



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**  
**ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΟ ΓΕΝΙΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ «ΑΤΤΙΚΟΝ»**

**Β΄ Προπαιδευτική Παθολογική Κλινική**

**Διευθύντρια: Αμάντα Ψυρρή**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**«ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΜΕΤΑΜΟΣΧΕΥΣΗΣ  
ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΤΟ ΑΓΓΕΙΑΚΟ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟ»**

**Διονύσιος Βυθούλκας**

**Τεχνολόγος Ιατρικών Εργαστηρίων**

**ΑΘΗΝΑ 2024**

**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**  
**ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΟ ΓΕΝΙΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ «ΑΤΤΙΚΟΝ»**

**Β΄ Προπαιδευτική Παθολογική Κλινική**

**Διευθύντρια: Αμάντα Ψυρρή**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**«ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΜΕΤΑΜΟΣΧΕΥΣΗΣ  
ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΤΟ ΑΓΓΕΙΑΚΟ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟ»**

**Διονύσιος Βυθούλκας**

**Τεχνολόγος Ιατρικών Εργαστηρίων**

**ΑΘΗΝΑ 2024**

### **Στοιχεία Διδακτορικής Διατριβής**

Ημερομηνία κατάθεσης αίτησης: 25 Ιανουαρίου 2021

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Επιτροπής: 26 Φεβρουαρίου 2021

Ημερομηνία Ορισμού Θέματος: 28 Σεπτεμβρίου 2021

Ημερομηνία ορισμού Επταμελούς Επιτροπής: 25 Ιουνίου 2024

Ημερομηνία Καταθέσεως Διδακτορικής Διατριβής: 17 Ιουλίου 2024

### **Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής**

1. Τσιριγώτης Παναγιώτης, Καθηγητής (Επιβλέπων)
2. Παππά Βασιλική, Καθηγήτρια
3. Αγγελοπούλου Μαρία, Καθηγήτρια


**Προέδρος Ιατρικής Σχολής**  
Νικόλαος Φ. Αρκαδόπουλος, Καθηγητής

### **Μέλη Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής**

1. Τσιριγώτης Παναγιώτης, Καθηγητής (Επιβλέπων)
2. Παππά Βασιλική, Καθηγήτρια
3. Αγγελοπούλου Μαρία, Καθηγήτρια
4. Κοντοπίδου Φλώρα, Καθηγήτρια
5. Κρούπης Χρήστος, Καθηγητής
6. Βαλσάμη Σερένα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια
7. Διαμαντόπουλος Παναγιώτης, Επίκουρος Καθηγητής

Βαθμός Άριστα

Ο ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΟΥΣ

 ΜΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΙΗΤΡΟΝ, ΚΑΙ ΑΣΚΛΗΠΙΟΝ,  
ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΝ, ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ, ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝ  
ΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ, ΙΣΤΟΡΑΣ ΠΟΙΕΥΜΕΝΟΣ, ΕΠΙ  
ΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ  
ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ· ΗΓΗΣΑΣΘ  
ΑΙ ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΞΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗ  
Ν ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΣΑΣΘΑΙ, Κ  
ΑΙ ΧΡΕΩΝ ΧΡΗΖΟΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣΘΑΙ, Κ  
ΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΞ ΕΥΤΕΡΟΥ ΑΔΕΛΦΟΙΣ ΙΣΟΝ ΕΠΙΚΡΙΝ  
ΕΕΙΝ ΑΡΡΕΣΙ, ΚΑΙ ΔΙΔΑΞΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ,  
ΗΝ ΧΡΗΖΩΣΙ ΜΑΝΘΑΝΕΙΝ, ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΞΥ  
ΓΓΡΑΦΗΣ, ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΗΣ ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ  
ΛΟΙΠΗΣ ΑΠΑΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣ  
ΘΑΙ ΥΙΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΤΟΙΣΙ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΞΑΝ  
ΤΟΣ, ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΑΙΣΙ ΣΥΓΓΕΓΡΑΜΜΕΝΟΙΣΙ ΤΕ ΚΑΙ ΛΟ  
ΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ, ΙΗΤΡΙΚΩ, ΑΛΛΩ, ΔΕ ΟΥΔΕΝΙ·  
ΔΙΑΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ' ὈΦΕΛΕΙΗ, ΚΑΜΜΟ  
ΝΤΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ, ΕΠΙ ΔΗΛΗ  
ΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΗ, ΕΙΡΞΕΙΝ· ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ  
ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΣΙΜΟΝ, ΟΥΔΕΥ  
ΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΞΥΜΒΟΥΛΙΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ ὈΜΟΙΩΣ ΔΕ ΟΥ  
ΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΘΟΡΙΟΝ ΔΩΣΩ· ΑΓΝΩΣ Δ  
Ε ΚΑΙ ΟΣΙΩΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝ  
ΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ· ΟΥ ΤΕΜΕΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΛΙΘ  
ΙΛΝΤΑΣ, ΕΚΧΩΡΗΣΩ ΔΕ ΕΡΓΑΤΗΣΙΝ ΑΝΔΡΑΣΙ ΠΡ  
ΗΞΙΟΣ ΤΗΣΔΕ· ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ ΕΣΩ,  
ΕΞΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΕΠ' ὈΦΕΛΕΙΗ, ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ, ΕΚΤ  
ΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΙΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΙΗΣ, Τ  
ΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ ΤΕ ΓΥ  
ΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΩΝ, ΕΛΕΥΘΕΡ  
ΩΝ ΤΕ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ· Α Δ' ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΗ,  
Η ΙΔΩ, Η ΑΚΟΥΩ, Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΗΤΗΣ ΚΑΤΑ Β  
ΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, Δ ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΛΑΛΕΕΣΘΑΙ  
ΕΞΩ, ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ, ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟ  
ΙΑΥΤΑ· ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕ  
Δ ΠΟΙΕΟΝΤΙ, ΚΑΙ ΜΗ ΞΥΓΧΕΟΝΤΙ, ΕΙΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘ  
ΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ ΔΟΞΑΖΟΜΕΝΩ, ΠΑΡΑ Π  
ΑΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΣ ΤΟΝ ΔΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ· ΠΑΡΑΒΑΙ  
ΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΟΥΝΤΙ, ΤΑΝΑΝΤΙΑ ΤΟΥΤΩΝ.

■

## ΔΙΟΝΥΣΙΟΣ ΒΥΘΟΥΛΚΑΣ – ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

[dionisiosvithoukas@gmail.com](mailto:dionisiosvithoukas@gmail.com)

Ιστορικό  
εργασίας

### **ΤΕΧΝΟΛΟΓΟΣ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ -ΣΥΝΤΟΝΙΣΤΗΣ ΚΛΙΝΙΚΩΝ ΜΕΛΕΤΩΝ**

ΑΤΤΙΚΟ ΓΕΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΟ  
ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ, Β' ΠΠΚ, ΜΟΝΑΔΑ  
ΜΕΤΑΜΟΣΧΕΥΣΗΣ ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ  
ΚΥΤΤΑΡΩΝ

20/06/2022 – ΣΗΜΕΡΑ

### **ΤΕΧΝΟΛΟΓΟΣ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ**

ΓΕΝΙΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΑΘΗΝΩΝ «Ο  
ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ -ΟΦΘΑΛΜΙΑΤΡΕΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
- ΠΟΛΥΚΛΙΝΙΚΗ

24/04/2017 – 20/04/2022

### **ΤΕΧΝΟΛΟΓΟΣ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ**

ΟΜΙΛΟΣ ΙΑΤΡΙΚΟΥ ΑΘΗΝΩΝ

08/04/2013 – 18/04/2017

### **ΤΕΧΝΟΛΟΓΟΣ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ**

ΡΕΑ ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ-ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

07/12/2010 – 04/04/2013

### **ΤΕΧΝΟΛΟΓΟΣ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ**

ΜΗΤΕΡΑ ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ, ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ,  
ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

26/05/2008 – 07/12/2010

### **ΔΙΔΑΣΚΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ**

METROPOLITAN COLLEGE

Διδασκαλία μαθημάτων στο τμήμα Βιοϊατρικών  
Επιστημών

22/10/2019 – ΣΗΜΕΡΑ

### **ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΩΡΟΜΙΣΘΙΟΣ**

Δ.Ι.ΕΚ ΕΛΛΗΝΙΚΟΥ-ΑΡΓΥΡΟΥΠΟΛΗΣ

01/10/2022 – ΣΗΜΕΡΑ

---

Εκπαίδευση

### **ΥΠΟΨΗΦΙΟΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΑΣ**

ΕΚΠΑ - Ιατρική Σχολή

25/02/2021 – ΣΗΜΕΡΑ

**MSC, ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΔΙΟΙΚΗΣΗ ΜΟΝΑΔΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**

ΕΚΠΑ - Ιατρική Σχολή

28/02/2017 – 25/09/2019

**MSC ΔΙΕΘΝΟΥΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ - ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ ΚΡΙΣΕΩΝ  
ΥΓΕΙΑΣ**

ΕΚΠΑ - Ιατρική Σχολή

01/10/2011 – 01/12/2014

**ΠΤΥΧΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ**

Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης

01/09/2002 – 17/12/2006

**ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ**

1. Effects of sodium-glucose cotransporter-2 inhibitors and glucagon-like peptide-1 receptor agonists on vascular function and liver steatosis in diabetes. I Ikonomidis, E Michalopoulou, G Pavlidis, V Prentza, K Katogiannis, G Kostelli, D Vythoulkas, A Kountouri, E Korakas, L Pliouta, J Thymis, V Lambadiari. European Heart Journal, Volume 44, Issue Supplement\_2, November 2023, ehad655.2560, <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehad655.2560>
2. Effect of Sacubitril/Valsartan and enalapril on left ventricular function in patients with hematologic malignancies after bone marrow transplantation. K Katogiannis, I Ikonomidis, M Stamouli, G Makavos, D Tsilivarakis, G A Koliou, D Vythoulkas, E Katsanaki, P Tsirigotis Author Notes. European Heart Journal, Volume 44, Issue Supplement\_2, November 2023, ehad655.092, <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehad655.092>
3. Association of ventricular-arterial interaction with left ventricular remodelling after acute myocardial infarction: a 2- year follow-up study. I Ikonomidis, D Tsilivarakis, G Pavlidis, K Katogiannis, G Kostelli, A Kountouri, E Korakas, L Pliouta, E Michalopoulou, J

Thymis, D Vythoulkas, A R Vrettou, A Frogoudaki, J Parissis, G Filippatos. European Heart Journal, Volume 44, Issue Supplement\_2, November 2023, ehad655.2046, <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehad655.2046>

4. Effect of Sacubitril/Valsartan and enalapril on left ventricular function in patients with hematologic malignancies after bone marrow transplantation. K Katogiannis, I Ikonmidis, M Stamouli, G Makavos, D Tsilivarakis, G A Koliou, D Vythoulkas, P Tsirigotis. European Heart Journal - Cardiovascular Imaging, Volume 24, Issue Supplement\_1, June 2023, jead119.169, <https://doi.org/10.1093/ehjci/jead119.169>
  
5. Endothelial Injury Syndromes after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Angiotensin-2 as a Novel Predictor of the Outcome and the Role of Functional Autoantibodies against Angiotensin II Type 1 and Endothelin A Receptor. Vythoulkas, D.; Lazana, I.; Kroupis, C.; Gavriilaki, E.; Konstantellos, I.; Bousiou, Int. J. Z.; Chondropoulos, S.; Griniezaki, M.; Vardi, A.; Gkirkas, K.; et al. Mol.Sci. 2023, 24, 6960. <https://doi.org/10.3390/ijms24086960>
  
6. Solid tumor transmission from donor to recipient after allogeneic stem cell transplantation: it is rare but it happens! Panagiotis Tsirigotis, Alexandros Spyridonidis, Konstantinos Gkirkas, Spiros Chondropoulos, Phivi Rondogianni, Thomas Thomopoulos, Angeliki Karagiannidou, Dionysios Vythoulkas, Marianna Griniezaki, Nikolaos Georgakopoulos, Maria Stamouli, Periklis G. Foukas Vol. 21 No. 5 (2023): Blood Transfusion 5-2023 (September-October) DOI:10.2450/BloodTransfus.498

7. Endothelial Dysfunction Syndromes after Allogeneic Stem Cell Transplantation Vythoukas, D.; Tsigotis, P.; Griniezaki, M.; Konstantellos, I.; Lazana, I.. *Cancers* 2023, 15,680. <https://doi.org/10.3390/cancers15030680>
  
8. Effect of Sacubitril/Valsartan or enalapril on left ventricular longitudinal strain in patients with hematologic malignancies after bone marrow transplantation. K Katogiannis, I Ikonomidis, M Stamouli, G Makavos, D Tsilivarakis, GA Koliou, D Vythoukas, J Thymis, P Tsigotis *European Heart Journal - Cardiovascular Imaging*, Volume 23, Issue Supplement\_1, February 2022, jeab289.044, <https://doi.org/10.1093/ehjci/jeab289.044>
  
9. Differences in Left atrial stain, endothelial glycocalyx and arterial elasticity between ESUS, lacunar and atherosclerotic type of stroke. K Katogiannis, I Ikonomidis, K Stamoulis, A Frogoudaki, AR Vrettou, J Thymis, G Kostelli, A Kountouri, E Korakas, E Michalopoulou, D Vythoukas, GA Koliou, D Benas, V Lambadiari, G Tsigoulis. *European Heart Journal - Cardiovascular Imaging*, Volume 23, Issue Supplement\_1, February 2022, jeab289.295, <https://doi.org/10.1093/ehjci/jeab289.295>
  
10. Differences in left atrial stain, endothelial glycocalyx and arterial elasticity between ESUS, lacunar and atherosclerotic type of stroke. I. Ikonomidis, K. Katogiannis, A. Frogoudaki, A.R. Vrettou, J. Thymis, G. Kostelli, A. Kountouri, E. Korakas, E. Michalopoulou, D. Vythoukas, G. Koliou, A. Simou, D. Benas, V. Lambadiari, G. Tsigoulis. *European Heart Journal*, Volume 42, Issue Supplement\_1, October 2021, ehab724.2075,



11. Effect of Sacubitril/Valsartan on left ventricular longitudinal strain in patients with hematologic malignancies after bone marrow transplantation. K. Katogiannis, I. Ikonomidis, M. Stamouli, G. Makavos, D. Tsilivarakis, G. Koliou, D. Vythoulkas, P. Tsirigotis. *European Heart Journal*, Volume 42, Issue Supplement\_1, October 2021, ehab724.020, <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehab724.020>. Published: 14 October 2021

#### **ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ**

1. Εκτίμηση των επιπέδων Αγγειοποιητικής-2 και λειτουργικών αυτοαντισωμάτων έναντι υποδοχέων του ενδοθηλίου σε ασθενείς με σύνδρομο ενδοθηλιακής βλάβης μετά από αλλογενή μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων: Πρώιμα αποτελέσματα Δ. Βυθούλκας, Ε. Γαβριηλάκη, Χ. Κρούπης, Α. Καραγιαννίδη, Κ. Λουκαρή, Χ. Αποστολοπούλου, Θ. Θωμόπουλος, Σ. Χονδρόπουλος, Κ. Γκίρκας, Δ. Μαλλουρή, Ι. Μπάτσης, Μ. Σταμούλη, Α. Αναγνωστόπουλος, Ι. Σακελλάρη, Π. Τσιριγώτης. 32ο Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο. Αθήνα, 10-14/11/2021
2. Ενδοθηλιακή δυσλειτουργία στους συγγενείς πρώτου βαθμού ατόμων με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 και σε άτομα με παθολογική από του στόματος δοκιμασία ανοχής στη γλυκόζη λόγω μειωμένης βιοδιαθεσιμότητας νιτρικού οξέος. Γ. Παυλίδης, Ι. Οικονομίδης, Μ. Τσουμάνη, Φ. Τσακαλίδη, Ι. Θυμής, Δ. Βυθούλκας, Φ. Κουσαθανά, Μ. Βαρούδη, Κ. Κατωγιάννης, Ι. Παρίσης, Α. Μπάμιας, Ι. Ανδρεάδου, Γ. Φιλιππάτος, Β. Λαμπαδιάρη. 42ο Πανελλήνιο Καρδιολογικό Συνέδριο της Ελληνικής Καρδιολογικής Εταιρείας, 21-23 Οκτωβρίου 2021, ΜΕΓΑΡΟ ΜΟΥΣΙΚΗΣ Αθηνών.

3. Επίδραση της Σακουμπιτρίλης/Βαλσαρτάνης στη συνολική επιμήκη παραμόρφωση της αριστερής κοιλίας σε ασθενείς με αιματολογικές κακοήθειες μετά από μεταμόσχευση μυελού των οστών. Κ. Κατωγιάννης, Μ. Σταμούλη, Γ. Μακαβος, Δ. Τσιλιβαράκης, Γ. Α. Κολιού, Δ. Βυθούλκας, Π. Τσιριγώτης, Ι. Οικονομίδης. 42ο Πανελλήνιο Καρδιολογικό Συνέδριο της Ελληνικής Καρδιολογικής Εταιρείας, 21-23 Οκτωβρίου 2021, ΜΕΓΑΡΟ ΜΟΥΣΙΚΗΣ Αθηνών.
  
4. Effect of Sacubitril/Valsartan on left ventricular longitudinal strain in patients with hematologic malignancies after bone marrow transplantation. K. Katogiannis, I. Ikonomidis, M. Stamouli, G. Makavos, D. Tsilivaraki<sup>1</sup>, G. Kolio<sup>1</sup>, D. Vythoulkas, P. Tsigotis. ESC Congress 2021 – The Digital Experience 27–30 August 2021
  
5. Differences in left atrial stain, endothelial glycocalyx and arterial elasticity between ESUS, lacunar and atherosclerotic type of stroke. Ikonomidis, K. Katogiannis, A. Frogoudaki, A.R. Vrettou, J. Thymis, G. Kostelli, A. Kountouri, E. Korakas, E. Michalopoulou, D. Vythoulkas, G. Koliou, A. Simou, D. Benas, V. Lambadiari, G. Tsigoulis. ESC Congress 2021 – The Digital Experience 27–30 August 2021
  
6. Τρόποι Μετάδοσης HIV Λοίμωξης στην Εφηβική Ηλικία: Σύγχρονα Δεδομένα. 30ο Συνέδριο «Υγεία, Παιδί, Τέχνη: Η Τέχνη και η Επιστήμη έχουν αλήθεια -αναζητείστε καταφύγιο εκεί». Τήνος, 21-23/9/18 Ζιβινάκη Α., Βυθούλκας Δ., Φούρκα Μ-Ν., Κατσουλίδου Α., Καντζανού Μ.

#### **ΤΙΜΗΤΙΚΕΣ ΔΙΑΚΡΙΣΕΙΣ ΚΑΙ ΒΡΑΒΕΙΑ**

Υπότροφος Κοινωφελούς Ιδρύματος Αλέξανδρος Ωνάσης, για μεταπτυχιακές σπουδές

## Πρόλογος

Η παρούσα διδακτορική διατριβή πραγματοποιήθηκε στη Μονάδα Μεταμόσχευσης Αιμοποιητικών Κυττάρων - Αιματολογική Μονάδα, της Β΄ Προπαιδευτικής Παθολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Αττικών.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον καθηγητή Παναγιώτη Τσιριγώτη για την αποδοχή, την έμπνευση στην επιλογή του θέματος, την υποστήριξη και την συμπαράστασή του καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της έρευνας. Η απεριόριστη βοήθεια του και η καθοδήγηση του υπήρξαν καταλυτικές για την ολοκλήρωση της διδακτορικής διατριβής. Τον ευχαριστώ επίσης, για τη δυνατότητα να συμμετέχω ως συνεργάτης στη Μονάδα Μεταμόσχευσης Αιμοποιητικών Κυττάρων, μαθαίνοντας πολλά δίπλα του.

Ευχαριστώ την Αιματολογική Κλινική – Μονάδα Μεταμόσχευσης Αιμοποιητικών Κυττάρων του Γενικού Νοσοκομείου Παπανικολάου Θεσσαλονίκης και ιδιαίτερα την επίκουρη καθηγήτρια του ΑΠΘ Γαβριηλάκη Ελένη, για την βοήθεια και τη συνεισφορά της.

Ευχαριστίες οφείλω και στον καθηγητή Κρούπη Χρήστο, του Εργαστηρίου Κλινικής Βιοχημείας του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Αττικών . Οι γνώσεις που μου παρείχε, η βοήθεια του και η καθοδήγηση του στην εκτέλεση των εργαστηριακών εξετάσεων του ερευνητικού πρωτοκόλλου ήταν πραγματικά πολύτιμες.

Ευχαριστώ το προσωπικό της Β΄ Προπαιδευτικής Παθολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Αττικών και ιδιαιτέρως της Αιματολογικής Μονάδας , για τη βοήθεια και την άριστη συνεργασία.

Ευχαριστώ τον καλό φίλο Δημήτριο Μπούτση για τη βοήθεια και την υποστήριξη, καθώς επίσης και τον αγαπητό φίλο Ιωάννη Τσαφταρίδη για όσα μου προσέφερε.

Τέλος ευχαριστώ την οικογένεια μου για την αγάπη, την υπομονή και τις αντοχές τους.

*Αφιερωμένο  
Στους γονείς μου  
Στην οικογένειά μου  
Στους ασθενείς και στις δικές τους οικογένειες*

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

---

ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΝΤΜΗΣΕΩΝ:.....	14
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	16
ABSTRACT.....	18
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	19
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	20
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΑΛΛΟΓΕΝΗΣ ΜΕΤΑΜΟΣΧΕΥΣΗ ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΒΛΑΣΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ & ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΗ ΔΥΣΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ.....	21
1.1 Αγγειακό ενδοθήλιο.....	21
1.1.1 Ορισμός.....	21
1.1.2 Φυσιολογία αγγειακού ενδοθηλίου.....	21
1.1.3 Ενδοθηλιακή Δυσλειτουργία αγγειακού ενδοθηλίου.....	23
1.1.4 Αλλογενής μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων.....	24
1.2 Σύνδρομο Ενδοθηλιακής Δυσλειτουργίας κατόπιν αλλογενούς μεταμόσχευσης αιμοποιητικών κυττάρων.....	26
1.2.1 Μικροαγγειοπάθεια από Allo-HSCT (TA-TMA).....	26
1.2.2 Σύνδρομο απόφραξης κολποειδών (SOS)/ φλεβική αποφρακτική νόσος (VOD) μετά Allo-HSCT.....	30
1.2.3 Ιδιοπαθές πνευμονικό Σύνδρομο.....	34
1.2.4 Ταξινόμηση του Ιδιοπαθούς πνευμονικού Συνδρόμου.....	35
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΝΟΣΟΣ ΜΟΣΧΕΥΜΑΤΟΣ ΕΝΑΝΤΙ ΞΕΝΙΣΤΗ (GvHD). Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟΥ ΚΑΙ Η ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΒΙΟΔΕΙΚΤΩΝ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΗΣ ΒΛΑΒΗΣ.....	41
2.1 Νόσος μοσχεύματος έναντι ξενιστή (GvHD).....	41
2.1.1 Εισαγωγή.....	41
2.1.2 Αθηροσκλήρυνση ως GvHD.....	42
2.2 Βιοδείκτες για την Ενδοθηλιακή Δυσλειτουργία.....	44
2.2.1 Ορισμός βιοδείκτη.....	44

2.2.2 Βιοδείκτες για το αγγειακό ενδοθήλιο .....	45
2.2.3 Διαλυτοί βιοδείκτες για το αγγειακό ενδοθήλιο .....	46
2.2.4 Κυτταρικοί βιοδείκτες για το αγγειακό ενδοθήλιο .....	51
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ .....	55
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ .....	56
3.1 Ερευνητική υπόθεση της μελέτης .....	56
3.2 Σκοπός της μελέτης .....	60
3.3 Υλικό και Μεθοδολογία.....	60
3.4 Ηθική και Δεοντολογία της έρευνας.....	63
3.5 Στατιστική Ανάλυση .....	63
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ .....	65
4.1 Χαρακτηριστικά των ασθενών .....	65
4.2 Επίπεδα Ang2 ορού και αυτο-αντισώματα έναντι AT1R και ETAR .....	67
4.3 Αποτελέσματα θνητότητας Μη-σχετιζόμενης με υποτροπή της νόσου (NRM) .....	69
4.4 Έκβαση ασθενών με TA-TMA.....	71
4.5 Παρουσία αυτο-αντισωμάτων έναντι AT1R και GVHD-κλινικές εκδηλώσεις.....	72
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	74
5.1 Εκτίμηση των ευρημάτων της μελέτης και σύγκριση με βιβλιογραφία .....	74
5.2 Περιορισμοί της μελέτης.....	76
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	78
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	80
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ .....	108

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΝΤΜΗΣΕΩΝ:

Με σειρά εμφάνισης στο κείμενο:

- Allo-HSCT: Αλλογενής μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων
- GVHD: Νόσος μοσχεύματος-ξενιστή
- SOS/VOD: Σύνδρομο κολλοειδικής απόφραξης/ φλεβική αποφρακτική νόσος
- TA-TMA: Μικροαγγειοπαθητική αιμολυτική αναιμία σχετιζόμενη με μεταμόσχευση
- ECs: Ενδοθηλιακά κύτταρα
- Ang2: Αγγειοποιητίνη 2
- ETAR: Υποδοχέας ενδοθηλίνης A
- AT1R: Υποδοχέας αγγειοτενσίνης II, τύπου I
- ETAR Abs: Αντισώματα έναντι του Υποδοχέα ενδοθηλίνης A
- AT1R Abs: Αντισώματα έναντι του Υποδοχέα αγγειοτενσίνης II, τύπου I
- NO: Μονοξείδιο αζώτου
- TPE: Θεραπευτική ανταλλαγή πλάσματος
- DF: Δεφιβρωτίδη
- IPS: Ιδιοπαθές πνευμονικό Σύνδρομο
- PERDS: Σύνδρομο εγκατάστασης μοσχεύματος
- DAH: Διάχυτη κυψελιδική αιμορραγία
- G-CSF: Παράγοντας διέγερσης αποικιών κοκκιοκυττάρων
- CEA: Καρκινοεμβρυικό αντιγόνο
- VWF: Παράγοντας Von Willenbrand
- CAMs: Μόρια κυτταρικής προσκόλλησης
- TM: Θρομβομοντουλίνη
- VEGF: Αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας
- EASIX: Δείκτης ενδοθηλιακής ενεργοποίησης και στρες
- CECs: Κυκλοφορούντα ενδοθηλιακά κύτταρα
- EPCs: Ενδοθηλιακά προγονικά κύτταρα
- EVs: Εξωκυτταρικά κυστίδια
- ELISA: Ενζυμική ανοσοπροσοφητική δοκιμασία

- AML: Οξεία μυελογενής λευχαιμία
- MDS: Μυελοδυσπλαστικό Σύνδρομο
- ALL: Οξεία Λεμφοβλαστική Λευχαιμία
- MPN: Μυελοϋπερπλαστικό νεόπλασμα
- CLL: Χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία
- MUD: Συμβατός, μη συγγενής δότης
- MMUD: Μη Συμβατός, μη συγγενής δότης
- MDR: Συμβατός συγγενής δότης
- PBSC: Αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα του περιφερικού αίματος
- MAC: Μυελοαφανιστικό σχήμα
- RIC: Σχήμα προετοιμασίας μειωμένης έντασης
- NRM: Θνητότητα μη σχετιζόμενη με την υποτροπή της νόσου



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

**Εισαγωγή:** Η αλλογενής μεταμόσχευση αρχέγονων πολυδύναμων αιμοποιητικών κυττάρων (allo-HSCT) παραμένει η μόνη θεραπευτική επιλογή για μια ποικιλία κακοήθων και μη κακοήθων αιματολογικών ασθενειών. Ωστόσο, κατά τη διάρκεια της allo-HSCT, τα ενδοθηλιακά κύτταρα (ECs) των αγγείων του οργανισμού αντιμετωπίζουν πολλαπλές προκλήσεις, με συνέπεια την εμφάνιση συνδρόμων ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας. Η έγκαιρη διάγνωση των συνδρόμων ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας είναι υψίστης σημασίας για την ανάπτυξη αποτελεσματικών προφυλακτικών και θεραπευτικών στρατηγικών

**Σκοπός:** Διερεύνηση της συσχέτισης των επιπέδων αγγειοποιητίνης-2 (Ang2) ορού και της παρουσίας αντισωμάτων έναντι της αγγειοτενσίνης II τύπου 1 (AT1R) και του υποδοχέα ενδοθηλίνης A (ETAR) με την έκβαση ασθενών με TA-MA ή/και νόσο μοσχεύματος έναντι ξενιστή (GVHD) μετά από allo-HSCT.

**Μεθοδολογία:** Στην μελέτη συμμετείχαν συνολικά 52 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε allo-HSCT από το 2016 έως το 2019 σε δύο διαφορετικά Κέντρα Μεταμόσχευσης Μυελού των Οστών στην Ελλάδα, και οι οποίοι διαγνώστηκαν με GVHD ή/και TA-TMA.

**Αποτελέσματα:** Τα αυξημένα επίπεδα Ang2 ορού κατά τη στιγμή της διάγνωσης TA-TMA σχετίζονται σημαντικά με αυξημένη θνησιμότητα μη-σχετιζόμενη με την υποτροπή της νόσου και μειωμένη συνολική επιβίωση. Από όσο γνωρίζουμε, αυτή είναι η πρώτη μελέτη που αποδεικνύει μια συσχέτιση μεταξύ των αυξημένων επιπέδων Ang2 και της πρόγνωσης σε ασθενείς με TA-TMA. Αντισώματα έναντι των AT1R (AT1R-Abs) και ETAR (ETAR-Abs) ανιχνεύθηκαν στο 27% και 23% των ασθενών, αντίστοιχα, αλλά δεν υπήρξε συσχέτιση μεταξύ της παρουσίας αυτό-αντισωμάτων και της έκβασης των ασθενών με TA-TMA.

**Συμπεράσματα:** Αυτή είναι η πρώτη μελέτη που καταδεικνύει συσχέτιση μεταξύ αυξημένων επιπέδων Ang2 και κακών εκβάσεων (βραχύτερη OS και υψηλότερη NRM) σε ασθενείς με TMA. Το πιο ενδιαφέρον είναι ότι τα αυξημένα επίπεδα AT1R-Abs βρέθηκαν να συσχετίζονται θετικά με την εμφάνιση ινωτικής χρόνιας GvHD μετά από αλλο-HSCT, γεγονός που υποδηλώνει ότι ο έλεγχος

για αυτά τα αντισώματα μπορεί να έχει κλινική χρησιμότητα και ειδικά στην εποχή των πολλαπλών παραγόντων αποκλεισμού των υποδοχέων αγγειοτενσίνης και ενδοθηλίνης A. Ωστόσο, απαιτούνται μεγαλύτερες, προοπτικές μελέτες για την επικύρωση αυτών των αποτελεσμάτων πριν από την κλινική μετάφρασή τους.

## ABSTRACT

**Introduction:** Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT) remains the only treatment option for a variety of malignant and non-malignant hematological diseases. However, during allo-HSCT, the endothelial cells (ECs) of the body's vessels face multiple challenges, resulting in endothelial dysfunction syndromes. Early diagnosis of endothelial dysfunction syndromes is of paramount importance for the development of effective prophylactic and therapeutic strategies.

**Purpose:** To investigate the association of serum angiotensin-2 (Ang2) levels and the presence of antibodies against angiotensin II type 1 (AT1R) and endothelin A receptor (ETAR) with the outcome of patients with TA-MA and/or graft-versus-host disease (GVHD) following allo-HSCT.

**Methodology:** The study involved a total of 52 patients who underwent allo-HSCT from 2016 to 2019 in two different Bone Marrow Transplant Centers in Greece, and who were diagnosed with GVHD and/or TA-TMA.

**Results:** Elevated serum Ang2 levels at the time of TMA diagnosis are significantly associated with increased non-relapse mortality and decreased overall survival. To our knowledge, this is the first study demonstrating an association between raised Ang2 levels and poor outcomes in patients with TMA. Antibodies against AT1R (AT1R-Abs) and ETAR (ETAR-Abs) were detected in 27% and 23% of the patients, respectively, but there was no association between the presence of autoantibodies and the outcome of patients with TMA.

**Conclusion:** This is the first study demonstrating an association between raised Ang2 levels and poor outcomes (shorter OS and higher NRM) in patients with TMA. More interestingly, raised AT1R-Abs levels were found to be positively correlated with the occurrence of fibrotic chronic GvHD after allo-HSCT, suggesting that testing for these antibodies may have clinical utility and especially in the era of multiple angiotensin and endothelin A receptor blockade agents. However, larger, prospective studies are required to validate these results prior to their clinical translation.

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η αλλογενής μεταμόσχευση αιμοποιητικών βλαστικών κυττάρων (allo-HSCT) παραμένει η μόνη θεραπευτική επιλογή για μια ποικιλία κακοήθων και μη κακοήθων αιματολογικών ασθενειών [1]. Πάραυτα, δεν είναι μια θεραπευτική παρέμβαση άνευ επιπλοκών [1-3]. Για την ακρίβεια, ο σημαντικότερος περιορισμός της διαδικασίας αλλογενούς μεταμόσχευσης αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων, είναι η νοσηρότητα και η θνησιμότητα που σχετίζονται κυρίως με την ανάπτυξη της νόσου μοσχεύματος έναντι ξενιστή (GVHD) καθώς και με μια σειρά συνδρόμων ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας, όπως, το σύνδρομο κολποειδικής απόφραξης/φλεβική αποφρακτική νόσος (SOS/VOD), αλλά και η θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια σχετιζόμενη με μεταμόσχευση (TA-TMA) [1-3].

Κατά τη διάρκεια της allo-HSCT, τα ενδοθηλιακά κύτταρα (ECs) των αγγείων του οργανισμού αντιμετωπίζουν πολλαπλές προκλήσεις, όπως η τοξικότητα από την προετοιμασία, η χορήγηση αναστολέων καλσινευρίνης, οι λοιμώξεις που σχετίζονται με την ανοσοκαταστολή και η αλλοδραστικότητα του δότη έναντι των ιστών του ξενιστή, με τελική συνέπεια την διαταραχή της ομοιόστασης των αγγείων, και την εκδήλωση σοβαρών κλινικών βλαβών [1, 4].

Με άλλα λόγια, η έγκαιρη διάγνωση των συνδρόμων ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας είναι υψίστης σημασίας για την ανάπτυξη αποτελεσματικών προφυλακτικών και θεραπευτικών στρατηγικών. Το παραπάνω καθιστά σαφές το γεγονός ότι υπάρχει επιτακτική ανάγκη για καλύτερη κατανόηση των παθογενετικών μηχανισμών καθώς και για τον εντοπισμό νέων βιοδεικτών για την έγκαιρη διάγνωση της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας [1].

Στα πλαίσια αυτά, η παρούσα πρωτότυπη διδακτορική μελέτη διερευνά το κατά πόσον τα επίπεδα της αγγειοποιητίνης-2 (Ang2) στον ορό, και η παρουσία αντισωμάτων έναντι της αγγειοτενσίνης II τύπου 1 (AT1R) και έναντι του υποδοχέα ενδοθηλίνης A (ETAR) σχετίζονται με την κλινική έκβαση ασθενών που υποβάλλονται σε allo-HSCT και εμφανίζουν θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια (TMA) και/ή GVHD. Η παρούσα ερευνητική μελέτη επικεντρώνεται στην εύρεση πιθανής συσχέτισης μεταξύ των παραπάνω μορίων και της έκβασης των ασθενών που υποβάλλονται σε allo-HSCT.

## ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΑΛΛΟΓΕΝΗΣ ΜΕΤΑΜΟΣΧΕΥΣΗ ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΒΛΑΣΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ & ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΗ ΔΥΣΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ

## 1.1 Αγγειακό ενδοθήλιο

### 1.1.1 Ορισμός

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα (ECs), συνιστούν τα κύτταρα τα οποία επενδύουν το εσωτερικό όλων των αιμοφόρων και λεμφικών αγγείων, του ανθρώπινου σώματος [1]. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα σε άμεση επαφή με το αίμα ονομάζονται αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα, ενώ εκείνα που βρίσκονται σε άμεση επαφή με τη λέμφο είναι γνωστά ως λεμφικά ενδοθηλιακά κύτταρα. Τα αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα επαλείφουν ολόκληρο το κυκλοφορικό σύστημα, από την καρδιά έως τα μικρότερα τριχοειδή αγγεία [1].

Τα αγγειακά ECs, σχηματίζοντας το αγγειακό ενδοθήλιο, επιτελούν βασικούς ρόλους στην παροχή οξυγόνου και θρεπτικών ουσιών, στη ρύθμιση της ροής του αίματος, στη ρύθμιση της διακίνησης ανοσοκυττάρων και στη διατήρηση της ομοιόστασης των ιστών [1-3].

Το ενδοθήλιο είναι ένα ενιαίο στρώμα πλακωδών ενδοθηλιακών κυττάρων που επενδύουν την εσωτερική επιφάνεια των αιμοφόρων αγγείων και των λεμφικών αγγείων [1]. Πιο απλά, το ενδοθήλιο σχηματίζει έναν φραγμό μεταξύ του κυκλοφορούντος αίματος ή της λέμφου στον αυλό, και του τοιχώματος του αγγείου, ώστε να ελέγχει τη ροή ουσιών και υγρών μέσα και έξω από έναν ιστό [1].

### 1.1.2 Φυσιολογία αγγειακού ενδοθηλίου

Το ενδοθήλιο είναι ένα πολύ ενεργό όργανο του ανθρώπινου σώματος που σχηματίζεται από ένα λεπτό στρώμα ετερογενών κυττάρων που δημιουργούν έναν λεπτό φραγμό μεταξύ του κυκλοφορούντος αίματος και των άλλων ιστών [3]. Η φυσιολογική λειτουργία του ενδοθηλίου είναι υψίστης κλινικής σημασίας, καθώς παίζει καθοριστικό ρόλο στη διατήρηση της αγγειακής ομοιόστασης και της ισορροπημένης πήξης αλλά και στην άμυνα του ξενιστή, τη φλεγμονή και την αγγειογένεση [1,2,4].

Τα ECs εμπλέκονται σε πολλές πτυχές της λειτουργίας των αγγείων, όπως: α) Πήξη αίματος (θρόμβωση και ινωδόλυση): Το ενδοθήλιο παρέχει κανονικά μια επιφάνεια στην οποία το αίμα δεν πήζει, επειδή περιέχει και εκφράζει ουσίες που εμποδίζουν την πήξη, συμπεριλαμβανομένης της θειικής ηπαράνης που δρα ως συμπαράγοντας για την ενεργοποίηση της αντιθρομβίνης, μιας πρωτεΐνης που αδρανοποιεί διάφορους παράγοντες στον καταρράκτη πήξης. β) Φλεγμονή: Τα ενδοθηλιακά κύτταρα στρατολογούν κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος κατά τη διάρκεια της φλεγμονής, γ) Σχηματισμός νέων αιμοφόρων αγγείων, και δ) Αγγειοσύσπαση και αγγειοδιαστολή, με τις οποίες επιτυγχάνεται ο έλεγχος της πίεσης του αίματος [1,2,4].

Η δυσλειτουργία των αγγειακών ενδοθηλιακών κυττάρων είναι κεντρικής σημασίας για την εξέλιξη των περισσότερων χρόνιων παθήσεων, καθώς για την ισχαιμική καρδιακή νόσο, το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, αλλά και τα σύνδρομα ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας τα οποία προκύπτουν ύστερα από την μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων σε ασθενείς με κακοήθεις και μη-κακοήθεις αιματολογικές νόσους [1, 4].

Υπό φυσιολογικές συνθήκες, τα ECs του αγγειακού ενδοθηλίου συμμετέχουν στην ισορροπία μεταξύ πήξης και ινωδόλυσης, μεταξύ άλλων και μέσω της παραγωγής αναστολέων της οδού του ιστικού παράγοντα. Ωστόσο, όταν ενεργοποιούνται, τα ECs απελευθερώνουν τον παράγοντα (TF) και τον παράγοντα von Willebrand (vWF), αλλάζοντας την ισορροπία πήξης-ινωδόλυσης, γεγονός που οδηγεί σε θρομβωτική προδιάθεση [1]. Αυτή η υπερπηκτική κατάσταση έχει αποδειχθεί τόσο μετά από allo-HSCT, όσο και σε συνδυασμό με τα σύνδρομα ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας στην allo-HSCT [5,6].

Επιπλέον, τα ECs παράγουν αγγειοδραστικά ρυθμιστικά μόρια όπως το μονοξείδιο του αζώτου (NO), η ενδοθηλίνη και η προστακυκλίνη που ρυθμίζουν τον αγγειακό τόνο και την αγγειακή διαπερατότητα, ρυθμίζοντας τη ρευστότητα του αίματος [7]. Το NO παίζει επίσης ρόλο στην αναστολή της φλεγμονής ρυθμίζοντας προς τα κάτω την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτοκινών μέσω NF-κβ αναστολής [8]. Η συμβολή του NO στην παθογένεση των συνδρόμων

ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας έχει προταθεί από αρκετές μελέτες που έχουν συσχετίσει τα μειωμένα επίπεδα NO με μειωμένη συνολική επιβίωση (OS) και αναποτελεσματική αιματοποιητική ανασύσταση μετά από allo-HSCT [9].

Από την άλλη, η αγγειοποιητίνη-1 (Ang-1) και -2 (Ang-2) είναι μια ξεχωριστή κατηγορία ενδοθηλιακών αυξητικών παραγόντων με ανταγωνιστικές επιδράσεις που ελέγχουν την αγγειογένεση και την αγγειακή ομοιόσταση του ενδοθηλίου μέσω αλληλεπιδράσεων με τον υποδοχέα κινάσης τυροσίνης Tie-2, εκφρασμένη στο ενδοθήλιο [10]. Τα μόρια αυτά, συμμετέχουν επίσης στις ενδοθηλιακές αποκρίσεις σε προφλεγμονώδεις και αντι-φλεγμονώδεις καταστάσεις, ρυθμίζοντας τη διαπερατότητα του αγγειακού ενδοθηλίου, την προσκόλληση λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο, και την έκφραση αντι-αποπτωτικών μορίων και άλλων φλεγμονωδών μεσολαβητών [10].

Αυτή η αλληλεπίδραση μεταξύ ενδοθηλίου και λευκοκυττάρων ελέγχεται από μόρια όπως ICAM-1, VCAM, σελεκτίνες και PECAM που ρυθμίζουν συνολικά τη στρατολόγηση ανοσοκυττάρων στις θέσεις φλεγμονής [3,11]. Η ενδοθηλιακή απόκριση στο στρες/φλεγμονή περιλαμβάνει την ενεργοποίηση των ECs, η οποία μπορεί να είναι είτε ταχεία και παροδική (τύπος 1) είτε βραδύτερη και πιο παρατεταμένη (τύπος 2), με αποτέλεσμα την έκκριση κυτοκινών, όπως ο παράγοντας νέκρωσης όγκων-άλφα (TNF- $\alpha$ ) και η ιντερλευκίνη-1 (IL-1) [1,4].

Αυτό είναι σημαντικό, καθώς τα ειδικά για τους ιστούς ECs μπορεί να εκφράζουν συγκεκριμένους παράγοντες (όπως WNT2, VEGF και matrix metalloprotease 14) απαραίτητους για την αποκατάσταση των ιστών και την ομοιόσταση ως απόκριση σε ερεθίσματα στρες [12,13]. Από την άλλη, η φλεγμονώδης απόκριση των ενεργοποιημένων ECs μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένη προσκόλληση λευκοκυττάρων και αγγειακό οίδημα και σε προθρομβωτική κατάσταση με επιζήμια αποτελέσματα [1,3].

### 1.1.3 Ενδοθηλιακή Δυσλειτουργία αγγειακού ενδοθηλίου

Είναι γεγονός ότι για πολλά χρόνια, οι επιστήμονες πίστευαν ότι το αγγειακό ενδοθήλιο ήταν απλώς ένα φραγμός στα αιμοφόρα αγγεία, μεταξύ του κυκλοφορούντος αίματος και του τοιχώματος του αγγείου [4]. Πρόσφατα, στα



τέλη του 1990, αναγνωρίστηκε ότι το ενδοθήλιο συνιστά όργανο ενώ λίγο αργότερα περιγράφηκαν και τα αντίστοιχα σύνδρομα ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας. [1, 4].

Όπως πρωτοδιατυπώθηκε από τους Lerman και Burnett, το 1992, η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία χαρακτηρίζεται από μείωση της βιοδιαθεσιμότητας των αγγειοδιασταλτικών, ιδιαίτερα του μονοξειδίου του αζώτου (NO), και/ή αύξηση των αγγειοσυσταλτικών παραγόντων που προέρχονται από το ενδοθήλιο [1, 3, 4]. Η προκύπτουσα ανισορροπία οδηγεί σε εξασθένηση της εξαρτώμενης από το ενδοθήλιο αγγειοδιαστολής, η οποία είναι το λειτουργικό χαρακτηριστικό της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας [3].

Εκτός από την εξασθενημένη αγγειοδιαστολή που εξαρτάται από το ενδοθήλιο, η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία περιλαμβάνει επίσης μια συγκεκριμένη κατάσταση ενδοθηλιακής ενεργοποίησης, η οποία χαρακτηρίζεται από προ-φλεγμονώδεις, πολλαπλασιαστικές και προ-πηκτικές καταστάσεις που ευνοούν όλα τα στάδια της αθηροσκλήρυνσης [1, 3, 4, 12, 13].

Η δυσλειτουργία των ενδοθηλιακών κυττάρων ως απόκριση σε συγκεκριμένα παθοφυσιολογικά ερεθίσματα (π.χ. υπερχοληστερολαιμία και άλλες δυσλιπιδαιμίες, διαβήτης, παχυσαρκία, υπέρταση, γήρανση) έχει σημαντικές τοπικές εκδηλώσεις εντός των τοιχωμάτων των αρτηριών σε περιοχές ευαίσθητες σε βλάβες, και σχετίζεται με την απελευθέρωση κυτοκινών, την ενεργοποίηση μακροφάγων και την δράση μοριακών μονοπατιών, NF-κβ εξαρτώμενων [4, 13].

Ωστόσο, ύστερα από αλλογενή μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία που μπορεί να επέλθει στους ασθενείς αυτούς δεν αφορά σε εντοπισμένες εστιακές αλλοιώσεις, αλλά αφορά σε εκτεταμένη δυσλειτουργία του κυκλοφορικού συστήματος, και την πρόκληση συνδρόμων με δυνητικά θανατηφόρα έκβαση. [1, 14].

#### 1.1.4 Αλλογενής μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων

Η αλλογενής μεταμόσχευση αιμοποιητικών βλαστικών κυττάρων (allo-HSCT) παραμένει η μόνη θεραπευτική επιλογή για μια ποικιλία κακοήθων νοσημάτων, όπως η ανθεκτική στην χημειοθεραπεία οξεία μυελογενής

λευχαιμία, αλλά και μη κακοήθων αιματολογικών ασθενειών, εδώ και τουλάχιστον 50 χρόνια [1]. Αυτή η διαδικασία εκτελείται για την αποκατάσταση της λεμφο/αιμοποίησης σε ασθενείς με καταστάσεις ανεπάρκειας μυελού των οστών, για την αντικατάσταση ενός νοσούντος μυελού με έναν υγιή μυελό δότη, ως «διάσωση» για την ανασύσταση της λεμφο/αιμοποίησης μετά από χημειοθεραπεία, και πιο πρόσφατα ως μέσο θεραπείας ορισμένων γενετικών αιματολογικών διαταραχών [1].

Η αλλογενής μεταμόσχευση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων, όπως διαφαίνεται και από τον ορισμό της, βασίζεται στην χορήγηση αιμοποιητικών κυττάρων τα οποία προέρχονται από αλλογενή δότη με σκοπό την αντικατάσταση της αιμοποίησης του ασθενούς-ξενιστή [1,3,14]. Η πηγή των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων μπορεί να είναι ο μυελός των οστών, το περιφερικό αίμα ή αίμα από τον ομφάλιο λώρο. Λιγότερο από το 30% των ασθενών που χρειάζονται αλλογενή HSCT έχουν αδελφό συμβατό με HLA, και λίγοι ασθενείς έχουν μονοωικό δίδυμο δότη (συγγενικό μόσχευμα) [14]. Κατά τη διάρκεια των τελευταίων ετών, τα αιμοποιητικά κύτταρα που συλλέγονται από το μυελό των οστών, το περιφερικό αίμα και το αίμα του ομφάλιου λώρου μη συγγενών δοτών έχουν χρησιμοποιηθεί με αυξανόμενη συχνότητα και καλά θεραπευτικά αποτελέσματα [1].

Η allo-HSCT είναι μια εξαιρετικά χρήσιμη θεραπευτική λύση, όμως δεν είναι άμοιρη σοβαρών παρενεργειών για τον ανθρώπινο οργανισμό [1,2,3]. Πρώτη και κύρια βασική επιπλοκή της είναι η οξεία κολποειδική (SOS)/φλεβική αποφρακτική αγγειοπάθεια (VOD) στο ήπαρ, η οξεία αντίδραση της νόσου μοσχεύματος-ξενιστή (GVHD), οι λοιμώξεις, αλλά και άλλα σύνδρομα ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας, όπως η μικροαγγειοπάθεια μετά την μεταμόσχευση (TA-TMA) τα οποία συνοδεύονται από υψηλά ποσοστά νοσηρότητας και θνητότητας [1,3].

## 1.2 Σύνδρομα Ενδοθηλιακής Δυσλειτουργίας κατόπιν αλλογενούς μεταμόσχευσης αιμοποιητικών κυττάρων

### 1.2.1 Μικροαγγειοπάθεια από Allo-HSCT (TA-TMA)

Η μικροαγγειοπάθεια TA-TMA αποτελεί μία από τις σοβαρότερες επιπλοκές της αλλογενούς μεταμόσχευσης αιμοποιητικών κυττάρων (allo-HSCT) και σχετίζεται με σημαντική νοσηρότητα και θνησιμότητα [14–16]. Η TA-TMA είναι μια ετερογενής νόσος, η οποία χαρακτηρίζεται από ανεπίκαιρη και ανεξέλεγκτη ενεργοποίηση του συμπληρώματος, ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και μικροαγγειοπαθητική αιμολυτική αναιμία [17].

Πρόσφατα, προτάθηκε η θεωρία των τριών συμβάντων σχετικά με την παθοφυσιολογία της νόσου [1], η οποία αναφέρεται: (1) στην γενετική ενδοθηλιακή προδιάθεση σε βλάβες και ενεργοποίηση του συμπληρώματος (hit 1), (2) σε ένα τοξικό συμβάν (όπως η θεραπεία προετοιμασίας) που τραυματίζει το ενδοθήλιο και ενεργοποιεί τον καταρράκτη του συμπληρώματος (hit 2) και (3) σε πρόσθετες προσβολές (όπως λοίμωξη, GvHD) που επιδεινώνει την ενεργοποίηση του συμπληρώματος και οδηγεί σε σχηματισμό μικροθρόμβων (hit 3) [1, 17].

Η TA-TMA μπορεί να επηρεάσει οποιοδήποτε όργανο [18,19] αλλά κυρίως τα νεφρά, με κλινικές εκδηλώσεις όπως: πρωτεϊνουρία, υπέρταση, και νεφρική ανεπάρκεια [18,20]. Ακόμη, έχει σημαντική επίπτωση προσβολής του κεντρικού νευρικού συστήματος με εκδηλώσεις όπως κεφαλαλγία, επιληπτικές κρίσεις, σύγχυση, αλλά και οπίσθια αναστρέψιμη εγκεφαλοπάθεια (σύνδρομο PRES, posterior reversible encephalopathy syndrome) [21,22]. Τέλος, η TA-TMA τείνει να προσβάλλει συχνά το πεπτικό σύστημα (όπου εκδηλώνεται με κοιλιακό άλγος, διάρροια, αιμορραγία) [23,24], και τους πνεύμονες (που εκδηλώνεται ως πνευμονική υπέρταση) [25,26].

Με δεδομένη την προσβολή παραπάνω από ενός οργανικών συστημάτων, είναι λογικό η κλινική εικόνα της TA-TMA να είναι αρκετά ετερογενής και ποικίλης βαρύτητας [18]. Η πολυοργανική νόσος (MOD), που απαιτεί εντατική παρακολούθηση και θεραπεία, ανήκει στο πολύ σοβαρό άκρο του φάσματος της κλινικής εικόνας της TA-TMA, και σχετίζεται με πολύ υψηλή

νοσηρότητα και θνησιμότητα [18]. Συνολικά, η πρόγνωση είναι φτωχή, με τη θνησιμότητα να κυμαίνεται μεταξύ 50-75% [16,27,28].

Η ακριβής επίπτωση της νόσου παραμένει άγνωστη και ποικίλλει σημαντικά (από 0,5% έως 18%), γεγονός που οφείλεται εν μέρει στην μη-οριστικοποίηση συναίνεσης αναφορικά στα διαγνωστικά κριτήρια της TA-TMA [21]. Τις τελευταίες δύο δεκαετίες, αρκετές ομάδες όπως το Δίκτυο Κλινικών Δοκιμών Μεταμόσχευσης Αίματος και Μυελού των Οστών (Blood and Marrow Transplantation-Clinical Trials Network, BMT-CTN) [29] και η Διεθνής Ομάδα Εργασίας (International Work Group, IWG) [30] προσπάθησαν να καθορίσουν συγκεκριμένα διαγνωστικά κριτήρια για την TA-TMA, αλλά και οι δύο βρέθηκαν να φέρουν σημαντικές αδυναμίες και περιορισμούς όπως φάνηκε από μια μεταγενέστερη μελέτη επικύρωσης από τους Cho et al. [31].

Μια άλλη μελέτη από τους Shayani et al. [32] χώρισε τους ασθενείς σε εκείνους με «πιθανή» και «βέβαιη» TA-TMA με βάση διαφορετικά (City of Hope) κριτήρια, ενώ οι Postalcioglu et al. [15], κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η κλινική TA-TMA ήταν σημαντικά υποεκτιμημένη χρησιμοποιώντας αυτά τα κριτήρια, κάτι το οποίο κλινικά μεταφράζεται σε έλλειψη έγκαιρης θεραπευτικής παρέμβασης. Τέλος, οι Jodele et al. [19] προσπάθησαν να ορίσουν τη νόσο «υψηλού κινδύνου» σε μια προοπτική παιδιατρική μελέτη και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η πρωτεϊνουρία (>30 mg / dL) και η αυξημένη C5b-9 ορού (ως δείκτης ενεργοποίησης του συμπληρώματος) ήταν σε θέση να προβλέψουν την δυσμενή έκβαση (84% NRM σε 1 έτος). Τα κριτήρια που προτείνονται από διαφορετικές ομάδες μελέτης για τη διάγνωση της TA-TMA παρουσιάζονται ομαδοποιημένα στον **Πίνακα 1**.

**Πίνακας 1: Κριτήρια για την διάγνωση ΤΑ-ΤΜΑ**

<b>Κριτήρια</b>	<b>BMT-CTN, 2005</b>	<b>IWG, 2007</b>	<b>Jodele, 2014</b>
<b>Παράμετροι</b>	Παρόντα όλα τα κριτήρια	Παρόντα όλα τα κριτήρια	$\geq 4$ of 7 κριτήρια σε $\geq 2$ περιπτώσεις εντός 14 ημερών
Αναιμία ή αυξημένες ανάγκες για RBC μεταγγίση	ΝΑΙ	ΝΑΙ	ΝΑΙ
Θρομβοπενία νέος έναρξης, $>50\%$ μείωση των PLT και αύξηση αναγκών για PLT μεταγγίση	ΝΑΙ	ΝΑΙ	ΝΑΙ
Σχιστοκύτταρα	ΝΑΙ ( $\geq 2/HPF$ )	ΝΑΙ ( $>4\%$ )	ΝΑΙ
Υψηλή LDH	ΝΑΙ	ΝΑΙ	ΝΑΙ
Χαμηλή αιπποφαρίνη	-	ΝΑΙ	-
Υπέρταση	-	-	ΝΑΙ
Πρωτεинуρία	-	-	ΝΑΙ
Υψηλό sC5b-9	-	-	ΝΑΙ
Νεφρική δυσλειτουργία	ΝΑΙ	-	-

Η αρχική περιγραφή της TA-TMA χρονολογείται το 1980, που χαρακτηρίστηκε ως παρενέργεια της κυκλοσπορίνης [33]. Δεδομένης της σημαντικής νοσηρότητας και θνησιμότητας που σχετίζεται με την TA-TMA, ο εντοπισμός των παραγόντων κινδύνου που σχετίζονται με την ανάπτυξη της νόσου ήταν το επίκεντρο εκτεταμένης έρευνας από τότε. Σήμερα, έχουν επιβεβαιωθεί ορισμένοι παράγοντες κινδύνου, οι οποίοι κατηγοριοποιούνται ως εξής: (i) παράγοντες κινδύνου πριν από τη μεταμόσχευση: ηλικία, ασυμβατότητα δότη/λήπτη, μυελο-αφανιστική προετοιμασία, μη κακοήθεις διαταραχές και ιστορικό προηγούμενης allo-HSCT και (ii) παράγοντες κινδύνου μετά τη μεταμόσχευση: οξεία GvHD, (x4 φορές αύξηση), υψηλός δείκτης κινδύνου ασθένειας (DRI), υψηλή αρχική τιμή LDH, αυξημένα επίπεδα CNI, λοιμώξεις (όπως CMV, διηθητική ασπεργίλλωση, ιαιμία, βακτηριαίμια), χορήγηση mTOR-inhibitor, και άλλα [18,34].

Δεδομένου ότι οι περισσότεροι από αυτούς τους παράγοντες δεν μπορούν να τροποποιηθούν ή να αποφευχθούν, σε μια προσπάθεια να αποφευχθεί η ανάπτυξη ή να ελαχιστοποιηθεί η σοβαρότητα της TA-TMA, έγινε εντατική διερεύνηση φαρμακευτικών ουσιών που μπορούν να έχουν προφυλακτική δράση. Μετά από πληθώρα ερευνών, στην βιβλιογραφία γίνεται λόγος για την προφυλακτική χορήγηση του παράγοντα ουρσοδεοξυχολικό οξύ (UDA) [1]. Η χρήση του UDA βρέθηκε να μειώνει τη θνησιμότητα από μη υποτροπή νόσου (NRM) και τη σοβαρή aGvHD ήπατος σε μια προοπτική τυχαίοποιημένη μελέτη, ενώ η προφύλαξη με στατίνες, με ή χωρίς ταυτόχρονη χρήση UDA, φάνηκε ασφαλής και ικανή να μειώσει τον κίνδυνο TA-TMA, βελτιώνοντας τα αποτελέσματα [1,35]. Αυτό οδήγησε αρκετά μεταμοσχευτικά κέντρα να υιοθετήσουν μια προφυλακτική προσέγγιση με βάση τις στατίνες, συνδυάζοντας UDA και πραβαστατίνη [1,36].

Όσον αφορά τη θεραπεία, τα προληπτικά μέτρα (όπως η αποφυγή τοξικών φαρμάκων, η χορήγηση σχημάτων προετοιμασίας χαμηλής έντασης) και η υποστηρικτική φροντίδα είναι υψίστης σημασίας [1,37,38]. Η άμεση μείωση της δοσολογίας ή/και απόσυρση των CNIs συνιστάται επίσης ως κύρια παρέμβαση για τη της πρόληψη της επιδείνωσης της TA-TMA [29]. Πάραυτα, σε μια μελέτη των Li et al., αυτή η προσέγγιση απέτυχε να βελτιώσει την επιβίωση των μεταγγιζόμενων ασθενών [34]. Το παρόν αποδόθηκε στην

επιδείνωση της υποκείμενης GvHD, η οποία συνδέεται επίσης με αυξημένη νοσηρότητα, υπογραμμίζοντας την ανάγκη για προσεκτική εξέταση εναλλακτικών στρατηγικών υποκατάστασης για την διακοπή των CNI [34].

Η αξία της θεραπευτικής ανταλλαγής πλάσματος (TPE), που ήταν κάποτε ο χρυσός κανόνας, είναι αμφισβητήσιμη, καθώς τα χαμηλά ποσοστά επιτυχίας (~6%) έχουν τεκμηριωθεί από δύο διαφορετικές κλινικές μελέτες [39,40]. Επίσης η δεφιβρωτίδη (DF) έχει συσχετιστεί με ευνοϊκά αποτελέσματα ιδιαίτερα στην πρόληψη του συνδρόμου [41–43]. Οι Higham et al. χρησιμοποίησαν DF ως προφύλαξη, με σημαντικά μειωμένη συχνότητα εμφάνισης TA-TMA (4%) σε σύγκριση με την συχνότητα εμφάνισης σε ιστορικά control group (18-40%) [44]. Ο κεντρικός ρόλος της ενεργοποίησης του συμπληρώματος στην παθοφυσιολογία της TA-TMA είχε σαν αποτέλεσμα την εισαγωγή των αναστολέων του συμπληρώματος στην θεραπευτική πρακτική.

Η χρήση του Eculizumab έχει συσχετιστεί με σημαντικά καλύτερα ποσοστά ανταπόκρισης και συνολικής επιβίωσης, καθιστώντας το παράγοντα πρώτης γραμμής σε πολλά νοσήματα [45,46]. Ωστόσο, είναι ιδιαίτερα σημαντικό να παρακολουθούνται στενά τα κατώτερα επίπεδα της εκουλιζουμάμπης και του CH50, καθώς απαιτείται πιο εντατική θεραπεία (δόση και συχνότητα) για επιτυχή έκβαση [47,48]. Επίσης το narsoplimab, ένας αναστολέας του MASP-2, έχει δώσει ενθαρρυντικά αποτελέσματα στην θεραπεία ασθενών με TA-TMA, και συνοδεύεται με σημαντική βελτίωση των αιματολογικών παραμέτρων και της συνολικής επιβίωσης [18].

### 1.2.2 Σύνδρομο απόφραξης κολποειδών (SOS)/ φλεβική αποφρακτική νόσος (VOD) μετά Allo-HSCT

Το σύνδρομο απόφραξης κολποειδών (sinusoidal obstruction syndrome, SOS), επίσης γνωστό ως φλεβοαποφρακτική νόσος (veno-occlusive disease, VOD), είναι μια απειλητική για τη ζωή επιπλοκή που εμφανίζεται μετά από χημειοθεραπεία υψηλής δόσης και ύστερα από μεταμόσχευση πολυδύναμων αιμοποιητικών κυττάρων [49,50]. Το παρόν σύνδρομο, έχει επίσης περιγράψει μετά από την υποβολή ασθενούς σε

ακτινοθεραπεία υψηλής δόσης, μεταμόσχευση ήπατος αλλά και ύστερα από την χορήγηση τοξικών παραγόντων [51–53].

Πιο συγκεκριμένα, στην allo-HSCT, το σχήμα προετοιμασίας, προκαλεί τοξική βλάβη στο ενδοθήλιο των κολποειδών του ήπατος, διαταράσσοντας την συνοχή του ενδοθηλίου και δημιουργώντας κενά στον ενδοθηλιακό φραγμό. Αυτό επιτρέπει στα ερυθρά αιμοσφαίρια, τα λευκοκύτταρα και άλλα κυτταρικά συντρίμια να διαπεράσουν τον ενδοθηλιακό φραγμό, και να συσσωρευτούν στο χώρο του Disse, με αποτέλεσμα υπο-ενδοθηλιακό οίδημα, στένωση των κολποειδών και παρεμπόδιση της ομαλής ροής του αίματος. Η απόφραξη των κολποειδών καταλήγει στην εγκατάσταση πυλαίας υπέρτασης, ισχαιμία των περιπυλαίων ηπατικών τμημάτων, ηπατική ανεπάρκεια, ασκίτη, με επακόλουθο ηπατο-νεφρικό σύνδρομο και πολυοργανική ανεπάρκεια [54,55].

Κλινικά, το SOS/VOD χαρακτηρίζεται από αύξηση βάρους σώματος (με μη ανταπόκριση στα ενδοφλεβίως χορηγούμενα διουρητικά), επώδυνη ηπατομεγαλία, ασκίτη και ίκτερο (αν και έχουν αναφερθεί περιπτώσεις ασθενών που δεν εκδήλωσαν ίκτερο) [56]. Η σοβαρότητά του συνδρόμου αυτού ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας ποικίλλει από ήπια/αυτουποχωρούμενη έως σοβαρή (~25–30% ασθενείς), με την οργανική ανεπάρκεια (MOD) να αφορά τους νεφρούς, (ηπατονεφρικό σύνδρομο), τους πνεύμονες (υποξία, υπεζωκοτική συλλογή, πνευμονικές διηθήσεις) και το κεντρικό νευρικό σύστημα (εγκεφαλοπάθεια) [57]. Η MOD σχετίζεται με πολύ υψηλά ποσοστά θνησιμότητας (έως και 80%), αποτελώντας επιτακτική την ανάγκη εντοπισμού προγνωστικών παραγόντων για το SOS/VOD.

Σύμφωνα με την διεθνή βιβλιογραφία, έχουν εντοπιστεί διάφοροι παράγοντες κινδύνου για SOS/VOD, οι οποίοι κατηγοριοποιούνται ως εξής: *(i) σχετιζόμενοι με τον ασθενή*: μεγαλύτερη ηλικία ασθενούς, βαθμολογία Karnofsky <90%, προϋπάρχουσα ηπατική νόσο, δοκιμασίες ηπατικής λειτουργίας (τρανσαμινάσες >2 και χολερυθρίνη >1,5 ULN), προχωρημένη νόσος, θαλασσαιμία, προηγούμενη μεταμόσχευση, ιστορικό ακτινοβολήσης κοιλίας ή ήπατος, μεταβολικό σύνδρομο και αυξημένη φερριτίνη, και *(ii) παράγοντες σχετιζόμενοι με την μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων*: αλλογενής μεταμόσχευση από μη συγγενή δότη, μη-συμβατός δότης κατά HLA,



και μυελο-αφανιστική προετοιμασία (που περιέχει είτε βουσουλφάνη, είτε ολοσωματική ακτινοβολήση) [58,59].

Επιπρόσθετα των παραπάνω παραγόντων κινδύνου, η χρήση νέων ανοσοθεραπειών για τη θεραπεία οξέων λευχαιμιών, όπως η γεμτουζουμάμπη οζογαμικίνη και η ινοτουζουμάμπη οζογαμικίνη, έχουν επίσης συνδεθεί με την ανάπτυξη SOS/VOD, απαιτώντας ιδιαίτερη επαγρύπνηση κατά τη χρήση αυτών των παραγόντων πριν από τη μεταμόσχευση [60,61].

Ειδικά για την allo-HSCT, η συχνότητα εμφάνισης SOS/VOD ποικίλλει σημαντικά (από 5% έως 67%) [57]. Τα αποτελέσματα αυτά ποικίλουν αφού οι επιμέρους δημοσιευμένες μελέτες αφορούν ασθενείς που υποβάλλονται σε διαφορετικές διαδικασίες μεταμόσχευσης, και διαγνώσκονται με χρήση διαφορετικών διαγνωστικών κριτηρίων που εφαρμόζονται σε διαφορετικά ερευνητικά κέντρα [57,62]. Το σύνδρομο συνήθως αναπτύσσεται εντός των πρώτων 21 ημερών μετά την allo-HSCT, αν και στο 15-20% των ασθενών, το σύνδρομο μπορεί να εμφανιστεί και αργότερα [63].

Ιστορικά, η διάγνωση του SOS/VOD βασίστηκε στην εφαρμογή είτε των κριτηρίων της Baltimore είτε των τροποποιημένων κριτηρίων του Seattle [64,65]. Παρόλο που και οι δύο ομάδες κριτηρίων απαιτούν οι ασθενείς να είναι στο χρονικό παράθυρο των 3 εβδομάδων μετά τη μεταμόσχευση, και περιλαμβάνουν κοινές εκδηλώσεις της νόσου, η κύρια διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων κριτηρίων είναι η συμπερίληψη της υπερχολερυθριναιμίας, η οποία αν και περιλαμβάνεται στα κριτήρια του Seattle, δεν είναι αναγκαία συνθήκη για την διάγνωση του SOS/VOD [64, 65].

Σύμφωνα με την διεθνή βιβλιογραφία, αρκετές ερευνητικές μελέτες έχουν υποστηρίξει τη χρήση των τροποποιημένων κριτηρίων του Seattle, ως προτιμότερων έναντι των κριτηρίων της Βαλτιμόρης, για την πρόβλεψη SOS/VOD, υπονοώντας ότι η αναμονή για την ανάπτυξη υπερχολερυθριναιμίας μπορεί να επιτρέψει την εξέλιξη του συνδρόμου σε πιο σοβαρή νόσο, και άρα σε δυσμενή κλινική έκβαση [66,67]. Λαμβάνοντας υπόψη: α) τους προαναφερθέντες αντικρουόμενους ορισμούς που οδηγούν σε καθυστερημένη διάγνωση του SOS/VOD, με σημαντικό κλινικό αντίκτυπο στα αποτελέσματα, μαζί β) με την αυξημένη συχνότητα όψιμης έναρξης SOS/VOD, ομάδα εργασίας

του EBMT καθιέρωσε τα επικαιροποιημένα κριτήρια EBMT για τη διάγνωση του SOS/VOD τόσο σε παιδιατρικούς, όσο και σε ενήλικους πληθυσμούς [68,69].

Τα διαγνωστικά κριτήρια του EBMT περιλαμβάνουν πρώιμη και όψιμη έναρξη SOS/VOD, με την ιστολογία και την απεικόνιση (υπερηχογράφημα) να διαδραματίζουν βασικό ρόλο στην οριστικοποίηση της διάγνωσης. Επιπλέον, προτάθηκαν κριτήρια για τη διαβάθμιση της σοβαρότητας του SOS/VOD (ως ήπια, μέτρια, σοβαρή και πολύ σοβαρή) με την οριστικοποίηση της διάγνωσης. Αυτό επικυρώθηκε σε μια μεταγενέστερη μελέτη 203 ασθενών που επιβεβαίωσαν σημαντικά υψηλότερο TRM σε πολύ σοβαρό SOS/VOD [70]. Ωστόσο, μπορεί να απαιτείται περαιτέρω επικύρωση της ταξινόμησης βαρύτητας του συνδρόμου σε μεγαλύτερο αριθμό ασθενών.

Όσον αφορά τη θεραπεία του SOS/VOD, η υποστηρικτική φροντίδα με στενή κλινική παρακολούθηση (ως ταχέως εξελισσόμενη νόσος) και η έγκαιρη έναρξη της θεραπείας με δεφιβρωτίδη (DF) είναι υψίστης σημασίας [72]. Η υποστηρικτική φροντίδα περιλαμβάνει καθημερινές αναφορές βάρους, ισοζύγιο προσλαμβανόμενων και αποβαλλόμενων υγρών, μέτρηση περιφέρειας κοιλίας, καθώς και θεραπευτικά μέτρα για την ανακούφιση του ασθενούς (όπως IV χορήγηση διουρητικών, παρακέντηση ασκίτη ή θωρακοκέντηση, οξυγονοθεραπεία και αναλγητική θεραπεία) [59].

Η δεφιβρωτίδη, ένα ολιγονουκλεοτίδιο με αντιθρομβωτική, αντιφλεγμονώδη και αντιπσχαιμική δράση συνιστά το μόνο εγκεκριμένο φάρμακο για τη θεραπεία του SOS/VOD [71]. Η δόση των 25 mg/kg/ημέρα αξιολογήθηκε σε μια πολυκεντρική μελέτη φάσης III, η οποία έδειξε σημαντικά υψηλότερα ποσοστά CR (24% έναντι 9%) και ποσοστά OS +100 ημέρας (38% έναντι 25%) στην ομάδα θεραπείας, χωρίς διαφορές στο προφίλ παρενεργειών [68]. Αυτή η δόση επικυρώθηκε περαιτέρω σε μια πολυκεντρική προοπτική μελέτη, η οποία επιβεβαίωσε την αποτελεσματικότητα της χορήγησης 25 mg/kg/ημέρα, για τουλάχιστον 21 ημέρες και μέχρι την υποχώρηση των συμπτωμάτων. Στην μελέτη αυτή η χορήγηση της DF συσχετίστηκε με βελτιωμένη κλινική έκβαση και με μικρότερη τοξικότητα [72]. Όσον αφορά το χρονοδιάγραμμα της θεραπείας με DF, αρκετές μελέτες έχουν προτείνει ότι η άμεση έναρξη της DF συνδέεται με καλύτερα αποτελέσματα [73,74]. Συνεπώς,

συνιστάται οι ασθενείς με μέτρια SOS/VOD να εξετάζονται για άμεση έναρξη θεραπείας με DF, ενώ οι ασθενείς με ήπια νόσο θα πρέπει να παρακολουθούνται στενά [59, 72].

Όσον αφορά την πρόληψη του SOS/VOD μετά από allo-HSCT, το ουρσοδεοξυχολικό οξύ (UDA) έχει συσχετιστεί με σημαντική μείωση της επίπτωσης SOS/VOD σε διάφορες τυχαιοποιημένες μελέτες [75–77]. Η χρήση του DF ως προφυλακτικού παράγοντα έχει επίσης φανεί να μειώνει τη συχνότητα εμφάνισης SOS/VOD σε ασθενείς υψηλού κινδύνου από αρκετές μελέτες [78], ενώ μια συστηματική ανασκόπηση από τους Zhang et al. επιβεβαίωσε τον χαμηλότερο σχετικό κίνδυνο SOS/VOD όταν γίνεται προφυλακτική χορήγηση DF (αναλογία κινδύνου 0,47, 95% CI) [79]. Μια πιο πρόσφατη μετα-ανάλυση από τους Cobacioglu et al. έδειξε χαμηλή συχνότητα εμφάνισης SOS/VOD μετά από ενδοφλέβια προφυλακτική χορήγηση DF ανεξαρτήτως ηλικιακής ομάδας, υποστηρίζοντας ότι η χρήση DF είναι κατάλληλη για την πρόληψη SOS/VOD [78]. Ωστόσο, μια προοπτική μελέτη φάσης III που μελετούσε την προφυλακτική χορήγηση DF για SOS/VOD (NCT02851407) σταμάτησε την εγγραφή μετά την εκπλήρωση των κριτηρίων ματαιότητας, αν και οι αναλύσεις βρίσκονται σε εξέλιξη και αναμένονται με μεγάλο ενδιαφέρον.

### 1.2.3 Ιδιοπαθές πνευμονικό Σύνδρομο

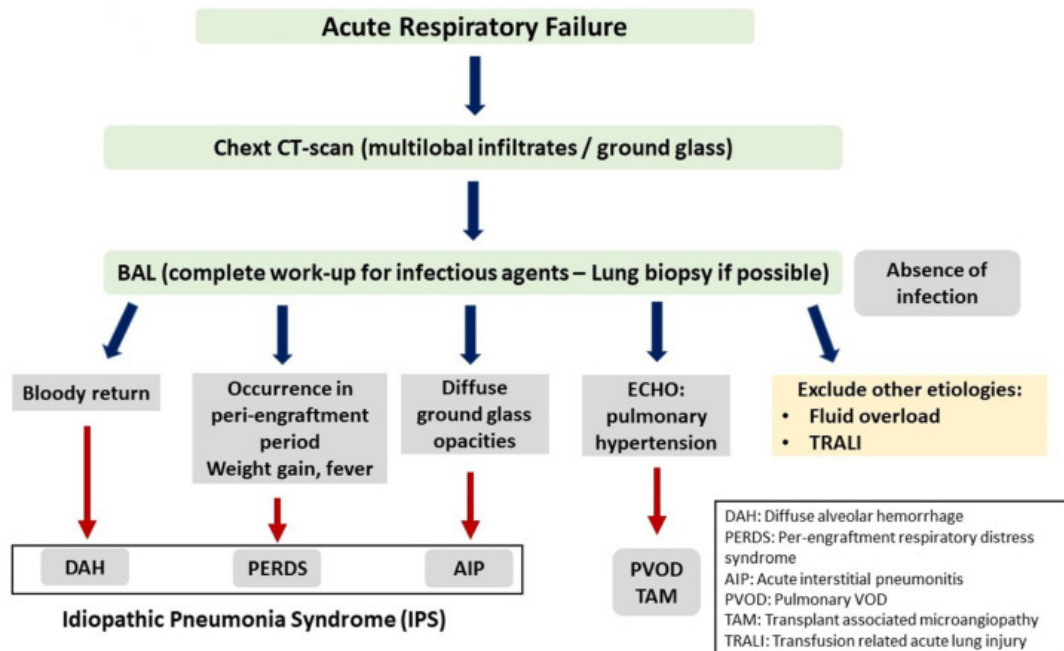
Το ιδιοπαθές πνευμονικό σύνδρομο (IPS) ορίστηκε το 1993 σε ημερίδα που διοργάνωσε το Εθνικό Ινστιτούτο Υγείας, ως μια διαταραχή η οποία παρατηρείται αποκλειστικά σε ασθενείς οι οποίοι υποβάλλονται σε μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων, εντός 100 ημερών από την θεραπευτική αυτή διαδικασία [80, 81]. Το ιδιοπαθές αυτό σύνδρομο εμφανίζεται κλινικά με εικόνα πνευμονίας, καθώς εκδηλώνεται με πυρετό, δύσπνοια και υποξαιμία [80].

Το IPS προκύπτει ως αποτέλεσμα εκτεταμένης βλάβης κυψελίδων με πολυλοβιακές πνευμονικές διηθήσεις και συμπτώματα που σχετίζονται με αναπνευστική ανεπάρκεια ύστερα από την μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων [80, 81].

Το IPS μπορεί να παρουσιάσει μια ποικιλία κλινικών συμπτωμάτων ανάλογα με το σημείο της πνευμονικής βλάβης. Ωστόσο, η τυπική παρουσίαση είναι αυτή της οξείας διάμεσης πνευμονοπάθειας. Άλλες εκδηλώσεις περιλαμβάνουν διάχυτη κυψελιδική αιμορραγία (DAH) και σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας περι-μεταμόσχευσης (PERDS) [80–84]. Πιο απλά, με βάση την κλινική εικόνα το ιδιοπαθές πνευμονικό σύνδρομο μπορεί να κατηγοριοποιηθεί σε 3 επιμέρους κλινικά σύνδρομα τα οποία τείνουν να παρουσιάζουν διαφορετική πρόγνωση, κλινικές εκδηλώσεις, χαρακτηριστικά και θεραπευτική αντιμετώπιση.

### 1.2.4 Ταξινόμηση του Ιδιοπαθούς πνευμονικού Συνδρόμου

Ο **Πίνακας 2** παρουσιάζει τα κλινικά χαρακτηριστικά του ιδιοπαθούς συνδρόμου πνευμονικής βλάβης, ενώ τα κριτήρια που χρησιμοποιούνται για τη διαφορική διάγνωση μεταξύ των επιμέρους κλινικών συνδρόμων παρουσιάζονται στην **Εικόνα 1**.



**Εικόνα 1:** Σχηματική Αναπαράσταση του Ιδιοπαθούς Πνευμονικού Συνδρόμου [85].

**Πίνακας 2:** Διαφορική διάγνωση κλινικού συνδρόμου πνευμονικής βλάβης μετά μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων.

Χαρακτηριστικά	IPS	DAH	PERDS
Επιδημιολογία	Συχνότερο μετά από alloSCT	Ίση επίπτωση μετά από alloSCT & autoSCT	Συχνότερο μετά από autoSCT
Μέση τιμή ημέρας έναρξης συνδρόμου	30-40 ημέρες μετά την SCT	20-25 ημέρες μετά την SCT	Από 3 ημέρες πριν, ως και 7 μέρες μετά την εγκατάσταση των ουδετεροφίλων
Σχέση με την πηγή του μοσχεύματος	OXI	OXI	Αφορά την περι-μεταμοσχευματική φάση
Κλινική εικόνα	Ταχεία εξέλιξη σε αναπνευστική ανεπάρκεια	Σταδιακά περισσότερο αιματηρό βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα	Συστηματικές εκδηλώσεις, όπως πυρετός και εξάνθημα
Ιστολογικά ευρήματα	Διάχυτη Κυψελιδική βλάβη	Διάχυτη Κυψελιδική βλάβη	Διάχυτη Κυψελιδική βλάβη
Παθογενετικοί μηχανισμοί	TNF $\alpha$	Διάφορες κυτταροκίνες	GM-CSF, G-CSF
Ανταπόκριση στα κορτικοστεροειδή	Φτωχή ανταπόκριση σε στεροειδή, Μερική ανταπόκριση σε παράγοντες anti-TNF	Μέτρια ανταπόκριση σε στεροειδή	Εξαιρετική ανταπόκριση σε στεροειδή
Πρόγνωση	Εξαιρετικά πτωχή	Μέτρια προς φτωχή	Καλή

Το **IPS** τυπικά εμφανίζεται με την πιο χαρακτηριστική κλινική εικόνα εκδήλωσης οξείας διάμεσης πνευμονοπάθειας (acute interstitial pneumonitis, AIP), μέσα σε λίγες εβδομάδες από την διενέργεια μεταμόσχευσης αιμοποιητικών κυττάρων [80]. Η επίπτωση του κυμαίνεται από 3% έως 15% μετά από allo-HSCT, και είναι πιο συχνή μετά από χρήση μυελοαφανιστικής προετοιμασίας [86, 87]. Στο σημείο αυτό, πρέπει να υπογραμμιστεί ότι η επίπτωση του IPS μετά από allo-HSCT είναι σημαντικά υψηλότερη της επίπτωσης μετά από αυτόλογη HSCT. [88]. Ο μέσος χρόνος έναρξης των συμπτωμάτων είναι 30-40 ημέρες (εύρος, 14-100 ημερών) μετά allo-SCT, αν και πιο πρόσφατες μελέτες έχουν προτείνει ακόμη πιο πρώιμο χρόνο έναρξης [89]. Η πρόγνωση του συνδρόμου αυτού είναι εξαιρετικά πτωχή, με ποσοστά θνησιμότητας περίπου 80%, ενώ το ποσοστό θνησιμότητας είναι κοντά στο 100% για εκείνους τους ασθενείς που χρειάζονται μηχανικό αερισμό [90]. Αντίθετα, το AIP μετά από αυτόλογη HSCT είναι μια διαφορετική οντότητα με πιθανώς διαφορετική παθογένεια, η οποία τείνει να εμφανίζεται αργότερα μετά τη μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων και έχει ευνοϊκή ανταπόκριση στα κορτικοστεροειδή [91, 92].

Σύμφωνα με παλαιότερες μελέτες που δημοσιεύονται στην βιβλιογραφία, οι πιθανοί παράγοντες κινδύνου που σχετίζονται με την ανάπτυξη AIP μετά από allo-HSCT είναι οι εξής: (1) ένταση της προετοιμασίας, (2) ολική ακτινοβολήση σώματος ως μέρος της προετοιμασίας, (3) παρουσία οξείας GVHD, (4) μεγαλύτερη ηλικία του λήπτη και (5) διάγνωση οξείας μυελογενούς λευχαιμίας ή μυελοδυσπλαστικού συνδρόμου [93,94]. Αν και η παθογένεση του AIP μετά από allo-HSCT παραμένει ασαφής, πιστεύεται ότι είναι το αποτέλεσμα μικροαγγειακής βλάβης ενδοθηλιακών και κυψελιδικών επιθηλιακών κυττάρων, η οποία διαμεσολαβείται από την τοξικότητα του θεραπευτικού σχήματος προετοιμασίας σε συνδυασμό με την ανοσολογική βλάβη που προκαλείται από αντιδραστικά T-κύτταρα του δότη [95–98].

Η **διάχυτη κυψελιδική αιμορραγία (DAH)** είναι ένας διακριτός υπότυπος IPS που χαρακτηρίζεται από προοδευτική συσσώρευση ερυθρών αιμοσφαιρίων σε διαδοχικά δείγματα βρογχοκυψελιδικού εκπλύματος (BAL)

και/ή με την παρουσία περισσότερου από το 20% των κυψελιδικών μακροφάγων φορτωμένων με αιμοσιδηρίνη σε τουλάχιστον 30% των κυψελιδικών χώρων [99]. Κλινικά, η DAH χαρακτηρίζεται από ταχεία αναπνευστική επιδείνωση εκτός εάν αντιμετωπιστεί επαρκώς, με αναπνευστική υποστήριξη και κορτικοστεροειδή [100].

Ωστόσο, η παρουσία κυψελιδικής αιμορραγίας δεν είναι συνώνυμη με το σύνδρομο DAH, καθώς μπορεί να παρατηρηθεί στο πλαίσιο πνευμονικής βλάβης που οφείλεται σε διάφορες αιτίες πέραν της μεταμόσχευσης αιμοποιητικών κυττάρων, όπως οι πνευμονικές λοιμώξεις. Επομένως, είναι απαραίτητο να πραγματοποιηθεί μια πλήρης και ολοκληρωμένη κλινικοεργαστηριακή διερεύνηση για την παρουσία μιας λανθάνουσας λοίμωξης πριν από την οριστικοποίηση της διάγνωσης DAH [101].

Αν και ο μέσος χρόνος έναρξης της DAH είναι 20-30 ημέρες μετά την μεταμόσχευση, η νόσος κατά κανόνα αναπτύσσεται κατά μέσο όρο δύο εβδομάδες μετά την μεταμόσχευση, γεγονός που υποδηλώνει ότι τα ουδετερόφιλα είναι βασικοί παράγοντες στην παθογένεση της νόσου [102]. Η επίπτωση της DAH είναι ίση μεταξύ allo-SCT και auto-SCT και εμφανίζεται σε περίπου 5-10% των ασθενών που υποβάλλονται σε μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων [103]. Σύμφωνα με την τρέχουσα διεθνή βιβλιογραφία, τεκμηριωμένοι παράγοντες κινδύνου που σχετίζονται με την ανάπτυξη DAH μετά τη μεταμόσχευση είναι: (1) η πηγή μοσχεύματος (η DAH παρατηρείται συχνότερα με τη χρήση ομφαλοπλακουντιακού αίματος), (2) την ένταση του σχήματος της προετοιμασίας, και/ή τη χορήγηση TBI, 3) η μεγαλύτερη ηλικία του λήπτη-ξενιστή, και (4) την εμφάνιση πρωτοπαθούς ανεπάρκειας μοσχεύματος ή καθυστερημένης εγκατάστασης ουδετερόφιλων και/ή αιμοπεταλίων [100, 101, 104]. Πρόσφατα, αναφέρθηκε μια περίπτωση DAH σε υγιή δότη αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων που πιθανώς σχετίζεται με τη χορήγηση παράγοντα διέγερσης αποικιών κοκκιοκυττάρων (G-CSF) και προκάλεσε ανησυχίες σχετικά με τη συμβολή του G-CSF στην παθογενετική διαδικασία [105].

Όσον αφορά την παθογένεια, έχει προταθεί ότι το σύνδρομο DAH είναι το αποτέλεσμα μιας αρχικής κυψελιδικής βλάβης που προκαλείται από την

τοξικότητα του θεραπευτικού σχήματος, που επιδεινώνεται περαιτέρω κατά τη διάρκεια της μεταμόσχευσης από το φλεγμονώδες δυναμικό των ουδετερόφιλων και των μονοκυττάρων που διεισδύουν στον πνεύμονα [100]. Αυξημένα επίπεδα διαφόρων κυτοκινών όπως IL-12, G-CSF, του TNF-α και λιποπολυσακχαριτών σε δείγματα BAL έχουν συσχετιστεί με την ανάπτυξη DAH σε ασθενείς μετά από μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων [106,107]. Ωστόσο, λόγω της απουσίας μεγάλων ερευνητικών μελετών, η ακριβής παθογένεια της DAH μετά από μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων παραμένει σε μεγάλο βαθμό άγνωστη [85].

Δεν υπάρχει ειδική θεραπεία για την DAH και η θεραπεία της βασίζεται σε μεγάλο βαθμό στην εμπειρική χρήση υψηλής δόσης κορτικοστεροειδών [108] για τον περιορισμό της φλεγμονής, που συμμετέχει στην παθογενετική διαδικασία. Ωστόσο, η αποτελεσματικότητα των κορτικοστεροειδών είναι μέτρια και η ακριβής δόση εξακολουθεί να αποτελεί θέμα συζήτησης [109]. Η υποστηρικτική φροντίδα νωρίς στην πορεία της νόσου είναι υψίστης σημασίας και περιλαμβάνει μεταγγίσεις αιμοπεταλίων και αιμοστατικούς παράγοντες όπως το αμινοκαπρωϊκό οξύ και ο ανασυνδυασμένος παράγοντας VIIa. Παρά τις προσπάθειες, το συνολικό ποσοστό θνησιμότητας παραμένει υψηλό και κυμαίνεται από 60% έως 100% [110-112].

Το **σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας περι-μεταμόσχευσης (PERDS)** ή και σύνδρομο εγκατάστασης, συνιστά επίσης μια εκδήλωση οξείας πνευμονικής βλάβης μετά την μεταμόσχευση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων [113]. Πρόκειται για σοβαρή μορφή συστηματικού συνδρόμου τριχοειδικής διαφυγής που εμφανίζεται κατά την περίοδο της εμφύτευσης, που ορίζεται ως η περίοδος εντός 3 ημερών πριν και 7 ημερών μετά την ανασύσταση των ουδετερόφιλων [113].

Το PERDS χαρακτηρίζεται από υποξαιμία και αμφοτερόπλευρες πνευμονικές διηθήσεις ως αποτέλεσμα μη καρδιογενούς αιτιολογίας οξέος πνευμονικού οιδήματος [114,115]. Η συχνότητα εμφάνισης της PERDS ποικίλλει ευρέως από 2% έως και 20% λόγω διαφορών στα διαγνωστικά κριτήρια, αλλά κυρίως λόγω των διαφόρων πληθυσμών ασθενών που περιλαμβάνονται στις υπάρχουσες κλινικές μελέτες [114-116].



Οι παράγοντες κινδύνου που σχετίζονται με την ανάπτυξη PERDS είναι: (1) το γυναικείο φύλο, (2) η πηγή του μοσχεύματος (πιο συχνή μετά από PBSC από τα μοσχεύματα μυελού των οστών), (3) η ένταση της χημειοθεραπείας πριν από τη μεταμόσχευση (όσο μικρότερη είναι η ένταση, τόσο μεγαλύτερη είναι η πιθανότητα ανάπτυξης PERDS) και (4) η χρήση GM-CSF για την επιτάχυνση της μεταμόσχευσης [117-119]. Το PERDS παρατηρείται συχνότερα μετά από auto-HSCT σε σχέση με την allo-HSCT και συχνότερα μετά από auto-HSCT για αυτοάνοσες ασθένειες, και όχι για αιματολογικές κακοήθειες [120].

Το PERDS εμφανίζεται συνήθως με κλινική εικόνα συστηματικής φλεγμονής, και ανάλογα εργαστηριακά ευρήματα. Πράγματι, οι ασθενείς κατά κανόνα εκδηλώνουν πυρετό, δερματικό εξάνθημα, αύξηση βάρους σώματος λόγω κατακράτησης υγρών, και αυξημένη C-αντιδρώσα πρωτεΐνη στον ορό [120].

Ο ακριβής παθογενετικός μηχανισμός του PERDS δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως. Ωστόσο, τα υπάρχοντα δεδομένα υποστηρίζουν το ρόλο των ενεργοποιημένων ουδετερόφιλων και των μονοκυττάρων, ως κύριων παραγόντων στην παθογενετική διαδικασία [1220, 121]. Τα ενεργοποιημένα μυελοειδή κύτταρα διεισδύουν στον πνεύμονα και εκκρίνουν ένα μίγμα προφλεγμονωδών κυτοκινών, συμπεριλαμβανομένων των IL-1β, IL-2 και IL-6 που προκαλούν βλάβη στα ενδοθηλιακά κύτταρα στο μικροαγγειακό σύστημα του πνεύμονα. [121]. Η χορήγηση GM-CSF μετά από έγχυση μοσχεύματος σχετίζεται με ταχύτερη ανάκτηση ενεργοποιημένων μυελογενών και δενδριτικών κυττάρων που συμβάλλουν στην πρόκληση συνδρόμου τριχοειδούς διαρροής[122].

Το PERDS συνδέεται γενικά με ευνοϊκή πρόγνωση [85]. Έχει εξαιρετική ανταπόκριση στα κορτικοστεροειδή, αν και πολλές ήπιες περιπτώσεις τείνουν να υποχωρούν αυτόματα, άνευ θεραπευτικής παρέμβασης. Πάραυτα, θα πρέπει να υπογραμμιστεί ότι δεδομένα από προηγούμενες μελέτες έδειξαν αυξημένη συχνότητα εμφάνισης οξείας GVHD και αυξημένη θνησιμότητα κατά το πρώτο έτος μετά τη μεταμόσχευση σε ασθενείς με προηγούμενη διάγνωση ES/PERDS [123].

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΝΟΣΟΣ ΜΟΣΧΕΥΜΑΤΟΣ ΕΝΑΝΤΙ ΞΕΝΙΣΤΗ (GvHD). Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟΥ ΚΑΙ Η ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΒΙΟΔΕΙΚΤΩΝ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΗΣ ΒΛΑΒΗΣ

### 2.1 Νόσος μοσχεύματος έναντι ξενιστή (GvHD)

#### 2.1.1 Εισαγωγή

Παραδοσιακά, η οξεία νόσος μοσχεύματος-ξενιστή (GvHD) έχει θεωρηθεί ως επιθηλιακή κυτταρική νόσος, με τα τρία πιο συχνά εμπλεκόμενα όργανα να είναι το δέρμα, ο εντερικός σωλήνας και το ήπαρ [85, 124]. Ωστόσο, τα πειραματικά και κλινικά δεδομένα μας επιτρέπουν να επανεξετάσουμε το ενδοθήλιο ως έναν ακόμα στόχο στο συγκεκριμένο σύνδρομο. Πράγματι, τα αγγειακά ECs του ξενιστή είναι από τους αρχικούς κυτταρικούς στόχους στον οποίο επιτίθεται τα άλλο-αντιδραστικά T-λεμφοκύτταρα του δότη μετά την allo-HSCT, προκαλώντας ενδεχομένως ενδοθηλιακή GvHD [85]. Σύμφωνα με την προηγούμενη αντίληψη, πολλά κλινικά σύνδρομα που παρατηρήθηκαν μετά από allo-HSCT θεωρούνται παθογενετικά ως σύνδρομα δυσλειτουργίας του αγγειακού ενδοθηλίου.

Πειραματικά δεδομένα έχουν δείξει ότι τα κύτταρα του αγγειακού ενδοθηλίου του ξενιστή είναι ανοσολογικοί στόχοι των άλλο-αντιδραστικών T κυττάρων του δότη [125, 126] και ότι τα σύνδρομα ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας που παρατηρούνται μετά από allo-HSCT μπορούν να θεωρηθούν ως φαινόμενα "μοσχεύματος έναντι των ενδοθηλιακών κυττάρων του λήπτη-ξενιστή" [126]. Η παθοφυσιολογία δεν έχει επαρκώς αποσαφηνισθεί και μπορεί να συμμετέχουν αλληλεπιδράσεις των ECs με T κύτταρα του δότη, με μονοκύτταρα, συστατικά του συμπληρώματος ή/και προφλεγμονώδεις κυτοκίνες [125].

Επιπλέον, κλινικές μελέτες σε ανθρώπους έχουν δείξει την παρουσία σημαντικών βλαβών στα ECs του ξενιστή ιδιαίτερα σε ασθενείς με GVHD [127]. Οι ασθενείς με GVHD είχαν εκτεταμένη απώλεια πυκνότητας μικροαγγείων σε βιοψίες δέρματος σε σύγκριση με ασθενείς χωρίς GVHD, και φυσιολογικούς δότες. Επιπλέον, οι ασθενείς με GVHD είχαν ιστολογικά σημεία αγγειακής βλάβης, όπως ενδοθηλιακό οίδημα ή την απώλεια ενδοθηλίου. Ως περαιτέρω

απόδειξη της ιδέας, οι ερευνητές παρατήρησαν την παρουσία ενεργοποιημένων κυτταροτοξικών κυττάρων CD8 κυττάρων σε κοντινή απόσταση από το κατεστραμμένο ενδοθήλιο. Η εκτεταμένη απώλεια μικροαγγείων έχει ως αποτέλεσμα την εξασθένηση της αιμάτωσης και τη βλάβη των ιστών, και πιθανώς σχετίζεται με την ανάπτυξη ίνωσης των ιστών [127].

Επιπλέον, σε φλεγμονώδεις καταστάσεις, τα ενεργοποιημένα ECs αποκτούν τη δυνατότητα να λειτουργούν ως αντιγονο-παρουσιαστικά κύτταρα και επομένως συμβάλλουν στην αρχική διέγερση και επέκταση των άλλο-αντιδραστικών T κυττάρων του δότη, επιδεινώνοντας έτσι περαιτέρω τη καταστροφική δράση του «μοσχεύματος έναντι ξενιστή» [128].

### 2.1.2 Αθηροσκλήρυνση ως GvHD

Μελέτες της διεθνούς βιβλιογραφίας έχουν δείξει ότι οι μακροχρόνιοι επιζώντες μετά από allo-HSCT παρουσιάζουν αυξημένη συχνότητα εμφάνισης καρδιαγγειακών επεισοδίων σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες [129, 130]. Μια προφανής εξήγηση είναι η παρουσία μεταβολικού συνδρόμου που εμφανίζεται συχνά σε ασθενείς που λαμβάνουν θεραπεία με μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων [129].

Πιο αναλυτικά, οι επιζώντες μετά από allo-HSCT ήταν πιο πιθανό να αναφέρουν υπέρταση, διαβήτη τύπου II και δυσλιπιδαιμία, σε σύγκριση με τους ασθενείς μετά από αυτόλογη HSCT [129]. Η αυξημένη εμφάνιση δυσλιπιδαιμίας, υπέρτασης και διαβήτη μετά από allo-HSCT μπορεί να αποδοθεί σε παρατεταμένη χορήγηση αναστολέων καλσινευρίνης και κορτικοστεροειδών ή μπορεί να είναι αποτέλεσμα υποκλινικής βλάβης οργάνων, όπως ο υποθυρεοειδισμός ή η μειωμένη έκκριση αυξητικής ορμόνης [130]. Μια προηγούμενη μελέτη που περιελάμβανε περισσότερους από 200 μακροχρόνιους επιζώντες μετά από allo-HSCT έδειξε ότι η συχνότητα εμφάνισης αγγειακής εγκεφαλικής νόσου ήταν εξαιρετικά υψηλή σε σύγκριση με το γενικό πληθυσμό και, το πιο σημαντικό, εμφανίστηκε σε νεότερη μέση ηλικία από τη συνηθισμένη [131].

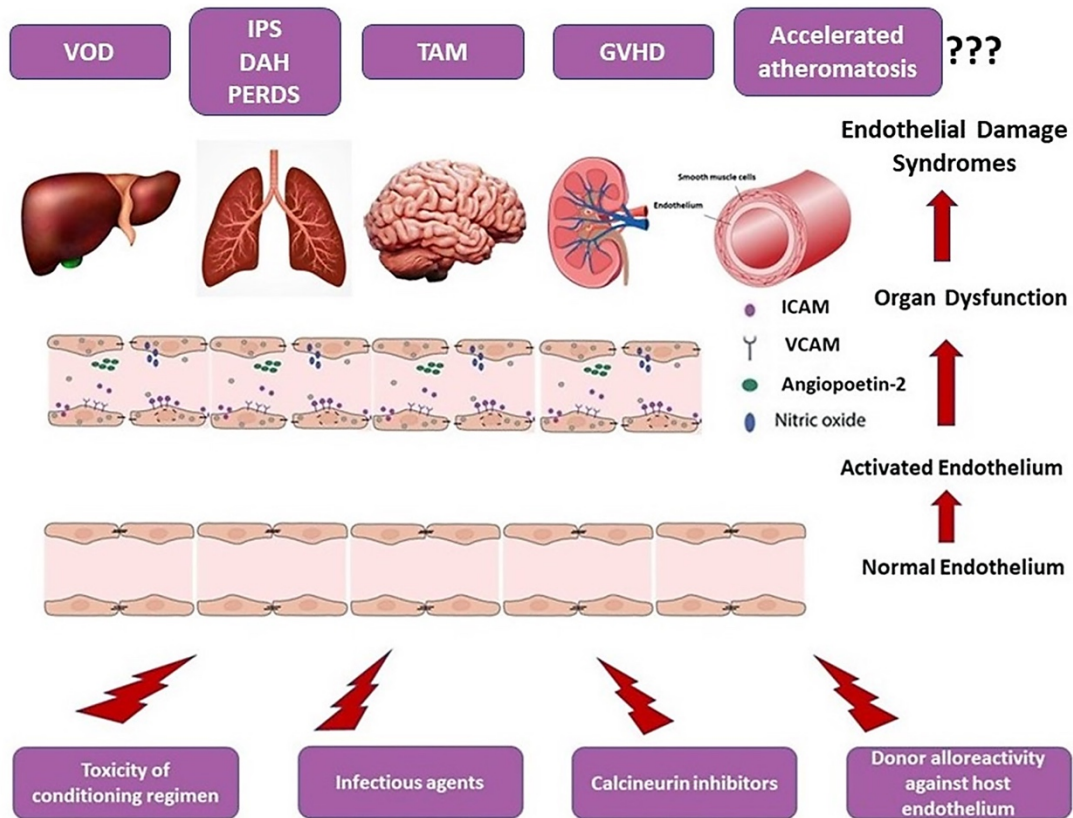
Με βάση αυτά τα δεδομένα, οι μακροχρόνιοι επιζώντες θα πρέπει να παρακολουθούνται προσεκτικά από ειδικούς ιατρούς για την έγκαιρη διάγνωση και θεραπεία μεταβολικών νοσημάτων όπως ο διαβήτης, το μεταβολικό

σύνδρομο και η δυσλιπιδαιμία [131]. Τα παραπάνω ευρήματα έρχονται σε συμφωνία με την γνώση ότι η αθηροσκλήρωση είναι το αποτέλεσμα μιας φλεγμονώδους διαδικασίας που επηρεάζει το ενδοθήλιο των αγγείων [4, 129]. Οι αθηρωματικές πλάκες εμφανίζονται σταδιακά κατά τη διάρκεια των δεκαετιών πριν από τις κλινικές εκδηλώσεις του εγκεφαλικού επεισοδίου, της περιφερικής αρτηριοπάθειας και της στεφανιαίας νόσου.

Με βάση τα παραπάνω δεδομένα, είναι πολύ πιθανό η πρόωρη αθηρωμάτωση που παρατηρείται μετά από allo-HSCT να είναι το τελικό αποτέλεσμα της επίδρασης μοσχεύματος έναντι ξενιστή και της ανοσολογικής επίθεσης στο ενδοθήλιο των αγγείων του ξενιστή [85]. Η καθυστερημένη εμφάνιση εξηγείται από τη μακρά λανθάνουσα κατάσταση μεταξύ των αρχικών ερεθισμάτων και της ανάπτυξης αθηρωματικών πλακών και αγγειακών-κλινικά ορατών βλαβών. Συμπερασματικά, έχει διαμορφωθεί η υπόθεση ότι η πρόωρη αθηρωμάτωση μετά από allo-HSCT μπορεί να θεωρηθεί ως εκδήλωση της GvHD.

Μια παρόμοια αλλοάνοση επίδραση εμφανίζεται μετά από μεταμόσχευση συμπαγών οργάνων, όπου η πιο σημαντική αιτία χρόνιας ανεπάρκειας οργάνων είναι η χρόνια αγγειοπάθεια που περιλαμβάνει τις αρτηρίες του μεταμοσχευμένου οργάνου [132,133]. Αν και η χρόνια αγγειοπάθεια λόγω μεταμόσχευσης θεωρείται πολυπαραγοντική νόσος, η ανοσο-μεσολαβούμενη ενδοθηλιακή βλάβη φαίνεται να είναι ο πιο σημαντικός παράγοντας κινδύνου για την εκδήλωση και την πρόοδο της νόσου [133]. Πράγματι, είναι γνωστό πλέον ότι τα αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα είναι ένας από τους κύριους στόχους της κυτταρικής και χυμικής ανοσίας του ξενιστή ύστερα από την μεταμόσχευση συμπαγών οργάνων [134].

Συμπερασματικά, αν και πολυάριθμες μελέτες παρατήρησης και πολλαπλές αναφορές περιπτώσεων (Case reports) της διεθνούς βιβλιογραφίας υποστηρίζουν την άμεση αιτιολογική συσχέτιση μεταξύ GvHD και πρόωρης αθηρωμάτωσης, το αληθές της υπόθεσης δεν έχει τεκμηριωθεί οριστικά [85]. Στην **Εικόνα 2** που ακολουθεί δίνεται μια γραφική αναπαράσταση της παθοφυσιολογίας όλων των πιθανών συνδρόμων ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας (όπως αυτή έχει περιγραφεί) που μπορεί να ανακύψουν μετά από allo-HSCT, καθώς και της GvHD ως μορφής ενδοθηλιακής βλάβης.



**Εικόνα 2:** Γραφική αναπαράσταση της παθοφυσιολογίας όλων των πιθανών συνδρόμων ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας [85].

## 2.2 Βιοδείκτες για την Ενδοθηλιακή Δυσλειτουργία

### 2.2.1 Ορισμός βιοδείκτη

Το 1998, η Ομάδα Εργασίας των Εθνικών Ινστιτούτων Ορισμών Βιοδεικτών Υγείας όρισε έναν βιοδείκτη ως «ένα χαρακτηριστικό που μετρείται με αντικειμενικό τρόπο, και αξιολογείται ως δείκτης φυσιολογικών βιολογικών διεργασιών, παθολογικών διεργασιών ή φαρμακολογικών αποκρίσεων σε μια θεραπευτική παρέμβαση». [135].

Οι βιοδείκτες οι οποίοι επιστρατεύονται σε διάφορες κλινικές μελέτες και συγκεκριμένα στον τομέα της ιατρικής και της φαρμακευτικής, αφορούν σε κυτταρικούς αλλά και σε διαλυτές ουσίες οι οποίες ανιχνεύονται στον ορό του ασθενούς, και οι οποίες μπορεί να έχουν είτε διαγνωστικό ρόλο, είτε να παρουσιάζουν σημαντική προγνωστική αξία [135]. Το πιο κοινό παράδειγμα

βιοδείκτη με διαγνωστική αξία είναι η μέτρηση του PSA στον ορό για την διάγνωση του καρκίνου του προστάτη σε άρρενες ασθενείς. Επίσης ο διαλυτός βιοδείκτης CEA (καρκινοεμβρυικό αντιγόνο) χρησιμοποιείται για την παρακολούθηση ασθενών με καρκίνο του παχέος εντέρου και για την εκτίμηση της θεραπευτικής έκβασης [135].

Η χρήση βιοδεικτών στη βασική και κλινική έρευνα καθώς και στην κλινική πρακτική έχει γίνει τόσο συνηθισμένη που η παρουσία τους ως πρωτεύοντα καταληκτικά σημεία σε κλινικές δοκιμές είναι πλέον αποδεκτή [135].

### 2.2.2 Βιοδείκτες για το αγγειακό ενδοθήλιο

Τα σύνδρομα ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας που εμφανίζονται μετά από allo-HSCT συνήθως αλληλεπικαλύπτονται με άλλες επιπλοκές και επομένως χρειάζονται βιοδείκτες για την έγκαιρη αναγνώριση της βλάβης των ενδοθηλιακών κυττάρων των αγγείων των μεταμοσχευθέντων ασθενών [85].

Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία έχει ως αποτέλεσμα την απώλεια της αγγειακής ακεραιότητας και την αύξηση της τριχοειδικής διαπερατότητας, με συνέπεια μετακίνηση υγρών στον τρίτο χώρο και μείωση του δραστικού όγκου αίματος. Η βλάβη των ECs προκαλεί αλλαγές σε διάφορες πρωτεϊνικές εκφράσεις, καθώς τα κατεστραμμένα ενδοθηλιακά κύτταρα απελευθερώνουν διάφορες πρωτεΐνες στη συστηματική κυκλοφορία. Συνεπώς, η παρακολούθηση της συγκέντρωσης των απελευθερωμένων πρωτεϊνών στο περιφερικό αίμα μπορεί να βοηθήσει στην έγκαιρη αναγνώριση του συνδρόμου ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας μετά από allo-HSCT [85].

Ο ιδανικός βιοδείκτης για την ανίχνευση δυσλειτουργίας του αγγειακού ενδοθηλίου θα πρέπει να χαρακτηρίζεται από υψηλή ευαισθησία, ειδικότητα και προγνωστική αξία. Αν και δεν υπάρχει σήμερα ιδανικός βιοδείκτης, υπάρχει τεράστια δραστηριότητα στον τομέα, με διάφορα διαλυτά μόρια, κυκλοφορούντα ενδοθηλιακά κύτταρα, παράγοντες πήξης, και διάφορες κυτοκίνες να δοκιμάζονται ενεργά [85].

### 2.2.3 Διαλυτοί βιοδείκτες για το αγγειακό ενδοθήλιο

#### **Παράγοντας Von Willebrand (VWF):**

Ο παράγοντας Von Willebrand (VWF) είναι μια πρωτεΐνη που παίζει σημαντικό ρόλο στη μικροαγγειακή ακεραιότητα και την αιμόσταση. Ο VWF είναι ένα μόριο γεφύρωσης για την προσκόλληση αιμοπεταλίων στο κατεστραμμένο ενδοθήλιο, καθώς και για τη συσσώρευση αιμοπεταλίων και το σχηματισμό θρόμβων αιμοπεταλίων στο σημείο της αγγειακής βλάβης. Επιπλέον, ο VWF είναι ο φορέας του παράγοντα πήξης VIII (FVIII) και βοηθά στη μεταφορά σε σημεία τραυματισμού και στην τοπική παραγωγή θρομβίνης [136].

Ο VWF παράγεται σε ενδοθηλιακά κύτταρα και μεγακαρυοκύτταρα και στην συνέχεια αποθηκεύεται σε κοκκία του κυτταροπλάσματος των αιμοπεταλίων, ενώ μεγάλες ποσότητες VWF αποθηκεύονται και σε σωματίδια Weibel-Palade στα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων. Επί ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας ανεξαρτήτου αιτιολογίας, τα σωματίδια Weibel-Palade εκκρίνουν VWF στη συστηματική κυκλοφορία. [134].

Αυξημένα επίπεδα VWF στο πλάσμα έχουν αναφερθεί σε διάφορες φλεγμονώδεις καταστάσεις όπου η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία έχει εξέχοντα ρόλο, όπως αυτοάνοσες και νεοπλασματικές διαταραχές. Για παράδειγμα, ο VWF είναι τεκμηριωμένα ένας προγνωστικός παράγοντας για πνευμονική συμμετοχή σε ασθενείς με συστηματική σκλήρυνση, ενώ τα επίπεδα του VWF συσχετίζονται επίσης με τη δραστηριότητα της νόσου σε διαταραχές του συνδετικού ιστού και στο αιμολυτικό/ουραιμικό σύνδρομο [137-139].

Τα επίπεδα του VWF στο πλάσμα αυξάνονται σημαντικά νωρίς μετά τη μεταμόσχευση αιμοποιητικών βλαστικών κυττάρων, πιθανώς ως αποτέλεσμα ενδοθηλιακής βλάβης που προκαλείται από την προηγηθείσα χημειοθεραπεία και ακτινοβολία [140]. Ως περαιτέρω απόδειξη της ιδέας ότι η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία συμβάλλει σημαντικά στη χρόνια παθογένεση της GVHD, προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει ότι ο VWF παρατηρείται σε αυξημένες συγκεντρώσεις στο περιφερικό αίμα κατά τη διάρκεια χρόνιου GVHD, και το πιο σημαντικό, τα επίπεδα του VWF σχετίζονται με τη ενεργότητα και τη σοβαρότητα της νόσου [141, 142].

Επιπρόσθετα, ορισμένες μελέτες της διεθνούς βιβλιογραφίας έχουν δείξει ότι τα αυξημένα επίπεδα VWF παρουσίασαν προγνωστική αξία για την ανάπτυξη και τη σοβαρότητα των συνδρόμων ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας που παρατηρήθηκαν μετά από allo-HSCT, όπως η θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια που σχετίζεται με μεταμόσχευση (TA-TMA) [143].

Επιπλέον των παραπάνω, ορισμένες ερευνητικές μελέτες της διεθνούς βιβλιογραφίας υποστηρίζουν ότι ανάλογα με τον αιτιολογικό παράγοντα της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας, τα επίπεδα του VWF στο πλάσμα διαφέρουν [85]. Πιο αναλυτικά, σε προηγούμενη μελέτη στην οποία συμμετείχαν 79 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε allo-HSCT, μετρήθηκαν προοπτικά τα επίπεδα του VWF. Από τους 79 ασθενείς, οι 23 εμφάνισαν TA-TMA (29%), με συνέπεια να παρουσιάζουν σημαντικά υψηλότερη θνησιμότητα από μη υποτροπή της νόσου (NRM) σε σύγκριση με τους ασθενείς που δεν εμφάνισαν TA-TMA. Σε αυτούς τους ασθενείς με την διάγνωση TA-TMA, η μέτρηση έδειξε ότι τα επίπεδα του VWF στο πλάσμα ήταν σημαντικά υψηλότερα σε σύγκριση με τα επίπεδα που παρουσίαζαν στον ορό οι ασθενείς οι οποίοι δεν εμφάνισαν σύνδρομο ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας ύστερα από την μεταμόσχευση. Δεδομένου του ευρήματος, οι επιστήμονες κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα επίπεδα VWF στο πλάσμα θα μπορούσαν να λειτουργούν σαν βιοδείκτης για την έγκαιρη διάγνωση της TA-TMA [144].

Αντίστοιχα, μελέτες παρατήρησης που δημοσιεύονται στη διεθνή βιβλιογραφία υποστηρίζουν ότι αυξημένα επίπεδα VWF και FVIII έχουν παρατηρηθεί και σε ασθενείς με σύνδρομο SOS/VOD μετά από allo-HSCT. Ωστόσο, η προγνωστική χρησιμότητα αυτών των δεικτών στα SOS/VOD δεν έχει τεκμηριωθεί [69].

### **Μόρια κυτταρικής προσκόλλησης:**

Τα μόρια κυτταρικής προσκόλλησης (CAMs) όπως τα ICAM, VCAM, E-σελεκτίνη και P-σελεκτίνη εκφράζονται σε ενδοθηλιακά κύτταρα και υπάρχουν σε δύο ισομορφές [145]. Συγκεκριμένα, τα μόρια κυτταρικής προσκόλλησης μπορούν είτε να είναι προσκολλημένα στην κυτταρική μεμβράνη κάποιου κυττάρου, είτε να κυκλοφορούν στον ορό, σε διαλυτή μορφή. Σε κάθε περίπτωση, τα μόρια αυτά είναι σημαντικοί μεσολαβητές για την προσκόλληση



των λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο και τη μετανάστευση των τελευταίων από το αίμα στους ιστούς [145].

Προηγούμενες μελέτες εξέτασαν τα επίπεδα διαλυτών μορφών VCAM, ICAM και E-σελεκτίνης σε ασθενείς μετά από allo-HSCT. Οι ασθενείς με οξεία GVHD είχαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα s-ICAM και E-σελεκτίνης στον ορό, ενώ τα επίπεδα s-VCAM και E-σελεκτίνη αυξήθηκαν σημαντικά στη χρόνια GVHD σε σύγκριση με τους ασθενείς χωρίς GVHD μετά από allo-HSCT. Οι αυξήσεις των επιπέδων των επιμέρους βιομορίων στον ορό προηγήθηκαν της εμφάνισης των κλινικών συμπτωμάτων κατά τουλάχιστον 30 ημέρες στην πλειονότητα των συμμετεχόντων στην έρευνα ασθενών. Ομοίως, η s-VCAM και η E-σελεκτίνη αυξήθηκαν επίσης σημαντικά σε ασθενείς με TA-TMA [146].

### **Αναστολέας ενεργοποίησης θρομβομοντουλίνης (TM) και πλασμινογόνου-1:**

Η θρομβοmodulin (TM) είναι ένας υποδοχέας θρομβίνης υψηλής συγγένειας που εκφράζεται στην επιφάνεια του ενδοθηλιακού κυττάρου και δρα ως φυσικό αντιπηκτικό. Η TM δρα ως συμπαραγοντας της ενεργοποιημένης πρωτεΐνης C και ο κύριος ρόλος της είναι η αναστολή των προπηκτικών λειτουργιών της θρομβίνης. Ο αναστολέας ενεργοποίησης πλασμινογόνου-1 (PAI-1) είναι ένας αναστολέας πρωτεάσης σερίνης που λειτουργεί ως κύριος αναστολέας του ενεργοποιητή πλασμινογόνου ιστού (tPA) και της ουροκινάσης (uPA) [147, 148]. Οι tPA και uPA μετατρέπουν το πλασμινογόνο σε πλασμίνη και επομένως το PAI-1 λειτουργεί ως αναστολέας της ινωδόλυσης. Το PAI-1 παράγεται κυρίως από ενδοθηλιακά κύτταρα, αλλά παράγεται επίσης από άλλα κύτταρα, όπως τα κύτταρα του λιπώδους ιστού [147].

Τα επίπεδα της TM στον ορό σε συνδυασμό με εκείνα του VWF, s-και των ICAM1 και E-σελεκτίνης αυξήθηκαν σημαντικά σε ασθενείς που ανέπτυξαν SOS ή TA-TMA μετά από allo-HSCT. Αναλυτικότερα, τα επίπεδα ορού αυτών των διαλυτών μορίων που μετρήθηκαν μία εβδομάδα μετά την έγχυση μοσχεύματος ήταν προγνωστικά της επακόλουθης ανάπτυξης SOS σε ορισμένους από τους ασθενείς της μελέτης [147-149]. Ομοίως, τα επίπεδα του PAI-1 στον ορό αυξήθηκαν σημαντικά σε ασθενείς με SOS, αλλά όχι σε ασθενείς με GVHD [148].

Επιπλέον, το PAI-1 είναι επίσης ένας προγνωστικός παράγοντας για την έκβαση του SOS μετά από θεραπεία με δεφιβρωτίδη (DF). Μια προηγούμενη μελέτη έδειξε ότι η μείωση των επιπέδων του PAI-1 κατά τις πρώτες δύο εβδομάδες μετά την έναρξη της DF συσχετίστηκε με την επακόλουθη πλήρη ύφεση του SOS. Συμπερασματικά, το μόριο PAI-1 είναι ένας χρήσιμος βιοδείκτης για την έγκαιρη διάγνωση των SOS και την έκβαση της θεραπείας μετά από χορήγηση DF, αλλά είναι επίσης χρήσιμος βιοδείκτης για τη διαφορική διάγνωση του συνδρόμου ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας SOS από την οξεία GVHD με προσβολή του ήπατος [148-151].

### **Κυκλοφορούντες παράγοντες αγγειογένεσης:**

Η αγγειοποιητίνη-1 (Ang-1) και η Ang-2 είναι πεπτίδια που δρουν ως ζεύγος αγωνιστής και ανταγωνιστής και είναι σημαντικοί ρυθμιστές της ενδοθηλιακής ομοιόστασης και της αγγειογένεσης. Τα πεπτίδια αυτά είναι προσδέτες για τον υποδοχέα κινάσης τυροσίνης Tie2 που εκφράζεται στην ενδοθηλιακή επιφάνεια των αγγείων. Η δέσμευση της Ang1 με το Tie2 προάγει την επιβίωση και την αύξηση της διαπερατότητας των ECs, ενώ επίσης προκαλεί τη μείωση της έκφρασης των μορίων επιφανειακής πρόσφυσης, βοηθώντας έτσι στην καταστολή της φλεγμονής [152].

Το πεπτίδιο ανταγωνιστής Ang2, αφού αλληλοεπιδράσει με τον υποδοχέα Tie2, επάγει τα αντίθετα αποτελέσματα προωθώντας την απόπτωση των ECs και διεγείροντας την έκφραση φλεγμονωδών κυτοκινών. Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι το μόριο της Ang2 είναι ένας προγνωστικός παράγοντας της συστηματικής ενδοθηλιακής βλάβης και των σχετικών επιπλοκών της μεταμόσχευσης [152].

Σύμφωνα με την διεθνή βιβλιογραφία, τα αυξημένα επίπεδα Ang2 στον ορό σε ασθενείς μετά από μεταμόσχευση έχει φανεί ότι σχετίζονται με σύνδρομο ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας, όπως SOS, TAM, IPS και DAH [153]. Τα αυξημένα επίπεδα Ang2 κατά τη στιγμή της μεταμόσχευσης αιμοποιητικών κυττάρων συσχετίστηκαν με την ανάπτυξη συνδρόμων ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας σε μια ομάδα 153 ληπτών allo-HSCT. Η πολυπαραγοντική ανάλυση έδειξε ότι τα υψηλά επίπεδα Ang2 ήταν επίσης προγνωστικά της

αυξημένης θνησιμότητας που σχετίζεται με το σύνδρομο ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας [152, 153].

Αντίθετα, τα επίπεδα της Ang2 στον ορό δεν ήταν προγνωστικά για την ανάπτυξη οξείας GVHD μετά από allo-HSCT. Ωστόσο, τα αυξημένα επίπεδα Ang2 συσχετίστηκαν με ανθεκτικότητα στη θεραπεία σοβαρής οξείας GVHD καθώς και με αυξημένη θνησιμότητα από GVHD [155]. Όσον αφορά τον αγγειακό ενδοθηλιακό αυξητικό παράγοντα (VEGF), προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει ότι οι λήπτες allo-HSCT τείνουν να έχουν χαμηλότερα επίπεδα VEGF στον ορό σε σύγκριση με τους υγιείς δότες. Ωστόσο, στις ίδιες μελέτες, παρατηρήθηκε ότι τα επίπεδα του VEGF είναι σημαντικά αυξημένα σε ασθενείς με GVHD. Αυτές οι μελέτες έδειξαν ότι τα επίπεδα του VEGF στον ορό είναι αυξημένα κατά τη στιγμή της GVHD αλλά όχι πριν από την κλινική διάγνωση και, ως εκ τούτου, ο VEGF δεν θεωρείται προγνωστικός δείκτης για τον GVHD [155, 156].

#### **Προφλεγμονώδεις κυτοκίνες:**

Οι προφλεγμονώδεις κυτοκίνες όπως οι IL2, IL6, IL33, IFN $\gamma$  και TNF $\alpha$  είναι σημαντικοί μεσολαβητές της φλεγμονής και παίζουν σημαντικό ρόλο στη δημιουργία και την ενίσχυση της άλλο-αντιδραστικής αντίδρασης των κυττάρων του δότη με αποτέλεσμα τη βλάβη των ενδοθηλιακών κυττάρων των αγγείων του ξενιστή και την ανάπτυξη της GVHD [157,158].

Προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει ότι έχουν παρατηρηθεί αυξημένα επίπεδα TNF $\alpha$  στον ορό, διαλυτού υποδοχέα IL2-a (Sil2Ra), IL6 και IL33 κατά τη διάρκεια της GVHD. Ωστόσο, αυξημένα επίπεδα αυτών των κυτοκινών παρατηρούνται επίσης κι σε άλλες φλεγμονώδεις καταστάσεις, όπως η σήψη, και άλλες επιπλοκές που σχετίζονται με τη μεταμόσχευση όπως το SOS [159,160,161]. Επομένως, Βάσει των τρεχόντων ερευνητικών δεδομένων, κανένα από αυτά τα μόρια δεν μπορεί να χρησιμεύσει ως βιοδείκτης για την GVHD [162,163].

#### **Βιοδείκτες GVHD που ανακαλύφθηκαν από την πρωτεομική:**

Η διεθνής κοινοπραξία Mount Sinai Acute GVHD (MAGIC), μετά από πρωτεομική ανάλυση σε εκατοντάδες ασθενείς με διάγνωση GVHD και χωρίς GVHD μετά από allo-HSCT, ανακάλυψε διαλυτούς βιοδείκτες που βοηθούν στη

διάγνωση και την έγκαιρη πρόβλεψη της οξείας GVHD μετά από μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων [164].

Μεταξύ αυτών, δύο βιοδείκτες ορού, δηλαδή ο 3α που προέρχεται από αναγεννητική νησίδα (REG3a) και ο καταστολέας της ογκογένεσης 2 (ST2), απελευθερώνονται στη συστηματική κυκλοφορία από κύτταρα Paneth και από κύτταρα των εντερικών λαχνών, που έχουν υποστεί βλάβη στα πλαίσια GVHD. Με βάση τα επίπεδα αυτών των δύο βιοδεικτών στον ορό των ασθενών, οι ερευνητές ανέπτυξαν τον αλγόριθμο πιθανότητας MAGIC (MAP) και επικύρωσαν τη χρησιμότητά του ως διαγνωστικό και προγνωστικό βιοδείκτη της GVHD σε ασθενείς που υποβάλλονται σε allo-HSCT. Οι ερευνητές έδειξαν ότι ο MAP είναι στην πραγματικότητα ο καλύτερος προγνωστικός δείκτης της έκβασης της οξείας GVHD (καλύτερος από τον συνολικό βαθμό) και έχει τη δυνατότητα να καθοδηγήσει τη θεραπεία της νόσου μοσχεύματος έναντι ξενιστή, με βέλτιστα κλινικά αποτελέσματα [164].

#### **Δείκτης Ενδοθηλιακής Ενεργοποίησης και Στρες (EASIX):**

Ένα εύκολο, επαναπαραγωγίμο και χρήσιμο εργαλείο για την πρόβλεψη της κλινικής έκβασης μετά από allo-HSCT, είναι ο δείκτης ενδοθηλιακής ενεργοποίησης και στρες (EASIX) [165, 166]. Το EASIX είναι ένα νέο πάνελ βιοδεικτών που βασίζεται στην εκτίμηση τριών εύκολα διαθέσιμων παραμέτρων, και ακριβέστερα: (1) της κρεατινίνης, (2) του αριθμού αιμοπεταλίων και (3) της γαλακτικής αφυδρογονάσης (LDH) [165].

Η βαθμολογία EASIX υπολογίζεται χρησιμοποιώντας τον τύπο: [( LDH (U/L)) x [Κρεατινίνη (mg/dL)] /Θρομβοκύτταρα ( $10^9$  κύτταρα/L)] [36,165]. Προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει ότι η αυξημένη βαθμολογία EASIX κατά τη στιγμή της έγχυσης μοσχεύματος είναι προγνωστική για τον κίνδυνο θανάτου σε ασθενείς με οξεία GVHD και TA-TMA [166,167]. Επίσης το EASIX είναι ένας καλός προγνωστικός βιοδείκτης για την ανάπτυξη του SOS [168].

#### **2.2.4 Κυτταρικοί βιοδείκτες για το αγγειακό ενδοθήλιο**

Ολοένα και περισσότερα αναδυόμενα στοιχεία από ερευνητικές μελέτες δείχνουν ότι οι κυτταρικοί βιοδείκτες, όπως τα κυκλοφορούντα ενδοθηλιακά κύτταρα (CECs), τα ενδοθηλιακά προγονικά κύτταρα (EPCs) και τα

εξωκυτταρικά κυστίδια (EVs) αντιπροσωπεύουν μια νέα, πολλά υποσχόμενη προσέγγιση για την αξιολόγηση της ενδοθηλιακής λειτουργίας [85].

Πιο συγκεκριμένα, τα CECs είναι ώριμα ενδοθηλιακά κύτταρα που απελευθερώνονται από το εσωτερικό των αγγείων μετά από τραυματισμό του ενδοθηλίου και επί λύσης της ακεραιότητάς του. Σε υγιή άτομα, αποτελούν σπάνια ευρήματα κατά την μικροσκόπηση δείγματος από περιφερικό αίμα (~5 κύτταρα/μl), αλλά, τα επίπεδά τους μπορούν να αυξηθούν σημαντικά στον ορό επί αγγειακής βλάβης, αντανακλώντας το βαθμό της ενδοθηλιακής βλάβης [171,172].

Τα CECs χαρακτηρίζονται από την έκφραση βιοδεικτών του αγγειακού ενδοθηλίου (όπως CD31, CD144, CD146 και vWF) καθώς και από την παρουσία VEGFR2 και CD133, και την απουσία λευκοκυτταρικών δεικτών. Ωστόσο, ο φαινότυπος τους, καθώς και η μορφολογία τους μπορεί να διαφέρουν ανάλογα με τον τύπο της υποκείμενης διαταραχής.

Μετά από allo-HSCT, μια σημαντική αύξηση του απόλυτου αριθμού των CECs σε σύγκριση με την αρχική τιμή, έχει συσχετιστεί με την ένταση του σχήματος προετοιμασίας [171,172]. Πιο συγκεκριμένα, η ολική ακτινοβολία σώματος (TBI) οδήγησε σε πολύ μεγαλύτερη αύξηση των CECs (διάμεση τιμή 44 κύτταρα/μl) σε σύγκριση με την χορήγηση σχημάτων προετοιμασίας μειωμένης έντασης (RIC) (διάμεσος 24 κύτταρα/μl), γεγονός που επιβεβαιώνει την υπόθεση ότι η ενδοθηλιακή βλάβη συσχετίζεται με την ένταση του σχήματος προετοιμασίας και ιδιαίτερα με την ακτινοβολία [173].

Ακόμη, παρατηρήθηκε σημαντική μεταβλητότητα στον απόλυτο αριθμό των CECs, σε ασθενείς οι οποίοι μετά από allo-HSCT εμφάνισαν κάποιο από τα επιμέρους σύνδρομα ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας. Οι Touzot et al. συσχέτισαν τα αυξημένα επίπεδα CECs με μια σειρά επιπλοκών μετά τη μεταμόσχευση, όπως η ανάπτυξη SOS / VOD, TA-TMA, σύνδρομο διαφυγής τριχοειδών και η πνευμονική υπέρταση. Η παρούσα μελέτη υποδεικνύει με σαφήνεια ότι τα CECs μπορούν να αξιοποιηθούν ως βιοδείκτης ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας. Το δυναμικό των CECs ως διαγνωστικού βιοδείκτη τεκμηριώθηκε περαιτέρω από τους Almici et al., οι οποίοι έδειξαν ότι τα

αυξημένα επίπεδα CECs είναι σε θέση να προβλέψουν την ανάπτυξη και τη θεραπευτική ανταπόκριση της GvHD [174,175].

Σε αντίθεση με τα CECs, τα οποία απελευθερώνονται ως απόκριση σε τραυματισμό του ενδοθηλίου και επομένως θεωρούνται βιοδείκτες ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας, τα EPCs συμβάλλουν στη νεο-αγγειογένεση και την αγγειακή αποκατάσταση [176]. Είναι πρόδρομα κύτταρα που προέρχονται από το μυελό των οστών και χαρακτηρίζονται από έκφραση δεικτών κυτταρικής αωρότητας (όπως CD133, CD34), και κοινών ενδοθηλιακών δεικτών (όπως CD117, CD31, VEGFR2, vWF). Τα EPCs έχουν την ικανότητά να διαφοροποιούνται σε ενδοθηλιακά κύτταρα *in vitro* [176,177].

Χαμηλά επίπεδα EPCs έχουν ανιχνευθεί σε μια σειρά ασθενειών, όπως τα καρδιαγγειακά νοσήματα, η χρόνια νεφρική ανεπάρκεια κι η αρτηριακή υπέρταση, καθιστώντας τα ως υποκατάστατο δείκτη καρδιαγγειακού κινδύνου [178]. Ομοίως, έχουν περιγραφεί χαμηλά επίπεδα EPC σε ασθενείς που υποβάλλονται σε allo-HSCT (ακόμη και πριν από τη μεταμόσχευση), μαζί με αυξημένα CECs, αντανακλώντας μια συνεχιζόμενη ενδοθηλιακή βλάβη. Το πιο ενδιαφέρον είναι ότι η επιμονή χαμηλής τιμής EPCs και των υψηλών επιπέδων CECs, πέραν των 12 μηνών allo-HSCT μπορεί να εξηγήσει τον υψηλότερο καρδιαγγειακό κίνδυνο που σχετίζεται με τους μακροχρόνιους επιζώντες της allo-HSCT, αν και απαιτούνται μεγαλύτερες μελέτες για να επιβεβαιωθεί αυτή η συσχέτιση [179].

Τα EVs είναι ένας ετερογενής πληθυσμός πυρηνικών, μεμβρανικών κλειστών σωματιδίων που φέρουν μεταβλητά βιοενεργά μόρια όπως miRNA, mRNA, DNA, πρωτεΐνες και λιπίδια. Έχουν αναδειχθεί ως σημαντικοί μεσολαβητές της διακυτταρικής επικοινωνίας και της αγγειακής ομοιόστασης, λόγω των μοναδικών λειτουργιών τους που αντανακλούν εκείνες του γονικού κυττάρου [180]. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα εκκρίνουν συστατικά χαμηλού επιπέδου EVs υπό φυσιολογικές συνθήκες, οι οποίες αυξάνονται σημαντικά υπό το στρες και την λύση της ακεραιότητας του αγγειακού ενδοθηλίου [181]. Τέλος, στο πλαίσιο της allo-HSCT, έχουν ανιχνευθεί αυξημένα CD144+ EVs σε πρώιμα στάδια SOS/VOD, αντανακλώντας πρώιμη ενδοθηλιακή βλάβη στην παθογένεια της νόσου [180].

Ωστόσο, αν και αυτά τα αποτελέσματα είναι πολύ ελπιδοφόρα, απαιτούνται μεγαλύτερες προοπτικές μελέτες για την επικύρωσή τους πριν από την κλινική εφαρμογή. Μια σύνοψη των μελετημένων βιοδεικτών για σύνδρομα ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας παρουσιάζεται στον **Πίνακα 3**.

**Πίνακας 3:** Βιοδείκτες που σχετίζονται με σύνδρομα μετά τη μεταμόσχευση που σχετίζονται με ενδοθηλιακή δυσλειτουργία.

Βιοδείκτης	VOD/SOS	TAM	IPS/DAH	GVHD
Παράγοντες Πήξης				
<b>VWF</b>	↑	↑	----	↑
<b>TM</b>	↑	↑	----	↑
<b>PAI1</b>	↑	----	----	----
Μόρια κυτταρικής προσκόλλησης				
<b>ICAM</b>	↑	----	↑	↑
<b>VCAM</b>	----	↑	↑	----
<b>E-selectin</b>	↑	↑	----	↑
<b>P-selectin</b>	↑	----	----	----
Προ-φλεγμονώδεις κυτοκίνες				
<b>TNFa</b>	↑	----	↑	↑
<b>IL6</b>	----	----	----	↑
<b>sIL2R</b>	↑	----	----	↑
Παράγοντες αγγειογένεσης				
<b>CEC</b>	----	----	----	↑
<b>VEGF</b>	↑	----	----	----
<b>Ang2</b>	----	----	↑	↑
Panels				
<b>EASIX</b>	↑	↑	----	↑
<b>MAGIC (ST2, REG3a)</b>	----	----	----	↑

TM, θρομβομοντουλίνη; PAI1, αναστολέας ενεργοποιητή πλασμινογόνου-1; ICAM, μόριο διακυτταρικής προσκόλλησης. VCAM, μόριο προσκόλλησης αγγειακών κυττάρων. TNFa, παράγοντας νέκρωσης όγκων. IL6, ιντερλευκίνη-6; sIL2R, διαλυτός υποδοχέας IL2. CEC, κυκλοφορούντα ενδοθηλιακά κύτταρα. VEGF, αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας. Ang2, αγγειοποιητίνη-2; EASIX, ενδοθηλιακή ενεργοποίηση και δείκτης στρες. ST2, καταστολή της ογκογένεσης 2.

## ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ

### 3.1 Ερευνητική υπόθεση της μελέτης

Το ενδοθήλιο είναι βασικός παράγοντας στη διατήρηση της φυσιολογικής ομοιόστασης του οργανισμού, ρυθμίζοντας τη ροή του αίματος, την διαπερατότητα των τριχοειδών αγγείων, την πήξη του αίματος και τη φλεγμονώδη απόκριση. Η μεταμόσχευση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων σχετίζεται με σημαντική ενδοθηλιακή ενεργοποίηση, η οποία σε πολλές περιπτώσεις οδηγεί σε σοβαρές επιπλοκές που σχετίζονται με ενδοθηλιακή δυσλειτουργία. [1, 85, 94, 140].

Πολλαπλά ερεθίσματα μεσολαβούν στην ενδοθηλιακή βλάβη στα πλαίσια της μεταμόσχευσης αιμοποιητικών κυττάρων, όπως η τοξικότητα του σχήματος προετοιμασίας του μυελού, η χρήση αναστολέων καλσινευρίνης, οι επιμέρους λοιμώξεις και η δράση των άλλο-δραστικών T κυττάρων του δότη έναντι των ενδοθηλιακών κυττάρων του ξενιστή [85].

Πλέον είναι γνωστό ότι επί εγκατεστημένης ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας προκαλείται έκκριση παραγόντων πήξης (VWF και TM), έκφραση μορίων κυτταρικής προσκόλλησης (ICAM, VCAM) και προφλεγμονωδών κυτοκινών (TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$  κ.λπ.), ενώ ταυτόχρονα ενεργοποιείται και το σύστημα του συμπληρώματος [85]. Με δεδομένο το παρόν, τα επίπεδα των διαλυτών μορίων που απελευθερώνονται στη συστηματική κυκλοφορία ως αποτέλεσμα της ενδοθηλιακής βλάβης φαίνεται να μπορούν να χρησιμεύσουν ως βιοδείκτες για την έγκαιρη διάγνωση και την προληπτική θεραπεία των συνδρόμων μετά τη μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων [85].

Ένα από τα βιομόρια που εμφανίζονται με αυξημένα επίπεδα στον ορό σε ασθενείς μετά από μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων και έχει φανεί ότι σχετίζεται με σύνδρομα ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας, όπως η SOS, η TA-TMA, το IPS και η DAH, είναι η αγγειοποιητίνη II (Ang2) [153]. Πάραυτα, η Ang2 δεν έχει προγνωστική ή διαγνωστική αξία για την GvHD σε ασθενείς μετά από allo-HSCT [85, 153, 154].

Επί του παρόντος, δεν υπάρχει ιδανικός βιοδείκτης με επαρκή ευαισθησία και ειδικότητα για την έγκαιρη διάγνωση του συνόλου των ενδοθηλιακών επιπλοκών μετά τη μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων. Ως εκ τούτου ολοένα και περισσότερες μελλοντικές μελέτες θα πρέπει να επικεντρωθούν στον εντοπισμό ειδικών βιοδεικτών για την έγκαιρη διάγνωση συνδρόμων που σχετίζονται με ενδοθηλιακή δυσλειτουργία μετά τη μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων. Η κατανόηση της παθοφυσιολογικής διαδικασίας που μεσολαβεί στην ενδοθηλιακή βλάβη μετά από μεταμόσχευση αιμοποιητικών βλαστικών κυττάρων θα είναι θεμελιώδους σημασίας για το σχεδιασμό αποτελεσματικών θεραπευτικών παρεμβάσεων και για την πρόληψη επιπλοκών που σχετίζονται με τη μεταμόσχευση [85].

Στα πλαίσια της διερεύνησης της ύπαρξης πιθανών βιοδεικτών για την έγκαιρη πρόγνωση και την διάγνωση συνδρόμου ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας ύστερα από μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων, αξίζει να διερευνηθεί κανείς την παρουσία των αντισωμάτων έναντι του υποδοχέα της αγγειοτενσίνης II τύπου 1 (AT1R) και του υποδοχέα ενδοθηλίνης A (ETAR) [183]. Το παρόν ερευνητικό αντικείμενο βασίζεται στην τεκμηριωμένη γνώση ότι η παρουσία των AT1R-Abs και των ETAR-Abs συμμετέχει στην παθογένεση της χρόνιας απόρριψης του νεφρικού μοσχεύματος, και άρα βιοδείκτη για την δυσλειτουργία του νεφρικού αλλομοσχεύματος [184, 185].

Πιο αναλυτικά, τα αντισώματα έναντι του υποδοχέα της αγγειοτενσίνης II τύπου 1 (AT1R) και του υποδοχέα ενδοθηλίνης A (ETAR) έχουν δράση αγωνιστή διότι συνδέονται με τους υποδοχείς και προκαλούν την ενεργοποίησή τους. Οι υποδοχείς AT1R και ETAR εκφράζονται στην επιφάνεια πολλών τύπων κυττάρων, αλλά κυρίως στην επιφάνεια αγγειακών ενδοθηλιακών και λείων μυϊκών κυττάρων [186]. Η σύνδεση της αγγειοτενσίνης II με το AT1R προκαλεί αγγειοσυστολή, έκκριση αλδοστερόνης και κατακράτηση νατρίου, με αποτέλεσμα τη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης και τη διατήρηση της ομοιόστασης [187]. Ομοίως, η ενεργοποίηση του ETAR μετά τη σύνδεση με την ενδοθηλίνη προκαλεί συστολή των λείων μυών στα μικρά αγγεία και παίζει βασικό ρόλο στη ρύθμιση της φυσιολογικής ροής του αίματος [188].

Ωστόσο, αυτοί οι υποδοχείς έχουν πλειοτροπικές επιδράσεις και μέσω της ενεργοποίησής τους συμβάλλουν στη ρύθμιση της σύνθεσης κολλαγόνου, στην ρύθμιση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και της κυτταρικής μετανάστευσης, οι οποίες είναι σημαντικές διαδικασίες για την αποκατάσταση των ιστών και την επούλωση πληγών [189].

Προηγούμενες μελέτες της διεθνούς βιβλιογραφίας έχουν δείξει την παρουσία AT1R-Abs και ETAR-Abs σε λήπτες μοσχεύματος συμπαγών οργάνων με χρόνια δυσλειτουργία αλλομοσχεύματος, εγείροντας έτσι σημαντικές ανησυχίες για την άμεση παθογενετική επίδραση των Abs στη διαδικασία χρόνιας απόρριψης μοσχεύματος [184,190-192].

Τα AT1R-Abs και ETAR-Abs δεν ενεργοποιούν το συμπλήρωμα ούτε μεσολαβούν στην οψωνινοποίηση και επομένως δεν είναι επιβλαβή για τα κύτταρα που εκφράζουν τον υποδοχέα. Τα AT1R-Abs και ETAR-Abs χαρακτηρίζονται ως «λειτουργικά» αντισώματα, επειδή προκαλούν ενεργοποίηση του υποδοχέα-στόχου τους με παρόμοιο τρόπο όπως οι φυσικοί προσδέτες τους [185]. Επιπλέον, η σύνδεση αντισωμάτων με AT1R και ETAR προκαλεί μια παρατεταμένη και σημαντικά παρατεταμένη ενεργοποίηση του υποδοχέα-στόχου, σε σύγκριση με την ενεργοποίηση που προκαλείται από τους φυσικούς προσδέτες [193].

Η παρατεταμένη ενεργοποίηση οφείλεται πιθανώς στη στρέβλωση της δέσμευσης του υποδοχέα. Οι φυσικοί προσδέτες ενεργοποιούν τόσο το AT1R όσο και το ETAR, αλλά και τους υποδοχείς AT2R (υποδοχέας αγγειοτενσίνης τύπου 2) και ETBR (υποδοχέας ενδοθηλίνης Β), οι οποίοι βοηθούν στο αντίβαρο των κύριων υποδοχέων προκαλώντας τα αντίθετα αποτελέσματα [194]. Αντίθετα, τα AT1R-Abs και ETAR-Abs ενεργοποιούν μόνο τους κύριους υποδοχείς AT1R και ETAR, με αποτέλεσμα τη στρέβλωση της ενεργοποίησης του υποδοχέα και τη διακοπή της φυσιολογικής ομοιόστασης [195].

Όσον αφορά την παθοφυσιολογία της χρόνιας απόρριψης αλλομοσχεύματος, τα AT1R-Abs και ETAR-Abs θεωρούνται όχι μόνο βιοδείκτες αλλά και πιθανοί συντελεστές στο παθογενετικό μονοπάτι της δυσλειτουργίας του αλλομοσχεύματος [184, 185]. Ωστόσο, οι ακριβείς μηχανισμοί καθώς και η σοβαρότητα του τραυματισμού αλλομοσχεύματος που προκαλείται από AT1R-

Abs και ETAR-Abs δεν είναι σαφώς κατανοητοί. Επιπλέον, δυσλειτουργία αλλομοσχεύματος δεν παρατηρείται σε όλους τους ασθενείς με θετικά AT1R-Abs και ETAR-Abs και οι τίτλοι αντισωμάτων που σχετίζονται με την ανάπτυξη δυσλειτουργίας ποικίλλουν ευρέως μεταξύ διαφορετικών μελετών [191,196,197].

Οι πιθανοί μηχανισμοί που συμβάλλουν άμεσα στην κακή έκβαση της μεταμόσχευσης σε ασθενείς με αυτοαντισώματα αναφέρονται συνοπτικά παρακάτω: (1) Η ενισχυμένη σηματοδότηση που οδηγείται από τη δέσμευση των αυτοαντισωμάτων στον υποδοχέα της οδηγεί σε αγγειοσυστολή, ισχαιμία και σοβαρή δυσλειτουργία μικροαγγειακών οργάνων, (2) Η παρουσία AT1R-Abs και ETAR-Abs έχει επίσης συσχετιστεί με την ανάπτυξη ίνωσης σε αλλομοσχεύματα ήπατος [198]. Ομοίως, σε λήπτες μοσχεύματος νεφρού, η υψηλή έκφραση του AT1R mRNA συσχετίστηκε με νεφρική διάμεση ίνωση [199, 200], (3) ανοσολογικοί παράγοντες, όπως τα κυτταροτοξικά T-κύτταρα που εκφράζουν το AT1R και η ενεργοποίηση αυτού του υποδοχέα μετά τη δέσμευση του αυτό-αντισώματος προκαλεί τη μετανάστευση των T κυττάρων σε περιοχές τραυματισμού και λοίμωξης [201], ενώ η ενεργοποίηση του ETAR μέσω του ETAR-Abs έχει ως αποτέλεσμα τη στρατολόγηση ουδετερόφιλων [202]. Η στρατολόγηση κυττάρων του ανοσοποιητικού στο μεταμοσχευμένο όργανο οδηγεί σε έναν φαύλο κύκλο περαιτέρω ανοσολογικής ενεργοποίησης και φλεγμονής [183].

Συμπερασματικά, με δεδομένη: α) την γνώση ότι η παρουσία των AT1R-Abs και των ETAR-Abs συνιστά συντελεστή στην παθογένεση της χρόνιας απόρριψης μοσχεύματος, και άρα συνιστά βιοδείκτη για την δυσλειτουργία του αλλομοσχεύματος κατόπιν μεταμόσχευσης συμπαγών οργάνων, και β) την επιτακτική ανάγκη για την εύρεση ευαίσθητων, ειδικών, και επαναπαραγωγίμων βιοδεικτών οι οποίοι θα παρουσιάζουν ισχυρή προγνωστική αξία για την έγκαιρη διάγνωση συνδρόμων ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας που σχετίζονται με την μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων, η παρούσα πρωτότυπη διδακτορική ερευνητική μελέτη στρέφει το ερευνητικό της ενδιαφέρον στη διερεύνηση της παρουσίας αντισωμάτων έναντι της αγγειοτενσίνης II τύπου 1 (AT1R) και του υποδοχέα ενδοθηλίνης A (ETAR) με την έκβαση ασθενών με TA-MA ή/και νόσο μοσχεύματος έναντι ξενιστή

(GVHD) μετά από allo-HSCT και την σύγκριση τους με τα επίπεδα της Ang2 στον ορό, η οποία τεκμηριωμένα παρουσιάζει προγνωστική αξία σε ασθενείς με σύνδρομο ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας ύστερα από την μεταμόσχευση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων [85, 183].

### 3.2 Σκοπός της μελέτης

Σκοπός της παρούσας πρωτότυπης ερευνητικής μελέτης ήταν να εξετάσει τη συσχέτιση των επιπέδων αγγειοποιητίνης-2 (Ang2) ορού και της παρουσίας αντισωμάτων έναντι της αγγειοτενσίνης II τύπου 1 (AT1R) και του υποδοχέα ενδοθηλίνης A (ETAR) με την έκβαση ασθενών με TA-MA ή/και νόσο μοσχεύματος έναντι ξενιστή (GVHD) μετά από allo-HSCT.

### 3.3 Υλικό και Μεθοδολογία

Στην παρούσα πρωτότυπη ερευνητική μελέτη συμμετείχαν συνολικά 52 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε allo-HSCT από το 2016 έως το 2019 σε δύο διαφορετικά Κέντρα Μεταμόσχευσης Μυελού των Οστών στην Ελλάδα, και οι οποίοι διαγνώστηκαν με GVHD ή/και TA-TMA.

Για την εκπόνηση της μελέτης, οι ερευνητές είχαν ορίσει εξ αρχής πως η διάγνωση της TA-TMA βασίστηκε στα κριτήρια που προτάθηκαν από τη Διεθνή Ομάδα Εργασίας για τα κριτήρια ορισμού της TA-TMA (IWG) [20], ενώ η GVHD διαγνώστηκε και βαθμολογήθηκε σύμφωνα με τα καθιερωμένα κριτήρια του NIH [204, 205]. Δείγματα ορού συλλέχθηκαν από όλους τους ασθενείς με TA-TMA και/ή GVHD κατά τη στιγμή της διάγνωσης και αποθηκεύτηκαν στους -80 °C. Η θεραπεία του TA-TMA περιελάμβανε διακοπή της ανοσοκαταστολής, ανταλλαγή πλάσματος και/ή έγχυση πλάσματος ή χορήγηση εκουλιζουμάμπης. Η βαθμολογία EASIX κατά τη στιγμή της διάγνωσης εκτιμήθηκε για ασθενείς με TA-TMA με τη χρήση του τύπου: [(LDH x κρεατίνη)/PLT] [165].

Τέλος, η ανάλυση των επιπέδων Ang2 πραγματοποιήθηκε με ενζυμική ανοσοπροσροφητική δοκιμασία (ELISA), σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή (ABCAM PLC, Cambridge, UK). Η ποσοτικοποίηση των AT1R-Abs και ETAR-Abs προσδιορίστηκε με ELISA (CellTrend GmbH, Luckenwalde, Γερμανία). Οι οροί αραιώθηκαν κατά 1:100 και δοκιμάστηκαν σε δύο αντίγραφα. Οι συγκεντρώσεις των AT1R-Ab και ETAR-Ab προσδιορίστηκαν με πρότυπη

καμπύλη. Το όριο των  $\geq 10$  μονάδων/ml χρησιμοποιήθηκε ως «θετικό» για την παρουσία αυτοαντισωμάτων [206-208], ενώ οι ασθενείς με επίπεδα  $> 17$  μονάδες/ml θεωρήθηκαν «θετικοί με υψηλούς τίτλους». Δείγματα ορού και πλάσματος από ασθενείς που συλλέχθηκαν κατά τη στιγμή της διάγνωσης TA-TMA ή GVHD αποθηκεύτηκαν στις εγκαταστάσεις βιοτραπεζών των δύο νοσοκομείων.

Πιο αναλυτικά για την ανάλυση των επιπέδων Ang2, χρησιμοποιήθηκε το ab99971 Angiopoietin 2 Human ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) kit. Το συγκεκριμένο εργαλείο είναι μια *in vitro* ενζυμική ανοσοπροσοροφητική δοκιμασία για την ποσοτική μέτρηση της ανθρώπινης αγγειοποιητίνης 2 σε ορό, πλάσμα, υπερκείμενα κυτταροκαλλιέργειας και ούρα. Αυτή η δοκιμασία χρησιμοποιεί ένα αντίσωμα ειδικό για την ανθρώπινη αγγειοποιητίνη 2 επικαλυμμένο σε μια πλάκα 96 κοιλοτήτων.

Η χρήση του γίνεται ως εξής: Αρχικά, ο ερευνητής προετοιμάζει όλα τα αντιδραστήρια, τα δείγματα και τα πρότυπα σύμφωνα με τις οδηγίες, και προσθέτει 100μl πρότυπο ή δείγμα σε κάθε φρεάτιο. Επώαση 2,5 ωρών σε θερμοκρασία δωματίου ή κατά τη διάρκεια της νύχτας στους 4°C. Μετά, προσθέτει 100μl παρασκευασμένου αντισώματος βιοτίνης σε κάθε φρεάτιο. Επώαση 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά, προσθέτει 100μl παρασκευασμένο διάλυμα στρεπταβιδίνης. Επώαστε 45 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά, προσθέτει 100μl TMB One-Step Substrate Reagent σε κάθε φρεάτιο. Επώαζει 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Τέλος, προσθέτει 50μl Stop Solution σε κάθε φρεάτιο και διαβάζει αμέσως στα 450 nm.

Αντίστοιχα, επιστρατεύτηκε στην παρούσα μελέτη το CellTrend anti-Endothelin Receptor A-Antibody-EIA antibody screening test. Ο υποδοχέας ενδοθηλίνης A έχει επικαλυφθεί εκ των προτέρων σε μια πλάκα μικροπιλοδότησης. Κατά την πρώτη επώαση τα αντι-αντισώματα A-υποδοχέα ενδοθηλίνης των δειγμάτων ακινητοποιούνται στην πλάκα. Τα αυτοαντισώματα ανιχνεύονται με ένα αντι-ανθρώπινο αντίσωμα IgG επισημασμένο με POD. Στην ακόλουθη αντίδραση ενζυματικού υποστρώματος η ένταση του χρώματος

συσχετίζεται με τη συγκέντρωση του αντι-αντισώματος υποδοχέα αντι-ενδοθηλίνης A-αντίσωμα.

Η διαδικασία της ELISA για τα ETAR-Abs ήταν ως εξής: Αρχικά, ο ερευνητής προετοιμάζει όλα τα αντιδραστήρια, τα δείγματα και τα πρότυπα σύμφωνα με τις οδηγίες, και προσθέτει 100μl πρότυπο ή δείγμα σε κάθε φρεάτιο. Επώαση 2 ωρών σε θερμοκρασία δωματίου ή κατά τη διάρκεια της νύχτας στους 4°C. Μετά, προσθέτει 100μl παρασκευασμένου αντισώματος βιοτίνης σε κάθε φρεάτιο. Επώαση 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά, προσθέτει 100μl παρασκευασμένο διάλυμα στρεπταβιδίνης. Επώαστε 20 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά, προσθέτει 100μl TMB Stopp solution σε κάθε φρεάτιο και διαβάζει αμέσως στα 450 nm.

Τέλος, για την μέτρηση των AT1R-Abs χρησιμοποιήθηκε το CellTrend anti-Angiotensin II receptor 1-Antibody-EIA screening test. Ο υποδοχέας της αγγειοτενσίνης II έχει επικαλυφθεί εκ των προτέρων σε μια πλάκα μικροτιτλοδότησης. Κατά τη διάρκεια της πρώτης επώασης, τα αντισώματα του υποδοχέα 1-αντι-αγγειοτενσίνης II των δειγμάτων ακινητοποιούνται στο τρυβλίο. Τα αυτοαντισώματα ανιχνεύονται με ένα αντι-ανθρώπινο αντίσωμα IgG επισημασμένο με POD. Στην ακόλουθη αντίδραση ενζυματικού υποστρώματος η ένταση του χρώματος συσχετίζεται με τη συγκέντρωση του 1-αντισώματος του υποδοχέα αντι-αγγειοτενσίνης II.

Η διαδικασία της ELISA για τα AT1R-Abs ήταν ως εξής: Αρχικά, ο ερευνητής προετοιμάζει όλα τα αντιδραστήρια, τα δείγματα και τα πρότυπα σύμφωνα με τις οδηγίες, και προσθέτει 100μl πρότυπο ή δείγμα σε κάθε φρεάτιο. Επώαση 2 ωρών σε θερμοκρασία δωματίου ή κατά τη διάρκεια της νύχτας στους 4°C. Μετά, προσθέτει 100μl παρασκευασμένου αντισώματος βιοτίνης σε κάθε φρεάτιο. Επώαση 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά, προσθέτει 100μl παρασκευασμένο διάλυμα στρεπταβιδίνης. Επώαστε 20 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά, προσθέτει 100μl TMB Stopp solution σε κάθε φρεάτιο και διαβάζει αμέσως στα 450 nm.

Οι δημογραφικές πληροφορίες και τα δεδομένα πριν από τη μεταμόσχευση συλλέχθηκαν ομοιόμορφα για όλους τους ασθενείς. Για ανάλυση, οι ασθενείς χωρίστηκαν σε δύο επιμέρους κοόρτες, ανάλογα με την

παρουσία ή την απουσία TA-TMA, ως εξής: (1) Η **κοόρτη 1** αποτελούνταν από 20 διαδοχικούς ασθενείς με δείγματα κατά τη στιγμή της διάγνωσης TA-TMA, (2) Η **κοόρτη 2** περιελάμβανε 32 ασθενείς με μέτρια-σοβαρή οξεία και/ή χρόνια GVHD, που έλαβαν θεραπεία κατά την ίδια χρονική περίοδο και είχαν διαθέσιμα αποθηκευμένα δείγματα ορού. Οι δύο κοόρτες ήταν καλά ισορροπημένες για τα βασικά χαρακτηριστικά μεταμόσχευσης και νόσου, όπως το φύλο, η ηλικία, η νόσος, ο τύπος του δότη, η πηγή μοσχεύματος και το σχήμα προετοιμασίας.

### 3.4 Ηθική και Δεοντολογία της έρευνας

Καθ' όλη τη διάρκεια της διενέργειας της παρούσας ερευνητικής μελέτης τηρήθηκε απαρέγκλιτα ο Κώδικας Ηθικής και Δεοντολογίας της έρευνας σε ανθρώπους (IRB: 10992). Πιο συγκεκριμένα, του πρακτικού μέρους της διδακτορικής μελέτης είχε προηγηθεί η κατάθεση του ερευνητικού πρωτοκόλλου στην επιτροπή ηθικής και δεοντολογίας των δύο επιμέρους Κέντρων Μεταμόσχευσης Μυελού των Οστών και οι ερευνητές είχαν λάβει έγκριση για την διενέργεια της παρούσας μελέτης.

Επιπρόσθετα, το πρωτόκολλο της μελέτης είχε κατατεθεί στο Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών στο τμήμα ιατρικής σχολής από όπου έλαβε έγκριση. Τέλος, όλοι οι ασθενείς οι οποίοι συμπεριλήφθηκαν στην παρούσα μελέτη συμμετείχαν αφού είχε προηγηθεί προφορική ενημέρωση σχετικά με την έρευνα, με το ότι θα πραγματοποιηθεί συλλογή των επιμέρους στοιχείων τους ανώνυμα, και είχαν δώσει γραπτή συναίνεση και συγκατάθεση για την συμμετοχή τους. Καθ' όλη την διάρκεια της έρευνας οι ασθενείς είχαν κάθε δικαίωμα να αποσυρθούν εάν το επιθυμούσαν χωρίς περιορισμούς, και διατηρήθηκε απόλυτα η ανωνυμία τους.

### 3.5 Στατιστική Ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του στατιστικού λογισμικού easy-R και Medcalc [203]. Η στατιστική ανάλυση στόχευε στον εντοπισμό παραγόντων πριν από τη θεραπεία που σχετίζονται με NRM σε ασθενείς με TA-TMA και/ή GVHD μετά από allo-HSCT και στην εκτίμηση του ποσοστού των ασθενών που βρέθηκαν θετικοί για την παρουσία αυτοαντισωμάτων έναντι AT1R και ETAR. Η συνολική επιβίωση (OS) ορίστηκε ως ο χρόνος από τη μεταμόσχευση έως την τελευταία παρακολούθηση ή



θάνατο λόγω οποιασδήποτε αιτίας, ενώ η NRM ορίστηκε ως ο χρόνος από τη μεταμόσχευση έως την τελευταία παρακολούθηση ή θάνατο λόγω οποιασδήποτε αιτίας σε ασθενείς χωρίς νόσο.

Οι κατηγορικές μεταβλητές μεταξύ των ομάδων συγκρίθηκαν χρησιμοποιώντας το ακριβές τεστ δύο όψεων του Fisher. Χρησιμοποιήθηκε ανταγωνιστική ανάλυση κινδύνου για την εκτίμηση της σωρευτικής επίπτωσης της NRM. Το Gray's test χρησιμοποιήθηκε για μονομεταβλητή ανάλυση GVHD και NRM, ενώ το μοντέλο παλινδρόμησης αναλογικών κινδύνων Fine και Gray χρησιμοποιήθηκε για πολυμεταβλητή ανάλυση.

Οι ακόλουθες μεταβλητές που εισάγονται στο μοντέλο πολυμεταβλητής ανάλυσης είναι: (1) Ηλικία κατά τη στιγμή του allo-SCT (πάνω έναντι κάτω από τη διάμεση τιμή), (2) Φύλο (αρσενικό έναντι θηλυκού), (3) Παρουσία TA-TMA (ναι έναντι όχι), (4) Επίπεδα Ang2 στον ορό (πάνω έναντι κάτω από τη διάμεση τιμή), (5) Παρουσία Abs έναντι AT1R και ETAR (ναι έναντι όχι), (6) βαθμολογία EASIX (πάνω έναντι κάτω από τη διάμεση τιμή). Πραγματοποιήθηκε ανάλυση καμπύλης χαρακτηριστικών λειτουργίας δέκτη (ROC) προκειμένου να προσδιοριστεί η προγνωστική ακρίβεια των τίτλων anti-AT1R-Abs για τη διάγνωση συγκεκριμένων εκδηλώσεων GVHD.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### 4.1 Χαρακτηριστικά των ασθενών

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή, οι ασθενείς χωρίστηκαν σε δύο επιμέρους κούρτες, ανάλογα με την παρουσία ή την απουσία ΤΑ-ΤΜΑ, ως εξής: (1) Η **κούρτη 1** αποτελούνταν από 20 διαδοχικούς ασθενείς με δείγματα κατά τη στιγμή της διάγνωσης ΤΑ-ΤΜΑ, (2) Η **κούρτη 2** περιελάμβανε 32 ασθενείς με μέτρια-σοβαρή οξεία και/ή χρόνια GVHD, που έλαβαν θεραπεία κατά την ίδια χρονική περίοδο και είχαν διαθέσιμα αποθηκευμένα δείγματα ορού.

Οι δύο κούρτες ήταν καλά ισορροπημένες για τα βασικά χαρακτηριστικά μεταμόσχευσης και νόσου, όπως το φύλο, η ηλικία, η νόσος, ο τύπος του δότη, η πηγή μοσχεύματος και το σχήμα προετοιμασίας, όπως απεικονίζεται σχηματικά στον ***Πίνακα 4***.

**Πίνακας 4:** Χαρακτηριστικά ασθενών στις επιμέρους κοόρτες της μελέτης

Κοόρτες (1&2)	TA-TMA N=20	GVHD χωρίς TA-TMA N=32	Στατιστικά δεδομένα
<b>Φύλο</b> (Άρρεν/Θήλυ)	13/7	16/16	$p = n.s$
<b>Ηλικία</b> , μέση τιμή (εύρος)	49.5 years, (35–65)	53.5 years, (27–68)	$p = n.s$
<b>Νόσος (%)</b>			
AML	10/20	17/32	$p = n.s$
MDS	3/20	3/32	
ALL	5/20	6/32	
MPN	2/20	5/32	
CLL		1/32	
<b>Δότης</b>			
MUD	11/20	12/32	$p = n.s$
MMUD	5/20	8/32	
MRD	4/20	12/32	
<b>Πηγή Μοσχεύματος</b> PBSC	20/20	32/32	$p = n.s$
<b>Θεραπεία προετοιμασίας</b>			
MAC	14/20	21/32	$p = n.s$
RIC	6/20	11/32	
<b>GVHD</b>			
Moderate Chronic	1/20	11/32	$p = n.s$
Severe Chronic	1/20	13/32	
Acute (grade-II)	9/20	12/32	
Severe Acute (III-IV)	5/20	8/32	
<b>Κλινική έκβαση **</b>			
Alive in CR	8/20	18/32	$p = n.s$
Dead	12/20	14/32	
Cause of Death	1/20	5/32	
Relapse	10/20	NA	
TMA	1/20	9/32	
NRM <sup>§</sup>			

\* TMA: Η κοόρτη 1 αποτελούνταν από 20 ασθενείς με TMA με ή χωρίς GVHD, η κοόρτη 2 αποτελούνταν από 32 ασθενείς με GVHD χωρίς TMA, \*\* κατά τον χρόνο της τελευταίας παρακολούθησης, AML: οξεία μυελογενής λευχαιμία, MDS: μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο, ALL: οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία, MPN: μυελοπολλαπλασιαστικό νεόπλασμα, CLL: χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία, MUD: συμβατός μη συγγενής δότης, MMUD: μη-συμβατός μη-συγγενής δότης, MRD: συμβατός συγγενής δότης, PBSC:

αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα περιφερικού αίματος, MAC: μυελοαφανιστικό σχήμα προετοιμασίας, RIC: σχήμα προετοιμασίας μειωμένης έντασης, & NRM: θνητότητα μη-σχετιζόμενη με υποτροπή της βασικής νόσου.

Αναλυτικότερα, η κοόρτη 1 αποτελούνταν από 13 άνδρες και 7 γυναίκες με μέση ηλικία κατά τη στιγμή της μεταμόσχευσης τα 49 έτη (εύρος, 35–65). Η διάγνωση της TA-TMA τεκμηριώθηκε σε μέσο διάστημα 80 ημερών μετά την έγχυση μοσχεύματος (εύρος, 45–740). Η TA-TMA αναπτύχθηκε στο πλαίσιο ταυτόχρονης οξείας και χρόνιας GVHD σε 14 και 2 ασθενείς, αντίστοιχα, ενώ σε 4 ασθενείς η TA-TMA διαγνώστηκε απουσία GVHD. Η κυκλοσπορίνη μειώθηκε ή διακόπηκε σε όλους τους ασθενείς κατά τη στιγμή της διάγνωσης της TA-TMA. Πλασμαφαίρεση και/ή έγχυση πλάσματος χρειάστηκε σε 8 και 5 ασθενείς, αντίστοιχα, ενώ 7 ασθενείς έλαβαν θεραπεία με eculizumab. Η TA-TMA υποχώρησε σε 10 από τους 20 ασθενείς, ενώ 10 ασθενείς είχαν ανθεκτική νόσο και πέθαναν από αιτίες που σχετίζονται άμεσα με την TA-TMA. Ένας ασθενής με οξεία μυελογενή λευχαιμία (AML) πέθανε λόγω υποτροπής λευχαιμίας, ενώ ένας άλλος ασθενής με μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο (MDS) σε πλήρη ύφεση πέθανε από λοίμωξη. Πλήρης ύφεση επιτεύχθηκε σε 4 από τους 7 ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με eculizumab και το φάρμακο διακόπηκε επιτυχώς σε όλες τις περιπτώσεις.

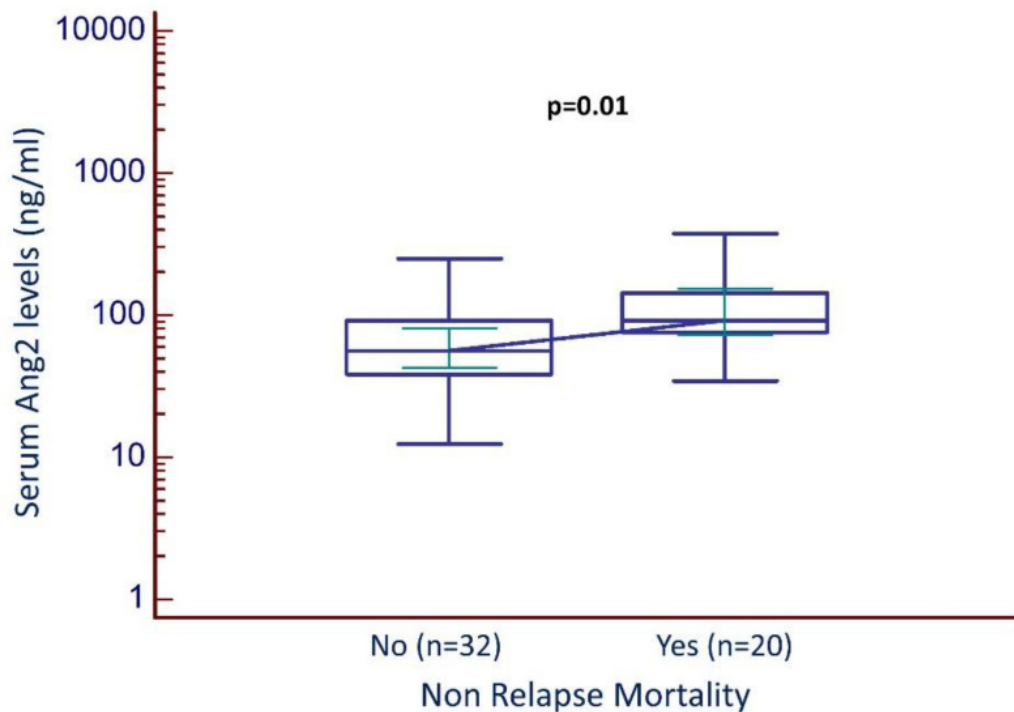
Η κοόρτη 2 αποτελούνταν από 16 άνδρες και 16 γυναίκες με μέση ηλικία κατά τη στιγμή της μεταμόσχευσης τα 53 έτη (27–68 χρόνων σε εύρος). Σοβαρή οξεία GVHD βαθμού III-IV και σοβαρή χρόνια GVHD αναπτύχθηκαν σε 8 και 13 ασθενείς, αντίστοιχα. Η TMA δεν αναπτύχθηκε σε κανέναν από τους ασθενείς στην Κοόρτη 2 κατά τη διάρκεια της πορείας τους μετά τη μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων.

## 4.2 Επίπεδα Ang2 ορού και αυτο-αντισώματα έναντι AT1R και ETAR

Δεν υπήρξε διαφορά στα επίπεδα Ang2 ορού μεταξύ ασθενών με TA-TMA (μέση τιμή 86 ng/mL, 95% CI, 48–150) και ασθενών με GVHD (μέση τιμή

73 ng/mL, 95% CI, 48–85) (Κοόρτη 1 έναντι 2,  $p = 0,2$ ) κατά τη στιγμή της διάγνωσης TA-TMA ή GVHD.

Ωστόσο, στο σύνολο του πληθυσμού των ασθενών (Κοόρτη 1 και 2), τα επίπεδα Ang2 στον ορό ήταν σημαντικά υψηλότερα στην ομάδα των ασθενών που πέθαναν από επιπλοκές σχετιζόμενες με μεταμόσχευση κατά τη διάρκεια της περιόδου παρακολούθησης. Πιο συγκεκριμένα, η μέση τιμή της Ang2 ορού ήταν 91,6 ng/ml (95% CI, 73–152) σε ασθενείς που απεβίωσαν έναντι 56,1 ng/ml (95% CI, 43–81) στην ομάδα των ασθενών που παρέμειναν ζωντανοί κατά τη διάρκεια της περιόδου παρακολούθησης, ( $p = 0,01$ ) (**Εικόνα 3**).

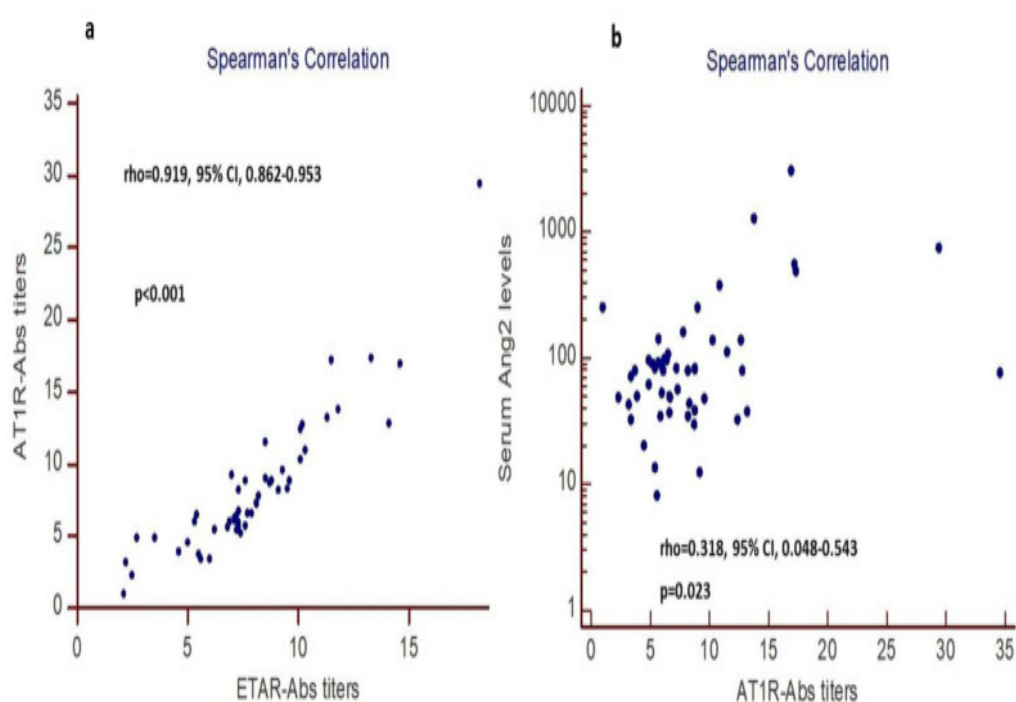


**Εικόνα 3:** Επίπεδα Ang2 ορού και συσχέτιση με θνησιμότητα από μη-υποτροπή νόσου για τους ασθενείς και των δύο κοορτών.

Συνολικά, 14 από τους 52 (27%) ασθενείς είχαν τίτλους AT1R-Abs άνω των 10 IU/mL, ενώ 12 από τους 52 (23%) είχαν τίτλους ETAR-Abs άνω των 10 IU/ml και ως εκ τούτου θεωρήθηκαν θετικοί για την παρουσία AT1R-Abs και ETAR-Abs, αντίστοιχα. Υψηλοί τίτλοι AT1R-Abs και ETAR-Abs (που ορίζονται ως τίτλοι άνω των 17 IU/ml) ανιχνεύθηκαν σε 5 (9,6%) και 3 (5,7%) από 52 ασθενείς, αντίστοιχα. Στην Κοόρτη 1 (TMA), 6 στους 20 (30%) ασθενείς ήταν θετικοί για την παρουσία τόσο AT1R-Abs όσο και ETAR-Abs. Στην Κοόρτη 2

(GVHD), 8 από τους 32 (25%) και 6 από τους 32 (19%) ασθενείς ήταν θετικοί για την παρουσία AT1R-Abs και ETAR-Abs, αντίστοιχα. Δεν υπήρξε στατιστική διαφορά στα ποσοστά των θετικών ασθενών AT1R-Abs και ETAR-Abs μεταξύ των κοορτών 1 και 2.

Η Spearman's rank analysis στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ των υψηλών τίτλων AT1R-Abs και των επιπέδων των ETAR-Abs ( $\rho = 0.919$ , 95% CI, 0.862–0.953),  $p < 0.001$ , (**Εικόνα 4α**). Ακόμη, η Spearman's rank analysis αποκάλυψε σημαντική συσχέτιση μεταξύ των τίτλων AT1R-Abs και των επιπέδων Ang2 ορού ( $\rho = 0.318$ , 95% CI, 0.048–0.543),  $p = 0.023$ , (**Εικόνα 4β**).



**Εικόνα 4:** Spearman' rank analysis ( $n = 52$  ασθενείς): (α) θετική συσχέτιση μεταξύ τίτλων AT1R-Abs και ETAR-Abs (ασθενείς με υψηλό AT1R-Abs έχουν επίσης υψηλούς τίτλους ETAR-Abs), β) θετική συσχέτιση μεταξύ τίτλων AT1R-Abs και επιπέδων Ang2 ορού (ασθενείς με υψηλούς τίτλους AT1R-Abs έχουν επίσης υψηλά επίπεδα Ang2 ορού).

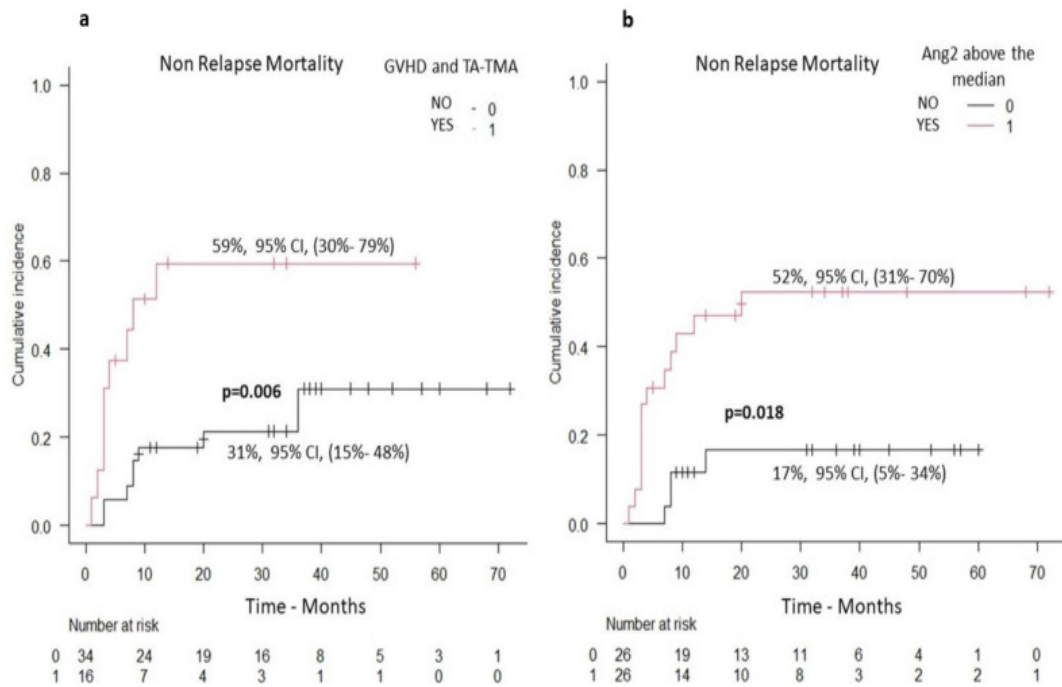
### 4.3 Θνητότητα Μη-σχετιζόμενη με υποτροπή της νόσου (NRM)

Η αθροιστική επίπτωση της μη-σχετιζόμενης με υποτροπή της νόσου θνησιμότητας (NRM) για το σύνολο των συμμετεχόντων ασθενών στα 5 έτη

ήταν 56% (95% CI, 26–78%). Στην πολυπαραγοντική ανάλυση, οι μόνες παράμετροι που σχετίζονται με την NRM ήταν τα επίπεδα ορού Ang2 και η διάγνωση TA-TMA στο πλαίσιο της GVHD (**Πίνακας 5**). Οι ασθενείς με GVHD και TA-TMA είχαν σημαντικά υψηλότερη πιθανότητα NRM (59%, 95% CI, 29–74%), σε σύγκριση με τους ασθενείς με GVHD απουσία TA-TMA (31%, 95% CI, 15–48%),  $p = 0,006$ , (**Εικόνα 5α**). Οι ασθενείς με υψηλά επίπεδα Ang2 στον ορό πάνω από τη μέση τιμή είχαν σημαντικά υψηλότερη πιθανότητα NRM (52%, 95% CI, 31–70%), σε σύγκριση με εκείνους με επίπεδα Ang2 στον ορό κάτω από τη διάμεση τιμή (17%, 95% CI, 5–34%),  $p = 0,01$ , (**Εικόνα 5β**).

**Πίνακας 5:** Πολυπαραγοντική Ανάλυση της μη-σχετιζόμενης με υποτροπή της νόσου θνησιμότητας (NRM)

Παράμετρος	Hazard Ratio	95% CI	Στατιστική Σημαντικότητα
Όλοι οι ασθενείς της μελέτης (Κοόρτη 1 και 2)			
Ang2 ορού (άνωθεν έναντι χαμηλότερα της μέσης τιμής)	3.298	1.168–9.307	$p = 0.024$
TA-TMA και GVHD έναντι GVHD επί απουσία TA-TMA	2.916	1.133–7.506	$p = 0.026$
Ασθενείς με TA-TMA (Κοόρτη 1)			
Ang2 ορού (άνωθεν έναντι χαμηλότερα της μέσης τιμής)	7.859	1.296–47.650	$p = 0.025$



**Εικόνα 5:** NRM (n = 52 ασθενείς): (α) ασθενείς με TA-TMA και ταυτόχρονη GVHD έναντι ασθενών με GVHD απουσία TA-TMA (αυξημένη NRM στην ομάδα ασθενών με TA-TMA και ταυτόχρονη GVHD), (β) ασθενείς με επίπεδα Ang2 ορού πάνω έναντι κάτω από τη διάμεση τιμή (αυξημένη NRM στην ομάδα ασθενών με επίπεδα Ang2 ορού πάνω από τη διάμεση τιμή).

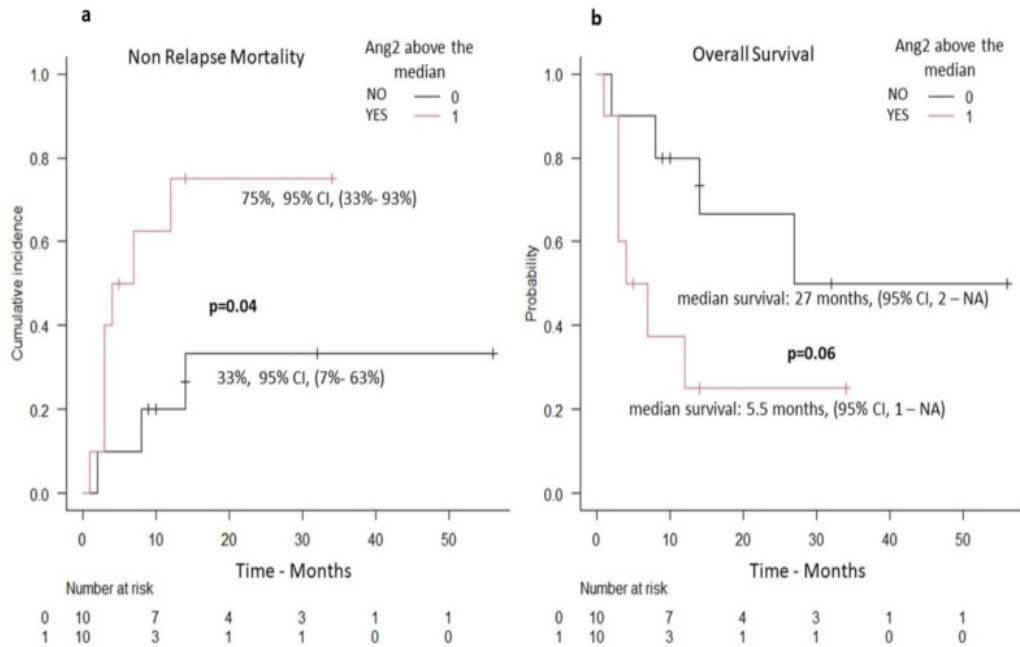
#### 4.4 Έκβαση ασθενών με TA-TMA

Για τους ασθενείς με TA-TMA, η μέση συνολική επιβίωση ήταν 32 μήνες, ενώ η αθροιστική επίπτωση NRM και OS στα 5 έτη ήταν 54% (95% CI, 29–74%) και 36% (95% CI, 11–61%), αντίστοιχα. Στην πολυπαραγοντική ανάλυση, η μόνη παράμετρος που σχετίζεται με την NRM σε αυτούς τους ασθενείς ήταν τα επίπεδα της Ang2 στον ορό.

Η αθροιστική επίπτωση της NRM στην ομάδα των ασθενών με επίπεδα Ang2 στον ορό πάνω από τη μέση τιμή (75%, 95% CI, 33–93%) ήταν σημαντικά αυξημένη σε σύγκριση με την αθροιστική επίπτωση της NRM σε ασθενείς με επίπεδα Ang2 στον ορό κάτω από τη μέση τιμή (33%, 95% CI, 7–63%),  $p = 0,04$ , (**Εικόνα 6α**). Οι ασθενείς με επίπεδα Ang2 στον ορό κάτω από τη μέση τιμή είχαν σημαντική τάση για υψηλότερη OS σε σύγκριση με την ομάδα των



ασθενών με επίπεδα Ang2 στον ορό πάνω από τη μέση τιμή (**Εικόνα 6β**). Η βαθμολογία EASIX δεν συσχετίστηκε στατιστικά με την NRM στην ομάδα των ασθενών με TA-TMA.



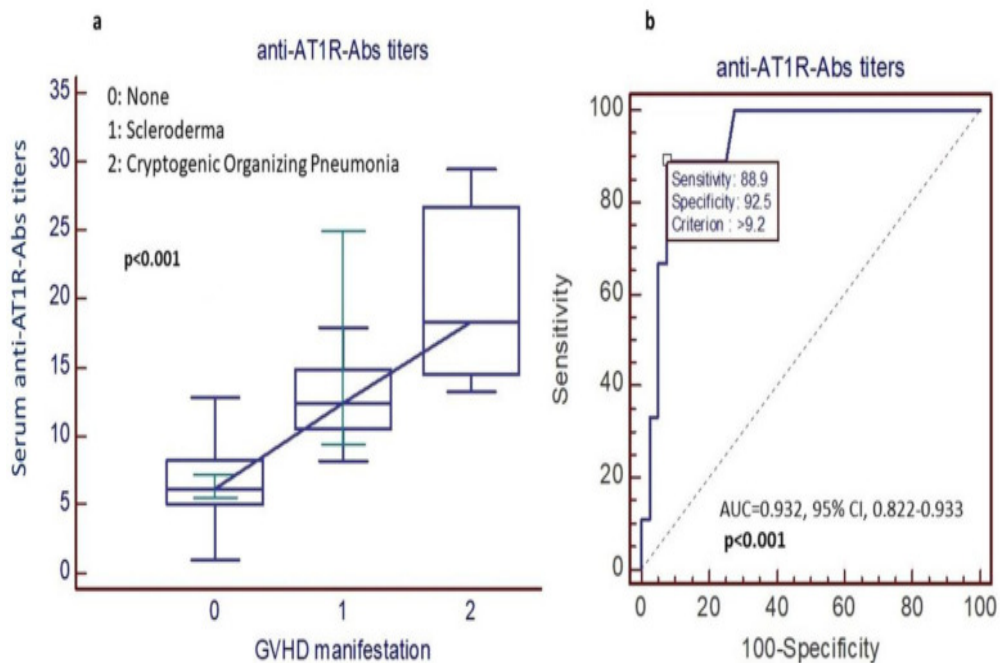
**Εικόνα 6:** Ασθενείς με TA-TMA και υψηλή τιμή Ang2 ορού (n = 20 ασθενείς): **(α)** θνησιμότητα από μη υποτροπή (αυξημένη NRM στην ομάδα ασθενών με Ang2 ορού πάνω από τη μέση τιμή), **(β)** συνολική επιβίωση (μειωμένη OS στην ομάδα ασθενών με Ang2 ορού πάνω από τη μέση τιμή).

#### 4.5 Παρουσία αυτο-αντισωμάτων έναντι AT1R και GVHD-κλινικές εκδηλώσεις

Συνολικά, 48 ασθενείς έπασχαν από GVHD (16 ασθενείς από την Κοόρτη 1 και 32 ασθενείς από την Κοόρτη 2). Δώδεκα από τους 48 ασθενείς είχαν χρόνια GVHD σχετιζόμενη με ινωτικές εκδηλώσεις (9 ασθενείς με σκληρόδερμα και 3 ασθενείς με κρυπτογενή οργανούμενη πνευμονία). 11 από τους 12 ασθενείς με χρόνια ινωτική GVHD βρέθηκαν θετικοί για την παρουσία AT1R-Abs, ενώ μεταξύ της ομάδας των 36 ασθενών χωρίς ινωτικό GVHD, μόνο 3 βρέθηκαν θετικοί για AT1R-Abs ( $p < 0,001$ ). Αναλυτικότερα, 3 στους 3 ασθενείς με κρυπτογενή οργανωτική πνευμονία (COP), 8 στους 9 ασθενείς με σκληροδερματώδη χρόνια-GVHD και μόνο 3 στους 36 ασθενείς χωρίς σκληρόδερμα ή/και COP ήταν θετικοί για την παρουσία AT1R-Abs (**Εικόνα 7α**).

Παρόμοια ευρήματα παρατηρήθηκαν όταν η ανάλυση πραγματοποιήθηκε μόνο για ασθενείς με θετικότητα AT1R-Abs υψηλού τίτλου. Πιο συγκεκριμένα, 5 στους 12 (42%) ασθενείς με χρόνια ινωτική GVHD ήταν θετικοί για την παρουσία AT1R-Abs, ενώ μόνο 1 στους 36 (1,8%) χωρίς ινωτικό GVHD ήταν θετικός για AT1R-Abs υψηλού τίτλου ( $p < 0,001$ ).

Η Receiver operating characteristic curve analysis (ROC) έδειξε ότι οι τίτλοι AT1R-Abs άνω των 9,2 IU/mL είχαν 89% ευαισθησία και 92% ειδικότητα για τη διάγνωση είτε της χρόνιας σκληροδερματώδους GVHD είτε της COP μετά από αλλο-SCT (AUC = 0,932, 95% CI, 0,822–0,933,  $p < 0,001$ ), (**Εικόνα 7β**).



**Εικόνα 7:** α) AT1R-Abs και χρόνια GVHD με ινωτικές εκδηλώσεις (9 ασθενείς με σκληρόδερμα και 3 ασθενείς με COP έχουν υψηλότερους τίτλους AT1R-Abs σε σύγκριση με ασθενείς χωρίς ινωτικές εκδηλώσεις GVHD), β) η προγνωστική αξία της παρουσίας AT1R-Abs.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΣΥΖΗΤΗΣΗ

### 5.1 Εκτίμηση των ευρημάτων της μελέτης και σύγκριση με βιβλιογραφία

Ολοένα και περισσότερα αναδυόμενα στοιχεία που δημοσιεύονται υπό την μορφή ερευνητικών εργασιών στην διεθνή βιβλιογραφία υποστηρίζουν το ρόλο των συνδρόμων ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας στην παθογένεση των μη-λοιμωδών επιπλοκών που σχετίζονται με το μόσχευμα, συμβάλλοντας στην αυξημένη νοσηρότητα και θνησιμότητα που σημειώνεται σε αιματολογικούς ασθενείς μετά από allo-HSCT [85].

Σε αυτή τη βάση, μια σειρά από ερευνητικές μελέτες έχουν διερευνήσει τη σημασία και τη συμβολή διαφόρων αγγειογενετικών παραγόντων, όπως ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (VEGF) και η αγγειοποιητίνη II (Ang2), στην ανάπτυξη τέτοιων επιπλοκών, σε συνάρτηση πάντα με τη συσχέτισή τους με την κλινική έκβαση των ασθενών.

Πιο συγκεκριμένα, οι Luft et al., [209] περιέγραψαν υψηλή αναλογία VEGF/Ang2 σε ασθενείς με ανθεκτικό στα στεροειδή GnHD, σε σύγκριση με εκείνους με ευαίσθητη νόσο, ενώ οι Porkholm et al., ανέφεραν συσχέτιση των υψηλών επιπέδων Ang2 πριν και μετά τη μεταμόσχευση με τη συχνότητα εμφάνισης εντερικής GnHD και δέρματος/ήπατος [210]. Τέλος, οι Ueda et al., υποστήριξαν επίσης την ισχυρή προγνωστική αξία των επιπέδων Ang2 στον ορό για επιπλοκές της allo-HSCT, οι οποίες σχετίζονται με βλάβη ενδοθηλιακών κυττάρων και υποτροπή λευχαιμίας [211].

Στην παρούσα πρωτότυπη διδακτορική μελέτη, εξετάστηκαν τα επίπεδα Ang2 στον ορό, σε ασθενείς με TA-TMA (κοόρτη 1) και σε εκείνους με οξεία ή χρόνια GnHD (κοόρτη 2). Η μελέτη δεν εντόπισε σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο κατά τη στιγμή της διάγνωσης. Αυτό μπορεί να αποδοθεί στο γεγονός ότι η πλειοψηφία των ασθενών στην Κοόρτη 1 είχαν συνυπάρχουσα GnHD, η οποία είναι γνωστό ότι σχετίζεται με υψηλά επίπεδα Ang2 [212].

Είναι, ωστόσο, ενδιαφέρον ότι τα υψηλότερα επίπεδα Ang2 βρέθηκαν να συσχετίζονται με βραχύτερη OS, γεγονός που συνάδει με προηγούμενες αναφορές, τεκμηριώνοντας σημαντικά χαμηλότερη OS 5 ετών σε ασθενείς με

υψηλά επίπεδα Ang-2 [210]. Επιπλέον, στην πολυπαραγοντική ανάλυση, τα επίπεδα Ang2 και η διάγνωση TA-TMA βρέθηκαν να είναι οι μόνες παράμετροι που προβλέπουν υψηλό NRM, το οποίο είναι και πάλι συνεπές με ευρήματα προηγούμενων ερευνών [210].

Είναι ενδιαφέρον ότι η πολυπαραγοντική ανάλυση στην ομάδα των ασθενών με TA-TMA έδειξε ότι η μόνη παράμετρος που σχετίζεται με αυξημένη NRM ήταν η αύξηση των επιπέδων Ang2 στον ορό κατά τη στιγμή της διάγνωσης. Εξ όσων γνωρίζουμε, αυτή είναι η πρώτη μελέτη που δείχνει ότι τα επίπεδα Ang2 στον ορό μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως προγνωστικός βιοδείκτης για την έκβαση ασθενών με TA-TMA.

Η συμβολή των μη-HLA αυτοαντισωμάτων, και ιδιαίτερα των AT1R- και ETAR-Abs, στην ανάπτυξη αγγειακής φλεγμονής και απόρριψης μοσχεύματος μετά από μεταμόσχευση συμπαγών οργάνων έχει τεκμηριωθεί [184,213-215]. Ωστόσο, δεν υπάρχουν πληροφορίες σχετικά με την επίδραση τέτοιων αντισωμάτων στο πλαίσιο της allo-HSCT. Μοναδική εξαίρεση είναι μία μελέτη 3 ασθενών που υποβλήθηκαν σε allo-HSCT, βρέθηκαν να έχουν αυξημένο τίτλο AT1R-Abs και κλινικά παρουσίαζαν ανθεκτική υπέρταση (3/3) και διάρροια (2/3) [206]. Είναι ενδιαφέρον ότι η εισαγωγή ενός αναστολέα υποδοχέων αγγειοτενσίνης σε αυτούς τους ασθενείς οδήγησε σε επίλυση των συμπτωμάτων, υποδηλώνοντας έναν πιθανό παθογενετικό ρόλο για το AT1R-Abs.

Επιπρόσθετα, αυτή είναι η πρώτη μελέτη, εξ όσων γνωρίζουμε, που διερευνά την παρουσία των AT1R-Abs και ETAR-Abs στο πλαίσιο της allo-HSCT και διερευνά την πιθανή συσχέτιση αυτών των αντισωμάτων με την ανάπτυξη και την έκβαση του TA-TMA ή/και του GvHD στους μεταμοσχευθέντες ασθενείς. Τα αποτελέσματά μας έδειξαν ότι το 9,6% και το 5,7% των ασθενών είχαν υψηλούς τίτλους (>17 μονάδες/mL) AT1R-Abs και ETAR-Abs, αντίστοιχα. Αξίζει να σημειωθεί ότι διαφορετικά επίπεδα αντισωμάτων έχουν χρησιμοποιηθεί από διαφορετικές μελέτες [206-208, 216, 217], καθιστώντας δύσκολη την ερμηνεία και τη σύγκριση αποτελεσμάτων από διαφορετικές μελέτες.

Ωστόσο, το όριο τιμής >10 μονάδων/ml έχει υιοθετηθεί από την πλειονότητα των μελετών [206-208, 216, 217], και είναι η ίδια που χρησιμοποιήσαμε και στη μελέτη μας, ενώ το όριο των >17 μονάδων/ml χρησιμοποιήθηκε για τον ορισμό των ασθενών με «υψηλό τίτλο».

Στην παρούσα διδακτορική μελέτη εντοπίστηκε επίσης μια θετική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων AT1R-Abs και ETAR-Abs και AT1R-Abs και εκείνων της Ang2. Μια παρόμοια συσχέτιση μεταξύ ETAR-Abs και AT1R-Abs έχει περιγραφεί σε μια παιδιατρική κοόρτη μεταμόσχευσης νεφρού, προκαλώντας παρακολούθηση τέτοιων αντισωμάτων, εκτός από τα ειδικά αντισώματα του δότη HLA, για να επιτρέψει στοχευμένες θεραπείες [216].

Ακόμη, παρατηρήθηκε ότι σημαντικά υψηλότερο ποσοστό ασθενών με ινωτική χρόνια GnHD είχαν υψηλά επίπεδα τίτλου AT1R-Abs, σε σύγκριση με εκείνους χωρίς ινωτικό GnHD (42% έναντι 2,5%,  $p = 0,001$ ). Αυτό μπορεί να εξηγηθεί από το γεγονός ότι το βιομόριο AT1R έχει εμπλακεί στον πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών και στην παραγωγή κολλαγόνου και στην επιτάχυνση της φλεγμονώδους κυτταρικής διήθησης [218]. Επιπλέον, η ενεργοποίηση του AT1R έχει εμπλακεί στην παθογένεση της πνευμονικής και ηπατικής ίνωσης, καθώς και στην ίνωση της χρόνιας-GnHD σε ένα μοντέλο χρόνιας-GnHD ποντικού [219, 220]. Τα αυξημένα AT1R-Abs και ETAR-Abs έχουν επίσης συσχετιστεί με μικροαγγειοπάθεια και απώλεια αλλομοσχεύματος σε μεταμόσχευση καρδιάς, πνευμόνων, ήπατος και πολλαπλών σπλαχνικών [216].

Τέλος, η παρούσα διδακτορική μελέτη, δείχνει για πρώτη φορά ότι τα AT1R-Abs έχουν θετική διαγνωστική ικανότητα με υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα για την ανάπτυξη σκληροδερματώδους GnHD ή/και COP μετά από allo-HSCT. Αυτή, πάλι, είναι η πρώτη φορά, εξ όσων γνωρίζουμε, που περιγράφεται ένας τέτοιος συσχετισμός, προκαλώντας περαιτέρω έρευνα.

## 5.2 Περιορισμοί της μελέτης

Παρά τα πολύ ελπιδοφόρα αποτελέσματα, η μελέτη μας φέρει σημαντικούς περιορισμούς, όπως: (i) ο αναδρομικός χαρακτήρας των δεδομένων μας, (ii) το περιορισμένο μέγεθος δείγματος, που καθιστά άμεσα

περιορισμούς στην συμπερίληψη πρόσθετων παραγόντων σε πολυμεταβλητές αναλύσεις, (iii) η απουσία ομάδας κούρτης ελέγχου (όπως υγιή άτομα ή ασθενείς με allo-HSCT χωρίς TA-TMA ή GvHD) και (iv) η έλλειψη σειριακής συλλογής δείγματος σε διαφορετικά χρονικά σημεία κατά τη διάρκεια της πορείας της νόσου.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Είναι γνωστό ότι το αγγειακό ενδοθήλιο είναι βασικός παράγοντας στη διατήρηση της φυσιολογικής ομοιόστασης του οργανισμού, ρυθμίζοντας τη ροή του αίματος, την διαπερατότητα των τριχοειδών αγγείων, την πήξη του αίματος και τη φλεγμονώδη απόκριση. Η διενέργεια allo-HSCT, λόγω πληθώρας αιτιολογικών παραγόντων αυξάνει σημαντικά τον κίνδυνο πρόκλησης συνδρόμου ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας σε αιματολογικούς ασθενείς οι οποίοι υποβάλλονται σε αυτή τη θεραπευτική διαδικασία είτε για κάποιο κακόηθες είτε για κάποιο μη-κακόηθες νόσημα.

Τα επιμέρους σύνδρομα ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας τα οποία μπορεί να προκύψουν αποτελούν σημαντικούς παράγοντες νοσηρότητας και θνητότητας των αιματολογικών ασθενών. Ως εκ τούτου η δυνατότητα πρόγνωσης και έγκυρης διάγνωσης συνδρόμων ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας καθώς και άλλων επιπλοκών της allo-HSCT είναι ακρογωνιαίους λίθος της θεραπευτικής τους αντιμετώπισης.

Επί του παρόντος, δεν υπάρχει ιδανικός βιοδείκτης με επαρκή ευαισθησία και ειδικότητα για την έγκαιρη διάγνωση του συνόλου των ενδοθηλιακών επιπλοκών μετά τη μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων. Ως εκ τούτο ολοένα και περισσότερες μελλοντικές μελέτες θα πρέπει να επικεντρωθούν στον εντοπισμό ειδικών βιοδεικτών για την έγκαιρη διάγνωση συνδρόμων που σχετίζονται με ενδοθηλιακή δυσλειτουργία μετά τη μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων. Η κατανόηση της παθοφυσιολογικής διαδικασίας που μεσολαβεί στην ενδοθηλιακή βλάβη μετά από μεταμόσχευση αιμοποιητικών βλαστικών κυττάρων θα είναι θεμελιώδους σημασίας για το σχεδιασμό αποτελεσματικών θεραπευτικών παρεμβάσεων και για την πρόληψη επιπλοκών που σχετίζονται με τη μεταμόσχευση.

Η παρούσα πρωτότυπη ερευνητική μελέτη επιχείρησε να εξετάσει για πρώτη φορά τη συσχέτιση των επιπέδων αγγειοποιητίνης-2 (Ang2) ορού και της παρουσίας αντισωμάτων έναντι της αγγειοτενσίνης II τύπου 1 (AT1R) και του υποδοχέα ενδοθηλίνης A (ETAR) με την έκβαση ασθενών με TA-MA ή/και νόσο μοσχεύματος έναντι ξενιστή (GVHD) μετά από allo-HSCT.

Αντισώματα έναντι των AT1R (AT1R-Abs) και ETAR (ETAR-Abs) ανιχνεύθηκαν στο 27% και 23% των ασθενών, αντίστοιχα, αλλά δεν υπήρξε συσχέτιση μεταξύ της παρουσίας αυτοαντισωμάτων και της έκβασης των ασθενών με TA-TMA. Ωστόσο, σημαντικό εύρημα ήταν η ισχυρή θετική συσχέτιση της παρουσίας AT1R-Abs με την εμφάνιση χρόνιων ινωτικών GVHD, όπως σκληρόδερμα και κρυπτογενής οργανούμενη πνευμονία, αυξάνοντας την πιθανότητα συμβολής αυτοαντισωμάτων στην παθογένεση ινωτικών εκδηλώσεων GVHD.

Εν κατακλείδι, για πρώτη φορά υποδεικνύεται μέσω εργαστηριακής τεκμηρίωσης η συσχέτιση μεταξύ αυξημένων επιπέδων Ang2 και δυσμενών κλινικών εκβάσεων (βραχύτερη OS και υψηλότερη NRM) σε ασθενείς με TA-TMA ύστερα από allo-HSCT. Το πιο ενδιαφέρον είναι ότι τα αυξημένα επίπεδα AT1R-Abs βρέθηκαν να συσχετίζονται θετικά με την εμφάνιση ινωτικής χρόνιας GvHD μετά από allo-HSCT, γεγονός που υποδηλώνει ότι ο έλεγχος για αυτά τα αντισώματα μπορεί να έχει κλινική χρησιμότητα. Το παρόν είναι εξαιρετικά κρίσιμο, καθώς πλέον υπάρχουν διαθέσιμοι πολλαπλοί παράγοντες αποκλεισμού των υποδοχέων αγγειοτενσίνης και της ενδοθηλίνης A. Ωστόσο, είναι σαφές ότι απαιτούνται μεγαλύτερες, προοπτικές μελέτες για την επικύρωση αυτών των αποτελεσμάτων πριν από «μετάφρασή» τους στην κλινική πράξη.



## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Luft T., Dreger P., Radujkovic A. Endothelial cell dysfunction: A key determinant for the outcome of allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2021;56:2326–2335.
2. Varma A., Rondon G., Srour S.A., Chen J., Ledesma C., Champlin R.E., Ciurea S.O., Saliba R.M. Endothelial Activation and Stress Index (EASIX) at Admission Predicts Fluid Overload in Recipients of Allogeneic Stem Cell Transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2020;26:1013–1020.
3. Hildebrandt G.C., Chao N. Endothelial cell function and endothelial-related disorders following haematopoietic cell transplantation. *Br. J. Haematol.* 2020;190:508–519.
4. Vion A.-C., Durand F., Boulanger C.M., Valla D.C., Rautou P.-E. Interplay of Inflammation and Endothelial Dysfunction in Bone Marrow Transplantation: Focus on Hepatic Veno-Occlusive Disease. *Semin. Thromb. Hemost.* 2015;41:629–643.
5. Jennings I., Luddington R.J., Harper P.L. Changes in endothelial-related coagulation proteins in response to venous occlusion. *Thromb. Haemost.* 1991;65:374–376.
6. Collins C.L., Ordonez N.G., Schaefer R., Cook C.D., Xie S.S., Granger J., Hsu P.L., Fink L., Hsu S.M. Thrombomodulin expression in malignant pleural mesothelioma and pulmonary adenocarcinoma. *Am. J. Pathol.* 1992;141:827–833.
7. Palomo M., Diaz-Ricart M., Carbo C., Rovira M., Fernandez-Aviles F., Escolar G., Eissner G., Holler E., Carreras E. The Release of Soluble Factors Contributing to Endothelial Activation and Damage after Hematopoietic Stem Cell Transplantation Is Not Limited to the Allogeneic Setting and Involves Several Pathogenic Mechanisms. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2009;15:537–546.
8. Hattori Y., Suzuki M., Kasai K. Globular adiponectin upregulates nitric oxide production in vascular endothelial cells. *Diabetologia.* 2003;46:1543–1549.

9. Deleve L. Decreased hepatic nitric oxide production contributes to the development of rat sinusoidal obstruction syndrome. *Hepatology*. 2003;38:900–908.
10. Sato R., Yamasaki M., Hirai K., Matsubara T., Nomura T., Sato F., Mimata H. Angiopoietin-like protein 2 induces androgen-independent and malignant behavior in human prostate cancer cells. *Oncol. Rep.* 2014;33:58–66.
11. Langer H.F., Chavakis T. Leukocyte—Endothelial interactions in inflammation. *J. Cell. Mol. Med.* 2009;13:1211–1220.
12. Gomez-Salinerio J.M., Rafii S. Endothelial cell adaptation in regeneration. *Science*. 2018;362:1116–1117.
13. Lebaschi A., Nakagawa Y., Wada S., Cong G.-T., Rodeo S.A. Tissue-specific endothelial cells: A promising approach for augmentation of soft tissue repair in orthopedics. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2017;1410:44–56.
14. Sakellari I., Gavriilaki E., Boussiou Z., Batsis I., Mallouri D., Constantinou V., Kaloyannidis K., Yannaki E., Bamihis G., Anagnostopoulos A. Transplant-associated thrombotic microangiopathy: An unresolved complication of unrelated allogeneic transplant for hematologic diseases. *Hematol. Oncol.* 2016;35:932–934.
15. Postalcioglu M., Kim H.T., Obut F., Yilmam O.A., Yang J., Byun B.C., Kupiec-Weglinski S., Soiffer R., Ritz J., Antin J.H., et al. Impact of Thrombotic Microangiopathy on Renal Outcomes and Survival after Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2018;24:2344–2353.
16. Kraft S., Bollinger N., Bodenmann B., Heim D., Bucher C., Lengerke C., Kleber M., Tsakiris D.A., Passweg J.R., Tzankov A., et al. High mortality in hematopoietic stem cell transplant-associated thrombotic microangiopathy with and without concomitant acute graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant.* 2018;54:540–548.
17. Pagliuca S., Michonneau D., de Fontbrune F.S., del Galy A.S., Xhaard A., Robin M., de Latour R.P., Socie G. Allogeneic reactivity–mediated

- endothelial cell complications after HSCT: A plea for consensual definitions. *Blood Adv.* 2019;3:2424–2435.
18. Young J.A., Pallas C.R., Knovich M.A. Transplant-associated thrombotic microangiopathy: Theoretical considerations and a practical approach to an unrefined diagnosis. *Bone Marrow Transplant.* 2021;56:1805–1817.
  19. Jodele S., Laskin B.L., Dandoy C.E., Myers K.C., El-Bietar J., Davies S.M., Goebel J., Dixon B.P. A new paradigm: Diagnosis and management of HSCT-associated thrombotic microangiopathy as multi-system endothelial injury. *Blood Rev.* 2015;29:191–204.
  20. Jodele S., Davies S.M., Lane A., Khoury J., Dandoy C., Goebel J., Myers K., Grimley M., Bleasing J., El-Bietar J., et al. Diagnostic and risk criteria for HSCT-associated thrombotic microangiopathy: A study in children and young adults. *Blood.* 2014;124:645–653.
  21. Gavriilaki E., Sakellari I., Batsis I., Mallouri D., Bousiou Z., Vardi A., Yannaki E., Constantinou V., Tsompanakou A., Vadikoliou C., et al. Transplant-associated thrombotic microangiopathy: Incidence, prognostic factors, morbidity, and mortality in allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Clin. Transplant.* 2018;32:e13371.
  22. Bhunia N., Abu-Arja R., Bajwa R.P., Auletta J.J., Rangarajan H.G. Successful treatment with eculizumab for posterior reversible encephalopathy syndrome due to underlying transplant-associated thrombotic microangiopathy in patients transplanted for sickle cell disease. *Pediatr. Blood Cancer.* 2019;66:e27912.
  23. El-Bietar J., Warren M., Dandoy C., Myers K.C., Lane A., Wallace G., Davies S.M., Jodele S. Histologic Features of Intestinal Thrombotic Microangiopathy in Pediatric and Young Adult Patients after Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2015;21:1994–2001.
  24. Yamada R., Nemoto T., Ohashi K., Tonooka A., Horiguchi S.-I., Motoi T., Hishima T. Distribution of Transplantation-Associated Thrombotic Microangiopathy (TA-TMA) and Comparison between Renal TA-TMA and Intestinal TA-TMA: Autopsy Study. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2019;26:178–188.

25. Dandoy C.E., Hirsch R., Chima R., Davies S.M., Jodele S. Pulmonary Hypertension after Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2013;19:1546–1556.
26. Galie N., Humbert M., Vachiery J.L., Gibbs S., Lang I., Torbicki A., Simonneau G., Peacock A., Vonk Noordegraaf A., Beghetti M., et al. 2015 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: The Joint Task Force for the Diagnosis and Treatment of Pulmonary Hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS): Endorsed by: Association for European Paediatric and Congenital Cardiology (AEPC), International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT) *Eur. Heart J.* 2016;37:67–119.
27. Heybeli C., Sridharan M., Alkhateeb H.B., Bisneto J.C.V., Buadi F.K., Chen D., Dingli D., Dispenzieri A., Gertz M.A., Go R.S., et al. Characteristics of late transplant-associated thrombotic microangiopathy in patients who underwent allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Am. J. Hematol.* 2020;95:1170–1179.
28. Gavrilaki E., Sakellari I., Anagnostopoulos A., Brodsky R.A. Transplant-associated thrombotic microangiopathy: Opening Pandora's box. *Bone Marrow Transplant.* 2017;52:1355–1360.
29. Ho V.T., Cutler C., Carter S., Martin P., Adams R., Horowitz M., Ferrara J., Soiffer R., Giralt S. Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network Toxicity Committee Consensus Summary: Thrombotic Microangiopathy after Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2005;11:571–575.
30. Ruutu T., Barosi G., Benjamin R.J., Clark R.E., George J.N., Gratwohl A., Holler E., Iacobelli M., Kentouche K., Lämmle B., et al. Diagnostic criteria for hematopoietic stem cell transplant-associated microangiopathy: Results of a consensus process by an International Working Group. *Haematologica.* 2007;92:95–100.
31. Cho B.-S., Yahng S.-A., Lee S.-E., Eom K.-S., Kim Y.-J., Kim H.-J., Lee S., Min C.-K., Cho S.-G., Kim D.-W., et al. Validation of Recently Proposed Consensus Criteria for Thrombotic Microangiopathy after

- Allogeneic Hematopoietic Stem-Cell Transplantation. *Transplantation*. 2010;90:918–926.
32. Shayani S., Palmer J., Stiller T., Liu X., Thomas S.H., Khuu T., Parker P.M., Khaled S.K., Forman S.J., Nakamura R. Thrombotic Microangiopathy Associated with Sirolimus Level after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation with Tacrolimus/Sirolimus-Based Graft-versus-Host Disease Prophylaxis. *Biol. Blood Marrow Transplant*. 2013;19:298–304.
  33. Powles R., Clink H., Spence D., Morgenstern G., Watson J., Selby P., Woods M., Barrett A., Jameson B., Sloane J., et al. Cyclosporin a to prevent graft-versus-host disease in man after allogeneic bone-marrow transplantation. *Lancet*. 1980;315:327–329.
  34. Li A., Wu Q., Davis C., Kirtane K.S., Pham P.D., Sorrow M.L., Lee S.J., Gopal A.K., Dong J.-F., Garcia D.A., et al. Transplant-Associated Thrombotic Microangiopathy Is a Multifactorial Disease Unresponsive to Immunosuppressant Withdrawal. *Biol. Blood Marrow Transplant*. 2018;25:570–576.
  35. Ruutu T., Juvonen E., Remberger M., Remes K., Volin L., Mattsson J., Nihtinen A., Hägglund H., Ringdén O. Improved Survival with Ursodeoxycholic Acid Prophylaxis in Allogeneic Stem Cell Transplantation: Long-Term Follow-up of a Randomized Study. *Biol. Blood Marrow Transplant*. 2013;20:135–138.
  36. Luft T., Benner A., Terzer T., Jodele S., Dandoy C.E., Storb R., Kordelas L., Beelen D., Gooley T., Sandmaier B.M., et al. EASIX and mortality after allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2019;55:553–561.
  37. Meri S., Bunjes D., Cofiell R., Jodele S. The Role of Complement in HSCT-TMA: Basic Science to Clinical Practice. *Adv. Ther*. 2022;39:3896–3915.
  38. Jodele S., Sabulski A. Transplant-associated thrombotic microangiopathy: Elucidating prevention strategies and identifying high-risk patients. *Expert Rev. Hematol*. 2021;14:751–763.
  39. Roy V., Rizvi M., Vesely S., George J. Thrombotic thrombocytopenic purpura-like syndromes following bone marrow transplantation: An

- analysis of associated conditions and clinical outcomes. *Bone Marrow Transplant*. 2001;27:641–646.
40. Fuge R., Bird J.M., Fraser A., Hart D., Hunt L., Cornish J.M., Goulden N., Oakhill A., Pamphilon D.H., Steward C., et al. The clinical features, risk factors and outcome of thrombotic thrombocytopenic purpura occurring after bone marrow transplantation. *Br. J. Haematol*. 2001;113:58–64.
  41. Uderzo C., Bonanomi S., Busca A., Renoldi M., Ferrari P., Iacobelli M., Morreale G., Lanino E., Annaloro C., Della Volpe A., et al. Risk Factors and Severe Outcome in Thrombotic Microangiopathy after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Transplantation*. 2006;82:638–644.
  42. Yeates L., Slatter M.A., Bonanomi S., Lim F.L.W.I., Ong S.Y., Dalissier A., Barberi W., Shulz A., Duval M., Heilmann C., et al. Use of defibrotide to treat transplant-associated thrombotic microangiopathy: A retrospective study of the Paediatric Diseases and Inborn Errors Working Parties of the European Society of Blood and Marrow Transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2017;52:762–764.
  43. Bohl S.R., Kuchenbauer F., von Harsdorf S., Kloevekorn N., Schönsteiner S.S., Rouhi A., Schwarzwälder P., Döhner H., Bunjes D., Bommer M. Thrombotic Microangiopathy after Allogeneic Stem Cell Transplantation: A Comparison of Eculizumab Therapy and Conventional Therapy. *Biol. Blood Marrow Transplant*. 2017;23:2172–2177.
  44. Higham C.S., Shimano K.A., Melton A., Kharbanda S., Chu J., Dara J., Winestone L.E., Hermiston M.L., Huang J.N., Dvorak C.C. A pilot trial of prophylactic defibrotide to prevent serious thrombotic microangiopathy in high-risk pediatric patients. *Pediatr. Blood Cancer*. 2022;69:e29641.
  45. Jan A.S., Hosing C., Aung F., Yeh J. Approaching treatment of transplant-associated thrombotic Microangiopathy from two directions with Eculizumab and transitioning from Tacrolimus to Sirolimus. *Transfusion*. 2019;59:3519–3524.

46. Fontbrune F.S., Galambrun C., Sirvent A., Huynh A., Faguer S., Nguyen S., Bay J.O., Neven B., Moussi J., Simon L., et al. Use of Eculizumab in Patients with Allogeneic Stem Cell Transplant-Associated Thrombotic Microangiopathy: A Study from the SFGM-TC. *Transplantation*. 2015;99:1953–1959.
47. Jodele S., Fukuda T., Vinks A., Mizuno K., Laskin B.L., Goebel J., Dixon B.P., Teusink A., Pluthero F.G., Lu L., et al. Eculizumab Therapy in Children with Severe Hematopoietic Stem Cell Transplantation-Associated Thrombotic Microangiopathy. *Biol. Blood Marrow Transplant*. 2013;20:518–525.
48. Jodele S., Dandoy C.E., Lane A., Laskin B.L., Teusink-Cross A., Myers K.C., Wallace G.H., Nelson A., Blessing J., Chima R.S., et al. Complement blockade for TA-TMA: Lessons learned from large pediatric cohort treated with eculizumab. *Blood*. 2020;135:1049–1057.
49. Bearman S.I. The syndrome of hepatic veno-occlusive disease after marrow transplantation. *Blood*. 1995;85:3005–3020.
50. Kumar S., Deleve L.D., Kamath P.S., Tefferi A. Hepatic Veno-occlusive Disease (Sinusoidal Obstruction Syndrome) after Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Mayo Clin. Proc*. 2003;78:589–598.
51. Fajardo L.F., Colby T.V. Pathogenesis of veno-occlusive liver disease after radiation. *Arch. Pathol. Lab. Med*. 1980;104:584–588.
52. Takamura H., Nakanuma S., Hayashi H., Tajima H., Kakinoki K., Kitahara M., Sakai S., Makino I., Nakagawara H., Miyashita T., et al. Severe Veno-occlusive Disease/Sinusoidal Obstruction Syndrome after Deceased-donor and Living-donor Liver Transplantation. *Transplant. Proc*. 2014;46:3523–3535.
53. Valla D., Cazals-Hatem D. Sinusoidal obstruction syndrome. *Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol*. 2016;40:378–385.
54. DeLeve L.D., Shulman H.M., McDonald G.B. Toxic Injury to Hepatic Sinusoids: Sinusoidal Obstruction Syndrome (Veno-Occlusive Disease) *Semin. Liver Dis*. 2002;22:027–042.
55. Fan C.Q., Crawford J.M. Sinusoidal Obstruction Syndrome (Hepatic Veno-Occlusive Disease) *J. Clin. Exp. Hepatol*. 2014;4:332–346. doi: 10.1016/j.jceh.2014.10.002.

56. Bonifazi F., Barbato F., Ravaioli F., Sessa M., DeFrancesco I., Arpinati M., Cavo M., Colecchia A. Diagnosis and Treatment of VOD/SOS after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Front. Immunol.* 2020;11:489.
57. Coppell J.A., Richardson P.G., Soiffer R., Martin P.L., Kernan N.A., Chen A., Guinan E., Vogelsang G., Krishnan A., Giralt S., et al. Hepatic Venous Occlusive Disease following Stem Cell Transplantation: Incidence, Clinical Course, and Outcome. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2010;16:157–168.
58. Dalle J.-H., Giralt S.A. Hepatic Venous Occlusive Disease after Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Risk Factors and Stratification, Prophylaxis, and Treatment. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2015;22:400–409.
59. Mohty M., Malard F., Abecasis M., Aerts E., Alaskar A.S., Aljurf M., Arat M., Bader P., Baron F., Basak G., et al. Prophylactic, preemptive, and curative treatment for sinusoidal obstruction syndrome/veno-occlusive disease in adult patients: A position statement from an international expert group. *Bone Marrow Transplant.* 2019;55:485–495.
60. Kantarjian H.M., DeAngelo D.J., Advani A.S., Stelljes M., Kebriaei P., Cassaday R.D., Merchant A.A., Fujishima N., Uchida T., Calbacho M., et al. Hepatic adverse event profile of inotuzumab ozogamicin in adult patients with relapsed or refractory acute lymphoblastic leukaemia: Results from the open-label, randomised, phase 3 INO-VATE study. *Lancet Haematol.* 2017;4:e387–e398.
61. Kantarjian H.M., Vandendries E., Bangdiwala A.S. Advani inotuzumab Ozogamicin for Acute Lymphoblastic Leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2016;375:2100–2101.
62. Sakai M., Strasser S.I., Shulman H.M., McDonald S.J., Schoch H.G., McDonald G.B. Severe hepatocellular injury after hematopoietic cell transplant: Incidence, etiology and outcome. *Bone Marrow Transplant.* 2009;44:441–447.
63. Lee J.L., Gooley T., Bensinger W., Schiffman K., McDonald G.B. Venous occlusive disease of the liver after busulfan, melphalan, and thiotepa



- conditioning therapy: Incidence, risk factors, and outcome. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 1999;5:306–315.
64. Jones R.J., Lee K.S.K., Beschorner W.E., Vogel V.G., Grochow L.B., Braine H.G., Vogelsang G.B., Sensenbrenner L.L., Santos G.W., Saral R. Venocclusive disease of the liver following bone marrow transplantation. *Transplantation.* 1987;44:778–783.
  65. McDonald G.B., Sharma P., Matthews D.E., Shulman H.M., Thomas E.D. Venocclusive Disease of the Liver after Bone Marrow Transplantation: Diagnosis, Incidence, and Predisposing Factors. *Hepatology.* 1984;4:116–122.
  66. Corbacioglu S., Cesaro S., Faraci M., Valteau-Couanet D., Gruhn B., Rovelli A., Boelens J.J., Hewitt A., Schrum J., Schulz A.S., et al. Defibrotide for prophylaxis of hepatic veno-occlusive disease in paediatric haemopoietic stem-cell transplantation: An open-label, phase 3, randomised controlled trial. *Lancet.* 2012;379:1301–1309.
  67. Yakushijin K., Atsuta Y., Doki N., Yokota A., Kanamori H., Miyamoto T., Ohwada C., Miyamura K., Nawa Y., Kurokawa M., et al. Sinusoidal obstruction syndrome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: Incidence, risk factors and outcomes. *Bone Marrow Transplant.* 2015;51:403–409.
  68. Richardson P.G., Riches M.L., Kernan N.A., Brochstein J.A., Mineishi S., Termuhlen A.M., Arai S., Grupp S.A., Guinan E.C., Martin P.L., et al. Phase 3 trial of defibrotide for the treatment of severe veno-occlusive disease and multi-organ failure. *Blood.* 2016;127:1656–1665.
  69. Mohty M., Malard F., Abecassis M., Aerts E., Alaskar A., Aljurf M., Arat M., Bader P., Baron F., Bazarbachi A., et al. Revised diagnosis and severity criteria for sinusoidal obstruction syndrome/veno-occlusive disease in adult patients: A new classification from the European Society for Blood and Marrow Transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2016;51:906–912.
  70. Yoon J.-H., Yoo K.H., Sung K.W., Jung C.W., Kim J.S., Hahn S.M., Kang H.J., Lee J.-H., Im H.J., Ahn J.-S., et al. Validation of treatment outcomes according to revised severity criteria from European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) for sinusoidal

- obstruction syndrome/veno-occlusive disease (SOS/VOD) Bone Marrow Transplant. 2019;54:1361–1368.
71. Richardson P.G., Corbacioglu S., Ho V.T.-V., Kernan N., Lehmann L., Maguire C., Maglio M., Hoyle M., Sardella M., Giralt S., et al. Drug safety evaluation of defibrotide. *Expert Opin. Drug Saf.* 2012;12:123–136.
  72. Corbacioglu S., Carreras E., Mohty M., Pagliuca A., Boelens J.J., Damaj G., Iacobelli M., Niederwieser D., Olavarría E., Suarez F., et al. Defibrotide for the Treatment of Hepatic Veno-Occlusive Disease: Final Results from the International Compassionate-Use Program. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2016;22:1874–1882.
  73. Kernan N.A., Grupp S., Smith A.R., Arai S., Triplett B., Antin J.H., Lehmann L., Shore T., Ho V.T., Bunin N., et al. Final results from a defibrotide treatment-IND study for patients with hepatic veno-occlusive disease/sinusoidal obstruction syndrome. *Br. J. Haematol.* 2018;181:816–827.
  74. Richardson P.G., Smith A.R., Triplett B.M., Kernan N.A., Grupp S.A., Antin J.H., Lehmann L., Miloslavsky M., Hume R., Hannah A.L., et al. Earlier defibrotide initiation post-diagnosis of veno-occlusive disease/sinusoidal obstruction syndrome improves Day +100 survival following haematopoietic stem cell transplantation. *Br. J. Haematol.* 2017;178:112–118.
  75. Essell J.H., Schroeder M.T., Harman G.S., Halvorson R., Lew V., Callander N., Snyder M., Lewis S.K., Allerton J.P., Thompson J.M. Ursodiol Prophylaxis against Hepatic Complications of Allogeneic Bone Marrow Transplantation. *Ann. Intern. Med.* 1998;128:975–981.
  76. Ohashi K., Tanabe J., Watanabe R., Tanaka T., Sakamaki H., Maruta A., Okamoto S., Aotsuka N., Saito K., Nishimura M., et al. The Japanese multicenter open randomized trial of ursodeoxycholic acid prophylaxis for hepatic veno-occlusive disease after stem cell transplantation. *Am. J. Hematol.* 2000;64:32–38.
  77. Ruutu T., Eriksson B., Remes K., Juvonen E., Volin L., Remberger M., Parkkali T., Hägglund H., Ringdén O. Ursodeoxycholic acid for the

- prevention of hepatic complications in allogeneic stem cell transplantation. *Blood*. 2002;100:1977–1983.
78. Corbacioglu S., Topaloglu O., Aggarwal S. A Systematic Review and Meta-Analysis of Studies of Defibrotide Prophylaxis for Venous Occlusive Disease/Sinusoidal Obstruction Syndrome. *Clin. Drug Investig.* 2022;42:465–476.
  79. Zhang L., Wang Y., Huang H. Defibrotide for the prevention of hepatic veno-occlusive disease after hematopoietic stem cell transplantation: A systematic review. *Clin. Transplant.* 2012;26:511–519.
  80. Panoskaltsis-Mortari A., Griese M., Madtes D.K., Belperio J.A., Haddad I.Y., Folz R.J., Cooke K.R. An Official American Thoracic Society Research Statement: Noninfectious Lung Injury after Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Idiopathic Pneumonia Syndrome. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2011;183:1262–1279.
  81. Afessa B., Peters S.G. Noninfectious pneumonitis after blood and marrow transplant. *Curr. Opin. Oncol.* 2008;20:227–233.
  82. Watkins T.R., Chien J.W., Crawford S.W. Graft versus Host-Associated Pulmonary Disease and other Idiopathic Pulmonary Complications after Hematopoietic Stem Cell Transplant. *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 2005;26:482–489. doi: 10.1055/s-2005-922031.
  83. Shankar G., Cohen D.A. Idiopathic pneumonia syndrome after bone marrow transplantation: The role of pre-transplant radiation conditioning and local cytokine dysregulation in promoting lung inflammation and fibrosis. *Int. J. Exp. Pathol.* 2001;82:101–113.
  84. Cooke K.R., Kobzik L., Martin T.R., Brewer J., Delmonte J., Jr., Crawford J.M., Ferrara J.L. An experimental model of idiopathic pneumonia syndrome after bone marrow transplantation: I. The roles of minor H antigens and endotoxin. *Blood*. 1996;88:3230–3239.
  85. Vythoulkas D, Tsirogotis P, Griniezaki M, Konstantellos I, Lazana I. Endothelial Dysfunction Syndromes after Allogeneic Stem Cell Transplantation. *Cancers (Basel)*. 2023 Jan 22;15(3):680.
  86. Keates-Baleeiro J., Moore P., Koyama T., Manes B., Calder C., Frangoul H. Incidence and outcome of idiopathic pneumonia syndrome

- in pediatric stem cell transplant recipients. *Bone Marrow Transplant.* 2006;38:285–289.
87. Huisman C., van der Straaten H.M., Dijk M.R.C.-V., Fijnheer R., Verdonck L.F. Pulmonary complications after T-cell-depleted allogeneic stem cell transplantation: Low incidence and strong association with acute graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant.* 2006;38:561–566.
  88. Fukuda T., Hackman R.C., Guthrie K.A., Sandmaier B.M., Boeckh M., Maris M.B., Maloney D.G., Deeg H.J., Martin P.J., Storb R.F., et al. Risks and outcomes of idiopathic pneumonia syndrome after nonmyeloablative and conventional conditioning regimens for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood.* 2003;102:2777–2785.
  89. Clark J.G., Hansen J.A., Hertz M.I., Parkman R., Jensen L., Peavy H.H. Idiopathic Pneumonia Syndrome after Bone Marrow Transplantation. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1993;147:1601–1606.
  90. Crawford S.W., Hackman R.C. Clinical Course of Idiopathic Pneumonia after Bone Marrow Transplantation. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1993;147:1393–1400.
  91. Weiner R.S., Bortin M.M., Gale R.P., Gluckman E., Kay H.E.M., Kolb H.-J., Hartz A.J., Rimm A.A. Interstitial Pneumonitis after Bone Marrow Transplantation. *Ann. Intern. Med.* 1986;104:168–175.
  92. Kantrow S.P., Hackman R.C., Boeckh M., Myerson D., Crawford S.W. Idiopathic pneumonia syndrome. *Transplantation.* 1997;63:1079–1086.
  93. Rubio C.A., Hill M.E., Milan S., O'Brien M., Cunningham D. Idiopathic pneumonia syndrome after high-dose chemotherapy for relapsed Hodgkin's disease. *Br. J. Cancer.* 1997;75:1044–1048.
  94. Sampath S., Schultheiss T., Wong J. Dose response and factors related to interstitial pneumonitis after bone marrow transplant. *Int. J. Radiat. Oncol.* 2005;63:876–884.
  95. Clark J.G., Madtes D.K., Martin T.R., Hackman R.C., Farrand A.L., Crawford S.W. Idiopathic pneumonia after bone marrow transplantation: Cytokine activation and lipopolysaccharide

- amplification in the bronchoalveolar compartment. *Crit. Care Med.* 1999;27:1800–1806.
96. Thompson J., Yin Z., D'Souza A., Fenske T., Hamadani M., Hari P., Rizzo J.D., Pasquini M., Saber W., Shah N., et al. Etanercept and Corticosteroid Therapy for the Treatment of Late-Onset Idiopathic Pneumonia Syndrome. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2017;23:1955–1960.
97. Yanik G.A., Ho V.T., Levine J.E., White E.S., Braun T., Antin J.H., Whitfield J., Custer J., Jones D., Ferrara J.L.M., et al. The impact of soluble tumor necrosis factor receptor etanercept on the treatment of idiopathic pneumonia syndrome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood.* 2008;112:3073–3081.
98. Cole T.S., Johnstone I.C., Pearce M.S., Fulton B., Cant A.J., Gennery A.R., Slatter M.A. Outcome of children requiring intensive care following haematopoietic SCT for primary immunodeficiency and other non-malignant disorders. *Bone Marrow Transplant.* 2011;47:40–45.
99. Agustí C., Ramirez J., Picado C., Xaubet A., Carreras E., Ballester E., Torres A., Battocchia C., Rodriguez-Roisin R. Diffuse Alveolar Hemorrhage in Allogeneic Bone Marrow Transplantation: A Postmortem Study. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1995;151:1006–1010
100. Ahya V.N. Noninfectious Acute Lung Injury Syndromes Early after Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Clin. Chest Med.* 2017;38:595–606.
101. Keklik F., Alrawi E.B., Cao Q., Bejanyan N., Rashidi A., Lazaryan A., Arndt P., Dincer E.H., Bachanova V., Warlick E.D., et al. Diffuse alveolar hemorrhage is most often fatal and is affected by graft source, conditioning regimen toxicity, and engraftment kinetics. *Haematologica.* 2018;103:2109–2115.
102. Chan C.K., Hyland R.H., Hutcheon M.A. Pulmonary Complications Following Bone Marrow Transplantation. *Clin. Chest Med.* 1990;11:323–332.
103. Robbins R.A., Linder J., Stahl M.G., Thompson A.B., Haire W., Kessinger A., Armitage J.O., Arneson M., Woods G., Vaughan W.P., et

- al. Diffuse alveolar hemorrhage in autologous bone marrow transplant recipients. *Am. J. Med.* 1989;87:511–518.
104. Afessa B., Abdulai R.M., Kremers W.K., Hogan W.J., Litzow M.R., Peters S.G. Risk Factors and Outcome of Pulmonary Complications after Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplant. *Chest.* 2012;141:442–450.
105. Kolben Y., Darawshy F., Barhoum B., Abutbul A., Kuint R. Diffuse alveolar hemorrhage in a healthy stem cell donor following administration of granulocyte colony-stimulating factor. *Int. Immunopharmacol.* 2021;99:108019.
106. Cooke K.R. Acute lung injury after allogeneic stem cell transplantation: From the clinic, to the bench and back again. *Pediatr. Transplant.* 2005;9:25–36.
107. Piguet P.F., Grau G.E., Collart M.A., Vassalli P., Kapanci Y. Pneumopathies of the graft-versus-host reaction. Alveolitis associated with an increased level of tumor necrosis factor mRNA and chronic interstitial pneumonitis. *Lab. Investig.* 1989;61:37–45.
108. Metcalf J.P., Rennard S.I., Reed E.C., Haire W.D., Sisson J.H., Walter T., Robbins R.A. Corticosteroids as adjunctive therapy for diffuse alveolar hemorrhage associated with bone marrow transplantation. *Am. J. Med.* 1994;96:327–334.
109. Rathi N.K., Tanner A.R., Dinh A., Dong W., Feng L., Ensor J., Wallace S.K., Haque S.A., Rondon G., Price K.J., et al. Low-, medium- and high-dose steroids with or without aminocaproic acid in adult hematopoietic SCT patients with diffuse alveolar hemorrhage. *Bone Marrow Transplant.* 2014;50:420–426.
110. Afessa B., Tefferi A., Litzow M.R., Peters S.G. Outcome of Diffuse Alveolar Hemorrhage in Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2002;166:1364–1368.
111. Wojno K.J., Vogelsang G.B., Bescnorner W.E., Santos G.W. Pulmonary hemorrhage as a cause of death in allogeneic bone marrow recipients with severe acute graft-versus-host disease. *Transplantation.* 1994;57:88–92.

112. Haselton D.J., Klekamp J.G., Christman B.W., Barr F.E. Use of high-dose corticosteroids and high-frequency oscillatory ventilation for treatment of a child with diffuse alveolar hemorrhage after bone marrow transplantation: Case report and review of the literature. *Crit. Care Med.* 2000;28:245–248.
113. Cornell R.F., Hari P., Drobyski W.R. Engraftment Syndrome after Autologous Stem Cell Transplantation: An Update Unifying the Definition and Management Approach. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2015;21:2061–2068.
114. Spitzer T.R. Engraftment syndrome: Double-edged sword of hematopoietic cell transplants. *Bone Marrow Transplant.* 2015;50:469–475.
115. Maiolino A., Biasoli I., Lima J., Portugal A.C., Pulcheri W., Nucci M. Engraftment syndrome following autologous hematopoietic stem cell transplantation: Definition of diagnostic criteria. *Bone Marrow Transplant.* 2003;31:393–397.
116. Schmid I., Stachel D., Pagel P., Albert M.H. Incidence, Predisposing Factors, and Outcome of Engraftment Syndrome in Pediatric Allogeneic Stem Cell Transplant Recipients. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2008;14:438–444.
117. Martinezcibrian N., Magnano L., Gutiérrez-García G., Andrade X., Correa J.G., Suárez-Lledó M., Martínez C.E., Rovira M., Carreras E., Rosinol L., et al. At-home autologous stem cell transplantation in multiple myeloma with and without G-CSF administration: A comparative study. *Bone Marrow Transplant.* 2015;51:593–595.
118. Akasheh M., Eastwood D., Vesole D.H. Engraftment syndrome after autologous hematopoietic stem cell transplant supported by granulocyte-colony-stimulating factor (G-CSF) versus granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) *Bone Marrow Transplant.* 2003;31:113–116.
119. Gutiérrez-García G., Rovira M., Magnano L., Rosinol L., Bataller A., Suárez-Lledó M., Cibeira M.T., de Larrea C.F., Garrote M., Jorge S., et al. Innovative strategies minimize engraftment syndrome in multiple myeloma patients with novel induction therapy following autologous

- hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2018;53:1541–1547.
120. Carreras E., Fernández-Avilés F., Silva L., Guerrero M., de Larrea F., Martínez C., Rosiñol L., Lozano M. Engraftment syndrome after auto-SCT: Analysis of diagnostic criteria and risk factors in a large series from a single center. *Bone Marrow Transplant.* 2010;45:1417–1422.
  121. Capizzi S., Kumar S., Huneke N., Gertz M., Inwards D., Litzow M.R., Lacy M., Gastineau D., Prakash U., Tefferi A. Peri-engraftment respiratory distress syndrome during autologous hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2001;27:1299–1303.
  122. Nürnberger W., Willers R., Burdach S., Göbel U. Risk factors for capillary leakage syndrome after bone marrow transplantation. *Ann. Hematol.* 1997;74:221–224.
  123. Chang L., Frame D., Braun T., Gatza E., Hanauer D.A., Zhao S., Magenau J.M., Schultz K., Tokala H., Ferrara J.L., et al. Engraftment Syndrome after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation Predicts Poor Outcomes. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2014;20:1407–1417.
  124. Biedermann B.C. Vascular endothelium and graft-versus-host disease. *Best Pr. Res. Clin. Haematol.* 2008;21:129–138.
  125. Tichelli A., Gratwohl A. Vascular endothelium as ‘novel’ target of graft-versus-host disease. *Best Pr. Res. Clin. Haematol.* 2008;21:139–148.
  126. Nomura S., Ishii K., Fujita S., Nakaya A., Satake A., Ito T. Associations between acute GVHD-related biomarkers and endothelial cell activation after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transpl. Immunol.* 2017;43–44:27–32.
  127. Biedermann B.C., Sahner S., Gregor M., Tsakiris D.A., Jeanneret C., Pober J.S., Gratwohl A. Endothelial injury mediated by cytotoxic T lymphocytes and loss of microvessels in chronic graft versus host disease. *Lancet.* 2002;359:2078–2083.
  128. Bagai R., Valujskikh A., Canaday D.H., Bailey E., Lalli P.N., Harding C.V., Heeger P.S. Mouse Endothelial Cells Cross-Present Lymphocyte-Derived Antigen on Class I MHC via a TAP1- and Proteasome-Dependent Pathway. *J. Immunol.* 2005;174:7711–7715.



129. Baker K.S., Ness K.K., Steinberger J., Carter A., Francisco L., Burns L.J., Sklar C., Forman S., Weisdorf D., Gurney J.G., et al. Diabetes, hypertension, and cardiovascular events in survivors of hematopoietic cell transplantation: A report from the bone marrow transplantation survivor study. *Blood*. 2006;109:1765–1772.
130. Couriel D.R., Saliba R., Escalon M.P., Hsu Y., Ghosh S., Ippoliti C., Hicks K., Donato M., Giralt S., Khouri I.F., et al. Sirolimus in combination with tacrolimus and corticosteroids for the treatment of resistant chronic graft-versus-host disease. *Br. J. Haematol*. 2005;130:409–417.
131. Tichelli A., Bucher C., Rovó A., Stussi G., Stern M., Paulussen M., Halter J., Meyer-Monard S., Heim D., Tsakiris D.A., et al. Premature cardiovascular disease after allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation. *Blood*. 2007;110:3463–3471.
132. Kapadia S.R. Intravascular ultrasound imaging after cardiac transplantation: Advantage of multi-vessel imaging. *J. Heart Lung Transplant*. 2000;19:167–172.
133. Rahmani M., Cruz R.P., Granville D.J., McManus B.M. Allograft Vasculopathy Versus Atherosclerosis. *Circ. Res*. 2006;99:801–815.
134. Cailhier J.-F., Laplante P., Hébert M.-J. Endothelial Apoptosis and Chronic Transplant Vasculopathy: Recent Results, Novel Mechanisms. *Am. J. Transplant*. 2006;6:247–253.
135. Strimbu K, Tavel JA. What are biomarkers?. *Curr Opin HIV AIDS*. 2010;5(6):463-466.
136. Chen J., Chung D.W. Inflammation, von Willebrand factor, and ADAMTS13. *Blood*. 2018;132:141–147.
137. Barnes T., Gliddon A., Doré C.J., Maddison P., Moots R.J. Baseline vWF factor predicts the development of elevated pulmonary artery pressure in systemic sclerosis. *Rheumatology*. 2012;51:1606–1609.
138. Gürol G., Ciftci I.H., Harman H., Karakece E., Kamanl A., Tekeoglu I. Roles of Claudin-5 and Von Willebrand Factor in Patients with Rheumatoid Arthritis. *Int. J. Clin. Exp. Pathol*. 2015;8:1979–1984.

139. Rose P., Kavi J., Chant I., Taylor C., Struthers G., Robertson M. Factor VIII von Willebrand protein in haemolytic uraemic syndrome and systemic vasculitides. *Lancet*. 1990;335:500–502.
140. Mir E., Palomo M., Rovira M., Pereira A., Escolar G., Penack O., Holler E., Carreras E., Diaz-Ricart M. Endothelial damage is aggravated in acute GvHD and could predict its development. *Bone Marrow Transplant*. 2017;52:1317–1325.
141. Biedermann B.C., Tsakiris D.A., Gregor M., Pober J.S., Gratwohl A. Combining altered levels of effector transcripts in circulating T cells with a marker of endothelial injury is specific for active graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant*. 2003;32:1077–1084.
142. Pulanic D., Samardzic A., Desnica L., Zadro R., Milosevic M., Serventi Seiwert R., Durakovic N., Peric Z., Coen Herak D., Milos M., et al. High Levels of FVIII and Von Willebrand Factor in Chronic Graft versus-Host Disease. The 45th Annual Meeting of the European Society for Blood and Marrow transplantation: Physicians–Poster Session. *Bone Marrow Transpl*. 2019;54:303.
143. Ito-Habe N., Wada H., Matsumoto T., Ohishi K., Toyoda H., Ishikawa E., Nomura S., Komada Y., Ito M., Nobori T., et al. Elevated Von Willebrand factor propeptide for the diagnosis of thrombotic microangiopathy and for predicting a poor outcome. *Int. J. Hematol*. 2010;93:47–52.
144. Xu Z., Luo C., Lai P., Ling W., Wu S., Huang X., Huang L., Zhang G., Du X., Weng J. von Willebrand Factor as a Predictor for Transplant-Associated Thrombotic Microangiopathy. *Clin. Appl. Thromb*. 2020;26:1076029619892684.
145. Zonneveld R., Martinelli R., Shapiro N.I., Kuijpers T.W., Plötz F.B., Carman C.V. Soluble adhesion molecules as markers for sepsis and the potential pathophysiological discrepancy in neonates, children and adults. *Crit. Care*. 2014;18:204.
146. Matsuda Y., Hara J., Osugi Y., Tokimasa S., Fujisaki H., Takai K., Ohta H., Kawa-Ha K., Okada S. Serum levels of soluble adhesion molecules in stem cell transplantation-related complications. *Bone Marrow Transplant*. 2001;27:977–982.

147. Cutler C., Kim H.T., Ayanian S., Bradwin G., Revta C., Aldridge J., Ho V., Alyea E., Koreth J., Armand P., et al. Prediction of Venous Occlusive Disease using Biomarkers of Endothelial Injury. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2010;16:1180–1185.
148. Nakamura K., Hatano E., Miyagawa-Hayashino A., Okuno M., Koyama Y., Narita M., Seo S., Taura K., Uemoto S. Soluble thrombomodulin attenuates sinusoidal obstruction syndrome in rat through suppression of high mobility group box 1. *Liver Int.* 2013;34:1473–1487.
149. Zeigler Z.R., Rosenfeld C.S., Andrews D.F., Nemunaitis J., Raymond J.M., Shaddock R.K., Kramer R.E., Gryn J.F., Rintels P.B., Besa E.C., et al. Plasma von Willebrand factor antigen (vWF:AG) and thrombomodulin (TM) levels in adult thrombotic thrombocytopenic purpura/hemolytic uremic syndromes (TTP/HUS) and bone marrow transplant-associated thrombotic microangiopathy (BMT-TM) *Am. J. Hematol.* 1996;53:213–220.
150. Palomo M., Diaz-Ricart M., Carbo C., Rovira M., Fernandez-Aviles F., Martine C., Ghita G., Escolar G., Carreras E. Endothelial Dysfunction after Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Role of the Conditioning Regimen and the Type of Transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2010;16:985–993.
151. Richardson P.G., Soiffer R.J., Antin J.H., Uno H., Jin Z., Kurtzberg J., Martin P.L., Steinbach G., Murray K.F., Vogelsang G.B., et al. Defibrotide for the Treatment of Severe Hepatic Venous Occlusive Disease and Multiorgan Failure after Stem Cell Transplantation: A Multicenter, Randomized, Dose-Finding Trial. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2010;16:1005–1017.
152. Tatekawa S., Kohno A., Ozeki K., Watamoto K., Ueda N., Yamaguchi Y., Kobayashi T., Yokota I., Teramukai S., Taniwaki M., et al. A Novel Diagnostic and Prognostic Biomarker Panel for Endothelial Cell Damage-Related Complications in Allogeneic Transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2016;22:1573–1581.
153. Ueda N., Chihara D., Kohno A., Tatekawa S., Ozeki K., Watamoto K., Morishita Y. Predictive Value of Circulating Angiopoietin-2 for Endothelial Damage-Related Complications in Allogeneic

- Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2014;20:1335–1340.
154. Dietrich S., Falk C.S., Benner A., Karamustafa S., Hahn E., Andrulis M., Hegenbart U., Ho A.D., Dreger P., Luft T. Endothelial Vulnerability and Endothelial Damage Are Associated with Risk of Graft-versus-Host Disease and Response to Steroid Treatment. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2012;19:22–27.
155. Moiseev I.S., Lapin S.V., Surkova E.A., Lerner M.Y., Vavilov V.N., Afanasyev B.V. Level of Vascular Endothelial Growth Factor Predicts Both Relapse and Nonrelapse Mortality after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2013;19:1677–1682.
156. Lunn R.A., Sumar N., Bansal A.S., Treleaven J. Cytokine profiles in stem cell transplantation: Possible use as a predictor of graft-versus-host disease. *Hematology.* 2005;10:107–114.
157. Zeiser R., Blazar B.R. Acute Graft-versus-Host Disease—Biologic Process, Prevention, and Therapy. *N. Engl. J. Med.* 2017;377:2167–2179.
158. Ali A.M., DiPersio J.F., Schroeder M.A. The Role of Biomarkers in the Diagnosis and Risk Stratification of Acute Graft-versus-Host Disease: A Systematic Review. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2016;22:1552–1564.
159. Chen Y.-B., Cutler C.S. Biomarkers for acute GVHD: Can we predict the unpredictable. *Bone Marrow Transplant.* 2012;48:755–760.
160. Choi S.W., Kitko C.L., Braun T., Paczesny S., Yanik G., Mineishi S., Krijanovski O., Jones D., Whitfield J., Cooke K., et al. Change in plasma tumor necrosis factor receptor 1 levels in the first week after myeloablative allogeneic transplantation correlates with severity and incidence of GVHD and survival. *Blood.* 2008;112:1539–1542.
161. Nakamura Y., Tanaka Y., Tanaka M., Sugiyama A., Yamamoto K., Tokunaga Y., Yujiri T., Tanizawa Y. Soluble interleukin-2 receptor index predicts the development of acute graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from unrelated donors. *Int. J. Hematol.* 2016;103:436–443.

162. Foley R., Couban S., Walker I., Greene K., Chen C., Messner H., Gaudie J. Monitoring soluble interleukin-2 receptor levels in related and unrelated donor allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 1998;21:769–773.
163. Griesenauer B., Paczesny S. The ST2/IL-33 Axis in Immune Cells during Inflammatory Diseases. *Front. Immunol.* 2017;8:475.
164. Srinagesh H.K., Özbek U., Kapoor U., Ayuk F., Aziz M., Ben-David K., Choe H.K., DeFilipp Z., Etra A., Grupp S.A., et al. The MAGIC algorithm probability is a validated response biomarker of treatment of acute graft-versus-host disease. *Blood Adv.* 2019;3:4034–4042.
165. Sebghati Z.J., Abbasi S., Abhyankar S., Ganguly S., Shune L., McGuirk J.P., Singh A.K. Endothelial Activation and Stress Index (EASIX) Score at 100 Days Post-allo HCT in Patients with Acute Myeloid Leukemia Predicts Overall Survival. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2020;26:S121.
166. Gavriilaki E., Sakellari I., Chatziconstantinou T., Mallouri D., Batsis I., Vardi A., Bousiou Z., Koravou E., Masmanidou M., Touloumenidou T., et al. Easix Is Strongly Associated with Complement Activation and Overall Survival in Adult Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation Recipients. *Blood.* 2019;134:4520.
167. Luft T., Benner A., Jodele S., Dandoy C.E., Storb R., Gooley T., Sandmaier B.M., Becker N., Radujkovic A., Dreger P., et al. EASIX in patients with acute graft-versus-host disease: A retrospective cohort analysis. *Lancet Haematol.* 2017;4:e414–e423.
168. Jiang S., Penack O., Terzer T., Schult D., Majer-Lauterbach J., Radujkovic A., Blau I.W., Bullinger L., Müller-Tidow C., Dreger P., et al. Predicting sinusoidal obstruction syndrome after allogeneic stem cell transplantation with the EASIX biomarker panel. *Haematologica.* 2020;106:446–453.
169. Haubitz M., Woywodt A. Circulating Endothelial Cells and Vasculitis. *Intern. Med.* 2004;43:660–667.
170. Erdbruegger U., Haubitz M., Woywodt A. Circulating endothelial cells: A novel marker of endothelial damage. *Clin. Chim. Acta.* 2006;373:17–26.

171. Flores-Nascimento M.C., Alessio A.M., Orsi F.L.D.A., Annichino-Bizzacchi J.M. CD144, CD146 and VEGFR-2 properly identify circulating endothelial cell. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* 2015;37:98–102.
172. Dignat-George F., Sampol J. Circulating endothelial cells in vascular disorders: New insights into an old concept. *Eur. J. Haematol.* 2000;65:215–220.
173. Garcia-Barros M., Paris F., Cordon-Cardo C., Lyden D., Rafii S., Haimovitz-Friedman A., Fuks Z., Kolesnick R. Tumor Response to Radiotherapy Regulated by Endothelial Cell Apoptosis. *Science.* 2003;300:1155–1159.
174. Touzot F., Moshous D., Cros G., Frange P., Chomton M., Frémond M.-L., Neven B., Cavazzana M., Fischer A., Blanche S., et al. Circulating endothelial cells as markers of endothelial dysfunction during hematopoietic stem cell transplantation for pediatric primary immunodeficiency. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2014;134:1203–1206.
175. Almici C., Skert C., Bruno B., Bianchetti A., Verardi R., Di Palma A., Neva A., Braga S., Piccinelli G., Piovani G., et al. Circulating endothelial cell count: A reliable marker of endothelial damage in patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2017;52:1637–1642.
176. Zhang L., Malik A.B., Rehman J. Reprogramming Fibroblasts to Endothelial Cells. *Circulation.* 2014;130:1136–1138.
177. Burger D., Touyz R.M. Cellular biomarkers of endothelial health: Microparticles, endothelial progenitor cells, and circulating endothelial cells. *J. Am. Soc. Hypertens.* 2012;6:85–99.
178. Werner N., Nickenig G. Endothelial progenitor cells in health and atherosclerotic disease. *Ann. Med.* 2007;39:82–90.
179. Pytlík R., Kideryová L., Benesová K., Cechová H., Veselá R., Rychtrmocová H., Trnený M. Circulating endothelial pre-cursor cells (EPC) in patients undergoing allogeneic haematopoietic progenitor cell transplantation. *Folia Biol.* 2010;56:32–35.

180. Lazana I., Vassilopoulos G. A 'waste product' to save the day in the field of transplantation: The evolving potential of extracellular vesicles. *Immunology*. 2022;167:154–164.
181. Lazana I. Extracellular Vesicles in Haematological Disorders: A Friend or a Foe. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23:10118.
182. Piccin A., Sartori M.T., Bisogno G., van Schilfgaarde M., Saggiorato G., Pierro A.M.D., Corvetta D., Marcheselli L., Mega A., Gastl G., et al. New insights into sinusoidal obstruction syndrome. *Intern. Med. J.* 2017;47:1173–1183.
183. Vythoulkas D, Lazana I, Kroupis C, Gavriilaki E, Konstantellos I, Bousiou Z, Chondropoulos S, Griniezaki M, Vardi A, Gkirkas K, Karagiannidou A, Batsis I, Stamouli M, Sakellari I, Tsigiotis P. Endothelial Injury Syndromes after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Angiotensin-2 as a Novel Predictor of the Outcome and the Role of Functional Autoantibodies against Angiotensin II Type 1 and Endothelin A Receptor. *Int J Mol Sci.* 2023 Apr 9;24(8):6960.
184. Dragun D., Muller D.N., Brasen J.H., Fritsche L., Nieminen-Kelha M., Dechend R., Kintscher U., Rudolph B., Hoebeke J., Eckert D., et al. Angiotensin II type 1-receptor activating antibodies in renal-allograft rejection. *N. Engl. J. Med.* 2005;352:558–569.
185. Wallukat G., Pruss H., Muller J., Schimke I. Functional autoantibodies in patients with different forms of dementia. *PLoS ONE.* 2018;13:e0192778.
186. Dzau V.J. Theodore Cooper Lecture: Tissue angiotensin and pathobiology of vascular disease: A unifying hypothesis. *Hypertension.* 2001;37:1047–1052.
187. Madsen K., Marcussen N., Pedersen M., Kjaersgaard G., Facemire C., Coffman T.M., Jensen B.L. Angiotensin II promotes development of the renal microcirculation through AT1 receptors. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2010;21:448–459.
188. Horinouchi T., Terada K., Higashi T., Miwa S. Endothelin receptor signaling: New insight into its regulatory mechanisms. *J. Pharmacol. Sci.* 2013;123:85–101.

189. Kurosaka M., Suzuki T., Hosono K., Kamata Y., Fukamizu A., Kitasato H., Fujita Y., Majima M. Reduced angiogenesis and delay in wound healing in angiotensin II type 1a receptor-deficient mice. *Biomed. Pharmacother.* 2009;63:627–634.
190. Banasik M., Boratynska M., Koscielska-Kasprzak K., Kaminska D., Zmonarski S., Mazanowska O., Krajewska M., Bartoszek D., Zabinska M., Myszkka M., et al. Non-HLA antibodies: Angiotensin II type 1 receptor (anti-AT1R) and endothelin-1 type A receptor (anti-ETAR) are associated with renal allograft injury and graft loss. *Transplant. Proc.* 2014;46:2618–2621.
191. Hiemann N.E., Meyer R., Wellnhofer E., Schoenemann C., Heidecke H., Lachmann N., Hetzer R., Dragun D. Non-HLA antibodies targeting vascular receptors enhance alloimmune response and microvasculopathy after heart transplantation. *Transplantation.* 2012;94:919–924.
192. Philogene M.C., Bagnasco S., Kraus E.S., Montgomery R.A., Dragun D., Leffell M.S., Zachary A.A., Jackson A.M. Anti-Angiotensin II Type 1 Receptor and Anti-Endothelial Cell Antibodies: A Cross-Sectional Analysis of Pathological Findings in Allograft Biopsies. *Transplantation.* 2017;101:608–615.
193. Zhang S., Zheng R., Yang L., Zhang X., Zuo L., Yang X., Bai K., Song L., Tian J., Yang J., et al. Angiotensin type 1 receptor autoantibody from preeclamptic patients induces human fetoplacental vasoconstriction. *J. Cell. Physiol.* 2013;228:142–148.
194. Wang Y., Del Borgo M., Lee H.W., Baraldi D., Hirmiz B., Gaspari T.A., Denton K.M., Aguilar M.I., Samuel C.S., Widdop R.E. Anti-fibrotic Potential of AT(2) Receptor Agonists. *Front. Pharmacol.* 2017;8:564.
195. Lukitsch I., Kehr J., Chaykovska L., Wallukat G., Nieminen-Kelha M., Batuman V., Dragun D., Gollasch M. Renal ischemia and transplantation predispose to vascular constriction mediated by angiotensin II type 1 receptor-activating antibodies. *Transplantation.* 2012;94:8–13.
196. Reinsmoen N., Lai C.-H., Heidecke H., Haas M., Cao K., Ong G., Naim M., Wang Q., Mirocha J., Kahwaji J., et al. Anti-angiotensin type 1



- receptor antibodies associated with antibody mediated rejection in donor HLA antibody negative patients. *Transplantation*. 2010;90:1473–1477.
197. Taniguchi M., Rebellato L.M., Cai J., Hopfield J., Briley K.P., Haisch C.E., Catrou P.G., Bolin P., Parker K., Kendrick W.T., et al. Higher risk of kidney graft failure in the presence of anti-angiotensin II type-1 receptor antibodies. *Am. J. Transplant*. 2013;13:2577–2589.
198. Leary J., Demetris A., Philippe A., Freeman R., Cai J., Heidecke H., Smith C., Hart B., Jennings L., Catar R., et al. Non-HLA Antibodies Impact on C4d Staining, Stellate Cell Activation and Fibrosis in Liver Allografts. *Transplantation*. 2017;101:2399–2409.
199. Wu C., Jin X., Tsueng G., Afrasiabi C., Su A. BioGPS: Building your own mash-up of gene annotations and expression profiles. *Nucleic Acids Res*. 2016;44:D313–D316.
200. Ohe H., Uchida Y., Yoshizawa A., Hirao H., Taniguchi M., Maruya E., Yurugi K., Hishida R., Maekawa T., Uemoto S., et al. Association of anti-human leukocyte antigen and anti-angiotensin II type 1 receptor antibodies with liver allograft fibrosis after immunosuppression withdrawal. *Transplantation*. 2014;98:105–111.
201. Silva-Filho J.L., Caruso-Neves C., Pinheiro A.A. Angiotensin II type-1 receptor (AT1R) regulates expansion, differentiation, and functional capacity of antigen-specific CD8(+) T cells. *Sci. Rep*. 2016;6:35997.
202. Cabral-Marques O., Marques A., Melvær Giiil L., De Vito R., Rademacher J., Günther J., Lange T., Humrich J., Klapa S., Schinke S., et al. GPCR-specific autoantibody signatures are associated with physiological and pathological immune homeostasis. *Nat. Commun*. 2018;9:5224.
203. Kanda Y. Investigation of the freely available easy-to-use software 'EZR' for medical statistics. *Bone Marrow Transplant*. 2013;48:452–458.
204. Harris A.C., Young R., Devine S., Hogan W.J., Ayuk F., Bunworasate U., Chanswangphuwana C., Efebera Y.A., Holler E., Litzow M., et al. International, Multicenter Standardization of Acute Graft-versus-Host Disease Clinical Data Collection: A Report from the Mount Sinai Acute

- GVHD International Consortium. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2016;22:4–10.
205. Jagasia M.H., Greinix H.T., Arora M., Williams K.M., Wolff D., Cowen E.W., Palmer J., Weisdorf D., Treister N.S., Cheng G.S., et al. National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: I. The 2014 Diagnosis and Staging Working Group report. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2015;21:389–401.
206. Bradford K.L., Pearl M., Kohn D.B., Weng P., Yadin O., Bowles V., De Oliveira S.N., Moore T.B. AT1R Activating Autoantibodies in Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2020;26:2061–2067.
207. Riemekasten G., Philippe A., Nather M., Slowinski T., Muller D.N., Heidecke H., Matucci-Cerinic M., Czirjak L., Lukitsch I., Becker M., et al. Involvement of functional autoantibodies against vascular receptors in systemic sclerosis. *Ann. Rheum. Dis.* 2011;70:530–536.
208. Gunther J., Kill A., Becker M.O., Heidecke H., Rademacher J., Siegert E., Radic M., Burmester G.R., Dragun D., Riemekasten G. Angiotensin receptor type 1 and endothelin receptor type A on immune cells mediate migration and the expression of IL-8 and CCL18 when stimulated by autoantibodies from systemic sclerosis patients. *Arthritis Res. Ther.* 2014;16:R65.
209. Luft T., Dietrich S., Falk C., Conzelmann M., Hess M., Benner A., Neumann F., Isermann B., Hegenbart U., Ho A.D., et al. Steroid-refractory GVHD: T-cell attack within a vulnerable endothelial system. *Blood.* 2011;118:1685–1692.
210. Porkholm M., Bono P., Saarinen-Pihkala U.M., Kivivuori S.M. Higher angiopoietin-2 and VEGF levels predict shorter EFS and increased non-relapse mortality after pediatric hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant.* 2013;48:50–55.
211. Ueda N., Chihara D., Kohno A., Tatekawa S., Ozeki K., Watamoto K., Morishita Y. Predictive Value of Circulating Angiopoietin-2 for Endothelial Damage-Related Complications in Allogeneic

- Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2014;20:1335–1340.
212. Li A., Bhatraju P.K., Chen J., Chung D.W., Hilton T., Houck K., Pao E., Weiss N.S., Lee S.J., Davis C., et al. Prognostic Biomarkers for Thrombotic Microangiopathy after Acute Graft-versus-Host Disease: A Nested Case-Control Study. *Transplant. Cell. Ther.* 2021;27:308.e1–308.e8.
213. Lefaucheur C., Viglietti D., Bouatou Y., Philippe A., Pievani D., Aubert O., Duong Van Huyen J.P., Taupin J.L., Glotz D., Legendre C., et al. Non-HLA agonistic anti-angiotensin II type 1 receptor antibodies induce a distinctive phenotype of antibody-mediated rejection in kidney transplant recipients. *Kidney Int.* 2019;96:189–201.
214. Xu Q., McAlister V.C., Leckie S., House A.A., Skaro A., Marotta P. Angiotensin II type I receptor agonistic autoantibodies are associated with poor allograft survival in liver retransplantation. *Am. J. Transplant.* 2020;20:282–288.
215. Gerlach U.A., Lachmann N., Ranucci G., Sawitzki B., Schoenemann C., Pratschke J., Dragun D., Pascher A. Non-HLA Antibodies May Accelerate Immune Responses After Intestinal and Multivisceral Transplantation. *Transplantation.* 2017;101:141–149.
216. Pearl M.H., Chen L., ElChaki R., Elashoff D., Gjertson D.W., Rossetti M., Weng P.L., Zhang Q., Reed E.F., Chambers E.T. Endothelin Type A Receptor Antibodies Are Associated With Angiotensin II Type 1 Receptor Antibodies, Vascular Inflammation, and Decline in Renal Function in Pediatric Kidney Transplantation. *Kidney Int. Rep.* 2020;5:1925–1936.
217. Miedema J., Schreurs M., van der Sar-van der Brugge S., Paats M., Baart S., Bakker M., Hoek R., Dik W.A., Endeman H., Van Der Velden V., et al. Antibodies Against Angiotensin II Receptor Type 1 and Endothelin A Receptor Are Associated With an Unfavorable COVID19 Disease Course. *Front. Immunol.* 2021;12:684142.
218. Yaguchi S., Ogawa Y., Shimmura S., Kawakita T., Hatou S., Satofuka S., Nakamura S., Imada T., Miyashita H., Yoshida S., et al. Angiotensin II type 1 receptor antagonist attenuates lacrimal gland, lung, and liver

- fibrosis in a murine model of chronic graft-versus-host disease. PLoS ONE. 2013;8:e64724.
219. Papp M., Li X., Zhuang J., Wang R., Uhal B.D. Angiotensin receptor subtype AT(1) mediates alveolar epithelial cell apoptosis in response to ANG II. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2002;282:L713–L718.
220. Bataller R., Sancho-Bru P., Gines P., Lora J.M., Al-Garawi A., Sole M., Colmenero J., Nicolas J.M., Jimenez W., Weich N., et al. Activated human hepatic stellate cells express the renin-angiotensin system and synthesize angiotensin II. *Gastroenterology.* 2003;125:117–125.

# ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Πίνακας 1: Κριτήρια για την διάγνωση ΤΑ-ΤΜΑ

Κριτήρια	BMT-CTN, 2005	IWG, 2007	Jodele, 2014
Παράμετροι	Παρόντα όλα τα κριτήρια	Παρόντα όλα τα κριτήρια	≥ 4 of 7 κριτήρια σε ≥ 2 περιπτώσεις εντός 14 ημερών
Αναιμία ή αυξημένες ανάγκες για RBC μεταγγίση	ΝΑΙ	ΝΑΙ	ΝΑΙ
Θρομβοπενία νέας έναρξης, >50% μείωση των PLT και αύξηση αναγκών για PLT μετάγγιση	ΝΑΙ	ΝΑΙ	ΝΑΙ
Σχιστοκύτταρα	ΝΑΙ (≥ 2/HPF)	ΝΑΙ (>4%)	ΝΑΙ
Υψηλή LDH	ΝΑΙ	ΝΑΙ	ΝΑΙ
Χαμηλή απποσφαιρίνη	-	ΝΑΙ	-
Υπέρταση	-	-	ΝΑΙ
Πρωτεинуρία	-	-	ΝΑΙ
Υψηλό sC5b-9	-	-	ΝΑΙ
Νεφρική δυσλειτουργία	ΝΑΙ	-	-

**Πίνακας 2:** Διαφορική διάγνωση κλινικού συνδρόμου πνευμονικής βλάβης από μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων.

Χαρακτηριστικά	IPS	DAH	PERDS
Επιδημιολογία	Συχνότερο μετά από alloSCT	Ίση επίπτωση μετά από alloSCT & autoSCT	Συχνότερο μετά από autoSCT
Μέση τιμή ημέρας έναρξης συνδρόμου	30-40 ημέρες μετά την SCT	20-25 ημέρες μετά την SCT	Από 3 ημέρες πριν, ως και 7 μέρες μετά την εγκατάσταση των ουδετεροφίλων
Σχέση με την πηγή του μοσχεύματος	OXI	OXI	Αφορά την περι-μεταμοσχευματική φάση
Κλινική εικόνα	Ταχεία εξέλιξη σε αναπνευστική ανεπάρκεια	Σταδιακά περισσότερο αιματηρό βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα	Συστηματικές εκδηλώσεις, όπως πυρετός και εξάνθημα
Ιστολογικά ευρήματα	Διάχυτη Κυψελιδική βλάβη	Διάχυτη Κυψελιδική βλάβη	Διάχυτη Κυψελιδική βλάβη
Παθογενετικοί μηχανισμοί	TNFa	Διάφορες κυτταροκίνες	GM-CSF, G-CSF
Ανταπόκριση στα κορτικοστεροειδή	Φτωχή ανταπόκριση σε στεροειδή. Μερική ανταπόκριση σε παράγοντες anti-TNF	Μέτρια ανταπόκριση σε στεροειδή	Εξαιρετική ανταπόκριση σε στεροειδή
Πρόγνωση	Εξαιρετικά πτωχή	Μέτρια προς φτωχή	Καλή

**Πίνακας 3:** Βιοδείκτες που σχετίζονται με σύνδρομα μετά τη μεταμόσχευση που σχετίζονται με ενδοθηλιακή δυσλειτουργία.

Βιοδείκτης	VOD/SOS	TAM	IPS/DAH	GVHD
Παράγοντες Πήξης				
<b>VWF</b>	↑	↑	----	↑
<b>TM</b>	↑	↑	----	↑
<b>PAI1</b>	↑	----	----	----
Μόρια κυτταρικής προσκόλλησης				
<b>ICAM</b>	↑	----	↑	↑
<b>VCAM</b>	----	↑	↑	----
<b>E-selectin</b>	↑	↑	----	↑
<b>P-selectin</b>	↑	----	----	----
Προ-φλεγμονώδεις κυτοκίνες				
<b>TNFα</b>	↑	----	↑	↑
<b>IL6</b>	----	----	----	↑
<b>sIL2R</b>	↑	----	----	↑
Παράγοντες αγγειογένεσης				
<b>CEC</b>	----	----	----	↑
<b>VEGF</b>	↑	----	----	----
<b>Ang2</b>	----	----	↑	↑
Panels				
<b>EASIX</b>	↑	↑	----	↑
<b>MAGIC (ST2, REG3a)</b>	----	----	----	↑

TM, θρομβομοντουλίνη; PAI1, αναστολέας ενεργοποιητή πλασμινογόνου-1; ICAM, μόριο διακυτταρικής προσκόλλησης. VCAM, μόριο προσκόλλησης αγγειακών κυττάρων. TNFα, παράγοντας νέκρωσης όγκων. IL6, ιντερλευκίνη-6; sIL2R, διαλυτός υποδοχέας IL2. CEC, κυκλοφορούντα ενδοθηλιακά κύτταρα. VEGF, αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας. Ang2, αγγειοποιίνη-2; EASIX, ενδοθηλιακή ενεργοποίηση και δείκτης στρες. ST2, καταστολή της ογκογένεσης 2.

**Πίνακας 4:** Χαρακτηριστικά ασθενών στις επιμέρους κοόρτες της μελέτης

Κοόρτες (1&2)	TA-TMA N=20	GVHD χωρίς TA-TMA N=32	Στατιστικά δεδομένα
<b>Φύλο</b> (Άρρεν/Θήλυ)	13/7	16/16	$p = n.s$
<b>Ηλικία</b> , μέση τιμή (εύρος)	49.5 years, (35–65)	53.5 years, (27–68)	$p = n.s$
<b>Νόσος (%)</b>			
AML	10/20	17/32	$p = n.s$
MDS	3/20	3/32	
ALL	5/20	6/32	
MPN	2/20	5/32	
CLL		1/32	
<b>Δότης</b>			
MUD	11/20	12/32	$p = n.s$
MMUD	5/20	8/32	
MRD	4/20	12/32	
<b>Πηγή Μοσχεύματος</b> PBSC	20/20	32/32	$p = n.s$
<b>Θεραπεία προετοιμασίας</b>			
MAC	14/20	21/32	$p = n.s$
RIC	6/20	11/32	
<b>GVHD</b>			
Moderate Chronic	1/20	11/32	$p = n.s$
Severe Chronic	1/20	13/32	
Acute (grade-II)	9/20	12/32	
Severe Acute (III-IV)	5/20	8/32	
<b>Κλινική έκβαση **</b>			
Alive in CR	8/20	18/32	$p = n.s$
Dead	12/20	14/32	
Cause of Death	1/20	5/32	
Relapse	10/20	NA	
TMA	1/20	9/32	
NRM <sup>&amp;</sup>			

\* TMA: Η κοόρτη 1 αποτελούνταν από 20 ασθενείς με TMA με ή χωρίς GVHD, η κοόρτη 2 αποτελούνταν από 32 ασθενείς με GVHD χωρίς TMA, \*\* κατά τον χρόνο της τελευταίας παρακολούθησης, AML: οξεία μυελογενής λευχαιμία, MDS: μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο, ALL: οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία, MPN: μυελοπολλαπλασιαστικό νεόπλασμα, CLL: χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία, MUD: συμβατός μη συγγενής δότης, MMUD: μη-συμβατός μη-συγγενής δότης, MRD: συμβατός συγγενής δότης, PBSC: αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα περιφερικού αίματος, MAC: μυελοαφανιστικό σχήμα προετοιμασίας, RIC: σχήμα προετοιμασίας μειωμένης έντασης, & NRM: θνητότητα μη-σχετιζόμενη με υποτροπή της βασικής νόσου.



**Πίνακας 5:** Πολυπαραγοντική Ανάλυση της μη-σχετιζόμενης με υποτροπή της νόσου θνησιμότητας (NRM)

Παράμετρος	Hazard Ratio	95% CI	Στατιστική Σημαντικότητα
Όλοι οι ασθενείς της μελέτης (Κοόρτη 1 και 2)			
Ang2 ορού (άνωθεν έναντι χαμηλότερα της μέσης τιμής)	3.298	1.168–9.307	p = 0.024
TA-TMA και GVHD έναντι GVHD επί απουσία TA-TMA	2.916	1.133–7.506	p = 0.026
Ασθενείς με TA-TMA (Κοόρτη 1)			
Ang2 ορού (άνωθεν έναντι χαμηλότερα της μέσης τιμής)	7.859	1.296–47.650	p = 0.025