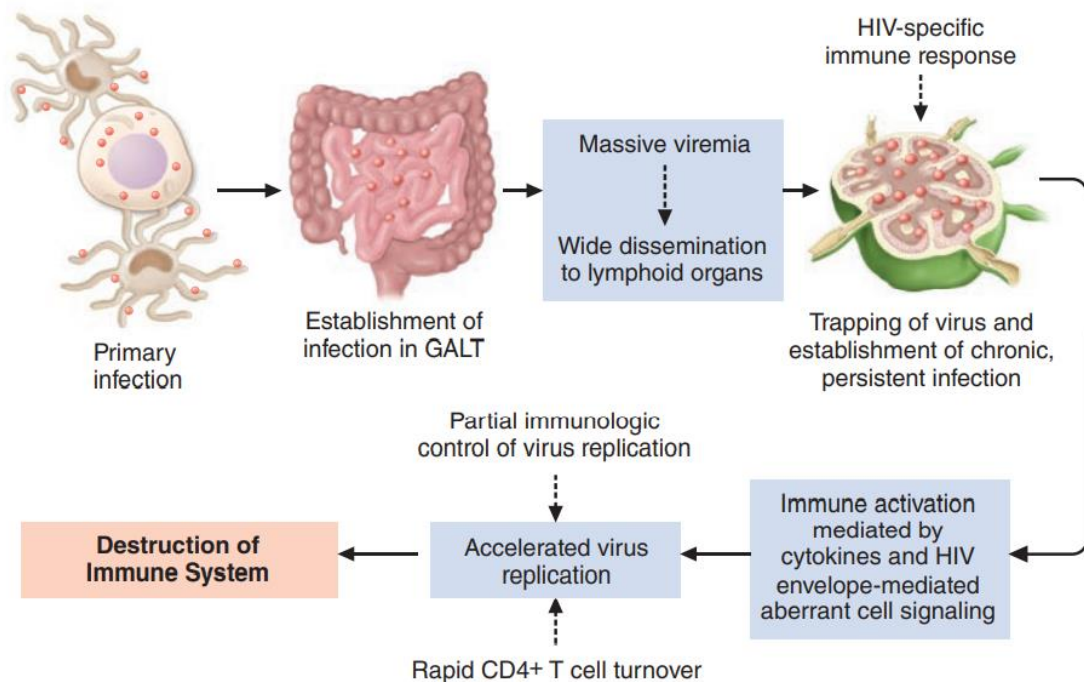
δύναται να ενεργοποιηθεί και να οδηγήσει σε νέες αποτελεσματικές/παραγωγικές λοιμώξεις<sup>8,9,13,27,47,52,53</sup>.

Επομένως οι «δεξαμενές» του ιού HIV (reservoirs) συνεχίζουν να αποτελούν αντικειμενικό εμπόδιο για την εκρίζωση της HIV λοίμωξης αλλά ακόμα και για την εύρεση λειτουργικών θεραπειών, αφού συγκεκριμένα ανατομικά διαμερίσματα π.χ. μικρογλοιακά κύτταρα του ΚΝΣ, λεμφικός ιστός, GALT αποτελούν προβληματικές θέσεις για ανοσολογική αναγνώριση αλλά εμφανίζονται επίσης και ως προβληματικές περιοχές για επιτυχή επίτευξη θεραπευτικών συγκεντρώσεων των χορηγούμενων αντιρετροϊκών παραγόντων (προβληματική φαρμακοκινητική και φαρμακοδυναμική/PK/PD)<sup>8,9,13,27,47,52,53</sup>.

### **3.1.2.Δ Δυσλειτουργία του ανοσολογικού συστήματος (φυσικής και ειδικής ανοσίας) προκαλούμενη από την HIV λοίμωξη.**

Είναι αποδεκτό πια από την επιστημονική κοινότητα ότι κατά την διάρκεια της HIV λοίμωξης επέρχονται δραματικές δυσλειτουργικές διαταραχές στο λεμφικό ιστό των λεμφαδένων (ίνωση) αλλά και του GALT (απώλεια των Th17 κυττάρων και κατάλυση του λειτουργικού εντερικού επιθηλιακού φραγμού), το θύμο αδένα (ίνωση και διαταραχή της μικροαρχιτεκτονικής των στρωματικών του κυττάρων) αλλά και στο μυελό των οστών<sup>13,44,48,49</sup>. Αυτό επέχει δυνητικά σοβαρές αρνητικές επιδράσεις τόσο στο κυτταρικό όσο και στο χυμικό σκέλος της ανοσίας του ξενιστή εν συνόλω (φυσική και επίκτητη ανοσία) **(Εικόνα 4)**<sup>13</sup>. Η χρόνια απρόσφορη ανοσολογική ενεργοποίηση έχει βασική αιτία την λειτουργική διάσπαση του εντερικού επιθηλιακού φραγμού, τη μαζική απόπτωση των μνημονικών CD4+ λεμφοκυττάρων και την επακόλουθη ανεμπόδιστη και αθρόα είσοδο στη συστηματική κυκλοφορία του λιποπολυσακχαρίδη (LPS), προκαλώντας σαφώς δυσλειτουργική απάντηση της ανοσίας που οδηγεί προφανώς στην αυξημένη εμφάνιση SNAEs, ανοσολογική εξάντληση (immune exhaustion), μείωση της πολυλειτουργικότητας και των τελεστικών λειτουργιών των κυττάρων της κυτταρικής και χυμικής ανοσίας αλλά ταυτόχρονα και αύξηση της απόπτωσης/πυρόπτωσης λόγω υψηλής έκφρασης των μορίων επιφανείας PD-1 και αντιφλεγμονωδών κυτταροκινών όπως της IL-10<sup>13,44,48,49</sup>.

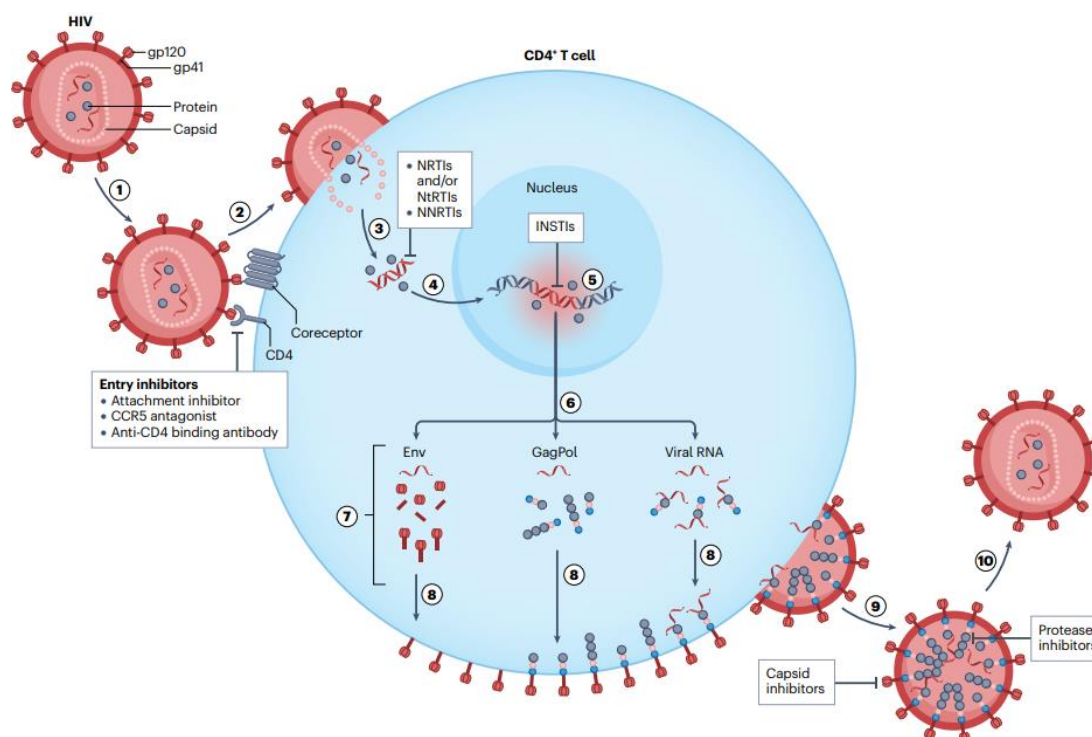
Στην καθημέρα κλινική πράξη οι περισσότεροι θεράποντες ιατροί που ασχολούνται με την παροχή φροντίδας υγείας των PLWH εκτός του απόλυτου αριθμού CD4+ λεμφοκυττάρων και του ιικού φορτίου HIV-1 RNA στο περιφερικό αίμα αξιολογούν και το λόγο (ratio) CD4+/CD8+<sup>13,44,48,49</sup>. Και αυτό δε γίνεται τυχαία, στα πλαίσια μίας καλά ιεραρχημένης ανοσολογικής καταγραφής, αλλά έμμεσα δίδει σημαντικότερες πληροφορίες, ειδικά όσο πιο χαμηλά από το 1 είναι ο λόγος (ratio), για την χρόνια δυσλειτουργική και απρόσφορη ανοσολογική ενεργοποίηση, αφού εξακολουθεί να παραμένει ενεργοποιημένος μεγάλος αριθμός CD8+ CTLs λεμφοκυττάρων<sup>13,44,48,49,54</sup>.



**Εικόνα 4:** Γεγονότα που προκύπτουν από την πρωτογενή HIV λοίμωξη (πρωτολοίμωξη) μέσω της εγκαθίδρυσης χρόνιας εμμένουσας λοίμωξης έως την τελική καταστροφή/κατάρρευση του ανοσοποιητικού συστήματος. CTLs: κυτταροτοξικά CD8+/cytolytic T lymphocytes, GALT: λεμφικός ιστός που σχετίζεται με το γαστρεντερικό/gut-associated lymphoid tissue (Ακριβής αναπαράσταση από: *Harrison's Principles of Internal Medicine, Twenty-First Edition (Vol.1 & Vol.2)*. Joseph Loscalzo, Anthony Fauci, Dennis Kasper (Author), Stephen Hauser, Dan Longo, J. Larry Jameson. March 28, 2022)<sup>14</sup>.

Τα NK (φυσικά κυτταροκτόνα κύτταρα) μέσω των ανασταλτικών υποδοχέων KIRs (killer cell immunoglobulin-like receptors) που αλληλοεπιδρούν με τα μόρια HLA/MHC τάξης I και την έκκριση περφορινών και γραενζύμων (granzymes) παρέχουν έμφυτη ανοσολογική άμυνα έναντι κυττάρων μολυσμένων από ιούς (όπως ο HIV), ορισμένων καρκινικών κυττάρων και αλλογενών κυττάρων<sup>50</sup>.

### 3.1.2.E Σύνοψη αρχών δράσεων σύγχρονης cART (Εικόνα 5).



**Εικόνα 5:** Οι αναστολείς εισόδου (**Entry inhibitors**) εμποδίζουν τον ιό HIV να προσκολληθεί και να εισέλθει στο κύτταρο. Οι νουκλεοσιδικοί αναστολείς της ανάστροφης μεταγραφάσης (Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors/**NRTIs**) ή οι νουκλεοτιδικοί αναστολείς της ανάστροφης μεταγραφάσης (Nucleotide Reverse Transcriptase Inhibitors/**NtRTIs**) είναι νουκλεοσιδικά/ νουκλεοτιδικά ανάλογα που ενσωματώνονται κατά προτίμηση στο DNA του ιού HIV, οδηγώντας σε τερματισμό της σύνθεσης του ιικού DNA και αναστέλλοντας την αντίστροφη μεταγραφή. Οι μη νουκλεοσιδικοί αναστολείς της ανάστροφης μεταγραφάσης (Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors/**NNRTIs**) δεσμεύονται κοντά στην ενεργό θέση του ενζύμου της ανάστροφης μεταγραφάσης, προκαλώντας αλλαγή διαμόρφωσης στο ένζυμο και αναστολή της αντίστροφης μεταγραφής. Οι αναστολείς ενσωμάτωσης/ιντεγκράσης (Integrase Strand Transfer Inhibitors/**INSTIs**) εμποδίζουν την ενσωμάτωση του γονιδιώματος του HIV στο γονιδίωμα του ξενιστή. Οι αναστολείς της πρωτεάσης (**PIs**) εμποδίζουν το ένζυμο HIV πρωτεάση να «διασπάσει» τα ανώριμα ισωμάτια του HIV έτσι ώστε αυτά να περιέχουν ώριμες λειτουργικές πρωτεΐνες. Οι αναστολείς του ιικού πυρηνικού καψιδίου (**Capsid inhibitors**) παρεμβαίνουν στο καψίδιο του HIV, το κέλυφος πρωτεΐνης που προστατεύει το γενετικό και ενζυματικό περιεχόμενο του HIV. Η νέα κατηγορία νουκλεοσιδικών αναστολέων μετατόπισης ανάστροφης μεταγραφάσης (Nucleoside Reverse Transcriptase Translocation Inhibitor/**NRTTI**) δεν φαίνεται σε αυτό το σχήμα, καθώς το πρώτο NRTTI (islatravir) βρίσκεται ακόμη υπό κλινική ανάπτυξη. **(Ακριβής αναπαράσταση εικόνας από τους R. L. Redondo και C. Reis Vieira και ακριβής αναπαράσταση από: Linda-Gail Bekker, Chris Beyrer, Nyaradzo Mgodhi, Sharon R. Lewin, Sinead Delany-Moretlwe, Babafemi Taiwo, Mary Clare Masters & Jeffrey V. Lazarus. HIV infection. Nature reviews disease primers. (2023) 9:42. <https://doi.org/10.1038/s41572-023-00452-3>)<sup>51</sup>.**

Ο HIV-2 και η ομάδα O του HIV-1 εμφανίζουν ενδογενή «intrinsic» αντι-ικκή αντοχή στους μη νουκλεοσιδικούς αναστολείς της αντίστροφης μεταγραφάσης (NNRTIs/Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors και στους αναστολείς της ιικής σύντηξης/Fusion Inhibitors/FIs)<sup>51</sup>.

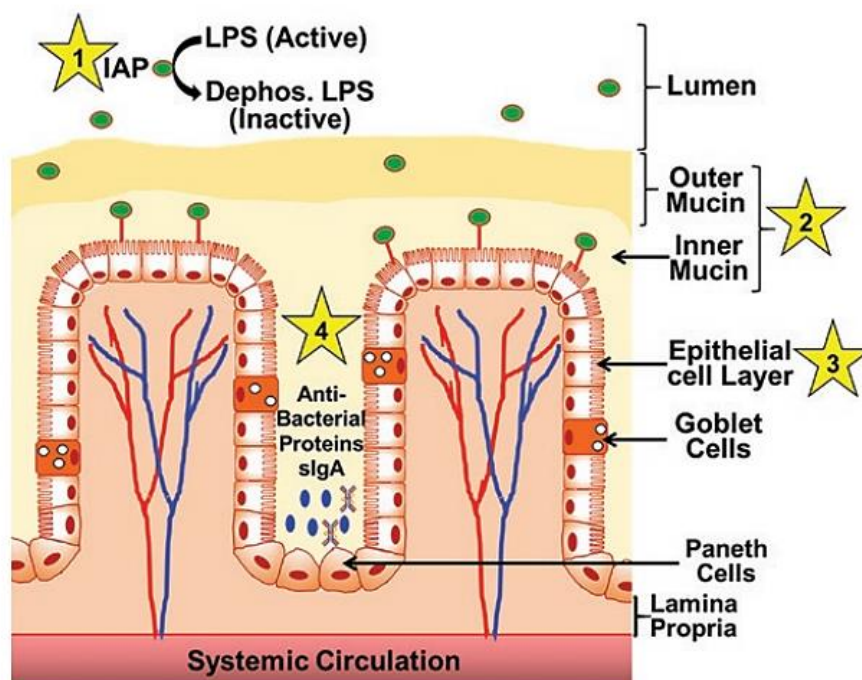
#### 4. Εντερικός επιθηλιακός/βλεννογόνιος φραγμός.

Εκτός από το ότι είναι το κύριο όργανο που εμπλέκεται στην πρόσληψη θρεπτικών συστατικών και ύδατος, ο εντερικός σωλήνας αποτελεί επίσης ουσιαστικό φραγμό κατά των επιβλαβών/τοξικών ουσιών από το εξωτερικό περιβάλλον που εισέρχονται στο σώμα κυρίως μέσω της καθημερινής διατροφής<sup>55</sup>. Το δέρμα μπορεί να γίνει μακροσκοπικά αντιληπτό ως το κύριο όργανο που προστατεύει από την έκθεση σε περιβαλλοντικούς παράγοντες, αλλά σε σύγκριση με τη συνολική επιφάνεια του δέρματος, που είναι ~2m<sup>2</sup>, η περιοχή των σημαντικών εσωτερικών βλεννογόνιων μεμβρανών/επιφανειών που εκτίθενται σε περιβαλλοντικούς παράγοντες είναι ~100m<sup>2</sup> και ~400m<sup>2</sup> για τους πνεύμονες και το πεπτικό, αντίστοιχα<sup>55</sup>. Επιπλέον, ο αριθμός των μικροοργανισμών που αποικίζουν τη γαστρεντερική οδό έχει υπολογιστεί ότι ξεπερνά τους 10<sup>14</sup>, που περιλαμβάνει ~10 φορές περισσότερα βακτηριακά κύτταρα από τον αριθμό των ανθρώπινων κυττάρων και πάνω από 100 φορές την ποσότητα του ανθρώπινου γονιδιωματικού περιεχομένου (αναφέρεται ευρέως στη σύγχρονη βιβλιογραφία ως εντερικό μικροβίωμα)<sup>56</sup>. Αυτή η «ευεργετική/επωφελούσα» σχέση είναι πιθανό να διαταραχθεί λόγω μιας αλλοιωμένης μικροβιακής σύνθεσης, γνωστής ως εντερικής μικροβιακής δυσβίωσης (dysbiosis), και ως εκ τούτου, εκτεταμένες ερευνητικές προσπάθειες επί του παρόντος κατευθύνονται προς την αξιολόγηση συγκεκριμένων αλλαγών στη βακτηριακή σύνθεση κατά τη διάρκεια της εντερικής δυσβίωσης<sup>55,56</sup>.

Η γαστρεντερική οδός υπόκειται σε διαρκή καθημερινή έκθεση σε χιλιάδες μικροοργανισμούς και θρεπτικά συστατικά μέσω της διατροφής<sup>55,56</sup>. Επομένως, η διατήρηση της ομοιόστασης του εντέρου απαιτεί ένα πολύπλοκο σύστημα ικανό να εκτελεί διάφορες λειτουργίες, όπως η αποτοξίνωση ενδοτοξινών που προέρχονται από βακτήρια, ο περιορισμός της άμεσης επαφής/αλληλεπίδρασης με βακτήρια ή παθογόνα, η ρύθμιση της απορρόφησης θρεπτικών συστατικών περιορίζοντας τη μεταφορά τοξικών ουσιών ή βακτηρίων και η ανάπτυξη αποτελεσματικής ανοσοαπόκρισης ή ο περιορισμός της ανάπτυξης παθογόνων βακτηρίων<sup>55,56</sup>. Συνεπώς, ο εντερικός επιθηλιακός φραγμός έχει εξελιχθεί ως λειτουργική μονάδα οργανωμένη σε ένα σύστημα πολλαπλών στρωμάτων, παρέχοντας ένα φυσικό καθώς και ένα λειτουργικό φραγμό (Εικόνα 6)<sup>55</sup>.

Τα πολλαπλά στρώματα αυτού του φραγμού, ξεκινώντας από τον εντερικό αυλό έως τη συστηματική κυκλοφορία, περιλαμβάνουν: (1) την ενδοαυλική εντερική αλκαλική φωσφατάση (IAP) που αποφωσφορυλιώνει το λιποπολυσακχαρίδη της βακτηριακής ενδοτοξίνης (LPS) και την αδρανοποιεί, (2) το στρώμα βλέννας που παρέχει ένα φυσικό φραγμό που αποτρέπει τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ βακτηρίων του εντέρου και εντερικών επιθηλιακών κυττάρων, (3) τους σταθερούς δεσμούς (tight junctions) μεταξύ των επιθηλιακών κυττάρων που περιορίζουν την παρακυτταρική μεταφορά βακτηρίων ή/και των βακτηριακών προϊόντων στη συστηματική κυκλοφορία και (4) τις αντιβακτηριακές πρωτεΐνες που εκκρίνονται από τα εξειδικευμένα εντερικά επιθηλιακά κύτταρα ή τα κύτταρα Paneth και η IgA που εκκρίνεται από τα κύτταρα

του ανοσοποιητικού που υπάρχουν στη βλεννογόνο μυϊκή στιβάδα (lamina propria), που ευρίσκεται κάτω από το στρώμα των επιθηλιακών κυττάρων<sup>55,57,58</sup>.



**Εικόνα 6:** Τα «στρώματα» του επιθηλιακού εντερικού φραγμού. Ο λειτουργικός εντερικός επιθηλιακός φραγμός αποτελείται από τέσσερα «στρώματα» (που φαίνονται με τους αριθμούς 1-4) που εκτείνονται από τον αυλό που περιέχει εντερικά βακτήρια και βακτηριακή ενδοτοξίνη (λιποπολυσακχαρίδη/LPS). Στο στρώμα 1 η εντερική ενδοαυλική αλκαλική φωσφατάση (IAP), που απελευθερώνεται από τα εντερικά επιθηλιακά κύτταρα, αποφωσφορυλιώνει την LPS του αυλού σε ανενεργό μορφή, παράγοντας Dephospho-LPS. Το στρώμα βλέννας/Mucin layer (στρώμα 2), που αποτελείται από ένα άκαμπτο προσαρτημένο εσωτερικό στρώμα και ένα χαλαρό εξωτερικό στρώμα, παρέχει το πρώτο φυσικό φράγμα που περιορίζει την αλληλεπίδραση μεταξύ των βακτηρίων του εντερικού αυλού και των εντερικών επιθηλιακών κυττάρων. Ένα μόνο στρώμα επιθηλιακών κυττάρων (στιβάδα 3) διαχωρίζει τον αυλό από τη συστηματική κυκλοφορία. Εξειδικευμένα εκκριτικά κύτταρα της επιθηλιακής στιβάδας, δηλαδή τα κυπελλοειδή (goblet) και τα κύτταρα Paneth, συμβάλλουν στο σχηματισμό του στρώματος βλέννας και στην παραγωγή αντιβακτηριακών πρωτεϊνών, αντίστοιχα. Αντιβακτηριακές πρωτεΐνες/πεπτίδια που προέρχονται από τα κύτταρα Paneth, μαζί με την εκκρινόμενη IgA (sIgA) από πλασματοκύτταρα που υπάρχουν στη βλεννογόνο μυϊκή στιβάδα (lamina propria), περιορίζουν την ανάπτυξη βακτηρίων και αντιπροσωπεύουν το τέταρτο στρώμα (στιβάδα 4) του επιθηλιακού εντερικού φραγμού. **Ακριβής αναπαράσταση εικόνας από: Ghosh S. S., Wang J., Yannie P. J., & Ghosh S. (2020). Intestinal Barrier Dysfunction, LPS Translocation, and Disease Development. Journal of the Endocrine Society, 4(2). doi:10.1210/jendso/bvz039.<sup>55</sup>**

Η εντερική αλκαλική φωσφατάση (IAP) εκφράζεται και εκκρίνεται από τα εντερικά επιθηλιακά κύτταρα και παραμένει ενεργή εντός του βλεννογόνιου στρώματος βλέννας καθώς και εντός του αυλού<sup>55,56,57,58</sup>. Εκτός από τη ρύθμιση της έκκρισης των διττανθρακικών και του pH της επιφάνειας του δωδεκαδακτύλου και της απορρόφησης λιπαρών οξέων μακράς αλυσίδας, η IAP αφαιρεί φωσφορικές ομάδες



από υποστρώματα όπως η βακτηριακή ενδοτοξίνη LPS και τα μοριακά πρότυπα αναγνώρισης παθογόνων/PAMPs (π.χ. flagellin, CpG DNA) αμβλύνοντας κατά αυτό τον τρόπο την τοπική εντερική φλεγμονή<sup>55,56,57,58</sup>. Επιπλέον, αποφωσφορυλιώνει την τριφωσφορική αδενοσίνη (ATP) και τη διφωσφορική αδενοσίνη (ADP) στον εντερικό αυλό<sup>57,58</sup>. Τα αυξημένα επίπεδα του ATP στον αυλό αναστέλλουν την ανάπτυξη των συμβιωτικών μικροοργανισμών και διαταράσσουν τη βακτηριακή ομοιόσταση<sup>57,58</sup>. Ενώ όλες αυτές οι λειτουργίες της IAP είναι σημαντικές για τη διατήρηση της εντερικής ομοιόστασης, είναι η ικανότητα της IAP να απενεργοποιεί την LPS που την τοποθετεί ως την πρώτη γραμμή άμυνας του εντερικού αυλού<sup>57,58</sup>. Η LPS, συστατικό του κυτταρικού τοιχώματος των gram-αρνητικών βακτηρίων, είναι άφθονο στο γαστρεντερικό σωλήνα και είναι υπεύθυνο για την πρόκληση συστηματικής φλεγμονής και σηπτικής καταπληξίας<sup>56</sup>. Η τοξικότητα της LPS εντοπίζεται στο τμήμα λιπιδίου-A, το οποίο της επιτρέπει να συνδέεται με τους υποδοχείς TLR4<sup>14</sup>. Η αφαίρεση μίας από τις δύο φωσφορικές ομάδες στο τμήμα του λιπιδίου-A μειώνει την τοξική δράση της LPS κατά 100 φορές<sup>14,55</sup>. Η Dephospho-LPS εξακολουθεί να συνδέεται με τον TLR4 αλλά κυρίως δρα ως ανταγωνιστής του<sup>55,56</sup>. Αυτή η μείωση της τοξικότητας της LPS αναστέλλει την κατάντη ενδοκυτταρική σηματοδότηση, οδηγώντας σε μείωση της ενεργοποίησης του πυρηνικού μεταγραφικού παράγοντα NF-κΒ και στην σαφώς μειωμένη απελευθέρωση προφλεγμονωδών κυτταροκινών<sup>14,55,56</sup>.

Σε αντίθεση με την IAP που αντιπροσωπεύει έναν πραγματικά «λειτουργικό» φραγμό, το στρώμα βλέννας του εντερικού βλεννογόνου (ή το δεύτερο στρώμα του εντερικού επιθηλιακού φραγμού) είναι το πρώτο «φυσικό» φράγμα που συναντούν τα βακτήρια στον γαστρεντερικό σωλήνα<sup>55,57,58</sup>. Αποτελείται από 2 στρώματα: ένα εσωτερικό στρώμα που είναι άκαμπτα προσκολλημένο στα επιθηλιακά κύτταρα και ένα εξωτερικό στρώμα που είναι παχύτερο αλλά πολύ πιο χαλαρό και λιγότερο προσκολλημένο (**Εικόνα 6**)<sup>55</sup>. Το εσωτερικό στρώμα του βλεννογόνου δεν επιτρέπει στα βακτήρια να διεισδύσουν, διατηρώντας την επιφάνεια των επιθηλιακών κυττάρων απαλλαγμένη από την άμεση επαφή τους με τα βακτήρια<sup>55,56</sup>. Αντίθετα, το εξωτερικό στρώμα βλέννας του βλεννογόνου φιλοξενεί κοινά/συμβιωτικά βακτήρια που εμποδίζουν την είσοδο παθογόνων βακτηρίων στο εξωτερικό στρώμα καθώς και στο εσωτερικό στρώμα της βλέννας<sup>55,56</sup>.

Αυτά τα δύο στρώματα του βλεννογόνου αποτελούνται από νερό (~95%), γλυκοπρωτεΐνες (1-10%), καθώς και από ηλεκτρολύτες, αντισώματα και νουκλεϊκά οξέα<sup>55</sup>. Η υψηλού βαθμού γλυκοζυλιωμένη πρωτεΐνη (MUC2) του στρώματος της βλέννας είναι η κύρια γλυκοπρωτεΐνη που εκκρίνεται από εξειδικευμένα επιθηλιακά κύτταρα που ονομάζονται κυπελλοειδή (goblet cells)<sup>55</sup>. Μετά την έκκριση, η MUC2 ενσωματώνεται σε ένα ενυδατωμένο και διευρυμένο δίκτυο με άλλες εκκρινόμενες πρωτεΐνες, σχηματίζοντας ένα οργανωμένο βλεννογόνο στρώμα<sup>55,56</sup>. Η ποσότητα και η σύνθεση του στρώματος βλέννας αντικατοπτρίζει μια ισορροπία μεταξύ της έκκρισης βλέννας και της διάβρωσης και αποικοδόμησής της από τα βακτήρια<sup>55,56</sup>. Η εξάντληση της στιβάδας της βλέννας είτε λόγω αυξημένης αποικοδόμησης είτε λόγω

ελλιπούς σύνθεσης θα έχει, μια καταλυτική αρνητική επίδραση σε αυτό το στρώμα του εντερικού επιθηλιακού φραγμού<sup>56</sup>.

Το εντερικό επιθήλιο είναι ένα ενιαίο στρώμα κυττάρων που δρα ως ένα εξαιρετικά αποτελεσματικό «φράγμα» αποτρέποντας τη διέλευση επιβλαβών περιεχομένων του αυλού, όπως ξένα αντιγόνα, μικροοργανισμών και τις τοξίνες αυτών, ενώ επιτρέπει τη μετατόπιση απαραίτητων διατροφικών θρεπτικών συστατικών, ηλεκτρολυτών και ύδατος από τον εντερικό αυλό στη συστηματική κυκλοφορία<sup>59,60</sup>. Αυτή η επιλεκτικότητα μεταφοράς διαμεσολαβείται από τη ρύθμιση δύο κύριων μηχανισμών, των διαεπιθηλιακών/διακυτταρικών και παρακυτταρικών οδών μεταφοράς<sup>59,60</sup>. Επιπλέον, αυτό το επιθηλιακό στρώμα θεωρείται ακατάλληλο για ενδοκυτταρική πρόσληψη με οποιονδήποτε μηχανισμό, λόγω ασυνήθιστα σημαντικών ποσοτήτων γλυκολιπιδίων που οργανώνονται σε μικροπεριοχές λιπιδικής σχεδίας (lipid raft microdomains) σταθεροποιημένες από τη δισθενή γαλεκτίνη 4 (galectin 4)<sup>59,60</sup>.

Θρεπτικά συστατικά όπως αμινοξέα, ηλεκτρολύτες, λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου και σάκχαρα μεταφέρονται σε φυσιολογικές συνθήκες μέσω της διακυτταρικής οδού των επιθηλιακών κυττάρων και αυτή η πρόσληψη ρυθμίζεται κυρίως από ειδικούς μεταφορείς<sup>59,60</sup>. Η μεταφορά μέσω του χώρου που υπάρχει μεταξύ των επιθηλιακών κυττάρων, ή η παρακυτταρική μεταφορά, ρυθμίζεται από μεσοκυττάρια σύμπλοκα που εντοπίζονται στην κορυφαία-πλάγια σύνδεση της μεμβράνης και κατά μήκος της πλάγιας επιφάνειας της μεμβράνης<sup>59,60</sup>. Αυτά τα μεσοκυττάρια σύμπλοκα περιλαμβάνουν τα δεσμοσώματα, τους προσκολλητικούς και σταθερούς δεσμούς<sup>59,60</sup>. Τα συμπλέγματα σύνδεσης και τα δεσμοσώματα είναι σημαντικά στη μηχανική διασύνδεση γειτονικών κυττάρων και αποτελούνται από διαμεμβρανικές πρωτεΐνες που συνδέουν γειτονικά κύτταρα με τον κυτταροσκελετό ακτίνης μέσω πρωτεϊνών κυτταροπλασματικών ικριωμάτων<sup>59,60</sup>. Οι σταθεροί σύνδεσμοι, από την άλλη πλευρά, είναι υπεύθυνοι για τη στεγανοποίηση του μεσοκυττάριου χώρου και ως εκ τούτου για τη ρύθμιση της παρακυτταρικής μεταφοράς<sup>59,60</sup>. Οι σταθερές συνδέσεις σχηματίζονται από πρωτεΐνες όπως οι οκλουδίνες (occludins) και τα μέλη της οικογένειας της κλαουδίνης (claudin) που διασχίζουν την κυτταροπλασματική μεμβράνη για να αλληλοεπιδράσουν με πρωτεΐνες από τα παρακείμενα κύτταρα<sup>59,60</sup>. Στην ενδοκυτταρική πλευρά της μεμβράνης, τα καρβοξυλικά τερματικά άκρα αυτών των πρωτεϊνών αλληλοεπιδρούν με άλλες πρωτεΐνες σταθερής σύνδεσης όπως οι ζονουλίνες ZO-1, ZO-2 και ZO-3<sup>59,60</sup>. Ενδοκυτταρικά, αυτές οι πρωτεΐνες συνδέονται με έναν δακτύλιο μικρονημάτων ακτίνης<sup>59,60</sup>. Κατά συνέπεια, η ακεραιότητα της στιβάδας των επιθηλιακών κυττάρων και των πρωτεϊνών σταθερής σύνδεσης αναφέρεται συχνά ως «εντερικός επιθηλιακός φραγμός» παρά τη σημαντική συνεισφορά των άλλων τριών «στρωμάτων»<sup>55,59,60</sup>.

Εκτός από την παροχή ενός φυσικού φραγμού μίας κυτταρικής στιβάδας, τα εξειδικευμένα εκκριτικά κύτταρα του εντερικού επιθηλίου ή τα κύτταρα Paneth που βρίσκονται στη βάση των κρυπτών του λεπτού εντέρου, δρουν ως σημαντικοί παράγοντες της έμφυτης ανοσίας μέσω της έκκρισης αντιμικροβιακών πεπτιδίων που

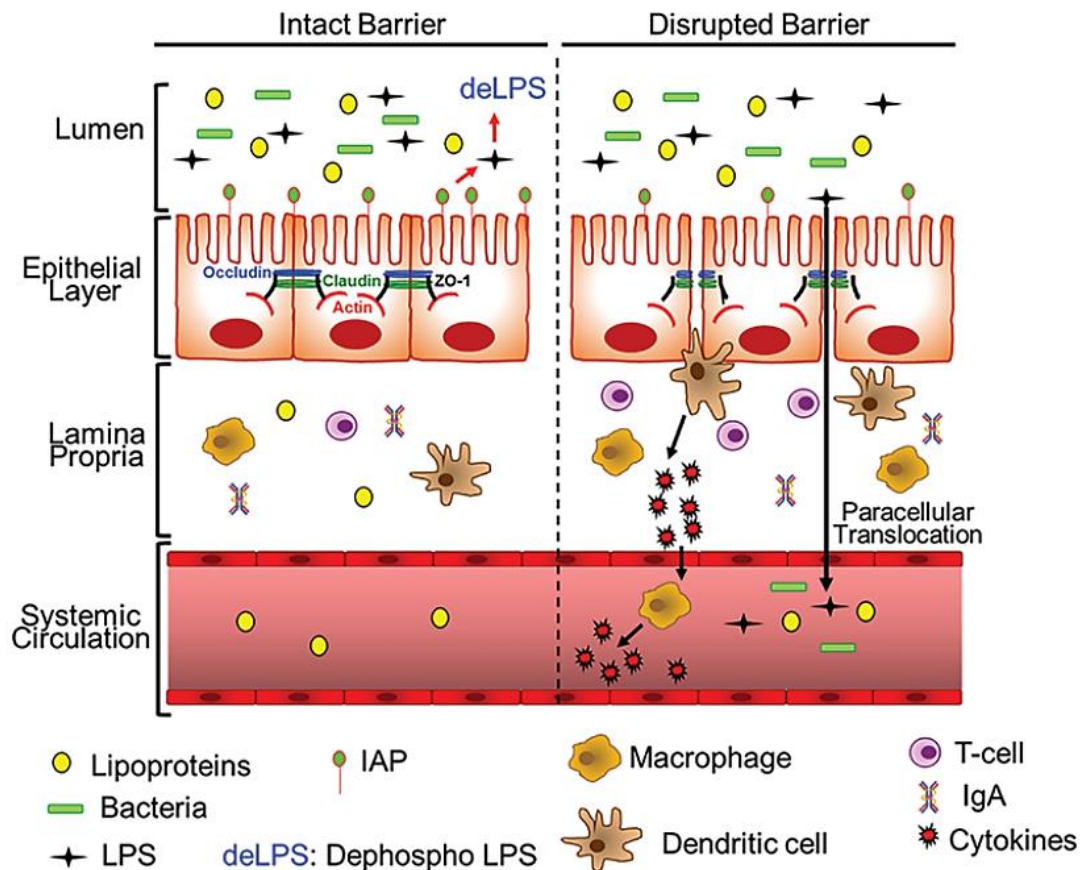
παίζουν βασικό ρόλο στην άμυνα του ξενιστή έναντι των μικροβίων του εντέρου<sup>55,59,60</sup>. Έτσι, τα εκκρινόμενα αντιβακτηριακά πεπτίδια αποτελούν το «τέταρτο» στρώμα του εντερικού φραγμού<sup>61</sup>. Το πιο άφθονο αντιμικροβιακό πεπτίδιο στον ανθρώπινο εντερικό σωλήνα είναι η α-ντεφενσίνη (α-defensin), μέλος της αμυντικής οικογένειας των αντιβακτηριακών πεπτιδίων<sup>61</sup>. Τόσο οι α- όσο και οι β-ντεφενσίνες είναι βακτηριοκτόνες, με δράση έναντι των αρνητικών κατά Gram καθώς και των θετικών κατά Gram βακτηρίων<sup>61</sup>.

Πρόσφατες μελέτες έχουν επίσης εμπλέξει το σημαντικό ρόλο των αμινοξέων στη ρύθμιση της έκφρασης των αντιμικροβιακών πεπτιδίων<sup>55,56,59,60</sup>. Για παράδειγμα, οι εκτροπές στον μεταβολισμό της τρυπτοφάνης προκαλούν εντερική φλεγμονή μέσω αλλαγών στην έκφραση των αντιβακτηριακών πρωτεϊνών και μια αύξηση στην έκφραση αυτών των πρωτεϊνών με τη μεσολάβηση της γλουταμίνης ευνοεί τη μείωση της φλεγμονής του εντέρου που παρατηρείται σε ζωικά μοντέλα<sup>56,59,60</sup>. Συλλογικά, αυτές οι μελέτες παρέχουν μια άμεση σύνδεση μεταξύ των διαταραχών αυτού του στρώματος της λειτουργίας του επιθηλιακού εντερικού φραγμού και στην ανάπτυξη της νόσου<sup>179</sup>.

Εκτός από τις αντιβακτηριακές πρωτεΐνες που εκκρίνονται από τα κύτταρα Paneth, η IgA που εκκρίνεται (sIgA) από τα ανοσοκύτταρα του πλάσματος που υπάρχουν στη βλεννογόνια μυϊκή στιβάδα (lamina propria) διαδραματίζει επίσης σημαντικό ρόλο στον περιορισμό των άμεσων αλληλεπιδράσεων μεταξύ των παθογόνων και της μονοστιβάδας των επιθηλιακών κυττάρων<sup>55,56,59,60</sup>. Ο πρωταρχικός μηχανισμός προστασίας με τη μεσολάβηση της sIgA είναι ο ανοσολογικός «αποκλεισμός» όπου η άμεση δέσμευση της sIgA σε μικροοργανισμούς ή τοξίνες αποτρέπει τον αποικισμό ή την τοξικότητα/βλάβη στα εντερικά επιθηλιακά κύτταρα<sup>55,56,59,60</sup>. Μέσα στη βλεννογόνια μυϊκή στιβάδα (lamina propria), η sIgA συνδέεται με τα διάφορα ανοσοσυμπλέγματα και διευκολύνει την απομάκρυνσή τους και εξασθενεί τις συστηματικές φλεγμονώδεις ανοσοαποκρίσεις<sup>55,56,59,60</sup>. Οι άνθρωποι εκκρίνουν περίπου 3 gr sIgA στον εντερικό αυλό κάθε ημέρα, αντικατοπτρίζοντας το ζωτικό της ρόλο στην προστασία της επιφάνειας του βλεννογόνου<sup>55</sup>.

Η λειτουργία του εντερικού επιθηλιακού φραγμού είναι κρίσιμη για τη λειτουργική ομοιότητα του εντέρου και η διάσπαση ή η δυσλειτουργία αυτού του φραγμού σχετίζεται με τοπικές καθώς και συστηματικές συνέπειες που οφείλονται σε μεγάλο βαθμό στην άμεση επαφή βακτηρίων/βακτηριακών προϊόντων με τα επιθηλιακά κύτταρα και την αλλόθεσή τους (translocation) στη συστηματική κυκλοφορία (**Εικόνα 7**)<sup>55,56,59,60</sup>.



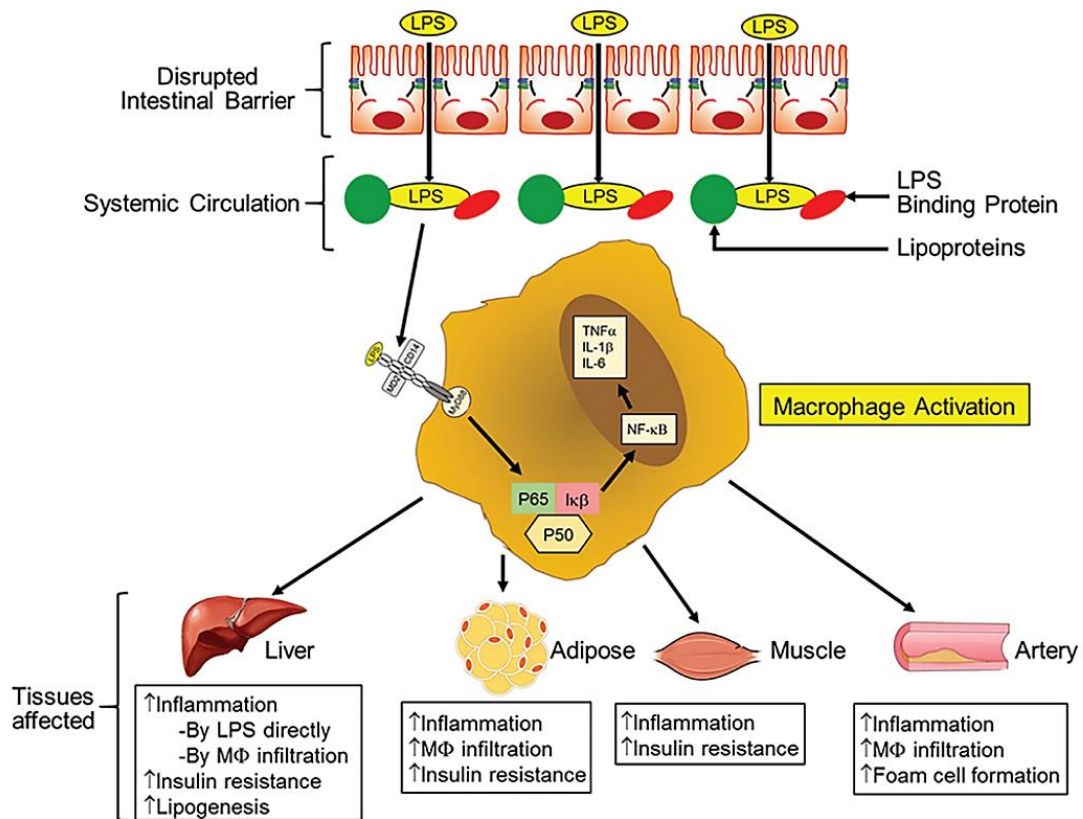


**Εικόνα 7: Διαταραχή της λειτουργίας του εντερικού επιθηλιακού φραγμού.** Υπό κανονικές συνθήκες με άθικτο τον φραγμό, ενώ τα εντερικά επιθηλιακά κύτταρα διευκολύνουν τη διακυτταρική κίνηση ιόντων και θρεπτικών ουσιών, η παρακυτταρική μεταφορά βακτηρίων/βακτηριακών προϊόντων όπως η LPS είναι περιορισμένη. Τα κύτταρα εντός της επιθηλιακής στιβάδας θωρακίζονται με πρωτεΐνες σταθερής σύνδεσης όπως η Occludin, η Claudin και η ZO-1, αποτρέποντας πολύ αποτελεσματικά την παρακυτταρική μεταφορά. Επιπλέον, η επαρκής/ομοιοστατική έκφραση της εντερικής αλκαλικής φωσφατάσης (IAP) αποφωσφορυλιώνει συνεχώς και αποτοξινώνει την LPS στον ενδοαυλικό χώρο. Η βλεννογόνια μυϊκή στιβάδα (lamina propria), κάτω από το επιθηλιακό στρώμα, περιέχει ανοσοκύτταρα, τόσο της φυσικής ανοσίας (π.χ. μακροφάγα, δενδριτικά κύτταρα) όσο και της ειδικής ανοσίας (π.χ. T-κύτταρα και πλασματοκύτταρα που παράγουν IgA [δεν απεικονίζεται εδώ]). Όταν ο εντερικός επιθηλιακός φραγμός διαταράσσεται (π.χ. από μια δυτικού τύπου δίαιτα, παθογόνα βακτήρια, αυξημένη παραγωγή LPS λόγω ανεπαρκούς αποτοξίνωσης εξαιτίας μειωμένων επιπέδων IAP), οι σταθερές συνδέσεις δυσλειτουργούν, επιτρέποντας την παρακυτταρική μεταφορά του LPS καθώς και των βακτηρίων του αυλού. Σε απόκριση σε αυτά τα ερεθίσματα, δενδριτικά κύτταρα ή/και μακροφάγα ενεργοποιούνται για να παράγουν προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες που όχι μόνο ενισχύουν την περαιτέρω προσέλκυση/διήθηση των ανοσοκυττάρων στη lamina propria αλλά επίσης ενεργοποιούν τα μακροφάγα στη συστηματική κυκλοφορία. Τα παρακυτταρικά μεταφερόμενα βακτήρια και η LPS εισέρχονται επίσης στη συστηματική κυκλοφορία, με αποτέλεσμα την εμφάνιση αυξημένης συστηματικής φλεγμονής. **Ακριβής αναπαράσταση εικόνας από: Ghosh S. S., Wang J., Yannie P. J., & Ghosh S. (2020). Intestinal Barrier Dysfunction, LPS Translocation, and Disease Development. Journal of the Endocrine Society, 4(2). doi:10.1210/jendso/bvz039<sup>55</sup>.**

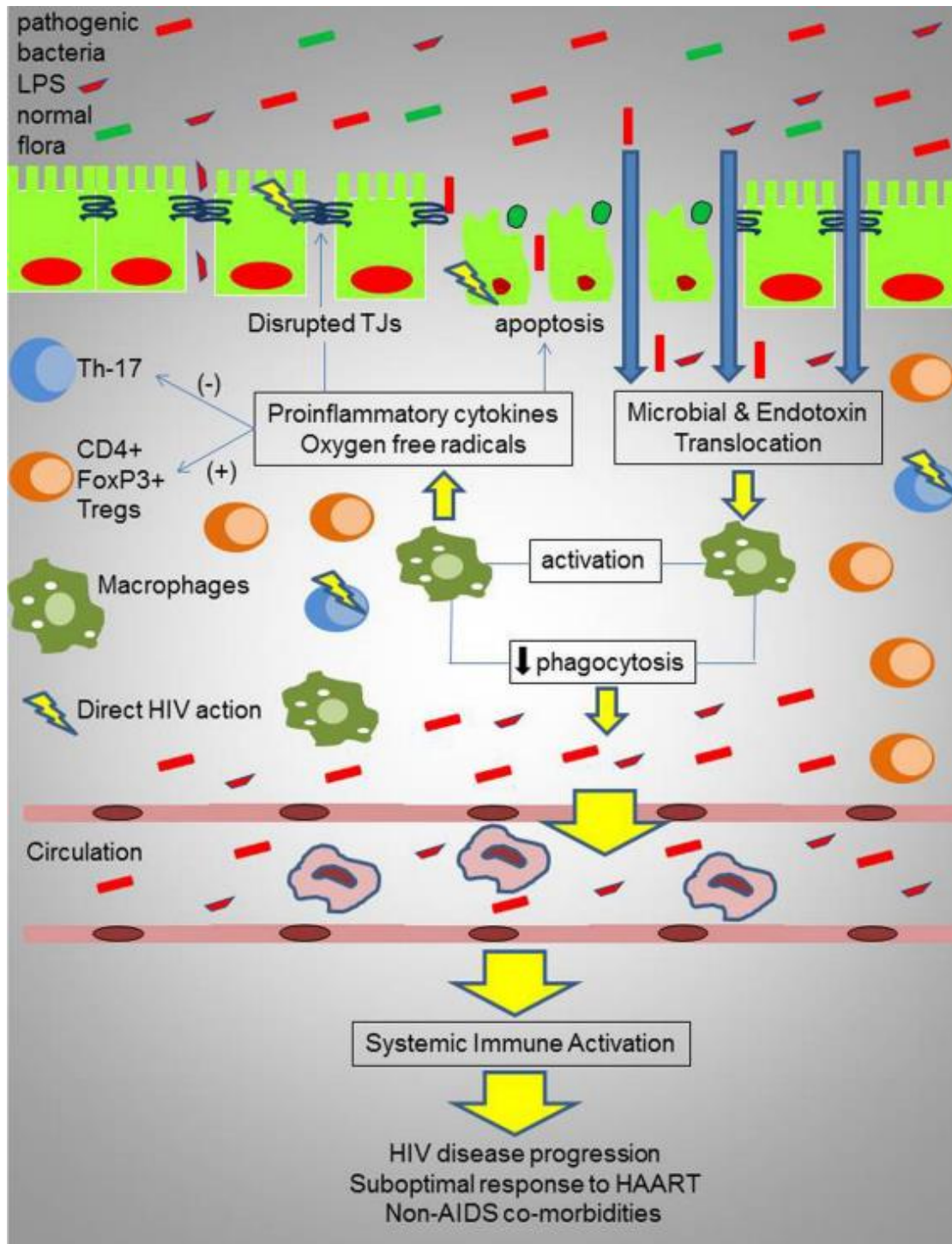
Η άμεση επαφή με βακτήρια/βακτηριακά προϊόντα οδηγεί στην ενεργοποίηση των ανοσοκυττάρων, τα ευρισκόμενα στη βλεννογόνια μυϊκή στιβάδα (lamina propria), μέσω σηματοδοτικών οδών που εξαρτώνται από τους υποδοχείς TLR4/MyD88 μέσω αλληλεπίδρασης με τον LPS που προέρχεται από βακτήρια του εντέρου, με

αποτέλεσμα την έκκριση προφλεγμονωδών μεσολαβητών που διαιωνίζουν την τοπική φλεγμονή<sup>62,63</sup>.

Ωστόσο, η κύρια συνέπεια μιας δυσλειτουργίας στον επιθηλιακό εντερικό φραγμό είναι η αυξημένη παρακυτταρική μεταφορά του LPS στη συστηματική κυκλοφορία<sup>56,60,62,63</sup>. Στο αίμα, ο LPS μεταφέρεται συνδεδεμένος είτε με την πρωτεΐνη δέσμευσης (LBP) είτε με άλλες λιποπρωτεΐνες και αλληλοεπιδρά με επιφανειακούς κυτταρικούς υποδοχείς (π.χ. TLR4) στα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος (innate immunity) ξεκινώντας μια φλεγμονώδη απόκριση (**Εικόνες 8, 9**)<sup>56,60,62,63</sup>. Οι υποδοχείς TLR4 από μόνοι τους δε δύναται να δεσμεύσουν το LPS αλλά απαιτείται η συνδρομή του υποδοχέα CD14 ως συμπαράγοντα, ο οποίος διευκολύνει τη μεταφορά του LPS στους TLR4 και MD2 που ρυθμίζουν την αναγνώριση του LPS<sup>55,62,63</sup>. Η πρωτεΐνη που δεσμεύει το LPS τον μεταφέρει στον υποδοχέα CD14<sup>62,63</sup>. Η σύνδεση αυτών των βοηθητικών μορίων πυροδοτεί το μεταγωγικό σήμα με αποτέλεσμα τον ομοδιμερισμό των TLR4 και την επακόλουθη ενδοκυτταρική σηματοδότηση μέσω του MyD88<sup>62,63</sup>. Αυτός ο καταρράκτης εν συνεχεία οδηγεί στην ενεργοποίηση του NF-κΒ που οδηγεί σε αυξημένη μεταγραφή προφλεγμονωδών κυτταροκινών όπως ο TNFα, η IL-1β και η IL-6<sup>55,62,63</sup>. Η διήθηση με ενεργοποιημένα μακροφάγα ή η άμεση ενεργοποίηση αυτών που κατοικοεδρεύουν στους περιφερικούς ιστούς μέσω του κυκλοφορόντος LPS οδηγεί σε ιστική φλεγμονή<sup>55,62,63</sup>. Η περαιτέρω διήθηση των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος (συμπεριλαμβανομένων των ουδετερόφιλων και μονοκυττάρων) ως απόκριση σε αυτό το προφλεγμονώδες περιβάλλον διαιωνίζει αυτή τη φλεγμονή, διαταράσσοντας την ιστική ομοιοστάση<sup>62,63</sup>. Για παράδειγμα, στο ήπαρ, η αυξημένη φλεγμονή οδηγεί σε αυξημένη αντίσταση στην ινσουλίνη και λιπογένεση με αποτέλεσμα λιπώδη ηπατική νόσο (MASLD) και μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα (MASH)<sup>9</sup>. Η αυξημένη φλεγμονή του λιπώδους ιστού ή των σκελετικών μυών και η επακόλουθη αντίσταση στην ινσουλίνη αποτελεί τη βάση της ανάπτυξης σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2<sup>9</sup>. Η αυξημένη διήθηση με ενεργοποιημένα μακροφάγα στο τοίχωμα των αρτηριών πυροδοτεί την έναρξη της αθηρογένεσης<sup>9</sup>.



**Εικόνα 8:** Συστηματικές επιπτώσεις της διαταραχής του επιθηλιακού εντερικού φραγμού. Τα αυξημένα επίπεδα του LPS στη συστηματική κυκλοφορία συνδέονται αιτιολογικά με την ανάπτυξη πολλαπλών και αλληλένδετων μεταξύ τους νοσολογικών καταστάσεων. Ο LPS συνδέεται με τις κυκλοφορούσες λιποπρωτεΐνες και αλληλοεπιδρά με την πρωτεΐνη σύνδεσής του (LBP). Ο LPS δρα ως έναυσμα για την ενεργοποίηση των μακροφάγων μέσω της εξαρτώμενης από τη LBP σύνδεσης με τους TLR4. Σε συντονισμό με τους υποδοχείς MD2 και CD14, αυτό έχει ως αποτέλεσμα τον ομοδιμερισμό (homodimerization) του TLR4 και την έναρξη της ενδοκυττάριας σηματοδότησης. Η ενεργοποίηση και η πυρηνική μετατόπιση του προφλεγμονώδους μεταγραφικού παράγοντα NF-κΒ οδηγεί στην τελική παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών (όπως των TNFα, IL-1β, IL-6), με αποτέλεσμα αυξημένη ιστική φλεγμονή. Στο ήπαρ, ο LPS που καταλήγει μέσω της πυλαίας κυκλοφορίας ενεργοποιεί τα μόνιμα ηπατικά μακροφάγα ή τα κύτταρα Kupffer και η αυξημένη φλεγμονή προάγει την αυξημένη ηπατική αντίσταση στην ινσουλίνη και τη λιπογένεση. Τα ενεργοποιημένα μακροφάγα διηθούν το λιπώδη ιστό και ο προκύπτων φλεγμονώδης λιπώδης ιστός εμφανίζει επίσης αντίσταση στην ινσουλίνη που αποτελεί το βασικό παθοφυσιολογικό μηχανισμό για την ανάπτυξη σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2. Η αυξημένη φλεγμονή οδηγεί επίσης σε αντίσταση στην ινσουλίνη στους σκελετικούς μύες. Η αυξημένη διήθηση των μακροφάγων που ενεργοποιούνται από το LPS στο αρτηριακό τοίχωμα επάγει τη δημιουργία αφρωδών κυττάρων (foam cells), με αποτέλεσμα την ανάπτυξη και εγκαθίδρυση της αθηρωματικής πλάκας. **Ακριβής αναπαράσταση εικόνας από: Ghosh S. S., Wang J., Yannie P. J., & Ghosh S. (2020). Intestinal Barrier Dysfunction, LPS Translocation, and Disease Development. Journal of the Endocrine Society, 4(2). doi:10.1210/jendso/bvz039<sup>55</sup>.**



**Εικόνα 9:** Συνοπτική επισκόπηση της δυσλειτουργίας του επιθηλιακού εντερικού φραγμού στην HIV λοίμωξη και η διασύνδεσή της με τη χρόνια απρόσφορη ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος: Ο ιός HIV προκαλεί μια πολυεπίπεδη και πολυπαραγοντική διαταραχή της ακεραιότητας του εντερικού επιθηλιακού φραγμού επηρεάζοντας αρνητικά όλα τα βασικά επίπεδα της τοπικής άμυνας αυτού. **a** Η μικροοικολογία του εντέρου μεταβάλλεται επιτρέποντας την υπερανάπτυξη παθογόνων βακτηρίων με επακόλουθη αύξηση του φορτίου ενδοτοξίνης του εντερικού αυλού. **b** Ο εντερικός «ανοσολογικός» φραγμός είναι σημαντικά διαταραγμένος μέσω της εξάντλησης των CD4+ T-κυττάρων, ιδιαίτερα των κυττάρων Th17. Η ανοσολογική απορρύθμιση αποδεικνύεται επίσης από τους αυξημένους πληθυσμούς των CD4+ FoxP3+ Tregs και την αυξημένη διήθηση της lamina propria



από μακροφάγα του βλεννογόνου, τα οποία ωστόσο παρουσιάζουν μειωμένη φαγοκυτταρική ικανότητα. c Η ακεραιότητα του επιθηλιακού εντερικού μηχανικού φραγμού, που περιλαμβάνει τα εντερικά επιθηλιακά κύτταρα και τις σταθερές συνδέσεις τους (TJs), διαταράσσεται. Ο HIV μεταβάλλει την έκφραση των TJs των εντεροκυττάρων «ανοίγοντας» έτσι την παρακυτταρική οδό και προάγοντας επιπλέον τον αποπτωτικό θάνατο των εντερικών επιθηλιακών κυττάρων. Τα παθογόνα μικρόβια και ο LPS από τον εντερικό αυλό διέρχονται μέσω του διαταραγμένου εντερικού μηχανικού φραγμού στη lamina propria, όπου δε μπορούν να απομακρυνθούν αποτελεσματικά από το δυσλειτουργικό ανοσοποιητικό σύστημα. Τα εντερικά μακροφάγα ενεργοποιούνται για να παράγουν προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες και δραστικές μορφές οξυγόνου/ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (ROS). Αυτό το φλεγμονώδες και οξειδωτικό περιβάλλον προάγει περαιτέρω τον αποπτωτικό θάνατο των εντερικών επιθηλιακών κυττάρων και διαταράσσει τη δομική και λειτουργική ακεραιότητα των TJs των εντεροκυττάρων, ενώ επιβαρύνει περαιτέρω τα ελαττώματα της τοπικής ανοσολογικής άμυνας αλλάζοντας την ισορροπία των εντερικών ανοσοκυττάρων μέσω της αναστολής της ανάπτυξης των Th17 κυττάρων και της επαγωγής της έκπτωσης και διαφοροποίησης των Tregs. Περισσότερα μικρόβια και LPS μπορούν τώρα να «διαφύγουν» από τον εντερικό αυλό και να αποκτήσουν πρόσβαση στη συστηματική κυκλοφορία, όπου προκαλούν συστηματική φλεγμονώδη απόκριση που σχετίζεται με την κλινική εξέλιξη της HIV νόσου, την υποβέλτιστη ανάκτηση των CD4+ T-κυττάρων παρά τη χορήγηση cART και με την ανάπτυξη SNAEs. **Ακριβής αναπαράσταση εικόνας από: S. F. Assimakopoulos, D. Dimitropoulou, M. Marangos, C. A. Gogos. Intestinal barrier dysfunction in HIV infection: pathophysiology, clinical implications, and potential therapies. Infection (2014) 42:951–959. DOI: 10.1007/s15010-014-0666-5. Epub 2014 Jul 29<sup>60</sup>.**

## II. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### 5. Ερευνητική προσέγγιση του θέματος.

#### 5.1 Ορισμός του ερευνητικού προβληματισμού.

Η καθολική χορήγηση στην καθημέρα κλινική πράξη της cART οδήγησε στη θεαματική βελτίωση του προσδόκιμου επιβίωσης των PLWH<sup>8,9,13,27</sup>.

Ενώ τα πρώτα χρόνια της εμφάνισης της πανδημίας από τον ιό HIV οι καιροσκοπικές/ευκαιριακές λοιμώξεις αποτελούσαν τη συχνότερη εκδήλωση της προοδευτικής ανοσολογικής κατάρρευσης και ανεπάρκειας, με την ευρεία χρήση της σύγχρονης cART είναι εφικτή η επίτευξη μη ανιχνεύσιμου ιικού φορτίου στο περιφερικό αίμα, ακόμα και με τις πιο σύγχρονες υπάρχουσες μοριακές τεχνικές, στην πλειονότητα των PLWH<sup>8,9,13,27</sup>. Ταυτόχρονα επιτυγχάνεται και η μερική, τουλάχιστον, ανοσολογική αποκατάσταση/ανασυγκρότηση (reconstitution) στο περιφερικό αίμα, όπως αυτή εκφράζεται με την αριθμητική αύξηση των CD4+ λεμφοκυττάρων<sup>8,9,13,27</sup>. Αυτό αναμφισβήτητα οδήγησε σε σημαντική αύξηση του προσδόκιμου επιβίωσης (σχεδόν συγκρίσιμο πλέον με αυτό του αντίστοιχου οροαρνητικού γενικού πληθυσμού) και στη δραστική μείωση της επίπτωσης και επιπολασμού των καιροσκοπικών/ευκαιριακών λοιμώξεων<sup>8,9,13,27</sup>.

Σύντομα όμως κατέστη αντιληπτό ότι παρά την επίτευξη της αριθμητικής αποκατάστασης των CD4+ λεμφοκυττάρων σε φυσιολογικά επίπεδα και την

καταστολή του ιικού φορτίου στο περιφερικό αίμα σε μη ανιχνεύσιμα επίπεδα, τα PLWH εμφάνιζαν μεγαλύτερα ποσοστά νοσηρότητας και θνητότητας σε σύγκριση πάντα με τον αντίστοιχο πληθυσμό των οροαρνητικών ατόμων<sup>8,9,13,27</sup>. Συγκεκριμένα εμφανίζουν μεγαλύτερη επίπτωση νοσημάτων που δε σχετίζονται, άμεσα τουλάχιστον σε πρώτη θεώρηση, με το AIDS (non AIDS defining diseases), όπως καρδιαγγειακά συμβλήματα, χρόνια νεφρική νόσο, χρόνια ηπατική νόσο (Metabolic Dysfunction Associated Liver Disease/MASLD/πρώην οριζόμενο λιπώδες ήπαρ/Metabolic Dysfunction-Associated Steatohepatitis/MASH/πρώην οριζόμενη μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα και ηπατική ίνωση), οστεοπόρωση, νευρογνωσιακές διαταραχές, νεοπλασίες συμπαγών οργάνων και λεμφώματα (π.χ. non-Hodgkin), καταστάσεων οριζόμενων πλέον στη σύγχρονη βιβλιογραφία ως SNAEs<sup>8,9,13,27</sup>.

Πιθανή ερμηνεία θα μπορούσε να θεωρηθεί η εγγενής κυτταροπαθογόνος δράση του HIV, αφού ο πολλαπλασιασμός του συνεχίζει να λαμβάνει χώρα σε ανατομικά/λειτουργικά διαμερίσματα (compartmentalization of virus replication), όπως στο λεμφικό ιστό που υπάρχει στον εντερικό σωλήνα (GALT), στους λεμφαδένες (προκαλώντας τόσο λειτουργική όσο και δομική βλάβη όπως ίνωση/remodeling), στο ΚΝΣ (τόσο στα περιαγγειακά μονοκύτταρα/μακροφάγα όσο και στα μικρογλοιακά κύτταρα) καθώς επίσης και σε κύτταρα του ουροποιογεννητικού συστήματος (π.χ. μεσαγγειακά, ποδοκύτταρα, μονοκύτταρα-μακροφάγα του διάμεσου νεφρικού ιστού)<sup>8,9,13,27</sup>.

Η προσέγγιση εξάλλου αυτών των ανατομικών «διαμερισμάτων» τόσο από τα κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα (CD8+/CTLs) της ειδικής προσαρμοστικής ανοσίας, όσο και από τα φυσικά φονικά κύτταρα (NK/Natural Killer Cells) και NKTs της μη ειδικής φυσικής ανοσίας, είναι προβληματική με αποτέλεσμα τη δημιουργία δεξαμενών (reservoir) του ιού που εδραιώνουν τη χρόνια λοίμωξη και ως εκ τούτου τη χρόνια απρόσφορη φλεγμονή<sup>8,9,13,27</sup>. Προβληματική επίσης θεωρείται και η επίτευξη ικανοποιητικών επιπέδων των χορηγούμενων αντιρετροϊκών φαρμακευτικών παραγόντων στα ανωτέρω βιολογικά διαμερίσματα, αφού με βάση τη μελετημένη, έως τώρα, φαρμακοκινητική και φαρμακοδυναμική τους συμπεριφορά (PK/PD) υστερούν στην επίτευξη υψηλών θεραπευτικών συγκεντρώσεων, καθιστώντας επί του παρόντος μη ρεαλιστική την επιδιωκόμενη πλήρη ιική εκρίζωση<sup>8,9,13,27</sup>.

Τα μνημονικά (memory) CD4+ λεμφοκύτταρα, που έχουν μεγάλη ημιπερίοδο ζωής (long lived cells), αποτελούν επίσης ζωτικό και καίριο στόχο προσβολής του ιού HIV και στα οποία η υπάρχουσα αντιρετροϊκή αγωγή δεν δρα στο ενσωματωμένο στο ανθρώπινο γονιδίωμα προ-ιικό δίκλωνο HIV DNA, και επομένως η εκρίζωση του ιού με τις υπάρχουσες θεραπευτικές προσεγγίσεις καθίσταται ανέφικτη<sup>8,9,13,27</sup>. Αυτό οδηγεί σε χρόνια δυσλειτουργία της κυτταρικής ανοσίας, αλλά και στη δυσλειτουργία της χυμικής και φυσικής ανοσίας καθώς επίσης και σε διαταραχές στη μεταξύ τους εναρμόνιση και εν τέλει στην λειτουργικά δομημένη απόδοσή τους<sup>8,9,13,27</sup>.

Η αύξηση των καρδιαγγειακών συμβάντων θα μπορούσε επίσης εν μέρει να αποδοθεί και στην επαγόμενη μιτοχονδριακή τοξικότητα και ισοουλινοαντίσταση που προκαλούσαν τα παλαιότερα αντιρετροϊκά φάρμακα, ήτοι τα

νουκλεοσιδικά/νουκλεοτιδικά ανάλογα της ανάστροφης μεταγραφάσης (NRTIs/NtRTIs) και οι αναστολείς της πρωτεάσης με φαρμακοενίσχυση (PIs/boosted)<sup>8,9,13,27</sup>.

Οι PLWH επίσης, λόγω συγκεκριμένων προτύπων διαβίωσης, των διατροφικών συνθηκών και της ευρείας υιοθέτησης της καπνιστικής συνήθειας, της κατάχρησης της αιθυλικής αλκοόλης και άλλων τοξικών ουσιών εντάσσονται σε ομάδες υψηλού κινδύνου για καρδιαγγειακά συμβάματα<sup>8,9,13,27</sup>. Αυτό αποδίδεται στα υψηλά ποσοστά εμφάνισης σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2, δυσλιπιδαιμίας, αλκοολικής και μη αλκοολικής στεατοηπατίτιδας και μεταβολικού συνδρόμου συγκριτικά με τον αντίστοιχο υγιή πληθυσμό<sup>8,9,13,27</sup>. Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και η χρόνια, απρόσφορη, ανοσολογική ενεργοποίηση με την επακολουθείσα χρόνια φλεγμονή επιτείνεται από το συνδυασμό των ανωτέρω μαζί με τη χρόνια λοίμωξη από τον ιό HIV, οδηγώντας στην εμφάνιση των νοσημάτων που δε σχετίζονται άμεσα με το AIDS (non AIDS defining diseases), δηλαδή των SNAEs<sup>8,9,13,27</sup>.

Με την καλύτερη κατανόηση των υποκείμενων παθοφυσιολογικών μηχανισμών της HIV λοίμωξης έγινε, εν μέρει τουλάχιστον, αντιληπτός ο ρόλος της χρόνιας ανοσολογικής ενεργοποίησης (chronic aberrant immune activation)–χρόνιας φλεγμονής και της εντερικής βακτηριακής αλλόθεσης (intestinal bacterial translocation) ως βασικών αιτιών της αυξημένης νοσηρότητας και θνητότητας αυτής της ομάδας ατόμων, ακόμα και σε αυτά με πλήρως κατεσταλμένο ικό πολλαπλασιασμό και φυσιολογικό αριθμό CD4+ λεμφοκυττάρων στο περιφερικό αίμα, ως αποτέλεσμα της χορήγησης σύγχρονης δραστικής cART<sup>8,9,13,27</sup>.

Η συστηματική ανασκόπηση της σχετικής τρέχουσας βιβλιογραφίας δεν καταδεικνύει με σαφή τρόπο αν κάποια από τις πλέον συχνά χρησιμοποιούμενες, «επί του πεδίου», συνδυαστικές αντιρετροϊκές θεραπείες (cART), που εμπεριέχουν είτε αναστολείς ιντεγκράσης/ενσωματάσης (INSTIs) είτε αναστολείς της πρωτεάσης/φαρμακοενισχυμένους (PIs/boosted), υπερέχει στη μείωση της απρόσφορης ανοσολογικής ενεργοποίησης και της εντερικής βακτηριακής αλλόθεσης σε PLWH υπό cART και έχουν επιτύχει πλήρη ιική καταστολή με απόλυτο αριθμό CD4+>350/μL, στο περιφερικό αίμα, για τουλάχιστον πάνω από 6 μήνες<sup>8,9,13,27,51</sup>.

### **5.2.1 Χρόνια ανοσολογική ενεργοποίηση σε PLWH που λαμβάνουν cART.**

Η χορήγηση της τρέχουσας cART αδιαμφισβήτητα οδηγεί σε ιολογική καταστολή (στο περιφερικό αίμα) και άμβλυνση της απρόσφορης ανοσολογικής ενεργοποίησης, αλλά δυστυχώς δεν επιτυγχάνουμε την φυσιολογική πρότερη ισορροπία<sup>8,9,13,65</sup>. Σε σύγκριση, πάντα, με τον αντίστοιχο οροαρνητικό γενικό πληθυσμό, τα επίπεδα της IL-6, οι δείκτες ενεργοποίησης των μονοκυττάρων όπως ο sCD14 και οι δείκτες ενεργοποίησης των T-κυττάρων παραμένουν σε αυξημένα επίπεδα παρά τη δραστική και συστηματική χορήγηση της cART<sup>8,9,13,65</sup>. Αυτό εξάλλου αποτελεί, εν μέρει τουλάχιστον, και εξήγηση του παρατηρούμενου φαινομένου στα PLWH υπό cART να εξακολουθούν να βιώνουν μεγαλύτερη και πιο πρώιμη νοσηρότητα και θνητότητα σε

σύγκριση με το γενικό αντίστοιχο οροαρνητικό πληθυσμό λόγω εκδήλωσης SNAEs (serious non-AIDS events)<sup>8,9,13,65</sup>.

Η χρόνια φλεγμονή επέχει κεντρικό ρόλο στη διαδικασία της αθηροσκλήρωσης, της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας μέσω μειούμενων επιπέδων NO, της δημιουργίας ελεύθερων και ενεργών ριζών οξυγόνου (ROS/Reactive Oxygen Species), της ανάπτυξης και εξέλιξης νεοπλασμάτων και της ηπατικής ίνωσης<sup>8,9,13,65</sup>. Ειδικότερα τα διαπιστούμενα υψηλότερα επίπεδα δεικτών ενεργοποίησης των CD8+ CTLs λεμφοκυττάρων, IL-6, TNFα έχουν συσχετιστεί άμεσα με κίνδυνο ανάπτυξης SNAEs σε PLWH υπό cART<sup>8,9,13,65</sup>.

Η παρουσία λανθανόντων συλλοιμώξεων (latent co-infections) δύναται επίσης με αποτελεσματικό τρόπο να συμβάλλει στη συνεχή διέγερση και δυσλειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος<sup>8,9,13,65</sup>. Η ασυμπτωματική λοίμωξη από τον ιό CMV έχει συσχετιστεί με την χρόνια δυσλειτουργική ενεργοποίηση των CD8+ CTLs-κυττάρων η οποία σχετίζεται ισχυρά με την πρόκληση αθηρογένεσης στα PLWH υπό cART<sup>8,9,13,65</sup>. Η συλλοιμώση με τον ιό της ηπατίτιδας C (HCV) σχετίζεται επίσης με υψηλότερου βαθμού χρόνια αυξημένη ενεργοποίηση των CD8+ CTLs-κυττάρων σε PLWH υπό cART και για αυτό ακριβώς το λόγο ο κλινικός ιατρός θα πρέπει τάχιστα να προβαίνει και σε θεραπεία εκρίζωσης της HCV λοίμωξης<sup>8,9,13,65</sup>. Επιπλέον, η βλάβη (injury) στην ακεραιότητα του επιθηλιακού φραγμού του εντερικού βλεννογόνου μπορεί να μην είναι πλήρως αναστρέψιμη παρά την αποτελεσματική χορήγηση cART<sup>66,67</sup>.

Παρά τις τεράστιες προόδους που έχουν επισυμβεί στον τομέα της ενίσχυσης της αποτελεσματικότητας της σύγχρονης cART και την απρόσκοπτη πρόσβαση των PLWH σε αυτήν, η επίτευξη της ιολογικής καταστολής με cART στο περιφερικό αίμα δεν αρκεί από μόνη της για να βελτιώσει πλήρως την αυξημένη, απρόσφορη και επιβλαβή εν τέλει ανοσολογική ενεργοποίηση<sup>66,67</sup>. Η πολύ χαμηλού βαθμού, αλλά υπαρκτή αντιγραφή/αναπαραγωγή (replication) του προ-ικού HIV DNA σε «δύσκολα», για τα χορηγούμενα αντιρετροϊκά φάρμακα αλλά και επαρκούς πρόσβασης της μη ειδικής και ειδικής ανοσίας, ανατομικά/λειτουργικά διαμερίσματα, όπως οι λεμφαδένες, η γαστρεντερική οδός, το ΚΝΣ, το ουροποιογεννητικό σύστημα, μπορεί να αποτελούν ένα σημαντικό μοχλό συνεχούς ενεργοποίησης του ανοσοποιητικού συστήματος του προσβληθέντος ξενιστή<sup>66,67</sup>. Οι πρωτεΐνες του HIV που παράγονται στα προαναφερθέντα διαμερίσματα, λόγω των χαμηλών επιπέδων της αντιγραφής του, μπορούν και αυτές να ενεργοποιήσουν με ιδιαίτερα αποτελεσματικό τρόπο τις χρόνιες ανοσολογικές αποκρίσεις<sup>66,67</sup>.

Επί του παρόντος, η έγκαιρη διάγνωση και η άμεση έναρξη της cART συνεχίζει να παραμένει, σε κλινικό τουλάχιστον επίπεδο, η πιο αποδοτική θεραπευτική παρέμβαση στην HIV λοίμωξη, αφού αποτελεί το μοναδικό αποδεδειγμένο «όπλο» στη μάχη εναντίον της άμβλυνσης της χρόνιας επιζήμιας φλεγμονής<sup>66,67</sup>.

### **5.2.2 Ελλιπής ανοσολογική ανασυγκρότηση παρά τη χορήγηση δραστικής cART.**

Είναι γεγονός ότι μετά την έναρξη της cART στους PLWH, οι απόλυτοι αριθμοί των CD4+ T λεμφοκυττάρων, έτσι όπως αυτοί προσδιορίζονται στο περιφερικό αίμα,



τυπικά συνεχίζουν να αυξάνονται με την πάροδο των ετών και η πλειονότητα των PLWH που λαμβάνουν αγωγή επιτυγχάνουν καταστολή της ιαιμίας του πλάσματος και σχετικά ικανοποιητική «αριθμητική» ανασυγκρότηση των CD4+ T-κυττάρων<sup>8,9,13,65,66,67</sup>. Ωστόσο, η έκπτυξή τους, η ικανότητα λειτουργικά δομημένου πολλαπλασιασμού τους και η διασύνδεσή τους με τα υπόλοιπα σκέλη της ανοσίας, οι τελεστικές δηλαδή εν συνόλω ικανότητες διαταράσσονται, και ποιοτικά η σύγχρονη cART δεν αποκαθιστά ποτέ πλήρως αυτό το είδος του ελλειμματικού κυτταρικού φαινοτύπου των CD4+ λεμφοκυττάρων<sup>8,9,13,65,66,67</sup>.

Παρόμοιες ποσοτικές και ποιοτικές διαταραχές παρατηρούνται και στα CD8+ CTLs λεμφοκύτταρα στα PLWH υπό cART<sup>8,9,13,65,66,67</sup>. Ο σταθερά αυξημένος αριθμός των CD8+ CTLs λεμφοκυττάρων παρά την απρόσκοπτη χρήση cART σε αρκετούς PLWH οδηγεί σε μείωση του λόγου (ratio) CD4+/CD8+ πολύ κάτω του 1 (φυσιολογικά η αναλογία είναι >1) , που σχετίζεται ευθέως και ανάλογα με χρόνια απρόσφορη ανοσολογική ενεργοποίηση<sup>53,54</sup>. Αυτός ο κυτταρικός φαινότυπος παρατηρείται τόσο στην ανοσογήρανση (immunosenescence) όσο και στην HIV λοίμωξη και αποτελούν μέρος ενός ειδικού τύπου φαινοτύπου «ανοσολογικού κινδύνου/immune risk» που προβλέπει πιθανότητα επικείμενου θανάτου ακόμη και στο γενικό πληθυσμό<sup>53,54</sup>. Μεταξύ των PLWH, παρά τη σύγχρονη cART, ο χαμηλός αριθμητικός λόγος CD4+/CD8+ προσδίδει αυξημένο κίνδυνο εκδήλωσης SNAEs και παρά το έντονο ερευνητικό ενδιαφέρον δεν έχει ανευρεθεί τελική θεραπευτική προσέγγιση<sup>53,54,65,66</sup>.

Τα εγγενή (innate) λεμφοειδή κύτταρα (ILCs), ιδιαίτερα τα ILC3 του παχέος εντέρου που παράγουν IL-17 και IL-22, εξαντλούνται σχεδόν μαζικά νωρίς κατά την πορεία της HIV-1 λοίμωξης, δεν αποκαθίστανται ποτέ πλήρως με cART και αυτό μπορεί να συμβάλλει στην παρατηρούμενη επίμονη δυσλειτουργία του εντερικού επιθηλιακού φραγμού<sup>8,9,13,65,66,67</sup>. Η HIV λοίμωξη χαρακτηρίζεται από διαταραχές στα γδ T-κύτταρα, που και αυτό οδηγεί στην επαγωγή εντερικής βακτηριακής αλλόθεσης<sup>8,9,13,65,66,67</sup>.

Τέλος, η HIV λοίμωξη χαρακτηρίζεται από επίμονα λειτουργικά ελαττώματα στη χυμική ανοσία, συμπεριλαμβανομένης της «προβληματικής» ενεργοποίησης των B-κυττάρων, της πολυκλωνικής υπεργαμμασφαιριναιμίας και αλλαγές στους φαινοτύπους των B-κυττάρων παρά τη χρήση cART<sup>8,9,13,65,66,67</sup>. Τα επίμονα χαμηλά επίπεδα των μνημονικών B λεμφοκυττάρων (memory B cells) μαζί με τις εμφανιζόμενες τελεστικές δυσλειτουργίες τους συμβάλλουν στον αυξημένο κίνδυνο για ορισμένες βακτηριακές νόσους, με χαρακτηριστικό παράδειγμα αναφοράς, την πνευμονιοκοκκική λοίμωξη σε PLWH υπό cART<sup>8,9,13,65,66,67</sup>.

### **5.2.3 Βιοδείκτες μικροβιακής εντερικής αλλόθεσης (Biomarkers of Intestinal Microbial Translocation).**

Δεδομένου ότι η «παραβίαση» του φραγμού του εντερικού επιθηλίου οδηγεί σε μικροβιακή αλλόθεση, η αξιολόγηση της βλάβης των επιθηλιακών κυττάρων (εντεροκύτταρα) αποτελεί έναν αξιόπιστο τρόπο προσέγγισής της<sup>64</sup>. Ένας αντικειμενικός, όσον αφορά σε κλινικά αξιοποιήσιμο επίπεδο, βιοδείκτης απώλειας

των εντεροκυττάρων είναι τα αυξημένα επίπεδα στο πλάσμα της εντερικής πρωτεΐνης που δεσμεύει τα λιπαρά οξέα (Intestinal Fatty Acid Binding Protein/I-FABP), που εκφράζεται αποκλειστικά από τα εντεροκύτταρα<sup>64,68</sup>. Η I-FABP είναι μια κυτταροπλασματική πρωτεΐνη που εκφράζεται ειδικά στα ώριμα εντεροκύτταρα του λεπτού εντέρου<sup>64,68</sup>. Τοπογραφικά, η I-FABP, είναι μια κυτταροπλασματική πρωτεΐνη που εντοπίζεται στα εντεροκύτταρα κυρίως της νήσιδας<sup>64,68</sup>. Σε υγιή άτομα, εμπλέκεται κυρίως στη μεταφορά των λιπαρών οξέων από την κορυφαία μεμβράνη των εντεροκυττάρων στο ενδοπλασματικό δίκτυο, όπου τα λιπαρά οξέα με την ενσωμάτωσή τους στη γλυκερόλη μετατρέπονται σε τριγλυκερίδια<sup>64,68</sup>. Επιπλέον σε υγιή άτομα, τα βασικά επίπεδα της I-FABP στο πλάσμα αντανακλούν τη φυσιολογική ανακύκλωση (απόπτωση και αναγέννηση) των εντεροκυττάρων, ενώ τα υψηλότερα επίπεδα μπορεί να σηματοδοτούν βλάβη (injury) του εντερικού επιθηλίου σε ορισμένες νοσολογικές οντότητες<sup>64,68</sup>. Τα διαπιστούμενα υψηλότερα επίπεδα της I-FABP σε PLWH είναι ενδεικτικά βλάβης (injury) του εντερικού επιθηλίου<sup>64,68</sup>.

Η I-FABP είναι ένας αξιόπιστος δείκτης εντερικής επιθηλιακής βλάβης (injury) μεταξύ των PLWH και τα υψηλότερα επίπεδα στη συστηματική κυκλοφορία σχετίζονται με αυξημένη θνητότητα και χαμηλότερο αριθμό CD4+ T-κυττάρων<sup>64,68</sup>. Υψηλότερα επίπεδα κυκλοφορούντος I-FABP έχουν αναφερθεί σε έτερες νοσολογικές οντότητες όπου το εντερικό τοίχωμα είναι τραυματισμένο (injured) ή εμφανίζει δυσλειτουργία, όπως σε σήψη, κολίτιδα (ιδιοπαθής φλεγμονώδης νόσος του εντέρου/ΙΦΝΕ), νοσογόνο παχυσαρκία, καρδιακή ανεπάρκεια<sup>64,68</sup>.

Οι υψηλές συγκεντρώσεις στη συστηματική κυκλοφορία της πρωτεΐνης που δεσμεύει το λιποπολυσακχαρίδη (LPS-binding protein/LPB) στους PLWH αποδίδονται στη μικροβιακή εντερική αλλόθεση<sup>64</sup>. Η παρουσία μικροβιακών προϊόντων στη συστηματική κυκλοφορία οδηγεί σε ενεργοποίηση των ανοσοκυττάρων (κυρίως της φυσικής ανοσίας/innate immunity) μέσω αλληλεπιδράσεων TLRs/TLR συνδέτη (ligand)<sup>64</sup>.

Ένας ευρέως χρησιμοποιούμενος δείκτης εντερικής μικροβιακής αλλόθεσης (Intestinal Microbial Translocation/MT) είναι η συγκέντρωση του λιποπολυσακχαρίτη (LPS) στο πλάσμα, ενός συστατικού των κυτταρικών τοιχωμάτων των Gram-αρνητικών βακτηρίων που αποτελεί συνδέτη (ligand) για τον υποδοχέα TLR4<sup>64</sup>. Η αναγνώριση από τα μονοκύτταρα του LPS μέσω του υποδοχέα TLR4 απαιτεί «διευκόλυνση» από το σύμπλεγμα του συνυποδοχέα διαφοροποίησης 14 (CD14) με την πρωτεΐνη που δεσμεύει το λιποπολυσακχαρίτη (LBP)<sup>64</sup>. Η σύνδεση του LPS με τον TLR4 προάγει την απόπτωση του υποδοχέα/μορίου CD14 από την κυτταρική μεμβράνη, οδηγώντας σε αυξημένα επίπεδα διαλυτού υποδοχέα CD14 (sCD14) στο πλάσμα<sup>64</sup>. Ο sCD14 είναι μια πρωτεΐνη οξείας φάσης που ρυθμίζει την απόκριση των μονοκυττάρων είτε παρουσιάζοντας το LPS στο σύμπλεγμα υποδοχέα-συνυποδοχέα TLR4-CD14 είτε εκτρέποντάς το σε μη ανοσοδραστικές λιποπρωτεΐνες και την απέκκριση τελικά από τα ηπατικά χοληφόρα τριχοειδή<sup>64</sup>.

Η LBP (LPS/binding protein) ανήκει σε μια υπεροικογένεια πρωτεϊνών που συντίθενται κυρίως στο ήπαρ, στα επιθηλιακά κύτταρα των πνευμόνων και του

γαστρεντερικού σωλήνα, ως γλυκοπρωτεΐνη ορού οξείας φάσης<sup>64</sup>. Η LBP είναι μοναδική στο ότι δεσμεύει το μικκύλιο LPS και μεταφέρει έτσι ένα μονομερές στο συνυποδοχέα CD14, το οποίο ενισχύει την απόκριση TLR4/MD-2<sup>64</sup>. Η LBP του ορού αυξάνεται ~10 φορές κατά τη διάρκεια της λοίμωξης, προσεγγίζοντας τα μέγιστα επίπεδα στην οξεία φάση, γεγονός που μειώνει τη φλεγμονώδη απόκριση στο LPS σε ορισμένες περιπτώσεις<sup>64</sup>. Η LBP αλληλοεπιδρά επίσης με άλλα λιποπεπτίδια και ενισχύει τις ανοσοαποκρίσεις μέσω των υποδοχέων TLR2<sup>64</sup>. Έτσι, θα μπορούσε να χαρακτηριστεί ως ένας διαλυτός υποδοχέας αναγνώρισης παθολογικών μοριακών προτύπων (PRRs)<sup>64</sup>. Λόγω των σταθερών της επιπέδων στο πλάσμα, εν αντιθέσει με το LPS, θα μπορούσε να αποτελέσει έναν αξιόπιστο βιοδείκτη έμμεσης εκτίμησης της εντερικής βακτηριακής αλλόθεσης (MT)<sup>64</sup>.

#### 5.2.4 Διαλυτοί βιοδείκτες ενεργοποίησης της ανοσιακής απόκρισης του ξενιστή.

Κατά την διάρκεια της HIV λοίμωξης, το τελικό αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης των πλασματοκυτταροειδών δενδριτικών κυττάρων (pDCs) με τον HIV στην ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού αποτελεί μια καθοριστική πτυχή της εξέλιξης της νόσου<sup>8,9,13,64,65,66,67</sup>. Τα pDCs είναι πιο ευαίσθητα στον ιό HIV λόγω της έκφρασης των υποδοχέων CD4 και TLRs, ιδιαίτερα των TLR7 και TLR9, των οποίων οι συνδέτες (ligands) τους κωδικοποιούνται από αντίστοιχα γονίδια του ιού HIV<sup>8,9,13,64,65,66,67</sup>.

Τα διεγερμένα pDCs εκκρίνουν σημαντικές ποσότητες ιντερφερόνης τύπου I (IFN-a/b) και 2,3-διοξυγενάσης ινδολεαμίνης (IDO) που ρυθμίζουν τις αντι-ικικές ιδιότητες των T-κυττάρων<sup>64</sup>. Υπό ομαλές συνθήκες, οι ιντερφερόνες τύπου I ενεργοποιούν ανοσολογικούς μηχανισμούς περιορισμού του ξενιστή, ασκώντας αποτελεσματικά μια αντι-ική δραστηριότητα<sup>64</sup>. Ωστόσο, η συστηματική και επίμονα υψηλή έκφραση των IFN-a/b, όπως παρατηρείται κατά τη διάρκεια της HIV λοίμωξης, έχει επιβλαβείς επιδράσεις στο ανοσοποιητικό σύστημα και οδηγεί στην προοδευτική εξέλιξη της νόσου<sup>64</sup>.

Η παρουσία του βακτηριακού LPS στη συστηματική κυκλοφορία κατά τη διάρκεια της HIV λοίμωξης είναι μια κρίσιμη συνέπεια της εντερικής μικροβιακής αλλόθεσης<sup>64</sup>. Τα μονοκύτταρα εκφράζουν αυξημένα επίπεδα υποδοχέων TLR4, του βασικού υποδοχέα για το LPS<sup>64</sup>. Η διέγερση των μονοκυττάρων με το LPS είναι ένας σημαντικός οδηγός ενεργοποίησης αυτού του κρίσιμου κυτταρικού πληθυσμού<sup>64</sup>. Τα ενεργοποιημένα μονοκύτταρα, με τη σειρά τους, εκκρίνουν άφθονες ποσότητες προφλεγμονωδών/φιλοφλεγμονωδών κυτταροκινών συμπεριλαμβανομένης της IL-6 και του παράγοντα νέκρωσης των όγκων (TNF-a)<sup>64</sup>. Η πιο σημαντική προφλεγμονώδης κυτταροκίνη που εκκρίνεται από τα μονοκύτταρα είναι η ιντερλευκίνη IL-6<sup>69</sup>.

Ο υποδοχέας της ουροκινάσης που ενεργοποιεί το πλασμινογόνο (urokinase plasminogen activator receptor/uPAR) είναι ένας υποδοχέας δεσμευμένος στην κυτταρική μεμβράνη και εκφράζεται σε πολλούς διαφορετικούς τύπους κυττάρων<sup>70,71,72,73,74,75,76,77,78</sup>. Η δέσμευση του αντίστοιχου συνδέτη του (ligand) πυροδοτεί μια φλεγμονώδη και ανοσολογική απόκριση με πρωτεόλυση,

μετανάστευση κυττάρων του ανοσοποιητικού και προσκόλλησή τους στο ενδοθήλιο<sup>70,71,72,73,74,75,76,77,78</sup>. Η βιολογική λειτουργία του uPAR χωρίς το συνδέτη του δεν είναι ακόμη καλά κατανοητή<sup>70,71,72,73,74,75,76,77,78</sup>. Προηγούμενες μελέτες έχουν τεκμηριώσει ότι η διαλυτή μορφή του uPAR (SuPAR) μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως προγνωστικός δείκτης πρόβλεψης ενός φάσματος νοσολογικών καταστάσεων<sup>70,71,72,73,74,75,76,77,78</sup>. Ωστόσο, η παθοφυσιολογική σημασία του SuPAR δεν περιορίζεται αποκλειστικά στο ρόλο του ως βιοδείκτη, αλλά φαίνεται επίσης να είναι ένας αιτιολογικός παράγοντας νεφρικών παθήσεων και μπορεί να εγείρει νέα ερωτήματα για πιθανή διπλή δράση σε άλλες συννοσηρότητες<sup>70,71,72,73,74,75,76,77,78</sup>. Στην HIV λοίμωξη, η έκφραση του uPAR ευοδώνεται στα μονοκύτταρα και στα T λεμφοκύτταρα, με τα υψηλότερα επίπεδα έκφρασής του σε PLWH χωρίς θεραπευτική αγωγή με cART<sup>70,71,72,73,74,75,76,77,78</sup>. Τα αυξημένα επίπεδα SuPAR έχουν συσχετιστεί με τα πιο προχωρημένα στάδια της HIV-1 λοίμωξης και με αυξημένο κίνδυνο θνητότητας, ενώ έχει θεωρηθεί ακόμη ότι είναι ισχυρότερος προγνωστικός παράγοντας θνητότητας από τον απόλυτο αριθμό των CD4+ T-κυττάρων και τα επίπεδα του HIV RNA στο πλάσμα<sup>70,71,72,73,74,75,76,77,78</sup>.

Το SuPAR είναι το διαλυτό αντίστοιχο του υποδοχέα ουροκινάσης ενεργοποίησης του πλασμινογόνου (urokinase plasminogen activator receptor/uPAR), η οποία είναι μια πρωτεΐνη που «αγκυροβολεί» στις κυτταρικές μεμβράνες με τη βοήθεια τμημάτων γλυκοζυλο-φωσφατιδυλίου (glycosyl-phosphatidyl/GPI)<sup>70,71,72,73,74,75,76,77,78</sup>. Το uPAR εντοπίζεται σε πολλά κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, όπως τα μονοκύτταρα, τα ενεργοποιημένα λεμφοκύτταρα και τα ιστικά μακροφάγα, αν και μπορεί επίσης να ανευρίσκεται στους ινοβλάστες και τα μυοκαρδιακά κύτταρα<sup>70,71,72,73,74,75,76,77,78</sup>. Το uPAR εμφανίζει πολλαπλές βιολογικές λειτουργίες και εμπλέκεται στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την αγγειογένεση και την ινωδολύση<sup>70,71,72,73,74,75,76,77,78</sup>. Υπό το πρίσμα λοιμωδών και μη λοιμωδών φλεγμονωδών καταστάσεων, το τμήμα GPI μέσω του οποίου «αγκυροβολεί» το uPAR στην κυτταροπλασματική μεμβράνη διασπάται και αυτό οδηγεί στην απελευθέρωση της διαλυτής μορφής του SuPAR<sup>70,71,72,73,74,75,76,77,78</sup>. Το SuPAR μπορεί να ανιχνευθεί σε διάφορα σωματικά βιολογικά υγρά όπως στον ορό, το πλάσμα, το εγκεφαλονωτιαίο υγρό και τα ούρα και αποτελεί βιοδείκτη σοβαρότητας της υποκείμενης νόσου<sup>70,71,72,73,74,75,76,77,78</sup>. Επί του παρόντος γνωρίζουμε ότι το SuPAR είναι ένας μη ειδικός βιοδείκτης και ότι πολλές άλλες και διαφορετικές νοσολογικές καταστάσεις, οξείες και χρόνιες, μπορεί να επηρεάσουν τα επίπεδά του στον ορό<sup>70,71,72,73,74,75,76,77,78</sup>.

Τα επίπεδα του SuPAR έχουν προταθεί ότι αντικατοπτρίζουν το βαθμό της φλεγμονώδους διεργασίας καθώς η συγκέντρωσή του σχετίζεται με τη συνολική ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος<sup>70,71,72,73,74,75,76,77,78</sup>. Ταυτόχρονα τα επίπεδά του συσχετίζονται θετικά με προφλεγμονώδεις βιοδείκτες, όπως ο παράγοντας νέκρωσης των όγκων-α (TNFa), ο αριθμός των λευκοκυττάρων και η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP)<sup>70,71,72,73,74,75,76,77,78</sup>. Έχει επίσης συσχετιστεί με βλάβες οργάνων σε διάφορες νοσολογικές οντότητες<sup>70,71,72,73,74,75,76,77,78</sup>. Ως εκ τούτου, τα αυξημένα επίπεδα SuPAR σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο συνδρόμου

συστηματικής φλεγμονώδους απόκρισης (SIRS), νεοπλασιών, εστιακής τμηματικής σπειραματοσκλήρυνσης, καρδιαγγειακής νόσου, σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2, λοιμωδών νόσων, προόδου της HIV λοίμωξης και της εν συνόλω θνητότητας<sup>70,71,72,73,74,75,76,77,78</sup>.

Τα επίπεδα SuPAR στο αίμα είναι σταθερά, χωρίς ημερήσιες διακυμάνσεις και χωρίς διαφοροποιήσεις μετά τη νηστεία<sup>70,71,72,73,74,75,76,77,78</sup>. Το SuPAR μπορεί να μετρηθεί στο αίμα, στο πλάσμα, στα ούρα, στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό, στο ασκитικό υγρό και στο υπεζωκοτικό υγρό<sup>70,71,72,73,74,75,76,77,78</sup>. Τα επίπεδα αυξάνονται και μειώνονται με την εξέλιξη και τη βελτίωση μιας νοσολογικής οντότητας, αντίστοιχα, αλλά πιο αργά σε σύγκριση π.χ. με την C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP)<sup>70,71,72,73,74,75,76,77,78</sup>.

Τα φυσιολογικά επίπεδα στο πλάσμα του SuPAR είναι 2-3 ng/mL σε υγιή άτομα, περίπου 3-4 ng/mL σε μη βαρέως πάσχοντες ασθενείς στα τμήματα επειγόντων περιστατικών και περίπου 9-10 ng/mL σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς<sup>70,71,72,73,74,75,76,77,78</sup>. Στο γενικό πληθυσμό, τα επίπεδα του SuPAR είναι υψηλότερα στις γυναίκες παρά στους άνδρες<sup>70,71,72,73,74,75,76,77,78</sup>. Τα επίπεδα σε νεαρούς υγιείς άνδρες και γυναίκες είναι περίπου 2,5 ng/mL και 3,0 ng/mL, αντίστοιχα<sup>70,71,72,73,74,75,76,77,78</sup>. Τα επίπεδα αυξάνονται ελαφρώς με την ηλικία, αλλά επηρεάζονται από τον τρόπο ζωής και τους παράγοντες αυξημένου καρδιαγγειακού κινδύνου<sup>70,71,72,73,74,75,76,77,78</sup>. Μεταξύ των παραγόντων του τρόπου ζωής (έξεις και τρόπος του ζην), το κάπνισμα είναι ο πιο σημαντικός (η καθημερινή καπνιστική συνήθεια) σχετίζεται με αύξηση των επιπέδων του SuPAR κατά 1-1,5 ng/mL σε σύγκριση με τους μη καπνιστές<sup>70,71,72,73,74,75,76,77,78</sup>. Επιπλέον, μία μη ισορροπημένη διατροφή και, σε μικρότερο βαθμό, η έλλειψη επαρκούς σωματικής δραστηριότητας μπορεί επίσης να αυξήσουν τα επίπεδα του SuPAR<sup>70,71,72,73,74,75,76,77,78</sup>. Ωστόσο, ο αντίκτυπος στα μετρούμενα επίπεδά του είναι σημαντικά μικρότερος σε σύγκριση με τον αντίκτυπο του καπνίσματος (περίπου 0,2 ng/mL για μια ανθυγιεινή διατροφή)<sup>70,71,72,73,74,75,76,77,78</sup>. Η συσχέτιση μεταξύ κατανάλωσης αιθυλικής αλκοόλης και SuPAR δεν είναι σαφής, αλλά η αλκοολική ηπατική νόσος προκαλεί πολύ υψηλά επίπεδα SuPAR<sup>70,71,72,73,74,75,76,77,78</sup>.

Οι παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου επηρεάζουν τα επίπεδα του SuPAR, καθώς υπάρχει ήπια θετική συσχέτιση με την LDL χοληστερόλη και σαφώς αρνητική συσχέτιση με την HDL χοληστερόλη<sup>70,71,72,73,74,75,76,77,78</sup>. Το προηγούμενο οξύ στεφανιαίο σύνδρομο προκαλεί αύξηση στα επίπεδά του κατά περίπου 0,4 ng/mL<sup>70,71,72,73,74,75,76,77,78</sup>.

Ένας δείκτης μάζας σώματος (BMI) 20-35 kg/m<sup>2</sup> δεν έχει αξιοσημείωτη επίδραση στα επίπεδά του, αλλά σε σοβαρή/νοσογόνο παχυσαρκία (BMI>40 kg/m<sup>2</sup>) τα επίπεδα είναι περίπου 0,5 ng/mL υψηλότερα από ό,τι στα άτομα με φυσιολογικό σωματικό βάρος<sup>70,71,72,73,74,75,76,77,78</sup>. Στο γενικό πληθυσμό, τα αυξημένα επίπεδα του SuPAR σχετίζονται με τη μελλοντική ανάπτυξη νεοπλασιών, καρδιαγγειακών παθήσεων και διαβήτη τύπου 2 και αποτελεί προγνωστικό παράγοντα πρόωρης θνητότητας και εμφάνισης χρόνιας νεφρικής νόσου<sup>70,71,72,73,74,75,76,77,78</sup>.

Σε PLWH, καταδείχθηκε ότι τα επίπεδα SuPAR είναι ελαφρώς αυξημένα και συγκεκριμένα αυξάνονται με την πρόοδο του σταδίου της νόσου (με βάση τα κριτήρια ΠΟΥ/WHO)<sup>70,71,72,73,74,75,76,77,78</sup>. Η πρώτη μελέτη του SuPAR στην HIV λοίμωξη έδειξε ότι τα επίπεδά του ήταν τουλάχιστον τόσο ισχυρός προγνωστικός δείκτης της φυσικής εξέλιξης της νόσου όσο ο απόλυτος αριθμός των CD4+ T λεμφοκυττάρων και το HIV RNA ιικό φορτίο<sup>70,71,72,73,74,75,76,77,78</sup>. Η cART προκαλεί μείωση των επιπέδων του SuPAR κατά περίπου 17%<sup>70,71,72,73,74,75,76,77,78</sup>. Ωστόσο, μετά από 5 έτη θεραπευτικής αγωγής με cART, τα επίπεδα που μετρούνται στους PLWH εξακολουθούν να είναι υψηλότερα από ό,τι στους υγιείς μάρτυρες<sup>70,71,72,73,74,75,76,77,78</sup>. Οι ανεπιθύμητες ενέργειες της θεραπείας σχετίζονται με υψηλότερα επίπεδα SuPAR<sup>70,71,72,73,74,75,76,77,78</sup>. Εκτός από τη συσχέτιση με τις ιολογικές και ανοσολογικές επιδράσεις της λοίμωξης, τα επίπεδα συσχετίζονται με την ηλικία, το μεταβολικό σύνδρομο, το κάπνισμα και τη χαμηλή μυϊκή μάζα<sup>70,71,72,73,74,75,76,77,78</sup>. Σε PLWH με ιολογική καταστολή που επιτυγχάνεται με τη χρήση δραστικής cART, το SuPAR φαίνεται να είναι ένας ανώτερος και ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας πρόβλεψης εμφάνισης SNAEs<sup>70,71,72,73,74,75,76,77,78</sup>.

Συλλογικά, αυτά τα δεδομένα υποδηλώνουν ότι τα παθοφυσιολογικά μονοπάτια που περιλαμβάνουν το SuPAR προβλέπουν γεγονότα που σχετίζονται έμμεσα με τον ιό HIV<sup>75,76,77,78</sup>. Το uPAR και η διαλυτή του μορφή (SuPAR) εμπλέκονται σε πολυάριθμες φυσιολογικές και παθολογικές οδούς (pathways), οι οποίες περιλαμβάνουν την οδό ενεργοποίησης του πλασμινογόνου, τη ρύθμιση της περικυτταρικής πρωτεόλυσης, τη ρύθμιση της διακίνησης κυτταρικών πληθυσμών (trafficking), της κυτταρικής προσκόλλησης, τη μετανάστευση (migration) και τον πολλαπλασιασμό μέσω αλληλεπιδράσεων με πρωτεΐνες στην εξωκυττάρια θεμέλιο ουσία (matrix)<sup>75,76,77,78</sup>. Τα αυξημένα επίπεδα του SuPAR μπορεί να αντικατοπτρίζουν την ανοσολογική ενεργοποίηση και προβλέπουν την εξέλιξη της νόσου και τη θνητότητα σε μη θεραπευόμενη HIV λοίμωξη<sup>76,77,78</sup>. Ένας πιθανολογούμενος μηχανισμός μέσω του οποίου τα υψηλότερα επίπεδα SuPAR ρυθμίζουν τη φλεγμονή και τον τραυματισμό (injury) των ιστών είναι η αναστολή της σύνδεσης ιντεγκρίνης-φωσφατιδυλοσερίνης (integrin-phosphatidylserine binding), μια αλληλεπίδραση που μεσολαβεί στην πρόσληψη αποπτωτικών κυττάρων από τα φαγοκύτταρα<sup>75,76,77,78</sup>.

Η IL-6 είναι ένα εκκρινόμενο γλυκοπεπτιδίο με μοριακό βάρος 25 kDa που αποτελείται από 184 αμινοξέα<sup>64,69</sup>. Τα μονοκύτταρα και τα μακροφάγα είναι οι κύριοι παραγωγοί της, αλλά και τα T-κύτταρα, τα B-κύτταρα, τα ηπατοκύτταρα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα, οι ινοβλάστες, τα κερατινοκύτταρα, τα μεσαγγειακά κύτταρα, τα λιποκύτταρα, καθώς και αρκετά κύτταρα όγκων μπορούν να παράγουν αυτοτελώς IL-6 ή μετά από κατάλληλη διέγερση<sup>64,69</sup>. Η IL-6 είναι μια κυτταροκίνη με πλειοτροπικές δράσεις και μπορεί να επηρεάσει διάφορες ανοσολογικές και φυσιολογικές διεργασίες, όπως την παραγωγή των πρωτεϊνών οξείας φάσης (π.χ. C-αντιδρώσα πρωτεΐνη/CRP, εψιδίνη/hercidin, κ.λπ.), τη φλεγμονώδη απόκριση, τις ειδικές για το αντιγόνο ανοσοαποκρίσεις, την αιμοποίηση, την απόπτωση/πυρόπωση, την κυτταρική διαφοροποίηση και τον κυτταρικό μεταβολισμό<sup>64,69</sup>.

Η παραγωγή της IL-6 κατά τη διάρκεια φλεγμονωδών καταστάσεων και λοιμώξεων επάγεται μέσω διέγερσης των κυττάρων από την IL-1 ή τον παράγοντα νέκρωσης των όγκων TNFα ή μέσω διέγερσης των υποδοχέων TLRs (PRRs) μετά τη δέσμευση από αυτούς των PAMPs ή DAMPs (alarmins)<sup>64,69</sup>. Η απορυθμισμένη, αυξημένη έκφραση της IL-6 έχει συνδεθεί με την παθογένεση αρκετών διαταραχών όπως οι χρόνιας φλεγμονώδεις νόσοι, οι αυτοάνοσες παθήσεις και η ανάπτυξη νεοπλασιών<sup>64,69</sup>. Η ανοσοπαθογόνος δράση της IL-6, είναι γνωστή, στη ρύθμιση της ανάπτυξης των όγκων, της αγγειογένεσης, της απόπτωσης, της μετάστασης και της αντίστασης στους χορηγούμενους θεραπευτικούς παράγοντες<sup>64,69</sup>. Στα PLWH, ακόμα και στην περίπτωση που έχει επιτευχθεί πλήρης ιολογική καταστολή με τη χορήγηση cART, τα επίπεδα της IL-6 δεν ομαλοποιούνται ποτέ στα πρότερα φυσιολογικά και αποτελούν χρήσιμο βιοδείκτη της χρόνιας απρόσφορης ανοσολογικής ενεργοποίησης και της πιθανότητας εμφάνισης SNAEs, κυρίως καρδιαγγειακών συμβαμάτων<sup>64,69</sup>.

Στον κλασικό καταρράκτη σηματοδότησης, μόνο τα κύτταρα που εκφράζουν τη διαμεμβρανική υποομάδα του α-υποδοχέα με μοριακό βάρος 80 kDa, τον IL-6R (mIL-6R, CD126) ανταποκρίνονται στην IL-6<sup>69</sup>. Το μονομερές σύμπλεγμα των IL-6 και mIL-6R συνδέεται με έναν ευρέως εκφραζόμενο υποομάδας β-υποδοχέα 130 kDa (gp130, CD130) και οδηγεί σε διμερισμό της gp130<sup>69</sup>. Η gp130 είναι ένα δεσμευτικό μόριο και αποτελεί μετατροπέα σήματος για πολλά μέλη της οικογένειας της IL-6 (π.χ. ογκοστατίνη M/oncostatin M, IL-11, ακτινωτό/ciliary νευροτροφικό παράγοντα, καρδιοτροφίνη-1/cardiotrophin-1, ανασταλτικό παράγοντα της λευχαιμίας, κυτταροκίνη ομοιάζουσα με καρδιοτροφίνη, IL-27 και IL-35)<sup>69</sup>.

Ωστόσο, υπάρχουν και διαλυτές μορφές με τις οποίες μπορεί να δημιουργηθεί ένα σύμπλοκο με την IL-6 και τη gp130<sup>64,69</sup>. Μια διαλυτή μορφή του υποδοχέα της IL-6 (sIL-6R) μπορεί να απελευθερωθεί με διάσπαση του δεσμευμένου στη μεμβράνη IL-6R από την ADAM 10/17 (μια πρωτεΐνη που περιέχει περιοχές δυσιντεκρίνης/disintegrin και μεταλλοπρωτεάσης) και μια άλλη μορφή sIL-6R μέσω εναλλακτικών ματισμάτων (splicing) του mRNA που τον μεταφράζει<sup>69</sup>. Επιπλέον, υπάρχει μια ακόμη διακριτή διαλυτή μορφή της gp130 (sgp130), η οποία δημιουργείται και αυτή από εναλλακτικό μάτισμα (splicing) του mRNA<sup>69</sup>. Είναι ιδιαίτερα ενδιαφέρον ότι ο sIL-6R όχι μόνο μπορεί να δεσμεύσει τον συνδέτη του, την IL-6, αλλά το σύμπλοκο IL-6 και sIL-6R μπορεί να συνδεθεί και να ενεργοποιήσει τη γλυκοπρωτεΐνη gp130 σε κύτταρα που δεν φέρουν το δεσμευμένο στη μεμβράνη υποδοχέα IL-6R<sup>69</sup>. Αυτή η διαδικασία έχει ονομαστεί IL-6 διασηματοδότηση (trans-signaling), διευρύνοντας έτσι το φάσμα των κυττάρων-στόχων για την δράση της IL-6 και εξηγεί ικανοποιητικά τις πλειοτροπικές λειτουργίες της<sup>69</sup>.

Πρόσφατα ανιχνεύθηκε και περιεγράφηκε επαρκώς ένα τρίτο μονοπάτι σηματοδότησης, το οποίο ονομάζεται δια-παρουσίαση μέσω της IL-6 (IL-6 trans-presentation)<sup>69</sup>. Μετά από την ειδική για το αντιγόνο αλληλεπίδραση των δενδριτικών κυττάρων (DCs), φαίνεται ότι η IL-6 που είναι ήδη ενδοκυτταρικά συνδεδεμένη με τον υποδοχέα IL-6R στα DCs μεταφέρεται στην επιφάνεια της κυτταροπλασματικής μεμβράνης<sup>69</sup>. Το δεσμευμένο στη μεμβράνη σύμπλοκο IL-

6/mIL-6R στα DCs στη συνέχεια αλληλοεπιδρά με τη gp130 στα T-κύτταρα οδηγώντας σε εκκίνηση (priming) των Th17 κυττάρων σε συνδυασμό με τον αυξητικό παράγοντα μετασχηματισμού-β2 (TGF-β2)<sup>69</sup>. Αυτό μπορεί να προκαλέσει τη δημιουργία παθολόγων και δυσλειτουργικών Th17 κυττάρων, (χρόνια) φλεγμονή και καταστολή των Tregs κυττάρων με τη συνδρομή της κυτταροκίνης IL-27<sup>69</sup>.

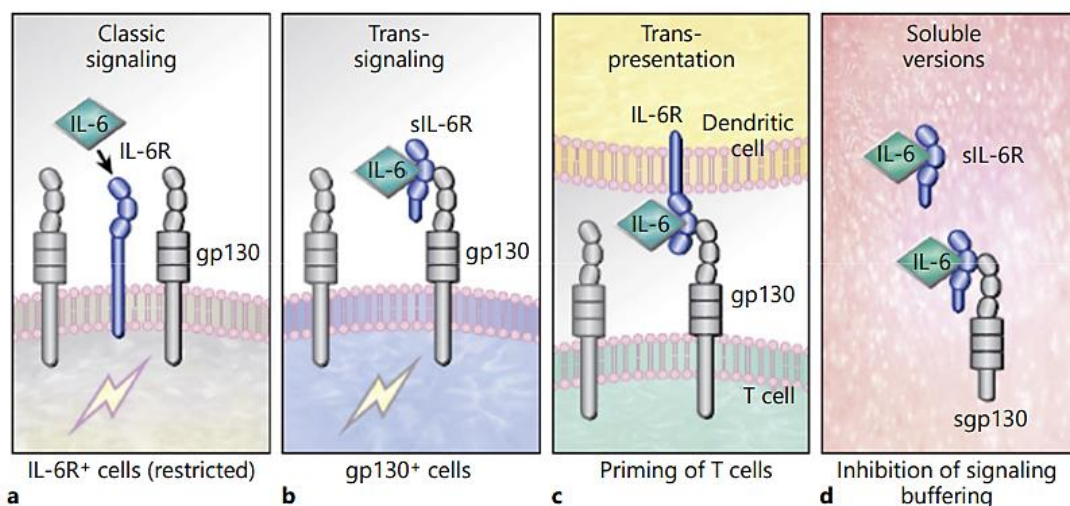
Σε υγιή άτομα, τα επίπεδα της IL-6 στην κυκλοφορία είναι εξαιρετικά χαμηλά και κυμαίνονται από 1–5 pg/mL<sup>64,69</sup>. Παραδόξως, η διαλυτή μορφή της πρωτεΐνης sIL-6R προσδιορίζεται στο πλάσμα σε συγκεντρώσεις μεταξύ 25 και 75 ng/mL<sup>64,69</sup>. Επιπλέον, η sgp130 ευρίσκεται σε αυξημένα επίπεδα στο αίμα, που κυμαίνονται γύρω στα 400 ng/mL<sup>64,69</sup>. Κατά τη διάρκεια της λοίμωξης και της φλεγμονής, τα επίπεδα της IL-6 έχει παρατηρηθεί να αυξάνονται σε περισσότερο από 100 ng/mL<sup>64,69</sup>. Οι υψηλές συγκεντρώσεις των sIL-6R και sgp130 στον ορό μπορούν να χρησιμεύσουν ως ένα συστηματικό ρυθμιστικό σύστημα που λειτουργεί ως προαγωγέας για τη διασηματοδότηση (trans-signaling) της IL-6 μέσω του σχηματισμού συμπλοκών IL-6/sIL-6R ή εμποδίζει τη διασηματοδότηση μέσω των IL-6/sIL-6R/sgp130 συμπλόκων<sup>64,69</sup>. Η σχετική αναλογία ελεύθερης IL-6 προς IL-6/sIL-6R είναι επαρκής για ταυτόχρονη κλασική σηματοδότηση και διασηματοδότηση<sup>64,69</sup>.

Από αυτή την άποψη, η έκφραση της IL-6 πρέπει να ρυθμίζεται αυστηρά τόσο στην ομοίωση όσο και στην ταχεία επαγωγή της σε λοίμωξη, νεοπλασματική νόσο ή αυτοάνοση κατάσταση, όπου η αύξηση της IL-6 φαίνεται να είναι καλύτερος προγνωστικός δείκτης της δραστηριότητας της νόσου από την αύξηση των επιπέδων της CRP<sup>64</sup>.

Υπάρχει επίσης μια ιική μορφή της IL-6 που εκφράζεται από τον ανθρώπινο ιό του έρπητα 8 (HHV-8) και μοιράζεται περίπου 60% ομοιότητα στην αλληλουχία των αμινοξέων με την ανθρώπινη IL-6<sup>69</sup>. Η ιική μορφή της IL-6 έχει την ασυνήθιστη ικανότητα να σηματοδοτεί μέσω μιας μοναδικής αλυσίδας του ετεροδιμερούς υποδοχέα της IL-6<sup>69</sup>. Η ιική IL-6 έχει αποδειχθεί ότι παίζει σημαντικό ρόλο σε λεμφώματα και σε ασθενείς με πολυκεντρική νόσο Castleman, εμφανίζοντας υψηλή δραστηριότητα που αυξάνει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και αποτρέπει την φυσιολογική κυτταρική απόπτωση<sup>69</sup>.

Στην **(εικόνα 10)** συνοψίζονται οι προαναφερόμενες οδοί σηματοδότησης για την IL-6<sup>69</sup>.





**Εικόνα 10:** Διαφορετικά μονοπάτια σηματοδότησης που διεγείρονται από την IL-6. **a** Η κλασική σηματοδότηση, η οποία περιορίζεται σε συγκεκριμένους τύπους κυττάρων, ξεκινά μέσω της δέσμευσης της IL-6 στο mIL-6R και του σχηματισμού ενός συμπλόκου με τη gp130. **b** Η διασηματοδότηση μπορεί να οδηγηθεί από την IL-6 σε όλα τα κύτταρα που εκφράζουν τη gp130. Ενώ η διεγερση της κλασικής σηματοδότησης προάγει τις αντιφλεγμονώδεις αποκρίσεις, η επαγωγή της διασηματοδότησης οδηγεί στην ανάπτυξη προφλεγμονωδών αποκρίσεων. **c** Η δια-παρουσίαση (trans-presentation) προκαλείται μέσω της αλληλεπίδρασης του δεσμευμένου στη μεμβράνη συμπλόκου IL-6/IL-6R σε DCs μέσω της gp130 εκφραζόμενη στην φωσφολιπιδική διπλοστιβάδα της κυτταροπλασματικής μεμβράνης των T-κυττάρων. **d** Οι διαλυτές μορφές IL-6R και gp130 μπορούν να δεσμεύσουν σύμπλοκα IL-6 και IL-6/IL-6R για να εμποδίσουν τη σηματοδότηση της IL-6. **Ακριβής αναπαράσταση εικόνας από:** Uciechowski, P., & Dempke, W. C. M. (2020). Interleukin-6: A Master player in the Cytokine Network. *Oncology*, 1–7. doi:10.1159/000505099.<sup>69</sup>.

### 5.3 Ασθενείς και μέθοδοι.

Μια αναδρομική πιλοτική μελέτη παρατήρησης διεξήχθη στο Τμήμα Λοιμωδών Νοσημάτων της Α΄ Πανεπιστημιακής Παθολογικής Κλινικής, του Λαϊκού Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών, τον Ιανουάριο του 2022. Η έγκριση ηθικής δεοντολογίας ελήφθη από την Επιστημονική Επιτροπή του Λαϊκού Νοσοκομείου (ID 13494, 24.10.2017). Όλοι οι συμμετέχοντες υπέγραψαν ένα έντυπο ενημέρωσης και συγκατάθεσης πριν από την ένταξή τους στην ανωτέρω μελέτη.

Σύμφωνα με το σχεδιασμό της μελέτης, περιλήφθηκαν 28 PLWH που ελάμβαναν cART με βάση είτε αναστολείς ιντεγκράσης (Integrase Strand Transfer Inhibitors/INSTIs) είτε με «φάρμακο-ενισχυμένους» αναστολείς πρωτεάσης (Protease-boosted Inhibitors/PIs-boosted) σε συνδυασμό με 2 νουκλεοσιδικούς/νουκλεοτιδικούς αναστολείς αναστροφής μεταγραφάσης (Nucleoside/Nucleotide Reverse Transcriptase Inhibitors/N(t)RTIs/που αποτελούσαν τον κορμό θεραπευτικής αγωγής/backbone therapy).

Οι συμμετέχοντες ήταν επιλέξιμοι για ένταξη στην ανωτέρω μελέτη εάν: (i) ήταν ενήλικες >18 ετών, (ii) διαγνωσμένοι με HIV λοίμωξη, (iii) υπό λήψη cART με άριστη συμμόρφωση και (iv) τουλάχιστον έξι μήνες μετά από πλήρη καταστολή του ιού (μη ανιχνεύσιμο ιικό φορτίο στο περιφερικό αίμα με τις τρέχουσες σύγχρονες μοριακές

μεθόδους προσδιορισμού) και απόλυτο αριθμό CD4+ λεμφοκυττάρων >350/μL στο περιφερικό αίμα.

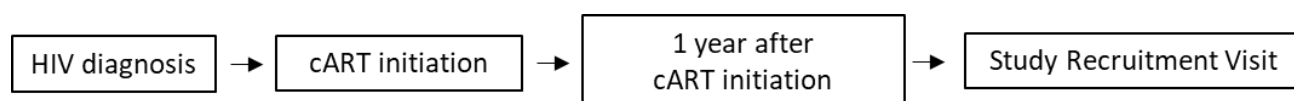
Τα κριτήρια αποκλεισμού από τη μελέτη ήταν: (i) ελλιπής συμμόρφωση στη λήψη της χορηγούμενης cART, (ii) νεοπλασίες συμπαγών οργάνων, αιμοποιητικού ιστού ή άλλων ιστών (iii) αυτοάνοσα, αυτοφλεγμονώδη και άλλου τύπου ρευματικές παθήσεις, (iv) συνλοίμωξη με HCV/HBV/HDV ή κίρρωση του ήπατος, (v) χρόνια νεφρική νόσος (εκτιμώμενος ρυθμός σπειραματικής διήθησης, eGFR < 60 ml/min), (vi) κατάχρηση αιθυλικής αλκοόλης ή/και άλλου τύπου εξαρτησιογόνων/τοξικών ουσιών, (vii) χρόνια αναπνευστική ανεπάρκεια (PaO<sub>2</sub> < 50 mmHg ή/και PCO<sub>2</sub> > 45 mmHg, (viii) καρδιακή ανεπάρκεια σταδίου III-IV κατά NYHA, (ix) ανοσοκατασταλτική θεραπεία, βιολογικοί τροποποιητικοί παράγοντες ή μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα, (x) ιδιοπαθής φλεγμονώδης νόσος του εντέρου ή κοιλιοκάκη, (xi) ιστορικό μείζονος γαστρεντερικής χειρουργικής επέμβασης (στομάχου, λεπτού και παχέος εντέρου).

Τα παραπάνω κριτήρια αποκλεισμού επιλέχθηκαν έτσι ώστε η χρόνια ανοσολογική ενεργοποίηση και η εντερική βακτηριακή αλλόθεση να μην επηρεάζονται από τις ανωτέρω καταστάσεις.

Τα PLWH αφού αξιολογήθηκαν ως προς τα κριτήρια ένταξής τους, την ίδια ημέρα (επίσκεψη ένταξης στη μελέτη) συλλέχθηκαν δείγματα περιφερικού αίματος και ταυτόχρονα καταγράφηκαν αναλυτικά τα εργαστηριακά και τα κλινικά δεδομένα από τους ιατρικούς φακέλους τους, και συγκεκριμένα σε τρία προηγούμενα χρονικά σημεία: (i) στη διάγνωση της HIV λοίμωξης, (ii) στην έναρξη χορήγησης της cART και (iii) 1 έτος μετά την έναρξη της cART.

Μια σύντομη οπτική επισκόπηση του χρονοδιαγράμματος της μελέτης, της επίσκεψης ένταξης και των διαδικασιών παρουσιάζεται στο **σχήμα 1**. Μια λεπτομερής περιγραφή των μεταβλητών που συλλέχθηκαν κατά τη διάρκεια των χρονικών σημείων της μελέτης παρουσιάζεται στον **Πίνακα 1**.

**Σχήμα 1.** Σύντομη οπτική επισκόπηση του χρονοδιαγράμματος της μελέτης και των χρονικών σημείων συλλογής των δεδομένων-διαδικασιών.



**Πίνακας 1.** Επισκόπηση των επισκέψεων της μελέτης και των διαδικασιών.

Assessment	HIV diagnosis	Recruitment Visit
Selection Criteria		✓
Medical History		✓

<b>Clinical Examination</b>		✓
<b>Laboratory Test Evaluation</b>		
CD4+	✓	✓
CD8+	✓	✓
CD4+/CD8+ ratio	✓	✓
NK cells	✓	✓
HIV RNA copies/mL	✓	✓
Glucose	✓	✓
Urea/Creatinine	✓	✓
Cholesterol	✓	✓
Liver function	✓	✓
Uric acid	✓	✓
sCD14		✓
IL-6		✓
SuPAR		✓
I-FABP		✓
LBP		✓

cART, combination Antiretroviral Therapy; I-FABP, Intestinal Fatty Acid Binding Protein; IL-6, Interleukin-6; LBP, Lipopolysaccharide Binding Protein; SuPAR, Soluble urokinase Plasminogen Activator Receptor.

Data on glucose, urea, creatinine, and cholesterol were also collected 1 year after cART initiation.

#### 5.4 Μέθοδοι προσδιορισμού των μετρούμενων βιοδεικτών πλάσματος.

Οι συμμετέχοντες υποβλήθηκαν σε δειγματοληψία αίματος μετά από ολονύκτια νηστεία. Μετά από περιφερική φλεβοπαρακέντηση, 1 mL αίματος φυγοκεντρήθηκε στους 3.000 × g, 5 λεπτά στους 22°C και το πλάσμα συλλέχθηκε και διατηρήθηκε

στους  $-80^{\circ}\text{C}$ , μέχρι τον προσδιορισμό των κυτταροκινών και των υπολοίπων βιοδεικτών στο πλάσμα.

Τα επίπεδα της IL-6 στο πλάσμα προσδιορίστηκαν από ένα εμπορικά διαθέσιμο αντιδραστήριο (kit) (Human IL-6; Mabtech, Inc, USA) με ευαισθησία 2 pg/ml, ενδο-δοκιμασία 3,73%, και συντελεστή διακύμανσης μεταξύ δοκιμασιών 6,3%.

Τα επίπεδα πλάσματος του βιοδείκτη sCD14 προσδιορίστηκαν από ένα εμπορικά διαθέσιμο αντιδραστήριο (kit) (Human sCD14; Wuhan Fine Biotech Co., Ltd., China) με ευαισθησία 0,094 ng/ml, ενδο-δοκιμασία <8% και συντελεστή διακύμανσης μεταξύ δοκιμασιών <10%.

Τα επίπεδα της LBP στο πλάσμα προσδιορίστηκαν από ένα εμπορικά διαθέσιμο αντιδραστήριο (kit) (Human LBP; Wuhan Fine Biotech Co., Ltd., China) με ευαισθησία 18,75 ng/ml, ενδο-δοκιμασία <8% και συντελεστή διακύμανσης μεταξύ δοκιμασιών <10%.

Τα επίπεδα του SuPAR στο πλάσμα προσδιορίστηκαν από ένα εμπορικά διαθέσιμο αντιδραστήριο (kit) (Human SuPAR; Wuhan Fine Biotech Co., Ltd., China) με ευαισθησία 0,094 ng/ml, ενδο-δοκιμασία <8% και συντελεστή διακύμανσης μεταξύ δοκιμασιών <10%.

Τα επίπεδα του βιοδείκτη IFABP/FABP2 στο πλάσμα προσδιορίστηκαν με ένα εμπορικά διαθέσιμο αντιδραστήριο (kit) (Human IFABP/FABP2; Wuhan Fine Biotech Co., Ltd., China) με ευαισθησία 0,094 ng/ml, ενδο-δοκιμασία <8% και συντελεστή διακύμανσης μεταξύ δοκιμασιών <10%.

### 5.5 Εξαγόμενα αποτελέσματα/εκβάσεις της μελέτης.

Τα κύρια εξαγόμενα αποτελέσματα/εκβάσεις της μελέτης αφορούσαν τη σύγκριση συγκεκριμένων βιοδεικτών όπως του διαλυτού μορίου CD14 (sCD14), της ιντερλευκίνης 6 (IL-6), του διαλυτού υποδοχέα ενεργοποιητή πλασμινογόνου ουροκινάσης (SuPAR), της εντερικής πρωτεΐνης δέσμησης λιπαρών οξέων (I-FABP) και της πρωτεΐνης δέσμησης του λιποπολυσακχαρίδη (LBP) μεταξύ PLWH που ελάμβαναν σχήματα INSTIs έναντι εκείνων που ελάμβαναν PIs/boosted θεραπευτικά σχήματα κατά τη διάρκεια της επίσκεψης ένταξης (ιολογικά κατεσταλμένοι). Οι «φυσιολογικές» τιμές των παραπάνω εργαστηριακών παραμέτρων/βιοδεικτών συλλέχθηκαν από τις σχετικές τρέχουσες διεθνείς δημοσιεύσεις<sup>79,80,81,82</sup>.

Οι δευτερεύουσες αναλύσεις περιελάμβαναν συγκρίσεις των υπόλοιπων εργαστηριακών τιμών κατά τη διάρκεια της επίσκεψης ένταξης (μη ανιχνεύσιμο ιικό φορτίο και  $\text{CD4}^{+}>350/\mu\text{L}$ ) και σύγκριση με τις προηγούμενες εργαστηριακές παραμέτρους, όπως αυτές καταγράφηκαν από τους ιατρικούς φακέλους των PLWH κατά τη διάγνωση της HIV λοίμωξης, της έναρξης χορήγησης της cART και μετά από 1 έτος από την έναρξη λήψης της cART μεταξύ των δύο υποομάδων θεραπείας της μελέτης (PLWH που ελάμβαναν cART και περιείχαν είτε INSTIs είτε PIs/boosted παράγοντες).

## 5.6 Στατιστική ανάλυση.

Οι κατανομές των συνεχών μεταβλητών ενδιαφέροντος θεωρήθηκαν a priori μη φυσιολογικές λόγω του περιορισμένου μεγέθους του δείγματος. Η διάμεση τιμή και το εύρος χρησιμοποιήθηκαν για την περιγραφή των συνεχών μεταβλητών. Απόλυτες τιμές και ποσοστά χρησιμοποιήθηκαν για την περιγραφή των κατηγορικών μεταβλητών. Οι συγκρίσεις μεταξύ των υποομάδων πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας την δοκιμή ακριβείας Mann-Whitney U ή Fisher, ανάλογα με την περίπτωση. Η δοκιμή «υπογεγραμμένης κατάταξης» (signed-rank) Wilcoxon χρησιμοποιήθηκε για τις συγκρίσεις διαχρονικών δεδομένων (longitudinal data) (π.χ. συγκρίσεις εργαστηριακών τιμών μεταξύ διαφορετικών χρονικών σημείων).

Λόγω εγγενών προκαταλήψεων σχετικά με τις επιλογές θεραπείας (inherent biases), η επίδραση στην ομάδα θεραπείας διερευνήθηκε μετά την εκτέλεση στάθμισης θεραπείας αντίστροφης πιθανότητας (Inverse Probability Treatment Weighting /IPTW) για την αξιολόγηση της μέσης θεραπευτικής επίδρασης των σχημάτων που περιλάμβαναν INSTIs έναντι των PIs/boosted σχημάτων. Η IPTW «εκχωρεί» σημαντικότητα σε κάθε περίπτωση με βάση μια βαθμολογία τάσης. Με αυτόν τον τρόπο, κανένα άτομο δεν αποκλείεται από την ανάλυση, όπως θα συνέβαινε με την αντιστοίχιση της βαθμολογίας τάσης, αλλά προκύπτει ένα δείγμα σύνθεσης στο οποίο η κατανομή των μετρούμενων αρχικών συμμεταβλητών είναι ανεξάρτητη από την έναρξη του θεραπευτικού σχήματος<sup>83</sup>. Η βαθμολογία τάσης υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας τις ακόλουθες μεταβλητές: ηλικία, φύλο, αριθμός CD4+ λεμφοκυττάρων, ιικό φορτίο HIV RNA copies/mL και παρουσία AIDS κατά τη διάγνωση. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το στατιστικό πακέτο Stata v16 (TX: StataCorp LLC). Η στατιστική σημαντικότητα ορίστηκε σε «διπλής όψης» επίπεδο 0,05 (two-sided).

## 5.7 Αποτελέσματα

### 5.7.1 Αρχικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων (PLWH) που συλλέχθηκαν από τα ιατρικά τους αρχεία (κατά τη διάρκεια της επίσκεψης ένταξης).

Είκοσι οκτώ συμμετέχοντες συμπεριλήφθηκαν στην παρούσα κοόρτη. Δεκαπέντε ελάμβαναν cART που περιλάμβανε INSTIs παράγοντες, ενώ οι υπόλοιποι ευρίσκονταν σε PIs/boosted παράγοντες στη cART. Τα αρχικά χαρακτηριστικά των PLWH που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη παρουσιάζονται λεπτομερώς στον **Πίνακα 2**. Οι δύο ομάδες που ελάμβαναν cART ήταν εξίσου ισορροπημένες όσον αφορά το φύλο και την ηλικία. Η διάμεση διάρκεια από τη διάγνωση της HIV λοίμωξης έως την έναρξη της cART ήταν 2 μήνες (5 ημέρες-11 έτη) (καμία διαφορά μεταξύ των ομάδων θεραπείας της μελέτης μας). Η διάμεση διάρκεια από τη διάγνωση της HIV λοίμωξης έως την ένταξη στη μελέτη ήταν 7 έτη (1-21) (καμία διαφορά μεταξύ των ομάδων θεραπείας). Οι ασθενείς που ελάμβαναν σχήματα που περιείχαν INSTIs είχαν υψηλότερο δείκτη μάζας σώματος (ΔΜΣ/BMI) έναντι αυτών με PIs/boosted σχήματα

(διάμεση τιμή 29 kg/m<sup>2</sup> έναντι 22 kg/m<sup>2</sup>) και ήταν πιο πιθανό να είναι νυν καπνιστές (47% έναντι 0%), ενώ οι ασθενείς που ευρίσκονταν σε PIs/boosted σχήματα παρουσιάστηκαν με πιο σοβαρή νόσο κατά τη διάγνωση (στάδιο C3 61% έναντι 7%) (Πίνακας 2).

**Πίνακας 2.** Αρχικά χαρακτηριστικά των PLWH που συλλέχθηκαν από τον ιατρικό τους φάκελο (κατά τη διάρκεια της επίσκεψης ένταξης).

Assessment	Overall	INSTIs	PIs	P-value
<b>N</b>	28	15	13	-
<b>Males</b>	26 (93)	15 (100)	11 (85)	0.21
<b>Age</b>	52 (32-70)	52 (32-67)	53 (33-70)	0.47
<b>BMI</b>	25 (13-39)	29 (25-39)	22 (13-29)	<b>0.01</b>
<b>Ethnicity</b>				0.27
European	27 (96)	15 (100)	12 (92)	
African	1 (4)	0 (0)	1 (8)	
<b>Greek nationality</b>	25 (89)	15 (100)	10 (77)	0.09
<b>MSM</b>	19 (70)	11 (79)	8 (62)	0.42
<b>Sexual practices</b>				0.64
Heterosexual	8 (30)	3 (21)	5 (38)	
Homosexual	16 (59)	9 (64)	7 (54)	
Bisexual	3 (11)	2 (14)	1 (8)	
<b>Years from HIV diagnosis to Recruitment Visit</b>	7 (1-21)	7 (1-15)	7 (2-21)	0.93
<b>Disease stage at diagnosis</b>				<b>0.003</b>
A1	4 (14)	4 (27)	0 (0)	
A2	8 (29)	7 (46)	1 (8)	
B1	2 (7)	1 (7)	1 (8)	

B3	5 (18)	2 (13)	3 (23)	
C3	9 (32)	1 (7)	8 (61)	
<b>AIDS or infection at diagnosis</b>	9 (32)	1 (7)	8 (62)	<b>0.004</b>
<b>STIs at diagnosis</b>	8 (29)	5 (33)	3 (23)	0.69
<b>Smoking at diagnosis</b>				
Never	15 (54)	7 (47)	8 (62)	<b>0.006</b>
Past	6 (21)	1 (6)	5 (38)	
Current	7 (25)	7 (47)	(0)	
<b>Alcohol at diagnosis</b>				
Never	17 (61)	7 (47)	10 (77)	0.06
Little	8 (28)	7 (47)	1 (8)	
Moderate	3 (11)	1 (6)	2 (15)	
<b>Hypertension stage</b>				
High normal	3 (11)	2 (13)	1 (8)	1.00
Stage 1	2 (7)	1 (7)	1 (8)	
Stage 2	1 (4)	1 (7)	0 (0)	
<b>Diabetes</b>				
Prediabetes	7 (25)	5 (33)	2 (15)	0.40
Diabetes	1 (4)	0 (0)	1 (8)	
<b>Coronary artery disease</b>	1 (4)	1 (7)	0 (0)	1.00
<b>Laboratory tests at diagnosis</b>				
CD4+ (cells/ $\mu$ L)	222 (1-877)	397 (47-877)	64 (1-629)	<b>&lt;0.001</b>
CD8+ (cells/ $\mu$ L)	881 (50-8770)	1190 (563-8770)	365 (50-1648)	<b>0.002</b>
CD4/CD8 ratio	0.19 (0.01-1.25)	0.25 (0.04-1.25)	0.11 (0.01-1.00)	<b>0.04</b>
NK (cells/ $\mu$ L)	131 (6-623)	134 (38-623)	102 (6-286)	0.37

HIV RNA (copies/ml)	97763 (240-11*10 <sup>6</sup> )	65800 (3500-11*10 <sup>6</sup> )	211100 (240-5.4*10 <sup>6</sup> )	0.36
Urea (mg/dl)	32 (14-56)	33 (26-56)	29 (14-51)	0.18
Creatinine (mg/dl)	0.9 (0.6-1.2)	0.9 (0.7-1.2)	1.0 (0.6-1.2)	0.69
Total cholesterol (mg/dl)	150 (79-255)	154 (100-255)	144 (79-212)	0.27
LDL-cholesterol (mg/dl)	107 (31-178)	96 (40-178)	111 (31-148)	0.93
HDL-cholesterol (mg/dl)	35 (15-57)	35 (15-47)	35 (27-57)	0.91
Triglycerides (mg/dl)	141 (46-282)	133 (46-282)	146 (87-177)	0.71
ALT (IU/L)	24 (7-359)	24 (10-359)	21 (7-108)	0.38
AST (IU/L)	23 (15-295)	25 (15-295)	20 (15-57)	0.34
gGT (IU/L)	27 (4-112)	27 (4-112)	26 (13-73)	0.67
ALP (IU/L)	77 (45-325)	77 (47-325)	77 (45-153)	0.62
Total bilirubin (mg/dl)	0.38 (0.17-1.36)	0.38 (0.17-1.36)	0.40 (0.27-1.10)	0.88
Uric Acid (mg/dl)	4.8 (3.6-7.5)	5.5 (3.9-7.3)	4.7 (3.6-7.5)	0.86

AIDS: Acquired Immune Deficiency Syndrome; ALT: Alanine Transaminase; ALP: Alkaline Phosphatase; AST: Aspartate Aminotransferase; HDL: High-Density Lipoprotein; gGT: gamma-Glutamyl Transpeptidase; INSTIs: Integrase Strand Transfer Inhibitors; LDL: Low-Density Lipoprotein; MSM: Men who have Sex with Men; NK: Natural Killer cells; PIs/boosted: Protease Inhibitors/boosted; STIs: Sexually Transmitted Infections.

The P-value for comparison between individuals receiving INSTIs vs PIs/boosted regimens; significant P-values are in bold.

### 5.7.2 Πρωτογενής ανάλυση/αποτελέσματα ενδιαφέροντος.

Μεταξύ των συγκεντρώσεων των βιοδεικτών sCD14, IL-6, SuPAR, I-FABP και LBP κατά τη διάρκεια της επίσκεψης ένταξης στη μελέτη (μετά από τουλάχιστον 6 μήνες ιογενούς καταστολής και απόλυτου αριθμού CD4+ λεμφοκυττάρων περιφερικού αίματος >350/μL), παρατηρήθηκε τάση μείωσης κυρίως στα επίπεδα της IL-6 (5,65 έναντι 7,11 pg/ml, P=0,03 για τα θεραπευτικά σχήματα που περιείχαν INSTIs έναντι των PIs/boosted σχημάτων, αντίστοιχα) (**Πίνακας 3**).

Η κανονική κατάσταση με βάση τις τιμές αποκοπής (cut-off values) σχετικά με τις παραπάνω μεταβλητές ήταν διαφορετική μόνο στην περίπτωση της LBP (33% έναντι 0%, P=0,04 για τους λαμβάνοντες INSTIs έναντι των λαμβανόντων PIs/boosted, αντίστοιχα) (**Πίνακας 4**).



Από μια άλλη, διαφορετική, στατιστική προσέγγιση, κάνοντας χρήση της IPTW, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των λαμβανόντων INSTIs και των λαμβανόντων PIs/boosted θεραπευτικών παραγόντων όσον αφορά τους τίτλους του sCD14 ( $p=0,511$ ), της IL-6 ( $p=0,383$ ), του SuPAR ( $p=0,793$ ), του I-FABP ( $p=0,868$ ) ή του LBP ( $p=0,663$ ), όταν και οι δύο ομάδες σύγκρισης ήταν ιολογικά κατεσταλμένες.

**Πίνακας 3.** Εργαστηριακά ευρήματα PLWH κατά τη διάρκεια της επίσκεψης ένταξης (ευρισκόμενοι σε ιολογική καταστολή).

Assessment	Overall N=28	INSTIs N=15	PIs N=13	P-value
CD4+ (cells/ $\mu$ L)	665 (351-2143)	726 (383-2143)	495 (351-988)	<b>0.01</b>
CD8+ (cells/ $\mu$ L)	895 (292-1984)	882 (445-1984)	908 (292-1870)	0.96
CD4+/CD8+ ratio	0.73 (0.24-2.43)	0.99 (0.28-2.43)	0.53 (0.24-2.22)	0.07
NK (cells/ $\mu$ L)	288 (92-844)	265 (92-844)	336 (113-569)	0.79
HIV RNA (copies/ml)	20 (20-40)	20 (20-37)	20 (20-40)	0.22
Urea (mg/dl)	36 (17-66)	37 (26-56)	34 (17-66)	0.26
Creatinine (mg/dl)	1.0 (0.6-1.9)	1.0 (0.8-1.3)	0.98 (0.6-1.9)	0.66
Total cholesterol (mg/dl)	195 (127-302)	191 (127-246)	222 (156-302)	<b>0.005</b>
LDL-cholesterol (mg/dl)	121 (73-186)	104 (73-153)	140 (93-186)	<b>0.002</b>
HDL-cholesterol (mg/dl)	45 (29-74)	46 (30-74)	44 (29-65)	0.60
Triglycerides (mg/dl)	140 (49-398)	126 (49-275)	150 (85-398)	0.13
Glucose (mg/dl)	98 (66-175)	106 (66-133)	96 (73-175)	0.47
ALT (IU/L)	21 (10-90)	28 (10-90)	17 (12-88)	0.22
AST (IU/L)	22 (13-63)	27 (15-63)	20 (13-33)	0.09
gGT (IU/L)	24 (6-178)	29 (6-178)	23 (17-87)	1.00

ALP (IU/L)	76 (37-131)	69 (37-131)	82 (58-131)	0.21
Total bilirubin (mg/dl)	0.50 (0.21-1.28)	0.70 (0.21-1.28)	0.47 (0.24-1.23)	0.39
Uric Acid (mg/dl)	6.0 (3.8-9.3)	5.6 (3.8-9.3)	6.1 (3.8-9.1)	0.95
sCD14 (*10 <sup>6</sup> pg/ml)	2.64 (1.37-4.40)	2.74 (1.91-4.40)	2.63 (1.37-3.97)	0.68
IL-6 (pg/ml)	6.29 (3.66-49.24)	5.65 (3.66-23.12)	7.11 (5.18-49.24)	<b>0.03</b>
SuPAR (ng/ml)	2.52 (1.34-28.07)	1.93 (1.34-28.07)	2.74 (1.61-16.40)	0.62
I-FABP (ng/ml)	2.52 (1.34-5.38)	2.58 (1.48-5.38)	2.45 (1.34-4.06)	0.44
LBP (ng/ml)	7677.9 (1265.5-16193)	5875.1 (1265.5-15667.5)	9137.7 (3129.4-16193)	0.44

ALT: Alanine Transaminase; ALP: Alkaline Phosphatase; AST: Aspartate Aminotransferase; HDL: High-Density Lipoprotein; gGT: gamma-Glutamyl Transpeptidase; I-FABP: Intestinal Fatty Acid Binding Protein; IL-6: Interleukin 6; INSTIs: Integrase Strand Transfer Inhibitors; LDL: Low-Density Lipoprotein; NK: Natural Killer cells; PIs/boosted: Protease Inhibitors/boosted; LBP: Lipopolysaccharide Binding Protein; SuPAR: Soluble urokinase Plasminogen Activator Receptor.

The P-value for the comparison between INSTIs versus PIs/boosted treated individuals; significant P-values are in bold.

**Πίνακας 4.** Σύγκριση των φυσιολογικών ποσοστών εύρεσης όσον αφορά τις τιμές sCD14, IL-6, SuPAR, I-FABP και LBP κατά τη διάρκεια της επίσκεψης ένταξης των PLWH (οι φυσιολογικές τιμές ποικίλλουν ανάλογα με τα δημογραφικά στοιχεία των ασθενών και αναφέρονται λεπτομερώς στο συμπληρωματικό υλικό).

[Assessment	Overall N=28	INSTIs N=15	PIs N=13	P-value
sCD14 (*10 <sup>6</sup> pg/ml) (<1.1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	NA
IL-6 (pg/ml) (<0.8)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	NA
SuPAR (ng/ml) (<3)	18 (64)	9 (60)	9 (69)	0.71
I-FABP (ng/ml) (<2.1)	9 (32)	4 (27)	5 (38)	0.69
LBP (ng/ml) (<1700)	5 (18)	5 (33)	0 (0)	<b>0.04</b>

I-FABP: Intestinal Fatty Acid Binding Protein; IL-6: Interleukin 6; INSTIs: Integrase Strand Transfer Inhibitors; NA, Not Applicable; PIs/boosted: Protease Inhibitors/boosted; LBP: Lipopolysaccharide Binding Protein; SuPAR: Soluble urokinase Plasminogen Activator Receptor.

Cut-off values used for the definition of normal status are reported in parentheses in the first column after the measurement units.

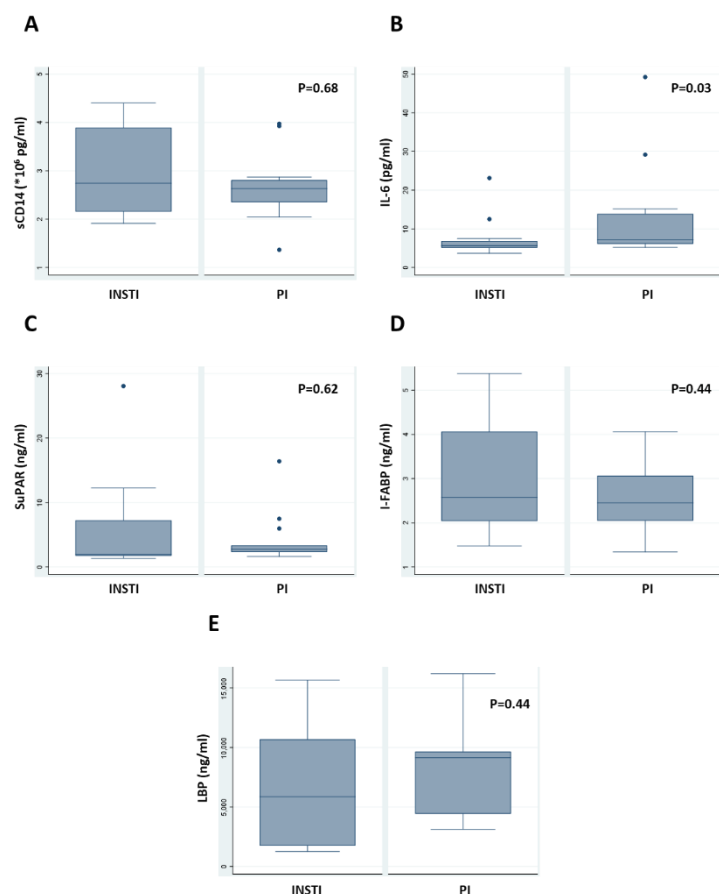
The P-value for the comparison between INSTIs versus PIs/boosted-treated individuals; significant P-values are in bold.

## 6. Δευτερογενείς αναλύσεις.

### 6.1 Σύγκριση των υπόλοιπων ανοσολογικών παραμέτρων κατά τη διάρκεια της επίσκεψης ένταξης.

Ο απόλυτος αριθμός των CD4+ λεμφοκυττάρων στο περιφερικό αίμα ήταν σημαντικά υψηλότερος σε PLWH που ελάμβαναν θεραπευτικά σχήματα που περιείχαν INSTIs (726 έναντι 495 CD4+/μL,  $P=0,01$ ), ωστόσο, δεν ανιχνεύθηκε διαφορά όταν εξετάστηκε η διαφορά των CD4+ κυττάρων (τιμές κατά την επίσκεψη ένταξης μείον των τιμών της διάγνωσης HIV λοίμωξης) (διαφορά κυττάρων CD4+ 402 έναντι 390 για INSTIs έναντι PIs/boosted σχημάτων, αντίστοιχα,  $P=0,93$ ). Ο λόγος (ratio) CD4+/CD8+ δεν παρουσίασε σημαντική διαφορά (**Πίνακας 2**), αλλά παρατηρήθηκε μία τάση αύξησης του λόγου στα PLWH που ελάμβαναν INSTIs θεραπευτικούς παράγοντες. Τα

αντίστοιχα γραφήματα πλαισίου παρουσιάζονται στην **Εικόνα 11**.



**Εικόνα 11.** Comparison of concentrations (A) sCD14, (B) IL-6, (C) SuPAR, (D) I-FABP, and (E) LBP post viral suppression. The P-value was significant for IL-6 comparison ( $P=0.03$ ). Outlier values are shown with dots.

## 6.2 Σύγκριση των μεταβολικών παραμέτρων κατά τη διάρκεια της επίσκεψης ένταξης.

Τα επίπεδα ολικής και LDL χοληστερόλης ήταν υψηλότερα σε PLWH που ελάμβαναν PIs/boosted σχήματα (Ολική χοληστερόλη: 191mg/dL έναντι 222mg/dL,  $P=0,005$  και LDL-χοληστερόλη: 104mg/dL έναντι 140mg/dL,  $P=0,002$ ). Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές σε άλλες εργαστηριακές παραμέτρους, όπως αυτές που χρησιμοποιήθηκαν για την εξέταση της ηπατικής και της νεφρικής λειτουργίας.

## 6.3 Σύγκριση διαχρονικών (longitudinal) εργαστηριακών ανοσολογικών παραμέτρων.

Όσον αφορά την αρχική διάγνωση της HIV λοίμωξης έναντι της σύγκρισης των επισκέψεων ένταξης, όλες οι ιογενείς παράμετροι εμφανίστηκαν με βελτιωμένο προφίλ κατά τη διάρκεια της δεύτερης (τουλάχιστον 6 μήνες μετά την ιογενή καταστολή με απόλυτο αριθμό CD4+ λεμφοκυττάρων  $CD4+>350/\mu L$ ) σε σύγκριση με τις αντίστοιχες μετρήσεις κατά τη διάγνωση της HIV λοίμωξης και στις δύο ομάδες PLWH που ελάμβαναν cART (**Πίνακας 5**). Οι αριθμοί των CD4+ T κυττάρων κυμαίνονταν από 351 έως 2143 κύτταρα/ $\mu L$ . Οι αριθμοί των CD8+ κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων (Cytotoxic T Lymphocytes/CTLs) αυξήθηκαν μόνο στην περίπτωση PLWH που ελάμβαναν PIs/boosted σχήματα, ωστόσο, ο λόγος (ratio) CD4+/CD8+ βελτιώθηκε ομοιόμορφα και στις δύο ομάδες (με μια μεγαλύτερη ίσως τάση ομαλοποίησης στα PLWH που χορηγήθηκαν INSTIs θεραπευτικοί παράγοντες).

## 6.4 Σύγκριση διαχρονικών (longitudinal) εργαστηριακών μεταβολικών παραμέτρων.

Τα επίπεδα του ουρικού οξέος ήταν σημαντικά υψηλότερα στην ομάδα PLWH υπό INSTIs παράγοντες, ενώ παρατηρήθηκε μία ελαφρώς μεγαλύτερη αλλά μη στατιστικά σημαντική αύξηση στην ομάδα PLWH υπό PIs/boosted (Αρχική διάγνωση HIV λοίμωξης έναντι Επίσκεψης Ένταξης) (**Πίνακας 5**).

Οι συγκρίσεις των μεταβολικών παραμέτρων των PLWH που ήταν διαθέσιμες κατά τις τρεις χρονικές «στιγμές» της μελέτης (διάγνωση HIV λοίμωξης, 1 έτος μετά την έναρξη της cART και κατά την επίσκεψη ένταξης) έδειξαν σημαντική αύξηση στη συνολική κρεατινίνη από τη διάγνωση και 1 χρόνο μετά την έναρξη της cART έως την επίσκεψη ένταξης (**Εικόνα 12**). Παρατηρήθηκε παρόμοια τάση και για την ομάδα των PLWH που ελάμβαναν INSTIs παράγοντες, ωστόσο, δεν επιτεύχθηκε στατιστική σημαντικότητα πιθανόν λόγω του περιορισμένου μεγέθους του δείγματος.

Τα συνολικά επίπεδα χοληστερόλης αυξήθηκαν γενικά, αλλά περισσότερο σε PLWH που ελάμβαναν PIs/boosted παράγοντες. Τα επίπεδα της LDL χοληστερόλης παρουσίασαν παρόμοια αυξητική τάση, αλλά φτάνοντας σε στατιστικά

αξιολογήσιμη σημαντικότητα μόνο για τα συνολικά επίπεδα LDL χοληστερόλης μεταξύ της διάγνωσης της HIV λοίμωξης και του 1<sup>ου</sup> έτους μετά τις αξιολογήσεις της έναρξης της cART. Τα επίπεδα της HDL χοληστερόλης αυξήθηκαν ομοιόμορφα σε όλους τους συμμετέχοντες στη μελέτη. Τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων δεν επηρεάστηκαν κατά τις επισκέψεις παρακολούθησης (**Εικόνα 12**).

Συγκρίσεις των διαθέσιμων μεταβολικών παραμέτρων κατά τη διάρκεια τριών χρονικών σημείων (διάγνωση HIV λοίμωξης, 1 έτος μετά την έναρξη της cART και κατά τη διάρκεια της επίσκεψης ένταξης) έδειξαν ότι η νεφρική λειτουργία παρέμεινε ανεπηρέαστη, εκτός από την κρεατινίνη που παρουσίασε σημαντική αύξηση κατά την επίσκεψη ένταξης στη μελέτη έναντι 1 έτους μετά την έναρξη της cART (**Εικόνα 12**).

**Πίνακας 5.** Σύγκριση των εργαστηριακών ευρημάτων που ήταν διαθέσιμα κατά τη διάγνωση της HIV λοίμωξης έναντι της επίσκεψης ένταξης στη μελέτη.

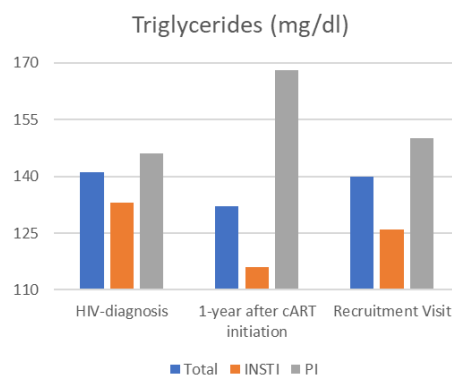
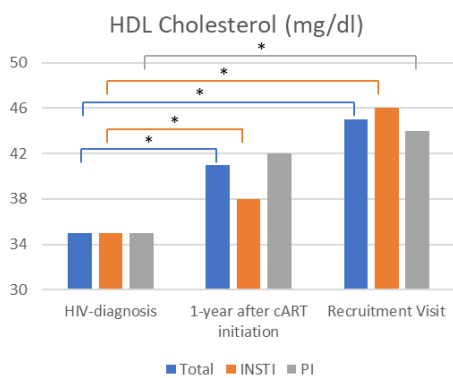
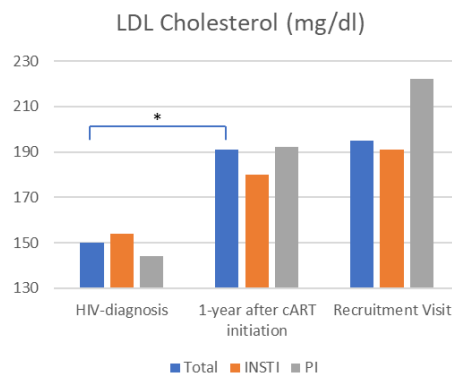
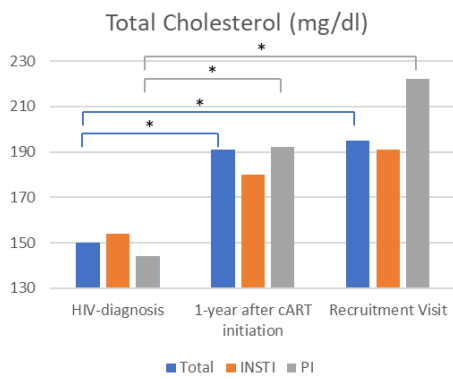
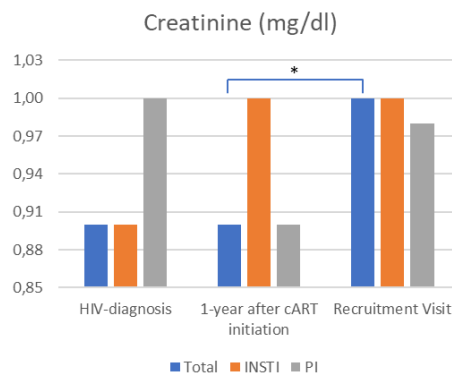
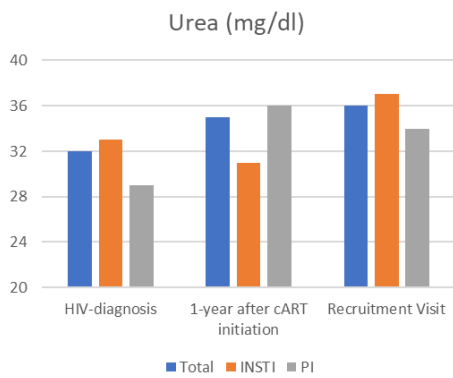
Assessment	Overall N=28		INSTIs N=15			PIs N=13			
	<i>HIV-diagnosis</i>	<i>Recruitment Visit</i>	<i>P</i>	<i>HIV-diagnosis</i>	<i>Recruitment Visit</i>	<i>P</i>	<i>HIV-diagnosis</i>	<i>Recruitment Visit</i>	<i>P</i>
CD4+ (cells/ $\mu$ L)	222 (1-877)	665 (351-2143)	<b>&lt;0.001</b>	397 (47-877)	726 (383-2143)	<b>&lt;0.001</b>	64 (1-629)	495 (351-988)	<b>&lt;0.001</b>
CD8+ (cells/ $\mu$ L)	881 (50-8770)	895 (292-1984)	0.88	1190 (563-8770)	882 (445-1984)	<b>0.01</b>	365 (50-1648)	908 (292-1870)	0.07
CD4+/CD8+ ratio	0.19 (0.01-1.25)	0.73 (0.24-2.43)	<b>&lt;0.001</b>	0.25 (0.04-1.25)	0.99 (0.28-2.43)	<b>&lt;0.001</b>	0.11 (0.01-1.00)	0.53 (0.24-2.22)	<b>&lt;0.001</b>
NK (cells/ $\mu$ L)	131 (6-623)	288 (92-844)	<b>&lt;0.001</b>	134 (38-623)	265 (92-844)	<b>0.002</b>	102 (6-286)	336 (113-569)	<b>0.003</b>
HIV RNA (copies/ml)	97763 (240-11*10 <sup>6</sup> )	20 (20-40)	<b>&lt;0.001</b>	65800 (3500-11*10 <sup>6</sup> )	20 (20-37)	<b>&lt;0.001</b>	211100 (240-5.4*10 <sup>6</sup> )	20 (20-40)	<b>&lt;0.001</b>
ALT (IU/L)	24 (7-359)	21 (10-90)	0.09	24 (10-359)	28 (10-90)	0.31	21 (7-108)	17 (12-88)	0.15

AST (IU/L)	23 (15-295)	22 (13-63)	0.36	25 (15-295)	27 (15-63)	0.69	20 (15-57)	20 (13-33)	0.26
gGT (IU/L)	27 (4-112)	24 (6-178)	0.65	27 (4-112)	29 (6-178)	0.94	26 (13-73)	23 (17-87)	0.51
ALP (IU/L)	77 (45-325)	76 (37-131)	0.43	77 (47-325)	69 (37-131)	0.11	77 (45-153)	82 (58-131)	0.37
Total bilirubin (mg/dl)	0.38 (0.17-1.36)	0.50 (0.21-1.28)	0.22	0.38 (0.17-1.36)	0.70 (0.21-1.28)	0.41	0.40 (0.27-1.10)	0.47 (0.24-1.23)	0.34
Uric Acid (mg/dl)	4.8 (3.6-7.5)	6.0 (3.8-9.3)	<b>&lt;0.001</b>	5.5 (3.9-7.3)	5.6 (3.8-9.3)	<b>0.002</b>	4.7 (3.6-7.5)	6.1 (3.8-9.1)	0.11

ALT: Alanine Transaminase; ALP: Alkaline Phosphatase; AST: Aspartate Aminotransferase; gGT: gamma-Glutamyl Transpeptidase; INSTIs: Integrase Strand Transfer inhibitors; NK: Natural Killer cells; PIs/boosted: Protease Inhibitors/boosted.

Significant P-values are in bold.

**Εικόνα 12.** Comparison of metabolic laboratory findings was conducted in three different instances: (1) during HIV diagnosis, (2) 1 year after cART (combination antiretroviral therapy) initiation, (3) during the recruitment visit. The metabolic parameters measured in all three instances included urea, creatinine, and cholesterol. The asterisk denotes a statistically significant comparison after applying the Bonferroni correction for multiple comparisons. The color of the respective line below the asterisk indicates the comparison to which the statistical significance (asterisk) refers. E.g., in the case of creatinine, significance (asterisk) was observed only for the comparison of 1 year after cART initiation vs. recruitment visit levels (blue line).



## 7. Συμπεράσματα-Συζήτηση-Σύνοψη-Περιορισμοί της μελέτης.

Τα κύρια ευρήματα της παρούσας αναδρομικής πιλοτικής μελέτης κοόρτης συνοψίζονται στα κάτωθι: (i) παρατηρήθηκε μία τάση (trend) βελτίωσης στα επίπεδα της IL-6 (5,65 έναντι 7,11 pg/ml,  $P=0,03$  για τα σχήματα που περιλάμβαναν INSTIs έναντι των PIs/boosted παραγόντων της cART), (ii) επιπλέον, διαπιστώθηκε επίσης μία τάση (trend) (όχι τόσο στατιστικά σημαντική λόγω του μικρού αριθμού των συμμετεχόντων PLWH) μειωμένων επιπέδων LBP και (iii) ομαλοποίηση του λόγου (ratio) CD4+/CD8+ στους λαμβάνοντες cART, που περιείχαν INSTIs παράγοντες.

Από μια άλλη, διαφορετική στατιστική προσέγγιση, κάνοντας χρήση της στάθμισης θεραπείας αντίστροφης πιθανότητας (Inverse Probability Treatment Weighting/IPTW)<sup>83</sup>, δεν ανιχνεύθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων PLWH που λάμβαναν INSTIs παράγοντες έναντι αυτών με PIs/boosted παραγόντων όσον αφορά τους τίτλους του sCD14 ( $p=0,511$ ), της IL-6 ( $p=0,383$ ), του SuPAR ( $p=0,793$ ), του I-FABP ( $p=0,868$ ) ή του LBP ( $p=0,663$ ), όταν και οι δύο ομάδες σύγκρισης ευρίσκονταν σε ιολογική καταστολή.

Το βασικό μειονέκτημα και των δύο ανωτέρω στατιστικών προσεγγίσεων είναι ο μικρός αριθμός (είκοσι οκτώ) συμμετεχόντων (PLWH που ελάμβαναν cART).

Η κυτταροκίνη, ιντερλευκίνη-6 (IL-6) έχει αναγνωριστεί ήδη από το 1986 ως παράγοντας διέγερσης των Β-λεμφοκυττάρων που προάγει τη διαφοροποίηση των λειτουργικών Β-κυττάρων σε κύτταρα ικανά να παράγουν αντισώματα (πλασματοκύτταρα)<sup>64,69</sup>. Η IL-6 είναι ένα εκκρινόμενο γλυκοπεπτίδιο με μοριακό βάρος είκοσι πέντε (25) kDa που αποτελείται από 184 αμινοξέα<sup>64</sup>. Τα μονοκύτταρα και τα μακροφάγα είναι οι κύριοι παραγωγοί της IL-6, αλλά και τα Τ-κύτταρα, τα Β-κύτταρα, τα ηπατοκύτταρα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα, οι ινοβλάστες, τα κερατινοκύτταρα, τα μεσαγγειακά κύτταρα, τα λιποκύτταρα, καθώς και αρκετά καρκινικά κύτταρα μπορούν να παράγουν IL-6 ιδιοσυγκρασιακά ή μετά από κατάλληλη διέγερση<sup>64,69</sup>.

Η IL-6 είναι επίσης μια κυτταροκίνη που εμφανίζει πλειοτροπικές δράσεις και μπορεί να επηρεάσει διάφορες ανοσολογικές και φυσιολογικές κυτταρικές και μοριακές διεργασίες<sup>64,69</sup>.

Η απορυθμισμένη, αυξημένη έκφραση της IL-6 έχει συνδεθεί με την παθογένεση αρκετών διαταραχών όπως οι χρόνιες φλεγμονώδεις νοσολογικές οντότητες, τα αυτοάνοσα νοσήματα και την ανάπτυξη διάφορων τύπων νεοπλασιών<sup>64,69</sup>.

Στα PLWH, ακόμη και αν έχει επιτευχθεί πλήρης περιφερική ιογενής καταστολή με τη χορήγηση cART, τα επίπεδα της IL-6 δεν ομαλοποιούνται ποτέ στα πρότερα βασικά επίπεδά της και αποτελούν ένα χρήσιμο βιοδείκτη χρόνιας και δυσλειτουργικής/απρόσφορης ανοσολογικής ενεργοποίησης και της πιθανότητας εμφάνισης SNAEs, κυρίως καρδιαγγειακών νοσολογικών συμβάντων<sup>64,84</sup>.

Στη μελέτη παρατήρησής μας, παρά τον σημαντικά μικρό αριθμό συμμετεχόντων PLWH που ελάμβαναν cART, ειδικά στην ομάδα θεραπείας που περιείχε INSTIs παράγοντες, παρατηρήθηκε μια ελαφρά τάση βελτίωσης στα προσδιοριζόμενα επίπεδα της IL-6.

Επομένως, το φαινόμενο που παρατηρήθηκε παραπάνω με τη χορήγηση cART που εμπειρείχε INSTIs παράγοντες, είναι κάτι που αξίζει περαιτέρω διευκρίνιση εάν αυτή η κατηγορία φαρμάκων παρουσιάζει επίσης δυνητικές πλειοτροπικές δράσεις στη χρόνια ανοσολογική ενεργοποίηση/φλεγμονή και στην εντερική βακτηριακή αλλόθεση (ιδιότητα κατηγορίας φαρμάκων/drug class effect;).



Το SuPAR είναι το διαλυτό ισοδύναμο του υποδοχέα ενεργοποιητή πλασμινογόνου ουροκινάσης (uPAR), ο οποίος είναι μια πρωτεΐνη που «αγκυροβολεί» στις κυτταρικές μεμβράνες χρησιμοποιώντας γλυκοζυλο-φωσφατιδυλίου τμήματα/GPI<sup>70,71,77,78</sup>. Το uPAR βρίσκεται σε πολλά κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, όπως μονοκύτταρα, ενεργοποιημένα λεμφοκύτταρα και μακροφάγα ιστών, αν και μπορεί επίσης να βρεθεί σε ινοβλάστες και κύτταρα του μυοκαρδίου<sup>217</sup>. Το uPAR έχει διάφορες λειτουργίες και συμμετέχει στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, την αγγειογένεση και την ινωδύλωση<sup>70,71,77,78</sup>. Υπό το καθεστώς φλεγμονωδών καταστάσεων, το τμήμα GPI που «αγκυροβολεί» το uPAR στην κυτταροπλασματική μεμβράνη διασπάται και αυτό οδηγεί στην απελευθέρωση στο πλάσμα της διαλυτής μορφής του SuPAR<sup>70,71,77,78</sup>.

Τα επίπεδά του SuPAR στην HIV λοίμωξη είναι τουλάχιστον εξίσου ισχυρός προγνωστικός δείκτης της φυσικής εξέλιξης της νόσου με τον απόλυτο αριθμό των CD4+ λεμφοκυττάρων και του ιικού φορτίου του HIV στο πλάσμα<sup>70,71,77,78</sup>. Η συνδυασμένη αντιρετροϊκή θεραπεία (cART) μειώνει τα επίπεδα του SuPAR κατά περίπου 17%<sup>70,71,77,78</sup>. Ωστόσο, μετά από 5 χρόνια θεραπείας με cART, τα επίπεδα που μετρήθηκαν στα PLWH εξακολουθούν να είναι υψηλότερα από ότι σε υγιείς μάρτυρες<sup>70,71,77,78</sup>. Οι ανεπιθύμητες ενέργειες της cART σχετίζονται με υψηλότερα επίπεδα SuPAR<sup>70,71,77,78</sup>. Στα PLWH με πλήρη ιολογική καταστολή πλάσματος που επιτυγχάνεται με τη χρήση cART, τα επίπεδα SuPAR θα μπορούσαν να είναι ένας ανώτερος και ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας για συννοσηρότητες και συμβάντα που δεν σχετίζονται με το AIDS/SNAEs (π.χ. καρδιαγγειακή, ηπατική, μεταβολική και νεφρική νόσο)<sup>70,71,77,78</sup>.

Το SuPAR φαίνεται να είναι ένας εξαιρετικά προγνωστικός και ανεξάρτητος βιοδείκτης για συμβάντα που δεν σχετίζονται με το AIDS, ακόμη και μετά από προσαρμογή για πολλαπλούς παραδοσιακούς παράγοντες κινδύνου, άλλες συννοσηρότητες, ηλικία, χορηγούμενα θεραπευτικά σχήματα, αλλαγές που προκαλούνται από τη θεραπεία στον αριθμό των CD4+ T-κυττάρων και όλους τους άλλους αξιολογημένους βιοδείκτες, συμπεριλαμβανομένων των: IL-6, sCD14 και D-Dimers<sup>77,78</sup>. Συλλογικά, αυτά τα δεδομένα υποδηλώνουν ότι οι παθοφυσιολογικές οδοί που εμπλέκονται στο SuPAR προβλέπουν συμβάντα που δεν σχετίζονται με το AIDS, ακόμη και όταν η αντιγραφή του ιού ελέγχεται ανεξάρτητα από τους κλασικούς δείκτες ανοσοανεπάρκειας<sup>77,78</sup>.

Τα αυξημένα επίπεδα SuPAR μπορεί να αντανακλούν την χρόνια ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος και να προβλέπουν την εξέλιξη της νόσου και τη θνητότητα σε μη θεραπευόμενη HIV λοίμωξη<sup>77,78</sup>.

Στη μελέτη μας, κανένα από τα προαναφερθέντα για τις δυνητικές δράσεις του SuPAR δεν αποδείχθηκε, ανεξάρτητα από το είδος της χορηγούμενης cART, και πιθανές εξηγήσεις αυτού του γεγονότος αποτελούν ο μικρός αριθμός συμμετεχόντων, καθώς και ο περιορισμένος αριθμός των προσδιορισθέντων βιοδεικτών.

Η παρουσία του βακτηριακού LPS (λιποπολυσακχαρίτη) στη συστηματική κυκλοφορία κατά τη διάρκεια της HIV λοίμωξης είναι μια κρίσιμη συνέπεια της εντερικής μικροβιακής αλλόθεσης<sup>56,60,62,63</sup>. Τα μονοκύτταρα εκφράζουν αυξημένα επίπεδα υποδοχέων TLR4, με τους οποίους συνδέεται ο LPS<sup>9,13</sup>. Τα ενεργοποιημένα μονοκύτταρα, με τη σειρά τους, εκκρίνουν άφθονες ποσότητες προφλεγμονωδών/φιλοφλεγμονωδών κυτταροκινών, συμπεριλαμβανομένης της IL-6 και του παράγοντα νέκρωσης των όγκων-α (TNF-α)<sup>9,13</sup>. Τα ενεργοποιημένα μονοκύτταρα αυξάνουν επίσης την έκφραση του επιφανειακού μορίου CD14 και αυτά τα ενεργοποιημένα μονοκύτταρα εκκρίνουν τη διαλυτή μορφή του CD14 (sCD14), η οποία δεσμεύει το LPS<sup>62,63</sup>. Στα PLWH, τα επίπεδα sCD14 ορού συσχετίζονται με την εξέλιξη της νόσου<sup>62,63</sup>. Αυξημένα επίπεδα sCD14 ορού επιμένουν κατά τη χορήγηση cART και αυτό σχετίζεται με συννοσηρότητες, συμπεριλαμβανομένης της ανάπτυξης αθηροσκλήρωσης και νευρογνωστικής εξασθένησης<sup>60,62,63,64</sup>.

Στα συμμετέχοντα PLWH στη μελέτη μας, δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στα επίπεδα sCD14, ανεξάρτητα από το αν χρησιμοποιήθηκαν INSTIs ή PIs/boosted παράγοντες στη χορηγούμενη cART (συνδυαστικά πάντα με 2N(t)RTIs/βάση αγωγής/backbone). Φυσικά, ένας σημαντικός περιοριστικός παράγοντας και σε αυτή την περίπτωση αποτελεί το μικρό μέγεθος δείγματος των συμμετεχόντων.

Η εντερική βακτηριακή αλλόθεση είναι ένας κρίσιμος οδηγός για την ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος (φυσική και προσαρμοστική ανοσία με παρεκκλίνουσες και όχι ομαλά συνδυασμένες οδούς) και οι βιοδείκτες που τουλάχιστον έμμεσα την εκφράζουν, όπως προσδιορίζονται στη συστηματική κυκλοφορία, συχνά συνδέονται με επικείμενη εξέλιξη της HIV νόσου<sup>9,13,55,60</sup>. Δεδομένου ότι η διαταραχή του εντερικού επιθηλιακού φραγμού οδηγεί σε μικροβιακή αλλόθεση, η αξιολόγηση της βλάβης των εντεροκυττάρων αποτελεί αξιόπιστο δείκτη της προσέγγισής της<sup>55,56,60</sup>. Ένας βιοδείκτης απώλειας των εντεροκυττάρων είναι τα αυξημένα επίπεδα στο πλάσμα της εντερικής πρωτεΐνης δέσμησης λιπαρών οξέων (I-FABP), η οποία εκφράζεται αποκλειστικά από τα ίδια τα εντεροκύτταρα<sup>68</sup>. Η I-FABP είναι μια κυτταροπλασματική πρωτεΐνη που εκφράζεται ειδικά στα ώριμα εντεροκύτταρα του λεπτού εντέρου, κυρίως στη νήστιδα<sup>68</sup>.

Σε υγιή άτομα, τα βασικά φυσιολογικά επίπεδα I-FABP στο πλάσμα αντικατοπτρίζουν τη φυσιολογική ανακύκλωση των εντεροκυττάρων, ενώ υψηλότερα επίπεδα μπορεί να σηματοδοτούν βλάβη (injury) του εντερικού επιθηλίου σε συγκεκριμένες νοσολογικές οντότητες<sup>68</sup>. Τα υψηλότερα επίπεδα I-FABP στα PLWH είναι ενδεικτικά αρχόμενης εντερικής επιθηλιακής βλάβης (injury)<sup>68</sup>. Ο γαστρεντερικός βλεννογόνος στα PLWH είναι δυσλειτουργικός, εν μέρει λόγω της απώλειας των Th17-κυττάρων του εντερικού βλεννογόνιου φραγμού (ένα υποσύνολο των CD4+ λεμφοκυττάρων) και της μειωμένης επιθηλιακής ακεραιότητας, η οποία συμβάλλει με ουσιαστικό τρόπο στην αυξημένη μικροβιακή αλλόθεση<sup>55,56,60</sup>. Η εντερική πρωτεΐνη δέσμησης λιπαρών οξέων (I-FABP) είναι ένας βιοδείκτης εντερικής βλάβης μεταξύ των PLWH

και τα αυξημένα επίπεδα στη συστηματική κυκλοφορία σχετίζονται με αυξημένη θνητότητα και χαμηλότερο απόλυτο αριθμό CD4+ T-κυττάρων στην περιφερική κυκλοφορία<sup>68</sup>.

Τα ευρήματά μας είναι σύμφωνα με την τρέχουσα-σύγχρονη βιβλιογραφία σχετικά με τα μετρούμενα επίπεδα του I-FABP, δηλαδή η βλάβη του εντερικού επιθηλιακού φραγμού δεν αποκαθίσταται ποτέ πλήρως, όπως θα ήταν επιθυμητό, παρά τη χορήγηση αποτελεσματικής cART<sup>68</sup>. Φυσικά, θα ήταν σοβαρή παράλειψη να μην αναφέρουμε ότι δεν προσδιορίστηκαν άλλοι βιοδείκτες βλάβης του εντερικού επιθηλιακού φραγμού, εκτός βεβαίως του μικρού αριθμού συμμετεχόντων, για να διαπιστωθεί εάν η χορήγηση INSTIs ή φάρμακο-ενισχυμένων PIs παραγόντων που περιλαμβάνονταν στην cART υπερτερεί στην άμβλυση του παραπάνω επιζήμιου παθοφυσιολογικού φαινομένου.

Ωστόσο, ο πιο κρίσιμος δείκτης εντερικής μικροβιακής αλλόθεσης παραμένει η ανίχνευση μικροβιακών προϊόντων στον ορό των PLWH<sup>55,56,60</sup>. Αυξημένα επίπεδα στη συστηματική κυκλοφορία της πρωτεΐνης δέσμευσης του λιποπολυσακχαρίδη (LPB) οφείλονται, σε μεγάλο βαθμό τουλάχιστον, σε συνεχή μικροβιακή αλλόθεση, λόγω βλάβης του εντερικού επιθηλιακού φραγμού, της διάσπασης των επιθηλιακών στερεών συνδέσεων (tight junctions) και της πρόωμης εξάντλησης των Th17 του GALT<sup>14,55,56,60</sup>. Τέτοιες αλλαγές έχουν συχνά τεκμηριωθεί στα PLWH και χρησιμεύουν ως κρίσιμοι βιοδείκτες ορού χρόνιας και ανώμαλης ανοσολογικής ενεργοποίησης που σχετίζεται με τον ιό HIV<sup>14,55,56,60</sup>. Όπως περιεγράφηκε παραπάνω, η παρουσία μικροβιακών προϊόντων στη συστηματική κυκλοφορία οδηγεί στην ενεργοποίηση των ανοσοκυττάρων (αρχικά σε έντονο βαθμό της φυσικής ανοσίας/innate immunity) μέσω ενεργών αλληλεπιδράσεων μεταξύ υποδοχέων που αυτά φέρουν και μορίων σύνδεσης σε αυτούς (ligands) TLRs-TLRs ligands (συνδέτες)<sup>62,64</sup>.

Η πρωτεΐνη δέσμευσης του LPS (LBP) ανήκει σε μια υπεροικογένεια LBP/βακτηριοκτόνων/αύξης της διαπερατότητας/κλωνικών πρωτεϊνών της υπερώας, των πνευμόνων και του ρινικού επιθηλίου και παράγεται στα ηπατοκύτταρα, στα επιθηλιακά κύτταρα των πνευμόνων και στα επιθηλιακά κύτταρα του γαστρεντερικού σωλήνα, ως γλυκοπρωτεΐνη ορού οξείας φάσης<sup>64</sup>. Τα μέλη αυτής της υπεροικογένειας πρωτεϊνών αποτελούν έναν ιδιαίτερος αποτελεσματικό φυσικό φραγμό κατά των βακτηριακών λοιμώξεων και είναι μέλη του έμφυτου ανοσοποιητικού συστήματος (innate immunity)<sup>64</sup>. Η LBP εμφανίζει ένα μοναδικό χαρακτηριστικό στο ότι συνδέεται με το μικκύλιο LPS και παρέχει ένα μονομερές στο συν-υποδοχέα CD14, γεγονός που ενισχύει την απόκριση σύνδεσης TLR4/MD-2<sup>62,64</sup>. Η LBP αλληλοεπιδρά επίσης με άλλα λιποπεπίδια και ενισχύει τις ανοσοαποκρίσεις μέσω των υποδοχέων TLR2<sup>62,64</sup>. Έτσι, θα μπορούσε να χαρακτηριστεί ως διαλυτός υποδοχέας αναγνώρισης παθολογικών μοριακών προτύπων (PRR)<sup>62,64</sup>. Λόγω των σταθερών επιπέδων της στο πλάσμα, σε αντίθεση με το LPS, μπορεί να αποτελέσει έναν αξιόπιστο βιοδείκτη έκφρασης της εντερικής βακτηριακής αλλόθεσης<sup>64</sup>.

Ένα ιδιαίτερα ενδιαφέρον εύρημα της μελέτης μας, παρά τον μικρό αριθμό συμμετεχόντων, ήταν ότι τα PLWH υπό cART που στο θεραπευτικό σχήμα

περιλαμβανόταν INSTIs παράγοντες εμφάνισαν μια οριακή τάση για χαμηλότερες συγκεντρώσεις LBP στο περιφερικό πλάσμα, το οποίο σίγουρα αξίζει περαιτέρω διερεύνησης για πιθανή ενδεχόμενη άμβλυση της εντερικής βακτηριακής αλλόθεσης και τραυματισμού (injury) του εντερικού επιθηλιακού φραγμού χρησιμοποιώντας φαρμακευτικούς παράγοντες όπως οι INSTIs (πλειοτροπική δράση αυτής της κατηγορίας φαρμάκων;).

Ένα άλλο ενδιαφέρον εύρημα της παρούσας μελέτης μας είναι ότι τα PLWH που έλαβαν cART που περιλάμβανε INSTIs παράγοντες εμφάνισαν επίσης μια «οριακή» ομαλοποίηση του λόγου (ratio) CD4+/CD8+, πιο κοντά στο 1 (Πίνακας 5).

Αυτός ο λόγος (ratio) CD4+/CD8+ μπορεί να αντιπροσωπεύει τις συνδυασμένες επιδράσεις της φλεγμονής και των ανοσολογικών δυσλειτουργιών που ονομάζονται ανοσογήρανση (inflammaging)<sup>53,54</sup>. Αν και οι μηχανισμοί που διέπουν τη μερική διόρθωση του λόγου CD4+/CD8+ και τον επίμονα αυξημένο αριθμό CD8+ CTLs-κυττάρων σε ασθενείς που λαμβάνουν μακροχρόνια θεραπεία cART παραμένουν ελάχιστα κατανοητοί, έχει πρόσφατα αναφερθεί ότι οι ασθενείς με βέλτιστη ανάκτηση/αποκατάσταση των CD4+ T-κυττάρων και χαμηλό λόγο CD4+/CD8+ εξακολουθούν να έχουν αυξημένη ανοσολογική ενεργοποίηση, έναν φαινότυπο γήρανσης του ανοσοποιητικού συστήματος και διατρέχουν υψηλότερο κίνδυνο νοσηρότητας και θνητότητας από νοσολογικές οντότητες που δε σχετίζονται ευθέως, τουλάχιστον σε μία πρώτη προσέγγιση, με το AIDS (SNAEs)<sup>53,54</sup>.

Έως ότου οι «λειτουργικές θεραπείες/ functional cures» που στοχεύουν στον διαρκή έλεγχο του ιού απουσία χορήγησης cART και οι «αποστειρωτικές θεραπείες/θεραπίες πλήρους εκρίζωσης/sterilizing cures», που στοχεύουν, στον αντικειμενικά πιο δύσκολο να επιτευχθεί στόχο, της πλήρους εξάλειψης του ιού, να μπορούν να εφαρμοστούν σε πρακτικό κλινικό επίπεδο, πρέπει να διερευνήσουμε και να αξιοποιήσουμε τα πλεονεκτήματα και δη των πιθανών δυνητικών πλειοτροπικών δράσεων της υπάρχουσας χορηγούμενης συνδυασμένης cART και ιδιαίτερα των θεραπευτικών σχημάτων που περιλαμβάνουν τους INSTIs<sup>84</sup>.

Ένα από τα κύρια μειονεκτήματα της μελέτης μας ήταν ότι διεξήχθη κατά τη διάρκεια της πανδημίας της νόσου COVID-19 με εμφανείς επιπτώσεις στην ένταξη επαρκούς αριθμού συμμετεχόντων λόγω της αδυναμίας ελεύθερης και απρόσκοπτης πρόσβασης σε εγκαταστάσεις κατάλληλης υγειονομικής περίθαλψης. Αυτό μείωσε σημαντικά τον αριθμό των ατόμων που συμμετείχαν στη μελέτη και τον ευρύτερο προσδιορισμό των εξαιρετικά βασικών βιοδεικτών που αντικατοπτρίζουν τη χρόνια ανοσολογική ενεργοποίηση και την εντερική βακτηριακή αλλόθεση.

Παρά τον περιορισμένο αριθμό των PLWH που συμμετείχαν στην παρούσα μελέτη, καθώς και τον περιορισμένο αριθμό των μετρούμενων βιοδεικτών, καταγράφηκε μια οριακή, τουλάχιστον, τάση προς μειωμένα επίπεδα IL-6, LBP και ομαλοποίηση του λόγου CD4+/CD8+ σε λαμβάνοντες cART που περιλάμβανε INSTIs παράγοντες.

Με βάση τα προαναφερθέντα μεγαλύτερος και εκτεταμένος, αριθμός συμμετεχόντων ατόμων (PLWH) και μετρούμενων βιοδεικτών, απαιτείται για να

τεκμηριωθεί μια πιθανή δυνητική πλειοτροπική δράση των σχημάτων cART που περιέχουν INSTIs στη μείωση της χρόνιας, ανώμαλης, αναποτελεσματικής ανοσολογικής ενεργοποίησης και της εντερικής βακτηριακής αλλόθεσης.

## 8. Βιβλιογραφικές αναφορές.

1. Gallo RC, Salahuddin SZ, Popovic M, et al. Frequent detection, and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. *Science*. 1984; 224:500–503.
2. Clavel F, Guetard D, Brun-Vezinet F, et al. Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science*. 1986; 233:343–346.
3. Kanki PJ, Barin F, M’Boup S, et al. New human T-lymphotropic retrovirus related to simian T-lymphotropic virus type III (STLV-IIIAGM). *Science*. 1986; 232:238–243.
4. Clavel F, Guetard D, Brun-Vezinet F, Chamaret S, Rey MA, Santos-Ferreira O. Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science* 1986, 233: 343.
5. Deeks SG. HIV infection, inflammation, immunosenescence, and aging. *Annu Rev Med* 2011, 62: 141-155.
6. Sharp, P.M., and B.H. Hahn, Origins of HIV, and the AIDS pandemic. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2011. 1(1): p. a006841.
7. Yasemin van Heuvel, Stefanie Schatz, Jamila Franca Rosengarten and Jörn Stitz. Infectious RNA: Human Immunodeficiency Virus (HIV) Biology, Therapeutic Intervention, and the Quest for a Vaccine. *Toxins* 2022, 14, 138. <https://doi.org/10.3390/toxins14020138>.
8. Christian Hoffmann and Jürgen K. Rockstroh. HIV 2023/2024 [www.hivbook.com](http://www.hivbook.com). Medizin Fokus Verlag.
9. Goldman-Cecil Medicine, 2-Volume Set. Editors: Lee Goldman, Kathleen A. Cooney. 27th Edition - July 15, 2023.
10. Buffalo CZ, Iwamoto Y, Hurley JH, et al. How HIV Nef Proteins Hijack Membrane Traffic To Promote Infection. *J Virol* 2019, 26:93.
11. WC Greene, BM Peterlin: Charting HIV’s remarkable voyage through the cell: Basic science as a passport to future therapy. *Nat Med* 8:673, 2002. DOI:10.1038/nm0702-673.
12. Cullen BR. HIV-1 auxiliary proteins: making connections in a dying cell. *Cell* 1998, 93: 685-692.
13. Harrison's Principles of Internal Medicine, Twenty-First Edition (Vol.1 & Vol.2). Joseph Loscalzo, Anthony Fauci, Dennis Kasper (Author), Stephen Hauser, Dan Longo, J. Larry Jameson. March 28, 2022.
14. D Montefiori, J P Moore. HIV vaccines. Magic of the occult? *Science*. 1999 Jan 15;283(5400):336-7. doi: 10.1126/science.283.5400.336.

15. Gupta RK, Peppas D, Hill AL, et al. Evidence for HIV-1 cure after CCR5 $\Delta$ 32/ $\Delta$ 32 allogeneic haemopoietic stem-cell transplantation 30 months post analytical treatment interruption: a case report. *Lancet HIV* 2020, 7: E340-E347.
16. Hsu J, van Besien K, Glesby MJ, et al. HIV-1 remission with CCR5D32D32 haplo-cord transplant in a U.S woman: IMPAACT P1107. Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, abstract 65LB, 2022.
17. Jensen BO, Knops E, Cords L, et al. In-depth virological and immunological characterization of HIV-1 cure after CCR5 $\Delta$ 32/ $\Delta$ 32 allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Nat Med* 2023, 29:583-587.
18. Lahaye X, Gentili M, Silvin A., et al. NONO Detects the Nuclear HIV Capsid to Promote cGAS-Mediated Innate Immune Activation. *Cell* 2018, 175: 488-501.
19. Sauter D, Kirchhoff F. Multilayered and versatile inhibition of cellular antiviral factors by HIV and SIV accessory proteins. *Cytokine Growth Factor Rev* 2018, 40: 3-12.
20. Alexandra P. M. Cloherty, Anusca G. Rader, Brandon Compeer and Carla M. S. Ribeiro. Human TRIM5 $\alpha$ : Autophagy Connects Cell-Intrinsic HIV-1 Restriction and Innate Immune Sensor Functioning. *Viruses* 2021, 13, 320. <https://doi.org/10.3390/v13020320>.
21. Usami Y, WU Y, Göttinger HG. SERINC3 and SERINC5 restrict HIV1 infectivity and are counteracted by Nef. *Nature* 2015, 526: 218-223.
22. Altfeld M, Gale M. Innate immunity against HIV-1 infection. *Nat Immunol* 2015, 16: 554-562.
23. Kane M, Yadav SS, Bitzegeio J, et al. MX2 is an interferon-induced inhibitor of HIV-1 infection. *Nature* 2013, 502: 563–566.
24. Lahouassa H, Daddacha W, Hofmann H, et al. SAMHD1 restricts the replication of human immunodeficiency virus type 1 by depleting the intracellular pool of deoxynucleoside triphosphates. *Nat Immunol* 2012, 13:223- 228.
25. Bergantz L, Subra F, Deprez E, et al. Interplay between Intrinsic and Innate Immunity during HIV Infection. *Cells* 2019, 17:8.
26. Zhu Y, Chen G, Lv F, et al. Zinc-finger antiviral protein inhibits HIV-1 infection by selectively targeting multiply spliced viral mRNAs for degradation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011, 108: 15834-15839.
27. John E. Bennett, Raphael Dolin, Martin J. Blaser-Mandell, Douglas, and Bennett's. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. Elsevier (2019).
28. Jean-Louis Excler, Jerome H Kim. Novel prime-boost vaccine strategies against HIV-1. *Expert Rev Vaccines*. 2019 Aug;18(8):765-779. DOI: 10.1080/14760584.2019.1640117.
29. Gupta RK, Peppas D, Hill AL, et al. Evidence for HIV-1 cure after CCR5 $\Delta$ 32/ $\Delta$ 32 allogeneic haemopoietic stem-cell transplantation 30 months post analytical treatment interruption: a case report. *Lancet HIV* 2020, 7: E340-E347.
30. Hsu J, van Besien K, Glesby MJ, et al. HIV-1 remission with CCR5D32D32 haplo-cord transplant in a U.S woman: IMPAACT P1107. Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, abstract 65LB, 2022.

31. Jensen BO, Knops E, Cords L, et al. In-depth virological and immunological characterization of HIV-1 cure after CCR5 $\Delta$ 32/ $\Delta$ 32 allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Nat Med* 2023, 29:583-587.
32. Brenchley JM, Price DA, Schacker TW, et al. Microbial translocation is a cause of systemic immune activation in chronic HIV infection. *Nat Med* 2006, 12:1365-1371.
33. Parsons MS, Chung AW, Kent SJ. Importance of Fc-mediated functions of anti-HIV-1 broadly neutralizing antibodies. *Retrovirology* 2018, 15: 58.
34. Overbaugh J, Morris L. The Antibody Response against HIV-1. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2012, 2: a007039.
35. Gruell H, Schommers P. Broadly neutralizing antibodies against HIV-1 and concepts for application. 54: 101211.
36. Addo MM, Yu XG, Rathod A, et al. Comprehensive epitope analysis of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1)-specific T-cell responses directed against the entire expressed HIV-1 genome demonstrate broadly directed responses, but no correlation to viral load. *J Virol* 2003, 77: 2081-2092.
37. Allen TM, Altfeld M, Geer SC, et al. Selective escape from CD8+ T-cell responses represents a major driving force of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) sequence diversity and reveals constraints on HIV-1 evolution. *J Virol* 2005, 79: 13239-13249.
38. Draenert R, Verrill CL, Tang Y, et al. Persistent recognition of autologous virus by high-avidity CD8 T cells in chronic, progressive human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Virol* 2004, 78: 630-641.
39. Streeck H, Jolin JS, Ying Q, et al. Human Immunodeficiency Virus Type 1-Specific CD8+ T-Cell Responses during Primary Infection Are Major Determinants of the Viral Set Point and Loss of CD4+ T Cells. *J Virol* 2009, 83: 7641- 7648.
40. Collins DR, Gaiha GD, Walker BD. CD8+ T cells in HIV control, cure and prevention. *Nat Rev Immunol* 2020, 20: 471-482.
41. Migueles SA, Alisha C, Laborico W, et al. HIV-specific CD8+ T cell proliferation is coupled to perforin expression and is maintained in nonprogressors. *Nat Immunol* 2002, 3: 1061–1068.
42. Day CL, Kaufmann DE, Kiepiela P, et al. PD-1 expression on HIV-specific T cells is associated with T-cell exhaustion and disease progression. *Nature* 2006, 443: 350-354.
43. Mdluli T, Li Y, Pinyakorn S et al. Acute HIV-1 infection viremia associate with rebound upon treatment interruption. *Med (NY)* 2022, S2666-6340.
44. Fenwick C, Joo V, Jacquier P, et al. T-cell exhaustion in HIV infection. *Immunol Rev* 2019, 292: 149-163.
45. Brenchley JM, Paiardini M, Knox KS, et al. Differential Th17 CD4 T-cell depletion in pathogenic and nonpathogenic lentiviral infections. *Blood* 2008, 112:2826-2835.
46. Crotty S. T Follicular Helper Cell Biology: A Decade of Discovery and Diseases. *Immunity* 2019, 50: 1132-1148.

47. Finzi, D, Blankson, J., Siliciano, J. et al. Latent infection of CD4+ T cells provides a mechanism for lifelong persistence of HIV-1, even in patients on effective combination therapy. *Nat Med* 1999, 5: 512–517.
48. Tenorio AR, Zheng Y, Bosch RJ, et al. Soluble markers of inflammation and coagulation but not T-cell activation predict non-AIDS-defining morbid events during suppressive antiretroviral treatment. *J Infect Dis* 2014, 210: 1248- 1259.
49. Brenchley JM, Price DA, Schacker TW, et al. Microbial translocation is a cause of systemic immune activation in chronic HIV infection. *Nat Med* 2006, 12:1365-1371.
50. Flores-Villanueva PO, Yunis EJ, Delgado JC, et al. Control of HIV-1 viremia and protection from AIDS are associated with HLA-Bw4 homozygosity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001, 98: 5140-5145.
51. Linda-Gail Bekker, Chris Beyrer, Nyaradzo Mgodji, Sharon R. Lewin, Sinead Delany-Moretlwe, Babafemi Taiwo, Mary Clare Masters & Jeffrey V. Lazarus. HIV infection. *Nature reviews disease primers*. (2023) 9:42. <https://doi.org/10.1038/s41572-023-00452-3>.
52. Dufour C, Gantner P, Fromentin R, Chomont N. The multifaceted nature of HIV latency. *J Clin Invest*. 2020 Jul 1;130(7):3381-3390. DOI: 10.1172/JCI136227.
53. Lu W, Mehraj V, Vyboh K, et al. CD4:CD8 ratio as a frontier marker for clinical outcome, immune dysfunction, and viral reservoir size in virologically suppressed HIV-positive patients. *J Int AIDS Soc*. 2015; 18:20052. DOI: 10.7448/IAS.18.1.20052.
54. Lu W, Mehraj V, Vyboh K, et al. CD4:CD8 ratio as a frontier marker for clinical outcome, immune dysfunction, and viral reservoir size in virologically suppressed HIV-positive patients. *J Int AIDS Soc*. 2015; 18:20052. DOI: 10.7448/IAS.18.1.20052.
55. Ghosh S. S., Wang J., Yannie P. J., & Ghosh S. (2020). Intestinal Barrier Dysfunction, LPS Translocation, and Disease Development. *Journal of the Endocrine Society*, 4(2). doi:10.1210/jendso/bvz039.
56. Luján JA, Rugeles MT, Taborda NA. Contribution of the Microbiota to Intestinal Homeostasis and its Role in the Pathogenesis of HIV-1 Infection. *Curr HIV Res*. 2019;17(1):13-25. DOI: 10.2174/1570162X17666190311114808.
57. Lallès JP. Intestinal alkaline phosphatase: novel functions and protective effects. *Nutr Rev*. 2014;72(2):82–94. DOI: 10.1111/nure.12082.
58. Malo MS, Moaven O, Muhammad N, et al. Intestinal alkaline phosphatase promotes gut bacterial growth by reducing the concentration of luminal nucleotide triphosphates. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2014;306(10): G826–G838. DOI: 10.1152/ajpgi.00357.2013.
59. Hartsock A, Nelson WJ. Adherens and tight junctions: structure, function, and connections to the actin cytoskeleton. *Biochim Biophys Acta*. 2008;1778(3):660–669. DOI: 10.1016/j.bbamem.2007.07.012.
60. S. F. Assimakopoulos, D. Dimitropoulou, M. Marangos, C. A. Gogos. Intestinal barrier dysfunction in HIV infection: pathophysiology, clinical implications, and



- potential therapies. *Infection* (2014) 42:951–959. DOI: 10.1007/s15010-014-0666-5. Epub 2014 Jul 29.
61. Pace BT, Lackner AA, Porter E, Pahar B. The Role of Defensins in HIV Pathogenesis. *Mediators Inflamm.* 2017;2017:5186904. DOI: 10.1155/2017/5186904.
  62. Hiroki Tsukamoto, Shino Takeuchi, Kanae Kubota, Yohei Kobayashi, Sao Kozakai, Ippo Ukai, Ayumi Shichiku, Misaki Okubo, Muneo Numasaki, Yoshitomi Kanemitsu, Yotaro Matsumoto, Tomonori Nochi, Kouichi Watanabe, Hisashi Aso, Yoshihisa Tomioka. Lipopolysaccharide (LPS)-binding protein stimulates CD14-dependent Toll-like receptor 4 internalization and LPS-induced TBK1–IKKε–IRF3 axis activation. *Journal of Biological Chemistry* (2018), 293(26), 10186–10201. doi:10.1074/jbc.m117.796631.
  63. Ryu JK, Kim SJ, Rah SH, Kang JI, Jung HE, Lee D, Lee HK, Lee JO, Park BS, Yoon TY, Kim HM. Reconstruction of LPS Transfer Cascade Reveals Structural Determinants within LBP, CD14, and TLR4-MD2 for Efficient LPS Recognition and Transfer. *Immunity.* 2017 Jan 17;46(1):38-50. DOI: 10.1016/j.immuni.2016.11.007. Epub 2016 Dec 13.
  64. Thomas J. Hope, Douglas D. Richman, Mario Stevenson. *Encyclopedia of AIDS.* Springer Science Business Media LLC 2018. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7101-5>.
  65. Catherine W. Cai, Irini Sereti. Residual immune dysfunction under antiretroviral therapy. *Seminars in Immunology.* <https://doi.org/10.1016/j.smim.2021.101471>.
  66. Jurkowska K., Szymanska B., Knysz B., Piwowar A. Effect of Combined Antiretroviral Therapy on the Levels of Selected Parameters Reflecting Metabolic and Inflammatory Disturbances in HIV-Infected Patients. *J. Clin. Med.* 2022, 11, 1713. <https://doi.org/10.3390/jcm11061713>.
  67. Younas M, Psomas C, Reynes C, Cezar R, Kundura L, Portales P, Merle C, Atoui N, Fernandez C, Le Moing V, Barbuat C, Moranne O, Sotto A, Sabatier R, Fabbro P, Vincent T, Dunyach-Remy C, Winter A, Reynes J, Lavigne JP, Corbeau P. Microbial Translocation Is Linked to a Specific Immune Activation Profile in HIV-1-Infected Adults with Suppressed Viremia. *Front Immunol.* 2019 Sep 13; 10:2185. doi: 10.3389/fimmu.2019.02185. eCollection 2019.
  68. Lediya T Cheru, Elli A Park, Charles F Saylor, Tricia H Burdo, Kathleen V Fitch, Sara Looby, Jeffrey Weiner, Jake A Robinson, Jane Hubbard, Martin Torriani, Janet Lo. I-FABP Is Higher in People with Chronic HIV Than Elite Controllers, Related to Sugar and Fatty Acid Intake and Inversely Related to Body Fat in People With HIV. *Open Forum Infect Dis.* 2018 Nov 5;5(11): ofy288. DOI: 10.1093/ofid/ofy288. eCollection 2018 Nov.
  69. Uciechowski, P., & Dempke, W. C. M. (2020). Interleukin-6: A Master player in the Cytokine Network. *Oncology*, 1–7. doi:10.1159/000505099.
  70. Kirkegaard-Klitbo, D. M., Langkilde, A., Mejer, N., Andersen, O., Eugen-Olsen, J., & Benfield, T. (2017). Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor Is a Predictor of Incident Non-AIDS Comorbidity and All-Cause Mortality in Human

- Immunodeficiency Virus Type 1 Infection. *The Journal of Infectious Diseases*, 216(7), 819–823. doi:10.1093/infdis/jix266.
71. Velissaris D, Dimopoulos G, Parissis J, Alexiou Z, Antonakos N, Babalis D, Gerakari S, Kaldis V, Koutoukas P, Lada M, Leventogiannis K, Pantazopoulos I, Papadopoulos A, Polyzogopoulou E, Gogos C, Armaganidis A, Giamarellos-Bourboulis EJ. Prognostic Role of Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor at the Emergency Department: A Position Paper by the Hellenic Sepsis Study Group. *Infect Dis Ther*. 2020 Sep;9(3):407-416. DOI: 10.1007/s40121-020-00301-w. Epub 2020 May 12. PMID: 32399855.
  72. Haupt TH et al. Healthy lifestyles reduce suPAR and mortality in a Danish general population study. *Immun Ageing*. 22; 16:1 (2019). DOI: 10.1186/s12979-018-0141-8. eCollection 2019.
  73. Törnkvist PBS et al. Soluble urokinase plasminogen activator receptor is linearly associated with dietary quality and predicts mortality. *Br J Nutr*. 2019;121(6):699-708. DOI: 10.1017/S0007114518003720. Epub 2019 Jan 10.
  74. Eugen-Olsen, J. et al. Circulating soluble urokinase plasminogen activator receptor predicts cancer, cardiovascular disease, diabetes, and mortality in the general population. *J. Intern. Med*. 268, 296–308 (2010). DOI: 10.1111/j.1365-2796.2010.02252. x.
  75. Borné, Y., Persson, M., Melander, O., Smith, J. G. & Engström, G. Increased plasma level of soluble urokinase plasminogen activator receptor is associated with the incidence of heart failure but not atrial fibrillation. *Eur. J. Heart Fail*. 16, 377–383 (2014). DOI: 10.1002/ejhf.49.
  76. Haupt, T. H. et al. Risk factors associated with serum levels of the inflammatory biomarker soluble urokinase plasminogen activator receptor in a general population. *Biomark. Insights* 9, 91–100 (2014). DOI: 10.4137/BMI.S19876. eCollection 2014.
  77. Hoenigl M et al and the ACTG NWCS 411 study team. Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor (suPAR) is predictive of Non-AIDS Events during Antiretroviral Therapy-mediated Viral Suppression. *Clin Infect Dis*. 2018. DOI: 10.1093/cid/ciy966.
  78. Hoenigl M, Moser CB, Funderburg N, Bosch R, Kantor A, Zhang Y, Eugen-Olsen J, Finkelman M, Reiser J, Landay A, Moisi D, Lederman MM, Gianella S; Adult Clinical Trials Group NWCS 411 study team. Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor Is Predictive of Non-AIDS Events During Antiretroviral Therapy-mediated Viral Suppression. *Clin Infect Dis*. 2019 Aug 1;69(4):676-686. doi: 10.1093/cid/ciy966.
  79. Michelini, Z.; Baroncelli, S.; Fantauzzi, A.; Pasquale, C.; Galluzzo, C.M.; Sanchez, M.; Gatto, M.; Amici, R.; Franco, M.; d'Ettorre, G.; et al. Reduced Plasma Levels of sCD14 and I-FABP in HIV-infected Patients with Mesalazine-treated Ulcerative Colitis. *HIV Clin. Trials* 2016, 17, 49–54. <https://doi.org/10.1080/15284336.2015.1125077>.

80. Kelesidis, T.; Tran, T.T.; Stein, J.H.; Brown, T.T.; Moser, C.; Ribaldo, H.J.; Dube, M.P.; Murphy, R.; Yang, O.O.; Currier, J.S.; et al. Changes in Inflammation and Immune Activation With Atazanavir-, Raltegravir-, Darunavir-Based Initial Antiviral Therapy: ACTG 5260s. *Clin Infect Dis* 2015, *61*, 651-660, doi:10.1093/cid/civ327.
81. Hellmuth, J.; Slike, B.M.; Sacdalan, C.; Best, J.; Kroon, E.; Phanuphak, N.; Fletcher, J.L.K.; Prueksakaew, P.; Jagodzinski, L.L.; Valcour, V.; et al. Very Early Initiation of Antiretroviral Therapy During Acute HIV Infection Is Associated With Normalized Levels of Immune Activation Markers in Cerebrospinal Fluid but Not in Plasma. *J Infect Dis* 2019, *220*, 1885-1891, doi:10.1093/infdis/jiz030.
82. Neff, C.P.; Krueger, O.; Xiong, K.; Arif, S.; Nusbacher, N.; Schneider, J.M.; Cunningham, A.W.; Armstrong, A.; Li, S.; McCarter, M.D.; et al. Fecal Microbiota Composition Drives Immune Activation in HIV-infected Individuals. *EBioMedicine* 2018, *30*, 192-202, doi:10.1016/j.ebiom.2018.03.024.
83. Austin, P.C. An Introduction to Propensity Score Methods for Reducing the Effects of Confounding in Observational Studies. *Multivariate Behav Res* 2011, *46*, 399-424, doi:10.1080/00273171.2011.568786.
84. Adam R. Ward, Talia M. Mota, R. Brad Jones. Immunological approaches to HIV cure. *Seminars in Immunology* 51 (2021) 101412. Journal homepage: [www.elsevier.com/locate/ysmim](http://www.elsevier.com/locate/ysmim).

Θωμάς Ν. Νιτσοτόλης

Παθολόγος-Εντατικολόγος-Λοιμωξιολόγος

Επιμελητής Α΄ ΕΣΥ

Γ΄ Πανεπιστημιακή Παθολογική Κλινική ΕΚΠΑ

Γ.Ν.Ν.Θ.Α. «Η ΣΩΤΗΡΙΑ»

