

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΛΟΙΜΩΞΙΟΛΟΓΙΑ»
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Ε. Ι. ΓΙΑΜΑΡΕΛΛΟΣ-ΜΠΟΥΡΜΠΟΥΛΗΣ

ΝΙΚΟΛΑΟΥ ΓΕΩΡΓΙΟΣ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΕΝΤΑΣΗ ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΟΥΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ
ΣΤΗ ΝΟΣΟ COVID - 19

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: Ηρακλής Τσαγκάρης,
Διευθυντής- Καθηγητής Β΄ Κλινικής Εντατικής
Θεραπείας

ΑΘΗΝΑ 2024

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΗΝ ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΓΛΩΣΣΑ

Εισαγωγή: Φλεγμονή είναι η φυσιολογική απόκριση του οργανισμού που ενεργοποιείται ως αντίδραση μετά από την επίδραση διαφόρων βλαπτικών παραγόντων. Αποτελεί πολύπλοκη διαδικασία, κατά την οποία εναλλάσσονται διάφορα κύτταρα και μεσολαβητές, που συνεργάζονται για την εξάλειψη του προσβλητικού παράγοντα και την προώθηση της επούλωσης. Ωστόσο, η υπερβολική ή ανεξέλεγκτη φλεγμονή μπορεί να προκαλέσει βλάβη στους ιστούς και να συμβάλει στην ανάπτυξη πολλών ασθενειών, συμπεριλαμβανομένων των λοιμώξεων. Το πρόσφατο ξέσπασμα της νόσου του κορωνοϊού COVID -19 οδήγησε σε μια παγκόσμια κρίση υγείας, με εκατομμύρια κρούσματα και εκατοντάδες χιλιάδες θανάτων παγκοσμίως. Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να μελετηθεί η ανοσολογική συμπεριφορά σε ασθενείς με βαρεία νόσηση COVID-19. Μελετήθηκαν οι αλλαγές συγκεκριμένων μεσολαβητών και παρουσιάζονται οι συσχετίσεις των μετρήσεων αυτών.

Μέθοδος: Σε αυτή την μελέτη, διερευνήθηκε ο πληθυσμός βαρέων πασχόντων διασωληνομένων με COVID-19, ενήλικες: άνδρες – γυναίκες, στην ΜΕΘ του Π.Γ.Ν ΑΤΤΙΚΟΝ. Είκοσι διασωληνομένοι ασθενείς με ενεργό COVID-19 εντάχθηκαν στην έρευνα. Αναλύθηκαν ως προς τον αριθμό κυκλοφορούντων φλεγμονωδών μεσολαβητών. Δείγματα αίματος (γενικής- πήξεως) συλλέχθηκαν.

Αποτέλεσμα: Ελέγχθηκαν οι κυκλοφορούσες συγκεντρώσεις των ιντερλευκινών IL-6, IL-17, IL-22, και οι παράγοντες FGF-23, PDGF-A, SPG-130. Διερευνήθηκαν οι διαφορές των τιμών μεταξύ των ασθενών που επέζησαν και εκείνων που απεβίωσαν, κατά την 1η και 7η ημέρα της δειγματοληψίας. Παρουσιάστηκε ισχυρή συσχέτιση μεταξύ της ιντερλευκίνης IL-6 και του παράγοντα SPG-130.

ΛΕΞΕΙΣ -ΚΛΕΙΔΙΑ: IL-6, IL-17, IL-22, FGF-23, PDGF-A, SPG-130.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΗΝ ΑΓΓΛΙΚΗ ΓΛΩΣΣΑ

Introduction: Inflammation is normal response of the organism that is activated reactively after the influence of various harmful factors. It is a complex process involving various cells and mediators that work together to eliminate the offending agent and promote healing. However, excessive or uncontrolled inflammation can cause tissue damage and contribute to the development of many diseases, including infections. The recent outbreak of the coronavirus disease COVID -19 has led to a global health crisis, with millions of cases and hundreds of thousands of deaths worldwide. The purpose of the present study is to study the immune behavior in patients with severe disease of COVID-19. The changes of specific mediators were studied and the correlations of these measurements are presented.

Method: In this study, the population of seriously ill intubated patients with COVID-19, adults: men - women, in the ICU of U.G.H ATTIKON they were analyzed for the number of circulating inflammatory mediators. Twenty patients intubated with active COVID-19 were included in the study. Blood (general - coagulation) samples were collected.

Result: Circulating concentrations of the interleukins IL-6, IL-17, IL-22, and the factors FGF-23, PDGF-A, SPG-130 were assayed. Differences in values between patients who survived and those who died on days 1 and 7 of sampling were investigated. A strong correlation was shown between interleukin IL-6 and SPG-130 agent.

KEY -WORDS: IL-6, IL-17, IL-22, FGF-23, PDGF-A, SPG-130.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον καθηγητή κ.ο Ευάγγελο Γιαμαρέλλο – Μπουρμπούλη, Καθηγητή Παθολογίας –Λοιμώξεων -Διευθυντή Προγράμματος μεταπτυχιακών σπουδών ‘Λοιμωξιολογία’, Δ΄ Παθολογική κλινική, Ιατρική σχολή ΕΚΠΑ, που με την επίβλεψη, την καθοδήγησή του και την διάθεση των πόρων του, συνέβαλε στην εκπόνηση της διπλωματικής μου εργασίας.

Ακολούθως, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ.ο Ηρακλή Τσαγκάρη, Διευθυντή- Καθηγητή Β΄ Κλινικής Εντατικής Θεραπείας, για την επίβλεψη και την καθοδήγησή του.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θέλω να απευθύνω στον κ.ο Γιώργο Θ. Δημόπουλο, Καθηγητή του Πανεπιστημίου Αθηνών, ο οποίος με την καθοδήγηση και εισήγησή του συνετέλεσε στην συμμετοχή μου στο Π.Μ.Σ. της Λοιμωξιολογίας.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ.ο Σπυρίδων Καλλιάφα, αρμόδιο για την γραμματειακή υποστήριξη. Καθώς, τον κ.ο Αθανάσιο Σιαμπάνο και την κ.α Κωνσταντίνα Δάκου για την στατιστική τους αρωγή.

Δεν θα μπορούσα, φυσικά, να μην εκφράσω τις ευχαριστίες μου σε όλους τους καθηγητές του μεταπτυχιακού προγράμματος για την παροχή των πολύτιμων γνώσεων τους.

Τέλος, θέλω να ευχαριστήσω την οικογένεια και τους φίλους μου, για την απαραίτητη ηθική συμπαράσταση καθ' όλη τη διάρκεια διεκπεραίωσης της μεταπτυχιακής μου εργασίας.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΗΝ ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΓΛΩΣΣΑ.....σελ.1	σελ.1
ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΗΝ ΑΓΓΛΙΚΗ ΓΛΩΣΣΑ.....σελ.2	σελ.2
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....σελ.3	σελ.3
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ.....σελ.4	σελ.4
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1:σελ.6 - 17	σελ.6 - 17
1. Εισαγωγήσελ.6	σελ.6
1.1. SARS - CoV - 2.....σελ.6	σελ.6
1.2. Μετατρεπτικό ένζυμο - 2 (ACE -2).....σελ.6	σελ.6
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2:σελ.7	σελ.7
2. Φλεγμονώδες απόκριση.....σελ.7	σελ.7
2.1. Μηχανισμός.....σελ.7	σελ.7
2.2. Ενεργοποίηση φυσικής ανοσίας.....σελ.7	σελ.7
2.3. Ρόλος των υποδοχέων.....σελ.8	σελ.8
2.4. Σύνδρομο οξείας αναπνευστικής ανεπάρκειας.....σελ.9	σελ.9
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3:σελ.9	σελ.9
3. Σύνδρομο καταιγίδας κυτταροκινώνσελ.9	σελ.9
3.1. Παθογένειασελ.9	σελ.9
3.2. Μηχανισμός φυσικής και επίκτητης ανοσίας.....σελ.10	σελ.10
3.3. Ρόλος ιντερφερόνης.....σελ.11	σελ.11
3.4. Ερυθρά αιμοσφαίρια.....σελ.12	σελ.12
3.5. Απελευθέρωση αιμοσφαιρίνης.....σελ.13	σελ.13
3.6. Διαταραχές λευκών αιμοσφαιρίωνσελ.13	σελ.13
3.7. Ρόλος φαγοκυττάρωνσελ.14	σελ.14
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4:σελ.15	σελ.15
4. Κυτταροκίνες.....σελ.15	σελ.15
4.1. Ορισμός.....σελ.15	σελ.15
4.2. Ιντερλευκίνη IL-17.....σελ.15	σελ.15
4.3. Ιντερλευκίνη IL-22.....σελ.16	σελ.16
4.4. Παράγοντας FGF -23σελ.16	σελ.16
4.4. Παράγοντας PDGF.....σελ.17	σελ.17
4.4. Παράγοντας GP -130σελ.17	σελ.17

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ:σελ.18 - 34	
5. ΣΚΟΠΟΣ:.....σελ.18	
6. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ:.....σελ.18	
6.1. Ερευνητικός σχεδιασμός:.....σελ.18	
6.2. Δείγμα της μελέτης:.....σελ.18	
6.3. Συλλογή των δειγμάτων:.....σελ.18	
6.4. Εργαστηριακή μέθοδος επεξεργασίας των δειγμάτων:.....σελ.19	
6.5. Ηθική δεοντολογία:.....σελ.20	
6.6. Κριτήρια ένταξης - αποκλεισμού:.....σελ.20	
7. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ:.....σελ.20	
7.1. Μεθοδολογία:.....σελ.20	
7.2. Καταληκτικά σημεία:.....σελ.20	
7.3. Χαρακτηριστικά πληθυσμού:.....σελ.21	
8. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ:.....σελ.21	
9. ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑσελ.31	
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ:.....σελ.35 - 42	
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ:.....σελ.43 - 46	
1. ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ:.....σελ.43	
2. ΠΡΑΚΤΙΚΟ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΥ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟΥ:.....σελ.44	
3. ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΜΕΝΗ ΣΥΓΚΑΤΑΘΕΣΗ :.....σελ.45	
4. ΥΠΕΥΘΥΝΗ ΔΗΛΩΣΗ:.....σελ.46	

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. SARS - CoV - 2

Η πανδημία της COVID-19 έχει προκαλέσει αύξηση νοσηλείας σε σημαντικό αριθμό ασθενών παγκοσμίως¹. Η νόσηση από COVID-19 προκαλείται από έναν νέο τύπο κορωναϊού τον SARS-CoV-2, που στοχεύει κυρίως το αναπνευστικό σύστημα. Οι νοσηλεύόμενοι ασθενείς με COVID-19 συνήθως αντιμετωπίζουν λοιμώξεις, σοκ, πηκτικές διαταραχές, σύνδρομο οξείας αναπνευστικής και πολυοργανικής ανεπάρκειας². Ο νέος κορωναϊός, ανήκει στην υποοικογένεια Orthocoronavirinae της οικογενείας Coronaviridae και στο γένος των Βήτα-Κορωναϊών³. Είναι σφαιρικοί ιοί με έλυτρο και φέρουν ως γονιδίωμα ένα μονόκλωνο RNA θετικής πολικότητας⁴. Μεταδίδεται μέσω της άμεσης ή έμμεσης έκθεσης της αναπνευστικής οδού και δεδομένης της υψηλής έκφρασης του υποδοχέα ACE-2 στα κυψελιδικά επιθηλιακά κύτταρα του πνευμονικού παρεγχύματος⁵ οδηγεί σε πολυοργανική ανεπάρκεια, εξαιτίας της άμεσης τοξικότητας του⁶.

1.2. Μετατρεπτικό ένζυμο - 2 (ACE-2)

Κατά την έναρξη της μόλυνσης από τον ιό, το ανοσοποιητικό σύστημα του ξενιστή ενεργοποιεί μια φλεγμονώδες απόκριση για την εξάλειψη του και την έναρξη της επιδιόρθωσης των ιστών. Αυτή η απόκριση περιλαμβάνει την απελευθέρωση διαφόρων προφλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως την ιντερλευκίνη IL-1B, IL-6, και τον παράγοντα νέκρωσης TNF-a, από ανοσοκύτταρα, ιδιαίτερα μακροφάγα και T-κύτταρα. Ο ιός εισέρχεται στα κύτταρα-ξενιστές μέσω του υποδοχέα του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης τύπου -2 (ACE-2), ο οποίος εκφράζεται ευρέως σε υποκείμενους ιστούς, συμπεριλαμβανομένων των πνευμόνων, της καρδιάς και των νεφρών.⁷ Η πρωτεΐνη ακίδας S του SARS-CoV-2 συνδέεται με τον υποδοχέα του ACE-2 και στη συνέχεια εισέρχεται στα κύτταρα-ξενιστές, για να αντιγραφεί και να βλάψει κύτταρα και όργανα. Το ένζυμο ACE-2 παίζει κεντρικό ρόλο στη φλεγμονή, ενώ η απορρύθμιση του μπορεί να επιδεινώσει τον ιό μέσω του

συστήματος ρενίνης-αγγειοτενσίνης, του τραυματισμού των πνευμόνων και της συμμετοχής φλεγμονωδών αποκρίσεων⁸.

2. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΠΟΚΡΙΣΗΣ

2.1. Φλεγμονώδες αντίδραση

Χαρακτηριστικό του παθοφυσιολογικού μηχανισμού της COVID-19 λοίμωξης είναι η βλάβη των επιθηλιακών κυττάρων και η φλεγμονή που μπορεί να οδηγήσει στη δημιουργία ενός προθρομβωτικού περιβάλλοντος⁹. Η ενδοθηλιακή βλάβη που προκαλείται, οδηγεί σε υπερβολική παραγωγή θρομβίνης, αναστείλει την ινωδόλυση και ενεργοποιεί το συμπλήρωμα. Έτσι, θα ξεκινήσει η θρομβοφλεγμονή, που έχει ως αποτέλεσμα την εναπόθεση μικροθρόμβων και την αγγειακή δυσλειτουργία¹⁰. Η διαταραγμένη ανοσολογική απόκριση και το σύνδρομο απελευθέρωσης κυτταροκινών, συμβαίνουν λόγω της υπεραντίδρασης της φυσικής ανοσίας και είναι χαρακτηριστικά της σοβαρής πάθησης⁹. Η απορρύθμιση του συστήματος ρενίνης -αγγειοτενσίνης-αλδοστερόνης (RAAS) συμβαίνει επειδή ο ACE-2 είναι ισχυρός αντιρρυθμιστής του. Συγκεκριμένα, ο υποδοχέας διασπά την αγγειοτενσίνη I σε ανενεργή αγγειοτενσίνη 1-9 και την αγγειοτενσίνη II σε αγγειοτενσίνη 1-7, η οποία έχει αγγειοδιασταλτικές και αντί-θρομβωτικές ιδιότητες¹¹.

Μελέτες έχουν δείξει ότι, οι ασθενείς με COVID-19 που αναπτύσσουν σοβαρή νόσο έχουν αυξημένα τα επίπεδα διαφόρων κυτταροκινών, μια κατάσταση που ονομάζεται καταιγίδα κυτταροκινών ή σύνδρομο απελευθέρωσης κυτταροκινών (CCS). Αυτή η υπερβολική και ανεξέλικτη απελευθέρωση δύναται να προκαλέσει συστηματική φλεγμονή, οδηγώντας σε βλάβη πολλαπλών οργάνων και ιστών.

2.2. Ενεργοποίηση φυσικής ανοσίας

Ο SARS-CoV-2 έχει την ικανότητα να ενεργοποιεί την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών στον οργανισμό, μια ομάδα μορίων σηματοδότησης πολυπεπτιδίων που μπορούν να επάγουν και να ρυθμίζουν αρκετές κυτταρικές βιολογικές διεργασίες, διεγείροντας τους κυτταρικούς

υποδοχείς. Σχετίζεται με την ενεργοποίηση της φυσικής ανοσίας προκαλώντας, από τη μια αύξηση των ουδετερόφιλων, των μονοπύρηνων φαγοκυττάρων και των φυσικών φονικών κυττάρων, ενώ από την άλλη την μείωση των Τ κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων των CD4 και CD8 κυττάρων¹². Συγκεκριμένα, εγείρει την αύξηση της έκκρισης ή παραγωγής IL-6 και IL-8, με ταυτόχρονη μείωση των CD4 και CD8 και Τ κυττάρων¹². Ειδικά ανοσολογικά προφίλ δείχνουν τις ιντερλευκίνες (όπως IL-1, IL-4, IL-6, IL-7, IL-10, IL-12, IL-17, IL-18 και IL-22)¹², τις χημειοκίνες (IP-10, CCL2/MCP1, CXCL1, CXCL5)¹³, τα κύτταρα (IFN-γ, TNF-α, TGF-β, NF-Kb)¹⁴ και παράγοντες (FGF-23, PDGF-A και SGP-130) να παίζουν σημαντικό ρόλο στη φλεγμονώδη απόκριση του οργανισμού κατά τη λοίμωξη SARS-CoV-2¹².

2.3. Ρόλος των υποδοχέων

Η είσοδος του ιού στα κύτταρα του ξενιστή προκαλεί έντονη διέγερση της ανοσολογικής απόκρισης του ξενιστή. Σχετικά με την ανοσοαπόκριση του ξενιστή στη λοίμωξη COVID-19, αρχικά ο ιός εισέρχεται μέσω της ρινοστοματικής οδού στα κύτταρα που εκφράζουν τον ACE2 υποδοχέα, όπως είναι τα κυψελιδικά επιθηλιακά κύτταρα¹⁴. Μόλις ο ιός προσβάλλει το κύτταρο στόχο, το ανοσοποιητικό σύστημα του ξενιστή ενεργοποιείται. Η αναγνώριση του ιού γίνεται από υποδοχείς αναγνώρισης παθογόνων των PRRs που υπάρχουν σε υποδοχείς TLRs των ανοσοκυττάρων. Οι πρώτοι TLRs που αναγνωρίζουν τον ιό είναι οι TLR 3, 7 και 8, γεγονός που οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή ιντερφερόνης τύπου I-IFN¹⁵. Η αντιμετώπιση του ιού γίνεται αρχικά από τα κύτταρα της φυσικής ανοσίας και συγκεκριμένα πραγματοποιείται μέσω των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων APC, δηλαδή των δενδριτικών κυττάρων και των μακροφάγων¹⁶. Η αντιγονοπαρουσίαση ακολουθείται από την έκκριση προφλεγμονώδων κυτοκινών. Η φυσική ανοσία πραγματοποιείται με μη δομικές πρωτεΐνες -NSPs που επηρεάζουν την παραγωγή κυτταροκινών¹⁴. Η χημική ανοσία έναντι του SARS-CoV-2 είναι παρόμοια με εκείνη άλλων κορωνοϊών και περιλαμβάνει την παραγωγή IgGs και IgMs αντισωμάτων. Τα IgA, IgG και IgM αντισώματα ανιχνεύονται μετά την έναρξη των συμπτωμάτων σε διαφορετικές χρονικές περιόδους. Παρατεταμένα υψηλά IgG αντισώματα ανιχνεύονται για περισσότερο διάστημα, ενώ τα IgMs υποχωρούν μετά από τρεις μήνες¹⁷.

2.4. Σύνδρομο οξείας αναπνευστικής ανεπάρκειας: ARDS

Παράλληλα με τις πρωτογενείς λοιμώξεις των πνευμόνων και των ανώτερων αεραγωγών, το RNA του SARS-CoV-2 ανιχνεύεται και σε διαφορετικά όργανα. Ενώ είναι κυρίως αναπνευστικός ιός, ωστόσο έχει τη δυνατότητα μόλυνσης πολλαπλών οργάνων. Η πολυοργανική ανεπάρκεια σε ασθενείς με COVID-19 νοσηλευόμενους σε ΜΕΘ επιφέρει υψηλότερο ποσοστό νοσηρότητας και θνησιμότητας, σε σύγκριση με άλλους ασθενείς της νόσου που νοσηλεύονται σε γενικά τμήματα³. Η COVID-19 ταξινομείται σε χαμηλής παθογονικότητας που μολύνει το ανώτερο αναπνευστικό και σε υψηλής παθογονικότητας, που μολύνει το κατώτερο αναπνευστικό, προκαλώντας το σύνδρομο οξείας αναπνευστικής ανεπάρκειας -ARDS. Ο σοβαρός τραυματισμός των πνευμόνων μπορεί να προκληθεί από δύο κύριους μηχανισμούς, είτε από ιογενή λοίμωξη, είτε από υπερενεργοποίηση του ανοσοποιητικού¹⁸. Τα αναπνευστικά συμπτώματα καθώς και τα επακόλουθα σε δευτερεύοντα όργανα, φαίνεται να διαρκούν για μεγάλο χρονικό διάστημα μετά την απομάκρυνση του ιού και μπορούν να προκαλέσουν σημαντική μείωση στη ποιότητα ζωής των επιζώντων³. Κύριο παθογόνο χαρακτηριστικό της COVID-19 είναι η σοβαρή πνευμονία που εξελίσσεται σε ARDS, η οποία χαρακτηρίζεται από διάχυτη ενδαγγειακή βλάβη με διήθηση μονοκυττάρων/μακροφάγων στο πνευμονικό χώρο και διάχυτη πάχυνση των κυψελιδικών τοιχωμάτων¹⁹.

3. ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΚΑΤΑΙΓΙΔΑΣ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ

3.1. Παθογένεια

Η ένταση της φλεγμονώδους αντίδρασης στην COVID-19 έχει σημαντικές επιπτώσεις στη διαχείριση και την πρόγνωση της νόσου. Η σοβαρότητα της νόσου και η εξέλιξή της συνδέονται περαιτέρω με την απορρύθμιση πολλαπλών συστατικών τόσο της φυσικής, όσο και της επίκτητης ανοσολογικής απόκρισης, που οδηγεί σε καταιγίδα κυτταροκινών και σε σοβαρή παθογένεια²⁰. Οποιοσδήποτε πιθανές θεραπείες θα πρέπει να επικεντρώνονται, όχι μόνο στην άμεση θεραπεία της COVID-19 και στις στρατηγικές πρόληψής της, αλλά και στον έλεγχο των οξέων ανοσολογικών / φλεγμονωδών

αποκρίσεων, που έχουν ως αποτέλεσμα τη δημιουργία του ARDS και της πνευμονικής ίνωσης -PF²¹. Ενώ, οι επιστήμονες προσπαθούν να αναπτύξουν εμβόλια ή φάρμακα κατά του ιού, η ανοσολογική απόκριση του οργανισμού στον ιό αποδεικνύεται ο μεγαλύτερος οδηγός. Για παράδειγμα, η χρήση κορτικοστεροειδών τα οποία καταστέλλουν το ανοσοποιητικό σύστημα δεν συνίσταται, διότι μπορεί να βλάψει την ανοσολογική απόκριση ή να παρατείνει την κάθαρση του ιού²².

3.2. Μηχανισμός φυσικής και επίκτητης ανοσίας

Η αποτελεσματική απόκριση της φυσικής και επίκτητης ανοσίας στις ιογενείς λοιμώξεις, περιλαμβάνει την έκκριση προ-φλεγμονωδών κυτταροκινών και την ενεργοποίηση των T κυττάρων. Η επίμονη διέγερση των T κυττάρων στην COVID-19 λοίμωξη έχει σαν αποτέλεσμα την εξάντληση των CD4/CD8 των T κυττάρων, η οποία υποδηλώνει τη μείωση της λειτουργικότητας και της ικανότητας πολλαπλασιασμού τους²³. Η επαγόμενη ιστική βλάβη οδηγεί στην υπερέκκριση προ-φλεγμονωδών κυτταροκινών και στην στρατολόγηση προ-φλεγμονωδών κυττάρων, όπως τα κοκκιοκύτταρα και τα μακροφάγα. Το αποτέλεσμα είναι η στρατολόγηση λευκοκυττάρων και η συστηματική φλεγμονώδης απόκριση. Η κατάσταση αυτή ορίζεται ως σύνδρομο ενεργοποίησης μακροφάγων -MAS ή δευτερογενής αιμοφαγοκυτταρική λεμφοϊστοκυττάρωση -sHLH, ενώ η δημοφιλής ονομασία της είναι σύνδρομο καταιγίδας κυτταροκινών -CSS (cytokine storm syndrome)²⁴. Το CSS αντιπροσωπεύει μία ομάδα διαταραχών με φλεγμονώδη αιτιολογία που το τελικό τους αποτέλεσμα είναι η συστηματική φλεγμονή, η αιμοδυναμική αστάθεια, η πολυοργανική ανεπάρκεια και ο θάνατος²⁵. Αφού εισέλθει ο ιός στα κύτταρα του αναπνευστικού επιθηλίου, προκαλείται ανοσοαπόκριση με φλεγμονώδη αναπαραγωγή κυτταροκινών που συνοδεύεται από απόκριση ιντερφερόνης IFN²⁶. Κατά την διάρκεια της φυσικής ανοσοαπόκρισης στην ιογενή λοίμωξη, οι υποδοχείς αναγνώρισης προτύπων -PRRs, αναγνωρίζουν διαφορετικές μοριακές δομές που είναι χαρακτηριστικές για την εισβολή του ιού. Οι μοριακές δομές που αναγνωρίζουν ονομάζονται μοριακά πρότυπα που σχετίζονται με παθογόνα -PAMPs²⁴. Η δέσμευση των PAMPs από PRRs προκαλεί έναρξη της φλεγμονώδους αντίδρασης, με αποτέλεσμα τη μεταγραφή γονιδίων που σχετίζονται με κυτταροκίνες²⁶. Οι κύριοι μεταγραφικοί παράγοντες

που ενεργοποιούνται από PRRs είναι ο πυρηνικός παράγοντας κB (NfKB), η πρωτεΐνη ενεργοποίησης AP1 και οι παράγοντες απόκρισης ιντερφερόνης: IRF3, IRF7. Αυτοί οι μεταγραφικοί παράγοντες προκαλούν έκφραση γονιδίων που κωδικοποιούν κυτταροκίνες, χημειοκίνες και μόρια προσκόλλησης²⁷. Οι κυτταροκίνες παράγονται από διάφορα κύτταρα της φυσικής ανοσίας (μακροφάγα, δενδριτικά κύτταρα, NK) και από την επίκτητη ανοσία (τα T και B λεμφοκύτταρα)²⁸. Οι προ-φλεγμονώδεις ανοσοαποκρίσεις των Th κυττάρων και των CD14, CD16 μονοκυττάρων μεσολαβούνται από ανοσο-υποδοχείς συνδεδεμένους στη μεμβράνη. Ακολουθεί, η διείσδυση μακροφάγων και ουδετερόφιλων στον πνευμονικό ιστό με αποτέλεσμα την καταιγίδα κυτταροκίνης²⁸. Συγκεκριμένα, ο SARS-CoV-2 μπορεί να ενεργοποιήσει τα Th κύτταρα για να εκκρίνουν GM-CSF και IL-6. Ο GM-CSF ενεργοποιεί περαιτέρω τα CD14/CD16 φλεγμονώδη μονοκύτταρα για να παράγουν μεγάλες ποσότητες IL-6, TNF-α και άλλων κυτταροκινών²⁹.

3.3. Ρόλος ιντερφερόνης

Η παραγωγή ιντερφερόνης από τα ανοσοκύτταρα είναι ο πιο ισχυρός αντιικός μηχανισμός. Τα περισσότερα κύτταρα της φυσικής ανοσίας παράγουν ιντερφερόνη, των οποίων ο ρόλος είναι να παρεμποδίζουν άμεσα ή έμμεσα τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την απόπτωση και την ανοσορρύθμιση³⁰. Η μόλυνση με τον SARS-CoV-2 οδηγεί σε συνολική μείωση της μεταγραφής των αντιικών γονιδίων καθώς και σε μειωμένη παραγωγή ιντερφερόνης. Ως εκ τούτου, η μείωση της λειτουργικότητας της φυσικής ανοσίας σε συνδυασμό με την υπέρ-φλεγμονή, θα μπορούσε να είναι ένα αίτιο της σοβαρής μορφής COVID-19 λοίμωξης³¹. Εκτός από την ποσοτική μείωση των T- λεμφοκυττάρων, η μόλυνση με τον ιό ενισχύει την εξάντληση των κυτταροτοξικών T κυττάρων, μειώνοντας την ικανότητα απόκρισης έναντι στον ιό³². Έτσι, η εξασθενημένη παραγωγή IFN και η αποφυγή της σηματοδότησης τους στα ανοσοκύτταρα του περιφερικού αίματος, συμβάλλουν στον αναδιπλασιασμό του ιού και στη σοβαρή παθογένεση³³. Μετά την κάθαρση του αντιγόνου, τα περισσότερα κυτταροτοξικά T κύτταρα, υφίστανται απόπτωση. Στη συνέχεια δημιουργείται μια ομάδα T κυττάρων μνήμης, τα οποία προγραμματίζονται για την καταπολέμηση της επαναλοίμωξης. Τα CD4+ T κύτταρα μνήμης κατά την επαναδιέγερση, ενεργοποιούν B και άλλα κύτταρα του ανοσοποιητικού, ενώ τα

κυτταροτοξικά T κύτταρα μνήμης βοηθούν στην καταστροφή μολυσμένων κυττάρων³⁴. Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι οι πληθυσμοί των ρυθμιστικών και T κυττάρων μνήμης είναι μειωμένοι κατά τη διάρκεια της λοίμωξης. Το γεγονός αυτό, επιδεινώνει την φλεγμονώδη απόκριση με αποτέλεσμα την ενίσχυση της ιστικής βλάβης και την οργανική ανεπάρκεια³⁵.

3.4. Ερυθρά αιμοσφαίρια

Η λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων που απελευθερώνει κυτταροκίνες στην κυκλοφορία συμβάλλουν στην επιδείνωση της νόσου και αποτελεί επίσης κύριο χαρακτηριστικό της λοίμωξης από COVID-19. Η απελευθέρωση των κυτταροκινών IL-6, TNFα οδηγεί σε διακύμανση του μεγέθους των ερυθρών αιμοσφαιρίων, ενώ η απελευθέρωση των IL-1, TNFα και IFNγ μπορεί να μειώσουν την ερυθροποίηση και την παραγωγή της ερυθροποιητίνης από τους νεφρούς³⁶.

3.5. Απελευθέρωση αιμοσφαιρίνης

Παράλληλα με την απελευθέρωση κυτταροκινών, έχουμε και απελευθέρωση της ακυτταρικής αιμοσφαιρίνης CFH (Cell - free hemoglobin). Η CFH είναι μεσολαβητής της νόσου και κακός προγνωστικός δείκτης για τη σήψη και το ARDS. Τα χαμηλά επίπεδα της αιμοσφαιρίνης, της αιμοπηξίνης και της οξυγενάσης της αίμης-1/HO-1 παρεμποδίζουν την αποτοξίνωση της CFH³⁷. Τα επίμονα επίπεδα CFH οδηγούν στην οξειδωση της αιμοσφαιρίνης και στην υπεροξείδωση των λιπιδίων της μεμβράνης³⁸. Εργαστηριακά, δύο παθολογικές καταστάσεις επιβεβαιώνουν τη διαταραχή των ερυθρών αιμοσφαιρίων στην COVID-19 λοίμωξη οι διαταραχές της αιμοσφαιρίνης και η υπερφόρτωση των ιστών με σίδηρο³⁹. Οι φλεγμονώδεις αλλαγές που συμβαίνουν κατά τη διάρκεια της SARS-CoV-2 λοίμωξης, μπορεί να επηρεάσουν την ερυθροποίηση με αποτέλεσμα τη μείωση της αιμοσφαιρίνης. Για την COVID-19 τα μειωμένα επίπεδα της αιμοσφαιρίνης μπορούν να λειτουργήσουν σαν δείκτης εξέλιξης της νόσου⁴⁰. Ενδέχεται να προκληθούν συμπτώματα αναπνευστικής δυσχέρειας που θα έχουν ως τελικό αποτέλεσμα την χειρότερη έκβαση της νόσου⁴¹. Μελέτη των Anai et.al 2020 υποστηρίζει ότι η μείωση της αιμοσφαιρίνης μετά τη διάγνωση της πνευμονίας, μπορεί να είναι προγνωστικός δείκτης για τη σοβαρή αναπνευστική ανεπάρκεια που απαιτεί μηχανική αναπνοή. Όταν συνέκριναν τα

επίπεδα της αιμοσφαιρίνης τρεις ημέρες μετά τη διάγνωση της πνευμονίας, είδαν ότι οι ασθενείς που χρειάστηκαν μηχανική αναπνοή είχαν χαμηλότερη αιμοσφαιρίνη (150,5 g/L), σε σχέση με εκείνους που δεν χρειάστηκαν μηχανική υποστήριξη⁴². Η φερριτίνη που εκκρίνεται κατά τη διάρκεια της φλεγμονώδους αντίδρασης, μόλις απελευθερωθεί, χάνει μέρος της εσωτερικής περιεκτικότητας σε σίδηρο προκαλώντας εξαιρετικά υψηλά επίπεδα «ελεύθερου σιδήρου» στον ορό⁴³. Γεγονός που μπορεί να επιδεινώσει τη φλεγμονώδη αντίδραση και να προκαλέσει μια σημαντική προπηκτική κατάσταση. Αυτή η ικανότητα σχετίζεται με αλλαγές στη μορφολογία των ερυθρών αιμοσφαιρίων και του ινώδους. Το οξειδωτικό στρες στα ερυθρά αιμοσφαίρια και το ινώδες οδηγούν στην παραγωγή θρόμβων⁴⁴.

3.6. Διαταραχές λευκών αιμοσφαιρίων

Ως κυριότερες αιματολογικές διαταραχές των λεύκων αιμοσφαιρίων στην COVID-19 λοίμωξη αναφέρονται η λεμφοπενία, η ουδετεροφιλία, τα χαμηλά επίπεδα ηωσινόφιλων, η θρομβοκυτταροπενία και λιγότερο συχνά η θρομβοκυττάρωση⁴⁵. Μηχανισμοί που επάγουν την λεμφοπενία στην COVID-19 λοίμωξη είναι η καταιγίδα κυτταροκινών, η εξάντληση των T κυττάρων και ο περιορισμός της εξάπλωσής τους. Μάλιστα, η καταιγίδα κυτταροκινών συμβάλλει στην απορρύθμιση των κυττάρων, εξαιτίας της απελευθέρωσης κυτταροκινών και χημειοκινών⁴⁶. Η σημαντική αύξηση των ουδετερόφιλων και η αύξηση του λόγου ουδετερόφιλων- λεμφοκυττάρων παρατηρείται στα πιο βαριά περιστατικά⁴⁷. Ο NLR είναι δείκτης φλεγμονής, που σε ασθενείς με COVID-19 αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για σοβαρή έκβαση της νόσου⁴⁸. Μια μετά-ανάλυση ανέφερε ότι οι τιμές του NLR αυξήθηκαν σημαντικά σε ασθενείς με COVID-19⁴⁹. Η αύξηση του μπορεί να οφείλεται στην έκφραση φλεγμονωδών κυτταροκινών⁵⁰. Παρουσιάζεται στο 85% των ασθενών με σοβαρή μορφή της λοίμωξης⁵¹. Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί η σύνδεση του χαμηλού αριθμού T ρυθμιστικών κυττάρων, ενώ τα κύτταρα φυσικοί-φονιάδες NK και τα T κυτταροτοξικά κύτταρα CTLs, φαίνεται να είναι σημαντικά μειωμένα σε θετικούς ασθενείς με SARS-CoV-2⁴⁸. Οι κύριες αλλαγές στους πληθυσμούς λεμφοκυττάρων είναι: ο χαμηλός αριθμός T κυττάρων, η αύξηση στα προγονικά T βοηθητικά κύτταρα και η μείωση των T κυττάρων μνήμης⁴⁹. Σημαντική μείωση καταγράφεται και στο συνολικό αριθμό των NK, T και B κυττάρων που

σχετίζεται με σοβαρή νόσηση και θάνατο⁵⁰. Τα επίπεδα των προφλεγμονωδών κυτταροκινών IL-6 και TNF-α στον ορό των ασθενών έχουν συσχετιστεί με την λεμφοπενία. Η κατάσταση αυτή αποδόθηκε στα υψηλά επίπεδα IL-6 και στις αλληλεπιδράσεις Fas-FasL⁵¹ δηλαδή, σε κυτταροκίνες που παράγονται από ενεργοποιημένα μακροφάγα, ουδετερόφιλα, μονοκύτταρα, δενδριτικά και ενδοθηλιακά κύτταρα⁵². Μία άλλη μελέτη έδειξε σημαντική σχέση ανάμεσα στην IL-6 και την εξασθένηση της κυτταροτοξικής δραστηριότητας των T και NK κυττάρων. Φανερώνουν την εξάντληση των T κυττάρων και η έκφραση αυτών σχετίζεται με τη σοβαρότητα της νόσου και την ανάγκη εντατικής θεραπείας. Επομένως, φαίνεται πως ότι η χρόνια φλεγμονώδης κατάσταση και η συνεχόμενη διέγερση των λεμφοκυττάρων, οδηγούν στο φαινόμενο της εξάντλησης των T κυττάρων⁵¹. Λόγω της δραματικής αύξησης των κυτταροκινών, ορισμένα γονίδια που εμπλέκονται στην ενεργοποίηση και τη λειτουργία των T κυττάρων είναι αδρανοποιημένα⁵³.

3.7. Ρόλος φαγοκυττάρων

Τα κύτταρα της φυσικής ανοσίας είναι τα φαγοκύτταρα (ουδετερόφιλα - μακροφάγα) και τα NK κύτταρα. Στην λοίμωξη από κορωναϊό οι ποσοτικές αλλαγές αυτών των κυττάρων έχουν ως αποτέλεσμα τη διαταραχή της φυσικής ανοσίας⁵⁴. Στη λοίμωξη από SARS-CoV-2, έχουν βρεθεί υψηλότερα ποσοστά φλεγμονωδών μονοκυττάρων, τα μακροφάγα⁵⁵, ενώ έχουν αναφερθεί μειωμένα ποσοστά NK κυττάρων³⁵. Η απελευθέρωση κυτταροκινών καθυστερεί την IFN τύπου I και III απόκριση, που σχετίζεται με αδυναμία ελέγχου της αντιγραφής του ιού. Επιπλέον, η απελευθέρωση χημειοκινών ενισχύει τη μετανάστευση φυσικών ανοσοκυττάρων, όπως τα μακροφάγα και τα ουδετερόφιλα⁵⁶. Παράλληλα παρατηρείται στην πλειοψηφία των ασθενών λεμφοπενία, η οποία αφορά στα CD4-CD8 των T κυττάρων και τα B κύτταρα, δηλαδή τα κύτταρα της επίκτητης ανοσίας³⁵. Μετά τη μόλυνση, τα CD4 T κύτταρα ενεργοποιούνται σε δευτερογενή λεμφικά όργανα και ύστερα από την κάθαρση του παθογόνου η πλειονότητα των κυττάρων υφίσταται απόπτωση, αλλά μόνο ένας μικρός πληθυσμός T κυττάρων παραμένει. Αυτά είναι τα γνωστά κύτταρα μνήμης, που θα επιστρατευτούν σε περίπτωση επαναλοίμωξης⁵⁶. Από τα B κύτταρα έχουμε την έκκριση ανοσοσφαιρινών. Οι IgM και IgA μπορούν να ανιχνευθούν από την

έναρξη των συμπτωμάτων, ενώ η IgG μπορεί να ανιχνευθεί περίπου 14 ημέρες μετά την έναρξη των συμπτωμάτων⁵⁷.

4. ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ

4.1 Ορισμός

Κατά τη διάρκεια της λοίμωξης παρουσιάζεται μια γρήγορη και συντονισμένη ανοσοαπόκριση του οργανισμού. Στο σημείο αυτό θα πρέπει να εξετάσουμε το ρόλο συγκεκριμένων κυτταροκινών που διαδραματίζεται στις ανοσολογικές και φλεγμονώδεις αποκρίσεις στη λοίμωξη από τον COVID-19. Οι κυτταροκίνες είναι μια ομάδα πεπτιδίων, μεσοκυττάριοι πρωτεϊνικοί μεσολαβητές χαμηλής μοριακής μάζας και εμπλέκονται σε κάθε στάδιο της κυτταρικής ζωής. Παίζουν κύριο ρόλο ως ρυθμιστές του πολλαπλασιασμού, της διαφοροποίησης και της λειτουργίας των κυττάρων.

Έχει ήδη αναφερθεί, ο ρόλος της IL-6 κυτταροκίνης και ο μηχανισμός δράσης της κατά τη νόσηση με COVID -19^{12,29,36}.

Θα αναφερθούμε περαιτέρω στις κυτταροκίνες: IL-17 και IL-22 και στις πρωτεΐνες: FGF-23, PDGF-A και SGP-130.

4.1. Ιντερλευκίνη IL-17

Μια σημαντική ιντερλευκίνη, η οποία παίζει βασικό ρόλο στην προσαρμοστική ανοσία και τις φλεγμονώδεις αποκρίσεις κατά τη διάρκεια της φλεγμονής, είναι η IL-17. Οι ιντερλευκίνες IL-17A και IL-17F είναι σημαντικά συστατικά της οικογένειας κυτοκινών της IL-17, που μπορούν να εκφραστούν από κύτταρα Th17⁵⁸. Μελέτες έχουν δείξει ότι η IL-17 μπορεί να έχει προστατευτικές επιδράσεις και μπορεί να αποτελέσει θεραπευτικό δείκτη για τη μείωση των πνευμονικών επιπλοκών σε ασθενείς με COVID-19⁵⁹. Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι η αυξημένη διήθηση ουδετερόφιλων στους πνεύμονες σχετίζεται με αυξημένους τίτλους της IL-17⁶⁰. Έχει διαπιστωθεί ότι η ενεργοποίηση της οδού σηματοδότησης της IL-17A σχετίζεται στενά με την

αύξηση της σοβαρότητας των ιογενών αναπνευστικών λοιμώξεων και τελικά των φλεγμονωδών παρενεργειών⁶¹.

4.2. Ιντερλευκίνη IL- 22

Η ιντερλευκίνη-22 (IL-22), που έχει προσελκύσει μεγάλο ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια, ανήκει στην οικογένειας της ιντερλευκίνης-10 (IL-10) και σε αντίθεση με τις περισσότερες ιντερλευκίνες, η κύρια επίδραση της είναι αποκλειστικά στους ινοβλάστες και τα επιθηλιακά κύτταρα. Πολυάριθμες μελέτες έχουν δείξει ότι παίζει βασικό ρόλο στις αντί-ιογενείς λοιμώξεις μέσω της σημαντικής βελτίωσης των φλεγμονωδών αποκρίσεων, που προκαλούνται από τα ανοσοκύτταρα, από τη μείωση του τραυματισμού των ιστών και της περαιτέρω προώθησης της επιθηλιακής επισκευής και του αναγεννησιακού ρόλου της⁶². Παρόλο που η IL-22 δεν φαίνεται να μειώνει τον τίτλο του ιού SARS-CoV-2 κατά τη διάρκεια της λοίμωξης, μελέτες έχουν δείξει ότι μπορεί να μειώσει τη σοβαρότητα της πνευμονίας, μέσω της ανοσολογικής ρύθμισης και των προστατευτικών ή αναγεννητικών λειτουργιών της στους ιστούς⁶³. Καθώς η COVID-19 είναι μια αναπνευστική διαταραχή με παρόμοια παθολογικά χαρακτηριστικά και συμπτώματα με άλλες σοβαρές λοιμώξεις από πνευμονικό ιό, είναι λογικό να υποθέσουμε ότι η IL-22 μπορεί επίσης να χρησιμεύσει για τον περιορισμό της σοβαρότητας της νόσου. Η IL-22 έχει ισχυρές ανοσοενισχυτικές και αντιικές ιδιότητες έναντι του αναπνευστικού συγκυτιακού ιού, οι οποίες θα μπορούσε επίσης να επεκταθούν και στη διαχείριση της λοίμωξης με SARS-CoV-2⁶⁴.

4.3. Παράγοντας FGF-23

Ο αυξητικός παράγοντας ινοβλαστών FGF-23 είναι μια προφλεγμονώδης ορμόνη και έχει ρόλο στην επίδραση της φλεγμονής των πνευμόνων στη ΧΑΠ, αφού έχει αποδειχθεί ότι είναι αυξημένη⁶⁵. Κατά τη λοίμωξη SARS-CoV-2 εντοπίστηκε μια ομάδα κυτοκινών, συμπεριλαμβανομένου και του ανοσομεσολαβητή FGF-23, που έδειξε σημαντικά υψηλότερα επίπεδα στην ομάδα ασυμπτωματικών, απ' ό,τι στην ομάδα ασθενών των πρώιμων συμπτωμάτων. Δεν βρέθηκαν σημαντικές αλλαγές στην έκφραση αυτών των γονιδίων, γεγονός που υποδηλώνει ότι η έκφραση αυτών των πρωτεϊνών ρυθμίζεται από τους ιστούς αναπνευστικών ή γαστρεντερικών επιθηλίων. Οι

πρωτεΐνες FGF-23 που απελευθερώνονται στην κυκλοφορία κατέχουν σημαντικό ρόλο στην προστασία του πνεύμονα από την βλάβη των ιστών⁶⁶.

4.4. Παράγοντας PDGF

Ο αυξητικός παράγοντας που προέρχεται από αιμοπετάλια -PDGF αποτελείται από τέσσερα μέλη: PDGF-A -B -C και -D. τα οποία συνδέονται με διμερή των δύο αναγνωρισμένων υποδοχέων κινασών τυροσίνης: PDGFRα και PDGFRβ. Το PDGFRα μπορεί να δεσμεύσει τα PDGF-A, -B και -C με υψηλή συγγένεια, ενώ το PDGFRβ δεσμεύει το PDGF-B και -D⁶⁷. Σε μελέτη με 59 ασθενείς οξείας λοίμωξης COVID-19 υπό αιμοκάθαρση σε σύγκριση με 20 μη αιμοκαθαιρούμενους αποδείχθηκε ότι, οι κυκλοφορούσες συγκεντρώσεις του παράγοντα TNFα, της IL-10, της ιντερφερόνης-γ και του PDGF-A αυξήθηκαν στους αιμοκαθαιρούμενους πάσχοντες. Οι συγκεντρώσεις των μεσολαβητών δεν διέφεραν πριν και μετά την HD, ενώ σημαντικές μειώσεις των CD4-λεμφοκυττάρων και των CD19-λεμφοκυττάρων βρέθηκαν σε αιμοκαθαιρούμενους ασθενείς. Η μείωση της έκφρασης του HLA-DR στα CD14-μονοκύτταρα συσχετίστηκε με δυσμενή έκβαση. Οι συγκεντρώσεις των κυτταροκινών που βρέθηκαν κατά την αιμοδιάλυση ήταν χαμηλές, με εξαίρεση την IL-10 και την PDGF-A. Τόσο η IL-10 όσο και η PDGF-A αυξήθηκαν στην αιμοκάθαρση ασθενών με COVID-19⁶⁸.

4.5. Παράγοντας GP -130

Η GP-130 είναι μια διαμεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη 896 αμινοξέων⁶⁹ και περιγράφηκε για πρώτη φορά ως η υποομάδα μετατροπής σήματος του συμπλόκου υποδοχέων της IL-6⁷⁰. Είναι η κοινή υποομάδα του υποδοχέα μετατροπής σήματος για μια ομάδα κυτοκινών, συμπεριλαμβανομένης της ιντερλευκίνης-6 (IL-6) και της ιντερλευκίνης-11, (IL-11) που εμπλέκονται στη ρύθμιση πολύπλοκων βιολογικών διεργασιών όπως η αιμοποίηση, οι ανοσολογικές αποκρίσεις και η φλεγμονή⁷¹.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

5. ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση του ρόλου των φλεγμονωδών κυτταροκινών στη νόσο COVID-19, σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς που νοσηλεύονται σε Μονάδες Εντατικής Θεραπείας (ΜΕΘ).

6. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

6.1 Ερευνητικός σχεδιασμός

Πρόκειται για προοπτική μελέτη παρατήρησης, όπου και διερευνήθηκε ο πληθυσμός βαρέων πασχόντων διασωληνομένων με ενεργή νόσηση στον COVID-19 στη ΜΕΘ του Π.Γ.Ν ΑΤΤΙΚΟΝ.

6.2 Δείγμα της μελέτης

Το δείγμα της μελέτης αποτέλεσαν 20 διασωληνομένοι ασθενείς της ΜΕΘ του Π.Γ.Ν «ΑΤΤΙΚΟΝ». Η χρονική περίοδος που πραγματοποιήθηκε η έρευνα ήταν για το διάστημα από Ιούνιο έως και Σεπτέμβριο του 2022.

6.3 Συλλογή των δειγμάτων

Οι ασθενείς αξιολογήθηκαν αρχικά κατά την εισαγωγή τους στη ΜΕΘ και εν συνέχεια την 7^η ημέρα κατά τη νοσηλείας τους. Δείγματα αίματος (γενικής- πήξης) και βρογχικών εκκρίσεων συλλέχτηκαν. Αναλύθηκαν ως προς τον αριθμό κυκλοφορούντων φλεγμονωδών μεσολαβητών. Ελέγχθηκαν οι κυκλοφορούσες συγκεντρώσεις των ιντερλευκινών IL-6, IL-17, IL- 22, και οι παράγοντες FGF-23, PDGF-A, SPG-130. Διερευνήθηκαν οι διαφορές των τιμών, μεταξύ των ασθενών που επέζησαν και εκείνων που απεβίωσαν, κατά την 1η και 7η ημέρα της δειγματοληψίας.

6.4 Εργαστηριακή μέθοδος επεξεργασίας των δειγμάτων

Από κάθε συμμετέχοντα στην μελέτη συλλέχθηκαν 14ml αίματος. Από αυτά τα 10ml τοποθετήθηκαν σε σωληνάρια (βιοχημικά) με επικάλυψη EDTA (Becton Dickinson, Cockeysville Md) για την απομόνωση των μονοπύρηνων κυττάρων περιφερικού αίματος -PBMCs. Τα υπόλοιπα 4ml τοποθετήθηκαν σε απλά σωληνάρια (βιοχημικά) αποστειρωμένα. Τοποθετήθηκαν σε όρθια θέση σε θερμοκρασία δωματίου (RT) για 30-60 λεπτά, έως ότου σχηματιστεί πήγμα.

Ακολούθησε φυγοκέντρηση στα 800xg ή 3500rpm για 10 λεπτά. Ο ορός συλλέχθηκε σε κρυοφιαλίδιο (cryovial) και αποθηκεύτηκε σε θερμοκρασία -80°C μέχρι την περαιτέρω επεξεργασία του. Τα PBMCs απομονώθηκαν ύστερα από κλασματική φυγοκέντρηση σε 20mL συλλεγμένου αίματος ύπερθεν φικόλης (Biowest, Nuaille, France). Το αίμα επιστοιβάστηκε ύπερθεν 20ml φικόλης και φυγοκεντρήθηκε στα 2100rpm για 25 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (R/T). Έγινε αναρρόφηση της ενδιάμεσης στοιβάδας που περιέχει τα PBMCs και μεταφορά τους σε νέο αποστειρωμένο σωληνάριο (Falcon) και πλύθηκαν τρεις φορές με παγωμένο PBS (phosphate buffered saline, pH:7.2). Κατόπιν, επαναιωρήθηκαν σε θρεπτικό μέσο RPMI 1640 (Biochrom, Germany) εμπλουτισμένο με 2ml γλουταμίνης παρουσία 100 U/ml πενικιλίνης G και 0.1 mg/ml (Sigma Co, St. Louis USA) στρεπτομυκίνης, μετρήθηκαν σε θάλαμο Neubauer (αιματοκυτταρόμετρο) και μετά από τον αποκλεισμό των νεκρών κυττάρων με χρώση μπλε της τρυπάνης (Trypan blue), διανεμήθηκαν σε 2 διαφορετικές πλάκες 96 βυθισμάτων με τελικό όγκο 200 ml, σε πυκνότητα 2.5×10^6 κυττάρων/ml. Στα PBMCs που επώαστηκαν για 24ώρες χρησιμοποιήθηκε το εμπλουτισμένο RPMI, ενώ για τα PBMCs που επώαστηκαν για 5 ημέρες, εμπλουτίστηκε με 10% ορό εμβρύου μόσχου (Fetal Bovine Serum, Biochrom, Germany), Η επώαση και για τις δύο χρονικές στιγμές έγινε στους 37°C σε ατμόσφαιρα 5% CO₂. Όλες οι δοκιμασίες διεξάχθηκαν εις διπλούν. Μετά το πέρας της επώασης οι πλάκες φυγοκεντρήθηκαν (1700 rpm για 7min) και τα υπερκείμενα συλλέχθηκαν και αποθηκεύτηκαν στους -70°C, μέχρι την περαιτέρω ανάλυσή τους.

Ακολούθησε μέτρηση κυτταροκινών εις διπλούν, με ανοσοενζυμική μέθοδο: ELISA για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των IL-6, IL-17^A, IL-22, PDGF -A, FGF -23 και SGP -130, σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Το κατώτερο όριο ανίχνευσης στα υπερκείμενα των PBMCs ήταν: για IL-6 (63 pg/ml), IL-17^A (15 pg/ml), IL-22 (31 pg/ml), PDGF -A (312 pg/ml), FGF -23 (156 pg/ml), και SGP -130 (383 pg/ml).

6.5 Ηθική και δεοντολογία

Η διεξαγωγή της έρευνας έχει αδειοδοτηθεί από το επιστημονικό συμβούλιο του Π.Γ.Ν «ΑΤΤΙΚΟΝ», απόφαση αποσπάσματος πρακτικών Επιστημονικού Συμβουλίου 6^η(10/05/2022) – θέμα Α-14. Έχει εξασφαλιστεί η έντυπη συναίνεση, η ανωνυμία και η διασφάλιση προσωπικών δεδομένων των συμμετεχόντων βάση των αρχών δεοντολογίας, όπως ορίζονται από την Διακήρυξη Δικαιωμάτων του Ελσίνκι.

6.6 Κριτήρια ένταξης - αποκλεισμού

Κριτήρια ένταξης των συμμετεχόντων στην μελέτη

- ✓ Ηλικία άνω των 18 ετών - ενήλικες
- ✓ Εισαγωγή στη ΜΕΘ με ενεργή νόσο COVID -19
- ✓ Διασωληνομένοι ασθενείς

Κριτήρια αποκλεισμού των συμμετεχόντων στην μελέτη

- ✓ Ηλικία κάτω των 18 ετών - ανήλικες
- ✓ Διάρκεια παραμονής στη ΜΕΘ < 7 ημερών

7. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

7.1 Μεθοδολογία

Ακολουθεί η στατιστική ανάλυση των δεδομένων της εργασίας που πραγματοποιήθηκε με τη χρήση στατιστικών προγραμμάτων: Wilcoxon signed-rank test και Mann-Whitney U test, για τη διερεύνηση των συσχετίσεων. Όλοι οι έλεγχοι γίνανε σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας $p < 0,005$.

7.2 Καταληκτικά σημεία

Παρουσιάστηκε ισχυρή συσχέτιση μεταξύ της ιντερλευκίνης IL-6 και του παράγοντα SPG-130 στον ορό του αίματος, σε σύγκριση με τους υπόλοιπους παράγοντες που ελέχθησαν: IL-17, IL-22, FGF-23, PDGF-A και SPG-130, μεταξύ των ασθενών που επέζησαν και αυτών που απεβίωσαν.

7.3 Χαρακτηριστικά πληθυσμού

Το δείγμα της έρευνας αποτέλεσαν 20 διασωληνομένοι ασθενείς.

Από τους 20 ασθενείς οι 12 ήταν άνδρες και οι 8 γυναίκες. Κύρια χαρακτηριστικά τους: η ανάγκη για διασωλήνωση, η βαρεία κατάσταση, η εισαγωγή και παραμονή τους στη ΜΕΘ, για διάστημα μεγαλύτερο των 7 ημερών. Τα δημογραφικά χαρακτηριστικά του δείγματος παρουσιάζονται στον **Πίνακα 1**.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1: Κατανομή του δείγματος της μελέτης ανάλογα με το φύλο, την ηλικία και την θνητότητα.			
Μεταβλητές	Μέσος (+/- Τ.Α.)	(%)	n/N
ΦΥΛΟ			
Άνδρες		60	12/20
Γυναίκες		40	8/20
Θάνατος		40	8/20
Ηλικία (σε έτη)	55,3+/-15.6		
<i>Τ.Α : Τυπική απόκλιση</i>			

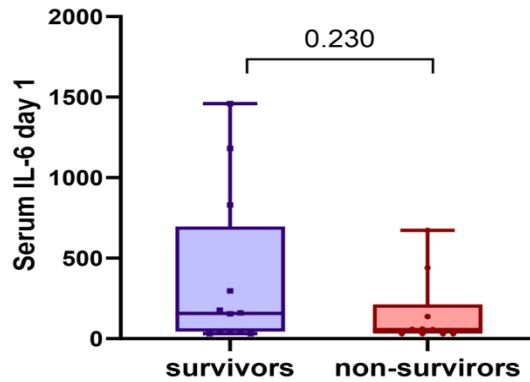
8. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Σύγκριση των αποτελεσμάτων, των μετρηθέντων κυτταροκινών στον ορό του αίματος

- ✓ IL-6
- ✓ IL-17
- ✓ IL-22
- ✓ FGF-23
- ✓ PDGF-A
- ✓ SPG-130

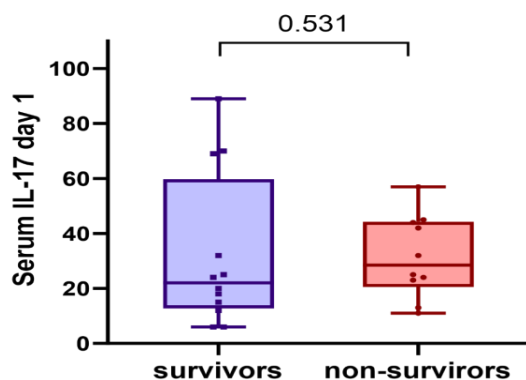
μεταξύ των ασθενών που επέζησαν, σε σχέση με αυτούς που απεβίωσαν κατά την ημέρα 1 και ημέρα 7 της δειγματοληψίας, απεικονίζονται παρακάτω σχηματικά.

Οι διαφορές της ιντερλευκίνης IL-6 της ημέρας 1 μεταξύ ασθενών που επέζησαν συγκριτικά με αυτούς που απεβίωσαν, διερευνήθηκαν με βάση το Mann-Whitney U test. Η διαφορά της διαμέσου της IL-6 της ημέρας 1 για τους ασθενείς που επέζησαν (157.0 pg/dl) σε σχέση με αυτούς που απεβίωσαν (56.5 pg/dl) *δεν είναι στατιστικά σημαντική*, $U = 42$, $p = 0.230$. Γράφημα 1.



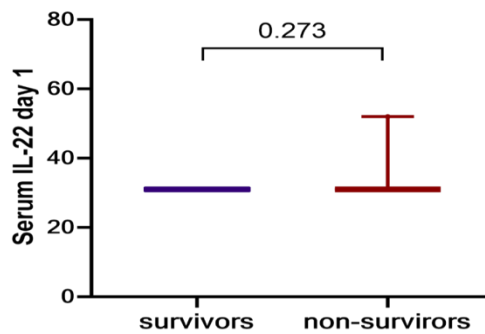
Γράφημα 1: διαφορά της διαμέσου της IL-6 της ημέρας 1 για τους ασθενείς που επέζησαν σε σχέση με αυτούς που απεβίωσαν.

Οι διαφορές της ιντερλευκίνης IL-17 της ημέρας 1 μεταξύ ασθενών που επέζησαν συγκριτικά με αυτούς που απεβίωσαν, διερευνήθηκαν με βάση το Mann-Whitney U test. Η διαφορά της διαμέσου της IL-17 της ημέρας 1 για τους ασθενείς που επέζησαν (22.0 pg/dl) σε σχέση με αυτούς που απεβίωσαν (28.5 pg/dl) *δεν είναι στατιστικά σημαντική*, $U = 50.5$, $p = 0.531$. Γράφημα 2.



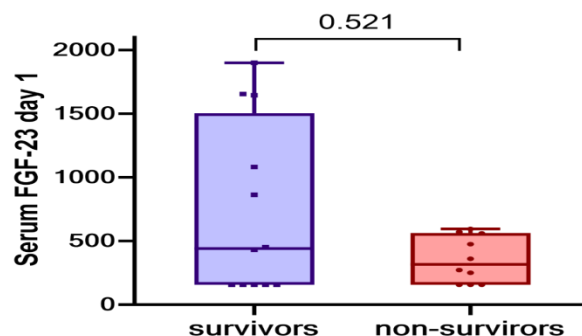
Γράφημα 2: διαφορά της διαμέσου της IL-17 της ημέρας 1 για τους ασθενείς που επέζησαν σε σχέση με αυτούς που απεβίωσαν.

Οι διαφορές της ιντερλευκίνης IL-22 της ημέρας 1 μεταξύ ασθενών που επέζησαν συγκριτικά με αυτούς που απεβίωσαν, διερευνήθηκαν με βάση το Mann-Whitney U test. Η διαφορά της διαμέσου της IL-22 της ημέρας 1 για τους ασθενείς που επέζησαν (31.0 pg/dl) σε σχέση με αυτούς που απεβίωσαν (31.0 pg/dl) *δεν είναι στατιστικά σημαντική*, $U = 54$, $p = 0.273$. Γράφημα 3.



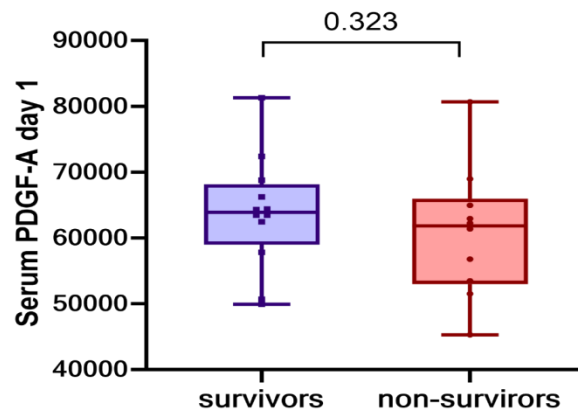
Γράφημα 3: διαφορά της διαμέσου της IL-22 της ημέρας 1 για τους ασθενείς που επέζησαν σε σχέση με αυτούς που απεβίωσαν.

Οι διαφορές του παράγοντα FGF-23 της ημέρας 1 μεταξύ ασθενών που επέζησαν συγκριτικά με αυτούς που απεβίωσαν, διερευνήθηκαν με βάση το Mann-Whitney U test. Η διαφορά της διαμέσου του FGF-23 της ημέρας 1 για τους ασθενείς που επέζησαν (441.0 pg/dl) σε σχέση με αυτούς που απεβίωσαν (316.5pg/dl) *δεν είναι στατιστικά σημαντική*, $U = 50.5$, $p = 0.521$. Γράφημα 4.



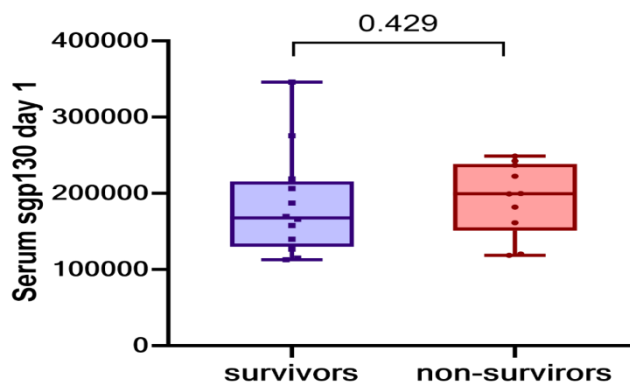
Γράφημα 4: διαφορά της διαμέσου της FGF-23 της ημέρας 1 για τους ασθενείς που επέζησαν σε σχέση με αυτούς που απεβίωσαν.

Οι διαφορές του παράγοντα PDGF-A της ημέρας 1 μεταξύ ασθενών που επέζησαν συγκριτικά με αυτούς που απεβίωσαν, διερευνήθηκαν με βάση το Mann-Whitney U test. Η διαφορά της διαμέσου του PDGF-A της ημέρας 1 για τους ασθενείς που επέζησαν (63901.0 pg/dl) σε σχέση με αυτούς που απεβίωσαν (61812.0 pg/dl) *δεν είναι στατιστικά σημαντική*, $U = 45$, $p = 0.323$. Γράφημα 5.



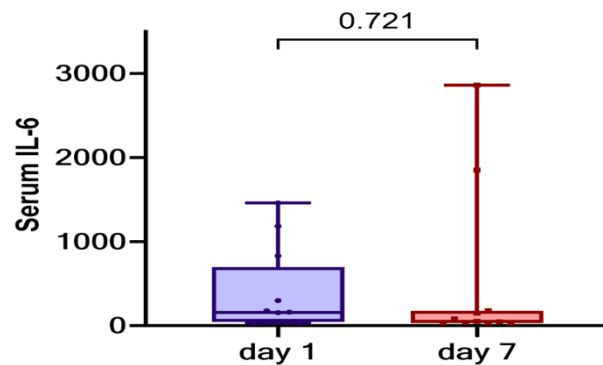
Γράφημα 5: διαφορά της διαμέσου της PDGF-A της ημέρας 1 για τους ασθενείς που επέζησαν σε σχέση με αυτούς που απεβίωσαν.

Οι διαφορές του παράγοντα SGP-130 της ημέρας 1 μεταξύ ασθενών που επέζησαν συγκριτικά με αυτούς που απεβίωσαν, διερευνήθηκαν με βάση το Mann-Whitney U test. Η διαφορά της διαμέσου του SGP-130 της ημέρας 1 για τους ασθενείς που επέζησαν (167710.0 pg/dl) σε σχέση με αυτούς που απεβίωσαν (199478.0 pg/dl) *δεν είναι στατιστικά σημαντική*, $U = 48$, $p = 0.429$. Γράφημα 6.



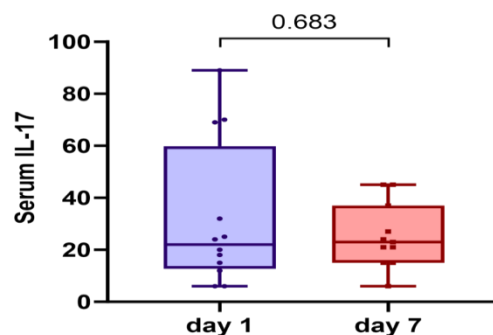
Γράφημα 6: διαφορά της διαμέσου της SPG-130 της ημέρας 1 για τους ασθενείς που επέζησαν σε σχέση με αυτούς που απεβίωσαν.

Για τους ασθενείς που επέζησαν οι διαφορές της ιντερλευκίνης IL-6 μεταξύ της ημέρας 1 και τη ημέρας 7, διερευνήθηκαν με βάση το Wilcoxon signed-rank test. Από το σύνολο των 12 ασθενών, υπήρξε μείωση της IL-6 σε 6 ασθενείς την ημέρα 7 και αύξηση της IL-6 την ημέρα 7 σε 4 ασθενείς. Η μείωση της διαμέσου (13 pg/dl) της IL-6 από την ημέρα 1 (157pg/dl) μέχρι την ημέρα 7 (51.0 pg/dl) δεν είναι στατιστικά σημαντική, $z = -0.357$, $p = 0.721$. Γράφημα 7.



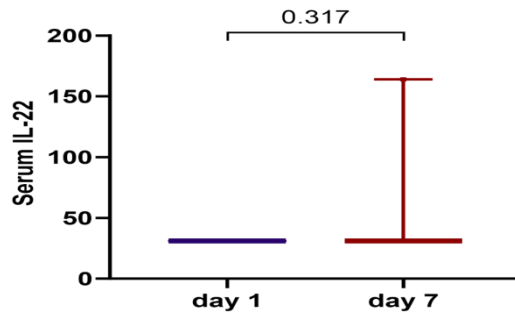
Γράφημα 7: διαφορά της διαμέσου της IL-6 της ημέρας 1 και 7, για τους ασθενείς που επέζησαν

Για τους ασθενείς που επέζησαν οι διαφορές της ιντερλευκίνης IL-17(A) μεταξύ της ημέρας 1 και τη ημέρας 7, διερευνήθηκαν με βάση το Wilcoxon signed-rank test. Από το σύνολο των 12 ασθενών, υπήρξε μείωση της IL-17(A) σε 5 ασθενείς την ημέρα 7 και αύξηση της IL-17(A) την ημέρα 7 σε 5 ασθενείς. Δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά της διαμέσου της IL-17(A) από την ημέρα 1 (22pg/dl) μέχρι την ημέρα 7 (23pg/dl), $z = -0.408$, $p = 0.683$. Γράφημα 8.



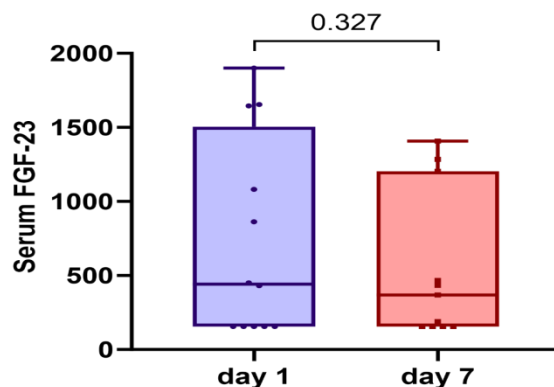
Γράφημα 8: διαφορά της διαμέσου της IL-6 της ημέρας 1 και 7, για τους ασθενείς που επέζησαν

Για τους ασθενείς που επέζησαν οι διαφορές της ιντερλευκίνης IL-22 μεταξύ της ημέρας 1 και της ημέρας 7, διερευνήθηκαν με βάση το Wilcoxon signed-rank test. Από το σύνολο των 12 ασθενών, δεν υπήρξε μείωση της IL-22 την ημέρα 7, ενώ για 1 ασθενή υπήρξε αύξηση της IL-22 την ημέρα 7. Δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά της διαμέσου της IL-22 από την ημέρα 1 (31pg/dl) μέχρι την ημέρα 7 (31pg/dl), $z = -1.000$, $p = 0.317$. Γράφημα 9.



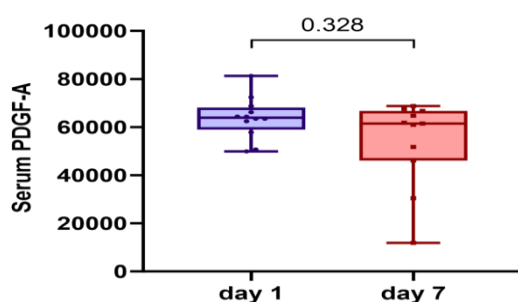
Γράφημα 9: διαφορά της διαμέσου της IL-22 της ημέρας 1 και 7, για τους ασθενείς που επέζησαν

Για τους ασθενείς που επέζησαν οι διαφορές του παράγοντα FGF-23 μεταξύ της ημέρας 1 και της ημέρας 7, διερευνήθηκαν με βάση το Wilcoxon signed-rank test. Από το σύνολο των 12 ασθενών, υπήρξε μείωση του FGF-23 σε 5 ασθενείς την ημέρα 7 και αύξηση του FGF-23 την ημέρα 7 σε 3 ασθενείς. Δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά της διαμέσου του FGF-23 από την ημέρα 1 (441pg/dl) μέχρι την ημέρα 7 (368pg/dl), $z = -0.980$, $p = 0.327$. Γράφημα 10.



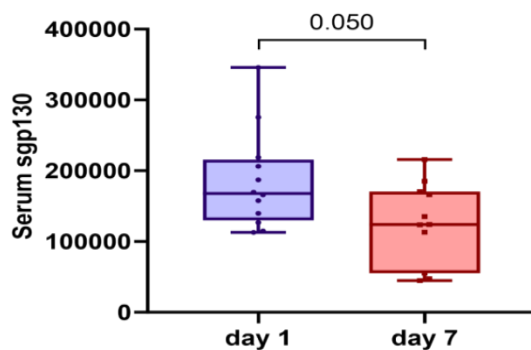
Γράφημα 10: διαφορά της διαμέσου της FGF-23 της ημέρας 1 και 7, για τους ασθενείς που επέζησαν

Για τους ασθενείς που επέζησαν οι διαφορές του παράγοντα PDGF-A μεταξύ της ημέρας 1 και τη ημέρας 7, διερευνήθηκαν με βάση το Wilcoxon signed-rank test. Από το σύνολο των 12 ασθενών, υπήρξε μείωση του PDGF-A σε 6 ασθενείς την ημέρα 7 και αύξηση του PDGF-A την ημέρα 7 σε 5 ασθενείς. Η μείωση της διαμέσου (1141 pg/dl) του Serum PDGF-A από την ημέρα 1 (63901 pg/dl) μέχρι την ημέρα 7 (61493 pg/dl) *δεν είναι στατιστικά σημαντική*, $z = -0.978$, $p = 0.328$. Γράφημα 11.



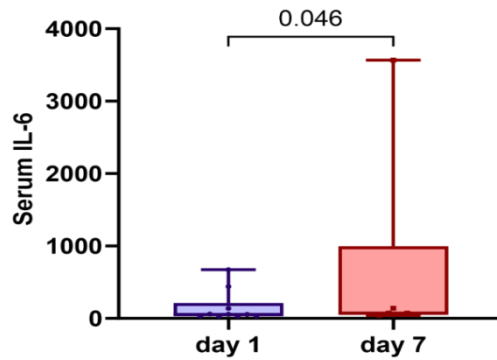
Γράφημα 11: διαφορά της διαμέσου της PDGF-A της ημέρας 1 και 7, για τους ασθενείς που επέζησαν

Για τους ασθενείς που επέζησαν οι διαφορές του παράγοντα SGP-130 μεταξύ της ημέρας 1 και τη ημέρας 7, διερευνήθηκαν με βάση το Wilcoxon signed-rank test. Από το σύνολο των 12 ασθενών, υπήρξε μείωση του SGP-130 σε 7 ασθενείς την ημέρα 7 και αύξηση του SGP-130 την ημέρα 7 σε 4 ασθενείς. **Υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά** της διαμέσου του SGP-130 (1141 pg/dl) από την ημέρα 1 (167710 pg/dl) μέχρι την ημέρα 7 (124140 pg/dl), $z = -1.956$, $p = 0.050$. Γράφημα 12.



Γράφημα 12: διαφορά της διαμέσου της **SGP-130** της ημέρας 1 και 7, για τους ασθενείς που επέζησαν

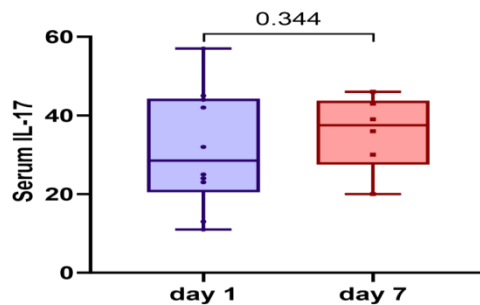
Για τους ασθενείς που απεβίωσαν οι διαφορές της ιντερλευκίνης IL-6 μεταξύ της ημέρας 1 και τη ημέρας 7, διερευνήθηκαν με βάση το Wilcoxon signed-rank test. Από το σύνολο των 6 ασθενών, υπήρξε μείωση της IL-6 σε 1 ασθενή την ημέρα 7 και αύξηση του Serum IL-6 την ημέρα 7 σε 5 ασθενείς. **Υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά** της διαμέσου της IL-6 (40.5 pg/dl) από την ημέρα 1 (56.5 pg/dl) μέχρι την ημέρα 7 (71.5 pg/dl), $z = -1.992$, $p = 0.046$.
Γράφημα 13.



Γράφημα 13: διαφορά της διαμέσου της IL-6 της ημέρας 1 και 7, για τους ασθενείς που απεβίωσαν

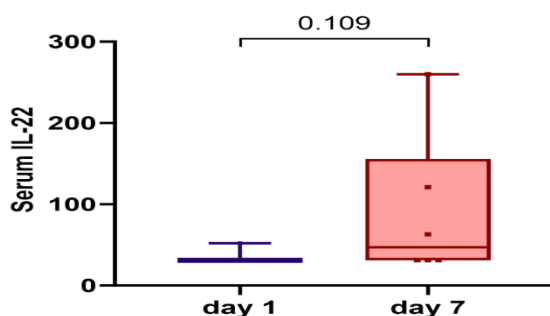
Για τους ασθενείς που απεβίωσαν οι διαφορές της ιντερλευκίνης IL-17(A) μεταξύ της ημέρας 1 και τη ημέρας 7, διερευνήθηκαν με βάση το Wilcoxon signed-rank test. Από το σύνολο των 6 ασθενών, υπήρξε μείωση της IL-17(A) σε 5 ασθενείς την ημέρα 7 και αύξηση της IL-17(A) την ημέρα 7 για 1 ασθενή. Η μείωση της διαμέσου (6pg/dl) της IL-17(A) από την ημέρα 1 (28.5 pg/dl) μέχρι την ημέρα 7 (37.5 pg/dl) *δεν είναι στατιστικά σημαντική*, $z = -0.946$, $p = 0.344$.

Γράφημα 14.



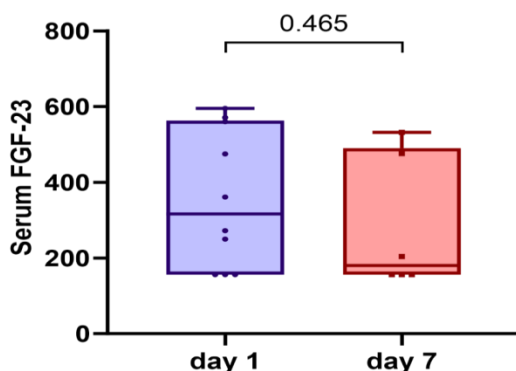
Γράφημα 14: διαφορά της διαμέσου της IL-17 της ημέρας 1 και 7, για τους ασθενείς που απεβίωσαν

Για τους ασθενείς που απεβίωσαν οι διαφορές της ιντερλευκίνης IL-22 μεταξύ της ημέρας 1 και τη ημέρας 7, διερευνήθηκαν με βάση το Wilcoxon signed-rank test. Από το σύνολο των 6 ασθενών, υπήρξε αύξηση της IL-22 την ημέρα 7 σε 3 ασθενείς. Η μείωση της διαμέσου (5.5pg/dl) της IL-22 από την ημέρα 1 (31pg/dl) μέχρι την ημέρα 7 (47pg/dl) δεν είναι στατιστικά σημαντική, $z = -1.604$, $p = 0.109$. Γράφημα 15.



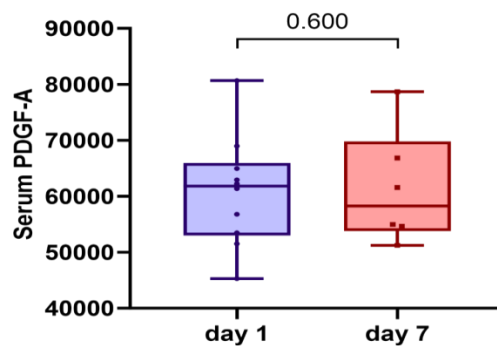
Γράφημα 15: διαφορά της διαμέσου της IL-22 της ημέρας 1 και 7, για τους ασθενείς που απεβίωσαν

Για τους ασθενείς που απεβίωσαν οι διαφορές του παράγοντα FGF-23 μεταξύ της ημέρας 1 και τη ημέρας 7, διερευνήθηκαν με βάση το Wilcoxon signed-rank test. Από το σύνολο των 6 ασθενών, υπήρξε μείωση του FGF-23 σε 2 ασθενείς την ημέρα 7 και αύξηση του FGF-23 την ημέρα 7 σε 2 ασθενείς. Δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά της διαμέσου του FGF-23 από την ημέρα 1 (316.5 pg/dl) μέχρι την ημέρα 7 (180 pg/dl), $z = -0.730$, $p = 0.465$. Γράφημα 16.



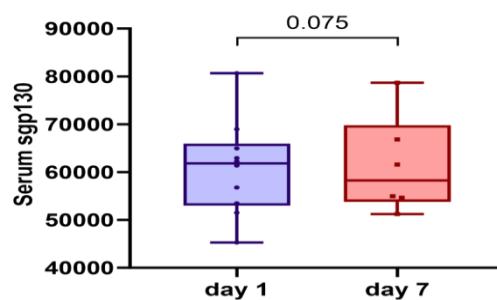
Γράφημα 16: διαφορά της διαμέσου της FGF-23 της ημέρας 1 και 7, για τους ασθενείς που απεβίωσαν

Για τους ασθενείς που απεβίωσαν οι διαφορές του παράγοντα PDGF-A μεταξύ της ημέρας 1 και τη ημέρας 7, διερευνήθηκαν με βάση το Wilcoxon signed-rank test. Από το σύνολο των 6 ασθενών, υπήρξε μείωση του Serum PDGF-A την ημέρα 7 σε 3 ασθενείς και αύξηση την ημέρα 7 σε 3 ασθενείς. Η μείωση της διαμέσου (830.5 pg/dl) του PDGF-A από την ημέρα 1 (61812 pg/dl) μέχρι την ημέρα 7 (58263 pg/dl) δεν είναι στατιστικά σημαντική, $z = -0.524$, $p = 0.600$.
Γράφημα 17.



Γράφημα 17: διαφορά της διαμέσου της PDGF-A της ημέρας 1 και 7, για τους ασθενείς που απεβίωσαν

Για τους ασθενείς που απεβίωσαν οι διαφορές του παράγοντα SGP-130 μεταξύ της ημέρας 1 και τη ημέρας 7, διερευνήθηκαν με βάση το Wilcoxon signed-rank test. Από το σύνολο των 6 ασθενών, υπήρξε μείωση του SGP-130 την ημέρα 7 σε 5 ασθενείς και αύξηση την ημέρα 7 σε 1 ασθενή. Η μείωση της διαμέσου (830.5 pg/dl) του SGP-130 από την ημέρα 1 (199477.5 pg/dl) μέχρι την ημέρα 7 (170777 pg/dl) δεν είναι στατιστικά σημαντική, $z = -1.782$, $p = 0.075$.
Γράφημα 18.



Γράφημα 18: διαφορά της διαμέσου της SGP-130 της ημέρας 1 και 7, για τους ασθενείς που απεβίωσαν

9. ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να μελετηθεί ο ρόλος των φλεγμονωδών κυτταροκινών (IL-6, IL-17, IL-22, FGF-23, PDGF-A, SPG-130) στη νόσο COVID-19 σε βαρέως πάσχοντες νοσηλευόμενους στη ΜΕΘ του ΠΓΝ «Αττικόν». Ειδικά ανοσολογικά προφίλ που παρουσιάζονται σε μελέτη του Hasanavald το 2022, δείχνουν τις ιντερλευκίνες (IL-1, IL-4, IL-6, IL-7, IL-10, IL-12, IL-17, IL-18 και IL-22), και άλλους παράγοντες (FGF-23, PDGF-A και SGP-130) να παίζουν σημαντικό ρόλο στη φλεγμονώδη απόκριση του οργανισμού κατά τη λοίμωξη SARS-CoV-2¹².

Ένα από τα κυριότερα ευρήματα της παρούσας μελέτης, σε συμφωνία με τη διεθνή βιβλιογραφία, είναι η ύπαρξη μίας στενής επιδημιολογικής συσχέτισης μεταξύ της ιντερλευκίνης IL-6 και της έκβασης των ασθενών με COVID-19. Συγκεκριμένα, διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στις κυτταροκίνες των ασθενών που απεβίωσαν, κατά την 1η και 7η ημέρα της δειγματοληψίας. Παρουσιάστηκε δηλαδή, μείωση της ιντερλευκίνης IL-6 σε 1 ασθενή την ημέρα 7 και αύξηση αυτής την ημέρα 7 σε 5 ασθενείς που απεβίωσαν, με στατιστικά σημαντική διαφορά ($p = 0.046$). Άρα, η αύξηση της τιμής της IL-6 στον ορό των ασθενών αποτελεί δείκτη κακής έκβασης της νόσου.

Σε συμφωνία με τα παραπάνω μελέτη των Ruan και συνεργατών, που αφορούσε 150 ασθενείς με COVID-19 στη Γιουχάν, έδειξε ότι τα επίπεδα IL-6 ήταν υψηλότερα σε ασθενείς που απεβίωσαν λόγω COVID-19. Επομένως, η IL-6 αποτέλεσε κλινικό προγνωστικό παράγοντα θνησιμότητας της νόσου⁷². Επιπρόσθετα, έχει φανεί από προηγούμενες μελέτες ότι άτομα που νοσούν με COVID-19 και παρουσιάζουν υψηλή αρτηριακή πίεση με υψηλά τα επίπεδα της IL-6, έχουν πολύ υψηλό κίνδυνο να αναπτύξουν σοβαρή αναπνευστική ανεπάρκεια και σοβαρή βλάβη στους πνεύμονες ή/και στο καρδιαγγειακό σύστημα⁷³.

Αντίστοιχα, ένα ακόμα στατιστικά σημαντικό εύρημα της παρούσας μελέτης αφορά τους ασθενείς που επέζησαν. Συγκεκριμένα, παρουσιάστηκε μείωση του παράγοντα SGP-130 σε 7 ασθενείς την ημέρα 7 και αύξηση αυτού την ημέρα 7 σε 4 ασθενείς, με στατιστικά σημαντική διαφορά ($p = 0.050$). Άρα, η μείωση της τιμής του SGP-130 στον ορό των ασθενών αποτελεί δείκτη καλής έκβασης της νόσου.

Σε παλαιότερη μελέτη του Simon A και συνεργατών το 2011, διερευνήθηκε ο τρόπος σηματοδότησης της πρωτεΐνης GP-130 και η σύνδεση της με την IL-6, ως βασικός ρυθμιστής της στη φλεγμονή. Παρουσιάζει μια προοπτική για μελλοντικές θεραπείες, που αναφέρεται στον αποκλεισμό της δραστηριότητας της IL-6 στην αυτοανοσία, στη φλεγμονή και στον καρκίνο. Η επιτυχής θεραπεία ορισμένων αυτοάνοσων καταστάσεων με το ανθρωποποιημένο αντίσωμα του αντι-IL-6 υποδοχέα -R (τοσιλιζουμάμπη), σε συνδυασμό με τον αποκλεισμό διαφόρων κυτταροκινών, που σηματοδοτούνται μέσω της υποομάδας του β-υποδοχέα της γλυκοπρωτεΐνης GP-130, αναδεικνύει την ανάγκη για περαιτέρω μελλοντική μελέτη.

Επακολούθως, σε νεότερη μελέτη του Zhang S και συνεργατών το 2020, όπου διερευνήθηκε ο μηχανισμός δράσης της τοσιλιζουμάμπης στη θεραπεία της πνευμονίας από COVID-19, αναλύθηκαν τα επίπεδα της IL-6, της δέσμευση της με τον υποδοχέα της IL-6R και στη συνέχεια της σύνδεση της με τον μετατροπέα του σήματος της γλυκοπρωτεΐνης GP-130, όπου και φάνηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση⁷⁵. Επομένως, αναδεικνύεται και βάσει της διεθνούς βιβλιογραφίας η ύπαρξη στενής επιδημιολογικής συσχέτισης μεταξύ του GP-130 και της νόσου COVID-19, γεγονός που αποτέλεσε ακόμη ένα στατιστικά σημαντικό εύρημα της παρούσας μελέτης.

Παρόλα αυτά, το μη ικανοποιητικό p -value της συσχέτισης των υπολοίπων μετρηθέντων παραγόντων IL-17, IL-22, FGF-23, PDGF-A πιθανόν να οφείλεται στον μη ικανοποιητικό αριθμό συμμετεχόντων για να τεκμηριωθεί η σημαντικότητα, ενώ φαίνεται να έχουν συσχετιστεί βιβλιογραφικά.

Μελέτες σε ασθενείς έχουν δείξει ότι η IL-17 ίσως αποτελεί και ένα σημαντικό θεραπευτικό δείκτη για τη μείωση των επιπλοκών, ιδιαίτερα των πνευμονικών, σε ασθενείς με COVID-19. Η πειραματική ανοσοτροποποιητική θεραπεία της COVID-19, ως μέσο για τη βελτίωση των αποτελεσμάτων του ARDS, βρίσκεται σε εξέλιξη σε αρκετές ελεγχόμενες κλινικές δοκιμές⁵⁹. Πράγματι, αρκετές κλινικές δοκιμές που διερευνούν τους αναστολείς του υποδοχέα IL-1 (anakinra) και του υποδοχέα IL-6 (τοσιλιζουμάμπη) βρίσκονται στο προσκήνιο. Το ίδιο συμβαίνει και με την αποτελεσματικότητα ή μη της χρήσης των κορτικοστεροειδών, αναφορικά με το ρόλο τους στη θεραπεία της COVID-19²². Με τη στόχευση της η IL-17, η οποία λειτουργεί «ανοδικά» τόσο της IL-1 όσο και της IL-6⁵⁹ και έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της στρατολόγησης των ουδετερόφιλων, παράγοντες που είναι γνωστό ότι παίζουν

σημαντικό ρόλο στο ARDS, παρουσιάζεται ως ένας εύλογος θεραπευτικός στόχος⁶⁰. Άλλωστε έχει διαπιστωθεί ότι, η ενεργοποίηση της οδού σηματοδότησης της IL-17A, σχετίζεται στενά με την αύξηση της σοβαρότητας των ιογενών αναπνευστικών λοιμώξεων και τελικά των φλεγμονωδών παρενεργειών⁶¹.

Αν και έχουν πραγματοποιηθεί πολυάριθμες κλινικές δοκιμές, μια απολύτως αποτελεσματική θεραπεία κατά της νόσου COVID-19 εξακολουθεί να προκαλεί το ερευνητικό ενδιαφέρον. Η IL-22 έχει προσελκύσει μεγάλο ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια, καθιστώντας την μια από τις καλύτερα μελετημένες κυτοκίνες της οικογένειας της ιντερλευκίνης-10 (IL-10). Πολυάριθμες μελέτες έχουν προτείνει ότι η IL-22 παίζει κρίσιμο ρόλο στις αντι-ιικές λοιμώξεις μέσω της σημαντικής βελτίωσης των φλεγμονωδών αποκρίσεων που προκαλούνται από τα κύτταρα του ανοσοποιητικού, της μείωσης του τραυματισμού των ιστών καθώς και της περαιτέρω προώθησης της επισκευής και αναγέννησης του επιθηλίου στους πνεύμονες. Γεγονός, που καθιστά το ρόλο της IL-22 ως πιθανή ανοσοθεραπευτική στρατηγική για την αποτελεσματικότερη διαχείριση του ιού⁷⁶.

Σε ελληνική συγκριτική μελέτη των Μπαχαράκη και συνεργατών, σε 59 ασθενείς οξείας λοίμωξης COVID-19 υπό αιμοκάθαρση, σε σύγκριση με 20 μη αιμοκαθαιρούμενους, απέδειξε ότι: οι κυκλοφορούσες συγκεντρώσεις διαφόρων παραγόντων, μεταξύ αυτών και του PDGF-A, αυξήθηκαν στους αιμοκαθαιρούμενους πάσχοντες. Οι συγκεντρώσεις των μεσολαβητών δεν διέφεραν πριν και μετά την HD, ενώ σημαντικές μειώσεις των CD4-λεμφοκυττάρων και των CD19-λεμφοκυττάρων βρέθηκαν σε αιμοκαθαιρούμενους ασθενείς. Οι συγκεντρώσεις των κυτταροκινών που βρέθηκαν κατά την αιμοδιάλυση ήταν χαμηλές, με εξαίρεση την IL-10 και την PDGF-A. Τόσο η IL-10 όσο και η PDGF-A αυξήθηκαν στην αιμοκάθαρση ασθενών με COVID-19⁶⁸.

Επιπρόσθετα σε κλινική μελέτη του Soares και συνεργατών το 2022, κατά τη λοίμωξη με SARS-CoV-2 εντοπίστηκε μια ομάδα κυτταροκινών, συμπεριλαμβανομένου και του ανοσομεσολαβητή FGF-23, με σημαντικά υψηλότερα τα επίπεδα αυτών στην ομάδα των ασυμπτωματικών, απ' ό,τι στην ομάδα των ασθενών με τα πρώιμα συμπτώματα. Έτσι, δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές στην έκφραση αυτών των γονιδίων, γεγονός που υποδηλώνει ότι πιθανώς η έκφραση αυτών των πρωτεϊνών να ρυθμίζεται από τους ιστούς των αναπνευστικών ή γαστρεντερικών επιθηλίων⁶⁶.

Συμπερασματικά, η ένταση της φλεγμονώδους απόκρισης στη νόσο COVID-19 αποτελεί έναν κρίσιμο παράγοντα για τον προσδιορισμό της σοβαρότητας και της έκβασης της νόσου². Η σύνδεση της σοβαρότητας της και η εξέλιξή της, σε συνδυασμό με την ένταση της φλεγμονώδους αντίδρασης θα μπορούσε να οδηγήσει περισσότερο αποτελεσματικά στη διαχείριση και την πρόγνωση του ιού.

Η ανοσολογική απόκριση του οργανισμού στον ιό αποδεικνύεται ο μεγαλύτερος οδηγός, όπως προτείνει και ο Liang Y και συνεργάτες το 2020. Ολοένα και περισσότερο οι επιστήμονες αναπτύσσουν θεραπείες κατά του ιού SARS-CoV-2, συνδέοντας την απορύθμιση των συστατικών της φυσικής και της επίκτητης ανοσολογικής απόκρισης του οργανισμού, που οδηγεί σε καταιγίδα κυτταροκινών²¹.

Οι μοριακοί μηχανισμοί της καταιγίδας κυτταροκινών που προκαλείται από τη λοίμωξη SARS-CoV-2 χρησιμοποιούνται ήδη για την καταπολέμηση του ιού. Αυτό μπορεί να παρέχει καθοδήγηση σχετικά με τη χρήση ανοσοθεραπείας ως συνδυασμένης θεραπείας, τόσο για την πρόληψη της εμφάνισης σοβαρού αναπνευστικού συνδρόμου -ARDS, όσο και για τη μείωση σε μεγάλο βαθμό των υπολοίπων επιπλοκών⁷⁷.

Σε αντίστοιχες εργασίες στο μέλλον, η παρακολούθηση περισσότερων ασθενών στη μελέτη θα μπορούσε να παρέχει περισσότερες πληροφορίες. Τα ευρήματά μας αναδεικνύουν τη χρησιμότητα της ποσοτικής εκτίμησης του ρόλου των κυτοκινών στην παρακολούθηση ασθενών με COVID-19, ώστε να αποτελέσει πολύτιμο διαγνωστικό και θεραπευτικό εργαλείο. Οι θεραπείες θα πρέπει να επικεντρώνονται, τόσο στις στρατηγικές πρόληψης, όσο και στον έλεγχο των οξέων ανοσολογικών -φλεγμονωδών αποκρίσεων.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Ippolito M, Simone B, Filisina C, Catalanotto F, Catalisano G, Marino C, et al, Bloodstream Infections in Hospitalized Patients with COVID-19: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Microorganisms* 2021 doi:10.3390/Microorganisms.9102016
2. Afzal A, Gutierrez VP, Gomez E, Mon A, Sarmiento C, Khalid A, et al, Bloodstream infections in hospitalized patients before and during the COVID-19 surge in a community hospital in the South Bronx. *International Journal of Infectious Diseases* 2022, 116: 43-46
3. Hu B, Guo H, Zhou P, Shi Z, Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nature Reviews Microbiology* 2020,19: 141- 154
4. Harrison A, Lin G, Wang P, Mechanisms of SARSCoV-2 Transmission and Pathogenesis. *Trends in immunology* 2020, 41: 1100–1115
5. Sungnak W, Huang N, Bécavin C, Berg M, Queen R, Litvinukova M, Lung T, et al, SARS-CoV-2 entry factors are highly expressed in nasal epithelial cells together with innate immune genes. *Nature medicine* 2020, 26: 681–687
6. Sachin T, Gurumurthy B, Das S, Anupama C, Kini D, Extrapulmonary manifestations of COVID-19 pneumonia – An institutional experience. *Journal of Medical and Scientific Research* 2020, 8: 11- 18
7. Simoneau C, Ott M, Modeling Multi-organ Infection by SARS-CoV-2 Using Stem Cell Technology. *Cell Stem Cell* 2020, 27: 859-868
8. Iwasaki M, Saito J, Zhao H, Sakamoto A, Hirota K, Ma D, et al, Inflammation triggered by SARS-CoV-2 and ACE2 augment drives multiple organ failure of severe COVID-19: molecular mechanisms and implications. *Inflammation* 2021, 44:13-34
9. Varga Z, Flammer A, Steiger, P, Haberecker M, Andermatt R, Zinkernagel A, et al, Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet* 2020, 395: 1417–1418
10. Teuwen A, Geldhof V, Pasut A, Carmeliet P, COVID-19: the vasculature unleashed. *Nature reviews. Immunology* 2020, 20: 389–391.

11. Ye M, Wysocki, J, William J, Soler J, Cokic I, Batlle D, Glomerular localization and expression of Angiotensin-converting enzyme 2 and Angiotensin-converting enzyme: implications for albuminuria in diabetes. *Journal of the American Society of Nephrology* 2006, 17: 3067–3075
12. Hasanvand A, COVID-19 and the role of cytokines. *Inflammopharmacology* 2022, 30: 789–798
13. Mehta P, McAuley F, Brown M, Sanchez E, Tattersall S, Manson J, et al, COVID19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet* 2020, 395: 1033–1034
14. Shah K, Fimal P, Alam A, Ganguly D, Chattopadhyay, Overview of Immune Response During SARS-CoV-2 Infection: Lessons From the Past. *Frontiers in immunology* 2020, doi.org/10.3389/fimmu.2020.01949
15. Le Bon A, Tough F, Links between innate and adaptive immunity via type I interferon. *Current opinion in immunology* 2002, 14: 432– 436.
16. Rabi A, Zoubi S, Kasasbeh A, Salameh M, Nasser D, SARS-CoV-2 and Coronavirus Disease 2019: What We Know So Far. *Pathogens* 2020, 9: 231
17. Li G, Chen X, Xu A, Profile of specific antibodies to the SARS-associated coronavirus. *The New England journal of medicine* 2003, 349: 508–509
18. Mishu MA, Samiha F, Zahan K, Saha A, Ferdousee S, Multi-organ Dysfunction Due to SARS-CoV-2 Infection: A Comparative Overview. *American Journal of Internal Medicine* 2021, 9: 26-35
19. Chiappalupi S, Salvadori L, Vukasinovic A, Donato R, Sorci G, Riuzzi F, et al, Targeting RAGE to prevent SARS-CoV-2-mediated multiple organ failure: Hypotheses and perspectives. *Life Sciences* 2021, doi: 10.1016/j.lfs.2021.119251
20. Hassan H, Sisson B, Shukla R, Wijewantha Y , T Funderburg , Zihai Li, Innate Immune Responses to Highly Pathogenic Coronaviruses and Other Significant Respiratory Viral Infections. *Frontiers in immunology* doi:10.3389/fimmu.2020.01979

21. Liang Y, Wang M, Chien C, Chian C, Aliaksandr A , Yi-Ping Y, et al, Highlight of Immune Pathogenic Response and Hematopathologic: Effect in SARS-CoV, MERS-CoV, and SARS-Cov-2 Infection. *Frontiers in immunology* 2020, doi: 10.3389/fimmu.2020.01022
22. İnandıklioğlu N, Akkoc T, Immune Responses to SARS-CoV, MERS-CoV and SARS-CoV-2. *Advances in experimental medicine and biology* 2020, doi: 10.3389/fimmu.2020.01022
23. Winkler F, Bengsch B, Use of Mass Cytometry to Profile Human T Cell Exhaustion. *Frontiers in immunology* 2019, doi:10.3389/fimmu.2019.03039
24. McGonagle D., Sharif K., O'Regan A, Bridgewood C, The Role of Cytokines including Interleukin-6 in COVID-19 induced Pneumonia and Macrophage Activation Syndrome-Like Disease. *Autoimmunity reviews* 2020, 19:10
25. Rodríguez Y, Novelli L, Rojas M, Santis M, Ampudia Y, Monsalve M, et al, Autoinflammatory and autoimmune conditions at the crossroad of COVID-19. *Journal of autoimmunity* 2020, doi: 10.1016/j.jaut.2020.102506
26. Hu B., Huang S., Yin L, The cytokine storm and COVID-19. *Journal of medical virology* 2021, 93: 250–256
27. Ragab D, Salah H, Taeimah M, Khattab R, Salem R, The COVID-19 Cytokine Storm; What We Know So Far. *Frontiers in immunology* 2020, doi: 10.3389/fimmu.2020.01446
28. Hussman P, Cellular and Molecular Pathways of COVID-19 and Potential Points of Therapeutic Intervention. *Frontiers in pharmacology* 2020, doi:10.3389/fphar.2020.01169
29. Haiming W, Xiaoling X, Yonggang Z, Aberrant pathogenic GM-CSF+ T cells and inflammatory CD14+CD16+ monocytes in severe pulmonary syndrome patients of a new coronavirus. *BioRxiv* 2020, doi:10.1101/2020.02.12.945576
30. Le Bon A, Tough F, Links between innate and adaptive immunity via type I interferon. *Current opinion in immunology* 2002, 14: 432– 436

31. Blanco-Melo D, Nilsson-Payant, E, Liu C, Uhl, S, Hoagland, D, Møller R, et al, Imbalanced Host Response to SARS-CoV-2 Drives Development of COVID-19. *Cell* 2020 181: 1036–1045
32. Zheng Y, Zhang M, Yang X, Zhang N, Wang C, Yang P, et al, Elevated exhaustion levels and reduced functional diversity of T cells in peripheral blood may predict severe progression in COVID-19 patients. *Cellular & molecular immunology* 2020, 17: 541–543
33. Melendez L, SARS-Cov-2: Biology, Detection, Macrophage Mediated Pathogenesis and Potential Treatments *Virology & Immunology Journal* 2020, 4:1-13
34. Stockinger B, Bourgeois C, Kassiotis G, CD4+ memory T cells: functional differentiation and homeostasis. *Immunological reviews* 2006, 211: 39–48
35. Qin C, Zhou L, Hu Z, Zhang S, Yang S, Tao Y, et al, Dysregulation of Immune Response in Patients with Coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2020, 71: 762–768.
36. Akhter N, Ahmad S, Alzahrani A, Dar A, Wahid M, Haque S, et al, Impact of COVID-19 on the cerebrovascular system and the prevention of RBC lysis. *European review for medical and pharmacological sciences* 2020, 24: 10267–10278
37. Janz R, Bastarache A, Sills G, Wickersham N, May K, Bernard R, et al, Association between haptoglobin, hemopexin and mortality in adults with sepsis. *Critical care* 2013, 17: 272
38. Capes A, Bailly S, Hantson P, Gerard L, Laterre F, COVID-19 infection associated with autoimmune hemolytic anemia. *Annals of hematology* 2020, 99: 1679–1680
39. Cavezzi A, Troiani E, Corrao S, COVID-19: hemoglobin, iron, and hypoxia beyond inflammation. A narrative review. *Clinics and practice* 2020, 10:1271
40. Liu X, Zhang R, He G, Hematological findings in coronavirus disease 2019: indications of progression of disease. *Annals of hematology* 2020, 99: 1421–1428
41. Chowdhury F, Anwar S, Management of Hemoglobin Disorders During the COVID-19 Pandemic. *Frontiers in medicine* 2020, 7: 306

42. Anai M, Akaike K, Iwagoe H, Akasaka T, Higuchi T, Miyazaki A, et al, Decrease in hemoglobin level predicts increased risk for severe respiratory failure in COVID-19 patients with pneumonia. *Respiratory investigation* 2021, 59: 187–193
43. Pretorius E, Kell B, Diagnostic morphology: biophysical indicators for iron-driven inflammatory diseases. *Integrative biology* 2014, 6: 486–510
44. Colafrancesco S, Alessandri C, Conti F, Priori R, COVID-19 gone bad: A new character in the spectrum of the hyperferritinemic syndrome? *Autoimmunity reviews* 2020, 19:102-573
45. Lüke F, Orsó E, Kirsten J, Poeck H, Grube M, Wolff D, et al, Coronavirus disease 2019 induces multi-lineage, morphologic changes in peripheral blood cells. *Advance online publication* 2020, doi: 10.1002/jha2.44
46. Yamada T, Wakabayashi M, Yamaji T, Chopra N, Mikami T, Miyashita H, et al, Value of leukocytosis and elevated C-reactive protein in predicting severe coronavirus 2019 (COVID-19): A systematic review and meta-analysis. *Clinica chimica acta. international journal of clinical chemistry* 2020, 509: 235–243.
47. Anka U, Tahir I, Abubakar D, Sabzevari A, Azizi G, Coronavirus disease 2019 (COVID-19): An overview of the immunopathology, serological diagnosis and management. *Scandinavian journal of immunology* 2021, doi: 10.1111/sji.12998
48. Ponti G, Maccaferri M, Ruini C, Tomasi A, Ozben T, Biomarkers associated with COVID-19 disease progression. *Critical reviews in clinical laboratory sciences* 2020, 57: 389–399
49. Lagunas A, Neutrophil-to-lymphocyte ratio and lymphocyte-to-C-reactive protein ratio in patients with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): A meta-analysis. *Journal of medical virology* 2020, 92: 1733–1734
50. Yan Q, Li P, Ye X, Longitudinal peripheral blood transcriptional analysis of COVID-19 patients captures disease progression and reveals potential biomarkers. *MedRxiv* 2021, 206: 2146-2159
51. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al, Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 2020, 395 :497–506

52. Cossarizza A, De Biasi S, Guaraldi G, Girardis M, Mussini C, Covid-19. SARS-CoV-2, the Virus that Causes COVID-19: Cytometry and the New Challenge for Global Health. *Cytometry. Part A. The journal of the International Society for Analytical Cytology* 2020, 97: 340–343.
53. Xu B, Fan Y, Wang L, Zou L, Yu H, He C, et al, Suppressed T cell-mediated immunity in patients with COVID-19: A clinical retrospective study in Wuhan, China. *The Journal of infection* 2020, 81: 51–60
54. Zhou Z, Ren L, Zhang L, Zhong J, Xiao Y, Jia Z, et al, Heightened Innate Immune Responses in the Respiratory Tract of COVID19 Patients. *Cell host & microbe* 2020, 27: 883–890
55. Zhou Y, Fu B, Zheng X, Wang D, Zhao C, Qi Y, et al, Pathogenic T cells and inflammatory monocytes incite inflammatory storm in severe COVID-19 patients. *National Science Review* 2020, 7:998-1002
56. Ouyang Y, Yin J, Wang W, Shi H, Shi Y, Xu B, Qiao L, et al, Downregulated Gene Expression Spectrum and Immune Responses Changed During the Disease Progression in Patients With COVID-19. *Clinical infectious diseases : an official publication. Infectious Diseases Society of America* 2020, 71: 2052–2060
57. García F, Immune Response, Inflammation, and the Clinical Spectrum of COVID-19. *Frontiers in immunology* 2020, doi: 10.3389/fimmu.2020.01441
58. Brevi A, Cogrossi L, Grazia G, Masciovecchio D, Impellizzieri D, Lacanfora L, et al, Much more than IL-17A: cytokines of the IL-17 family between microbiota and cancer. *Front Immunol.* 2020, doi: 10.3389/fimmu.2020.565470
59. Pacha O, Sallman M, Evans S, COVID-19: a case for inhibiting IL-17? *Nat Rev Immunol.* 2020, 20: 345–346
60. Salinas T, Zheng B, Routy J, Ancuta P, Targeting the interleukin-17 pathway to prevent acute respiratory distress syndrome associated with SARS-CoV-2 infection. *Respirology.* 2020, 25: 797–799

61. Mangodt T, Herck M, Nullens S, Ramet J, De Dooy J, Jorens P, et al. The role of Th17 and Treg responses in the pathogenesis of RSV infection. *PediatrRes*. 2015, 78: 483–491
62. Pociask D, Scheller E, Mandalapu S, McHugh K, Enelow R, Fattman C, et al. IL-22 is essential for lung epithelial repair following influenza infection. *Am J Pathol* 2013, 182: 1286–96
63. Kumar P, Thakar MS, Ouyang W, Malarkannan S, IL-22 from conventional nk cells is epithelial regenerative and inflammation protective during influenza infection. *Mucosal Immunol* 2013, 6: 69–82
64. Das S, Croix C, Good M, Chen J, Zhao J, Hu S, et al, Interleukin-22 inhibits respiratory syncytial virus production by blocking virus-mediated subversion of cellular autophagy. *iScience* 2020, 23: 101256
65. Elsamak A, Suleman M, Fibroblast growth factor-23 and hypophosphatemia in chronic obstructive pulmonary disease patients. *J.Med Biochem* 2012,31: 12–18
66. Soares A, Sauerwald N, Goforth C, Periasamy S, Weir D, Lizewski S, et al, Asymptomatic SARS-CoV-2 Infection Is Associated With Higher Levels of Serum IL-17C, Matrix Metalloproteinase 10 and Fibroblast Growth Factors Than Mild Symptomatic COVID-19. *Front Immunol* 2022, doi: 10.3389/fimmu.2022.821730
67. Bergsten E, Uutela M, Li X, Pietras K, Ostman A, Heldin CH, et al, PDGF-D is a specific, protease-activated ligand for the PDGF beta-receptor. *Nat Cell Biol* 2001, 3: 512–516
68. Bacharaki D, Karagiannis M, Giannakopoulos P, Giamarellos-Bourboulis E, et al, Immune responses of patients on maintenance hemodialysis after infection by SARS-CoV-2: a prospective observational cohort study. *BMC Infect Dis* 2023, doi: 10.1186/s12879-023-08569-2
69. Hibi M., Murakami M., Saito M., Hirano T, Taga T, and Kishimoto T. Molecular cloning and expression of an IL-6 signal transducer, gp130. *Cell* 1990, 63: 1149–1157

70. Taga T, Hibi M, Hirata Y, Yamasaki K, Yasukawa K, Matsuda T, Interleukin-6 triggers the association of its receptor with a possible signal transducer, gp130. *Cell* 1989, 58: 573–581
71. Nicola A, Hilton J, General classes and functions of four-helix bundle cytokines, *Adv. Prot. Chem* 1998, 52, 1-65
72. Ruan Q, Yang K, Wang W, Jiang L, Song J. Clinical predictors of mortality due to Covid -19 based on a data analysis of 150 patients from Wuhan. *China Intensive Care Med.* 2020, 46: 846–848
73. Zheng YY, Ma YT, Zhang JY, Xie X. COVID-19 and the cardiovascular system. *Nat Rev Cardiol.* 2020, 17: 259–260
74. Simon A Jones 1, Jürgen Scheller, Stefan Rose-John, J Clin. Therapeutic strategies for the clinical blockade of IL-6/gp130 signaling. *Invest*, 2011, 121:3375-83
75. Zhang S., Li L., Shen A., Chen Y., Qi Z. Rational use of tocilizumab in the treatment of novel coronavirus pneumonia. *Clin Drug Investig.* 2020, 40: 511–518
76. Si Fang, Dianwen J, Yong L, Wei C. The role of il-22in lung health for covid- 19. *eCollection* 2022. Doi: 10.3389
77. Ruan Q, Yang K, Wang W, Jiang L, Son. *Nat Rev Cardiol.* 2020, 17: 259–260.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

1. ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

IL: ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΗ

FGF-23: ΑΥΞΗΤΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ ΙΝΟΒΛΑΣΤΩΝ

PDGF-A: ΑΥΞΗΤΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ

SPG-130: ΔΙΑΜΕΜΒΡΑΝΙΚΗ ΓΛΥΚΟΠΡΩΤΕΙΝΗ

ACE-2: ΥΠΟΔΟΧΕΑΣ ΜΕΤΑΤΡΕΠΤΙΚΟΥ ΕΝΖΥΜΟΥ

CSS: ΚΑΤΑΙΓΙΔΑ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ

PRs: ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗΣ ΠΑΘΟΓΟΝΩΝ

TLRs: ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗΣ ΑΝΟΣΟΚΥΤΤΑΡΩΝ

INF: ΙΝΤΕΡΦΕΡΟΝΗ

Ig: ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ

ARDS: ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΟΞΕΙΑΣ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΗΣ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑΣ

PF: ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗ ΙΝΩΣΗ

CD4-8: Tα ΚΥΤΤΑΡΑ

MAS: ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΜΑΚΡΟΦΑΓΩΝ

sHLH: ΛΕΜΦΟΙΣΤΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ

PAMPs: ΠΑΘΟΓΟΝΑ ΜΟΡΙΑΚΑ ΜΟΤΙΒΑ

CFH: ΑΠΕΛΕΥΘΕΡΩΣΗ ΑΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ

NK: ΚΥΤΤΑΡΑ ΦΟΝΙΑΔΕΣ

ΧΑΠ: ΧΡΟΝΙΑ ΑΠΟΦΡΑΚΤΙΚΗ ΠΝΕΥΜΟΝΟΠΑΘΕΙΑ

ΜΕΘ: ΜΟΝΑΔΕΣ ΕΝΤΑΤΙΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

T.A.: ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ

HD: ΑΙΜΟΚΑΘΑΡΣΗ

2. ΠΡΑΚΤΙΚΟ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΥ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟΥ

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
ΔΙΟΙΚΗΣΗ 2^{ης} ΥΓΕΙΟΝΟΜΙΚΗΣ ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑΣ ΠΕΙΡΑΙΩΣ & ΑΙΓΑΙΟΥ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΟ ΓΕΝΙΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ
«ΑΤΤΙΚΟΝ»
**ΑΠΟΣΠΑΣΜΑ ΠΡΑΚΤΙΚΩΝ
ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΥ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟΥ**
της Τακτικής Συνεδρίασης 2022
στις 10/05/2022

ΑΠΟΦΑΣΗ

Θέμα Α14 : Κατάθεση διπλωματικής εργασίας με τίτλο: «ΕΝΤΑΣΗ ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΟΥΣ ΑΠΟΚΡΙΣΗΣ ΣΤΗ ΝΟΣΟ COVID-19», του Μεταπτυχιακού Φοιτητή κ. ΝΙΚΟΛΑΟΥ ΓΕΩΡΓΙΟΥ, (ΜΕΘ, ΕΒΔ290/05-05-2022)

Το Επιστημονικό Συμβούλιο (παρόντες: Καθηγητής, Γ. Γερουλάκος, Καθηγήτρια, Α. Ψυρρή, Διευθυντής ΕΣΥ, Σ. Κατσούδας, Διευθυντής ΕΣΥ, Α. Σιατέλης, Επιμελήτρια Β' ΕΣΥ, Π. Οικονομοπούλου, Επικ. Καθηγητής, Ν. Σιαφάκας, ΤΕ Φυσικοθεραπείας, Κ. Γρηγοριάδης, ΠΕ Νοσηλευτικής, Μ. Τσιρούδα), αφού έλαβε υπόψη:

- 1) την απόφαση της 6^{ης} (10/05/2022) (θέμα Α14) Συνεδρίαση της Επιτροπής Βιοηθικής Δεοντολογίας (παρόντες: Καθηγήτρια, Α. Ψυρρή, Διευθυντής ΕΣΥ, Α. Σιατέλης, Επιμελήτρια Β' ΕΣΥ, Π. Οικονομοπούλου, Επικ Καθηγητής, Ν. Σιαφάκας, ΠΕ Νοσηλευτικής, Μ. Τσιρούδα)
- 2) τις διαδικασίες και τους κανονισμούς υποβολής πρωτοκόλλων για διενέργεια κλινικής δοκιμής στο Νοσοκομείο
- 3) το γεγονός ότι ο φάκελος είναι πλήρης και καλύπτει όλες τις προϋποθέσεις για τη διεξαγωγή της μελέτης
- 4) ότι από τη διενέργεια της μελέτης δεν προκύπτει οικονομική επιβάρυνση για το Νοσοκομείο

Ομοφώνως

Γνωμοδοτεί θετικά για το παραπάνω ερευνητικό πρωτόκολλο.

Υπεύθυνοι της εν θέματι έρευνας

Διευθυντής: Καθηγητής Ηρ. ΤΣΑΓΚΑΡΗΣ

Ο Πρόεδρος του Επιστημονικού Συμβουλίου

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΥ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟΥ
ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Γ. ΓΕΡΟΥΛΑΚΟΣ

Καθηγητής Γ. Γερουλάκος

3. ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΜΕΝΗ ΣΥΓΚΑΤΑΘΕΣΗ

ΣΥΓΚΑΤΑΘΕΣΗ ΤΩΝ ΣΥΜΜΕΤΕΧΟΝΤΩΝ ΣΤΗ ΜΕΛΕΤΗ

Διάβασα το πλήρες κείμενο αυτού του εγγράφου και όλες μου οι απορίες, που αφορούν στη συμμετοχή μου στη μελέτη έχουν απαντηθεί. Κατανοώ ότι η συμμετοχή μου στη μελέτη είναι εθελοντική. Συμφωνώ με την απόδοση των ιατρικών μου πληροφοριών στους ερευνητές και στους αρμόδιους φορείς πχ. Την Επιτροπή Ιατρικής Δεοντολογίας του Νοσοκομείου, την Εθνική Επιτροπή Ηθικής Δεοντολογίας. Έχω ενημερωθεί για την προστασία των προσωπικών δεδομένων που με αφορούν και εξουσιοδοτώ την πρόσβαση, χρήση και μεταφορά των προσωπικών δεδομένων μου και των βιολογικών δειγμάτων όπως περιγράφεται παραπάνω. Είμαι ελεύθερος να αποσυρθώ από την μελέτη οποιαδήποτε στιγμή, για οποιαδήποτε λόγο και κατανοώ πως η απόφαση μου αυτή δε θα επηρεάσει την μελλοντική μου ιατρική θεραπεία. Κατανοώ ότι θα λάβω αντίγραφο του υπογεγραμμένου εγγράφου, με την ημερομηνία υπογραφής.

Υπογράφοντας αυτό το έγγραφο δεν παραιτούμε από τα δικαιώματά μου ως μέτοχος μιας κλινικής μελέτης.

Συμφωνώ να συμμετέχω στο πρωτόκολλο της μελέτης *“ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΕΣ ΙΔΙΑΙΤΕΡΟΤΗΤΕΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΠΟΥ ΕΧΟΥΝ ARDS ΚΑΙ ΤΟΥΣ ΚΑΝΟΥΝ ΕΠΙΡΡΕΠΕΙΣ ΣΕ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ”*

Αρχικά ασθενούς:

Αριθμός ασθενούς :

Όνομα ερευνητή:

Όνομα συμμετέχοντα στη μελέτη :

Υπογραφή συμμετέχοντα στη μελέτη ή νόμιμου εκπρόσωπου :

Ημερομηνία :

Όνομα ιατρού που έλαβε την συγκατάθεση μετά από ενημέρωση :

Ημερομηνία:

Υπογραφή ιατρού που έλαβε την συγκατάθεση μετά από ενημέρωση:

4. ΥΠΕΥΘΥΝΗ ΔΗΛΩΣΗ

Ο ΝΙΚΟΛΑΟΥ ΓΕΩΡΓΙΟΣ του ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΥ, με Αριθμό Μητρώου 20201024 γνωρίζοντας τις συνέπειες της λογοκλοπής, δηλώνω υπεύθυνα ότι η παρούσα εργασία με τίτλο «ΕΝΤΑΣΗ ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΟΥΣ ΑΠΟΚΡΙΣΗΣ ΣΤΗ ΝΟΣΟ COVID-19» αποτελεί προϊόν αυστηρά προσωπικής εργασίας και όλες οι πηγές που έχω χρησιμοποιήσει έχουν δηλωθεί κατάλληλα στις βιβλιογραφικές παραπομπές και αναφορές. Τα σημεία όπου έχω χρησιμοποιήσει ιδέες, κείμενο ή / και πηγές άλλων συγγραφέων, αναφέρονται ευδιάκριτα στο κείμενο με την κατάλληλη παραπομπή και η σχετική αναφορά περιλαμβάνεται στο τμήμα των βιβλιογραφικών αναφορών με πλήρη περιγραφή.