



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών
— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 —

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΠΡΟΕΔΡΟΣ: Καθηγητής, Νικόλαος Αρκαδόπουλος

ΤΟΜΕΑΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ

Δ' ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΗ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

ΠΑΝ. ΓΕΝΙΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ «ΑΤΤΙΚΟΝ»

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: Καθηγητής, Σωτήριος Τσιόδρας

ΣΥΝΕΡΓΑΖΟΜΕΝΟΙ ΦΟΡΕΙΣ: ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ ΜΕΛΕΤΗΣ ΤΗΣ ΣΗΨΗΣ

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: Καθηγητής, Γιαμαρέλλος - Μπουρμπούλης Ευάγγελος

«Πρώιμη πρόγνωση δυσμενούς έκβασης σε ασθενείς με νόσο COVID-19»

«ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ»

Χαρίλαος Β. Σαμαράς

Παθολόγος

Αθήνα, Μάιος 2025



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών
— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 —

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΠΡΟΕΔΡΟΣ: Καθηγητής, Νικόλαος Αρκαδόπουλος

ΤΟΜΕΑΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ

Δ' ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΗ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

ΠΑΝ. ΓΕΝΙΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ «ΑΤΤΙΚΟΝ»

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: Καθηγητής, Σωτήριος Τσιόδρας

ΣΥΝΕΡΓΑΖΟΜΕΝΟΙ ΦΟΡΕΙΣ: ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ ΜΕΛΕΤΗΣ ΤΗΣ ΣΗΨΗΣ

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: Καθηγητής, Γιαμαρέλλος - Μπουρμπούλης Ευάγγελος

«Πρώιμη πρόγνωση δυσμενούς έκβασης σε ασθενείς με νόσο COVID-19»

«ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ»

Χαρίλαος Β. Σαμαράς

Παθολόγος

Αθήνα, Μάιος 2025

Κατάθεση αίτησης έναρξης διατριβής: 23/02/2021.

Ορισμός τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής: 12/04/2021 αρ. πρωτ. 21875,

Κατάθεση πρωτοκόλλου διατριβής: 17/07/2022

Μέλη τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

- 1) Παπαδόπουλος Αντώνιος (Επιβλέπων) – Καθηγητής Παθολογίας Ιατρικής Σχολής Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών
- 2) Γιαμαρέλλος – Μπουρμπούλης Ευάγγελος – Καθηγητής Παθολογίας Ιατρικής Σχολής Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών
- 3) Δημόπουλος Γεώργιος - Καθηγητής Πνευμονολογίας και Εντατικής Θεραπείας Ιατρικής Σχολής Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών

4)

Πρόεδρος της Ιατρικής Σχολής: Καθηγητής Νικόλαος Φ. Αρκαδόπουλος

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή: 04/03/2025

- 1) Παπαδόπουλος Αντώνιος – Καθηγητής Παθολογίας Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ
- 2) Γιαμαρέλλος – Μπουρμπούλης Ευάγγελος – Καθηγητής Παθολογίας ΕΚΠΑ
- 3) Δημόπουλος Γεώργιος - Καθηγητής Πνευμονολογίας και Εντατικής Θεραπείας ΕΚΠΑ
- 4) Μπουτάτη Ελένη- Καθηγήτρια Παθολογίας Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ
- 5) Σαμάρκος Μιχαήλ - Καθηγητής Παθολογίας Ιατρικής ΕΚΠΑ
- 6) Ροβίνα Νικολέττα - Καθηγήτρια Πνευμονολογίας και Εντατικής Θεραπείας ΕΚΠΑ
- 7) Φανουριάκης Αντώνιος – Επ. Καθηγητής Παθολογίας Ρευματολογίας ΕΚΠΑ

Υποστήριξη ενώπιον της επταμελούς εξεταστικής επιτροπής: 06/05/2025

Η διατριβή έγινε αποδεκτή με το βαθμό «**Άριστα**»

Κατάθεσης διατριβής: 12/5/2025

Δημοσιεύσεις στο πλαίσιο της διατριβής

Ο υποψήφιος διδάκτωρ συμμετείχε σε **δύο δημοσιεύσεις** που σχετίζονται με το θέμα καθώς και μία ανακοίνωση σε διεθνές συνέδριο.

1^η Δημοσίευση (ως κύριος ερευνητής):

«Interferon gamma-induced protein 10 (IP-10) for the early prognosis of the risk for severe respiratory failure and death in COVID-19 pneumonia».

Cytokine. 2023 Feb;162:156111

Samaras C, Kyriazopoulou E, Poulakou G, Reiner E, Kosmidou M, Karanika I, Petrakis V, Adamis G, Gatselis NK, Fragkou A, Rapti A, Taddei E, Kalomenidis I, Chrysos G, Bertoli G, Kainis I, Alexiou Z, Castelli F, Saverio Serino F, Bakakos P, Nicastri E, Tzavara V, Kostis E, Dagna L, Koukidou S, Tzatzagou G, Chini M, Bassetti M, Trakatelli C, Tsoukalas G, Selmi C, Samarkos M, Pyrpasopoulou A, Masgala A, Antonakis E, Argyraki A, Akinosoglou K, Sympardi S, Panagopoulos P, Milionis H, Metallidis S, Syrigos KN, Angel A, Dalekos GN, Netea MG, Giamarellos-Bourboulis EJ.

2^η Δημοσίευση(συμμετέχων):

«Development and validation of SCOPE score: A clinical score to predict COVID-19 pneumonia progression to severe respiratory failure».

Cell Rep Med. 2022 Feb 25;3(3):100560

Giamarellos-Bourboulis EJ, Poulakou G, de Nooijer A, Milionis H, Metallidis S, Ploumidis M, Grigoropoulou P, Rapti A, Segala FV, Balis E, Giannitsioti E, Rodari P, Kainis I, Alexiou Z, Focà E, Lucio B, Rovina N, Scorzolini L, Dafni M, Ioannou S, Tomelleri A, Dimakou K, Tzatzagou G, Chini M, Bassetti M, Trakatelli C, Tsoukalas G, Selmi C, Samaras C, Saridaki M, Pyrpasopoulou A, Kaldara E, Papanikolaou I, Argyraki A, Akinosoglou K, Koupetori M, Panagopoulos P, Dalekos GN, Netea MG.

Ανακοίνωση σε διεθνές συνέδριο:

Anakinra efficacy in COVID-19 pneumonia guided by soluble urokinase plasminogen activator receptor: association with the inflammatory burden of the host

Charilaos Samaras¹, Evdoxia Kyriazopoulou², Karolina Akinosoglou³, Eleni Florou⁴, Artemis Bogosian⁴, Olga Tsachouridou⁵, Haralampos Milionis⁶, Styliani Sympardi⁷, Periklis Panagopoulos⁸, George N. Dalekos⁹, Garyphallia Poulakou², Evangelos J. Giamarellos-Bourboulis^{1, 4}

International Symposium on Immunotherapy of Severe Infections.

16-17 May 2024, Kalamata / Greece Elite Congress Centre A b s t r a c t B o o k (Abstract 14)

ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ ΜΕΛΕΤΗΣ ΤΗΣ ΣΗΨΗΣ - HELLENIC INSTITUTE FOR THE STUDY OF SEPSIS

Ο ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΗ

(μετάφραση)

Ορκίζομαι στο θεό Απόλλωνα τον ιατρό και στο θεό Ασκληπιό και στην Υγεία και στην Πανάκεια και επικαλούμενος τη μαρτυρία όλων των θεών ότι θα εκτελέσω κατά τη δύναμη και την κρίση μου τον όρκο αυτόν και τη συμφωνία αυτή.

Να θεωρώ τον διδάσκαλό μου της ιατρικής τέχνης ίσο με τους γονείς μου και την κοινωνό του βίου μου. Και όταν χρειάζεται χρήματα να μοιράζομαι μαζί του τα δικά μου. Να θεωρώ την οικογένειά του αδέρφια μου και να τους διδάσκω αυτήν την τέχνη αν θέλουν να την μάθουν χωρίς δίδακτρα ή άλλη συμφωνία. Να μεταδίδω τους κανόνες ηθικής, την προφορική διδασκαλία και όλες τις άλλες ιατρικές γνώσεις στους γιους μου, στους γιους του δασκάλου μου και στους εγγεγραμμένους μαθητές που πήραν τον ιατρικό όρκο, αλλά σε κανέναν άλλο.

Θα χρησιμοποιώ τη θεραπεία για να βοηθήσω τους ασθενείς κατά τη δύναμη και την κρίση μου, αλλά ποτέ για να βλάψω ή να αδικήσω.

Ούτε θα δίνω θανατηφόρο φάρμακο σε κάποιον που θα μου το ζητήσει, ούτε θα του κάνω μια τέτοια υπόδειξη.

Παρομοίως, δεν θα εμπιστευτώ σε έγκυο μέσο που προκαλεί έκτρωση. Θα διατηρώ αγνή και άσπιλη και τη ζωή και την τέχνη μου.

Δεν θα χρησιμοποιώ νυστέρι ούτε σε αυτούς που πάσχουν από λιθίαση, αλλά θα παραχωρώ την εργασία αυτή στους ειδικούς της τέχνης.

Σε όσα σπίτια πηγαίνω, θα μπαίνω για να βοηθήσω τους ασθενείς και θα απέχω από οποιαδήποτε εσκεμμένη βλάβη και φθορά, και ιδίως από γενετήσιες πράξεις με άνδρες και γυναίκες, ελεύθερους και δούλους.

Και όσα τυχόν βλέπω ή ακούω κατά τη διάρκεια της θεραπείας ή και πέρα από τις επαγγελματικές μου ασχολίες στην καθημερινή μου ζωή, αυτά που δεν πρέπει να μαθευτούν παραέξω δεν θα τα κοινοποιώ, θεωρώντας τα θέματα αυτά μυστικά.

Αν τηρώ τον όρκο αυτό και δεν τον παραβώ, ας χαίρω πάντοτε υπολήψεως ανάμεσα στους ανθρώπους για τη ζωή και για την τέχνη μου. Αν όμως τον παραβώ και επιορκήσω, ας πάθω τα αντίθετα.

Ο ὉΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΗ

(Πρωτότυπο)

Ὅμνυμι Ἀπόλλωνα ἱητρὸν, καὶ Ἀσκληπιὸν, καὶ Ὑγίαν, καὶ Πανάκειαν, καὶ θεοὺς πάντας τε καὶ πάσας, ἱστορας ποιούμενος, ἐπιτελέα ποιήσιν κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμὴν ὅρκον τόνδε καὶ συγγραφὴν τήνδε.

Ἠγήσασθαι μὲν τὸν διδάξαντά με τὴν τέχνην ταύτην ἴσα γενέτησιν ἐμοῖσι, καὶ βίου κοινώσασθαι, καὶ χρεῶν χρηρίζοντι μετάδοσιν ποιήσασθαι, καὶ γένος τὸ ἐξ ωυτέου ἀδελφοῖς ἴσον ἐπικρινέειν ἄρρεσι, καὶ διδάξειν τὴν τέχνην ταύτην, ἣν χρηρίζωσι μανθάνειν, ἄνευ μισθοῦ καὶ συγγραφῆς, παραγγελίης τε καὶ ἀκροήσιος καὶ τῆς λοιπῆς ἀπάσης μαθήσιος μετάδοσιν ποιήσασθαι υἱοῖσί τε ἐμοῖσι, καὶ τοῖσι τοῦ ἐμὲ διδάξαντος, καὶ μαθηταῖσι συγγεγραμμένοις τε καὶ ὠρκισμένοις νόμῳ ἱητρικῷ, ἄλλῳ δὲ οὐδενί.

Διαιτήμασί τε χρήσομαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμὴν, ἐπὶ δηλήσει δὲ καὶ ἀδικίῃ εἴρξειν.

Οὐ δώσω δὲ οὐδὲ φάρμακον οὐδενὶ αἰτηθεὶς θανάσιμον, οὐδὲ ὑφηγήσομαι συμβουλίην τοιήνδε. Ὅμοίως δὲ οὐδὲ γυναικὶ πεσσὸν φθόριον δώσω. Ἀγνῶς δὲ καὶ ὁσίως διατηρήσω βίον τὸν ἐμὸν καὶ τέχνην τὴν ἐμήν.

Οὐ τεμέω δὲ οὐδὲ μὴν λιθιῶντας, ἐκχωρήσω δὲ ἐργάτησιν ἀνδράσι πρήξιος τῆσδε.

Ἐς οἰκίας δὲ ὁκόσας ἂν ἐσίω, ἐσελεύσομαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων, ἐκτὸς ἐὼν πάσης ἀδικίης ἐκουσίης καὶ φθορίας, τῆς τε ἄλλης καὶ ἀφροδισίων ἔργων ἐπὶ τε γυναικείων σωμάτων καὶ ἀνδρώων, ἐλευθέρων τε καὶ δούλων.

Ἄ δ' ἂν ἐν θεραπείῃ ἢ ἴδω, ἢ ἀκούσω, ἢ καὶ ἄνευ θεραπήϊς κατὰ βίον ἀνθρώπων, ἃ μὴ χρή ποτε ἐκλαλέεσθαι ἔξω, σιγήσομαι, ἄρρήτα ἡγεύμενος εἶναι τὰ τοιαῦτα.

Ὅρκον μὲν οὖν μοι τόνδε ἐπιτελέα ποιέοντι, καὶ μὴ ξυγγέοντι, εἴη ἐπαύρασθαι καὶ βίου καὶ τέχνης δοξαζομένῳ παρὰ πᾶσιν ἀνθρώποις ἐς τὸν αἰεὶ χρόνον. Παραβαίνοντι δὲ καὶ ἐπιорκοῦντι, τάναντία τουτέων.

Βιογραφικό σημείωμα

1989: Εισαγωγή κατόπιν Πανελλαδικών εξετάσεων στην Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Κρήτης και αποφοίτηση με επίδοση Λίαν Καλώς .

1997: Εκπλήρωση στρατιωτικής θητείας: Κέντρο Εκπαίδευσης Άρτας και στη συνέχεια Ιατρός Μονάδας στο ΕΤΠ Χελιδόνας Έβρου.

01/1998 - 04/1998: Τρίμηνη εκπαίδευση στο ΓΝ Μεσολογγίου (πλαίσιο ανάληψης υπηρεσίας υπαίθρου)

05/1998 - 08/1999: Υπηρεσία Υπαίθρου ως Αγροτικός Ιατρός στο ΠΙ Φυτειών του ν. Αιτωλοακαρνανίας

06/08/1999 - 07/2000: Έναρξη ειδικότητας στο ΓΝ Άργους

07/00 - 06/2004: Συνέχιση και ολοκλήρωση ειδικότητας στο ΠΓΝ Νίκαιας «ο Άγιος Παντελεήμων», Β' Παθολογική Κλινική. Στο πλαίσιο της εκπαίδευσης στην ειδικότητα, εκπαίδευση επί τρίμηνο σε κάθε μία εκ των Καρδιολογίας, ΜΕΘ, Νεφρολογίας του ιδίου Νοσοκομείου.

12/2004: Μετά από από επιτυχή συμμετοχή στις εξετάσεις - λήψη τίτλου ειδικότητας (1^η συμμετοχή).

03/2005-05/2005: Υπηρεσία ως Ιατρός NAT

05/2005-05/2007: Εξειδίκευση στην Εντατικολογία, ΜΕΘ ΓΝ Ασκληπιείο Βούλας

10/2007: Επιτυχής συμμετοχή στις εξετάσεις - λήψη τίτλου εξειδίκευσης στην Εντατικολογία (1^η συμμετοχή)

07/2007-06/2009: Επικουρικός Ιατρός ΜΕΘ

06/2009: Επιμελητής Β' - Α' Παθολογική Κλινική, ΓΝ Ασκληπιείο Βούλας

2011-2013: Master στην «Ογκολογία Θώρακος» Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ

03/2012: Επιμελητής Α' - Α' Παθολογική Κλινική, ΓΝ Ασκληπιείο Βούλας

08/2012-08/2014: Εξειδίκευση Λοιμωξιολογίας ΓΝ «Γ. Γεννηματάς». 12/2014: Λήψη τίτλου Εξειδίκευσης

2016-2018: Αναπληρωματικό μέλος Ανώτατης Επιτροπής Υγειονομικού Υλικού

2016- Υπεύθυνος Ιατρείου Λοιμώξεων Α' Π ΓΝ Ασκληπιείο Βούλας

08/2019: Διευθυντής Παθολογίας, Α' Παθολογική Κλινική, ΓΝ Ασκληπιείο Βούλας

01/2020- : Προϊστάμενος Διευθυντής Παθολογίας, Α' Παθολογική Κλινική, ΓΝ Ασκληπιείο Βούλας

2021-2024: Πρόεδρος Επιτροπής Λοιμώξεων ΓΝ Ασκληπιείο Βούλας

09/2020 – 03/2022: Επιστημονικά Υπεύθυνος Πτέρυγας COVID , ΓΝ Ασκληπιείο Βούλας

Παρακολούθηση μεγάλου αριθμού συνεδρίων

Δημοσιεύσεις σε διεθνή και ελληνικά ιατρικά έντυπα

Ανακοινώσεις σε διεθνή και ελληνικά συνέδρια

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω από καρδιάς,
τον σπουδαίο Καθηγητή Παθολογίας Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ, Ιατρό και Άνθρωπο
κ. Γιαμαρέλλο – Μπουρμπούλη Ευάγγελο ο οποίος μου έδωσε την ευκαιρία να έρθω σε
επαφή με τον υπέροχο κόσμο της Ανοσολογίας Λοιμώξεων.

Τον επιβλέποντα Καθηγητή Παθολογίας Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ,
κ. Παπαδόπουλο Αντώνιο

Τον Καθηγητή Πνευμονολογίας – Εντατικολογίας Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ,
κ. Δημόπουλο Γεώργιο

Θα ήθελα επίσης να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην φίλη, κ. Ελέζογλου Αντωνία,
Διευθύντρια Ρευματολογικής Κλινικής ΓΝ Ασκληπιείο Βούλας για τη βοήθεια της.

Ευχαριστώ επίσης και τις κ. Παυλοπούλου Σοφία, κ. Κωνσταντοπούλου Αγγελική από τη
Γραμματεία του κ. Καθηγητή.

«...Στους ασθενείς μας, στους οικείους τους, στους συναδέλφους μας, στην οικογένειά μας και στους συνοδοιπόρους μας στο καθημερινό αγώνα για τον συνάνθρωπο...»

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	1
1.1 Η έλευση της πανδημίας COVID.....	2
1.3. Αντίκτυπος της νόσου COVID-19.....	2
1.3.1 Αριθμός κρουσμάτων.....	3
1.3.2 Θνητότητα από τη νόσο COVID-19.....	5
2.1. Ταξινόμηση των ανθρώπινων κορωνοϊών.....	5
2.2 Δομή των κορωνοϊών- SARS-COV-2.....	6
2.2.1 Δομικές πρωτεΐνες.....	6
2.3 Γονιδιωματική οργάνωση του SARS CoV-2.....	6
2.4 Βιολογία του πολλαπλασιασμού του ιού SARS CoV2.....	9
2.5 Αποτελέσματα μεταβολών SARS-CoV-2.....	12
2.5.1 Παραλλαγές ενδιαφέροντος (VOI).....	12
2.5.2 Παραλλαγές ανησυχίας (VOCs).....	12
 3 SARS COV-2 και έμφυτη ανοσία.....	15
3.1 Έμφυτη ανοσία-Γενικά.....	15
3.2 Η απόκριση ιντερφερόνης.....	17
3.3 Οι υποδοχείς αναγνώρισης προτύπων (PPRs).....	17
3.3.1 Κατηγορίες υποδοχέων αναγνώρισης προτύπων (PPRs).....	19
3.4 Μετά την ενεργοποίηση των PPRs.....	19
3.4.1 Οδός Ιντερφερονών (IFNs).....	20
3.4.2 Οδός NF-kb.....	21
3.5 Ιντερφερόνες (IFNs)	22
3.5.1 Γενικά.....	22
3.5.2 Παραγωγή ιντερφερονών.....	22
3.5.3 Σύνδεση με υποδοχείς ιντερφερόνης και ενεργοποίηση τους	23
3.5.4 Ενεργοποίηση αντιικών γονιδίων (ISGs)	25
3.5.4.1 Ενίσχυση των αμυντικών μηχανισμών.....	25
3.5.4.2 Αναστολή της αντιγραφής του ιού.....	26

3.5.4.2.1 Αντικές δράσεις των προϊόντων των διεγχειρόμενων από.....	26
ιντερφερόνη γονιδίων ISGs:	
3.5.4.2.2 Διέγερση της έκφρασης του κυτταρικού ενζύμου πρωτεϊνικής.....	27
κινάσης R (PKR)	
3.5.4.2.3 .Ενεργοποίηση της 2',5'-ολιγοαδενυλικής συνθετάσης.....	27
3.5.4.2.4 Επαγωγή παραγωγής πρωτεϊνών Mx.....	27
3.5.4.2.5 Οι IFITMs.....	28
3.5.4.2.6 Επαγωγή ενζύμων ADAR.....	28
3.5.4.2.7 Επαγωγή των πρωτεϊνών Staufen.....	28
3.5.4.2.8 Επαγωγή άλλων πρωτεϊνών (TRIM, APOBEC3, tetherin, ISG15).....	28
3.5.4.2.9 Επαγωγή της πρωτεΐνης 6.....	29
3.5.4.2.10 Επαγωγή κυτταροκίνης TRAIL.....	29
3.5.5 Ρύθμιση της ανατροφοδότησης.....	29
3.5.6 Συμπερασματικά.....	29
 4. SARS COV-2 και αποφυγή των έμφυτων ανοσιακών μηχανισμών.....	30
4.1 Γενικά.....	30
4.2 Μηχανισμοί αποφυγής ανοσίας.....	30
4.2. 1 Παρεμπόδιση σηματοδότησης ιντερφερόνης.....	30
4.2.2 Παρεμπόδιση από τον ιό των μέσω IFN επαγομένων δράσεων.....	34
και κυτταρικών γεγονότων	
 5 Ανοσιακή δυσρύθμιση.....	36
5.1 Γενικά.....	36
5.2 Καταιγίδα κυτταροκινών - σύνδρομο απελευθέρωσης κυτταροκίνης.....	36
 6. Οι κυτταροκίνες στη θεραπευτική της νόσου COVID-19.....	42
6.1 Γενικά.....	42
6.2 Τα κορτικοστεροειδή ως αντιφλεγμονώδεις παράγοντες.....	42
6.2.1 Γονιδιωματικές οδοί και δράσεις.....	43
6.2.2 Μη γονιδιωματικές οδοί και δράσεις.....	44
6.2.3 Αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες των γλυκοκορτικοειδών.....	44
6.2.3.1 Αναστολή προφλεγμονωδών γονιδίων.....	44

6.2.3.2 Καταστολή ενζύμων που εμπλέκονται στη φλεγμονή.....	45
6.2.3.3 Επαγωγή αντιφλεγμονωδών γονιδίων.....	45
6.2.3.4 Επιγενετικές τροποποιήσεις.....	46
6.2.3.5 Μετα-μεταγραφικές επιδράσεις.....	46
6.2.4 Τα κορτικοστεροειδή στη νόσο COVID-19.....	46
 6.3 Η επαγόμενη από ιντερφερόνη-γ, πρωτεΐνη 10.....	49
(Interferon-γ inducible Protein, IP-10) ή χημειοκίνη CXCL10	
6.3.1 Η δομή του γονιδίου CXCL10.....	49
6.3.2 Η οδός της κυτταρικής σηματοδότησης CXCL10 / CXCR3.....	50
6.3.2.1 Επαγωγή της έκφρασης της IP-10.....	51
6.3.2.2 Ενεργοποίηση του υποδοχέα CXCR3 και των καθοδικών.....	51
οδών μεταγωγής σήματος	
6.3.3 Οι δράσεις της χημειοκίνης CXCL10.....	52
6.3.3.1 Ρύθμιση της χημειοταξίας των κυττάρων CXCR3.....	53
6.3.3.2 Ρύθμιση της κυτταρικής ανάπτυξης και πολλαπλασιασμού.....	54
6.3.3.4 Επαγωγή απόπτωσης.....	55
6.3.3.5 Ρύθμιση της αναστολής της αγγειογένεσης.....	56
6.3.4 Ο ρόλος της χημειοκίνης CXCL10 (IP-10) σε λοιμώδη νοσήματα.....	58
6.3.4.1 Η CXCL10 σε βακτηριακές λοιμώξεις.....	58
6.3.4.2 Η CXCL10 (IP-10) σε μυκητιασικές λοιμώξεις.....	58
6.3.4.3 Η CXCL10 σε λοιμώξεις από πρωτόζωα.....	59
6.3.4.4 Η CXCL10 σε ιογενείς λοιμώξεις.....	59
6.3.4.5 Η IP-10 (CXCL10) στη COVID19.....	60
6.3.5 Θεραπευτικές εφαρμογές της CXCL10.....	62
 6.4 Η πρωτεΐνη TRAIL.....	65
6.4.1 Γενικά.....	65
6.4.2 Δομή και λειτουργία της πρωτεΐνης TRAIL.....	66
6.4.3 Αποπτωτικές ιδιότητες TRAIL/TRAIL-R και επιδράσεις στην ανοσία.....	70

6.4.4 TRAIL και όγκοι – μεταμοσχεύσεις.....	70
6.4.5 TRAIL και λοιμώξεις από ιούς.....	71
6.4.6 TRAIL και κορωνοϊοί – SARS-COV2.....	73

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....75

Η πρωτεΐνη 10 (IP-10) που επάγεται από την ιντερφερόνη-γ για την πρόληψη.....76

πρόγνωση του κινδύνου για σοβαρή αναπνευστική ανεπάρκεια και θάνατο στην πνευμονία COVID-19

1 Εισαγωγή.....	76
1.1 Στόχοι.....	77
1.2 Σχήμα 1. Διάγραμμα ροής μελέτης (flow chart).....	78
2. Υλικό και Μέθοδοι.....	79
2.1 Ασθενείς.....	79
2.2 Μετρήσεις βιοδεικτών.....	81
2.3 Καταληκτικά σημεία.....	81
2.4 Στατιστική ανάλυση.....	83
3. Αποτελέσματα.....	84
3.1. Πληθυσμός ασθενών και ανάλυση του πρωτεύοντος καταληκτικού σημείου.....	84
3.2. Κοόρτη αξιολόγησης (discovery).....	85
3.3 Επιβεβαίωση στην κοόρτη SAVE.....	85
3.4 Η μελέτη της IP-10 (από ιντερφερόνη-γ επαγόμενη πρωτεΐνη-10) για.....	86
την έγκαιρη ανίχνευση του κινδύνου εξέλιξης σε σοβαρή αναπνευστική ανεπάρκεια (SRF) ή θανάτου τις πρώτες 14 ημέρες (Σχήμα 2)	
3.5 Η IP-10 (από ιντερφερόνη-γ επαγόμενη πρωτεΐνη-10) ως ανεξάρτητη.....	92
μεταβλητή για την έγκαιρη ανίχνευση του κινδύνου εξέλιξης σε σοβαρή αναπνευστική ανεπάρκεια (SRF) ή θανάτου τις πρώτες 14 ημέρες (Σχήμα 3)	

3.6 Αποτελεσματικότητα της θεραπείας με anakinra μεταξύ των.....	94
συμμετεχόντων στη μελέτη SAVE-MORE με IP-10 (από ιντερφερόνη-γ επαγόμενη πρωτεΐνη-10) 2.000 ng/ml ή περισσότερο (Σχήμα 4)	
3.7 Επιβεβαίωση του ρόλου της IP-10 (interferon gamma-induced.....	96
protein-10) ως ανεξάρτητης μεταβλητής για την έγκαιρη ανίχνευση κινδύνου (Σχήμα 5)	
4 Συζήτηση.....	98
Χρηματοδότηση.....	101
5 Περίληψη.....	102
6 Summary.....	104
Βιβλιογραφία.....	105

Πρώιμη πρόγνωση δυσμενούς έκβασης σε ασθενείς με νόσο COVID-19

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1 Η έλευση της πανδημίας COVID-19

Η εμφάνιση μιας συρροής κρουσμάτων, μιας νέας, άγνωστης έως τότε επιδημίας πνευμονίας περιγράφηκε για πρώτη φορά τον Δεκέμβριο του 2019, στην πόλη Γουχάν της επαρχίας Χουμπέι της Κίνας. Όντας πολύ μεταδοτική, η επιδημία της ασυνήθιστης αυτής ιογενούς πνευμονίας που προκλήθηκε από έναν νέο τύπο κορωνοϊού, εξαπλώθηκε γρήγορα σε όλο τον κόσμο, αποτελώντας μια εξαιρετική απειλή για την παγκόσμια δημόσια υγεία. Ονομάστηκε σοβαρό οξύ αναπνευστικό σύνδρομο από κορωνοϊό 2 (SARS-CoV-2) ή αλλιώς COVID-19.

Η εξάπλωση της είχε δυσβάσταχτες επιπτώσεις παγκοσμίως τόσο σε επίπεδο νοσηρότητας και θνητότητας όσο και σε κοινωνικο-οικονομικό επίπεδο.

1.1 Αντίκτυπος της νόσου COVID-19

1.1.1 Αριθμός κρουσμάτων.

Ο επίσημος αριθμός κρουσμάτων αναφέρεται στον αριθμό των ατόμων που έχουν υποβληθεί σε εξετάσεις για COVID-19 και των οποίων το τεστ έχει επιβεβαιωθεί ως θετικό σύμφωνα με τα επίσημα πρωτόκολλα, ανεξάρτητα από το αν εμφάνισαν συμπτωματική νόσο ή όχι [1]. Λόγω της επίδρασης της μεροληψίας δειγματοληψίας, υπολογίζεται ότι οι συνολικές λοιμώξεις υπερβαίνουν σημαντικά τον αριθμό των αναφερόμενων περιπτώσεων.

Οι εκτιμήσεις που βασίζονται στον οροθετικό επιπολασμό είναι συντηρητικές καθώς ορισμένες μελέτες δείχνουν ότι τα άτομα με ήπια συμπτώματα μπορεί να μην έχουν ανιχνεύσιμα αντισώματα [2].

Έως τις 14 Απριλίου 2022, περισσότερα από 500 εκατομμύρια κρούσματα είχαν επιβεβαιωθεί παγκοσμίως. Τα περισσότερα όμως κρούσματα είναι ανεπιβεβαιώτα, με το Ινστιτούτο Μετρήσεων και Αξιολόγησης της Υγείας να υπολογίζει ότι ο πραγματικός αριθμός των κρουσμάτων στις αρχές του 2022 ανερχόταν σε δισεκατομμύρια [3].

1.1.2 Θνητότητα από τη νόσο COVID-19

Έως τις 13 Νοεμβρίου 2023, η πανδημία είχε προκαλέσει 771.820.173 κρούσματα και 6.978.162 επιβεβαιωμένους θανάτους, κατατάσσοντάς την πέμπτη στις πιο θανατηφόρες επιδημίες και πανδημίες στην ιστορία [4].

Ο πρώτος επιβεβαιωμένος θάνατος ήταν στη Wuhan στις 9 Ιανουαρίου 2020. Οι επίσημοι αριθμοί θανάτων περιλαμβάνουν συνήθως ασθενείς που απεβίωσαν αφού βρέθηκαν θετικοί. Οι εκτιμήσεις για τον πραγματικό αριθμό θανάτων από COVID-19 παγκοσμίως, με βάση δεδομένα αξιολόγησης και της υπερβάλλουσας θνητότητας, ανέρχονται σε πάνω από 18,5 εκατομμύρια έως την 1η Απριλίου 2023, σύμφωνα το Ινστιτούτο Μετρήσεων και Αξιολόγησης της Υγείας [5].

Ο χρόνος μεταξύ της έναρξης των συμπτωμάτων και του θανάτου κυμαίνεται από 6 έως 41 ημέρες, συνήθως περίπου 14 ημέρες [6].

Το ποσοστό θνητότητας διαπιστώθηκε ότι αυξάνεται ανάλογα με την ηλικία και την παρουσία συννοσηροτήτων [7].

Μία ποσοτικοποίηση της θνητότητας γίνεται με τη χρήση του λόγου θνητότητας εξαιτίας της λοίμωξης (Infection Fatality Rate - IFR) ή "κίνδυνος θανάτου από τη λοίμωξη" που είναι ο συνολικός αριθμός θανάτων που αποδίδονται στη νόσο προς το άθροισμα των προσβεβλημένων ατόμων (συμπεριλαμβανομένων των ασυμπτωματικών και αδιάγνωστων λοιμώξεων και εξαιρουμένων των εμβολιασμένων μολυσμένων ατόμων [8].

Οι εκτιμήσεις από τις διάφορες μελέτες κατά το πρώτο έτος της πανδημίας προσδιόρισαν τον λόγο IFR από τη νόσο COVID-19 ανάλογα με την ηλικιακή ομάδα

Εκτίμηση IFR ανά ηλικιακή ομάδα ως εξής:

IFR ανά ηλικιακή ομάδα [9].

0-34	0,004%	45-54	0,23%	55-64	0,75%	75-84	8,5%
35-44	0,068%	55-64	0,75%	65-74	2,5%	85+	28,3%

Τον Δεκέμβριο του 2020, μια συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση υπολόγισε ότι το σταθμισμένο IFR ήταν 0,5% έως 1% σε ορισμένες χώρες (Γαλλία, Ολλανδία, Νέα Ζηλανδία και Πορτογαλία), 1% έως 2% σε άλλες χώρες (Αυστραλία, Αγγλία, Λιθουανία και Ισπανία), και περίπου 2,5% στην Ιταλία. Αυτή η μελέτη ανέφερε ότι οι περισσότερες από τις διαφορές αντικατοπτρίζουν αντίστοιχες διαφορές στην ηλικιακή κατανομή του πληθυσμού [10]. Για σύγκριση, η θνητότητα από την εποχική γρίπη στις Ηνωμένες Πολιτείες είναι 0,1%, ποσοστό 13 φορές χαμηλότερο από αυτό της COVID-19 [11].

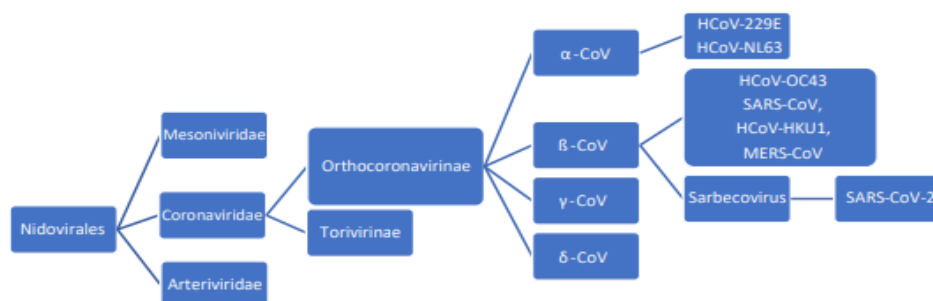
Μια άλλη παράμετρος που χρησιμοποιείται στην εκτίμηση του ποσοστού θνητότητας είναι ο λόγος θνητότητας περιστατικών (**Case Fatality Rate - CFR**), που είναι η αναλογία θανάτων προς διαγνώσεις. Αυτή η μέτρηση μπορεί να είναι παραπλανητική λόγω της καθυστέρησης μεταξύ της έναρξης των συμπτωμάτων και του θανάτου και επειδή ο έλεγχος επικεντρώνεται μόνο σε συμπτωματικά και εργαστηριακώς τεκμηριωμένα περιστατικά.

Με βάση τα στατιστικά του Πανεπιστημίου Johns Hopkins, ο παγκόσμιος CFR εκτιμήθηκε σε 1,02% (6.881.955 θάνατοι για 676.609.955 περιπτώσεις) στις 10 Μαρτίου 2023. Ο αριθμός ποικίλλει ανά περιοχή και γενικά έχει μειωθεί με την πάροδο του χρόνου [12].

2.1 Ταξινόμηση των ανθρώπινων κορωνοϊών.

Οι κορωνοϊοί είναι σφαιρικοί ιοί με αιχμές σε σχήμα ακτίνας που προεξέχουν από την επιφάνεια, δίνοντας μια εμφάνιση ηλιακού στέμματος. Τα ελικοειδώς συμμετρικά νουκλεοκαψίδια, περιέχουν ένα θετικό γονιδίωμα RNA που βρίσκεται μέσα στο περίβλημα, και αποτελεί το μεγαλύτερο γονιδίωμα στους ιούς RNA.

Ο SARS-CoV-2 ανήκει στην τάξη Nidovirales, οικογένεια Coronaviridae, υποοικογένεια Orthocoronavirinae, γένος Betacoronavirinae και υπογένος Sarbecovirus. Ο SARS-CoV-2 έχει περίπου 96% γενετική ομοιότητα με τον κορωνοϊό της νυχτερίδας και 79,5% με τον SARS-CoV-1. Είναι ο έβδομος ανθρώπινος κορωνοϊός που έχει ανακαλυφθεί μέχρι τώρα μετά τους OC43, HKU1, 229E, NL63, SARS-CoV, MERS-CoV) [13].



Εικόνα 1. Ταξινόμηση των κορωνοϊών .

2.2 Δομή των κορωνοϊών- SARS-COV-2.

2.2.1 Δομικές πρωτεΐνες

Οι κορωνοϊοί έχουν μια στιβάδα γλυκοπρωτεϊνικής ακίδας S, που αποτελείται από δύο υπομονάδες S1 και S2. Η S1 μεσολαβεί στην προσκόλληση του ιού με το κύτταρο ξενιστή και η S2 βοηθά στη σύντηξή του με την κυτταρική μεμβράνη του ξενιστή. Γενετική τροποποίηση της στιβάδας γλυκοπρωτεϊνικής ακίδας θα μπορούσε ενδεχομένως να επηρεάσει τη λοιμογόνο δύναμη του ιού [14].

Επίσης διαθέτουν και άλλες δομικές πρωτεΐνες, ενσωματωμένες στη μεμβράνη, μικρές (πρωτεΐνες M και E) και την πρωτεΐνη του νουκλεοκαψιδίου (N). Τα γονίδια που κωδικοποιούν αυτές τις πρωτεΐνες (S, E και N) μπορούν να ταυτοποιηθούν με διαγνωστικές δοκιμασίες που βασίζονται σε τεχνικές ανίχνευσης νουκλεϊκού οξέος. Ο SARS-CoV2 έχει ένα φυλογενετικά διαφορετικό γονίδιο RNA εξαρτώμενης πολυμεράσης (RdRp) και πρωτεΐνες όπως η πρωτεάση που μοιάζει με 3-χυμοθρυψίνη, η πρωτεάση που μοιάζει με παπαΐνη και άλλες με τις οποίες ασκεί τη λοιμογόνο επίδρασή του [15].

2.3 Γονιδιωματική οργάνωση του SARS CoV2

Το γενετικό υλικό του SARS-COV-2 έχει μήκος ~30kb, και είναι το μεγαλύτερο που συναντάται σε RNA ιούς. Είναι ένα συνεχές μόριο «positive-sense» μονόκλωνου RNA (mRNA το οποίο μπορεί να μεταφραστεί απευθείας σε πρωτεΐνες στα κύτταρα του ξενιστή εν αντιθέσει με το «negative-sense» που πρέπει πρώτα να μεταγραφεί σε mRNA και εν συνεχεία να μεταφραστεί) [16].

Η οργάνωση του γονιδιώματος του SARS-CoV-2 είναι παρόμοια με εκείνη των άλλων κορωνοϊών (CoVs). Ξεκινώντας από το 5' άκρο, υπάρχουν τα γονίδια για τη ρεπλικάση και τις μη δομικές πρωτεΐνες (ORF1a και ORF1ab), ακολουθούμενα από αυτά για τις πρωτεΐνες ακίδας (S), περιβλήματος (E), μεμβράνης (M) και νουκλεοκαψιδίου (N), με διάφορους διαγονιδιακούς βοηθητικούς παράγοντες [17]. Το γονιδίωμα του παρουσιάζει ανοικτά πλαίσια ανάγνωσης (Open Reading Frames - ORFs), συμπεριλαμβανομένων 10 λειτουργικών ORFs. Ο ακριβής αριθμός των ORF στο γονιδίωμα SARS-CoV-2 μπορεί να εξαρτάται από τα

συγκεκριμένα κριτήρια που χρησιμοποιούνται για τον ορισμό ενός ORF. Γενικά, υπάρχουν τουλάχιστον 14 γνωστά ORF στο γονιδίωμα του SARS-CoV-2. Αυτά τα ORFs κωδικοποιούν πρωτεΐνες που εμπλέκονται σε διάφορες λειτουργίες απαραίτητες για την αντιγραφή, τη μεταγραφή και άλλες διαδικασίες του ιού. Οι δύο μη μεταφραζόμενες περιοχές (UTR), 5' UTR και 3' UTR, παίζουν ρόλο στις ενδομοριακές αλληλεπιδράσεις, μεσολαβώντας στις αλληλεπιδράσεις RNA-RNA, καθώς και στη σύνδεση μεταξύ των ιικών και των κυτταρικών πρωτεϊνών των ξενιστών. Επιπλέον, το γονιδίωμα του SARS-CoV-2 είναι ικανό να αλληλεπιδρά με διάφορα microRNAs (miRNAs) του ξενιστή, τα οποία είναι μικρά μονόκλωνα μη κωδικοποιητικά μόρια RNA. Περίπου τα δύο τρίτα του γονιδιώματος αποτελούνται από δύο επικαλυπτόμενα ORFs, που ονομάζονται ORF-1a και -1b, και κωδικοποιούν τις πολυπρωτεΐνες pp1a και pp1ab [18].

Κατά την αντιγραφή το RNA υπόκειται σε μεταλλάξεις, περίπου σε συχνότητα 2×10^{-6} ανά κύκλο αντιγραφής, ποσοστό μικρότερο των υπόλοιπων RNA ιών, λόγω μιας 3'-5' εξωνουκλεάσης με επιδιορθωτικές ιδιότητες [19]. Από το 5' έως το 3', το γονιδίωμα είναι οργανωμένο ως δομή 5'-cap, 5' UTR, ORF1ab, S, ORF3a-d, E, M, ORF6, ORF7a-b, ORF8, ORF9b-c, N, ORF10 και 3' UTR [18].

Το γονιδίωμα κωδικοποιεί για τέσσερες (4) δομικές πρωτεΐνες, έντεκα (11) βοηθητικές πρωτεΐνες και δεκαέξι (16) μη δομικές πρωτεΐνες (Non Structural Proteins -NSPs) [20].

Το πρώτο ανοιχτό πλαίσιο ανάγνωσης ORF1a/b (περίπου τα δύο τρίτα του συνόλου του γονιδιώματος) στο 5' άκρο κωδικοποιεί τις μη δομικές πρωτεΐνες (NSP) poly protein1a, b (pp1a, pp1b) [21].

Το pp1a αντιστοιχεί σε NSP1 έως NSP11 και το pp1ab περιλαμβάνει NSP12 έως NSP16.

Τα ORF που βρίσκονται στο άκρο 3' κωδικοποιούν τέσσερις δομικές πρωτεΐνες: Την γλυκοπρωτεΐνη ακίδα S (αναγνωρίζει υποδοχείς κυττάρου ξενιστή), την πρωτεΐνη μεμβράνης (M) (σχηματίζει τα ιικά σωμάτια και το περίβλημα), την πρωτεΐνη E (συγκρότηση και απελευθέρωση ιικών σωματίων) και την πρωτεΐνη νουκλεοκαψιδίου (N) που περικλείει το γονιδίωμα RNA και παίζει ρόλο στην παθογένεια του ιού ως αναστολέας ιντερφερόνης (IFN).

Τα 11 βοηθητικά γονίδια και οι πρωτεΐνες είναι ORF3a-d, ORF6, ORF7a και b, ORF8, ORF9b και

c, και ORF10, και εξυπηρετούν διάφορες λειτουργίες σχετικές με την την αλληλεπίδραση με τον ξενιστή και την ανοσοτροποποίηση. Οι 16 nsps αναγνωρίζονται αριθμητικά ως nsp1-16 [22].

Όλες οι NSPs συντίθενται από ORF1a και ORF1ab. Οι δομικές πρωτεΐνες σχηματίζουν το περίβλημα του ιού και συγκρατούν το γονιδιωματικό RNA ενώ οι S, M και E είναι ενσωματωμένες στη λιπιδική διπλοστοιβάδα της μεμβράνης. Δύο διακριτοί τομείς, η ακολουθία οδηγών και η αμετάφραστη περιοχή (UTR) κοντά στο 5' άκρο σχηματίζουν πλήθος δομών βρόχων στελέχους που απαιτούνται για την αντιγραφή και μεταγραφή του ιικού γονιδιώματος. Κάθε δομικού και επικουρικού γονιδίου προηγούνται μεταγραφικές ρυθμιστικές αλληλουχίες (TRSs) οι οποίες αποτελούν απαραίτητη προϋπόθεση για τη λειτουργική έκφραση αυτών των γονιδίων. Το δομικό συστατικό του 3' UTR (untranslated region) είναι απαραίτητο για την αντιγραφή του ιικού RNA [23].

2.4 Βιολογία του πολλαπλασιασμού του ιού SARS CoV 2

Η αναπαραγωγή των κορωνοϊών θεωρείται πολύ περίπλοκη και ξεκινά με τη σύνδεση του ιού σε ένα κύτταρο ξενιστή μέσω του υποδοχέα στόχου του. Απαραίτητη για τη σύνδεση του στον υποδοχέα και τη σύντηξη των μεμβρανών (fusion) είναι η πρωτεΐνη S, η οποία είναι τριμερής πρωτεΐνη. Κάθε της μόριο αποτελείται από 2 υπομονάδες: την S1 στην οποία ανευρίσκεται η περιοχή για τη σύνδεση στον υποδοχέα (Receptor Binding Domain, RBD) και την S2 η οποία είναι υπεύθυνη για τη σύντηξη των μεμβρανών και την είσοδο του ιού στο κυτταρόπλασμα του κυττάρου του ξενιστή. Για να συμβεί αυτό, θα πρέπει η ιική πρωτεΐνη S να ενεργοποιηθεί από διάφορες πρωτεάσες του ξενιστή. Η πρωτεολυτική ενεργοποίηση της πρωτεΐνης S διεκπεραιώνεται συνήθως από τη διαμεμβρανική πρωτεάση της σερίνης 2 (TMPRSS2, Transmembrane Serine Protease 2), την καθεψίνη L (ενδοσωμική πρωτεάση) και τη φουρίνη (furin) και αποτελεί μια διαδικασία θεμελιώδους σημασίας για το στάδιο της σύντηξης. Άλλες πρωτεΐνες του κυττάρου-ξενιστή, όπως η νευροπυλίνη-1, οι πρωτεογλυκάνες της θειικής ηπαρίνης, οι λεκτίνες τύπου C, μπορούν επίσης να λειτουργήσουν ως συμπαραγόντες για την είσοδο του ιού [24], [25], [26].

Κατά τη δέσμευση της πρωτεΐνης S στα κύτταρα, οι μεμβράνες του ιού και του ξενιστή μπορούν να συντηχθούν, δημιουργώντας έτσι μία δίοδο και απελευθερώνοντας ιικό γονιδιωματικό RNA απευθείας στο κυτταρόπλασμα.

Εναλλακτικά, σε ορισμένα κύτταρα, ο SARS-CoV-2 εσωτερικεύεται μέσω μιας, από την κλαθρίνη εξαρτώμενης, διαδικασίας σε ενδοσώματα και μετά από διάσπαση με τη μεσολάβηση της καθεψίνης που προκαλείται από το χαμηλό pH του ενδοσώματος, οι μεμβράνες του ιού συγχωνεύονται με την μεμβράνη του ενδοσώματος με συνέπεια την απελευθέρωση του ιικού γονιδιώματος στο κυτταρόπλασμα [27].

Η περιοχή δέσμευσης στον υποδοχέα της υπομονάδας S1 (RBD) συνδέεται με την περιοχή πεπτιδάσης του υποδοχέα μετατρεπτικού ενζύμου ACE 2 της αγγειοτενσίνης. Μετά τη σύνδεση του RBD στο διαλυτό μέρος του ACE2 ακολουθεί η απαραίτητη για την ενεργοποίηση της πρωτεΐνης S πρωτεόλυση της σε 2 σημεία. Αρχικά η γλυκοπρωτεΐνη S του SARS-CoV-2 διασπάται από την πρωτεΐνη - ένζυμο φουρίνη, που παράγεται από τα ανθρώπινα κύτταρα και

βρίσκεται σε πολλούς ιστούς. Η φουρίνη αποκόπτει την εξωτερική υπομονάδα S1. Έτσι αποκαλύπτεται το εσωτερό τμήμα της γλυκοπρωτεΐνης, αυτό της υπομονάδας S2 που διασπάται στη συνέχεια από τη διαμεμβρανική πρωτεάση σερίνης του ξενιστή TMPRSS2 (transmembrane protease serine 2 - TMPRSS2) ή την καθεψίνη οδηγώντας στην έκπτυξη της πρωτεΐνης S και στην αγκύρωση της στην κυτταρική μεμβράνη, κάτι που σηματοδοτεί την έναρξη της σύντηξης των μεμβρανών και την ενδοκυττάρωση του ιού [28].

Η ιική είσοδος ακολουθείται από την αποκάλυψη του γονιδιωματικού, ιικού RNA.

Ως ιός RNA, ο SARS-CoV-2 αντιγράφεται αποκλειστικά στο κυτταρόπλασμα των μολυσμένων κυττάρων, όπου το ικό γονιδίωμα αποσυσκευάζεται πρώτα από τις συνδεδεμένες ικές πρωτεΐνες N από κυτταρικές πρωτεάσες. Μετά από την είσοδο στο κύτταρο, το επόμενο βήμα για τον πολλαπλασιασμό του ιού SARS-CoV-2 είναι η μετάφραση του ιικού RNA από τα ριβοσώματα του κυττάρου-ξενιστή. Η δυνατότητα άμεσης μετάφρασης του ιικού γονιδιώματος παρέχεται λόγω του γεγονότος ότι αυτό φέρει τα κατάλληλα δομικά χαρακτηριστικά, την καλύπτρα (cap) στο 5' άκρο του και μια poly(A) ουρά στο 3' άκρο του, που του επιτρέπουν να λειτουργεί ως μόριο αγγελιαφόρου RNA (mRNA, messenger RNA). Στο κυτταρόπλασμα του κυττάρου-στόχου, το γονιδίωμα του RNA του ιού μεταφράζεται από το 5' άκρο του από τα ριβοσώματα του ξενιστή παράγοντας μια πολυπρωτεΐνη (την pp1a) ή μια μεγαλύτερη (την pp1ab) ανάλογα με το αν το ριβόσωμα θα αναγνωρίσει το κωδικόνιο λήξης μεταξύ των ORF1a/ORF1b (frame shifting).

Οι ανωτέρω πολυπρωτεΐνες πρωτεολύονται από πρωτεάσες (πρωτεάση τύπου παπαΐνης-PLpro και κύρια πρωτεάση τύπου 3C - 3CLpro ή Mpro) σχηματίζοντας έως 16 μικρότερες μη δομικές πρωτεΐνες αντίστοιχα (non-structural proteins - nsps). Εν συνεχεία, λαμβάνει χώρα στο αδρό ενδοπλασματικό δίκτυο, από σύμπλεγμα nsps (RNA πολυμεράση RdRp/nsp12 και nsp7, nsp8, nsp9, nsp13) η διαδικασία της μεταγραφής, η οποία είναι «negative-sense» και ασυνεχής, ενώ περιλαμβάνει μεταγραφή όλου του γονιδιώματος (mRNA) ή και τμημάτων αυτού (segment RNA - sgRNAs). Έτσι σχηματίζεται ένα σύμπλεγμα αντιγραφής-μεταγραφής (Replication Transcription Complex) για τη γονιδιωματική μεταγραφή και αντιγραφή, με

αποτέλεσμα ένα ένθετο σύνολο υπογονιδιωματικών RNA (sgRNAs) που συντίθενται από το RTC ως ασυνεχής μεταγραφή [28].

Η ρεπλικάση-μεταγραφάση, ένα ιικό ένζυμο που κωδικοποιείται από τον ιό, παίζει βασικό ρόλο στην αντιγραφή του RNA. Αυτό το ένζυμο είναι υπεύθυνο για την αντιγραφή του ιικού RNA και τη σύνθεση του συμπληρωματικού κλώνου RNA negative sense . Το RNA αυτό χρησιμεύει στη συνέχεια ως πρότυπο για τη σύνθεση περισσότερων κλώνων RNA positive sense. Αυτοί οι κλώνοι RNA positive sense μπορούν στη συνέχεια να χρησιμοποιηθούν για μετάφραση ή ως γονιδιωματικό RNA σε πρόσφατα συναρμολογημένα ιικά σωματίδια.

Επεξεργασία πολυπρωτεϊνών: Η ρεπλικάση-τρανσκριπτάση αρχικά συντίθεται ως πολυπρωτεΐνη, η οποία πρέπει να υποβληθεί σε επεξεργασία για την παραγωγή λειτουργικών ιικών ενζύμων. Οι ιικές πρωτεάσες διασπούν την πολυπρωτεΐνη σε μεμονωμένες, λειτουργικές πρωτεΐνες, μεταξύ των οποίων περιλαμβάνεται η ρεπλικάση και άλλες μη δομικές πρωτεΐνες. Τα ανωτέρω RNAs μεταγράφονται εκ νέου («positive-sense» διαδικασία).

Το προϊόν της μεταγραφής μεταφράζεται στις δομικές και βοηθητικές πρωτεΐνες του ιού, οι οποίες συνδέονται με το mRNA που αποτελεί το γονιδίωμα του ιού και σχηματίζουν νέα ιικά σωματίδια στο αδρό ενδοπλασματικό δίκτυο. Εδώ, από τη δράση των ρεπλικασών σχηματίζονται από το ενδοπλασματικό δίκτυο (ER) κυστίδια διπλής μεμβράνης (Double Membrane Vesicles - DMVs) που διευκολύνουν την ιϊκή αντιγραφή των γονιδιωματικών και υπογονιδιωματικών RNA (sgRNA).

Ακολουθεί η μεταφορά των ωριμασμένων ιικών σωματιδίων σε κυστίδια και η απελευθέρωσή τους μέσω σύντηξης με τη μεμβράνη του κυττάρου [29].

2.5 Αποτελέσματα μεταβολών SARS-CoV-2.

Στους επόμενους μήνες του 2020 διάφορες παραλλαγές του SARS-CoV2 εμφανίστηκαν ως αποτέλεσμα της εξέλιξης του ιού και αποτέλεσαν μεγάλο κίνδυνο για την παγκόσμια δημόσια υγεία. Αυτές οι παραλλαγές ονομάζονται παραλλαγές ενδιαφέροντος (VOI) και παραλλαγές ανησυχίας (VOCs) με σκοπό να δοθεί προτεραιότητα στην παγκόσμια παρακολούθηση και έρευνα.

2.5.1 Παραλλαγές ενδιαφέροντος (VOI)

Έχουν συγκεκριμένους γενετικούς δείκτες που επηρεάζουν την ιική μεταδοτικότητα, μολυσματικότητα, μείωση της εξουδετέρωσης από αντισώματα που επάγονται μέσω φυσικής μόλυνσης ή εμβολιασμού, ικανότητα αποφυγής ανίχνευσης ή και μείωση της αποτελεσματικότητας των θεραπειών ή του εμβολιασμού. Διάφορες VOI είναι οι: Epsilon (B.1.427 και B.1.429), Zeta (Σ.2), Eta (B.1.525), Theta (Σ.3), Iota (B.1.526), Kappa (B.1.617.1), Lamda (C.37) και mu (B.1.621) [30].

2.5.2 Παραλλαγές ανησυχίας (VOCs)

Έχουν παρόμοιες ιδιότητες όπως οι VOI με δυνατότητα μεγαλύτερης μεταδοτικότητας.

Παραλλαγή Ανησυχίας (VOCs) **Alpha** (B.1.1.7 lineage). Στα τέλη Δεκεμβρίου 2020, από το Ηνωμένο Βασίλειο, αναφέρθηκε η παραλλαγή Alpha ή GRV (πρώην GR/501Y.V1) μελετώντας την αλληλουχία ολόκληρου του γονιδιώματος δειγμάτων από ασθενείς που βρέθηκαν θετικοί στον SARS-CoV-2 [31]. Η παραλλαγή B.1.1.7 περιλαμβάνει 17 μεταλλάξεις στο γονιδίωμα του ιού. Από αυτές, 8 μεταλλάξεις αφορούν (διαγραφή Δ69-70, διαγραφή Δ144, N501Y, A570D, P681H, T716I, S982A, D1118H) στην πρωτεΐνη ακίδας (S). Η N501Y προσδίδει αυξημένη συγγένεια της πρωτεΐνης ακίδας με τους υποδοχείς ACE 2, ενισχύοντας την ιική προσκόλληση και την επακόλουθη είσοδο στα κύτταρα ξενιστές [32].

Η Alpha παραλλαγή υπολογίστηκε ότι είχε 43% έως 82% μεγαλύτερη μεταδοτικότητα σε σχέση με προηγούμενες παραλλαγές του SARS-CoV-2 και αναδείχθηκε ως η κυρίαρχη παραλλαγή SARS-CoV-2 στο Ηνωμένο Βασίλειο. Αν και αρχικές εκτιμήσεις δεν έδειξαν διαφορά στον κίνδυνο νοσηλείας ή θνητότητας με την παραλλαγή B.1.1.7 σε σύγκριση με άλλες υπάρχουσες παραλλαγές, μεταγενέστερες μελέτες ανέφεραν ότι τα άτομα που μολύνθηκαν με αυτή είχαν

πιο σοβαρή νόσο σε σύγκριση παλαιότερες [33]. Επιπλέον είχαν 1,64 μεγαλύτερη πιθανότητα θανάτου (95% διάστημα εμπιστοσύνης 1,32 έως 2,04, $P < 0,0001$) σε σύγκριση με ασθενείς με στελέχη που κυκλοφορούσαν στο παρελθόν [34].

Η παραλλαγή **Beta**, ή **GH501Y.V2 Beta** (B.1.351 lineage). Έφερε πολλαπλές μεταλλάξεις και οδήγησε στο δεύτερο κύμα της πανδημίας COVID-19. Εντοπίστηκε για πρώτη φορά στη Νότια Αφρική τον Οκτώβριο του 2020. Η παραλλαγή B.1.351 περιλαμβάνει 9 μεταλλάξεις (L18F, D80A, D215G, R246I, K417N, E484K, N501Y, D614G και A701V) στην πρωτεΐνη ακίδας, εκ των οποίων οι 3 μεταλλάξεις (K417N, N, E4504K) εντοπίζονται στην περιοχή δέσμευσης (RBD) με αποτέλεσμα αυξημένη συγγένεια δέσμεισής για τους υποδοχείς ACE2 [35]. Αυτή η παραλλαγή είχε αυξημένο κίνδυνο μετάδοσης και μειωμένη εξουδετέρωση με θεραπεία με μονοκλωνικά αντισώματα και πλάσμα αναρρωννυόντων [36].

Η παραλλαγή **Gamma** ή **GR/501Y.V3** (Γενεαλογία P.1), αναγνωρίστηκε τον Δεκέμβριο του 2020 στη Βραζιλία και εντοπίστηκε για πρώτη φορά στις ΗΠΑ τον Ιανουάριο του 2021. Αυτή η παραλλαγή B.1.1.28 εμφάνιζε δέκα μεταλλάξεις στην πρωτεΐνη ακίδας (L18F, T20N, P26S, D138Y, R190S, H655Y, T1027I V1176, K417T, E484K και N501Y). Τρεις μεταλλάξεις (L18F, K417N, E484K) εντοπίζονται στο RBD, παρόμοιες με την παραλλαγή B.1.351 [37].

Delta (B.1.617.2 lineage). Η παραλλαγή Delta εντοπίστηκε αρχικά τον Δεκέμβριο του 2020 στην Ινδία και ήταν υπεύθυνη για το θανατηφόρο τρίτο κύμα της πανδημίας COVID-19 τον Απρίλιο του 2021 στην Ινδία. Η παραλλαγή B.1.617.2 φιλοξενεί δέκα μεταλλάξεις (T19R, (G142D*), 156del, 157del, R158G, L452R, T478K, D614G, P681R, D950N) στην πρωτεΐνη ακίδας.

Η παραλλαγή **Omicron** (Omicron B.1.1.529 lineage), εντοπίστηκε για πρώτη φορά στη Νότια Αφρική στις 23 Νοεμβρίου 2021 μετά από αύξηση του αριθμού των κρουσμάτων COVID-19 και αναγνωρίστηκε γρήγορα ως VOC λόγω της απότομης αύξησης του αριθμού των κρουσμάτων που παρατηρήθηκαν στη Νότια Αφρική [86]. Εξαπλώθηκε παγκοσμίως και έγινε η πιο κυρίαρχη παραλλαγή επικρατώντας αυτής από την Ινδία. Διαθέτει τουλάχιστον 50 μεταλλάξεις, με 30 στο γονίδιο S. Έχει υψηλή μεταδοτικότητα με διαφυγή γονιδίου S στα διαγνωστικά kit RTPCR. Οι αναφερόμενες μεταλλάξεις περιλαμβάνουν την T91 για την πρωτεΐνη E του φακέλου, τις P13L, E31del, R32del, S33del, R203K, G204R στην πρωτεΐνη

νουκλεοκαψιδίου, D3G, Q19E, A63T στη, N211del/L212I, Y141Del, Y141, Y145, , V70del, H69del, A67V στον N-τερματικό τομέα της ακίδας, Y505H, N501Y, Q498R, G496S, Q493R, E484A, T478K, S477N, G446S, N440K, K431P,37D δεσμευτικό τομέα της ακίδας, D796Y στο πεπτίδιο σύντηξης της ακίδας, L981F, N969K, Q954H καθώς και πολλαπλές άλλες μεταλλάξεις στις μη δομικές πρωτεΐνες και την πρωτεΐνη ακίδας. Πολλές υποπαραλλαγές της Omicron, όπως οι BA.1, BA.2, BA.3, BA.4 και BA.5, έχουν εντοπιστεί [38].

Η ανοσολογική διαφυγή καθώς και η αυξημένη συγγένεια για τον υποδοχέα ACE2 προτείνονται ως εξηγήσεις για το πλεονέκτημα αναπαραγωγής της υποπαραλλαγής XBB.1.5 και των προκατόχων της [39].

3 SARS COV-2 και έμφυτη ανοσία

Ο ανθρώπινος οργανισμός, κατά τη διάρκεια της εξέλιξης, έχει αναπτύξει πολλαπλές στρατηγικές για την αντιμετώπιση των ιών, μεταξύ αυτών και του SARS-COV2, μέσω των μηχανισμών της έμφυτης ανοσίας καθώς και της επίκτητης ή προσαρμοστικής ανοσίας.

3.1 Έμφυτη ανοσία-Γενικά

Η αρχική γραμμή άμυνας του ξενιστή ενάντια στα παθογόνα, συμπεριλαμβανομένου του SARS-CoV-2, παρέχεται από το σύστημα της έμφυτης ανοσίας, σε μια προσπάθεια να αντιμετωπιστεί άμεσα και οριστικά η λοίμωξη.

Οι έμφυτες ανοσολογικές αποκρίσεις περιορίζουν την είσοδο, τη μετάφραση, την αναπαραγωγή και τη συναρμολόγηση του ιού και βοηθούν στον εντοπισμό και την απομάκρυνση μολυσμένων κυττάρων και συντονίζουν και επιταχύνουν την ανάπτυξη της προσαρμοστικής ανοσίας.

Στο σύστημα της έμφυτης ανοσίας περιλαμβάνονται:

- Ανατομικοί φραγμοί (δέρμα και βλεννογόνοι), τοπικές συνθήκες (θερμοκρασία, χαμηλό pH στομάχου).

- Χυμικοί (λυσοζύμη, συμπλήρωμα, ιντερφερόνες) φαγοκύτταρα και φλεγμονώδεις παράγοντες (χημειοκίνες, κυτταροκίνες).

Μόλις παραβιαστούν οι ανατομικοί φραγμοί, τα παθογόνα ανιχνεύονται από επιθηλιακά κύτταρα, κύτταρα του ανοσοποιητικού ή αντισώματα, τα οποία ξεκινούν μια ανοσοαπόκριση με στόχο την ενίσχυση της κάθαρσης των παθογόνων.

Η έμφυτη ανοσία διαθέτει περιορισμένη εξειδίκευση και συνήθως ενεργοποιείται εντός ωρών μετά την έκθεση στο παθογόνο και δεν δημιουργεί ανοσολογική μνήμη.

Η έμφυτη ανοσοαπόκριση διακρίνεται:

- i) στην άμεση έμφυτη ανοσία και ii) την επαγόμενη έμφυτη ανοσία.

Η άμεση έμφυτη ανοσία ενεργοποιείται πολύ γρήγορα μετά την προσβολή από το παθογόνο (0-4 ώρες) και βασίζεται στη δράση των προσχηματισμένων διαλυτών αντιμικροβιακών

μορίων, όπως των αντιμικροβιακών ενζύμων και των πρωτεϊνών του συστήματος του συμπληρώματος.

Η επαγόμενη έμφυτη ανοσία, ξεκινά αργότερα (4 έως 96 ώρες μετά τη μόλυνση) και περιλαμβάνει την ενεργοποίηση και τη στρατολόγηση αμυντικών κυττάρων και διαρκεί μερικές ημέρες.

Τα έμφυτα ανοσοκύτταρα περιλαμβάνουν φαγοκύτταρα, όπως ουδετερόφιλα, μονοκύτταρα και μακροφάγα, και κύτταρα φυσικούς φονείς [40]. Με την αναγνώριση του παθογόνου ιού, και τη έναρξη της έμφυτης ανοσολογικής σηματοδότησης δημιουργείται μια αντική κατάσταση που περιορίζει την αναπαραγωγή του ιού εντός του κυττάρου και μειώνει την ευαισθησία των γύρω κυττάρων στη μόλυνση. Αυτή η σηματοδότηση μεσολαβείται από την παραγωγή και την απελευθέρωση μορίων όπως ιντερφερόνες (IFNs), κυτταροκίνες και χημειοκίνες. Αυτά τα μόρια σηματοδότησης παίζουν ρόλο στην ενεργοποίηση και την επιστράτευση ανοσοκυττάρων όπως τα ουδετερόφιλα, τα μακροφάγα και τα κύτταρα φυσικοί φονείς στην εστία της λοίμωξης. Εκεί, αυτά τα κύτταρα συνεργάζονται για να καθαίνουν το παθογόνο. Επιπλέον, το έμφυτο ανοσοποιητικό σύστημα παίζει βασικό ρόλο στην ανάπτυξη της προσαρμοστικής ανοσοαπόκρισης, κυρίως μέσω των δενδριτικών κυττάρων (Dendritic Cells - DCs).

Τα DCs είναι επαγγελματικά αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (APC) που παρουσιάζουν αντιγόνα προερχόμενα από παθογόνα σε αδιαφοροποίητα Τ-λεμφοκύτταρα κύτταρα, επάγοντας την ενεργοποίηση και τον πολλαπλασιασμό των ειδικών για αντιγόνο Τ κυττάρων και τη διαφοροποίησή τους σε εκτελεστικά κύτταρα. Παρέχοντας συνδιεγερτικά σήματα και παράγοντας κυτταροκίνες, τα DCs ενισχύουν τη λειτουργία των εκτελεστικών Τ-λεμφοκυττάρων και βελτιστοποιούν τη δημιουργία Τ-λεμφοκυττάρων μνήμης μακράς διάρκειας, τα οποία παρέχουν ενισχυμένη προστασία κατά την επανέκθεση στο ίδιο παθογόνο [41].

3.2 Η απόκριση ιντερφερόνης η οποία ρυθμίζεται από υποδοχείς αναγνώρισης προτύπων (PRRs) του συστήματος της έμφυτης ανοσίας είναι η κύρια αντική άμυνα σχεδόν σε όλα τα κύτταρα του σώματος. Η απόκριση ιντερφερόνης ξεκινάει με την αναγνώριση συστατικών των παθογόνων μέσω ειδικών υποδοχέων αναγνώρισης προτύπων της κυτταρικής μεμβράνης, των ενδοσωμάτων και του κυτταροπλάσματος (Pattern-recognition receptors - PRRs) οι οποίοι ανταποκρίνονται σε μοριακά μοτίβα που σχετίζονται με παθογόνα (Pathogen-associated molecular pattern-PAMPs) για να πυροδοτήσουν φλεγμονώδεις αποκρίσεις και προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο, διεργασίες που περιορίζουν την ιογενή λοίμωξη και προάγουν την ιική κάθαρση. Οι υποδοχείς αναγνώρισης προτύπων (PRRs) είναι κυτταρικοί μοριακοί αισθητήρες που αναγνωρίζουν μη φυσιολογικά και σχετιζόμενα με παθογόνα μοριακά πρότυπα (Pathogen associated molecular patterns - PAMPs), όπως δίκλωνο RNA, μη μεθυλιωμένο DNA και βακτηριακά ή ιικά θραύσματα [42].

Δεδομένου ότι τα PAMPs είναι μοναδικές και εξαιρετικά διατηρημένες μοριακές δομές που σχετίζονται με ένα συγκεκριμένο είδος παθογόνων μικροοργανισμών, το σώμα του ξενιστή ανέπτυξε εξελικτικά ένα σύνολο αισθητήρων PRR και γονιδιακών ανταποκρίσεων, που χαρακτηρίζουν το έμφυτο ανοσοποιητικό σύστημα.

Όχι μόνο μια βακτηριακή ή ιογενής λοίμωξη, αλλά το ίδιο το κύτταρο-ξενιστής μπορεί επίσης να παράγει κάποιες πρωτεΐνες και μεταβολίτες που, υπό ορισμένες συνθήκες τα PRRs θα μπορούσαν να αναγνωρίσουν. Ιδίως ανώμαλα μεταγραφικά προϊόντα ή πρωτεΐνες, καθώς και τα προϊόντα της κυτταρικής νέκρωσης και της βλάβης των ιστών. Τέτοια μόρια ονομάζονται ως «μοριακά μοτίβα που σχετίζονται με βλάβη» (Damage associated molecular patterns - DAMPs) [43].

3.3 Οι υποδοχείς αναγνώρισης προτύπων (PRRs) εκφράζονται σε κύτταρα του ανοσοποιητικού, όπως τα μονοκύτταρα, ουδετερόφιλα, μακροφάγα, δενδριτικά κύτταρα, κύτταρα φυσικοί φονείς (NK), μαστοκύτταρα, ηωσινόφιλα και βασεόφιλα καθώς και σε μη ανοσοκύτταρα όπως ινοβλάστες και κύτταρα του επιθηλίου (σχεδόν όλους τους τύπους των επιθηλιακών κυττάρων), κυρίως στόματος, φάρυγγα, οισοφάγου, εντέρου, νεφρών και

επιθηλιακά κύτταρα των αεραγωγών. Οι PPR ανευρίσκονται σε όλο το επιθήλιο των αεραγωγών, από τη ρινική κοιλότητα έως τις κυψελίδες [44], [45].

Μπορούν να αναγνωρίσουν άμεσα συγκεκριμένα PAMPs ή DAMPs στην επιφάνεια των κυττάρων, σε ενδοσώματα ή στο ενδοκυττάριο περιβάλλον. Αυτό επιτρέπει στα κύτταρα-ξενιστές να διακρίνουν το «ίδιον ή υγιές» και το «ξένο ή παθολογικό» [133]. Μετά την αναγνώριση και τη δέσμευση με το αντίστοιχο μοτίβο, οι PRRs μπορούν να ξεκινήσουν μη ειδικές εγγενείς ανοσολογικές δραστηριότητες, όπως ενεργοποίηση συγκεκριμένων γονιδίων (ιδίως IFN), έκφραση και έκκριση συγκεκριμένων κυτταροκινών και διευκόλυνση της απόπτωσης ή πυρόπτωσης των κυττάρων ώστε να προκληθεί φλεγμονή και να καθυστερήσει η εξάπλωση των παθογόνων. Η δεύτερη σημαντική λειτουργία των PRRs είναι η ενεργοποίηση της προσαρμοστικής ανοσοαπόκρισης και η ρύθμιση της δραστηριότητάς της [47].

Μετά την ευαισθητοποίηση των PRRs, τα κύτταρα του ανοσοποιητικού όπως τα μακροφάγα, τα δενδριτικά κύτταρα και τα φυσικά κύτταρα φονείς (NK κύτταρα) απελευθερώνουν IFNs και προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες (IL-1β, IL-6, TNF-α, IL-12 και IFN-γ). Ο TNF-α και η IFN-γ μαζί διεγείρουν την PANOptosis - μια έμφυτη προγραμματισμένη οδό κυτταρικού θανάτου ξεχωριστή από την απόπτωση, την πυρόπτωση (φλεγμονώδης προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος) ή τη νέκρωση (προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος από νέκρωση) - η οποία με τη σειρά της διεγείρει περαιτέρω απελευθέρωση προφλεγμονωδών κυτταροκινών, με αποτέλεσμα την καταιγίδα κυτταροκινών [48]. Η παρατεταμένη φλεγμονή και η επακόλουθη, σχετιζόμενη βλάβη των ενδοθηλιακών κυττάρων μπορεί τελικά να συμβάλουν σε συμπτώματα σοβαρής νόσου COVID-19, όπως εκτεταμένη βλάβη στους πνεύμονες, σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας (ARDS), ανεπάρκεια οργάνων ή ακόμα και θάνατο. Αυτή η διαταραχή παρατηρείται ιδιαίτερα τη δεύτερη εβδομάδα μετά την έναρξη της νόσου, μετά τη μείωση της IFN που παρατηρείται στην πιο πρώιμη φάση της νόσου. Η ρύθμιση του συστήματος IFN είναι επομένως μεγάλης σημασίας για τις συνέπειες της λοίμωξης COVID-19. Ο περιορισμός της ενεργοποίησης του συγκεκριμένου συστήματος στα αρχικά στάδια επιτρέπει στον SARS-CoV-2 να εισέλθει στο σώμα απαρατήρητος, ενώ η υπερενεργοποίηση σε μεταγενέστερα στάδια από τα PAMPs οδηγεί σε σοβαρή βλάβη στον ξενιστή.

3.3.1 Κατηγορίες υποδοχέων αναγνώρισης προτύπων (PRRs) και ενεργοποίησή τους.

Οι υποδοχείς αναγνώρισης προτύπων PRR του έμφυτου ανοσοποιητικού συστήματος, ανάλογα με την πρωτεϊνική τους ομολογία, εμπίπτουν σε διάφορες κατηγορίες:

- i) Υποδοχείς τύπου toll (Toll Like Receptors -TLR),
- ii) Υποδοχείς τύπου γονιδίου I (RIG-I) που επάγονται από ρετινοϊκό οξύ (RLRs),
- iii) Υποδοχείς τύπου τομέα ολιγομερισμού νουκλεοτιδίων (NOD) (NLRs)
- iv) Υποδοχείς λεκτίνης τύπου C (CLRs),
- v) Επαγόμενη από την ιντερφερόνη πρωτεΐνη AIM2 ή απούσα στα μελάνωμα (AIM2) (ALRs)
- vi) Κυκλική συνθάση GMP-AMP (cGAMP) αισθητήρας κυτταροπλασματικού νουκλεϊκού οξέος (cGAS).

Μεταξύ αυτών, οι TLRs, RLRs και cGAS είναι οι κύριοι υποδοχείς ανίχνευσης ιών.

3.4 Μετά την ενεργοποίηση των PPRs

Η ενεργοποίηση του πρώτου βήματος της έμφυτης ανοσίας δηλαδή της αναγνώρισης μοριακών μοτίβων που σχετίζονται με παθογόνα (PAMPs) από υποδοχείς αναγνώρισης προτύπων (PRRs) προκαλεί την εκκίνηση καταρρακτών σηματοδότησης που οδηγούν στην παραγωγή IFN, προφλεγμονωδών κυτταροκινών και χημειοκινών [49].

Η ενεργοποίηση οποιουδήποτε αισθητήρα PRR νουκλεϊκού οξέος οδηγεί σε καθολικές αντιικές ανοσολογικές αποκρίσεις, με καθοριστικό ρόλο στη σηματοδότηση των οδών ιντερφερόνης τύπου I και III.

Τρεις κύριες οδοί ενεργοποιούνται από τους PPRs: α) Η οδός των ιντερφερονών, β) η οδός του NFκB και γ) η οδός της ενεργοποιημένης από μιτογόνο πρωτεϊνικής κινάσης (MAPK)

3.4.1 Οδός Ιντερφερόνων (IFNs)

Οι ιντερφερόνες (IFN) είναι βασικά μέλη της οικογένειας των κυτταροκινών που αποτελούν ζωτικά συστατικά της έμφυτης ανοσολογικής απόκρισης κατά των ιών [50].

Υπάρχουν τρεις τύποι IFN, τύπου I, II και III.

Οι IFN τύπου I αποτελούνται από 17 κυτταροκίνες, ο τύπος II από μία κυτταροκίνη και οι IFN τύπου III από 4 κυτταροκίνες. Οι IFN τύπου I (ειδικά οι IFN-α και IFN-β) και οι IFN τύπου III (IFN-λ) είναι οι βασικές οικογένειες κυτταροκινών που παίζουν ουσιαστικό ρόλο στην αντι-ιική ανοσολογική απόκριση.

Η ενεργοποίηση και η παραγωγή των IFN μπορούν να περιορίσουν την αντιγραφή και την εξάπλωση του ιού μέσω της ρύθμισης της κυτταρικής επιβίωσης, της αναπαραγωγής και της μετάφρασης πρωτεϊνών. Προάγουν επίσης την αποκατάσταση των ιστικών βλαβών και την επαγωγή της προσαρμοστικής ανοσίας διευκολύνοντας τελικά την κάθαρση από τον ιό.

Λόγω της ευρείας κλίμακας επιδράσεων τους στον ξενιστή η έκφρασή τους ελέγχεται αυστηρά. Αφότου εκφραστούν τα υπεύθυνα γονίδια, εκκριθούν οι IFNs και δεσμευτούν σε υποδοχείς IFN στην επιφάνεια του κυττάρου ξενιστή, ενεργοποιείται ένας καταρράκτης σηματοδότησης, μέσω φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών τυροσινικής κινάσης Janus (JAK), του JAK1 και της τυροσινικής κινάσης 2 (TYK2).

Αυτό προάγει τη στρατολόγηση άλλων πρωτεϊνών σηματοδότησης, μετατροπών σήματος και ενεργοποίηση πρωτεϊνών μεταγραφής (STAT1 και STAT2), οι οποίες και πάλι ενεργοποιούνται μέσω της φωσφορυλίωσης. Αυτό αναφέρεται ως μονοπάτι JAK/STAT.

Αυτές οι πρωτεΐνες STAT στη συνέχεια συνδυάζονται με την ρυθμιστική πρωτεΐνη ιντερφερόνης (IRF) 9 για να σχηματίσουν ένα σύμπλεγμα ετεροτριμερούς παράγοντα μεταγραφής που ονομάζεται διεγερμένος από IFN γονιδιακός παράγοντας (ISGF) 3.

Αυτό το σύμπλεγμα μετατοπίζεται στον πυρήνα του κυττάρου ξενιστή, όπου δεσμεύεται στα στοιχεία απόκρισης που διεγείρονται από ιντερφερόνη (ISREs) επάγοντας την έκφραση πολυάριθμων διεγερμένων με ιντερφερόνη γονιδίων (ISGs) [51].

3.4.2 Οδός NF-kb

Το μονοπάτι NF-kb είναι το δεύτερο από τα τρία κύρια μονοπάτια που ενεργοποιούνται ως απόκριση στην αναγνώριση παθογόνου.

Η οικογένεια των πέντε δομικά σχετιζόμενων παραγόντων μεταγραφής (NF-kB1, NF-kB2, RelA, RelB και c-Rel) εμπλέκεται στην ενεργοποίηση/έκφραση γονιδίων και γονιδίων κυτταροκινών και χημειοκινών που παρεμβαίνουν στο φλεγμονόσωμα [52].

Η δραστηριότητα αυτών των παραγόντων μεταγραφής ρυθμίζεται με τη σύζευξη με ανασταλτικές πρωτεΐνες (οικογένεια Iκ-b) στο κυτταρόπλασμα του κυττάρου και επομένως είναι ανενεργοί. Η ενεργοποίηση της οδού NF-kb έχει τελικά ως αποτέλεσμα την υποέκφραση του Iκ-b και τη μετατόπιση των παραγόντων μεταγραφής NF-kb στον πυρήνα και τελικά την επαγωγή ελεγχόμενων γονιδίων NF-kb [53], [54].

Πολυάριθμοι PRRs ενεργοποιούν αυτό το μονοπάτι σηματοδότησης, το οποίο έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή πολλαπλών προφλεγμονωδών κυτταροκινών, χημειοκινών και φλεγμονωδών μεσολαβητών που έχουν εκτεταμένες επιδράσεις σε διαφορετικά κύτταρα του έμφυτου ανοσοποιητικού συστήματος.

Οι κυτταροκίνες αυτές επηρεάζουν τη διαφοροποίηση, τον πολλαπλασιασμό και την ενεργοποίηση κυττάρων, Τ-βοηθητικών κυττάρων και στρατολογούν ουδετερόφιλα στο σημείο της λοίμωξης.

3.5 Ιντερφερόνες (IFNs).

3.5.1 Γενικά.

Όταν ένα κύτταρο μολυνθεί από έναν ιό, μπορεί να παράγει και να απελευθερώσει ιντερφερόνες. Αυτές οι ιντερφερόνες μπορούν στη συνέχεια να συνδεθούν με υποδοχείς ιντερφερόνης στο ίδιο το μολυσμένο κύτταρο (αυτοκρινής σηματοδότηση) ή σε γειτονικά κύτταρα (παρακρινής σηματοδότηση), ενεργοποιώντας ενδοκυτταρικές οδούς σηματοδότησης που επάγουν την έκφραση αντιικών γονιδίων, όπως τα διεγερμένα από ιντερφερόνη γονίδια (ISGs). Έτσι η αυτοκρινής σηματοδότηση ενισχύει την αντιική απόκριση εντός του μολυσμένου κυττάρου, ενισχύοντας την δική του αμυντική ικανότητά να καταπολεμά τον ιό. Στην παρακρινή σηματοδότηση, αφού απελευθερωθούν από μολυσμένα κύτταρα, οι ιντερφερόνες μπορούν να διαχυθούν σε κοντινά μη μολυσμένα κύτταρα. Στη συνέχεια, συνδέονται με τους υποδοχείς ιντερφερόνης στην επιφάνεια αυτών των γειτονικών κυττάρων, ξεκινώντας παρόμοιες ενδοκυτταρικές οδούς σηματοδότησης όπως στην αυτοκρινή σηματοδότηση. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την επαγωγή έκφρασης αντιικών γονιδίων στα γειτονικά κύτταρα, παρόλο που μπορεί να μην είναι άμεσα μολυσμένα με τον ιό. Προκαλώντας μια κατάσταση κατά του ιού σε κοντινά κύτταρα, η παρακρινική σηματοδότηση βοηθά στον περιορισμό της εξάπλωσης του ιού προετοιμάζοντας τα και ενισχύοντας έτσι τη συνολική ανοσολογική απόκριση [51].

3.5.2 Παραγωγή ιντερφερονών. Η ιντερφερόνη τύπου Ι, ή IFN-I και η οικογένεια των σχετικών γονιδίων είναι μεταξύ των πρώτων που ανταποκρίνονται σε ιογενείς λοιμώξεις. Στους ανθρώπους, υπάρχουν πέντε κύριες ομάδες εντός της οικογένειας των ιντερφερονών τύπου Ι, που ονομάζονται IFN-α, β, κ, ε και ω. Σχεδόν κάθε κύτταρο στο σώμα μπορεί να παράγει IFN. Η έκφρασή τους ελέγχεται αυστηρά και τυπικά δεν εκκρίνονται εκτός εάν το κύτταρο μολυνθεί ή έλθει σε επαφή με άλλους τύπους στρεσογόνων παραγόντων [55].

Η ενεργοποίηση οποιουδήποτε από αυτούς τους υποδοχείς PRR επάγει την ενεργοποίηση των συμπλεγμάτων κίνησης σηματοδότησης TBK1/IKKε και IKK1/IKK2. Ενώ όλοι οι δεσμευμένοι στη μεμβράνη υποδοχείς απαιτούν πρωτεΐνες προσαρμογής MyD88 ή TRIF για να ενεργοποιήσουν την καθοδική μεταγωγή και τις αντίστοιχες κινάσες, οι αισθητήρες

νουκλεϊκών οξέων του κυτταροπλάσματος (RIG-I, MDA5, cGAS, STING) ενεργοποιούν απευθείας το TBK1/IKKε. Το ενεργοποιημένο σύμπλεγμα TBK1/IKKε φωσφορυλιώνει μέλη της οικογένειας μεταγραφικών παραγόντων IRF, ενώ το σύμπλεγμα IKK1/IKK2 ελέγχει την ενεργοποίηση παραγόντων μεταγραφής όπως του NFκB. Η ενεργοποίηση του καταρράκτη σηματοδότησης του NF-κB μέσω οδών που εκκινούν από ένα σύνολο υποδοχέων που περιλαμβάνει TLRs και RLRs, πυροδοτεί την έκφραση προφλεγμονωδών κυτταροκινών και χημειοκινών, όπως η ιντερλευκίνη 6 (IL-6), η IL-1β, παράγοντας νέκρωσης όγκου (TNF)-α, και ο συνδέτης χημειοκίνης 2 (CCL2) [56]. Συνεπώς ο NFκB ρυθμίζει την έκφραση των φλεγμονωδών κυτταροκινών, ενώ οι μεταγραφικοί παράγοντες IRF είναι οι βασικοί ρυθμιστές της απόκρισης IFN τύπου I που οδηγεί σε έκκριση IFNs [57].

3.5.3 Σύνδεση με υποδοχείς ιντερφερόνης και ενεργοποίηση τους: Τόσο η IFN-I όσο και η IFN-III εκκρίνονται από μολυσμένα κύτταρα και εμπλέκονται στην αναστολή των ιογενών λοιμώξεων. Ωστόσο, η δράση τους περιλαμβάνει διακριτούς υποδοχείς. Τα μόρια IFN τύπου I ενεργοποιούν τα κύτταρα τόσο με αυτοκρινή όσο και με παρακρινό τρόπο και με τρόπο αυτοπροαγωγής. Οι εκκρινόμενες IFN αναγνωρίζονται από το σύμπλεγμα υποδοχέα ιντερφερόνης-α (IFNAR) που αποτελείται από δύο διαμεμβρανικές πρωτεΐνες, την IFNAR1 και την IFNAR2. Οι IFN-α και β ανήκουν στην IFN-I, ενώ η IFN-λ (IFN-λ: λ1, λ2, λ3 και λ4) ανήκει στην IFN-III. Ο υποδοχέας IFN-α 1 (IFNAR1) και ο IFNAR2, οι δύο αλυσίδες που σχηματίζουν το ετεροδιμερές στην επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης, είναι απαραίτητες για τη σύνδεση της IFN-I και την επακόλουθη σηματοδότηση. Σε αντίθεση με τους υποδοχείς IFN-I, οι οποίοι εκφράζονται από τα περισσότερα κύτταρα, η αλυσίδα IFN-λ: λ1, λ2, λ3 και λ4 (IFN-LR1) του υποδοχέα IFN-III (IFN-LR1/IL-10R2 ετεροδιμερές) εκφράζεται από περιορισμένες υποομάδες κυττάρων όπως τα επιθηλιακά κύτταρα [58].

Η IFN-I και η IFN-III μοιράζονται μια αλληλοεπικαλυπτόμενη οδό ενεργοποίησης και λειτουργιών, αλλά η IFN-I έχει περιγραφεί ότι ασκεί μια πιο ισχυρή και ταχεία απόκριση, ενώ η έκφραση της IFN-III είναι πιο διατηρημένη και περιορίζεται σε επιθηλιακούς φραγμούς. Η αυτοκρινής και παρακρινής δράση τους πραγματοποιείται μέσω της οδού σηματοδότησης JAK/STAT η οποία περιλαμβάνει τους μετατροπείς σήματος και ενεργοποιητές μεταγραφής

(STAT1 και STAT2), φωσφορυλίωση πρωτεΐνης από την κινάση Janus 1 (JAK 1) και την κινάση τυροσίνης 2 (TYK2). Οι φωσφορυλιωμένες πρωτεΐνες STAT1 και STAT2 σχηματίζουν ετεροδιμερή και συνδέονται με τον ρυθμιστικό παράγοντα 9 (IRF9) της ιντερφερόνης. Μαζί, τα STAT1, STAT2 και IRF9 σχηματίζουν τον μεταγραφικό παράγοντα – διεγερόμενο από IFN - γονίδιο 3 (ISGF3). Αυτό το σύμπλεγμα μετατοπίζεται στον πυρήνα, όπου δεσμεύεται σε συγκεκριμένες αλληλουχίες DNA γνωστές ως στοιχεία απόκρισης διεγερόμενα από ιντερφερόνη (ISREs) που βρίσκονται στους εκκινητές των διεγερόμενων από ιντερφερόνη γονιδίων (ISGs). Η δέσμευση του συμπλέγματος ISGF3 με τα ISRE στους προαγωγείς των ISG οδηγεί στη μεταγραφική ενεργοποίηση αυτών των γονιδίων [59]. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη σύνθεση διαφόρων αντιικών πρωτεϊνών και ενζύμων, όπως η πρωτεϊνική κινάση R (PKR), η 2',5'-ολιγοαδενυλική συνθετάση (OAS) και οι πρωτεΐνες Mx, μεταξύ άλλων [60].

Η ενεργοποίηση του IFNAR σηματοδοτεί καθοδικά κυρίως μέσω της σηματοδότησης JAK/STAT, προάγοντας την περαιτέρω ενεργοποίηση της απόκρισης IFN τύπου I, καθώς και τις φλεγμονώδεις αποκρίσεις μέσω της οδού του NFκB. Επιπλέον, η IFN τύπου I συνδέεται στενά με την κυτταρική απόπτωση: υπό ορισμένες συνθήκες, όπως η ιογενής λοίμωξη, η ενεργοποίηση των οδών που εξαρτώνται από την ιντερφερόνη μπορεί να προάγει την απόπτωση ή την πυρόπτωση του κυττάρου. Μόρια όπως η πρωτεϊνική κινάση 1 που αλληλεπιδρά με τον υποδοχέα (RIPK1), η RIPK3, η πρωτεΐνη του τομέα θανάτου που σχετίζεται με το FAS (FADD), η ανασταλτική πρωτεΐνη τύπου FLICE (FLIP) και αρκετές κασπάσες, που είναι βασικοί ρυθμιστές διαφορετικών μορφών κυτταρικού θανάτου, περιλαμβάνονται στη σηματοδότηση των TLR, των υποδοχέων τύπου NOD και των αισθητήρων RLR [61]. Αυτές οι μονάδες σηματοδότησης έχουν υψηλή ικανότητα να αλλάζουν την κατάσταση των κυττάρων από φλεγμονή σε κυτταρικό θάνατο, κάτι που αποτελεί βασικό χαρακτηριστικό της προστασίας που παρέχεται από την IFN σε ιογενείς λοιμώξεις.

Τα γονίδια αυτά (που επάγονται από τη σηματοδότηση IFN) αναφέρονται ως διεγερόμενα από ιντερφερόνη γονίδια (ISGs) και παίζουν ουσιαστικό ρόλο στην έμφυτη ανοσολογική απόκριση κατά των ιογενών λοιμώξεων.

3.5.4 Ενεργοποίηση αντιικών γονιδίων (ISGs). Οι πρωτεΐνες που κωδικοποιούνται από τα ISGs ασκούν διάφορες αντιικές δραστηριότητες εντός των μολυσμένων κυττάρων με αποτέλεσμα την επαγωγή μιας κατάστασης κατά του ιού: Επιπλέον, τα ISGs μπορεί να ενισχύσουν την έκφραση άλλων γονιδίων που σχετίζονται με το ανοσοποιητικό, όπως οι κυτταροκίνες και οι χημειοκίνες, για να ενισχύσουν περαιτέρω την αντιική απόκριση και να στρατολογήσουν ανοσοκύτταρα στο σημείο της μόλυνσης.

Συνολικά, οι ιντερφερόνες ενορχηστρώνουν μια πολύπλοκη αντιική απόκριση εντός των μολυσμένων κυττάρων προκαλώντας την έκφραση διαφόρων αντιικών πρωτεϊνών και ενζύμων, οδηγώντας τελικά στην αναστολή της αναπαραγωγής και της εξάπλωσης του ιού με διάφορους τρόπους όπως:

3.5.4.1 Ενίσχυση των αμυντικών μηχανισμών

α) Ενεργοποίηση ανοσοκυττάρων: Οι ιντερφερόνες επιδρούν ενισχύοντας τη δραστηριότητα διαφόρων ανοσοκυττάρων. Διεγείρουν την ενεργοποίηση και τον πολλαπλασιασμό των κυτταροτοξικών κυττάρων NK τα οποία μπορούν απευθείας να φονεύσουν κύτταρα μολυσμένα από ιό μέσω της αυξημένης σύνθεσης και απελευθέρωσης κυτταροτοξικών κοκκίων που περιέχουν περφορίνη και γρανζύμη.

β) Ενισχύουν τη φαγοκυτταρική δραστηριότητα των μακροφάγων και επάγουν επίσης την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών από αυτά (TNF, IL-6), ενισχύοντας περαιτέρω την ανοσολογική απόκριση. Τα μακροφάγα μπορούν να φονεύσουν άμεσα κύτταρα που έχουν μολυνθεί από τον ιό ή να βοηθήσουν στην κάθαρση των ιικών σωματιδίων.

γ) Οι ιντερφερόνες παίζουν ρόλο στην ενεργοποίηση και την ωρίμανση των αντιγονοπαρουσιαστικών δενδριτικών κυττάρων που συνδέουν τις έμφυτες και προσαρμοστικές ανοσολογικές αποκρίσεις. Προάγουν την ωρίμανση των δενδριτικών κυττάρων, οδηγώντας σε αυξημένη έκφραση συν-διεγερτικών μορίων και μορίων του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (MHC), τα οποία είναι απαραίτητα για την ενεργοποίηση των T κυττάρων.

δ) Επηρεάζουν τη διαφοροποίηση, τον πολλαπλασιασμό και τις δραστικές λειτουργίες των Τ κυττάρων, τα οποία είναι βασικοί παράγοντες στην προσαρμοστική ανοσοαπόκριση. Οι ιντερφερόνες προάγουν τη διαφοροποίηση των CD4+ Τ κυττάρων σε κύτταρα Τ helper 1 (Th1), τα οποία παράγουν κυτταροκίνες όπως η ιντερφερόνη-γ (IFN-γ) που ενισχύουν την ενεργοποίηση των μακροφάγων και την παραγωγή αντισωμάτων. Οι ιντερφερόνες ενισχύουν επίσης την κυτταροτοξική δραστηριότητα των CD8+ κυτταροτοξικών Τ κυττάρων, τα οποία είναι ζωτικής σημασίας για τη θανάτωση των μολυσμένων από ιό κυττάρων.

ε) Οι ιντερφερόνες, ιδιαίτερα η ιντερφερόνη-γ, μπορούν να ενισχύσουν την παραγωγή αντισωμάτων από τα Β κύτταρα και να προωθήσουν τη μετάβαση σε ισότυπους αντισωμάτων που είναι πιο αποτελεσματικοί στην καταπολέμηση ιογενών λοιμώξεων.

στ) Οι ιντερφερόνες προκαλούν υπερέκφραση των μορίων του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (MHC) στην επιφάνεια των κυττάρων. Τα μόρια MHC διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στην παρουσίαση του αντιγόνου, επιτρέποντας στο ανοσοποιητικό σύστημα να αναγνωρίζει και να ανταποκρίνεται στα μολυσμένα από τον ιό κύτταρα πιο αποτελεσματικά [60].

3.5.4.2 Αναστολή της αντιγραφής του ιού. Οι ιντερφερόνες αναστέλλουν την αντιγραφή των ιών μέσω πολλαπλών μηχανισμών, κυρίως όμως με την πρόκληση της έκφρασης διαφόρων γονιδίων αντικών πρωτεϊνών που παρεμβαίνουν στην αντιγραφή του ιού εντός των μολυσμένων κυττάρων. Αυτά τα ένζυμα μπορούν να αποικοδομήσουν το ιικό RNA ή να αποτρέψουν τη σύνθεση ιικών πρωτεϊνών, περιορίζοντας αποτελεσματικά την εξάπλωση του ιού [60].

3.5.4.2.1 Αντικές δράσεις προϊόντων των διεγειρόμενων από ιντερφερόνη γονιδίων ISGs: Συνολικά, οι ιντερφερόνες συντονίζουν μια πολύπλευρη αντική απόκριση που συμβάλλει στον περιορισμό της αναπαραγωγής, της εξάπλωσης και της παθογένεσης του ιού εντός του σώματος. Οι ιντερφερόνες αναστέλλουν την αντιγραφή του ιού μέσω πολλαπλών μηχανισμών, κυρίως με την πρόκληση της έκφρασης διαφόρων αντικών πρωτεϊνών εντός των μολυσμένων κυττάρων [62].

3.5.4.2.2 Διέγερση της έκφρασης του κυτταρικού ενζύμου πρωτεϊνικής κινάσης R (PKR), η οποία αναστέλλει τη σύνθεση πρωτεϊνών σε μολυσμένα κύτταρα. Η PKR ενεργοποιείται με τη σύνδεση στο δίκλωνο RNA (dsRNA) που παράγεται κατά την αντιγραφή ιών. Μόλις ενεργοποιηθεί, η PKR φωσφορυλιώνει την άλφα υπομονάδα του ευκαρυωτικού παράγοντα έναρξης 2 (eIF2α) ο οποίος είναι απαραίτητος για την έναρξη της μετάφρασης από τα ριβοσώματα και την πρωτεϊνοσύνθεση. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την παρεμπόδιση της πρωτεϊνοσύνθεσης στο μολυσμένο κύτταρο, συμπεριλαμβανομένης της σύνθεσης ιικών πρωτεϊνών, σταματώντας έτσι την αντιγραφή του ιού και περιορίζοντας αποτελεσματικά την εξάπλωση του ιού στον μολυσμένο ξενιστή. Επιπλέον, η διακοπή της πρωτεϊνοσύνθεσης μπορεί να προκαλέσει απόπτωση (προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος) στα μολυσμένα κύτταρα, περιορίζοντας περαιτέρω τον πολλαπλασιασμό του ιού. Η δραστηριότητα της PKR ρυθμίζεται αυστηρά υπό κανονικές φυσιολογικές συνθήκες ώστε να αποτραπεί η περιττή αναστολή της πρωτεϊνικής σύνθεσης. Σε μη μολυσμένα κύτταρα, η PKR είναι τυπικά παρούσα σε ανενεργή μορφή [63].

3.5.4.2.3 Ενεργοποίηση της 2',5'-ολιγοαδενυλικής συνθετάσης (OAS1,2,3 ισομορφές) από δίκλωνο RNA (dsRNA) ιών που επάγει την αποδόμηση των νουκλεϊκών οξέων του ιού. Κατά τη σύνδεση με το dsRNA, η OAS υφίσταται μια διαμορφωτική αλλαγή και συνθέτει 2',5'-ολιγοαδενυλικά (2-5A) από μόρια ATP. Τα συντιθέμενα μόρια 2-5A δρουν ως δεύτεροι αγγελιοφόροι, ενεργοποιώντας τη λανθάνουσα ενδοριβονουκλεάση που ονομάζεται RNase L. Η RNase L, μόλις ενεργοποιηθεί, διασπά το ιικό και το κυτταρικό μονόκλωνο RNA (ssRNA) σε συγκεκριμένες θέσεις, οδηγώντας στην αποικοδόμηση του ιικού RNA, διακόπτοντας αποτελεσματικά τον κύκλο ζωής του ιού [60].

3.5.4.2.4 Επαγωγή της παραγωγής πρωτεϊνών Mx που είναι είναι μια οικογένεια από μεγάλες, κυτταροπλασματικές GTPάσες που υδρολύουν το GTP και υφίστανται διαμορφωτικές αλλαγές ως απόκριση στη δέσμευση GTP. Προκαλούν διαταραχή των ιικών νουκλεοπρωτεϊνικών συμπλεγμάτων καθώς μπορούν να συνδεθούν και να διαρρήξουν τα σύμπλοκα ιικών νουκλεοπρωτεϊνών, εμποδίζοντας τη μεταγραφή και την αντιγραφή του ιικού

γονιδιώματος. Οι πρωτεΐνες Mx μπορούν επίσης να επηρεάσουν τη δραστηριότητα των ιικών πολυμερασών, οι οποίες είναι απαραίτητες για την αντιγραφή του ιικού γονιδιώματος [60].

3.5.4.2.5 Οι IFITMs διαμεμβρανικές πρωτεΐνες που επάγονται από την ιντερφερόνη είναι μια οικογένεια μικρών διαμεμβρανικών πρωτεϊνών που εντοπίζονται στις κυτταρικές μεμβράνες, συμπεριλαμβανομένης της πλασματικής μεμβράνης, των ενδοσωμικών μεμβρανών και των μεμβρανών των ενδοκυτταρικών κυστιδίων. Αναστέλλουν την είσοδο του ιού στα κύτταρα-ξενιστές παρεμβαίνοντας στις διαδικασίες σύντηξης και εισόδου του ιού. Τροποποιούν τη ρευστότητα και τις ιδιότητες των κυτταρικών μεμβρανών, καθιστώντας τις λιγότερο ευνοϊκές για τη σύντηξη και την είσοδο ιών [64].

3.5.4.2.6 Επαγωγή ενζύμων ADAR (απαμινάσες αδενοσίνης που δρουν στο RNA): Τα ένζυμα ADAR καταλύουν τη μετατροπή της αδενοσίνης σε ινοσίνη στο ιικό RNA, οδηγώντας στην αποσταθεροποίηση των δομών του ιικού RNA και στην αναστολή της αντιγραφής του ιού [65].

3.5.4.2.7 Επαγωγή των πρωτεϊνών Staufen οι οποίες προσδένονται σε συγκεκριμένες αλληλουχίες ιικού RNA (ενδονουκλεάσες, ένζυμα αποκάλυψης) και στρατολογούν συστατικά του κυτταρικού μηχανισμού διάσπασης του mRNA (εξωνουκλεάσες, ένζυμα αποκάλυψης), οδηγώντας στην ταχεία αποικοδόμηση των mRNA στόχων επάγοντας έτσι την ιική διάσπαση [66].

3.5.4.2.8 Επαγωγή άλλων πρωτεϊνών (TRIM, APOBEC3, tetherin, ISG15).

Οι TRIM στοχεύουν ικές πρωτεΐνες προς αποικοδόμηση ή επηρεάζουν τις έμφυτες οδούς σηματοδότησης του ανοσοποιητικού. Οι **πρωτεΐνες APOBEC3** (απαμινάσες κυτιδίνης) προκαλούν υπερμετάλλαξη στο ιικό DNA ή RNA με συνέπεια μη λειτουργικά ιικά γονιδιώματα). Η κυτταρική πρωτεΐνη **τεθερίνη** (αναστέλλει την εξωκύττωση ιών με περίβλημα από μολυσμένα κύτταρα) [67].

Επάγουν την **πρωτεΐνη ISG15** που είναι είναι μια πρωτεΐνη παρόμοια με την ουβικιτίνη που μπορεί να τροποποιήσει τις πρωτεΐνες στόχους μέσω της ISGυλίωσης. Η ISGυλίωση των πρωτεϊνών μπορεί να προάγει την απόπτωση και τον κυτταρικό θάνατο ως απόκριση σε ιογενή λοίμωξη [68].

3.5.4.2.9 Επαγωγή της πρωτεΐνης 6 που προκαλείται από ιντερφερόνη (IFI6-Interferon-alpha inducible protein 6). Η IFI6 αναστέλλει την αντιγραφή του ιού αλληλεπιδρώντας με τις ιικές πρωτεΐνες, διαταράσσοντας έτσι τη λειτουργία τους [69].

3.5.4.2.10 Επαγωγή κυτταροκίνης TRAIL (TNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand): Το μόριο TRAIL είναι μια κυτταροκίνη που προκαλεί απόπτωση σε μολυσμένα από ιό κύτταρα και καρκινικά κύτταρα, αλλά έχει ελάχιστη τοξικότητα στα φυσιολογικά κύτταρα [70].

3.5.5 Ρύθμιση της ανατροφοδότησης : Υπάρχουν διάφοροι μηχανισμοί για τη ρύθμιση της μεταγραφικής ενεργοποίησης των ISG και την πρόληψη της υπερβολικής ανοσολογικής ενεργοποίησης. Αυτές περιλαμβάνουν βρόχους αρνητικής ανάδρασης που περιλαμβάνουν την έκφραση κατασταλτικών πρωτεϊνών σηματοδότησης κυτταροκίνης (SOCS), πρωτεϊνικούς αναστολείς ενεργοποιημένων STAT (PIAS) και άλλους ρυθμιστικούς παράγοντες.

3.5.6 Συμπερασματικά, οι ιντερφερόνες εξασκούν τη δράση τους διεγείροντας την έκφραση ενός ευρέος φάσματος αντιικών γονιδίων (ISG). Οι πρωτεΐνες που κωδικοποιούνται από τα ISG εξασκούν την αντιική τους δράση εντός των μολυσμένων κυττάρων. Αποτρέπουν την είσοδο του ιού στο κύτταρο και τη διακίνηση του ιού στον πυρήνα, αναστέλλουν την αντιγραφή του ιού μαζί με τη μεταγραφή/μετάφραση του ιού και μπορούν επίσης να αποικοδομήσουν τα ιικά νουκλεϊκά οξέα και να εμποδίσουν τη συγκέντρωση ιικών σωματίων.

4. SARS COV-2 και αποφυγή των ανοσιακών μηχανισμών

4.1 Γενικά. Το σύστημα της ιντερφερόνης παρέχει αποτελεσματική προστασία από τους κορωνοϊούς και κλινικά δεδομένα από μελέτες σε ασθενείς με COVID-19 έχουν δείξει ότι η κατάλληλη και έγκαιρη απόκριση IFN στα επιθηλιακά κύτταρα της ανώτερης αναπνευστικής οδού μπορεί να περιορίσει την αναπαραγωγή του SARS-CoV-2. Η καθυστερημένη ή μειωμένη σηματοδότηση ιντερφερόνης από την άλλη μπορεί να διευκολύνει τον πολλαπλασιασμό και την εξάπλωση του ιού. Η εξουδετέρωση της IFN-I από αυτοαντισώματα και μη κατάλληλες φλεγμονώδεις αποκρίσεις και παραγωγή κυτταροκινών, μπορεί να συμβάλλουν στην εκδήλωση σοβαρής νόσου COVID-19 [71].

Η απόκριση ιντερφερόνης είναι ιδιαίτερα σημαντική κατά την πρώιμη φάση της λοίμωξης όταν ο ιός είναι ακόμα είναι αναπαραγωγικά ενεργός.

Ο SARS-CoV-2, όπως και πολλοί άλλοι ιοί παράγει ορισμένα PAMPs, όπως ssRNA, dsRNA, πρωτεΐνη S και πρωτεΐνη E, που αναγνωρίζονται άμεσα από τους PPRs του έμφυτου ανοσοποιητικού συστήματος [72].

Ο SARS-CoV-2 έχει αναπτύξει ιδιαίτερους μηχανισμούς αποφυγής του ανοσοποιητικού χρησιμοποιώντας τις πρωτεΐνες του προκειμένου άμεσα ή έμμεσα να αναστείλει την απόκριση της IFN-I ώστε να αντιγραφεί ανεμπόδια. Αυτή η εξελιγμένη ιική οργάνωση έχει στόχο τον περιορισμό της αντίδρασης του συστήματος της έμφυτης ανοσίας εξασφαλίζοντας έτσι περισσότερο χρόνο για την αναπαραγωγή του.

4.2 Μηχανισμοί αποφυγής ανοσίας

4.2. 1 Παρεμπόδιση σηματοδότησης ιντερφερόνης.

Οι μη δομικές πρωτεΐνες παίζουν σημαντικό ρόλο στην αποφυγή της ανοσιακής απάντησης. Η NSP3, έχει ιδιότητες πρωτεάσης τύπου παπαΐνης. Έτσι μπορεί να διασπά την πρωτεΐνη που διεγείρεται από ιντερφερόνη - γονίδιο 15 τύπου ουβικιτίνης (ISG15) και τον ανταποκρινόμενο στην ιντερφερόνη παράγοντα 3 (IRF3) αναστέλλοντας με αυτό τον τρόπο τις αποκρίσεις

ιντερφερόνης τύπου. Η NSP3 μπορεί επίσης να παρεμποδίσει έντονα τη δραστηριότητα της IFNA4 και της IFNB1, καθώς και τη δέσμευση IRF3 και NF-Kb [73].

Η κύρια πρωτεάση του SARS-CoV-2 NSP5 στοχεύει την πρωτεΐνη RIG-I και μιτοχονδριακή αντική σηματοδότηση (MAVS) μέσω δύο διακριτών μηχανισμών αναστολής. Συγκεκριμένα, η NSP5 αποκόπτει τα 10 N-τερματικά αμινοξέα από το RIG-I στερώντας του την ικανότητα ενεργοποίησης του MAVS, ενώ επίσης προάγει την ουβικουϊτινοποίηση και την αποικοδόμηση του MAVS που προκαλείται από το πρωτεόσωμα. Ως εκ τούτου, η NSP5 αναστέλλει ισχυρά την επαγωγή ιντερφερόνης (IFN) από δίκλωνο RNA (dsRNA) με τρόπο που εξαρτάται από το ένζυμο [74]. Επιπλέον, η NSP5 βρέθηκε ότι αναστέλλει τη μεταγραφή του INF-β που προκαλείται από το TBK1 και το IKKε μέσω του αποκλεισμού της πυρηνικής μετατόπισης του φωσφορυλιωμένου IRF3 [75].

Η NSP6 καταστέλλει τη φωσφορυλίωση του IRF3 αναστέλλοντας τη φωσφορυλίωση του TBK1 (TANK), οδηγώντας στην καταστολή της παραγωγής IFNβ [76].

Η μη δομική πρωτεΐνη NSP10 εμποδίζει τη δραστηριότητα των ιντερφερονών τύπου Ι αλληλεπιδρώντας με τη σηματοδότηση IRF3 και NF-kB καταστέλλοντας την παραγωγή κυτταροκινών [77]. Η NSP12 μειώνει την παραγωγή ιντερφερόνης τύπου Ι αναστέλλοντας την πυρηνική μετατόπιση του IRF3. Η πρωτεΐνη NSP13 αλληλεπιδρά με την κινάση σηματοδότησης TBK1 και εμποδίζει την ενεργοποίησή της. Επιπλέον, βρέθηκε ότι μειώνει την παραγωγή ιντερφερόνης περιορίζοντας την μετατόπιση στον πυρήνα του IRF3 [78]. Επιπλέον, η NSP13 εμπλέκεται στη σύνθεση του 5' καλύμματος RNA του ιού με τροποποίηση στο 5' άκρο κάθε mRNA, βοηθώντας έτσι τον ιό να αποφύγει την αναγνώριση από το RIG-I [79]. Η NSP15 αναστέλλει μετατόπιση στον πυρήνα του IRF3 και επομένως καταστέλλει την επαγωγή και τη σηματοδότηση της ιντερφερόνης. Θεωρείται ότι η NSP16 μαζί με τη NSP10 μπορεί να τροποποιήσει το κάλυμμα του ιικού RNA προσθέτοντας μια μεθυλ-ομάδα στη θέση 2'-Ο του πρώτου νουκλεοτιδίου, εμποδίζοντας έτσι την ανίχνευση από τον υποδοχέα RIG-I [80]. Εκτός από τις μη δομικές πρωτεΐνες που αναστέλλουν τους PRRs, και η δομική πρωτεΐνη M μπορεί να αλληλεπιδρά με την πρωτεΐνη του κεντρικού προσαρμογέα MAVS σε οδούς της έμφυτης ανοσοαπόκρισης, μειώνοντας τη συγκέντρωση MAVS και την καθοδική ενεργοποίηση των

TRAF3, TBK1, καθώς και του μεταγραφικού παράγοντα IRF3 ελαττώνοντας έτσι αντική απόκριση [81]. Έχει φανεί από μελέτες ότι η πρωτεΐνη M του SARS-CoV-2 καταστέλλει την έκφραση IFN τύπου I και III στοχεύοντας τη σηματοδότηση RIG-I/MDA-5 με σκοπό την εξασθένηση της αντιϊκής ανοσίας και την ενίσχυση της ιικής Η πρωτεΐνη N του SARS-CoV-2 αναστέλλει την αλληλεπίδραση TRIM25/RIG-I μέσω της δέσμευσης της στον τομέα DExD/H του υποδοχέα RIG-I. Η πρωτεΐνη N επηρεάζει επίσης τη σύνδεση TBK1/IRF3, αποτρέποντας την πυρηνική μετατόπιση και την έκφραση IRF3 και IFNs [82].

Έτσι, η οδός σηματοδότησης της IFN μπλοκάρεται σε διαφορετικά σημεία και επίπεδα από αρκετές πρωτεΐνες του SARS-CoV-2, εξασφαλίζοντας πλεονέκτημα για την αντιγραφή του ιού. Στοχεύονται επίσης τα αντιικά πρωτεϊνικά προϊόντα των ISGs που διεγείρονται. Οι ιικές πρωτεάσες έχουν βρεθεί ότι διασπούν τις διεγερμένες από IFN αντιικές πρωτεΐνες αμέσως μόλις παραχθούν. Για παράδειγμα, η NSP3 ευθύνεται για τη διάσπαση της ISG15 [83].

Πολλές βοηθητικές πρωτεΐνες έχει βρεθεί επίσης ότι αναστέλλουν την επαγωγή ιντερφερόνης όπως η ORF3b, και ORF6 λειτουργούν ανταγωνιστικά ως προς την IFN εμποδίζοντας την πυρηνική μετατόπιση STAT1, IRF3 και ISGF3 [84].

Η ORF9b αθροίζεται γρήγορα κατά την πορεία της λοίμωξης από SARS-CoV-2 και αναστέλλει την απόκριση ιντερφερόνης τύπου I που εξαρτάται από το μονοπάτι RIG-I/MAVS διακόπτοντας τη συνδεδεμένη με K63 πολυουβικουϊτινοποίηση του διαμορφωτή σηματοδότησης ιντερφερόνης NEMO. Η ORF9b έχει βρεθεί επίσης ότι αλληλεπιδρά με τα RIG-I, MDA-5, MAVS, TRIF, STING και TBK1 παρεμποδίζοντας τη φωσφορυλίωση και την πυρηνική μετατόπιση του IRF3 [85].

Επιπλέον ο ιός δημιουργεί γρήγορα κυστίδια διπλής μεμβράνης (DMVs) ως οχήματα ιικής αντιγραφής προκειμένου να δημιουργήσει ένα φυσικά προστατευμένο χώρο για τις διεργασίες πολλαπλασιασμού του αποφεύγοντας με αυτόν τον τρόπο την αναγνώριση από τους κυτταροπλασματικούς υποδοχείς PRRs [86]. Η NSP1 είναι μπορεί επίσης να προκαλέσει, σε κάποιο βαθμό, αναστολή της σηματοδότησης IFN αναστέλλοντας τη φωσφορυλίωση STAT1, IRF3, Tyk2 και STAT2 [87].

Μεταβολές στην κωδικοποιητική περιοχή NSP1 φάνηκε ότι οδηγούν σε χαμηλότερη απόκριση IFN-I, γεγονός που υποδηλώνει ότι η NSP1 συνδέεται στενά με την εξουδετέρωση της ανοσιακής απάντησης [88]. Η NSP3 μπορεί επίσης να αντιστρέψει την εξαρτώμενη από το PARP9/DTX3L καθοδική ADP - ριβοζυλίωση, που προκαλείται από τη σηματοδότηση ιντερφερόνης [89]. Η NSP5 πιστεύεται ότι αναστέλλει τη μεταγραφή του INF-β που προκαλείται από τα TBK1 και IKKε μέσω του αποκλεισμού της πυρηνικής μετατόπισης του φωσφορυλιωμένου IRF3 και της βλάβης της σηματοδότησης IFN τύπου I προκαλώντας συσσώρευση φωσφο-STAT1/2 [90].

Η NSP6 βλάπτει τη φωσφορυλίωση των STAT1 και STAT2. Οι NSP8 και NSP9 αλληλεπιδρούν με το συστατικό 7SL RNA των SRP54 και SRP19, τα συστατικά του σωματιδίου αναγνώρισης σήματος (SRP), το οποίο αναγνωρίζει το πεπτίδιο σήματος των εκκριτικών πρωτεϊνών. Διαταράσσοντας τη διακίνηση πρωτεϊνών, αυτές οι δύο NSPs επηρεάζουν την έκκριση κυτταροκίνης και την ανακύκλωση του MHC-I και προκαλούν σημαντική μείωση της ανοσολογικής απόκρισης. Η πρωτεΐνη NSP13 μπλοκάρει τη φωσφορυλίωση του μεταγραφικού παράγοντα STAT1. Η Nsp14 αναστέλλει τη σηματοδότηση των IFN διευκολύνοντας τη λυσοσωμική αποικοδόμηση του βασικού υποδοχέα ιντερφερόνης IFNAR1. Η προκύπτουσα μείωση του αριθμού υποδοχέων IFN επιβραδύνει την αυτοκρινή και παρακρινή ενεργοποίηση των μεταγραφικών παραγόντων STAT και τελικά οδηγεί σε εξασθενημένη ανοσία [91].

Η βοηθητική πρωτεΐνη orf7a καταστέλλει την απόκριση IFN-I αναστέλλοντας τη φωσφορυλίωση STAT2. Η orf7b αναστέλλει τη φωσφορυλίωση τόσο της STAT1 όσο και της STAT2. Η Orf8 μπορεί να αναστείλει ισχυρά την ιντερφερόνη τύπου I (IFN-β) και τον εκκινητή που ανταποκρίνεται στο NF-κB, καθώς και στοιχεία απόκρισης που διεγείρονται από την ιντερφερόνη (ISRE) [92].

4.2.2 Παρεμπόδιση από τον ιό των μέσω IFN επαγομένων δράσεων και κυτταρικών γεγονότων

Αμέσως μετά την απελευθέρωσή της από τις pp1a και pp1ab, η NSP1 συνδέεται με το 18S ριβοσωμικό RNA και την υπομονάδα 40S στο κανάλι εισόδου mRNA του ριβοσώματος, πριν το κύτταρο μπορέσει να κλείσει τον μηχανισμό μετάφρασης ή να προκαλέσει αυτο-αποδόμηση εξασφαλίζοντας έτσι χρόνο για τον πολλαπλασιασμό του ιού [93]. Η NSP1 επίσης μπλοκάρει την έξοδο από τον πυρήνα των mRNA του ξενιστή, συμπεριλαμβανομένων των IFNs, εμποδίζοντας τη σωστή σύνδεση του NXF1 στους προσαρμογείς εξαγωγής mRNA και του NXF1 στο σύμπλεγμα πυρηνικών πόρων [94].

Η NSP14 μαζί με την nsp10 μπορεί επίσης να επηρεάσουν αρνητικά τις διεργασίες μετάφρασης του ξενιστή με συνέπεια τη σημαντική μείωση της έκφραση των γονιδίων που επάγονται από την ιντερφερόνη. Ο SARS-CoV-2 επηρεάζει επίσης και κυτταρικές διεργασίες, ρυθμίζοντας την κυτταρική αυτοφαγία, τη σύντηξη και τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο. Η αυτοφαγία παίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση του κυτταρικού θανάτου που σχετίζεται με την αντική απόκριση του ανοσοποιητικού συστήματος. Εκτός από την παρεμπόδιση της ενεργοποίησης των PRRs, ο SARS-CoV-2 προσπαθεί επίσης να παρεμποδίσει και την αυτοφαγία. Η πρωτεΐνη NSP15 αναστέλλει την de novo επαγωγή αυτοφαγίας. Οι δομικές πρωτεΐνες E και M έχει φανεί ότι διακόπτουν τον αυτοφαγικό κύκλο στα κύτταρα – ξενιστές ώστε να αποτραπεί και η επακόλουθη αποικοδόμηση των σχηματισμένων ιικών σωματίων [215]. Βοηθητικές πρωτεΐνες του SARS-CoV-2, επίσης επηρεάζουν την αυτοφαγία. Έτσι η orf3a αναστέλλει αυτοφαγικές διεργασίες στοχεύοντας τα όψιμα ενδοσώματα και εμποδίζοντας τη σύντηξή τους με αυτοφαγοσώματα [95]. Μια άλλη πρωτεΐνη, η orf7a μπορεί να εμποδίζει τον αυτοφαγικό κύκλο επηρεάζοντας την οξίνιση των λυσοσωμάτων. Η πρωτεΐνη ORF8 αλληλεπιδρά άμεσα με τα μόρια MHC-I και διευκολύνει τη λυσοσωμική αποικοδόμηση τους μέσω αυτοφαγίας, επομένως, τα μολυσμένα με SARS-CoV-2 κύτταρα είναι πολύ λιγότερο ευαίσθητα στη λύση από κυτταροτοξικά T λεμφοκύτταρα [96].

Επίσης, ο SARS-CoV-2 μπορεί να προκαλέσει άμεση κυτταρική σύντηξη, με δημιουργία συγκυτίων η οποία είναι ένας άλλος μηχανισμός για την εξάπλωση του ιού. Κατά τη

διαδικασία συναρμολόγησης του ιού, η πρωτεΐνη S με άλλες δομικές πρωτεΐνες (E, M, N) μετατοπίζονται στον αυλό του ενδιάμεσου διαμερίσματος στη διεπιφάνεια ενδοπλασματικού δικτύου (ER)-Golgi. Η αλληλεπίδραση μεταξύ της πρωτεΐνης S στη μολυσμένη κυτταρική επιφάνεια με τον υποδοχέα ACE2 στο γειτονικό κύτταρο και η αυξημένη συγκέντρωση φωσφατιδυλοσερίνης μπορεί να προκαλέσει σχηματισμό συγκυτίων. Με αυτόν τον τρόπο, ο SARS-CoV-2 έχει τη δυνατότητα να εξαπλωθεί από κύτταρο σε κύτταρο παραμένοντας μέσα στα κύτταρα, και χωρίς να εκτίθεται στους αμυντικούς μηχανισμούς της ανοσίας [97]. Οι μεταλλάξεις που αφορούν την πρωτεΐνη ακίδα S συμβάλλουν στη διαφυγή από το σύστημα της προσαρμοστικής ανοσίας, βοηθώντας τον ιό να παρατείνει τον χρόνο αναπαραγωγής [98]. Πράγματι, εκτός από την πρωτεΐνη S, αναφέρθηκε ότι η παραλλαγή Alpha (B.1.1.7) έχει αυξήσει δραματικά τα επίπεδα των πρωτεϊνών N, orf9b, orf6 και των sgRNAs, με αποτέλεσμα μεγαλύτερη μείωση των έμφυτων ανοσοαποκρίσεων των επιθηλιακών κυττάρων στο αναπνευστικό σύστημα.

5 Ανοσιακή δυσρύθμιση

5.1 Γενικά. Η λοίμωξη από SARS-CoV-2 οδηγεί σε ένα ευρύ φάσμα νοσολογικών φαινοτύπων, από ασυμπτωματικά άτομα έως ασθενείς με COVID-19, οι οποίοι μπορεί να εμφανίζουν σοβαρές κλινικές εκδηλώσεις όπως ARDS ή χαρακτηριστικά παρόμοια με το σύνδρομο διέγερσης μακροφάγων (MAS).

Από αυτά που μας είναι γνωστά από παλαιότερες μελέτες ασθενών με SARS-COV και MERS-COV και όπως έχει φανεί από σε ασθενείς με COVID-19, το μεγαλύτερο μέρος των θανάτων προκαλείται από ARDS ενώ σημαντικό ρόλο παίζει και η κινητοποίηση του μηχανισμού της πήξεως [99].

Οι βιολογικοί μηχανισμοί της φλεγμονής ενεργοποιούνται από τις έμφυτες και προσαρμοστικές ανοσολογικές αποκρίσεις. Αυτές οι αποκρίσεις απαιτούν μια ισορροπία μεταξύ επαρκούς παραγωγής κυτταροκινών για την εξάλειψη του παθογόνου και την αποφυγή μιας υπερφλεγμονώδους κατάστασης κατά την οποία η υπερβολική παραγωγή κυτταροκινών μπορεί να προκαλέσει κλινικά σημαντικές παράπλευρες βλάβες. Δεδομένου του υψηλού επιπολασμού των ασθενών με ήπια συμπτωματολογία, αυτή η πρώιμη, τοπική ανοσολογική απόκριση φαίνεται ότι μπορεί συνήθως να περιορίσει με επιτυχία την αρχική ιογενή λοίμωξη και να αποκαταστήσει το ομοιοστατικό περιβάλλον στην αναπνευστική οδό. Ο επιτυχής έλεγχος των ιογενών λοιμώξεων συχνά εξαρτάται από την έναρξη των αποκρίσεων ιντερφερόνης τύπου I-III (IFN) και από τις διαδικασίες σηματοδότησης τους. Η απρόσκοπτη πραγματοποίηση αυτών των διαδικασιών σηματοδότησης τελικά χαρακτηρίζει μια αποτελεσματική προσαρμοστική ανοσοαπόκριση [100].

Η απόκριση IFN μπορεί συχνά να καταστέλλεται ή να καθυστερεί σε λοιμώξεις που προκαλούνται από ιούς όπως το σοβαρό οξύ αναπνευστικό σύνδρομο (από τον SARS-CoV), ή λοίμωξη από τον κορωνοϊό του αναπνευστικού συνδρόμου της Μέσης Ανατολής (MERS-CoV), καθώς και ο ιός της γρίπης, με την εξασθένηση της απόκρισης IFN να συσχετίζεται με αυξημένη βαρύτητα της νόσου [101].

Η καταστολή της έμφυτης ανοσολογικής απόκρισης στην πρώιμη φάση μπορεί να προσφέρει την ευκαιρία στον SARS-CoV-2 να αναπαραχθεί ανεξέλεγκτα στην αναπνευστική οδό,

επιτυγχάνοντας υψηλό ιικό φορτίο και συμβάλλοντας τελικά στην αποτελεσματικότερη μετάδοσή του από άτομο σε άτομο πριν από την εμφάνιση σοβαρών κλινικών συμπτωμάτων [102].

Ο COVID-19 μπορεί να αποφεύγει όπως αναφέρθηκε τόσο το έμφυτο όσο και το προσαρμοστικό ανοσοποιητικό σύστημα παραβιάζοντας σημαντικά βήματα της ανοσιακής απόκρισης.

Αρχικά, το έμφυτο ανοσοποιητικό σύστημα, το οποίο ανιχνεύει μοριακά μοτίβα που σχετίζονται με παθογόνα (PAMPs) και μοριακά μοτίβα που σχετίζονται με βλάβη (DAMPs), αποτυγχάνει να επάγει αποτελεσματική αντιική απόκριση, ιδίως εξαιτίας της μειωμένης παραγωγής ιντερφερονών τύπου I και τύπου III (IFN). Η σοβαρή καταστολή της ανοσολογικής απόκρισης του ξενιστή επιτρέπει στον SARS-CoV-2 να αναπαραχθεί σε μεγάλους αριθμούς ενώ σχετίζεται παραδόξως με αυξημένα επίπεδα κυτταροκινών στη συστηματική κυκλοφορία προκαλώντας υπερβολική φλεγμονώδη απόκριση και σοβαρή βλάβη σε ασθενείς με πνευμονία COVID-19 [103]. Η πληθώρα προφλεγμονωδών κυτταροκινών και χημειοκινών όπως IL-6, IL-8, IL-10 και TNF-α κ.α που παράγονται, συμμετέχουν σε οδούς μεταγωγής σήματος και σχηματίζουν διακριτούς βρόχους θετικής ανάδρασης επηρεάζοντας άλλα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος. Με αυτό τον τρόπο συμβάλλουν στη στρατολόγηση τους επιφέροντας έτσι μία δυσανάλογη αύξηση της έντασης της φλεγμονής που μπορεί να εξελιχθεί σε υπερφλεγμονή, με αποτέλεσμα επιπλοκές όπως οίδημα, ίνωση και θρόμβωση στους πνεύμονες, προκαλώντας υποξία, σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας (ARDS) βλάβη πολλαπλών οργάνων και συστημάτων, και θάνατο.

Η διαταραγμένη αυτή και υπέρμετρη ανοσολογική αντίδραση του ξενιστή (καταιγίδα κυτταροκινών ή σύνδρομο απελευθέρωσης κυτταροκινών- CRS) που χαρακτηρίζεται από την υπερπαραγωγή κυτταροκινών πιστεύεται ότι είναι υπεύθυνη για τις σοβαρές κλινικές εκδηλώσεις της νόσου και την αυξημένη θνητότητα [104], [105].

Σχεδόν όλα τα κύτταρα και οι ιστοί του σώματος μπορούν να επηρεαστούν από την καταιγίδα κυτταροκινών – CRS που είναι μια οξεία και ανεξέλεγκτη φλεγμονώδης απόκριση που συχνά συνοδεύεται από πολυοργανική δυσλειτουργία και ποικίλες κλινικές εκδηλώσεις.

5.2 Καταιγίδα κυτταροκινών - σύνδρομο απελευθέρωσης κυτταροκίνης

Οι κυτταροκίνες παίζουν βασικό ρόλο στο συντονισμό των ενεργών ανοσοποιητικών κυττάρων και στην παροχή ρυθμιστικών σημάτων που κατευθύνουν, ενισχύουν και επιλύουν την ανοσολογική απόκριση. Οι κυτταροκίνες έχουν σύντομο χρόνο ημιζωής, γεγονός που υπό φυσιολογικές συνθήκες τις εμποδίζει να έχουν επιπτώσεις εκτός του λεμφικού ιστού και των εστιών φλεγμονής. Αν και συνήθως θεωρείται παθολογική, η παρατεταμένη παραγωγή κυτταροκινών, η οποία οδηγεί σε αυξημένα επίπεδα τους στην κυκλοφορία, μπορεί να είναι απαραίτητη για τον αποτελεσματικό έλεγχο ορισμένων λοιμώξεων. Τα αυξημένα επίπεδα κυτταροκινών από την άλλη μπορεί να έχουν συστηματικές επιδράσεις και να προκαλέσουν παράπλευρες βλάβες σε συστήματα και ζωτικά όργανα.

Το 1993 χρησιμοποιήθηκε από τον James Ferrara ο όρος «cytokine storm» (καταιγίδα κυτταροκινών) για πρώτη φορά στη ιατρική βιβλιογραφία με αφορμή τη νόσο του μοσχεύματος έναντι του ξενιστή, μια κατάσταση στην οποία ο ρόλος της υπερβολικής και αυτοδιαϊωνιζόμενης απελευθέρωσης κυτταροκινών είχε ήδη μελετηθεί από παλαιότερα χρόνια [106].

Ο όρος εμφανίστηκε στη συνέχεια σε κάποιες μελέτες για την παγκρεατίτιδα το 2002 και το 2003 χρησιμοποιήθηκε για πρώτη αναφέρθηκε ως αντίδραση σχετιζόμενη με λοίμωξη [107]. Πιστεύεται ότι οι καταιγίδα κυτταροκινών ήταν υπεύθυνη για τον δυσανάλογο αριθμό θανάτων υγιών νεαρών ενηλίκων με φυσιολογικό ανοσοποιητικό κατά τη διάρκεια της πανδημίας γρίπης του 1918, η οποία σκότωσε περίπου 50 εκατομμύρια ανθρώπους παγκοσμίως [108].

Η καταιγίδα κυτταροκινών αναφερόταν έκτοτε ως «σύνδρομο τύπου γρίπης» και θεωρούνταν αποτέλεσμα συστηματικών λοιμώξεων και σήψης ή ανοσοθεραπειών όπως οι τοξίνες του Coley [109]. Ερευνητικά αποτελέσματα από την Ταϊβάν υπέδειξαν την καταιγίδα κυτταροκινών ως πιθανή αιτία για πολλούς θανάτους κατά τη διάρκεια της επιδημίας SARS το 2003 [110]. Επίσης, για το θάνατο πολλών ανθρώπων από τη γρίπη των πτηνών H5N1, έχει βρεθεί ότι σημαντικός παράγοντας είναι η καταιγίδα κυτταροκινών [111]. Παρόμοια ευρήματα έχουν προκύψει από μελέτες σε ασθενείς με προσβολή πνευμόνων από Hantavirus.

Ο όρος «σύνδρομο απελευθέρωσης κυτταροκίνης» επινοήθηκε για να περιγράψει ένα παρόμοιο σύνδρομο μετά από έγχυση muromonab-CD3 (OKT3) [112]. Η καταιγίδα κυτταροκινών και το σύνδρομο απελευθέρωσης κυτταροκινών είναι απειλητικά για τη ζωή συστηματικά φλεγμονώδη σύνδρομα που περιλαμβάνουν αυξημένα επίπεδα κυκλοφορούντων κυτταροκινών και υπερενεργοποίηση των ανοσοκυττάρων που μπορεί να προκληθούν από διάφορες θεραπείες, παθογόνα, καρκίνους, αυτοάνοσες καταστάσεις και γονιδιακές διαταραχές.

Η υπερενεργοποίηση του ανοσοποιητικού και η επακόλουθη καταιγίδα κυτταροκινών μπορεί να συμβούν ως αποτέλεσμα ακατάλληλης ενεργοποίησης ή αίσθησης κινδύνου, με την ανοσιακή απόκριση να ξεκινά απουσία παθογόνου (π.χ. σε γενετικές διαταραχές που περιλαμβάνουν ακατάλληλη ενεργοποίηση φλεγμονοσώματος ή ιδιοπαθή πολυκεντρική νόσο Castleman). Ακόμη ως αποτέλεσμα ενός ακατάλληλου ή αναποτελεσματικού εύρους απόκρισης, που περιλαμβάνει υπερβολική ενεργοποίηση δραστικών ανοσοκυττάρων, π.χ. σε καταιγίδα κυτταροκινών λόγω θεραπείας με CAR T-κύτταρα ή ενός εξαιρετικά μεγάλου φορτίου παθογόνου (π.χ. στη σήψη) ή ανεξέλεγκτες λοιμώξεις και παρατεταμένη ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού (π.χ. σε HLH που σχετίζεται με τον ιό Epstein-Barr [EBV]) [113]. Επίσης σε αποτυχία επίλυσης της ανοσολογικής απόκρισης και επιστροφής σε ομοιόσταση (π.χ. στην πρωτοπαθή HLH). Σε καθεμία από αυτές τις καταστάσεις, υπάρχει αποτυχία μηχανισμών αρνητικής ανάδρασης που προορίζονται να περιορίσουν και να αποτρέψουν την υπερφλεγμονή και την υπερπαραγωγή φλεγμονωδών κυτταροκινών και άλλων μεσολαβητών.

Η υπερβολική παραγωγή κυτταροκίνης μπορεί να οδηγήσει σε υπερφλεγμονή και πολυοργανική ανεπάρκεια. Οι διάφοροι τύποι ρυθμιστικών κυττάρων, οι υποδοχείς δόλωμα για προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες όπως ο IL1RA και οι αντιφλεγμονώδεις κυτταροκίνες όπως η ιντερλευκίνη-10 είναι σημαντικοί παράγοντες για τον περιορισμό των φλεγμονωδών κυττάρων και την πρόληψη της υπερδραστηριότητας του ανοσοποιητικού.

Τα κύτταρα της έμφυτης ανοσίας που εμπλέκονται συχνότερα στην παθογένεση της καταιγίδας κυτταροκινών περιλαμβάνουν τα ουδετερόφιλα, μακροφάγα και κύτταρα NK. Τα

ουδετερόφιλα μπορούν να παράγουν εξωκυτταρικές παγίδες ουδετερόφιλων (NETs), ένα δίκτυο ινών που συμβάλλουν στον σχηματισμό θρόμβων και ενισχύουν την παραγωγή κυτταροκίνης κατά τη διάρκεια της καταιγίδας κυτταροκινών. Τα ιστικά μακροφάγα των ιστών δεν διαιρούνται. Έχουν ποικίλες λειτουργίες, όπως η απομάκρυνση γηρασμένων κυττάρων, η ιστική αποκατάσταση, η παρουσίαση αντιγόνου και η ανοσορύθμιση. Σε πολλές μορφές καταιγίδας κυτταροκινών, τα μακροφάγα ενεργοποιούνται και εκκρίνουν υπερβολικές ποσότητες κυτταροκινών, προκαλώντας τελικά σοβαρή βλάβη των ιστών που μπορεί να οδηγήσει σε ανεπάρκεια οργάνων. Αιμοφαγοκύτταρα (μακροφάγα) συχνά παρατηρούνται σε δείγματα βιοψίας μυελού των οστών από ασθενείς με καταιγίδα κυτταροκινών.

Η ιντερφερόνη-γ μπορεί να προκαλέσει αιμοφαγοκυττάρωση και αυτό μπορεί να συμβάλει στις κυτταροπενίες που παρατηρούνται συνήθως σε ασθενείς με καταιγίδα κυτταροκινών [114].

Η κυτταρολυτική λειτουργία των NK κυττάρων μειώνεται σε ορισμένες μορφές καταιγίδας κυτταροκινών, κάτι που μπορεί να οδηγήσει σε παρατεταμένη αντιγονική διέγερση και δυσκολία επίλυσης της φλεγμονής [115]. Η περίσσεια ιντερλευκίνης-6 μπορεί να συμβάλλει στην έκπτωση της λειτουργίας των NK-κυττάρων μειώνοντας την παραγωγή περφορίνης και γρανζύμης.

Τα κύτταρα του προσαρμοστικού ανοσοποιητικού συστήματος (B-λεμφοκύτταρα και T-λεμφοκύτταρα) συμμετέχουν και αυτά στην παθογένεση του συνδρόμου.

Τα T κύτταρα διαφοροποιούνται σε έναν αριθμό υποομάδων με διακριτές λειτουργίες ενεργών κυττάρων που πιθανώς εμπλέκονται στη καταιγίδα κυτταροκινών. Τα βοηθητικά T (Th1) κύτταρα τύπου 1 και τα κυτταροτοξικά T λεμφοκύτταρα (CTL) είναι κυρίως υπεύθυνα για την άμυνα του ξενιστή έναντι των ιογενών λοιμώξεων [116].

Τα κύτταρα Th1 ρυθμίζουν τη στρατολόγηση των μακροφάγων, ενώ τα βοηθητικά κύτταρα T (Th2) τύπου 2 στρατολογούν ηωσινόφιλα και βασεόφιλα. Τα βοηθητικά κύτταρα T (Th9) στρατολογούν μαστοκύτταρα και τα βοηθητικά T (Th17) κύτταρα τύπου 17 στρατολογούν ουδετερόφιλα [116]. Μια υπερβολική φλεγμονώδης απόκριση τύπου Th1 εμφανίζεται συχνά κατά τη διάρκεια καταιγίδας κυτταροκινών. Τα κύτταρα Th1 παράγουν μεγάλες ποσότητες

ιντερφερόνης- γ , προκαλούν καθυστερημένες αντιδράσεις υπερευαισθησίας, ενεργοποιούν τα μακροφάγα και είναι απαραίτητα για την άμυνα έναντι των ενδοκυτταρικών παθογόνων. Η εξασθενημένη θανάτωση μολυσμένων κυττάρων ή καρκινικών κυττάρων από CTL με τη μεσολάβηση κοκκίων είναι μια βασική πτυχή ορισμένων μορφών καταιγίδας κυτταροκινών και η αδυναμία των CTL να σκοτώσουν αποτελεσματικά οδηγεί σε παρατεταμένη ενεργοποίηση των T κυττάρων, προκαλώντας έναν καταρράκτη φλεγμονώδους βλάβης ιστών [116]. Τα κύτταρα Th17 διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην άμυνα του ξενιστή, ιδιαίτερα στην αντιμυκητιασική προστασία, και η μη φυσιολογική λειτουργία των κυττάρων Th17 μπορεί να οδηγήσει σε αυτοανοσία και στοιχεία υποδεικνύουν ότι τα κύτταρα Th17 μπορούν να είναι επαγωγείς μιας καταιγίδας κυτταροκινών που είναι ανεξάρτητη από την ιντερφερόνη- γ [117]. Τα B κύτταρα δεν συνδέονται συχνά με την παθογένεση της καταιγίδας κυτταροκινών ωστόσο πιστεύεται ότι και αυτά τα κύτταρα μπορεί να έχουν κάποιο ρόλο, ιδιαίτερα όταν έχουν μολυνθεί από ιούς.

6 Οι κυτταροκίνες στη θεραπευτική της νόσου COVID –19

6.1 Γενικά. Καθώς όπως φαίνεται, από τα ευρήματα σε παλαιότερες επιδημίες από κορωνοϊούς (SARS-COV, MERS-COV) αλλά και στη νόσο COVID-19, η καταιγίδα κυτταροκινών διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στην παθογένεση της νόσου. Ως εκ τούτου, μεγάλο ερευνητικό ενδιαφέρον εκδηλώθηκε κατά τη διάρκεια της πανδημίας για την εξακρίβωση κυτταροκινών με κομβικό ρόλο και τη δυνητική χρήση ανοσοτροποποιητικών φαρμάκων που δρουν ως αναστολείς των κυτταροκινών αυτών για την αντιμετώπιση της λοίμωξης από SARS-CoV-2.

Σημαντικός αριθμός αναστολέων κυτταροκινών χρησιμοποιούνται σήμερα στη Ρευματολογία σε καταστάσεις που χαρακτηρίζονται από αυξημένη παραγωγή κυτταροκινών ή και σύνδρομο καταιγίδας κυτταροκινών (CSS).

Μεταξύ των κυτταροκινών για τις οποίες μελετήθηκαν τα αποτελέσματα της αναστολής των οδών τους, με διάφορους παράγοντες. κατά τη διάρκεια της πανδημίας COVID-19 περιλαμβάνονται τα κορτικοστεροειδή, η IL-1 ή IL-6, το σύστημα των Janus κινασών, ο TNF κ.α.

6.2 Τα κορτικοστεροειδή ως αντιφλεγμονώδεις παράγοντες

Τα κορτικοστεροειδή αποτελούν μια από τις παλαιότερες και πιο καλά μελετημένες ομάδες φαρμακευτικών ουσιών με αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Κατά τη διάρκεια της πανδημίας COVID-19, αρκετές μελέτες μεγάλης κλίμακας διεξήχθησαν προκειμένου να εντοπιστούν τυχόν πιθανές εφαρμογές τους στη θεραπεία της νόσου.

Τα κορτικοστεροειδή ρυθμίζουν πολυάριθμες φυσιολογικές διεργασίες, συμπεριλαμβανομένης της ανοσοαπόκρισης, της φλεγμονής και του μεταβολισμού. Οι δράσεις τους λαμβάνουν χώρα μέσω του υποδοχέα γλυκοκορτικοειδών (Glycocorticoid Receptor-GR) που εντοπίζεται κυρίως ενδοκυττάρια ή μέσω υποδοχέων αλατικοκορτικοειδών (MR).

Ο GR ανήκει στην οικογένεια πυρηνικών υποδοχέων των παραγόντων μεταγραφής που ενεργοποιούνται από συνδέτη. Αποτελείται από τρεις λειτουργικές περιοχές: μια N-τερματική περιοχή μετενεργοποίησης (NTD), μια κεντρική περιοχή δέσμευσης DNA (DBD) και μια C-

τερματική περιοχή σύνδεσης συνδέτη (LBD). Εξασκούν τις επιδράσεις αντιφλεγμονώδεις μέσω αυτού σηματοδοτώντας μέσω γονιδιωματικών και μη γονιδιωματικών οδών [118].

6.2.1 Γονιδιωματικές οδοί και δράσεις. Οι κλασικές, γονιδιωματικές δράσεις των γλυκοκορτικοειδών μεσολαβούνται μέσω του GR. Απουσία ορμόνης, ο GR βρίσκεται κυρίως στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων ως μέρος ενός μεγάλου πολυπρωτεϊνικού συμπλέγματος [119]. Το σύμπλεγμα των πρωτεϊνών διατηρεί τον GR σε μια διαμόρφωση που ευνοεί τη σύνδεση προσδέματος υψηλής συγγένειας [120].

Δεδομένου ότι το γλυκοκορτικοειδή είναι λιπόφιλα μόρια, διέρχονται ευχερώς την κυτταρική μεμβράνη και συνδέονται με τον υποδοχέα γλυκοκορτικοειδών στο κυτταρόπλασμα. Με τη σύνδεση ο GR υφίσταται μια διαμορφωτική αλλαγή, με αποτέλεσμα τη διάσπαση του συμπλόκου των πρωτεϊνών – GR και μια δομική αναδιοργάνωση του GR. Ο συνδεδεμένος GR μετατοπίζεται ταχέως στον πυρήνα μέσω των πυρηνικών πόρων. Μόλις εισέλθει στον πυρήνα, ο GR συνδέεται απευθείας με τα GRE (Glycocorticoid Receptor Elements -GRE) ως διμερές και διεγείρει την έκφραση των γονιδίων - στόχων. Η δέσμευση του GR με τα GRE προκαλεί διαμορφωτικές αλλαγές στον GR που οδηγούν σε συντονισμένη στρατολόγηση ρυθμιστικών συμπλεγμάτων και αναδιαμόρφωση χρωματίνης επηρεάζοντας τη δραστηριότητα της RNA πολυμεράσης II και ενεργοποιούν τη μεταγραφή και την καταστολή γονιδίων [121].

.Επιπλέον, ο GR μπορεί να αλληλεπιδρά με τα μέλη της οικογένειας του μετατροπέα σήματος και του ενεργοποιητή της μεταγραφής (STAT), είτε σε συνδυασμό με τη δέσμευση ενός GRE είτε χωριστά, για να ενισχύσει τη μεταγραφή ορισμένων γονιδίων-στόχων [122].

Οι περισσότερες από τις αντιφλεγμονώδεις επιδράσεις των γλυκοκορτικοειδών φαίνεται να προκύπτουν από έναν σημαντικό αρνητικό ρυθμιστικό μηχανισμό που ονομάζεται transrepression, στον οποίο δεσμευμένος με πρόσδεμα GR στρατολογείται στη χρωματίνη επηρεάζοντας μεταγραφικούς παράγοντες δεσμευμένους στο DNA, ιδιαίτερα τον NF-κΒ και τον ενεργοποιητή της πρωτεΐνης-1 (AP-1) [123].

6.2.2 Μη γονιδιωματικές οδοί και δράσεις. Οι ταχείες, μη γονιδιωματικές δράσεις των γλυκοκορτικοειδών μεσολαβούνται μέσω φυσικοχημικών αλληλεπιδράσεων με κυτταροπλασματικό GR ή δεσμευμένο στη μεμβράνη GR. Σε αντίθεση με τις γονιδιωματικές, οι μη γονιδιωματικές επιδράσεις των γλυκοκορτικοειδών δεν απαιτούν πρωτεϊνοσύνθεση. Εκδηλώνονται μέσα σε δευτερόλεπτα έως λεπτά από την ενεργοποίηση του GR με τη συμμετοχή διαφόρων κινασών, όπως η φωσφοϊνοσιτιδική 3-κινάση, η AKT και οι ενεργοποιημένες από μιτογόνο πρωτεϊνικές κινάσες (MAPKs) [124]. Η δέσμευση των γλυκοκορτικοειδών στο GR όχι μόνο ενεργοποιεί τον υποδοχέα, αλλά ελευθερώνει επίσης βοηθητικές πρωτεΐνες που συμμετέχουν σε δευτερογενείς καταρράκτες σηματοδότησης. Έτσι, η ταχεία μη γονιδιωματική σηματοδότηση GR προσθέτει μεγαλύτερη πολυπλοκότητα και ποικιλομορφία στις βιολογικές δράσεις που εξαρτώνται από τα γλυκοκορτικοειδή.

6.2.3 Αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες των γλυκοκορτικοειδών.

6.2.3.1 Αναστολή προφλεγμονωδών γονιδίων. Τα κορτικοστεροειδή έχουν ισχυρό αντιφλεγμονώδες και ανοσοκατασταλτικό αποτέλεσμα καθώς αναστέλλουν τα προφλεγμονώδη γονίδια και προάγουν την έκφραση των αντιφλεγμονωδών πρωτεϊνών. Αυτός είναι ένας βασικός μηχανισμός με τον οποίο βοηθούν στον έλεγχο φλεγμονωδών ασθενειών όπως το άσθμα, η ρευματοειδής αρθρίτιδα και η φλεγμονώδης νόσος του εντέρου. Συγκεκριμένα καταστέλλουν βασικούς μεταγραφικούς παράγοντες που ρυθμίζουν την έκφραση των προφλεγμονωδών γονιδίων όπως ψ του NF-κΒ (Nuclear Factor Kappa B) ο οποίος αποτελεί κεντρικό μεταγραφικό συστατικό στη φλεγμονώδη απόκριση ελέγχοντας την έκφραση πολλών προφλεγμονωδών κυτταροκινών (π.χ. IL-1, IL-6, TNF-α), χημειοκινών και μορίων προσκόλλησης. Η καταστολή του NF-κΒ επιτυγχάνεται μέσω της επαγωγής του IκΒ (αναστολέας του NF-κΒ), που συνδέεται με τον NF-κΒ και τον εμποδίζει να εισέλθει στον πυρήνα [125].

Τα κορτικοστεροειδή επίσης αναστέλλουν την πρωτεΐνη AP-1 (Activator Protein-1) η οποία είναι ένας άλλος σημαντικός μεταγραφικός παράγοντας που προάγει την έκφραση φλεγμονωδών μεσολαβητών. Η αναστολή της AP-1 από τα κορτικοστεροειδή συμβαίνει μέσω

της μείωσης της σύνδεσης της στο DNA [126]. Αναστέλλοντας μεταγραφικούς παράγοντες όπως τον NF-κΒ και το AP-1, τα κορτικοστεροειδή καταστέλλουν τη μεταγραφή μιας ποικιλίας προφλεγμονωδών γονιδίων που εμπλέκονται στη σύνθεση προφλεγμονωδών κυτταροκινών και χημειοκινών, όπως: Ιντερλευκίνη-1 (IL-1), Ιντερλευκίνη-6 (IL-6), παράγοντας νέκρωσης όγκου-άλφα (TNF-α), Ιντερφερόνη-γ (IFN-γ), IL-8, η οποία στρατολογεί τα ουδετερόφιλα, και την MCP-1 (Monocyte Chemoattractant Protein-1) η οποία στρατολογεί μονοκύτταρα.

Τα κορτικοστεροειδή μειώνουν την έκφραση μορίων προσκόλλησης όπως το ICAM-1 (Intercellular Adhesion Molecule-1) και το VCAM-1 (Vascular Cell Adhesion Molecule-1), τα οποία μεσολαβούν στην προσκόλληση των κυττάρων του ανοσοποιητικού στο τοίχωμα των αιμοφόρων αγγείων και στη μετανάστευση σε φλεγμονώδεις ιστούς [127].

6.2.3.2 Καταστολή ένζυμων που εμπλέκονται στη φλεγμονή

Τα κορτικοστεροειδή καταστέλλουν την έκφραση της COX-2, μειώνοντας έτσι την παραγωγή προσταγλανδινών που εμπλέκονται στην παθογένεια της φλεγμονής. Καταστέλλουν το ενζύμο επαγωγή συνθάση του μονοξειδίου του αζώτου (iNOS) εμποδίζοντας έτσι την παραγωγή μονοξειδίου του αζώτου, το οποίο συνιστά έναν ισχυρό φλεγμονώδη μεσολαβητή [128].

6.2.3.3 Επαγωγή αντιφλεγμονωδών γονιδίων

Σε αντίθεση με την ανασταλτική τους δράση στα προφλεγμονώδη γονίδια, τα κορτικοστεροειδή επάγουν την έκφραση και τη μεταγραφή αντιφλεγμονωδών γονιδίων, ενισχύοντας περαιτέρω την κατασταλτική τους δράση στη φλεγμονή. Έτσι επάγουν την σύνθεση Αννεξίνης-1 η οποία αναστέλλει τη φωσφολιπάση A2, εμποδίζοντας τη σύνθεση των προφλεγμονωδών παραγώγων του αραχιδονικού οξέος, όπως οι προσταγλανδίνες και τα λευκοτριένια [129].

Επάγουν την έκφραση του IκΒ (αναστολέας του NF-κΒ) που εμποδίζει τον NF-κΒ να εισέλθει στον πυρήνα και να ενεργοποιήσει προφλεγμονώδη γονίδια [130].

Επάγουν τη σύνθεση της Λιποκορτίνης-1 που επίσης αναστέλλει την προφλεγμονώδη φωσφολιπάση A2 [131].

6.2.3.4 Επιγενετικές τροποποιήσεις

Τα κορτικοστεροειδή μπορούν επίσης να ρυθμίσουν την ακετυλίωση των ιστονών μέσω της αλληλεπίδρασής τους με την αποακετυλάση ιστόνης-2 (HDAC2) προκαλώντας αποακετυλίωση ιστόνης, με αποτέλεσμα η χρωματίνη να γίνεται πιο συμπυκνωμένη και λιγότερο προσβάσιμη σε παράγοντες μεταγραφής όπως ο NF-κΒ. Αυτή η επιγενετική αποσιώπηση των προφλεγμονωδών γονιδίων περιορίζει περαιτέρω την έκφρασή τους [132].

6.2.3.5 Μετα-μεταγραφικές επιδράσεις.

Εκτός από τις επιδράσεις τους στη γονιδιακή μεταγραφή, τα κορτικοστεροειδή μπορούν επίσης να επηρεάσουν τη σταθερότητα του mRNA. Μπορούν να προάγουν την αποικοδόμηση του mRNA προφλεγμονωδών πρωτεϊνών, μειώνοντας περαιτέρω την παραγωγή αυτών των φλεγμονωδών μεσολαβητών στο μετα-μεταγραφικό επίπεδο [133].

6.2.4 Τα κορτικοστεροειδή στη νόσο COVID-19

Με βάση δεδομένα από παλαιότερες έρευνες που είχαν αξιολογήσει την αντιφλεγμονώδη δράση των κορτικοστεροειδών στην αντιμετώπιση του ARDS και οι οποίες είχαν δείξει κάποια θετικά αποτελέσματα, υπήρξε ενδιαφέρον σχετικά με τη δυνατότητα χρήσης των κορτικοστεροειδών στην αντιμετώπιση της σοβαρής νόσου COVID 19. Έτσι αυτά, και λόγω της ευρείας διαθεσιμότητάς τους και της προσιτής τιμής, αποτέλεσαν μία από τις πρώτες θεραπευτικές προσεγγίσεις που μελετήθηκαν για την αντιμετώπιση της καταιγίδας κυτταροκινών στη νόσο COVID-19. Βέβαια, ορισμένα παλαιότερα δεδομένα από τη χρήση τους σε SARS-COV, MERS-COV, γρίπη δεν ήταν ενθαρρυντικά και στα αρχικά στάδια της πανδημίας οι διεθνείς οργανισμοί υγείας (WHO, CDC, NICE κτλ) συνιστούσαν κατά της χρήσης των κορτικοστεροειδών [134], [135].

Στις 16 Ιουνίου 2020, όταν δημοσιεύτηκαν τα προκαταρκτικά αποτελέσματα από την μελέτη RECOVERY προκάλεσαν ιδιαίτερη εντύπωση καθώς φάνηκε σαφές όφελος στην επιβίωση από τη χρήση τους στην COVID-19. Αυτό είχε σαν αποτέλεσμα να συσταθεί από διάφορες ιατρικές ενώσεις στο Ηνωμένο Βασίλειο η χρήση χαμηλής δόση κορτικοστεροειδών από του στόματος

ή ενδοφλέβια (δεξαμεθαζόνη, πρεδνιζολόνη, μεθυλπρεδνιζολόνη ή υδροκορτιζόνη) σε ασθενείς με COVID-19 που χρειάζονται συμπληρωματικό οξυγόνο [136].

Σε αυτήν την ελεγχόμενη, ανοιχτή μελέτη που συνέκρινε μια σειρά από πιθανές θεραπείες σε νοσηλευόμενους ασθενείς με COVID-19, οι ασθενείς τυχαιοποιήθηκαν έτσι ώστε να λάβουν από του στόματος ή ενδοφλέβια δεξαμεθαζόνη (σε δόση 6 mg μία φορά την ημέρα) για έως και 10 ημέρες ή να λάβουν τη συνήθη καθιερωμένη φροντίδα μόνο (SoC).

Το πρωτεύον καταληκτικό σημείο ήταν θνητότητα 28 ημερών. Συνολικά 2104 ασθενείς έλαβαν δεξαμεθαζόνη και 4321 τη συνήθη φροντίδα. Συνολικά, 482 ασθενείς (22,9%) στην ομάδα της δεξαμεθαζόνης και 1110 ασθενείς (25,7%) στην ομάδα της συνήθους φροντίδας απεβίωσαν εντός 28 ημερών μετά την τυχαιοποίηση (λόγος πιθανοτήτων προσαρμοσμένος στην ηλικία, 0,83, 95% διάστημα εμπιστοσύνης [CI], 0,75 έως 0,93 $P < 0,001$). Οι σχετικές και απόλυτες διαφορές μεταξύ των ομάδων στη θνητότητα διέφεραν σημαντικά ανάλογα με το επίπεδο αναπνευστικής υποστήριξης που ελάμβαναν οι ασθενείς τη στιγμή της τυχαιοποίησης.

Στην ομάδα της δεξαμεθαζόνης, η θνητότητα 28 ημερών ήταν χαμηλότερη από αυτή στην ομάδα της καθιερωμένης συνήθους φροντίδας (SoC) μεταξύ των ασθενών που ελάμβαναν επεμβατικό μηχανικό αερισμό (29,3% έναντι 41,4%, λόγος πιθανοτήτων, 0,64, 95% CI, 0,51 έως 0,81) και μεταξύ αυτών που λάμβαναν οξυγόνο χωρίς επεμβατικό μηχανικό αερισμό (23,3% έναντι 26,2%, , 95% CI, 0,72 έως 0,94) αλλά όχι μεταξύ εκείνων που δεν ελάμβαναν κατά τη νοσηλεία τους αναπνευστική υποστήριξη στη τυχαιοποίηση (17,8% έναντι 14,0%, 95% CI, 0,92 έως 1,55) [136].

Στις 2 Σεπτεμβρίου 2020, η μετα-ανάλυση Rapid Evidence Appraisal for COVID-19 (REACT) σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς με COVID-19 έδειξε χαμηλότερη θνητότητα που σχετίζεται με τη χορήγηση κορτικοστεροειδών σε σχέση με τη SOC (OR 0,66) [137].

Άμεσα το Εθνικό Ινστιτούτο Αριστείας Υγείας και Φροντίδας του Ηνωμένου Βασιλείου (NICE) και ο ΠΟΥ δημοσίευσαν οδηγίες που συνιστούσαν την από του στόματος ή ενδοφλέβια χορήγηση 6 mg δεξαμεθαζόνης ή ισοδύναμου κορτικοστεροειδούς για έως και 10 ημέρες σε ασθενείς με σοβαρή ή κρίσιμη νόσο COVID-19.

Λίγους μήνες αργότερα, στις 8 Απριλίου 2021 , η NICE ενημέρωσε τις κατευθυντήριες οδηγίες της της συνιστώντας πλέον χορήγηση κορτικοστεροειδών για όλους τους ασθενείς που χρειάζονται συμπληρωματικό οξυγόνο.

6.3 Η επαγόμενη από ιντερφερόνη-γ πρωτεΐνη 10 (Interferon-γ inducible Protein, IP-10) ή χημειοκίνη CXCL10

Η χημειοκίνη CXCL10 ή Interferon-γ inducible Protein (IP-10), ή διαφορετικά chemokine (C-X-C motif) ligand 10 (CXCL10) ανήκει στην οικογένεια των CXC χημειοκινών. Οι χημειοκίνες αυτές χαρακτηρίζονται από την ύπαρξη δύο διατηρημένων μορίων κυστεΐνης στο αμινο-τελικό άκρο της ώριμης πρωτεΐνης, τα οποία χωρίζονται από ένα και μόνο τυχαίο αμινοξύ [138].

6.3.1 Η δομή του γονιδίου CXCL10

Το ανθρώπινο γονίδιο CXCL10 απομονώθηκε αρχικά το 1985 από τους Luster et al κατά τη θεραπεία μιας κυτταρικής σειράς λεμφώματος (U937) με ανασυνδυασμένη IFN-γ [139].

Το γονίδιο που κωδικοποιεί την χημειοκίνη CXCL10 (IP-10) εντοπίζεται, όπως συμβαίνει με τα γονίδια που κωδικοποιούν τις περισσότερες CXC χημειοκίνες, στο χρωμόσωμα 4 και συγκεκριμένα στη χρωμοσωμική περιοχή 4q21, έναν τόπο που σχετίζεται με μια οξεία λευχαιμία της σειράς των μονοκυττάρων/B-λεμφοκυττάρων όπου εμφανίζεται μετατόπιση του t(4;11)(q21;q23). Το cDNA του CXCL10 έχει ένα ανοιχτό πλαίσιο ανάγνωσης 1173-bp που περιέχει 4 εξόνια και κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη 98-αμινοξέων με μοριακή μάζα 10 kDa. Το κύριο μεταφραστικό προϊόν του γονιδίου CXCL10 είναι μια πρωτεΐνη 12 kDa που περιέχει δύο εσωτερικές διασταυρούμενες δισουλφιδικές γέφυρες [140].

Η ώριμη χημειοκίνη IP-10 αποτελείται από 77 αμινοξέα. Έχει μοριακό βάρος 10 kDa, καθώς τα 21 πρώτα αμινοξέα αποτελούν την αλληλουχία σηματοδότησης, η οποία και αποκόπτεται με τη δράση μίας κατάλληλης σηματοδοτικής πεπτιδάσης [138], [140].

Παρουσιάζει τη χαρακτηριστική δομή των CXC χημειοκινών με ένα σχετικά ανοργάνωτο αμινο-τελικό άκρο, το οποίο ακολουθείται από τρία αντιπαράλληλα β - πτυχωτά φύλλα (β1, β2 και β3) και τοποθετείται έναντι της καρβοξυ-τελικής α - έλικας. Τα δύο ζεύγη των διατηρηθέντων κυστεϊνών της χημειοκίνης σχηματίζουν δύο δισουλφιδικούς δεσμούς, στις θέσεις 9 με 36 και 11 με 53, οι οποίοι είναι απαραίτητοι για το σχηματισμό της λειτουργικής δομής του μορίου. Ένα ιδιαίτερο δομικό χαρακτηριστικό της IP-10 είναι η αποδιάταξη της β2 περιοχής με συνέπεια τη μείωση της απόστασης μεταξύ των β - πτυχωτών φύλλων και της α - έλικας. Αυτό ευθύνεται και για τη δομική ομοιότητα της IP-10 με την οικογένεια των CC χημειοκινών και

ερμηνεύει κατά κάποιον τρόπο, γιατί η IP-10 μπορεί να συνδέεται τόσο επί του κύριου υποδοχέα της, του CXCR3, ως αγωνιστής, όσο και επί ενός υποδοχέα των CC χημειοκινών, του CCR3, ως ανταγωνιστής [141].

Η πρωτεΐνη CXCL10 παρουσιάζει σημαντική ομολογία σε αλληλουχία με μια άλλη οικογένεια πρωτεϊνών που έχουν χημειοτακτικές (παράγοντας αιμοπεταλίων 4, β-θρομβοσφαιρίνη) και μιτογόνες ιδιότητες (πεπτιδίο HI που ενεργοποιεί τον συνδετικό ιστό), οι οποίες σχετίζονται με τη φλεγμονή και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό [142].

Η χημειοκίνη IP-10 φέρει καθορισμένες θέσεις σύνδεσης με τον υποδοχέα CXCR3.

Ο βρόγχος που σχηματίζεται μεταξύ των β1 και β2 φύλλων πιστεύεται ότι εμπλέκεται στην αρχική αγκυροβόληση της IP-10 επί του CXCR3, προσφέροντας μία χαλαρού τύπου σύνδεση. Τα αμινοξέα πριν από την πρώτη κυστεΐνη παίζουν σημαντικό ρόλο στην ενεργοποίηση του υποδοχέα καθορίζοντας την εκλεκτικότητα και τη σταθερότητα της σύνδεσης. Μεταβολή στον αριθμό ή στη σύσταση των αμινοξέων της N-τελικής περιοχής έχει αποτέλεσμα τη μείωση της εξειδίκευσης της χημειοκίνης για αλληλεπίδραση με τον υποδοχέα της με συνέπεια, απώλεια της δράσης της [143].

Επίσης και η ακεραιότητα της α-έλικας στο καρβοξυ- τελικό άκρο της IP-10 φαίνεται να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση της ενεργότητας της χημειοκίνης, καθώς μέσω αυτής η IP-10 αλληλεπιδρά με τις εξωκυττάριες γλυκοζαμινογλυκάνες στην επιφάνεια του στρώματος, προκειμένου να καθηλωθεί επί του κυττάρου - στόχου, και να εκδηλώσει τη δράση της.

6.3.2 Η οδός της κυτταρικής σηματοδότησης CXCL10 / CXCR3

6.3.2.1 Επαγωγή της έκφρασης της IP-10

Η χημειοκίνη IP-10 ανήκει στην οικογένεια των φλεγμονωδών χημειοκινών, κάτι που σημαίνει πως η χημειοκίνη αυτή δεν βρίσκεται διαρκώς στην κυκλοφορία του αίματος, όπως συμβαίνει με τις ομοιοστατικές χημειοκίνες, αλλά εκφράζεται και εκκρίνεται μετά από συγκεκριμένα ερεθίσματα, και ειδικότερα μετά από κατάλληλη διέγερση των κυττάρων από μία προ-φλεγμονώδη κυτταροκίνη και συγκεκριμένα την ιντερφερόνη-γ (IFN-γ) [138].

Η είσοδος παθογόνων οργανισμών (κυρίως ιών) ή η παρουσία μιτογόνων στον ξενιστή, έχει ως αποτέλεσμα την άμεση ή έμμεση (επαγόμενη από άλλες κυτταροκίνες όπως IL-2, TNF, IL-12, IL-15) παραγωγή της IFN-γ από διεγερμένα T – λεμφοκύτταρα και την απελευθέρωση της στην κυκλοφορία του αίματος. Η ελεύθερη ιντερφερόνη-γ συνδέεται επί κατάλληλου διμερούς υποδοχέα στην επιφάνεια των κυττάρων-στόχων, με αποτέλεσμα την επαναδιάταξη των αλυσίδων αυτού και τον ολιγομερισμό του. Ο ολιγομερισμός του υποδοχέα πυροδοτεί την φωσφορυλίωση των κινασών Jak1 και Jak2 (Janus κινάσες), που βρίσκονται συνδεδεμένες με τις α- και β- αλυσίδες του αντίστοιχα, και την επακόλουθη ενεργοποίησή τους. Αποτέλεσμα της ενεργοποίησης αυτής είναι η φωσφορυλίωση του υποδοχέα της IFN-γ σε συγκεκριμένα κατάλοιπα τυροσίνης, τα οποία με τη σειρά τους αποτελούν σημεία αλληλεπίδρασης με τον μεταγραφικό ρυθμιστή STAT1 (Signal Transducer and Activator of Transcription). Η STAT1, αφού συνδεθεί μέσω της SH2 περιοχής της στον υποδοχέα, φωσφορυλιώνεται από τις Jak κινάσες σε συγκεκριμένα κατάλοιπα τυροσίνης και στη συνέχεια αποδεσμεύεται. Κατόπιν, η ελεύθερη φωσφορυλιωμένη STAT1 διμερίζεται και το διμερές μετακινείται στον πυρήνα του κυττάρου, όπου, σε συνεργασία με άλλους μεταγραφικούς παράγοντες, συνδέεται στο γονίδιο IP-10 πυροδοτώντας τη μεταγραφή του [140], [144].

Αποτέλεσμα των γεγονότων αυτών είναι παραγωγή και η έκκριση της IP-10 από μία ποικιλία κυττάρων, όπως λευκοκύτταρα (μονοκύτταρα, ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα, ηωσινόφιλα), τα ενδοθηλιακά και τα επιθηλιακά κύτταρα, τα κύτταρα του στρώματος (ινοβλάστες) και τα κερατινοκύτταρα.

6.3.2.2 Ενεργοποίηση του υποδοχέα CXCR3 και των καθοδικών οδών μεταγωγής σήματος.

Η εκδήλωση της βιολογική δράση της ώριμης χημειοκίνης IP-10 προϋποθέτει αρχικά την αλληλεπίδραση με τον υποδοχέα της, τον CXCR3 και την ενεργοποίησή του. Για το λόγο αυτό, μετά την έκκριση της, η χημειοκίνη αλληλεπιδρά με κύτταρα τα οποία στην επιφάνειά τους εκφράζουν τον CXCR3 υποδοχέα, όπως τα ενεργοποιημένα T- και B- λεμφοκύτταρα, τα κύτταρα - φονείς (NK), τα μακροφάγα (μικρογλοιακά κύτταρα στο κεντρικό νευρικό σύστημα) και τα δενδριτικά κύτταρα [145].

Στην επιφάνεια των κυττάρων – στόχων η IP-10 δεσμεύεται πρώτα στα αρνητικά φορτισμένα μόρια των πρωτεογλυκανών της θειικής ηπαρίνης στην επιφάνεια του εξωκυττάριου στρώματος. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την ενίσχυση της τοπικής συγκέντρωσης της IP-10 ώστε στη συνέχεια να επιτευχθεί η σύνδεση και η ενεργοποίηση του υποδοχέα της CXCR3 σε μια διαδικασία δύο σταδίων.

Κατά το πρώτο στάδιο, ο N- τελικός βρόχος του μορίου της IP-10 αναγνωρίζει το N - τελικό άκρο του CXCR3. Η αναγνώριση αυτή προκαλεί την περιέλιξη της χημειοκίνης και την αλληλεπίδραση του 30s βρόχου με το N- τελικό άκρο του υποδοχέα, οπότε και εξασφαλίζεται μία «χαλαρού τύπου» σύνδεση.

Κατά το δεύτερο στάδιο, το N- τελικό άκρο της χημειοκίνης αλληλεπιδρά με αυτό του CXCR3, με αποτέλεσμα την επαγωγή αλλαγών στη διαμόρφωση των διαμεμβρανικών α-ελίκων του υποδοχέα, οι οποίες συμπλησιάζουν, οδηγώντας τελικά στην ενεργοποίηση του υποδοχέα [146].

Ο διεγερμένος υποδοχέας ενεργοποιεί κατόπιν τη συνδεδεμένη σε αυτόν G - πρωτεΐνη, προκαλώντας την αντικατάσταση του GDP της α - υπομονάδας της από GTP. Η ενεργοποιημένη G – πρωτεΐνη διασπάται στις υπομονάδες Gα και Gβγ, ενεργοποιώντας ένα καταρράκτη διαφόρων οδών κυτταρικής σηματοδότησης, οι οποίες επάγουν τη χημειοταξία, την μετανάστευση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, την ενδοκυττάρια ροή ιόντων

6.3.3 Οι δράσεις της χημειοκίνης CXCL10

Η χημειοκίνη CXCL10 είναι ένα πλειοτροπικό μόριο που ασκεί τις επιδράσεις της καθώς εμπλέκεται σε μία πληθώρα βιολογικών διαδικασιών τόσο σε φυσιολογικές όσο και παθολογικές καταστάσεις. Τέτοιες φυσιολογικές καταστάσεις είναι η επαγωγή της χημειοτακτικής δραστηριότητας των κυττάρων CXCR3+, η στρατολόγηση των λεμφοκυττάρων, η εγκατάσταση της φλεγμονής, η ρύθμιση της ανάπτυξης και του πολλαπλασιασμού των κυττάρων η επαγωγή της απόπτωσης και η αναστολή της αγγειογένεσης. Παθολογικές καταστάσεις που εμπλέκεται, περιλαμβάνουν διαταραχές του ανοσοποιητικού συστήματος, όπως διάφορα αυτοάνοσα νοσήματα, πολλές ιϊκές και βακτηριακές λοιμώξεις, αλλά και καρκίνους [146].

Η CXCL10, όπως αναφέρθηκε, ασκεί τις βιολογικές της επιδράσεις δεσμευόμενη στον CXCR3, έναν διαμεμβρανικό υποδοχέα συζευγμένο με πρωτεΐνη G με παρακρινικό ή αυτοκρινικό τρόπο. Η δράση του CXCL10 εξαρτάται κυρίως από την καρβοξυ-τελική περιοχή του CXCR3, η οποία είναι απαραίτητη για την εσωτερίκευση του CXCR3, τη χημειοταξία και την ενδοκυτταρική μεταφορά των ιόντων του ασβεστίου που προκαλείται από τον συνδέτη CXCL10 [147].

6.3.3.1 Ρύθμιση της χημειοταξίας των κυττάρων CXCR3

Μία από τις σημαντικότερες δράσεις της IP-10 είναι η ρύθμιση και η επαγωγή της χημειοταξίας επί πολλών τύπων κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος, τα οποία εκφράζουν τον υποδοχέα CXCR3, συμπεριλαμβανομένων των ενεργοποιημένων T- και B- λεμφοκυττάρων, των μακροφάγων, των δενδριτικών κυττάρων και των NK κυττάρων, σε περιοχές φλεγμονής και λοιμώξεων [138].

Και οι τρεις προσδέτες (συνδέτες) του υποδοχέα CXCR3 (CXCL9, CXCL10 και CXCL11) έχει αποδειχθεί ότι προκαλούν χημειοταξία σε διαφορετικούς κυτταρικούς τύπους του ανοσοποιητικού συστήματος. Το μόριο της CXCL10 εξασκεί χημειοτακτικές επιδράσεις στα θετικά στον υποδοχέα CXCR3 κύτταρα, συμπεριλαμβανομένων των μακροφάγων (κύτταρα μικρογλοίας στο ΚΝΣ), δενδριτικά κύτταρα, κύτταρα NK και ενεργοποιημένα T λεμφοκύτταρα (CD4+ Th κύτταρα, CD8+ Tc κύτταρα) προς φλεγμονώδεις, μολυσμένες και/ή νεοπλασματικές περιοχές εξασκώντας ρυθμιστικό ρόλο τόσο στην έμφυτη όσο και την προσαρμοστική ανοσία [148], [149].

Από τα παραπάνω κύτταρα, τα βοηθητικά T λεμφοκύτταρα τύπου 1 (CD4+ Th1), είναι υπεύθυνα για την παραγωγή διαφόρων κυτταροκινών, όπως της IL-2, της λεμφοτοξίνης-α και της IFN-γ. Τα κύτταρα CD4+ Th υποδιαιρούνται σε δύο διαφορετικούς τύπους, γνωστούς ως τύπου 1 Th (Th1) και τύπου 2 Th (Th2). Τα κύτταρα Th1 παράγουν κυτταροκίνες, όπως IL-2, IFN-γ και λεμφοτοξίνη-α, προκαλούν την ενεργοποίηση των μακροφάγων και τη διαδικασία οψωνοποίησης και κατά συνέπεια την ενεργοποίηση των μακροφάγων, τη διέγερση της παραγωγής αντισωμάτων και τελικά κυτταροτοξικότητα [150].

Αντίθετα, τα κύτταρα Th2 θεωρούνται ότι παίζουν ρυθμιστικό και όχι προστατευτικό ρόλο, καθώς οι κυτταροκίνες που παράγονται από αυτά τα κύτταρα (δηλαδή, IL-4 και IL-13) αναστέλλουν την παραγωγή των Th1 κυτταροκινών και την ενεργοποίηση των μακροφάγων. Το γεγονός ότι τα κύτταρα Th1 παράγουν IFN- γ , η οποία διεγείρει την παραγωγή CXCL10 (IP-10) από διάφορους τύπους κυττάρων (ουδετερόφιλα, ηωσινόφιλα, μονοκύτταρα, ενδοθηλιακά και επιθηλιακά κύτταρα και κύτταρα του στρώματος), επιτρέπει στο CXCL10 με τη σειρά του να προσελκύει και να στρατολογεί Th1 κύτταρα τα οποία εκφράζουν τον υποδοχέα της CXCR3. Αυτό υποδεικνύει την ύπαρξη ενός βρόχου θετικής ανάδρασης (positive feedback loop) μεταξύ των κυττάρων Th1 όπου, τα ίδια τα Th1 κύτταρα που παράγουν την IFN- γ , στρατολογούνται από το προϊόν επαγωγής της, την CXCL10 [138].

6.3.3.2 Ρύθμιση της κυτταρικής ανάπτυξης και πολλαπλασιασμού. Η CXCL10 φαίνεται ότι εξασκεί διπλή επίδραση στην κυτταρική ανάπτυξη [341]. Η αυξητική ή κατασταλτική επίδραση, επί της κυτταρικής ανάπτυξης και του πολλαπλασιασμού, της CXCL10 φαίνεται να εξαρτάται από τον κυτταρικό τύπο και από τον υπότυπο του υποδοχέα του CXCR3. Τρεις παραλλαγές ματίσματος CXCR3 έχουν αναφερθεί: CXCR3-A, CXCR3-B και CXCR3-alt, οι οποίες εκφράζονται διαφορετικά σε διάφορους τύπους κυττάρων, με αποτέλεσμα αποκλίνουσες επιδράσεις στον πολλαπλασιασμό όταν συνδέονται με τον προσδέτη του CXCL10 [151].

Η CXCL10 συνεντοπίζεται με έναν δείκτη κυτταρικού πολλαπλασιασμού, την κυτοκερατίνη 17 (K17) σε κύτταρα όγκου. Οι ενισχυτικές επιδράσεις στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων εξαρτώνται από τον κυτταρικό κύκλο [152].

Η κύρια ισόμορφη, CXCR3-A δρα ενισχυτικά επί του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Βρίσκεται στους περισσότερους τύπους κυττάρων (βρογχικά επιθηλιακά κύτταρα, αστροκύτταρα, κύτταρα γλοιώματος, κύτταρα μικρογλοίας). καθώς και σε άλλα. Κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη 368 αμινοξέων και συνδέεται με το Gαί για να ενεργοποιήσει τα μονοπάτια σηματοδότησης ERK1/2, p38/MAPK, JNK και PI3-κινάσης/Akt προκαλώντας στη συνέχεια ενδοκυτταρική εισροή ασβεστίου, σύνθεση DNA και κυτταρικό πολλαπλασιασμό ή χημειοταξία [153], [154].

Δυστυχώς, οι μελέτες σχετικά με τις αλληλεπιδράσεις του CXCL10 και του CXCR3-A σε λοιμώδεις νόσους δεν έχουν μελετηθεί αρκετά.

Η ισομορφή (υπότυπος) CXCR3-B ρυθμίζει την κατασταλτική επί του κυτταρικού πολλαπλασιασμού λειτουργία του CXCL10 κωδικοποιώντας μια μεγαλύτερη πρωτεΐνη 416 αμινοξέων, που συνδέεται με Gas και ενεργοποιεί την αδενυλική κυκλάση προκαλώντας αναστολή τόσο του πολλαπλασιασμού όσο και της μετανάστευσης των ενδοθηλιακών κυττάρων [155]. Αυτός ο υπότυπος υποδοχέα δεν προκαλεί χημειοταξία. Τέτοιοι τύποι κυττάρων έχουν βρεθεί στον καρκίνο του ενδομητρίου, στο γλοιοβλάστωμα, στον καρκίνο του μαστού και στον καρκίνο του παχέος εντέρου [156], [157]. Η μετανάστευση και προσέλκυση των CXCR3+ T-λεμφοκυττάρων, σε περιοχές φλεγμονής ή νεοπλασματικές εστίες μέσω της δράσης της CXCL10 και των χημειοκινών CXCL9 συμβάλλει επίσης στην άμυνα κατά των εστιών καρκίνου. Ο μηχανισμός με τον οποίο δρα ο CXCR3-B στο πλαίσιο των λοιμωδών νοσημάτων είναι ασαφής και οι περισσότερες παρατηρήσεις προέρχονται από το πεδίο της έρευνας για τον καρκίνο.

Η παραλλαγή CXCR3-B είναι ένας κοινός υποδοχέας και για τις τέσσερις, κατασταλτικές χημειοκίνες της αγγειογένεσης (angiostasis), (CXCL4, CXCL9, CXCL10 και CXCL11), κάτι που επέτρεψε την καλύτερη κατανόηση του ρόλου των χημειοκινών CXC στη ρύθμιση της φλεγμονής, της αναστολής της αγγειογένεσης και του πολλαπλασιασμού των ενδοθηλιακών κυττάρων [158].

6.3.3.3 Επαγωγή απόπτωσης

Η CXCL10 προκαλεί απόπτωση κάτω από διάφορες συνθήκες [341]. Έχει φανεί ότι προκαλεί απόπτωση τόσο σε περιπτώσεις λοιμωδών νόσων όσο και σε νεοπλασματικές ασθένειες. Νευρωνική απόπτωση με συνέπεια άνοια προκαλείται από υπερέκφραση του CXCL10 στην εγκεφαλίτιδα από τον ιό της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας σε πιθήκους μέσω ενεργοποίησης της κασπάσης-3 και της αύξησης της πρόσληψης Ca^{2+} από τα μιτοχόνδρια, και ενεργοποίησης της κασπάσης-9 (εκκινητής). Η κασπάση-9 ενεργοποιεί διαδοχικά τον τελικό δραστικό παράγοντα κασπάσης-3, προκαλώντας τελικά απόπτωση [159]. Ο TNF-α, ο οποίος

αλληλεπιδρά με τον υποδοχέα του, TNFR1 και μειώνει την έκφραση του CXCR3 καθώς και την ενδοκυττάρια μετακίνηση του ασβεστίου που προκαλείται από τη CXCL10, αποτρέπει την ενεργοποίηση της κασπάσης-3 [160]. Η CXCL10 φαίνεται ότι αυξάνει επίσης τον αποπτωτικό ρυθμό των καρκινικών κυττάρων στο καρκίνωμα του τραχήλου της μήτρας που σχετίζεται με τον HPV [161]. Μπορεί επίσης να εμπλέκεται στην απόπτωση κατά την ανάπτυξη του νευρικού συστήματος και στο πολλαπλούν μυέλωμα. Ωστόσο, ο ακριβής μηχανισμός δεν είναι ακόμη κατανοητός, αν και η CXCL10 των νευρώνων φάνηκε ότι μεσολαβεί στη στρατολόγηση και την υποδοχή των νευρογλοιακών κυττάρων κατά τη διάρκεια της εμβρυογένεσης σε ένα *in vitro* μοντέλο καλλιεργημένων νευρώνων του φλοιού [162].

Οι παράδοξες επιδράσεις του υποδοχέα CXCR3 στην κυτταρική ανάπτυξη μετά από αλληλεπίδραση με τον αντίστοιχο προσδέτη CXCL10 φαίνεται ότι εξαρτώνται από τους υπότυπους αυτού. Η αναλογία CXCR3B προς CXCR3A mRNA σε διάφορες κυτταρικές σειρές έχει φανεί ότι καθορίζει την εκλεκτικότητα της CXCL10 για κυτταρικό πολλαπλασιασμό ή απόπτωση. Η CXCL10 προκάλεσε επιλεκτικά απόπτωση σε ανθρώπινα ενδοθηλιακά κύτταρα ομφαλικής φλέβας (Human umbilical vein endothelial cells -HUVECs) χωρίς να επιδρά στην κατάσταση της απόπτωσης σε ινοβλάστες ή κύτταρα ανθρώπινου μελανώματος-A375, καθώς στα HUVECs παρατηρείται κυριαρχία του CXCR3B, του ανασταλτικού υποδοχέα [163].

6.3.3.4 Ρύθμιση της αναστολής της αγγειογένεσης

Η χημειοκίνη IP-10 έχει την ικανότητα να καταστέλλει τη διαδικασία της αγγειογένεσης. [341]. Ανήκει στην υπο-ομάδα των ERL-αρνητικών χημειοκινών, αυτών δηλαδή από τις οποίες απουσιάζει από το N-τελικό άκρο του μορίου τους αλληλουχία των τριών αμινοξέων Glu-Leu-Arg (ERL). Οι ERL (-) χημειοκίνες χαρακτηρίζονται ως αντι-αγγειογενετικές χημειοκίνες και συμμετέχουν στην ρύθμιση της αγγειογένεσης κατά την αποκατάσταση της βλάβης των ιστών. Η αντι-αγγειογενετική δράση της χημειοκίνης CXCL10 εκδηλώνεται μετά από αλληλεπίδραση της χημειοκίνης με τον υποδοχέα CXCR3-B. Ο υποδοχέας CXCR3-B αποτελεί προϊόν εναλλακτικού ματίσματος του γονιδίου που κωδικοποιεί τον CXCR3, ενώ, πέραν της CXCL10, και οι χημειοκίνες CXCL9, CXCL11 και CXCL4 αποτελούν προσδέτες του υποδοχέα αυτού και

εμφανίζουν ισχυρή αντι-αγγειογενετική δράση. Αν και ο μηχανισμός με τον οποίο επιτυγχάνεται η παρεμπόδιση της αγγειογένεσης δεν είναι πλήρως γνωστός, φαίνεται ότι πραγματοποιείται μέσω της πρωτεΐνης Gas με την οποία είναι συνδεδεμένος ο υποδοχέας CXCR3-B, η οποία οδηγεί σε ενεργοποίηση της αδενυλικής κυκλάσης. Αποτέλεσμα αυτού είναι η επαγωγή της έκφρασης αντι-αγγειογενετικών παραγόντων και αναστολή του πολλαπλασιασμού και της ανάπτυξης των ενδοθηλιακών κυττάρων τόσο σε ιστικούς τραυματισμούς όσο και σε νεοπλασματικούς ιστούς, προκειμένου να αποφευχθεί η υπέρμετρη αγγειογένεση.

Οι χημειοκίνες CXC μπορεί να έχουν διπλές επιδράσεις στην αγγειογένεση, ανάλογα με την παρουσία ή την απουσία του μοτίβου Glu-Leu-Arg (ELR). Η αρνητική σε ELR CXCL10 είναι μια ανασταλτική της αγγειογένεσης, χημειοκίνη. Τα αυξημένα επίπεδα της CXCL10 αναστέλλουν την αγγειογένεση σε ασθενείς με σοβαρή ελονοσία σε συνδυασμό με τα μειωμένα επίπεδα αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGF) και αυξητικού παράγοντα που προέρχεται από αιμοπετάλια (PDGF). Η χημειοκίνη CXCL10 έχει χρησιμοποιηθεί ως αναστολέας της αγγειογένεσης στη γονιδιακή θεραπεία για τη θεραπεία του σχετιζόμενου με τον HPV καρκινώματος του τραχήλου της μήτρας σε μοντέλα ποντικών και έχει αποδειχθεί ότι αναστέλλει την ανάπτυξη του. Η CXCL10 ανταγωνίζεται τη δράση των αυξητικού παράγοντα

των ινοβλαστών (bFGF), καταστέλλοντας έτσι την αγγειογένεση που προκαλείται από τον bFGF σε προχωρημένους καρκίνους του ενδομητρίου της μήτρας [157].

Έτσι ως ELR-αρνητική χημειοκίνη CXC, η CXCL10 ασκεί σημαντικές αντινεοπλασματικές επιδράσεις εξαιτίας των ανασταλτικών επί της αγγειογένεσης λειτουργιών της [164].

Σε όγκους του μαστού με θετικούς υποδοχείς οιστρογόνων (ER+), η CXCL10 έχει βρεθεί ότι αναστέλλει τα επίπεδα του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGF) με αποτέλεσμα τη μείωση του νεοπλασματικού φορτίου [158].

6.3.4 Ο ρόλος της χημειοκίνης CXCL10 (IP-10) σε λοιμώδη νοσήματα

6.3.4.1 Η CXCL10 σε βακτηριακές λοιμώξεις

Η CXCL10 έχει αποδειχθεί ότι παίζει ρόλο σε διάφορες βακτηριακές λοιμώξεις όπως από το *ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού*, το *μυκόπλασμα της πνευμονίας*. Η αύξηση των επιπέδων CXCL10 φαίνεται ότι σχετίζεται με τη σοβαρότητα της νόσου σε περιπτώσεις ασθενών με νόσο των λεγεωναριών ή φυματίωση (TB). Η αντιμικροβιακή θεραπεία μείωσε σημαντικά τα επίπεδα CXCL10 σε μοντέλο πνευμονίας από *Mycoplasma* σε ποντικούς [138].

Στη φυματίωση (TB), ένα σημαντικά υψηλό επίπεδο CXCL10, όπως και η απαμινάση της αδενοσίνης (ADA), είναι ενδεικτικό οξείας νόσου και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως κατάλληλος εναλλακτικός ή επιπλέον ανοσολογικός δείκτης για την διάγνωση [165].

Κατά την πορεία των λοιμώξεων από *χλαμύδια*, τα συμβάντα σηματοδότησης που προκαλούνται από την IFN μέσω του συνδέτη CXCL10 σχετίζονται με την εξαρτώμενη από το MyD88 οδό όπως έχει βρεθεί σε μελέτες σε μακροφάγα και κύτταρα ινοβλαστών που έχουν μολυνθεί *ex vivo* [166]. Σε άλλες περιπτώσεις, η μειωμένη παραγωγή CXCL10 οδηγεί σε ευαισθησία σε λοίμωξη από *Legionella pneumophila* [167].

Τα επίπεδα της CXCL10 αυξήθηκαν σημαντικά στο πλάσμα και στους προσβεβλημένους ιστούς των νεφρών στη λεπτοσπείρωση [168].

6.3.4.2 Η CXCL10 (IP-10) σε μυκητιασικές λοιμώξεις

Όσον αφορά το ρόλο της CXCL10 σε μυκητιασικές λοιμώξεις, (αν και οι μελέτες είναι λιγότερες), φαίνεται ότι σε αυτές παρεμποδίζεται η έκφραση του CXCL10 στα ανθρώπινα κύτταρα. Η μειωμένη παραγωγή CXCL10 θεωρείται ότι συμβάλλει στην παθογένεση της δερματικής καντιντίασης που προκαλείται από *Candida albicans* ενώ στην περίπτωση λοιμώξεων από *Pneumocystis carinii* και *Cryptococcus neoformans*

στους εγκεφάλους ανοσοποιημένων ποντικών, η CXCL10 φαίνεται να ασκεί προστατευτική επίδραση [138].

6.3.4.3 Η CXCL10 σε λοιμώξεις από πρωτόζωα

Ιδιαίτερο ενδιαφέρουν παρουσιάζουν τα ευρήματα από τις μελέτες σχετικά με το ρόλο της CXCL10 σε λοιμώξεις από πρωτόζωα.

Τα επίπεδα CXCL10 είναι ανάλογα της σοβαρότητας σε περιπτώσεις παρασιτικών ασθενειών. Σε ασθενείς με κρυπτοσποριδίωση που σχετίζεται με το AIDS, τα αυξημένα επίπεδα CXCL10 του βλεννογόνου συσχετίζονται με το παρασιτικό φορτίο σε βιοψίες νήστιδας. Έχει φανεί ότι η CXCL10 συμβάλλει θετικά στην εξάλειψη της κρυπτοσποριδίωσης παρουσία ανοσοενεργών κυττάρων και αντίστροφα, σε ασθενείς με AIDS. Η CXCL10 έχει φανεί ότι αποτελεί έναν νέο σημαντικό και αξιόπιστο βιοδείκτη της σοβαρότητας σε περιπτώσεις ανθρώπινης αφρικανικής τρυπανοσωμίας (HAT) που προκαλείται από μόλυνση με υποείδη *Trypanosoma brucei* (*T. Brucei*), σε ελονοσία από *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*) και *Plasmodium vivax* καθώς και σε λοιμώξεις από *Toxoplasma gondii* και *Leishmania* [138].

Φαίνεται ότι οι περισσότερες από τις παρασιτικές ασθένειες του ΚΝΣ επιφέρουν σημαντικές αλλαγές στην έκφραση του CXCL10 στο περιφερικό αίμα του μολυσμένου ξενιστή. Το 2003, η CXCL10 αναφέρθηκε για πρώτη φορά ως παράγοντας προστασίας από τον ξενιστή στην πειραματική ελονοσία (ECM) σε ποντίκια. Πιο πρόσφατα, η CXCL10 ως βιοδείκτης ορού και

ENY φάνηκε ότι σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο θανατηφόρου εγκεφαλικής ελονοσίας (CM) που προκαλείται από *P. falciparum* σε ανθρώπους [138], [169].

6.3.4.4 Η CXCL10 σε ιογενείς λοιμώξεις

Παρατηρείται μεταβαλλόμενη έκφραση της CXCL10 σε ιογενείς λοιμώξεις [341].

Η CXCL10 πιστεύεται ότι συμμετέχει στην παθογένεση των λοιμώξεων από τον ρινοϊό, τον αναπνευστικό συγκυτιακό ιό (RSV) τον ιό Coxsackie, τον ιό της ηπατίτιδας Β και C, τον Έμπολα, τον δάγκειο πυρετό (DENV, και λοιμώξεις από τον ιό της λοιμώδους αναιμίας των ιπποειδών (EIAV). Η CXCL10 μπορεί είτε να προστατεύει από τη λοίμωξη είτε να την ευοδώνει, ανάλογα με την ανοσολογική κατάσταση του ξενιστή και το γενετικό του υπόβαθρο [170].

Η CXCL10 έχει βρεθεί ότι δρα προστατευτικά σε περιπτώσεις σοβαρού οξέως αναπνευστικού συνδρόμου (SARS) που προκαλείται από τον SARS-CoV [171].

Αντίθετα, η CXCL10 έχει φανεί ότι διευκολύνει τη λοίμωξη από τον ιό του απλού έρπητα τύπου 2 (HSV-2) και τη λοίμωξη από τον HIV διεγείροντας την αναπαραγωγή του ιού σε μακροφάγα και λεμφοκύτταρα [172], [173].

Η υπερβολική έκφραση του γονιδίου και η παραγωγή CXCL10 μπορεί να προηγείται ή να ακολουθεί την εμφάνιση των συμπτωμάτων σε ορισμένα ιογενή νοσήματα. Για παράδειγμα, η αυξημένη έκφραση του CXCL10 εμφανίζεται πριν από την ανάπτυξη κλινικών συμπτωμάτων, όπως παρατηρήθηκε κατά τη διάρκεια της λοίμωξης από τον ιό HIV, σε ιστό εγκεφάλου νεογνών ποντικών που έχουν μολυνθεί με λοιμογόνους (Fr98) πολυτροπικούς ρετροϊούς ποντικού, ενώ σε ασθενείς με SARS, αύξηση των επιπέδων CXCL10 σημειώθηκε για τουλάχιστον δύο εβδομάδες μετά την έναρξη της νόσου [174], [175].

Τα επίπεδα CXCL10 συσχετίστηκαν θετικά με την έκταση της βλάβης των οργάνων και το φορτίο των παθογόνων. Τόσο σε ασθενείς με λοίμωξη μόνο από HCV όσο και σε ασθενείς με ταυτόχρονη λοίμωξη HCV/HIV, τα αυξημένα επίπεδα CXCL10 συσχετίστηκαν θετικά με ηπατική βλάβη (όπως υποδεικνύεται από τις υψηλές βαθμολογίες ηπατικής ίνωσης και τα επίπεδα ηπατικών ενζύμων). Η συλλοίμωξη με τον ιό HIV είχε σαν αποτέλεσμα μεγαλύτερη αύξηση CXCL10 από ότι σε αυτούς μόνο με AIDS [176].

Μείωση των επιπέδων CXCL10 στο πλάσμα έχει επιτευχθεί με χορήγηση κορτικοστεροειδων στη νόσο από τον ιό SARS-COV. Η αντιρετροϊκή θεραπεία μειώνει επίσης τα επίπεδα CXCL10 στο πλάσμα στη λοίμωξη από τον ιό HIV υποδεικνύοντας το σημαντικό ρόλο της CXCL10 στην παθογένεση των ασθενειών [138].

6.3.4.5 Η IP-10 (CXCL10) στη COVID-19

Σε πολλές φλεγμονώδεις ασθένειες καθώς και στην πανδημία COVID, η ακραία υπερπαραγωγή κυτταροκινών, όπως η IP-10, οδηγεί σε μια ανοσολογική φλεγμονώδη απόκριση τύπου «καταιγίδας κυτταροκινών». Τα αυξημένα επίπεδα IP-10 φαίνεται ότι συσχετίζονται με την επαγωγή συστηματικής φλεγμονής, πρόκληση ιστικής βλάβης και εμφάνιση σύνδρομου οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας (ARDS) [177].

Τα αυξημένα επίπεδα IP-10 μπορούν να μειώσουν τον πολλαπλασιασμό των Τ-κυττάρων οδηγώντας σε υψηλά επίπεδα απόπτωσης και λεμφοπενία, η οποία σχετίζεται άμεσα με κακή πρόγνωση. Αν και δεν είναι πλήρως κατανοητοί και αποσαφηνισμένοι όλοι οι μηχανισμοί που εμπλέκονται στην καταιγίδα κυτταροκινών στη νόσο COVID-19, πιστεύεται ότι σοβαρές παθοφυσιολογικές συνέπειες μπορεί να προκύψουν από ακραίες αυξήσεις της IP-10 και έτσι η στοχευμένη αναστολή της έχει προταθεί ως πιθανή θεραπεία κατά της καταιγίδας κυτταροκινών [178].

Αυξημένα επίπεδα CXCL10 αναφέρθηκαν σε ασθενείς με SARS ή αναπνευστικό σύνδρομο της Μέσης Ανατολής (MERS) ήδη 2-3 ημέρες μετά την προσβολή από τον ιό

Αυτή η αύξηση βρέθηκε ότι σχετίζεται με μείωση του πολλαπλασιασμού των μυελοειδών προγονικών κυττάρων, προκαλώντας λευκοπενία, όπως παρατηρείται στη σοβαρή νόσο COVID-19. Επιπλέον, διαπιστώθηκε ότι η CXCL10 πυροδοτεί απόπτωση Τ-λεμφοκυττάρων και λεμφοπενία, σε ασθενείς με SARS-CoV-, MERS- και SARS-CoV-2, οδηγώντας σε δυσλειτουργία των Τ λεμφοκυττάρων και επιδείνωση της κλινικής έκβασης [179], [180].

Προηγούμενες μελέτες που χρησιμοποιούν ex vivo μοσχεύματα ανθρώπινου πνευμονικού ιστού έδειξαν ότι ο εμβολιασμός κατά SARS-CoV και SARS-CoV-2 προκάλεσε την έκφραση διαφόρων μεσολαβητών, ιδιαίτερα της CXCL10 [181].

Παρόμοια με άλλες αναπνευστικές ασθένειες, τα υψηλά επίπεδα CXCL10 σε ασθενείς με COVID-19 έδειξαν ισχυρή συσχέτιση με τη σοβαρότητα της νόσου [386]. Τα επίπεδα CXCL10 αυξήθηκαν σε ασθενείς με λοίμωξη από SARS-CoV-2, ειδικά σε αυτούς με σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας (ARDS) [182].

Είναι αξιοσημείωτο ότι και στους τρεις κορωνοϊούς (SARS-CoV, MERS-CoV και SARS-CoV-2), η CXCL10 αναγνωρίστηκε ως καθοριστικός παράγοντας στην παθογένεση των πνευμονικών βλαβών. Η CXCL10 συσχετίστηκε με βλάβη των πνευμόνων και την ενεργοποίηση της οδού σηματοδότησης του υποδοχέα TLR4 [183].

Αν και δεν είναι χημειοκίνη ELR, η CXCL10 έχει φανεί ότι ευοδώνει τη διήθηση των ιστών από τα ουδετερόφιλα στους πνεύμονες, προκαλώντας ανατροφοδότηση με περαιτέρω παραγωγή αυτής της χημειοκίνης, σε συνδυασμό με την απελευθέρωση οξειδωτικών συστατικών από τα ουδετερόφιλα. Αυτό επιδεινώνει τη φλεγμονή του πνευμονικού παρεγχύματος και συντελεί στην εμφάνιση ARDS [184].

Τα κορτικοστεροειδή, που χρησιμοποιούνται στη λοίμωξη COVID-19 ως αντιφλεγμονώδεις παράγοντες, βρέθηκε ότι μειώνουν τα επίπεδα πολλαπλών χημειοκινών, συμπεριλαμβανομένης της CXCL10, καθώς και τη διέγερση των σηματοδοτικών οδών NF-κΒ και του ενεργοποιητή πρωτεΐνης-1 (AP-1) [185].

Κατά συνέπεια, προτάθηκε η χρήση της CXCL10 ως ανεξάρτητου προγνωστικού παράγοντα για την εξέλιξη της COVID-19, καθώς αυτή συσχετίστηκε με αυξημένη βαρύτητα νόσου και ARDS σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς [186].

Αυτό υποστηρίχθηκε περαιτέρω από ευρήματα σε ασθενείς με COVID-19 που απαιτούσαν εισαγωγή στη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας (ΜΕΘ), και οι οποίοι εμφάνισαν υψηλότερα επίπεδα CXCL10 από τους ασθενείς με ήπια λοίμωξη [187].

Επιπλέον, αναφέρθηκε υψηλότερη θνητότητα σε ασθενείς με COVID-19 και ραγδαία αύξηση στα επίπεδα CXCL10 σε σύγκριση με σοβαρά και ηπιώς πάσχοντες ασθενείς με COVID-19 [188].

Παρομοίως οι συμπτωματικοί ασθενείς με COVID-19 εμφάνιζαν υψηλότερα επίπεδα CXCL10 σε σύγκριση με αυτούς που ανάρρωναν. Είναι ενδιαφέρον ότι τα επίπεδα CXCL10 αναφέρθηκε ότι μειώθηκαν σημαντικά κατά τη βελτίωση της κλινικής κατάστασης σε νοσηλευόμενους ασθενείς με COVID-19. Κατά συνέπεια, από αρκετές μελέτες φάνηκε ότι η CXCL10 είναι εξαιρετικός προγνωστικός βιοδείκτη της έκβασης των ασθενών με COVID-19.

Η CXCL10 αναγνωρίστηκε επίσης ότι είναι ένας πιθανός βιοδείκτης για την πρόβλεψη της δυσλειτουργίας της αριστερής κοιλίας σε παιδιά με πολυσυστηματικό φλεγμονώδες σύνδρομο (MIS-C) στη νόσο COVID-19 [189].

Αν και οι διάφορες μελέτες συμφωνούν στο ότι υπάρχει μια ισχυρή συσχέτιση μεταξύ της αυξημένης σοβαρότητας του COVID-19 και της υπερέκφρασης IP-10, τα όρια και το εύρος για διαφορετικές φάσεις της νόσου δεν είναι σαφώς καθορισμένα.

Η πλειονότητα αυτών συμφωνεί στο ότι μια τιμή > 1000 pg/mL στον ορό μπορεί να βοηθήσει στη διάκριση των ασθενών σε σοβαρή και κρίσιμη κατάσταση από τους υπόλοιπους [190].

Τα επίπεδα IP-10 μπορούν επίσης να συμβάλλουν στην πρόβλεψη της εμφάνισης ανεπιθύμητων συμπτωμάτων και της ταχύτητας του χρόνου ανάρρωσης σε νοσηλευόμενους ασθενείς. Αυξημένα επίπεδα IP-10 κατά τη νοσηλεία ασθενών συσχετίστηκαν με περισσότερα συμπτώματα σε σχέση με αυτούς με χαμηλότερα ($7520,77$ έναντι $3451,44$ pg/mL) και 7 ημέρες μετά ($2893,33$ έναντι $737,64$ pg/mL)[191].

Η διάρκεια της παραμονής των επιπέδων IP-10 πάνω από 1000 pg/mL συσχετίστηκε με μικρότερη επιβίωση καθώς και αυξημένη πιθανότητα θανάτου [192].

Τα ιδιαίτερα αυξημένα επίπεδα IP-10 φαίνεται ότι είναι ένας προγνωστικός παράγοντας κακής ανοσολογικής απόκρισης και ανάπτυξης σοβαρής συμπτωματολογίας σε ασθενείς με COVID-19.

Αυτά μπορεί επίσης να είναι ενδεικτικά και άλλων καταστάσεων που μπορεί να συμβούν σε αυτούς τους ασθενείς όπως η σήψη και η πιθανή ανάπτυξη πολυοργανικής ανεπάρκειας σε σοβαρές περιπτώσεις COVID-19.

Έτσι η IP-10 θα μπορούσε να αποτελέσει ένα χρήσιμο δείκτη της σοβαρότητας και της εξέλιξης της ασθένειας και κατά συνέπεια της πρόγνωσης της.

6.3.5 Θεραπευτικές εφαρμογές της CXCL10

Καθώς έχουν αναγνωριστεί οι πλειοτροπικές επιδράσεις της IP-10 και ο ρόλος της ως προφλεγμονώδης χημειοκίνη οι αλλαγές στο mRNA CXCL10 και στην έκφραση της πρωτεΐνης αυτής έχουν συσχετιστεί με την παθογένεση διαφόρων λοιμωδών νοσημάτων, χρόνιων φλεγμονωδών και αυτοάνοσων νοσημάτων καθώς και με τον καρκίνο.

Ο άξονας CXCL10–CXCR3 αντιπροσωπεύει έναν πιθανό φαρμακολογικό στόχο για τις ως άνω νοσολογικές οντότητες, ωστόσο οι τρέχουσες μελέτες σχετικά με τις θεραπευτικές παρεμβάσεις στην οδό της CXCL10 είναι λίγες.

Τα μοριακά χαρακτηριστικά του μορίου της CXCL10 το καθιστούν πιθανό υποψήφιο για θεραπείες ενάντια στις παθολογικές συνέπειες αυτών των ασθενειών.

Απαιτείται περαιτέρω έρευνα για την κατανόηση των οδών σηματοδότησης που ρυθμίζουν τη CXCL10 και άλλους συνδέτες του υποδοχέα CXCR3, με στόχο την ανάπτυξη μιας κατηγορίας νέων παρεμβάσεων κατά λοιμωδών και μη νοσημάτων που διαμεσολαβούνται από τη χημειοκίνη αυτή [138].

6.4 Η πρωτεΐνη TRAIL

6.4.1 Γενικά

Στα μέσα της δεκαετίας του 1990, παρουσιάστηκε την ίδια σχετικά περίοδο, από δύο ανεξάρτητες ερευνητικές ομάδες ένα νέο μόριο πρωτεΐνης που ανήκει στην ευρύτερη οικογένεια του παράγοντα νέκρωσης όγκου (TNF), και προσδιορίστηκε ότι λειτουργεί ως συνδέτης που προκαλεί απόπτωση που σχετίζεται με τον παράγοντα νέκρωσης όγκου (Tumor Necrosis Factor-Related Apoptosis Inducing Ligand -TRAIL) και τον Apo-2L, αντίστοιχα [193].

Οι μελέτες σε ανθρώπινο cDNA για ομολογία αλληλουχίας με τον TNF και τον συνδέτη Fas αποκάλυψαν την ύπαρξη ενός γονιδίου που περιέχει 1769 ζεύγη βάσεων με ένα ανοιχτό πλαίσιο ανάγνωσης το οποίο κωδικοποιεί μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη 281 αμινοξέων τύπου II με μια C-τερματική εξωκυτταρική περιοχή, μια εσωτερική υδρόφιλη περιοχή και μοριακή μάζα υπολογίστηκε σε 32,5 kDa.

Η ανοσοαποτύπωση Northern blot έδειξε ότι η έκφραση mRNA TRAIL/Apo2L παρατηρείται σε μεγάλη ποικιλία ανθρώπινων ιστών, όπως του εμβρυϊκού πνεύμονα, του ήπατος, του θύμου, των ωοθηκών, του λεπτού και παχέος εντέρου, των λεμφοκυττάρων του περιφερικού αίματος, της καρδιάς, του πλακούντα, των σκελετικών μυών και των νεφρών.

Από τις αρχικές μελέτες φάνηκε ότι, όπως ο TNFα και το FasL, έτσι και η TRAIL/Apo2L προκάλεσε απόπτωση σε ορισμένες μετασχηματισμένες κυτταρικές σειρές αλλά όχι σε άλλες. Σε αντίθεση όμως με τους TNFα και FasL, το μόριο της πρωτεΐνης TRAIL δεν προκάλεσε απόπτωση σε φυσιολογικά κύτταρα. Μεταγενέστερες μελέτες έδειξαν ότι το μόριο της TRAIL μπορεί να εξασκεί και άλλες, αποπτωτικού τύπου επιδράσεις σε υγιή κύτταρα [194].

Το μόριο TRAIL έχει επίσης τη δυνατότητα να προκαλέσει μη αποπτωτικό προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο (μέσω αυτοφαγίας, νέκρωσης, κλπ.) εάν ανασταλεί ο αποπτωτικός μηχανισμός [195].

6.4.2 Δομή και λειτουργία της πρωτεΐνης TRAIL

Το γονίδιο για το μόριο της πρωτεΐνης TRAIL βρίσκεται στο χρωμόσωμα 3 και αποτελείται από πέντε εξόνια με 1,2 kbp με περιοχή προαγωγέα. Το πρωτεϊνικό προϊόν TRAIL είναι μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη τύπου II με ομολογία αλληλουχίας της C-τερματικής εξωκυτταρικής περιοχής της με CD95L (FasL) και TNF. Περιέχει μια μικρή ενδοκυτταροπλασματική περιοχή, μια διαμεμβρανική περιοχή και μια μεγάλη εξωκυτταρική περιοχή. Η εξωκυτταρική περιοχή περιέχει δύο αντιπαράλληλα β - πτυχωμένα φύλλα που σχηματίζουν ένα β - σάντουιτς καθώς και έναν βρόχο εισαγωγής N-τερματικού 12 έως 16 αμινοξέων. Τα μονομερή TRAIL αλληλεπιδρούν για να σχηματίσουν ένα ομοτριμερές το οποίο μπορεί να αλληλεπιδράσει με τους υποδοχείς TRAIL μέσω των τριών πανομοιότυπων σχισμών που σχηματίζονται μεταξύ γειτονικών υπομονάδων. Το υπόλειμμα κυστεΐνης-230 στην περιοχή δέσμευσης υποδοχέα είναι κρίσιμο για τη σταθερότητα του ομοτριμερούς και τη δέσμευση του υποδοχέα και την αποπτωτική δραστηριότητα [196].

Η εξωκυτταρική περιοχή της TRAIL μπορεί να αποκοπεί πρωτεολυτικά από την κυτταρική επιφάνεια. Η ασπαρτική πρωτεΐνάση καθεψίνη Ε βρέθηκε ότι επάγει μέσω πρωτεόλυσης την απελευθέρωση μιας διαλυτής μορφής μορίου TRAIL, η λειτουργία του οποίου συσχετίστηκε σε αυτή τη μελέτη με εξασθενημένη ανάπτυξη όγκου και μετάσταση. Ωστόσο, η ικανότητα πρόκλησης απόπτωσης της διαλυτής μορφής της TRAIL είναι σημαντικά χαμηλότερη από αυτή της συνδεδεμένης με τη μεμβράνη μορφής [197]. .

Η διαλυτή μορφή είναι μη τοξική για τα κύτταρα και υπάρχουν μικρές ποσότητες από αυτή στην κυκλοφορία (~100 pg/mL) σε υγιείς ενήλικες [198].

Το ανθρώπινο μόριο TRAIL αλληλεπιδρά με δύο αγωνιστικούς υποδοχείς TRAIL, τον TRAIL-R1 (Death Receptor-DR4, που κωδικοποιείται από το γονίδιο TNFRSF10A) και τον TRAIL-R2 (Death Receptor-DR5), που κωδικοποιείται από το TNFRSF10B), οι οποίοι περιέχουν ένα μοτίβο διατηρημένης περιοχής θανάτου (death domain) που αλληλεπιδρά με πολλαπλούς σηματοδοτικούς παράγοντες, στρατολογώντας μόρια απόπτωσης και επιφέροντας με αυτό τον τρόπο τον κυτταρικό θάνατο [199].

Το μόριο της πρωτεΐνης TRAIL συνδέεται επίσης με δύο άλλους μεμβρανικούς υποδοχείς που δεν μεταβιβάζουν αποπτωτικά σήματα, και οι οποίοι επομένως θεωρείται ότι δρουν ως υποδοχείς «δόλωμα», τον TRAIL-R3 (DcR1, κωδικοποιείται από TNFRSF10C) και τον TRAIL-R4 (DcR2, κωδικοποιείται από TNFRSF10D) με συνέπεια την εξουδετέρωση της δράσης του [200]. Επιπλέον, το μόριο της πρωτεΐνης TRAIL συνδέεται με χαμηλότερη συγγένεια με έναν διαλυτό υποδοχέα που ονομάζεται οστεοπροτεγερίνη (OPG). Η OPG είναι ένα εκκρινόμενο ομόλογο υποδοχέα TNF που αναστέλλει τους οστεοκλάστες αυξάνοντας έτσι την οστική πυκνότητα, και επιπλέον δεσμεύει το TRAIL αναστέλλοντας *in vitro* την απόπτωση που προκαλείται από το TRAIL. Ο ρόλος της οστεοπροτεγερίνης στη ρύθμιση του TRAIL *in vivo* δεν είναι γνωστός [201]. Η πρωτεΐνη TRAIL όπως αναφέρθηκε εκφράζεται σε διάφορους τύπους κυττάρων. Οι υποδοχείς θανάτου επίσης (DRs), DR4 και DR5, υπερεκφράζονται σε πολλούς τύπους καρκινικών κυττάρων. Το TRAIL είναι ικανό να φονεύει καρκινικά κύτταρα χωρίς να προκαλεί γενικευμένες ανεπιθύμητες ενέργειες.

Αν και εκφράζεται σε ένα ευρύ φάσμα ιστών και τύπων κυττάρων, αυτό συμβαίνει κυρίως στην κυτταρική επιφάνεια των ανοσοκυττάρων, όπου παίζει κρίσιμο ρόλο στην πρόκληση απόπτωσης των κυττάρων-στόχων [202].

Τα φυσικά κύτταρα φονείς (NK) και τα κυτταροτοξικά Τ κύτταρα (CTLs) προκαλούν απόπτωση των κυττάρων-στόχων χρησιμοποιώντας είτε διαλυτούς παράγοντες, μέσω εξωκυττάρωσης κυτταρολυτικών κοκκίων που περιέχουν περφορίνη και γρανζύμη, είτε με εμπλοκή προσδεμάτων υποδοχέα θανάτου, όπως FasL και TRAIL. Το μόριο TRAIL στα κύτταρα NK και Τ περιγράφηκε ότι παίζει κρίσιμο ρόλο για τον έλεγχο των ιικών λοιμώξεων και την ανοσολογική επιτήρηση του όγκου [203].

Εκτός από τη σημασία της στην κάθαρση των παθογόνων, η απόπτωση εμπλέκεται επίσης στην λειτουργία των Τ-κυττάρων, συμμετέχοντας επομένως στη διατήρηση της περιφερειακής ανοχής μέσω μιας διαδικασίας που ονομάζεται κυτταρικός θάνατος που προκαλείται από την ενεργοποίηση (activation-induced cell death -AICD). Αν και η οδός FasL/Fas είναι ο κύριος παράγοντας που συμβάλλει στην AICD/απόπτωση σε Τ κύτταρα της περιφέρειας, το TRAIL

μπορεί επίσης να εμπλέκεται στο AICD των CD8+ T κυττάρων και υποομάδων T-βοηθητικών κυττάρων [204].

Τα δεδομένα σχετικά με τον ρόλο του TRAIL στην αρνητική επιλογή των θυμοκυττάρων είναι σχετικά ασαφή.

Σε αντίθεση με το TNF και το FasL, το TRAIL περιγράφηκε ως ένας πολλά υποσχόμενος παράγοντας για τη θεραπεία του καρκίνου, λόγω της ικανότητάς του να μεσολαβεί στην απόπτωση σε μεταλλαγμένα καρκινικά κύτταρα, χωρίς ή ελάχιστη επίδραση στα φυσιολογικά κύτταρα και με βάση το γεγονός ότι το TRAIL- R1 και TRAIL-R2 συχνά υπερεκφράζονται στα καρκινικά κύτταρα [205], [206], [207].

Παρά τα ενθαρρυντικά αποτελέσματα πρώιμης ασφάλειας, αρκετές μελέτες με αγωνιστές TRAIL ή TRAIL-R (TRAs) αποδείχθηκαν απογοητευτικές, παρουσιάζοντας μικρή αντικαρκινική αποτελεσματικότητα [208].

Η απόπτωση είναι μια βασική λειτουργία της διατήρησης της κυτταρικής ομοιόστασης και εμπλέκεται σε μια σειρά από ασθένειες, συμπεριλαμβανομένης αυτής του καρκίνου. Η ογκογένεση σχετίζεται με ελαττώματα στην διαδικασία της απόπτωσης.

Υπάρχουν δύο κύριες αποπτωτικές οδοί: η ενδογενής, ή μιτοχονδριακή οδός που επάγεται συνήθως από τη χημειοθεραπεία και η εξωγενής οδός που μεσολαβείται από εξωγενείς διαδικασίες κυτταρικού θανάτου, όπως η επαγόμενη από το TRAIL απόπτωση [209]. Ωστόσο, αυτές οι δύο οδοί συνήθως συνδέονται μεταξύ τους μέσω κοινών καθοδικών αλληλεπιδράσεων [210]. Η εξωγενής οδός ενεργοποιείται από εξωκυτταρικούς προαποπτωτικούς διεγέρτες που συνδέονται με υποδοχείς της κυτταρικής επιφάνειας [211].

Υπάρχουν, όπως αναφέρθηκε, πέντε ομόλογοι ανθρώπινοι υποδοχείς για το TRAIL: Οι υποδοχείς DR4 (TRAIL-R1) [και DR5 (TRAIL-R2) που περιέχουν την πλήρους μήκους περιοχή ενδοκυτταρικού θανάτου (Death Domain - DD), ο υποδοχέας - δόλωμα DcR1 (ή TRAIL-R3), που στερείται ενδοκυτταρικής περιοχής. Ο υποδοχέας DcR2 (TRAIL-R4), που περιέχει ένα περικομμένο DD καθώς και ο διαλυτός υποδοχέας οστεοπροτεγερίνης (OPG) [212].

Στη θερμοκρασία του σώματος, η συγγένεια του μορίου TRAIL είναι μεγαλύτερη για τον TRAIL-R2, από ότι για τον TRAIL-R1, τους υποδοχείς δόλωμα και τέλος την οστεοπροτεγερίνη. Τόσο ο

TRAIL-R1 όσο και ο TRAIL-R2 διαδίδουν προ-αποπτωτικά σήματα όταν αλληλεπιδρούν είτε με διαλυτή είτε με δεσμευμένη στη μεμβράνη TRAIL. Μεταξύ αυτών των υποδοχέων, μόνο η δέσμευση του μορίου TRAIL στο DR4 ή το DR5 - λόγω της ενσωματωμένης ενδοκυτταρικής δομής τους μπορεί να επάγει αποπτωτική δράση. Το DR5 έχει την υψηλότερη συγγένεια για το μόριο TRAIL [213].

Ωστόσο, η δέσμευση στον TRAIL/DcR1 δεν μπορεί ενεργοποιήσει τις οδούς σηματοδότησης, επειδή το DcR1 στερείται ενδοκυτταρικής περιοχής, ενώ το DcR2 και η OPG δρουν ως υποδοχείς προσδέτη NF-κΒ, οι οποίοι επάγουν την NF-κΒ ενεργοποίηση αλλά όχι την απόπτωση μέσω TRAIL. Ο NFκΒ μπορεί να έχει ανοσοενεργοποιητικά, προ-αποπτωτικά και αντι-αποπτωτικά αποτελέσματα. Για παράδειγμα, το NF-κΒ αυξάνει την έκφραση του TRAIL-R1 και του R2 (προ-αποπτωτικό), καθώς και των κυτταρικών, ανασταλτικών της απόπτωσης πρωτεϊνών FLICE (cFLIP) και του Bcl-XL (και τα δύο αντι-αποπτωτικά). Το Bcl-XL συνδέεται με τις προ-αποπτωτικές πρωτεΐνες BH-3, όπως τις Bak και Bax, εμποδίζοντας τη δραστηριότητά τους. Τα μόρια cFLIP αναστέλλουν την ενεργοποίηση της κασπάσης 8. Μετά τη δέσμευση DR4 ή DR5 με τριμερικό TRAIL, η ενδοκυτταρική δομή DD των DRs μεταβάλλεται και λαμβάνει χώρα η δέσμευση με πρωτεΐνη στην περιοχή θανάτου που σχετίζεται με Fas (FADD). Στη συνέχεια, το FADD συνδέεται με την προκασπάση-8/-10 στην ενεργή περιοχή θανάτου (Death Effector Domain) στο N-άκρο, σχηματίζοντας την DR4/DR5-FADD-προκασπάση-8/-10, η οποία ονομάζεται σύμπλεγμα σηματοδότησης που επάγει θάνατο (DISC). Ο ολιγομερισμός και η αυτοκατάλυση της προκασπάσης-8 οδηγεί στην ενεργοποίηση της κασπάσης-8 η οποία, ακολούθως, πυροδοτεί διάσπαση των ενεργών κασπασών -3/-7/-9 για πρόκληση απόπτωσης. Επιπλέον, η κασπάση-8 μπορεί να προάγει την απελευθέρωση του κυτοχρώματος c, προκαλώντας ενδογενή απόπτωση μέσω του μιτοχονδριακής οδού σε κύτταρα τύπου II [214]. Η ικανότητα της ειδικής για τον όγκο δράσης του TRAIL δηλαδή να επάγει την απόπτωση των καρκινικών κυττάρων με την διατήρηση των φυσιολογικών κυττάρων, ανέδειξε το TRAIL ως έναν πιθανό θεραπευτικό στόχο. Ωστόσο, όπως αναφέρθηκε, οι κλινικές μελέτες δεν έχουν δείξει έως πρόσφατα επαρκή θεραπευτικά αποτελέσματα. Η ανασυνδυασμένη μορφή

αντισωμάτων TRAIL και anti-TRAIL-R, καθώς και ο συνδυασμός τους με άλλα συστατικά, δεν έχουν επιτύχει την αναμενόμενη αποτελεσματικότητα [215].

6.4.3 Αποπτωτικές ιδιότητες TRAIL/TRAIL-R και επιδράσεις στην ανοσία

Έχει φανεί ότι η πρωτεΐνη TRAIL εκφράζεται κατά προτίμηση στα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος κατά τη διάρκεια της φλεγμονής. Αυτό υποδηλώνει την κεντρική σημασία της στην ανοσία και την ανοσορύθμιση. Στην πραγματικότητα, η έκφραση της πρωτεΐνης TRAIL εξαρτάται από την ενεργοποίηση των ανοσοκυττάρων. Για παράδειγμα, η διέγερση παραγωγής IFN τύπου I (IFN α και IFN β) οδηγεί σε υπερέκφραση του μορίου TRAIL σε ουδετερόφιλα, μονοκύτταρα, μακροφάγα, δενδριτικά κύτταρα (DCs), πλασματοκυτταροειδή δενδριτικά κύτταρα (pDCs), κύτταρα NK και T και B λεμφοκύτταρα.

Οι επαγωγείς της IFN τύπου I, όπως οι ιοί και οι υποδοχείς τύπου Toll (TLRs), πυροδοτούν επίσης την έκφραση TRAIL σε DC, pDC, NK κύτταρα και B-λεμφοκύτταρα ενώ η IFN γ την προάγει στα ουδετερόφιλα και NK κύτταρα. [216], [217]. Είναι σημαντικό ότι σε αντίθεση με τα ανενεργά, τα ενεργοποιημένα ανοσοκύτταρα, όπως τα T κύτταρα NK ή CD8+, συχνά συνεκφράζουν εκτός από το TRAIL τους ανταγωνιστικούς υποδοχείς TRAIL-R3 ή TRAIL-R4, καθώς και τον αναστολέα της κασπάσης-8 c-FLIP, για να προστατευθούν από την απόπτωση που προκαλείται από το TRAIL [218].

Αντίθετα, οι αγωνιστικοί υποδοχείς TRAIL υπερεκφράζονται σε μολυσμένα κύτταρα (ή ορισμένους τύπους κυττάρων που ενεργοποιούνται από τη λοίμωξη), καθιστώντας έτσι αυτά τα κύτταρα επιρρεπή σε απόπτωση που προκαλείται από κυτταροτοξικά κύτταρα που εκφράζουν TRAIL [219].

6.4.4 TRAIL και όγκοι – μεταμοσχεύσεις. Η έκφραση TRAIL σε κύτταρα του ανοσοποιητικού όχι μόνο συμβάλλει στον περιορισμό των λοιμώξεων, αλλά παίζει επίσης κρίσιμο ρόλο στον έλεγχο της ανάπτυξης των όγκων. Τα μονοκύτταρα που εκφράζουν TRAIL μετά την ενεργοποίηση της IFN γ εμφάνισαν ογκοκτόνο δράση in vitro [220].

Σε καρκινικά κύτταρα ανθεκτικά στο FasL, το TRAIL μεσολάβησε στην απόπτωση των κυττάρων μελανώματος μέσω των CD4+ T κυττάρων [221].

Τα κύτταρα NK εμπλέκονται στην αναγνώριση και την επακόλουθη εξάλειψη των μεταλλαγμένων κυττάρων. Το δεσμευμένο στη μεμβράνη TRAIL είναι ένα κεντρικό ενεργό μόριο που χρησιμοποιείται από τα κύτταρα NK για την καταστολή της ανάπτυξης του όγκου και για την προστασία από τις μεταστάσεις όπως έχει δειχθεί σε μελέτες [222].

Η προκαλούμενη από TRAIL απόπτωση που εκφράζεται σε κύτταρα NK έχει συσχετιστεί με την απόρριψη μοσχεύματος [223].

Η ανοσοκατασταλτική θεραπεία με χορήγηση κυκλοσπορίνης A μετά από μεταμόσχευση νεφρού ενδεχομένως να εμποδίζει σε κάποιο βαθμό την απόρριψη του μοσχεύματος μειώνοντας την έκφραση του TRAIL και του FasL στα NK κύτταρα. Ωστόσο, το TRAIL στα ηπατικά NK κύτταρα μπορεί επίσης να έχει προστατευτικό ρόλο κατά τη μεταμόσχευση ήπατος, μέσω της εξάλειψης των ενεργοποιημένων T κυττάρων [224].

6.4.5 TRAIL και λοιμώξεις από ιούς. Η απόπτωση που προκαλείται από τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος μέσω του μορίου TRAIL, φαίνεται ότι αποτελεί έναν σημαντικό μηχανισμό για την εξάλειψη των μολυσμένων από παθογόνα κύτταρων.

Έτσι, στην περίπτωση ποντικών με έλλειψη TRAIL και λοίμωξη από *streptococcus pneumoniae*, η μειωμένη έκφραση του TRAIL σε ουδετερόφιλα έχει φανεί ότι εμπλέκεται στην απόπτωση κυψελιδικών μακροφάγων από το παθογόνο αυτό με αποτέλεσμα τη μειωμένη κάθαρση του [225].

Κύτταρα μολυσμένα από ιούς, εξουδετερώνονται από διάφορα κύτταρα που χρησιμοποιούν την πρωτεΐνη TRAIL για την εξουδετέρωση των μολυσμένων αυτών κυττάρων. Έτσι CD8+ T-λεμφοκύτταρα χρησιμοποιούν το TRAIL για την εξάλειψη των μολυσμένων, από τον ιό της γρίπης, κυττάρων του κυψελιδικού επιθηλίου καθώς επίσης και για την εξάλειψη της λοίμωξης από τον ιό του Δυτικού Νείλου (WNV) από νευρώνες στο κεντρικό νευρικό σύστημα [226]. Επιπλέον, η θανάτωση, με τη μεσολάβηση TRAIL, από κύτταρα NK είναι καθοριστικής σημασίας για τον περιορισμό in vivo της αντιγραφής του ιού της εγκεφαλομυοκαρδίτιδας και

για τον έλεγχο των κυττάρων ηπατώματος που πολλαπλασιάζονται παρουσία ιού ηπατίτιδας C [227].

Είναι αξιοσημείωτο ότι παθογόνα όπως οι κυτταρομεγαλοϊοί (CMVs) φάνηκε ότι αναστέλλουν την έκφραση του υποδοχέα TRAIL σε μολυσμένα κύτταρα ως μηχανισμό αποφυγής της θανάτωσης από τα NK κύτταρα, πράγμα που υπογραμμίζει τη σημασία της επαγόμενης από TRAIL κυτταροτοξικότητας στην αντική άμυνα [228].

Οι οδοί σηματοδότησης TRAIL είναι πολύπλοκες με τουλάχιστον έξι γνωστούς καταρράκτες που συγκλίνουν και αποκλίνουν και πιθανώς συμβάλλουν σε ένα συνολικό ενδοκυτταρικό προ-αποπτωτικό ή αντι-αποπτωτικό περιβάλλον. Αυτή η πολυπλοκότητα δίνει τη δυνατότητα για ρύθμιση τόσο από τον ξενιστή όσο και για χειραγώγηση από τον ιό. Το εάν ένας ιός έχει εξελιχθεί έτσι ώστε να πυροδοτεί ή όχι αποπτωτικές διαδικασίες στα κύτταρα του ξενιστή μπορεί να εξαρτάται από το εάν η μέγιστη ιική αντιγραφή και διασπορά εξαρτάται από τον κυτταρικό θάνατο ή τη διατήρηση των κυττάρων. Η πολλαπλότητα των καταρρακτών σηματοδότησης παρέχει στον ξενιστή τη δυνατότητα να υπερνικήσει τις ιογενείς προσπάθειες χειραγώγησης.

Υπάρχουν πολλά παραδείγματα ιογενούς χειραγώγησης αυτού του συστήματος σηματοδότησης. Ο ιός του ανθρώπινου έρπητα 8 (HHV8) και ο ιός της μολυσματικής τερμίνθου (MCV) προκαλούν και οι δύο, παραγωγή κωδικοποιούμενων από τον ιό vFLIPs από το μολυσμένο κύτταρο [229]. Η έκφραση των ιικών (viral) vFLIP (FLICE proteins) σε κύτταρα Jurkat τα καθιστά ανθεκτικά στο TRAIL. Τα vFLIPS το επιτυγχάνουν αυτό τόσο με την αναστολή της κασπάσης 8 όσο και με την ενεργοποίηση του NF-κΒ [230]. Οι ερπητοϊοί, ευλογοϊοί και ο αδενοϊός κωδικοποιούν μια ιική έκδοση του Bcl-2, μιας κυτταρικής πρωτεΐνης που αναστέλλει την απελευθέρωση του κυτοχρώματος c από τα μιτοχόνδρια [231].

Ορισμένοι ιοί μεταβάλλουν την έκφραση των υποδοχέων TRAIL, του NFκΒ ή του κυτταρικού FLIP. Υπάρχουν πολλά παραδείγματα ιικής χειραγώγησης των οδών NFκΒ.

Αρκετοί ιοί, συμπεριλαμβανομένων των HIV, HTLV-1, HHV8 και EBV, χρησιμοποιούν το NFκΒ για να διεγείρουν τη δική τους αναπαραγωγή [231]. Το γεγονός ότι πολλοί ιοί έχουν εξελίξει τρόπους για να εκμεταλλευτούν ή να αποφύγουν την επαγόμενη από το TRAIL απόπτωση

υποδηλώνει ότι το φονικό αποτέλεσμα του TRAIL έχει ασκήσει επιλεκτική πίεση στους ιούς, κάτι που τονίζει τη σπουδαιότητα του TRAIL στην ανοσολογική απόκριση του ξενιστή στις ιογενείς λοιμώξεις [232].

Έχουν προκύψει αντικρουόμενα στοιχεία σχετικά με τον ρόλο του TRAIL και την ανοσολογική απόκριση έναντι του ιού της γρίπης.

Σε περιπτώσεις λοίμωξης από τον αναπνευστικό συγκυτιακό ιό (RSV) φαίνεται να υπάρχουν ενεργοί αντι-αποπτωτικοί μηχανισμοί που επάγονται από τον ιό, στο επιθήλιο των αεραγωγών των πνευμόνων. Τα κύτταρα παρουσιάζουν ελάχιστες κυτταροπαθητικές αλλοιώσεις [233].

Ωστόσο, αρκετές κυτταρικές σειρές συμπεριλαμβανομένων μικρών κυττάρων αεραγωγών, τραχείας και μεγάλων βρόγχων, έδειξαν αυξημένη έκφραση του TRAIL και των υποδοχέων του, DR4 και DR5 σε ένα μοντέλο *in vitro* λοίμωξης από RSV.

Επιπλέον, το διαλυτό TRAIL που απελευθερώνεται από τα λευκά αιμοσφαίρια ήταν αυξημένο στο βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα σε ασθενείς με αναπνευστική ανεπάρκεια που σχετίζεται με RSV, υποδηλώνοντας ότι το TRAIL συμβάλλει στην ιστική βλάβη του επιθηλίου και τη νόσο που προκαλείται από τον RSV με παρόμοιο τρόπο όπως και στην γρίπη A [234].

6.4.6 TRAIL και κορωνοϊοί – SARS-CoV-2

Σε περιπτώσεις λοίμωξης της αναπνευστικής οδού από κορωνοϊούς (CoV), τα επίπεδα TRAIL, αλλά και λιγότερο τα επίπεδα FasL, έχει φανεί ότι είναι σημαντικά αυξημένα [235]. Σε περιπτώσεις λοίμωξης από SARS-CoV που συνοδεύεται από σοβαρή βλάβη στο ανώτερο και στο κατώτερο αναπνευστικό τα κύτταρα του αναπνευστικού ανταποκρίνονται προκαλώντας ισχυρή επαγωγή της παραγωγής TRAIL, η οποία όπως έχει προταθεί φαίνεται να συσχετίζεται με την αυξημένη έκταση των πνευμονικών διηθημάτων (κυτταρικά) που παρατηρούνται σε ασθενείς με SARS-CoV [443]. Είναι ενδιαφέρον ότι η προσβολή από τον ιό SARS-CoV οδηγεί τα κύτταρα σε απόπτωση μέσω μίας PKR - μεσολαβούμενης οδού αλλά ανεξάρτητης από την eIF2α οδό κάτι που μπορεί -όπως φαίνεται στη λοίμωξη από τον ιό της γρίπης να υποδεικνύει μια, επαγόμενη από PKR με αυτοκρινή/παρακρινή τρόπο, ενεργοποίηση της απόπτωσης [236].

Επίσης η λοίμωξη από τον ιό MERS-CoV, που προκαλεί βαριά πνευμονία και αναπνευστική ανεπάρκεια, έχει αποδειχθεί ότι επάγει ισχυρά κυτταρικό θάνατο εντός 24 ωρών από την έναρξη της λοίμωξης, ανεξάρτητα από τους τίτλους του ιού που παράγονται από τα μολυσμένα κύτταρα. Ωστόσο, η έκφραση IFN τύπου I είναι ισχυρά μειωμένη στον MERS-CoV σε σύγκριση με τους απλούς εποχικούς κορωνοϊούς CoV σε μοντέλα λοίμωξης in vitro, σε ανθρώπινα μονοκύτταρα, μακροφάγα, και ινοβλάστες ανθρώπινου πνεύμονα, γεγονός το οποίο μπορεί επίσης να μειώσει την επαγωγή του TRAIL. Ο ακριβής μηχανισμός με τον οποίο επάγει ο ιός MERS-CoV τον κυτταρικό θάνατο μελετάται. [237].

Σε ασθενείς με COVID-19 και χαμηλά αρχικά επίπεδα TRAIL χρειάστηκε συχνότερα μηχανικός αερισμός. Τα επίπεδα ήταν εξαιρετικά χαμηλά σε όλους τους ασθενείς λίγο πριν από το θάνατο. Ακόμη και μεταξύ των επιζώντων του COVID-19, τα επίπεδα μειώθηκαν καθώς αυξήθηκε η παραμονή στο νοσοκομείο. Θεωρείται ότι τα χαμηλά επίπεδα TRAIL σχετίζονται με την αδυναμία κάθαρσης του ιού και τη βαρύτητα της νόσου [238].

Η μεγάλη σημασία του TRAIL στην παθογένεση των ιογενών και λιγότερο των βακτηριακών λοιμώξεων έχει δημιουργήσει ελπίδες σχετικά με τη χρήση του ως προγνωστικού δείκτη σε πλατφόρμες μέτρησης πολλαπλών βιοδεικτών με σκοπό την αξιολόγηση κινδύνου, τον προσδιορισμό της βαρύτητας και την εκτίμηση τυχόν πιθανών θεραπευτικών χειρισμών. Επίσης έχει δείξει μεγαλύτερη ειδικότητα σε σχέση με άλλους βιοδείκτες όπως η IP-10 και η CRP στη διάκριση ιογενών από βακτηριακές λοιμώξεις καθιστώντας το TRAIL ως πιθανό κατάλληλο βιοδείκτη για το σκοπό αυτό.

Η αύξηση του, σε ασθενείς με ιογενείς λοιμώξεις, μπορεί να σχετίζεται με τον ρόλο του TRAIL στον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο, ως μηχανισμό καταστροφής των μολυσμένων κυττάρων για την αναστολή της εξάπλωσης του ιού [239],[240].

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

«Πρώιμη πρόγνωση δυσμενούς έκβασης σε ασθενείς με νόσο COVID-19»

Η πρωτεΐνη 10 (IP-10) που επάγεται από την ιντερφερόνη-γ για την πρώιμη πρόγνωση του κινδύνου για σοβαρή αναπνευστική ανεπάρκεια και θάνατο στην πνευμονία COVID-19.

1. Εισαγωγή

Από την έναρξη της πανδημίας COVID-19, περισσότερα από 6 εκατομμύρια προσβεβλημένοι ασθενείς έχουν αποβιώσει [241]. Οι θάνατοι οφείλονται σε εξέλιξη σε σοβαρή αναπνευστική ανεπάρκεια (Severe Respiratory Failure - SRF) που απαιτεί επεμβατικό ή μη επεμβατικό μηχανικό αερισμό [242]. Ως εκ τούτου, η έγκαιρη αναγνώριση των ασθενών σε κίνδυνο και η έγκαιρη έναρξη της θεραπείας είναι μια σημαντική στρατηγική για την πρόληψη της εξέλιξης σε SRF. Για να επιτευχθεί αυτό, οι πρώιμοι βιοδείκτες της SRF είναι ζωτικής σημασίας. Ο διαλυτός υποδοχέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης (suPAR) είναι ο μόνος βιοδείκτης που έχει αποδειχθεί μέχρι στιγμής ότι καθοδηγεί μια κατάλληλη ανοσοτροποποιητική θεραπεία [243],[244].

Στη μελέτη SAVE-MORE, οι ασθενείς με αυξημένες συγκεντρώσεις suPAR στο πλάσμα, ο οποίος αποτελεί δείκτη ενεργοποίησης του ενδοθηλίου από τη φλεγμονώδη οδό της IL-1, ταξινομήθηκαν είτε σε θεραπεία με anakinra ή εικονικό φάρμακο πλέον της συνήθους θεραπευτικής αγωγής (Standard-of-Care, SoC) [245].

Χρησιμοποιώντας την Κλίμακα Κλινικής Προόδου του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (WHO-CPS) ως μέτρο κλινικής αποτελεσματικότητας, η θεραπεία με anakinra είχε 0,36 πιθανότητα για δυσμενή έκβαση σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο την 28η ημέρα.

Η κλινική βελτίωση σχετίστηκε με σημαντική μείωση της εξέλιξης σε SRF.

Τα αποτελέσματα της δοκιμής SAVE-MORE οδήγησαν στην έγκριση του anakinra που καθοδηγείται από το suPAR για τη θεραπεία της πνευμονίας COVID-19 σε ενήλικες από τον Ευρωπαϊκό Οργανισμό Φαρμάκων [246].

Η Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων παρείχε επίσης Άδεια Χρήσης Έκτακτης Ανάγκης στη θεραπεία με anakinra στις Ηνωμένες Πολιτείες [247].

Καθώς η δοκιμασία suPAR μπορεί να μην είναι συχνά διαθέσιμη σε κάθε χώρο παροχής υγειονομικής φροντίδας, απαιτούνται εναλλακτικοί βιοδείκτες που να μπορούν να

εκτελεστούν εύκολα με μη επεμβατικές μεθόδους σε κλινικά εργαστήρια, για τον εντοπισμό ασθενών με πνευμονία COVID-19 που διατρέχουν κίνδυνο εξέλιξης σε SRF.

Σε αυτό το πλαίσιο, προηγούμενες μελέτες είχαν δείξει την καλπροτεκτίνη, τον διαλυτό υποδοχέα ιντερλευκίνης-2 και τη βαθμολογία SCOPE ως πιθανούς προγνωστικούς παράγοντες για την ανάπτυξη SRF ή/και θανάτου σε ασθενείς με COVID-19 [248] , [249] , [250].

Προκειμένου να ερευνήσουμε αυτό το θέμα, χρησιμοποιήσαμε τη νέα πλατφόρμα (MeMed Key®) η οποία μετρά τις συγκεντρώσεις τριών ενδογενών φλεγμονωδών μεσολαβητών: Της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP), της πρωτεΐνη-10 που επάγεται από ιντερφερόνη-γ (IP-10) και του συνδέτη που επάγει απόπτωση που σχετίζεται με τον παράγοντα νέκρωσης όγκου (TNF-related apoptosis-inducing ligand – TRAIL) [251], [252], [253].

Η πλατφόρμα σχεδιάστηκε αρχικά για τη διάκριση μεταξύ βακτηριακής και ιογενούς λοίμωξης, αλλά πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι αυτοί οι βιοδείκτες μπορεί επίσης να είναι χρήσιμοι για την πρόβλεψη της σοβαρότητας της νόσου COVID-19 και ενδεχομένως να μπορούν να καθοδηγούν την ανοσοτροποποιητική θεραπεία [254], [255], [256].

Στόχοι: Στόχος μας ήταν να διερευνήσουμε εάν κάποιος από αυτούς τους τρεις φλεγμονώδεις μεσολαβητές θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για την έγκαιρη πρόβλεψη του κινδύνου εξέλιξης σε SRF και την πρόβλεψη της ανταπόκρισης στη θεραπεία με anakinra. Η πρόβλεψη του κινδύνου πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας δείγματα που προέρχονται από τη μελέτη φάσης 3 SAVE-MORE. Η απόκριση στο anakinra φάνηκε χρησιμοποιώντας μία ανεξάρτητη κοόρτη ανακάλυψης (discovery cohort) (μελέτη φάσης 3 SAVE-MORE) και μία κοόρτη επιβεβαίωσης (validation cohort) από τη μελέτη φάσης 2 SAVE .

2. Υλικό και Μέθοδοι

2.1. Ασθενείς

Η κοόρτη ανακάλυψης (discovery) περιελάμβανε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε έλεγχο για καταλληλότητα για τη μελέτη SAVE-MORE (NCT04680949) [245] και η κοόρτη επιβεβαίωσης (validation) περιλάμβανε ασθενείς που είχαν ενταχθεί στη μελέτη SAVE (NCT04357366) [244]. Η μελέτη SAVE-MORE εγκρίθηκε από την Εθνική Επιτροπή Δεοντολογίας της Ελλάδας (έγκριση 161/20) και από την Επιτροπή Δεοντολογίας του Εθνικού Ινστιτούτου Λοιμωδών Νοσημάτων Lazzaro Spallanzani, IRCCS, στη Ρώμη (1 Φεβρουαρίου 2021). Η μελέτη SAVE εγκρίθηκε από την Εθνική Επιτροπή Δεοντολογίας της Ελλάδας (έγκριση 38/20). Γραπτή ενημερωμένη συγκατάθεση δόθηκε από όλους τους ασθενείς πριν από την ένταξή τους σε κάθε μελέτη.

Και οι δύο μελέτες είχαν παρόμοια κριτήρια ένταξης και αποκλεισμού. Οι δύο μελέτες διέφεραν ως προς τον σχεδιασμό της παρέμβασης.

Η SAVE-MORE ήταν μια διπλή τυφλή τυχαιοποιημένη κλινική μελέτη και οι συμμετέχοντες στη μελέτη ταξινομήθηκαν τυχαία σε αναλογία 1:2 σε υποδόρια θεραπεία μία φορά την ημέρα είτε με εικονικό φάρμακο είτε με anakinra για 10 ημέρες επιπλέον της SoC. Η ημερήσια δόση του anakinra ήταν 100 mg.

Η SAVE ήταν μια ανοιχτή μη τυχαιοποιημένη μελέτη μονού σκέλους και όλοι οι συμμετέχοντες στη μελέτη έλαβαν θεραπεία με δραστικό φάρμακο, π.χ. anakinra.

Η ημερήσια δόση anakinra (100 mg) και η διάρκεια της θεραπείας με anakinra (10 ημέρες) ήταν ίδια όπως και στο σκέλος anakinra της τυχαιοποιημένης μελέτης SAVE-MORE.

Μια ενδιάμεση ανάλυση των πρώτων 130 ασθενών της μελέτης SAVE είχε δημοσιευτεί [244].

Έκτοτε, η μελέτη SAVE ολοκληρώθηκε με την ένταξη 1.000 ασθενών.

Οι συμμετέχοντες και στις δύο μελέτες ήταν ενήλικες οποιουδήποτε φύλου, που νοσηλεύτηκαν με ακτινολογικά ευρήματα πνευμονίας από SARS-CoV-2 και suPAR πλάσματος 6 ng/ml ή περισσότερο (suPAR ≥ 6 ng/ml).

Η λοίμωξη επιβεβαιώθηκε με εξέταση PCR.

Παρόμοια κριτήρια αποκλεισμού εφαρμόστηκαν και στις δύο μελέτες: Μη επεμβατικός ή μηχανικός αερισμός, κακοήθεια σταδίου IV, οποιαδήποτε απόφαση να μην γίνει ανάνηψη,

λόγος μερικής πίεσης οξυγόνου προς κλάσμα εισπνεόμενου οξυγόνου μικρότερο από 150 (PO₂/FiO₂<150), σοβαρή ηπατική ανεπάρκεια, οποιαδήποτε πρωτοπαθή ανοσοανεπάρκεια, ουδετερόφιλα λιγότερο από 1500/mm³, από του στόματος ή ενδοφλέβια κορτικοστεροειδή περισσότερο από 0,4 mg/kg/ημέρα ισοδύναμου πρεδνιζόνης τις τελευταίες 15 ημέρες, οποιαδήποτε βιολογική θεραπεία κατά των κυτταροκινών τον τελευταίο μήνα, αιμοκάθαρση και εγκυμοσύνη ή γαλουχία.

Για τους σκοπούς της τρέχουσας μελέτης, μόνο διαθέσιμα αποθηκευμένα δείγματα ασθενών των δύο κοορτών, που συλλέχθηκαν κατά τη διαλογή χρησιμοποιήθηκαν για τη μέτρηση των βιοδεικτών.

Τα διαθέσιμα δεδομένα των ασθενών που ελέγχθησαν και για τις δύο μελέτες ήταν δημογραφικά στοιχεία, η θεραπεία με δεξαμεθαζόνη, η σοβαρότητα σύμφωνα με τον ΠΟΥ και ανάπτυξη SRF ή επέλευση θανάτου την 14η ημέρα.

Συμπληρωματικός Πίνακας 1.

Βασικά δημογραφικά στοιχεία των συμμετεχόντων στις δύο κοόρτες που αναλύθηκαν

Κοόρτη	Εντάχθηκε και	Εντάχθηκε και	Κοόρτη επιβεβαίωσης
ανακάλυψης	έλαβε εικονικό	έλαβε Anakinra	Anakinra
(μελέτη	φάρμακο	n=242	(μελέτη SAVE), n= 364
SAVE-MORE)	(n= 117)		
Αποτυχία ελέγχου			
(n= 176)			
Άρρεν φύλο, n (%)	122 (68,9)	68 (58,6)	148 (61,2)
Ηλικία, έτη, μέσος όρος (SD)	52,6 (13,3)	61,7 (10,5)	60,5 (12,5)
Σοβαρή πνευμονία, n (%)	110 (62,1)	102 (87,9)	190 (78,5)
Θεραπεία με δεξαμεθαζόνη, n (%)	127 (71,8)	102 (87,9)	191 (78,9)
			322 (88,5)

Συντομογραφίες n: αριθμός ασθενών; SD: τυπική απόκλιση

2.2. Μετρήσεις βιοδεικτών

Οι συγκεντρώσεις suPAR μετρήθηκαν σε δείγματα πλάσματος χρησιμοποιώντας το κιτ suPARnostic Quick Triage (Virogates) και έναν επιτόπιο αναλυτή (point of care). Τα δείγματα προσυμπτωματικού ελέγχου ορού διατηρήθηκαν στο ψυγείο στους -80 °C στο κεντρικό εργαστήριο μελέτης, το οποίο ήταν το Εργαστήριο Ανοσολογίας Λοιμωδών Νοσημάτων στην 4η Παθολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου «Αττικόν». Τα επίπεδα CRP, IP-10 και TRAIL μετρήθηκαν σε MeMed Key® (MeMed Diagnostics, Tirat Carmel, Ισραήλ) σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Τα κατώτερα όρια ποσοτικοποίησης για CRP, IP-10 και TRAIL ήταν 1 mg/l, 100 pg/ml και 15 pg/ml αντίστοιχα.

2.3. Καταληκτικά σημεία

Το πρωτεύον καταληκτικό σημείο ήταν να προσδιοριστεί ποιος από τους τρεις βιοδείκτες που μελετήθηκαν (CRP, IP-10, TRAIL), είναι ο καλύτερος προγνωστικός παράγοντας εξέλιξης της πνευμονίας COVID-19 σε SRF ή θάνατο έως την 14η ημέρα.

Η SRF ορίστηκε ως PaO₂/FiO₂ μικρότερο από 150 (PaO₂/FiO₂<150) ή ανάγκη χορήγησης οξυγόνου υψηλής ροής ή η εφαρμογή μη επεμβατικού αερισμού ή μηχανικού αερισμού. Αυτή η ανάλυση διεξήχθη μεταξύ των συμμετεχόντων της κοόρτης SAVE-MORE.

Οι ασθενείς που ταξινομήθηκαν στο σκέλος θεραπείας με anakinra και SoC αποκλείστηκαν από αυτήν την ανάλυση για να αποφευχθεί η σύγχυση που προέρχεται από το όφελος της θεραπείας με anakinra κατά την εξέλιξη σε SRF/θάνατο.

Τα δευτερεύοντα καταληκτικά σημεία ήταν:

α) η κλινική αποτελεσματικότητα της θεραπείας με anakinra σύμφωνα με την κατανομή της βαθμολογίας WHO-CPS 11 σημείων για ασθενείς με συγκεντρώσεις βιοδεικτών πάνω από τα καθορισμένα όρια (αυτή η ανάλυση περιελάμβανε συμμετέχοντες στη δοκιμή SAVE-MORE), και

β) ο αντίκτυπος της θεραπείας με anakinra στην εξέλιξη σε SRF/θάνατο έως την ημέρα 14 μεταξύ των ασθενών που διαστρωματώθηκαν με βάση τις συγκεντρώσεις του βιοδείκτη (αυτή η ανάλυση περιελάμβανε συμμετέχοντες στη δοκιμή SAVE).

Διάγραμμα ροής μελέτης (Σχήμα 1).

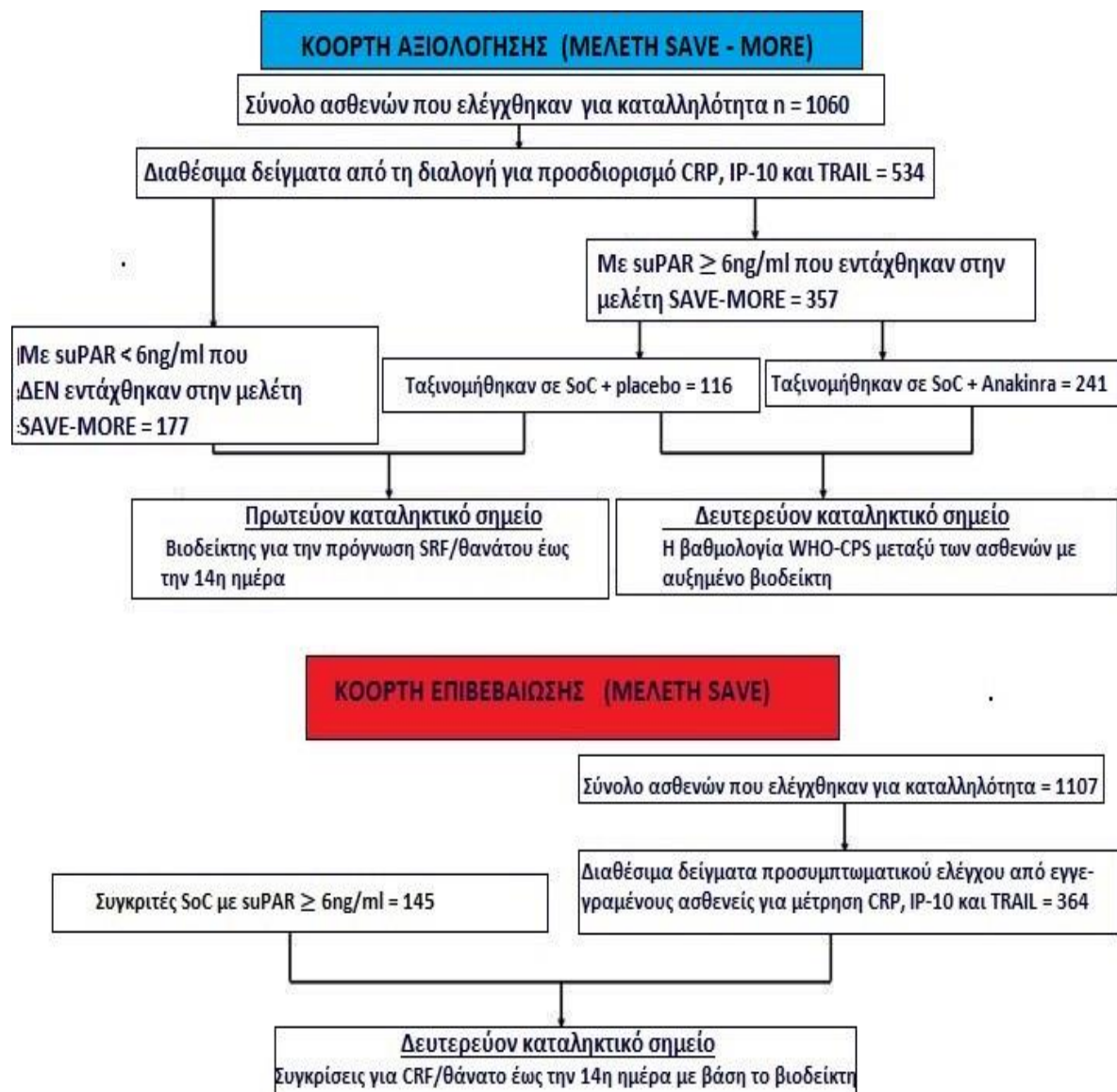
Η πρώτη κοόρτη (discovery cohort) αποτελούνταν από διαθέσιμα δείγματα που προέρχονταν από ασθενείς που υποβλήθηκαν σε έλεγχο καταλληλότητας για τη μελέτη SAVE-MORE.

Το πρωτεύον καταληκτικό σημείο της μελέτης στόχευε στον καθορισμό μιας κρίσιμης συγκέντρωσης ενός από τους βιοδείκτες CRP, IP-10 και TRAIL που μελετήθηκαν για την έγκαιρη διάκριση του κινδύνου εξέλιξης σε SRF/θάνατο έως την 14η ημέρα. Για να γίνει αυτή η σύγκριση, οι ασθενείς που δεν επιλέχθηκαν στον έλεγχο λόγω suPAR μικρότερου από 6 ng/ml, συγκρίθηκαν με ασθενείς που εντάχθηκαν στη μελέτη SAVE-MORE και έλαβαν θεραπεία με εικονικό φάρμακο και τη συνήθη αγωγή (SoC). Το δευτερεύον τελικό σημείο ήταν η σύγκριση της κατανομής της βαθμολογίας WHO-CPS 11 σημείων μέχρι την 28η ημέρα μεταξύ ασθενών που έλαβαν εικονικό φάρμακο και ασθενών που έλαβαν θεραπεία με anakinra.

Για αυτή τη σύγκριση, χρησιμοποιήθηκαν μόνο ασθενείς με συγκέντρωση βιοδεικτών πάνω από το καθορισμένο όριο.

Η κοόρτη επιβεβαίωσης (validation cohort) συγκροτήθηκε από ασθενείς που συμμετείχαν στη μελέτη SAVE. Η εξέλιξη σε SRF/θάνατο την 14η ημέρα συγκρίθηκε μεταξύ των ασθενών που έλαβαν θεραπεία με SoC και anakinra (και αυτών προς σύγκριση τους).

Συντομογραφίες CPS: Clinical Progression Scale; CRP: C-αντιδρώσα πρωτεΐνη. IP-10: πρωτεΐνη-10 που επάγεται από ιντερφερόνη-γ. suPAR: διαλυτός υποδοχέας ενεργοποιητή πλασμινογόνου ουροκινάσης. TRAIL: συνδέτης που προκαλεί απόπτωση που σχετίζεται με TNF. ΠΟΥ: Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας.



Σχήμα 1. Διάγραμμα ροής μελέτης (flow chart)

2.4. Στατιστική ανάλυση

Τα δεδομένα παρουσιάστηκαν ως εξής:

Οι κατηγορικές μεταβλητές ως συχνότητες και διαστήματα εμπιστοσύνης (CI).

Οι συνεχείς μεταβλητές με κανονική κατανομή ως μέσος όρος με τυπική απόκλιση (SD).

Το τεστ Fisher exact χρησιμοποιήθηκε για τη σύγκριση κατηγορικών μεταβλητών, ενώ το τεστ t Student ή το μη παραμετρικό τεστ Mann Whitney χρησιμοποιήθηκε για τη σύγκριση συνεχών μεταβλητών, ανάλογα με την περίπτωση.

Η προγνωστική ικανότητα των βιοδεικτών που μελετήθηκαν αξιολογήθηκε από την περιοχή κάτω από την καμπύλη λειτουργικού χαρακτηριστικού δέκτη (receiver operating characteristic curve, ROC) και 95 %CI. Οι βέλτιστες τιμές κατωφλίου (cutoff values) υπολογίστηκαν από τον δείκτη Youden. Η ευαισθησία, η ειδικότητα, η θετική προγνωστική αξία (PPV) και η αρνητική προγνωστική αξία (NPV) υπολογίστηκαν με έναν πίνακα 2×2 . Οι περιοχές κάτω από την καμπύλη ROC συγκρίθηκαν με τη μέθοδο των Hanley και McNeil [257].

Για την ανάλυση της επίδρασης της θεραπείας με anakinra στην κατανομή της βαθμολογίας WHO-CPS 11 σημείων έως την ημέρα 28 μεταξύ ασθενών με αυξημένους βιοδείκτες στη μελέτη SAVE-MORE, πραγματοποιήθηκε πολυπαραγοντική λογιστική παλινδρομική ανάλυση υπό συνθήκη. Η βαρύτητα της νόσου COVID-19, η θεραπεία με δεξαμεθαζόνη και ο δείκτης μάζας σώματος εισήχθησαν ως συμμεταβλητές σύμφωνα με το αρχικό σχέδιο στατιστικής ανάλυσης [245].

Για την ανάλυση της επίδρασης της θεραπείας με anakinra στην εξέλιξη σε SRF/θάνατο μέχρι την ημέρα 14 στη μελέτη SAVE, χρησιμοποιήθηκε ένα μοντέλο πολυπαραγοντικής προοδευτικής παλινδρομικής ανάλυσης Cox. Οι συγκεντρώσεις βιοδεικτών, η σοβαρότητα της νόσου COVID-19 και η θεραπεία με δεξαμεθαζόνη εισήχθησαν ως συμμεταβλητές. Υπολογίστηκε η προσαρμοσμένη αναλογία κινδύνου (Hazard Ratio - HR) και το 95 % CI. Οποιαδήποτε αμφίπλευρη τιμή p μικρότερη από 0,05 θεωρήθηκε στατιστικά σημαντική. Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το λογισμικό SPSS έκδοση 26.0.

3. Αποτελέσματα

3.1. Πληθυσμός ασθενών και ανάλυση του πρωτεύοντος καταληκτικού σημείου

Προκειμένου να καθοριστούν προγνωστικά όρια για CRP, IP-10 και TRAIL, αναλύθηκαν δείγματα διαλογής από ασθενείς που δεν συμμετείχαν στη μελέτη SAVE-MORE λόγω suPAR μικρότερου από 6 ng/ml και από ασθενείς που είχαν ενταχθεί στη SAVE-MORE και οι οποίοι ταξινομήθηκαν σε θεραπεία με εικονικό φάρμακο.

Συνολικά, οι ασθενείς αυτής της κοόρτης είχαν μέση ηλικία 58 ($\pm 13,6$) έτη, το 63,3 % ήταν άνδρες και το 75,3 % είχαν σοβαρή λοίμωξη (Συμπληρωματικός Πίνακας 1).

Οι συγκεντρώσεις της CRP και της IP-10 κατά τον έλεγχο ήταν υψηλότερες μεταξύ των ασθενών που εμφάνισαν στη συνέχεια SRF ή απεβίωσαν τις πρώτες 14 ημέρες (Εικ. 2 A και 2B).

Αντίθετα, οι συγκεντρώσεις της πρωτεΐνης TRAIL δεν διέφεραν μεταξύ ασθενών με δυσμενή ή ευνοϊκή έκβαση (Εικ. 2C).

Η ανάλυση καμπύλης ROC έδειξε ότι μεταξύ των τριών βιοδεικτών, οι συγκεντρώσεις IP-10 είχαν την καλύτερη απόδοση για την πρώιμη εξέλιξη σε SRF ή θάνατο (Συμπληρωματικό Σχήμα 1).

Η IP-10 είχε ίση απόδοση με το suPAR (Εικ. 2D) και η συγκέντρωση 2.000 pg/ml ή μεγαλύτερη παρουσίαζε ευαισθησία 85,0 % και ειδικότητα 67,2 % για την πρόβλεψη κακής έκβασης (Εικ. 2E και Συμπληρωματικός Πίνακας 2).

Στην κοόρτη ανακάλυψης, 34 ασθενείς (29,1 %) με συγκεντρώσεις IP-10 ≥ 2.000 pg/ml ανέπτυξαν SRF ή απεβίωσαν μετά από 14 ημέρες, σε σύγκριση με μόνο 6 ασθενείς (3,4 %) με συγκεντρώσεις IP-10 μικρότερες από 2.000 pg/ml (Εικ. 3 A).

Η πολυπαραγοντική ανάλυση παλινδρόμησης Cox, μεταξύ όλων των μεταβλητών που σχετίζονται με δυσμενή πρόγνωση, αποκάλυψε ότι οι συγκεντρώσεις IP-10 ≥ 2.000 pg/ml ήταν ένας ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας εξέλιξης σε SRF ή θάνατο με προσαρμοσμένο HR 6,8 (Εικ. 3 B).

Οι συγκεντρώσεις IP-10 και CRP συσχετίστηκαν θετικά με τις συγκεντρώσεις suPAR (r s : +0,25, p μικρότερο από 0,001 και r s : +0,313, p μικρότερο από 0,0001, αντίστοιχα).

Δεν βρέθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ TRAIL και suPAR (r s : -0,074; p : 0,084) (Συμπληρωματικό Σχήμα 2).

3.2. Κοόρτη αξιολόγησης (ανακάλυψης-discovery): Αποτελεσματικότητα του anakinra σε σύγκριση με εικονικό φάρμακο σε ασθενείς με συγκεντρώσεις IP-10 υψηλότερες από 2.000 pg/ml.

Το κύριο πρωτεύον καταληκτικό σημείο της μελέτης SAVE-MORE ήταν η κατανομή των ασθενών σύμφωνα με την κλίμακα WHO-CPS 11 σημείων την ημέρα 28. Οι συγκρίσεις μεταξύ της υποομάδας ασθενών με συγκεντρώσεις IP-10 ≥ 2.000 pg/ml αποκάλυψαν ότι η τυχαιοποίηση στη θεραπεία με anakinra σχετιζόταν με $\times 0,35$ πιθανότητες για δυσμενή έκβαση σε σύγκριση με τη θεραπεία με εικονικό φάρμακο (Εικ. 4). Αυτοί οι ασθενείς εντάχθηκαν στη μελέτη SAVE-MORE, σύμφωνα με τις προϋποθέσεις ένταξης καθώς όλοι είχαν επίπεδα suPAR ≥ 6 ng/ml.

3.3. Επιβεβαίωση στην κοόρτη SAVE

Η μελέτη SAVE ήταν ανοιχτή (open label) μη τυχαιοποιημένη και όλοι οι συμμετέχοντες έλαβαν θεραπεία με anakinra και SoC. Οι ασθενείς προς σύγκριση που μελετήθηκαν είχαν συγκεντρώσεις suPAR 6 ng/ml ή περισσότερο και έλαβαν θεραπεία SoC (Συμπληρωματικός Πίνακας 1). Τόσο οι ασθενείς προς σύγκριση όσο και οι συμμετέχοντες στη μελέτη θα μπορούσαν να χωριστούν σε διαφορετικά επίπεδα κινδύνου για εξέλιξη σε SRF ή θάνατο τις πρώτες 14 ημέρες σύμφωνα με τις κυκλοφορούσες συγκεντρώσεις IP-10 (λιγότερο από 2.000 pg/ml, και 2.000 pg/ml ή περισσότερο) Εικ. 5 Α).

Η θεραπεία με Anakinra ήταν μια ανεξάρτητη μεταβλητή με λόγο κινδύνου (Hazard Ratio - HR) 0,25 μετά από πολυπαραγοντική ανάλυση στην οποία οι συγκεντρώσεις IP-10, η σοβαρότητα και η θεραπεία με δεξαμεθαζόνη χρησιμοποιήθηκαν ως συν-μεταβλητές (Εικ. 5 Β).

3.4 Η μελέτη της IP-10 (από ιντερφερόνη-γ επαγόμενη πρωτεΐνη-10) για την έγκαιρη ανίχνευση του κινδύνου εξέλιξης σε σοβαρή αναπνευστική ανεπάρκεια (SRF) ή θανάτου τις πρώτες 14 ημέρες (Σχήμα 2).

Η ανάλυση περιελάμβανε 293 ασθενείς που εξετάστηκαν για την καταλληλότητα συμμετοχής στη μελέτη SAVE -MORE.

177 ασθενείς δεν επιλέχθηκαν επειδή είχαν συγκεντρώσεις κυκλοφορούντος suPAR (διαλυτός υποδοχέας ενεργοποιητή πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης) μικρότερες από 6 ng/ml. 116 ασθενείς είχαν suPAR 6 ng/ml ή περισσότερο, εντάχθηκαν στη δοκιμή SAVE-MORE και ταξινομήθηκαν σε θεραπεία με εικονικό φάρμακο και τη συνήθη καθιερωμένη φροντίδα (SoC).

A) Σύγκριση των συγκεντρώσεων της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP) στην κυκλοφορία κατά τον έλεγχο ασθενών που προχώρησαν σε SRF/θάνατο και ασθενών που δεν προχώρησαν σε SRF/θάνατο την ημέρα 14.

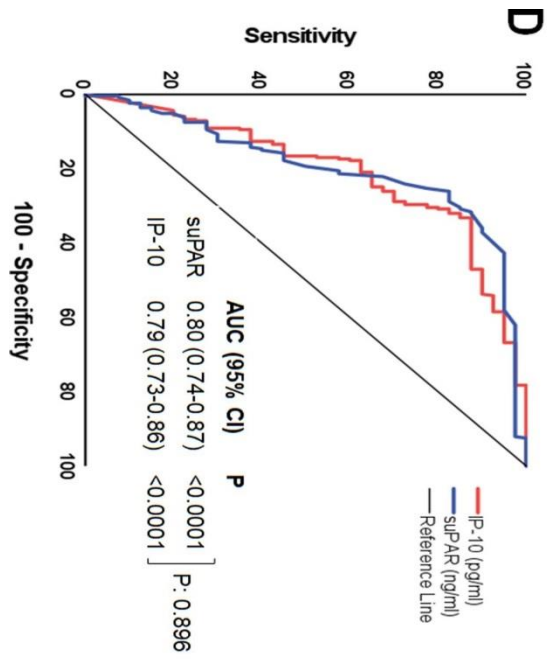
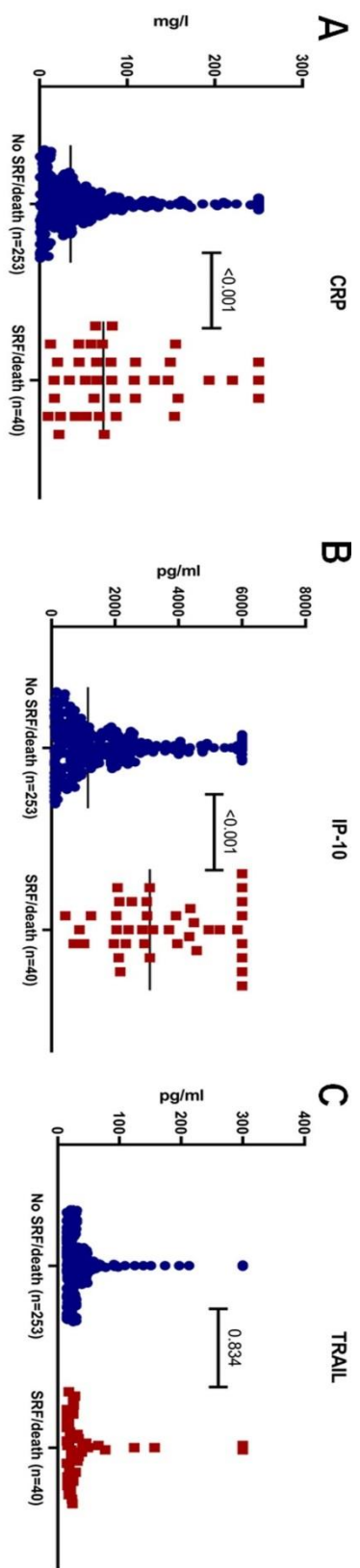
B) Σύγκριση κυκλοφορούντων συγκεντρώσεων IP-10 κατά τον προσυμπτωματικό έλεγχο μεταξύ ασθενών που προχώρησαν σε SRF/θάνατο και ασθενών που δεν προχώρησαν σε SRF/ θάνατος την 14η ημέρα.

Γ) Σύγκριση κυκλοφορούντων συγκεντρώσεων της πρωτεΐνης TRAIL (συνδέτης που επάγει απόπτωση που σχετίζεται με TNF) κατά τον έλεγχο μεταξύ ασθενών που προχώρησαν σε SRF/θάνατο και ασθενών που δεν προχώρησαν σε SRF/θάνατο την ημέρα 14.

Δ) Καμπύλη λειτουργικού χαρακτηριστικού δέκτη (receiver operating characteristic curve, ROC) IP-10 και suPAR για την έγκαιρη πρόβλεψη του κινδύνου εξέλιξης σε SRF ή θανάτου τις πρώτες 14 ημέρες.

Ε) Προγνωστική απόδοση συγκεντρώσεων IP-10 μεγαλύτερες από 2.000 pg/ml για την πρώιμη πρόβλεψη του κινδύνου εξέλιξης σε SRF ή θανάτου τις πρώτες 14 ημέρες.

Συντομογραφίες AUC: περιοχή κάτω από την καμπύλη. CI: διαστήματα εμπιστοσύνης. OR: λόγος πιθανοτήτων NPV: αρνητική προγνωστική αξία. PPV: θετική προγνωστική αξία.

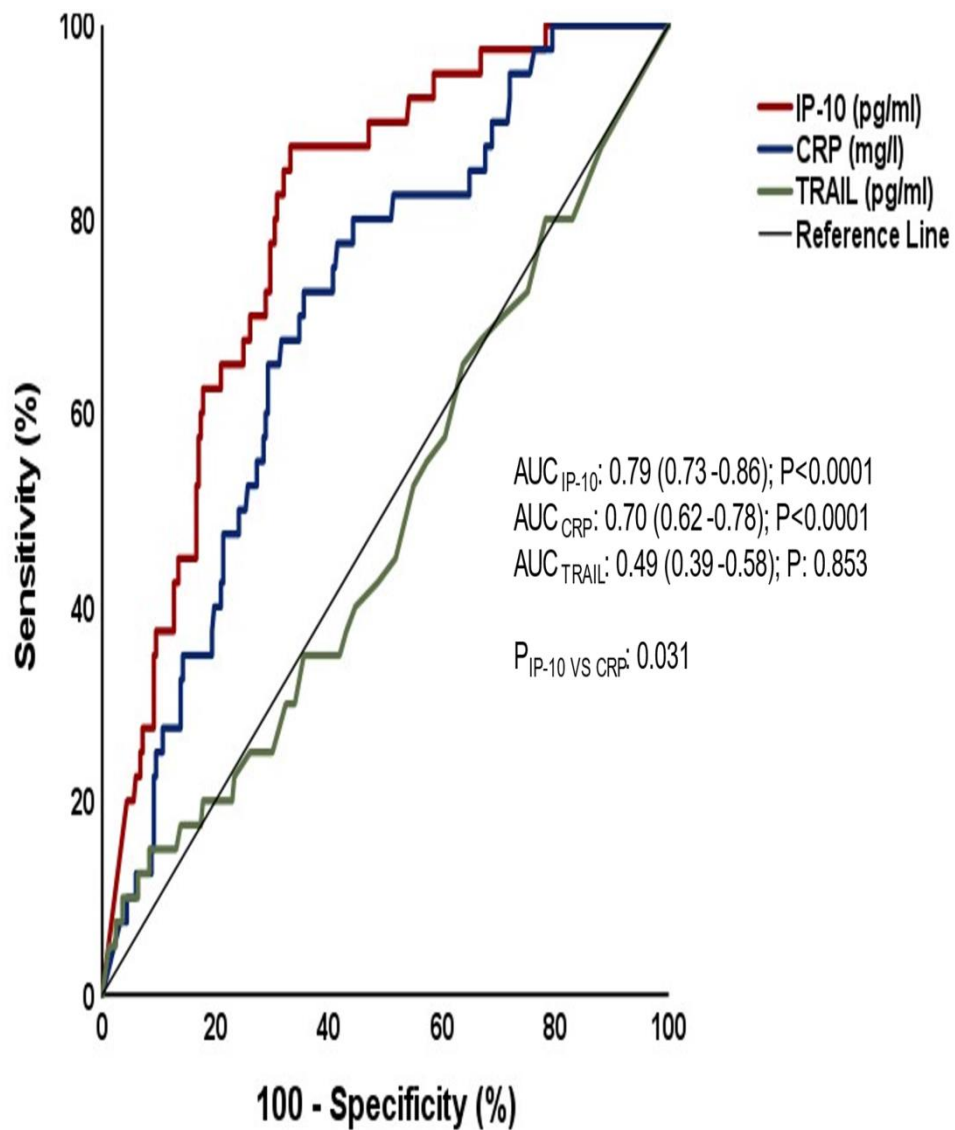


E

	SRF/death, n	No SRF/death, n	Total
IP-10 $\geq 2,000$ pg/ml	34 Sensitivity: 85.0% PPV: 29.1%	83	117
IP-10 < 2,000 pg/ml	6	170 Specificity: 67.1% NPV: 96.6%	176
Total	40	253	293

OR: 11.6 (4.7-28.8); $p < 0.0001$

Σχήμα 2



Συμπληρωματικό Σχήμα 1

Σύγκριση CRP, IP-10 και TRAIL για την έγκαιρη πρόβλεψη εξέλιξης σε σοβαρή αναπνευστική ανεπάρκεια ή θάνατο τις πρώτες 14 ημέρες.

Συμπληρωματικό Σχήμα 1

Σύγκριση CRP, IP-10 και TRAIL για την έγκαιρη πρόβλεψη εξέλιξης σε σοβαρή αναπνευστική ανεπάρκεια ή θάνατο τις πρώτες 14 ημέρες.

Η ανάλυση καμπύλης χαρακτηριστικών λειτουργίας δέκτη (ROC) περιλαμβάνει 293 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε έλεγχο για την καταλληλότητα συμμετοχής στη μελέτη SAVE-MORE.

Οι 177 ασθενείς απέτυχαν στον έλεγχο επειδή είχαν συγκεντρώσεις κυκλοφορούντος suPAR (διαλυτός υποδοχέας του ενεργοποιητή πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης) μικρότερες από 6 ng/ml.

Οι 116 ασθενείς που είχαν suPAR 6 ng/ml ή περισσότερο, εντάχθηκαν στη μελέτη SAVE-MORE και ταξινομήθηκαν σε θεραπεία με εικονικό φάρμακο και τη συνήθη φροντίδα (SoC). Παρέχεται η περιοχή κάτω από τις καμπύλες (AUC) κάθε ROC, το διάστημα εμπιστοσύνης και οι αντίστοιχες τιμές P. Παρέχεται επίσης η σύγκριση μεταξύ των AUC της IP-10 και της CRP.

Η ανάλυση καμπύλης ROC έδειξε ότι μεταξύ των τριών βιοδεικτών, οι συγκεντρώσεις IP-10 είχαν την καλύτερη απόδοση για την πρόγνωση της πρώιμης εξέλιξης σε SRF ή θάνατο
Συντομογραφίες CRP: C-αντιδρώσα πρωτεΐνη. IP-10: επαγόμενη από ιντερφερόνη-γ πρωτεΐνη 10. TRAIL: Συνδέτης που επάγει απόπτωση σχετιζόμενη με τον TNF.

Συμπληρωματικός Πίνακας 2

Συγκριτική απόδοση του suPAR (διαλυτός υποδοχέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης) και της IP-10 (επαγόμενη από ιντερφερόνη-γ, πρωτεΐνης 10) για την πρώιμη πρόγνωση του κινδύνου εξέλιξης σε σοβαρή αναπνευστική ανεπάρκεια ή θάνατο τις πρώτες 14 ημέρες.

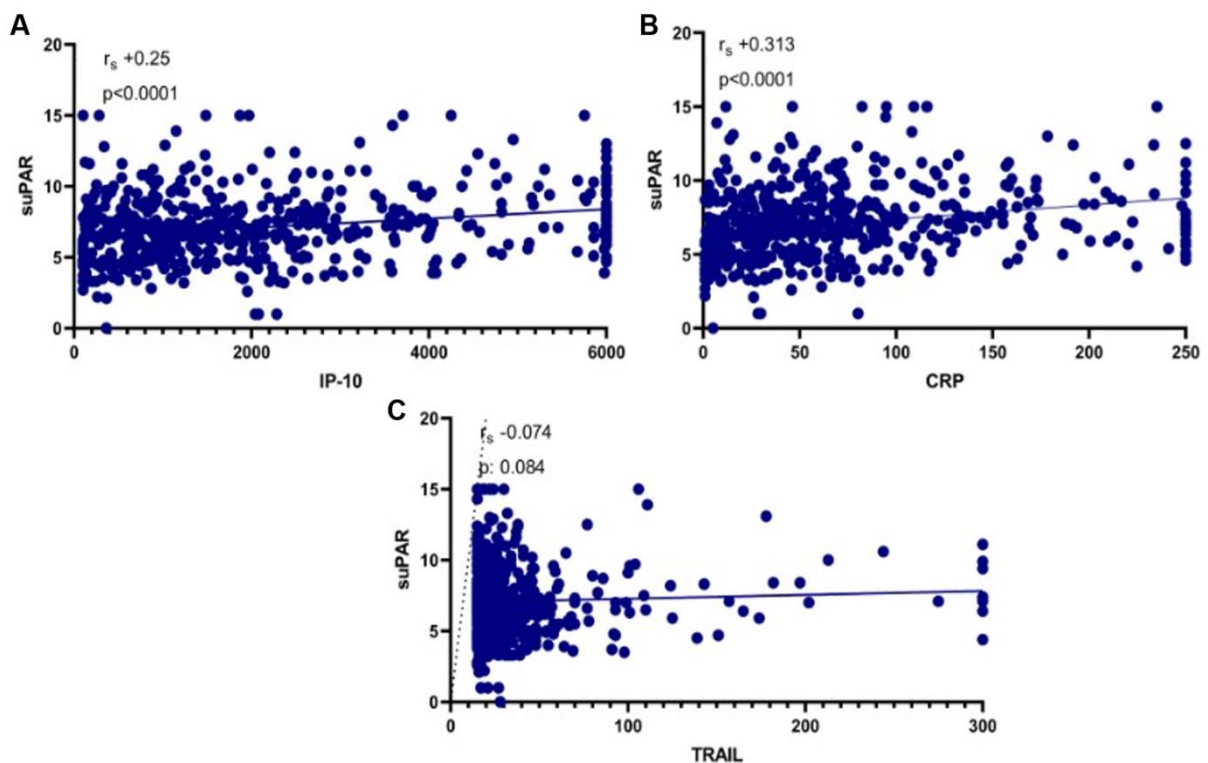
Η ανάλυση περιλαμβάνει 293 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε έλεγχο για καταλληλότητα συμμετοχής στη μελέτη SAVE-MORE.

177 ασθενείς απέτυχαν στον έλεγχο επειδή είχαν συγκεντρώσεις suPAR στο κυκλοφορικό μικρότερες από 6 ng/ml.

Οι 116 ασθενείς που είχαν suPAR 6 ng/ml ή περισσότερο, εντάχθηκαν στη μελέτη SAVE-MORE και ταξινομήθηκαν να λάβουν θεραπεία με εικονικό φάρμακο και τη συνήθη φροντίδα (SoC).

	suPAR $\geq$ 6 ng/ml	IP-10 $\geq$ 2.000 ng/ml
Ευαισθησία, n (ασθενείς) με υψηλό βιοδείκτη/σύνολο με SRF ή θάνατο (%)	35/40 (87,5)	34/40 (85,0)
Ειδικότητα, n (ασθενείς) με χαμηλό βιοδείκτη/σύνολο χωρίς SRF ή θάνατο (%)	172/253 (68,0)	170/253 (67,1)
Θετική προγνωστική αξία, n (ασθενείς) με SRF ή θάνατο/σύνολο με υψηλό βιοδείκτη (%)	35/116 (30,2)	34/117 (29,1)
Αρνητική προγνωστική τιμή, n (ασθενείς) χωρίς SRF ή θάνατο/σύνολο με χαμηλό βιοδείκτη (%)	172/177 (97,2)	170/176 (96,6)

Συμπληρωματικός Πίνακας 2



Συμπληρωματικό σχήμα 2

Συσχετίσεις συγκεντρώσεων suPAR με συγκεντρώσεις:

α) IP-10,

β) CRP και

γ) TRAIL

των ασθενών της πρώτης κοόρτης (discovery cohort).

Παρέχονται τιμές p .

Συντομογραφίες CRP: C-αντιδρώσα πρωτεΐνη. IP-10: πρωτεΐνη 10 που επάγεται από ιντερφερόνη- γ r_s : Συντελεστής συσχέτισης Spearman. suPAR: διαλυτός υποδοχέας του ενεργοποιητή πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης. TRAIL: συνδέτης που επάγει απόπτωση σχετιζόμενη με τον TNF.

3.5 Η IP-10 (από ιντερφερόνη-γ επαγόμενη πρωτεΐνη-10) ως ανεξάρτητη μεταβλητή για την έγκαιρη ανίχνευση του κινδύνου εξέλιξης σε σοβαρή αναπνευστική ανεπάρκεια (SRF) ή θανάτου τις πρώτες 14 ημέρες (Σχήμα 3).

Η ανάλυση περιέλαβε 293 ασθενείς που εξετάστηκαν για την επιλεξιμότητα συμμετοχής στη μελέτη SAVE-MORE. 177 ασθενείς απέτυχαν στον προσυμπτωματικό έλεγχο επειδή είχαν συγκεντρώσεις στο κυκλοφορικό suPAR (διαλυτός υποδοχέας ενεργοποιητή πλασμινογόνου ουροκινάσης) μικρότερες από 6 ng/ml. 116 ασθενείς είχαν suPAR 6 ng/ml ή περισσότερο, εγγράφηκαν στη δοκιμή SAVE-MORE και κατανεμήθηκαν σε θεραπεία με εικονικό φάρμακο και τη συνήθη φροντίδα φροντίδα (SoC).

A) Χρόνος έως την εξέλιξη σε SRF ή θάνατο τις πρώτες 14 ημέρες

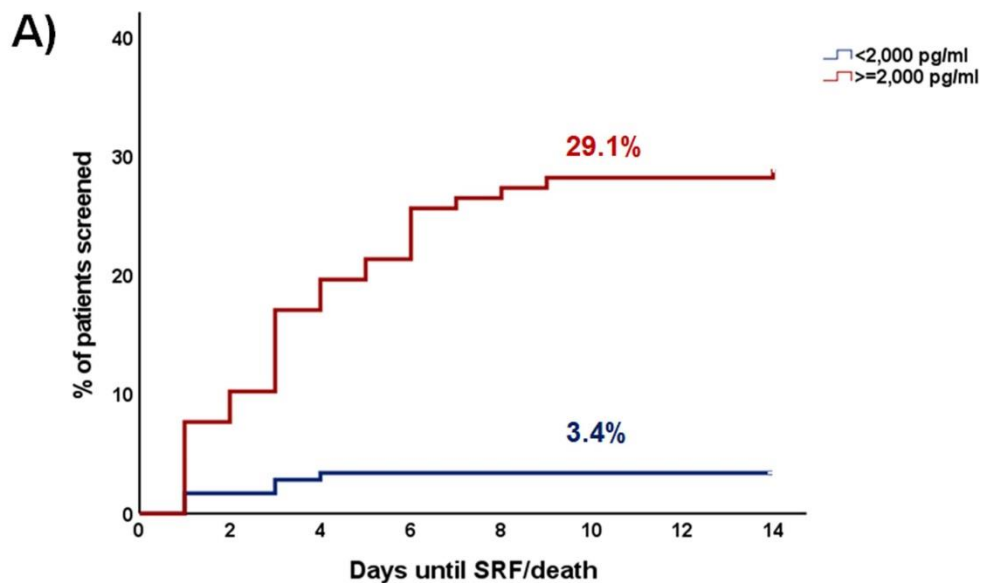
B) Μονοπαραγοντικό και πολυπαραγοντικό μοντέλο (Cox Forward Conditional) για τη συσχέτιση της IP-10 με πρώιμη εξέλιξη σε SRF ή θάνατο τις πρώτες 14 ημέρες

*Η τιμή HR δεν μπορεί να υπολογιστεί επειδή μια τιμή είναι μηδέν.

**εξαιρείται μετά από δύο βήματα προοδευτικής ανάλυσης

Συντομογραφίες CI: διαστήματα εμπιστοσύνης. HR: λόγος κινδύνου. n: αριθμός ασθενών.

suPAR: διαλυτός υποδοχέας ενεργοποιητή πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης.



Patients at risk (n)

IP-10 ≥ 2,000 pg/ml	117	105	94	87	85	84	84	84
IP-10 < 2,000 pg/ml	176	173	170	170	170	170	170	170

B)

Variables	No SRF/death	SRF/death	Univariate analysis		Multivariate analysis	
	(N=253)	(N=40)	HR (95% CI)	P- Value	HR (95% CI)	P-value
IP-10 ≥ 2,000 pg/ml, n (%)	83 (32.8)	34 (85.0)	9.5 (3.9-22.7)	<0.0001	6.8 (2.9-16.2)	<0.0001
suPAR ≥ 6 ng/ml, n (%)	81 (32.0)	35 (87.5)	12.4 (4.8-31.5)	<0.001	6.6 (2.6-17.0)	<0.0001
Severe COVID-19 pneumonia, n (%)	172 (68.0)	40 (100)	*	0.013	**	
Dexamethasone, treatment, n (%)	189 (74.7)	40 (100)	*	0.033	**	

Σχήμα 3: Η IP-10 (από ιντερφερόνη-γ επαγόμενη πρωτεΐνη-10) ως ανεξάρτητη μεταβλητή για την έγκαιρη ανίχνευση του κινδύνου εξέλιξης σε σοβαρή αναπνευστική ανεπάρκεια (SRF) ή θανάτου τις πρώτες 14 ημέρες.

3.6 Αποτελεσματικότητα της θεραπείας με anakinra μεταξύ των συμμετεχόντων στη μελέτη SAVE-MORE με IP-10 (από ιντερφερόνη-γ επαγόμενη πρωτεΐνη-10) 2.000 ng/ml ή περισσότερο (Σχήμα 4)

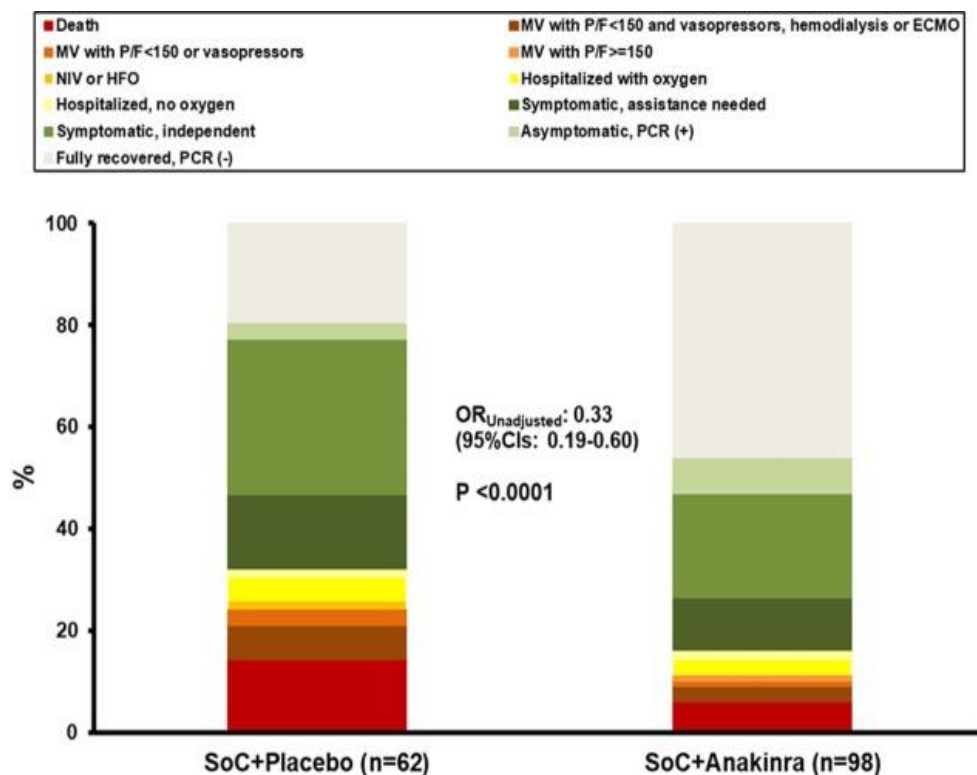
Αυτή η ανάλυση περιλαμβάνει 160 συμμετέχοντες της τυχαιοποιημένης μελέτης SAVE-MORE με συγκεντρώσεις στην κυκλοφορία IP-10 2000 pg/ ml ή περισσότερο. Αυτοί οι ασθενείς εντάχθηκαν στη μελέτη SAVE-MORE, σύμφωνα με τις προϋποθέσεις ένταξης, όλοι είχαν επίπεδα suPAR ≥ 6 ng/ml.

A) Κατανομή των ασθενών που ταξινομήθηκαν σε θεραπεία με εικονικό φάρμακο και τυπική φροντίδα (SoC) και σε θεραπεία με anakinra και SoC στα 11 σημεία της κλίμακας κλινικής εξέλιξης του ΠΟΥ (WHO-CPS) την ημέρα 28.

B) Μονοπαραγοντική και πολυμεταβλητή ανάλυση του WHO-CPS την 28η ημέρα.

Συντομογραφίες CI: διάστημα εμπιστοσύνης; n: αριθμός ασθενών. OR: λόγος πιθανοτήτων.

A)



B)

Variables	Univariate analysis		Multivariate analysis	
	OR (95% CI)	P-value	OR (95% CI)	P-value
Anakinra treatment (Yes/No)	0.33 (0.19-0.60)	<0.0001	0.35 (0.19-0.62)	<0.0001
Severe COVID-19 pneumonia (Yes/No)	2.79 (1.29-6.15)	0.011	1.64 (0.11-23.08)	0.714
Dexamethasone, treatment (Yes/No)	2.79 (1.29-6.15)	0.011	1.64 (0.11-23.08)	0.714
BMI >30 kg/m ² (Yes/No)	0.96 (0.56-1.69)	0.913	0.95 (0.54-1.68)	0.872

Σχήμα 4. Αποτελεσματικότητα της θεραπείας με anakinra μεταξύ των συμμετεχόντων στη μελέτη SAVE-MORE με IP-10 (από ιντερφερόνη-γ επαγόμενη πρωτεΐνη-10) 2.000 ng/ml ή περισσότερο.

3.7 Επιβεβαίωση του ρόλου της IP-10 (interferon gamma-induced protein-10) ως ανεξάρτητης μεταβλητής για την έγκαιρη ανίχνευση κινδύνου εξέλιξης σε σοβαρή αναπνευστική ανεπάρκεια (SRF) ή θάνατο τις πρώτες 14 ημέρες (Σχήμα 5)

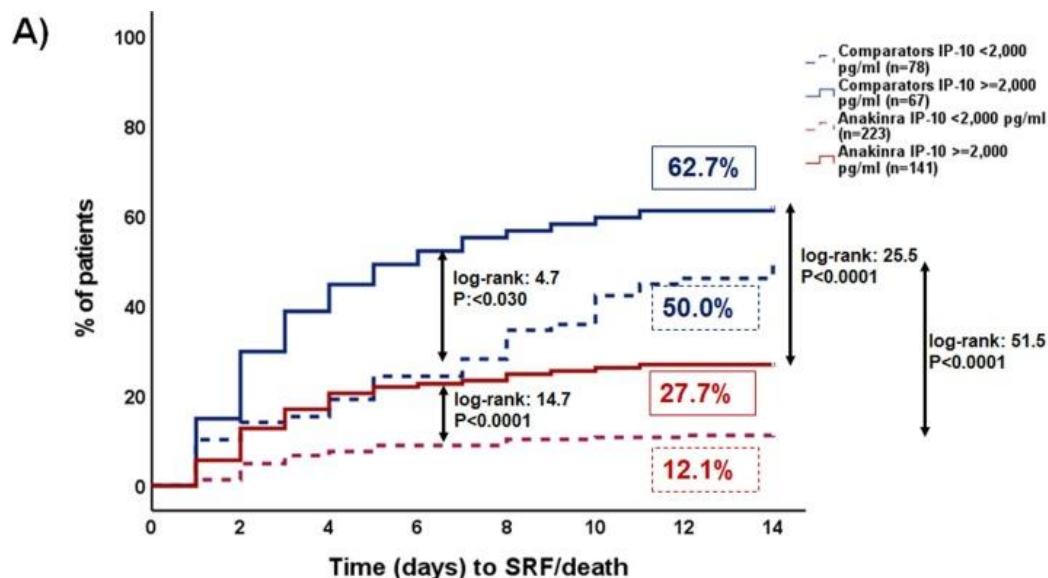
Η ανάλυση περιλαμβάνει 364 ασθενείς που συμμετείχαν στη μελέτη SAVE και 145 συγκρινόμενους που υποβλήθηκαν στη καθιερωμένη θεραπευτική αγωγή (SoC).]

A) Χρόνος για την εξέλιξη σε SRF ή θάνατο τις πρώτες 14 ημέρες. Οι ασθενείς διαστρωματώνονται σύμφωνα με την συγκέντρωση της IP-10 στην κυκλοφορία. Οι συγκρίσεις με τη δοκιμασία log-rank και τις αντίστοιχες τιμές p υποδεικνύονται με τα βέλη

B) Μοντέλα μονοπαραγοντικά και πολυπαραγοντικά (Cox Forward Conditional) για τη συσχέτιση του IP-10 με την πρώιμη εξέλιξη σε SRF ή θάνατο τις πρώτες 14 ημέρες

****εξαιρούνται μετά δύο βήματα προοδευτικής ανάλυσης.**

Συντομογραφίες CI: διάστημα εμπιστοσύνης; HR: Λόγος κινδύνου; n: αριθμός ασθενών.



Patients at risk (n)

Comparators <2,000 pg/ml	78	67	63	59	51	45	42	39
Comparators ≥ 2,000 pg/ml	67	47	37	32	29	27	26	25
Anakinra <2,000 pg/ml	223	212	206	203	201	200	199	198
Anakinra ≥ 2,000 pg/ml	141	123	112	109	106	105	104	103

B)

Variables	No SRF/death (N=362)	SRF/death (N=147)	Univariate analysis		Multivariate analysis	
			HR (95% CI)	P- Value	HR (95% CI)	P-value
Anakinra treatment, n (%)	298 (82.3)	66 (44.9)	0.26 (0.19-0.37)	<0.0001	0.25 (0.18-0.34)	<0.0001
IP-10 ≥ 2,000 pg/ml, n (%)	127 (35.1)	81 (55.1)	2.04 (1.47-2.82)	<0.0001	1.68 (1.21-2.33)	0.002
Severe COVID-19 pneumonia, n (%)	235 (64.9)	127 (86.4)	3.03 (1.89-4.86)	<0.0001	3.19 (1.98-5.15)	<0.0001
Dexamethasone, treatment, n (%)	312 (86.2)	116 (79.5)	0.69 (0.46-1.03)	0.070	**	

Σχήμα 5. Επιβεβαίωση του ρόλου της IP-10 (interferon gamma-induced protein-10) ως ανεξάρτητης μεταβλητής για την έγκαιρη ανίχνευση κινδύνου εξέλιξης σε σοβαρή αναπνευστική ανεπάρκεια (SRF) ή θάνατο τις πρώτες 14 ημέρες.

4. Συζήτηση

Στην τρέχουσα μελέτη, δείξαμε ότι η IP-10 είναι ένας αξιόπιστος βιοδείκτης, με παρόμοια απόδοση με το suPAR, για την πρόβλεψη της εξέλιξης σε SRF ή του θανάτου μεταξύ ασθενών που νοσηλεύονται με πνευμονία COVID-19. Οι συγκεντρώσεις suPAR ≥ 6 ng/ml έχουν αποδειχθεί ότι ανιχνεύουν ασθενείς με πνευμονία COVID-19 με μεγάλο κίνδυνο εξέλιξης σε SRF ή θάνατο και καθοδηγούν επαρκώς την ανοσοτροποποιητική θεραπεία με anakinra, έναν ανασυνδυασμένο ανθρώπινο ανταγωνιστή του υποδοχέα αντι-IL-1 [243], [244], [245].

Σε περιβάλλοντα υγειονομικής περίθαλψης όπου οι γρήγορες μετρήσεις συγκέντρωσης suPAR μπορεί να μην είναι εύκολα διαθέσιμες, η μέτρηση των συγκεντρώσεων IP-10 σε μια επιτόπια πλατφόρμα, όπως το MeMed Key®, μπορεί να αποτελεί μια καλή εναλλακτική λύση.

Οι συγκεντρώσεις IP-10 ≥ 2.000 pg/ml έχουν ευαισθησία 85,0 %, και αρνητική προγνωστική αξία 96,6 % για την έγκαιρη ανίχνευση του κινδύνου εξέλιξης στην πνευμονία COVID-19.

Η IP-10 (γνωστή και ως CXCL10) είναι μια χημειοκίνη που εκκρίνεται από κύτταρα που διεγείρονται με ιντερφερόνες τύπου I και II (IFNs) και λιποπολυσακχαρίτη (LPS), η οποία συμπεριφέρεται χημειοελκτικά για ενεργοποιημένα T κύτταρα και μονοκύτταρα / μακροφάγα. Η IP-10 εκκρίνεται από διάφορους τύπους κυττάρων συμπεριλαμβανομένων των μονοκυττάρων, των ενδοθηλιακών κυττάρων και των ινοβλαστών. Η έκφραση της IP-10 περιγράφεται σε πολλές φλεγμονώδεις ασθένειες τύπου Th1, όπου πιστεύεται ότι παίζει σημαντικό ρόλο στη στρατολόγηση ενεργοποιημένων T κυττάρων στο σημείο της φλεγμονής στους ιστούς [258].

Η TRAIL είναι μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη που ανήκει στην υπεροικογένεια των TNF και εκφράζεται στην επιφάνεια των κυττάρων φυσικοί φονείς (NK), των T κυττάρων, των μακροφάγων και των δενδριτικών κυττάρων. Η πρωτεΐνη TRAIL μπορεί να αγκιστρωθεί στη μεμβράνη ή μπορεί να απελευθερωθεί ως διαλυτή πρωτεΐνη. Και οι δύο μορφές λειτουργούν ως τριμερή και μπορούν να προκαλέσουν απόπτωση, καθιστώντας την πρωτεΐνη TRAIL σημαντική για τη ρύθμιση της έμφυτης ανοσίας και την ομοιοστάση των T κυττάρων μνήμης [259].

Γίνεται προφανές ότι τόσο η IP-10 όσο και η πρωτεΐνη TRAIL είναι βιοδείκτες που

επάγονται από ιούς και πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι όπως και άλλες ιογενείς ασθένειες, η νόσος COVID-19 προκαλείται μέσω αποκρίσεων ιντερφερόνης [260].

Σε αυτό το πλαίσιο, υποθέσαμε ότι τόσο η IP-10 όσο και η TRAIL ενδέχεται να εμπλέκονται στην παθογένεση και την εξέλιξη της COVID-19 σε σοβαρή νόσο.

Τα αποτελέσματά μας είναι σε συμφωνία με προηγούμενες μελέτες που αναφέρουν ότι οι χαμηλές συγκεντρώσεις TRAIL σχετίζονται με σοβαρή νόσο [261]. Ωστόσο, λόγω της υψηλής βασικής βαρύτητας αυτής της κοόρτης, ο βιοδείκτης αυτός δεν ήταν ειδικός και επομένως, δεν συσχετίστηκε με πρόοδο σε SRF ή θάνατο σε σύγκριση με ασθενείς που ανάρρωσαν [262]. Αντίθετα, εμείς και άλλοι έχουμε δείξει ότι υψηλότερες συγκεντρώσεις IP-10 ανευρίσκονται σε ασθενείς με πνευμονία COVID-19 που εξελίσσονται σε σοβαρή ασθένεια ή θάνατο [263], [264].

Οι Tegethoff et al, υποστήριξαν την ιδέα ότι οι συγκεντρώσεις IP-10 πάνω από 3.000 pg/ml ήταν ένας ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας θνητότητας στη ΜΕΘ. Σε μια μελέτη 132 ασθενών στη Γερμανία, οι βασικές τιμές της IP-10 ήταν σε θέση να προβλέψουν τη δυσμενή έκβαση της νόσου [516]. Τα υψηλά και επίμονα επίπεδα IP-10 υποδηλώνουν ανεξέλεγκτη ιική αναπαραγωγή σε πολλές ιογενείς λοιμώξεις όπως γρίπη, SARS, MERS και πιθανώς COVID-19 [265], [266].

Αν και μια τέτοια έρευνα δεν ήταν εντός του σκοπού της τρέχουσας μελέτης, τα αποτελέσματά μας υποδηλώνουν ότι οι δείκτες ανεξέλεγκτου ιικού πολλαπλασιασμού όπως η IP-10 και όχι μόνο, θα μπορούσαν επίσης να εμπλουτίσουν την προγνωστική εργαλειοθήκη για την καθοδήγηση της θεραπείας με anakinra ή άλλης ανοσοτροποποιητικής θεραπείας. Αυτό πιθανώς υποδηλώνει ότι οι ασθενείς που επωφελούνται περισσότερο από τη θεραπεία με anakinra είναι εκείνοι με τον υψηλότερο βαθμό ιικής αναπαραγωγής.

Από όσο γνωρίζουμε, αυτή είναι η μεγαλύτερη μελέτη μέχρι στιγμής που αξιολογεί την απόδοση της IP-10 σε ασθενείς με COVID-19.

Η απόδοση της IP-10 εξετάστηκε σε δύο κοόρτες (discovery και validation), με την ένταξη και στις δύο ασθενών που περιελήφθησαν προοπτικά. Οι συγκεντρώσεις ορού της IP-10 μπορεί να διαστρωματώσουν τους ασθενείς σε δύο επίπεδα κινδύνου για δυσμενή έκβαση. Ακόμη και στην κοόρτη επιβεβαίωσης (validation cohort) της μελέτης μας, στην

οποία όλοι οι ασθενείς είχαν επίπεδα suPAR 6 ng/ml ή περισσότερο, υποδεικνύοντας ότι υπήρχε ήδη ένας ορισμένος βαθμός ανοσολογικής απορρύθμισης, η IP-10 παρέμενε ισχυρός προγνωστικός δείκτης δυσμενούς έκβασης.

Η θεραπεία με Anakinra θα μπορούσε να μειώσει σημαντικά αυτόν τον κίνδυνο και στα δύο επίπεδα.

Εκτός από το suPAR, όλες οι άλλες προγνωστικές βαθμολογίες που έχουν αναπτυχθεί μέχρι στιγμής απαιτούν μέτρηση μεγάλου αριθμού βιοδεικτών και συνδυασμό με κλινικές και ακτινολογικές παραμέτρους [247], [267], [268], προσέγγιση που είναι δύσκολο να εφαρμοστεί στην κλινική πράξη.

Μετά από τα υψηλά ποσοστά εμβολιασμού, η επιδημιολογία της νόσου μπορεί να έχει αλλάξει και άλλες συννοσηρότητες από αυτές που έχουν ήδη περιγραφεί μπορεί να αυξήσουν τον κίνδυνο για δυσμενή έκβαση. Ο συνδυασμός βιοδεικτών ή ακτινολογικών εξετάσεων μπορεί να αυξήσει το κόστος.

Σε αυτό το πλαίσιο, η μέτρηση ενός μοναδικού βιοδείκτη χαμηλού κόστους, εύκολης εκτέλεσης, όπως της IP-10, με καλή προγνωστική απόδοση, η οποία μπορεί να μετρηθεί γρήγορα και επιτόπια, μπορεί να είναι οικονομικά αποδοτική, αλλά αυτό μένει να αποδειχθεί σε μελλοντικές μελέτες.

Ο κύριος περιορισμός αυτής της μελέτης είναι η αναδρομική ανάλυση της αποτελεσματικότητας της θεραπείας με anakinra όταν η IP-10 είναι 2.000 pg/ml. Αυτό υπόκειται σε μεροληψία επιλογής. Σαφείς απαντήσεις σχετικά με τον ρόλο της IP-10 ως εργαλείου για την επιλογή ασθενών που μπορούν να λάβουν το μεγαλύτερο όφελος από τη θεραπεία με anakinra μπορεί να προκύψουν μόνο από μια μελλοντική προοπτική μελέτη.

Συμπερασματικά, όταν οι μετρήσεις suPAR δεν είναι διαθέσιμες για την πρόβλεψη της εξέλιξης, οι συγκεντρώσεις IP-10 2000 pg/ml ή υψηλότερες μπορεί να θεωρηθούν ως εναλλακτική λύση για την πρόβλεψη του κινδύνου εξέλιξης σε SRF ή θάνατο και πιθανώς να καθοδηγήσουν τη θεραπεία με anakinra στην νόσο COVID-19.

Χρηματοδότηση

Η μελέτη SAVE χρηματοδοτήθηκε εν μέρει από μια ευγενική δωρεά της ναυτιλιακής εταιρείας Technomar, εν μέρει από το Ελληνικό Ινστιτούτο Μελέτης της Σήψης (HISS) και εν μέρει από τη Sobi AB (δημοσιευμένο). Η μελέτη SAVE-MORE χρηματοδοτήθηκε εν μέρει από το Ελληνικό Ινστιτούτο Μελέτης της Σήψης (HISS) και εν μέρει από τη Sobi AB (δημοσίευση). Οι μετρήσεις CRP, IP-10 και TRAIL για τις ανάγκες αυτού του χειρογράφου υποστηρίχθηκαν από την MeMed Diagnostics, Tirat Carmel, Ισραήλ.

«Πρώιμη πρόγνωση δυσμενούς έκβασης σε ασθενείς με νόσο COVID-19»

Η πρωτεΐνη 10 (IP-10) που επάγεται από την ιντερφερόνη-γ για την πρώιμη πρόγνωση του κινδύνου για σοβαρή αναπνευστική ανεπάρκεια και θάνατο στην πνευμονία COVID-19

Περίληψη

Στόχοι:

Οι αυξημένες συγκεντρώσεις του διαλυτού υποδοχέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης (suPAR) μπορούν να προβλέψουν την εξέλιξη σε σοβαρή αναπνευστική ανεπάρκεια (SRF) ή θάνατο σε ασθενείς με πνευμονία COVID-19 και να καθοδηγήσουν την έναρξη πρώιμης θεραπείας με anakinra.

Καθώς η δοκιμασία suPAR μπορεί να μην είναι συχνά διαθέσιμη σε κάθε χώρο παροχής φροντίδας υγείας, χρειάζονται εναλλακτικοί βιοδείκτες.

Διερευνήσαμε την απόδοση της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP), της επαγόμενης από ιντερφερόνη-γ πρωτεΐνης-10 (IP-10) και του συνδέτη που επάγει απόπτωση σχετιζόμενη με τον TNF (TRAIL) για την πρόβλεψη SRF ή θανάτου στην COVID-19.

Μέθοδοι

Δύο σειρές (κοόρτης) ασθενών μελετήθηκαν. Η μία κοόρτη αφορούσε τους ασθενείς της προς διερεύνηση ομάδας ενδιαφέροντος (discovery cohort) και η δεύτερη τους ασθενείς της ομάδας επικύρωσης (validation cohort). Η πρώτη κοόρτη περιελάμβανε 534 ασθενείς από την κλινική μελέτη SAVE-MORE και δεύτερη κοόρτη (ομάδα ελέγχου) 364 ασθενείς από τη μελέτη SAVE συμπεριλαμβανομένων των 145 προς σύγκριση. Η CRP, η IP-10 και η πρωτεΐνη TRAIL μετρήθηκαν από την πλατφόρμα MeMed Key® προκειμένου να επιλεγεί ο βιοδείκτης με την καλύτερη προγνωστική απόδοση για την έγκαιρη πρόβλεψη της εξέλιξης σε SRF ή θάνατο.

Αποτελέσματα

Η IP-10 είχε την καλύτερη προγνωστική απόδοση: Βασικές συγκεντρώσεις IP-10 ≥ 2000 pg/ml προέβλεπαν εξίσου καλά με το suPAR (ευαισθησία 85,0 %, αρνητική προγνωστική αξία 96,6 %). Ο λόγος πιθανοτήτων (OR) για κακή έκβαση μεταξύ των συμμετεχόντων που έλαβαν θεραπεία με anakinra στη μελέτη SAVE-MORE ήταν 0,35 σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο όταν η τιμή της IP-10 ήταν 2.000 pg/ml ή περισσότερο. Η IP-10 μπορούσε να διακρίνει μεταξύ διαφορετικών επιπέδων βαρύτητας για SRF/θάνατο κατά την 14η ημέρα στην ομάδα επιβεβαίωσης. Η θεραπεία με Anakinra μείωσε αυτόν τον κίνδυνο ανεξάρτητα από τις συγκεντρώσεις IP-10.

Συμπεράσματα:

Οι συγκεντρώσεις IP-10 2.000 pg/ml ή υψηλότερες αποτελούν μια έγκυρη εναλλακτική έναντι του suPAR για την έγκαιρη πρόβλεψη της εξέλιξης σε SRF ή θάνατο τις πρώτες 14 ημέρες από την εισαγωγή στο νοσοκομείο για COVID-19 και μπορεί να καθοδηγούν τη θεραπεία με anakinra.

**“Early prediction of unfavorable outcome in patients with COVID-19 disease”
Interferon gamma-induced protein 10 (IP-10) for the early prognosis of the risk for
severe respiratory failure and death in COVID-19 pneumonia.**

Summary

Objectives: Elevated concentrations of soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) predict progression to severe respiratory failure (SRF) or death among patients with COVID-19 pneumonia and guide early anakinra treatment. As suPAR testing may not be routinely available in every health-care setting, alternative biomarkers are needed. We investigated the performance of C-reactive protein (CRP), interferon gamma-induced protein-10 (IP-10) and TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) for predicting SRF or death in COVID-19.

Methods: Two cohorts were studied; one discovery cohort with 534 patients from the SAVE-MORE clinical trial; and one validation cohort with 364 patients from the SAVE trial including also 145 comparators. CRP, IP-10 and TRAIL were measured by the MeMed Key® platform in order to select the biomarker with the best prognostic performance for the early prediction of progression into SRF or death.

Results: IP-10 had the best prognostic performance: baseline concentrations 2000 pg/ml or higher predicted equally well to suPAR (sensitivity 85.0 %; negative predictive value 96.6 %). Odds ratio for poor outcome among anakinra-treated participants of the SAVE-MORE trial was 0.35 compared to placebo when IP-10 was 2,000 pg/ml or more. IP-10 could divide different strata of severity for SRF/death by day 14 in the validation cohort. Anakinra treatment decreased this risk irrespective the IP-10 concentrations.

Conclusions: IP-10 concentrations of 2,000 pg/ml or higher are a valid alternative to suPAR for the early prediction of progression into SRF or death the first 14 days from hospital admission for COVID-19 and they may guide anakinra treatment.

Βιβλιογραφία

- 1]. Laboratory testing for 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in suspected human cases". World Health Organization (WHO).
- [2] Vos ERA, den Hartog G, Schepp RM, Kaaijk P, van Vliet J, Helm K, Smits G, Wijmenga-Monsuur A, Verberk JDM, van Boven M, van Binnendijk RS, de Melker HE, Mollema L, van der Klis FRM. Nationwide seroprevalence of SARS-CoV-2 and identification of risk factors in the general population of the Netherlands during the first epidemic wave. *J Epidemiol Community Health*. 2020 Nov 28;75(6):489–95.
- [3] https://www.healthdata.org/sites/default/files/files/1_briefing_Global_5.pdf
- [4]. Edouard Mathieu, Hannah Ritchie, Lucas Rodés-Guirao, Cameron Appel, Charlie Giattino, Joe Hasell, Bobbie Macdonald, Saloni Dattani, Diana Beltekian, Esteban Ortiz-Ospina and Max Roser (2020) - "Coronavirus Pandemic (COVID-19)". 'https://ourworldindata.org/coronavirus'
- [5]. "COVID-19 Projections". Institute for Health Metrics and Evaluation. Retrieved 20 January 2022.
- [6] Rothan HA, Byrareddy SN. The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak. *J Autoimmun*. 2020 May;109:102433.
- [7] Yanez ND, Weiss NS, Romand JA, Treggiari MM. COVID-19 mortality risk for older men and women. *BMC Public Health*. 2020 Nov 19;20(1):1742.
- [8]. Mallapaty, Smriti. "How deadly is the coronavirus? Scientists are close to an answer." *Nature* 582 (2020): 467-468.
- [9] Levin AT, Hanage WP, Owusu-Boaitey N, Cochran KB, Walsh SP, Meyerowitz-Katz G. Assessing the age specificity of infection fatality rates for COVID-19: systematic review, meta-analysis, and public policy implications. *Eur J Epidemiol*. 2020 Dec;35(12):1123-1138.
- [10] Lazzerini M, Putoto G. COVID-19 in Italy: momentous decisions and many uncertainties. *Lancet Glob Health*. 2020 May;8(5):e641-e642
- [11] Spence ND, Sekercioglu F (31 August 2022). *Indigenous Health and Well-Being in the COVID-19 Pandemic*. Taylor & Francis. ISBN 978-1-000

- [12]. Loomba P, Wattal C, Chakravarti A, Dutta S, Chhabra M, Kale P, et al. Can the march of COVID-19 be halted. *Indian J Med Microbiol* 2020;38(1):128–33.
- [13] Shereen MA, Khan S, Kazmi A, Bashir N, Siddique R. COVID-19 infection: origin, transmission, and characteristics of human coronaviruses. *J Adv Res* 2020;24:91-8.
- [14] Banerjee I, Mohabeer P, Shukla A, Kashyap A, Robinson J. COVID-19: recent advances in epidemiology, virology, etiopathogenesis, clinical trials and vaccine development. *J Biomed Sci* 2020;7(1):18–27..
- [15] Cui, J., Li, F. & Shi, ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol* 17, 181–192 (2019).
- [16]. Kim D, Lee JY, Yang JS, Kim JW, Kim VN, Chang H. The architecture of SARS-CoV-2 transcriptome. *Cell*. 2020;181:914–21.e10
- [17]. Hartenian E, Nandakumar D, Lari A, Ly M, Tucker JM, Glaunsinger BA. The molecular virology of coronaviruses. *J Biol Chem* (2020) 295(37):12910–34.
- [18]. Eckerle LD, Becker MM, Halpin RA, et al.: Infidelity of SARS-CoV Nsp14 exonuclease mutant virus replication is revealed by complete genome sequencing. *PLoS Pathog*. 6:e1000896 2010 20463816
- [19]. Kadam SB, Sukhramani GS, Bishnoi P, Pable AA, Barvkar VT. SARS-CoV-2, the pandemic coronavirus: molecular and structural insights. *J Basic Microbiol* (2021) 61 (3):180–202.
- [20]. Masters PS. The molecular biology of coronaviruses, ume 66. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier; 2006. p. 193–292
- [21]. Yadav R, Chaudhary JK, Jain N, Chaudhary PK, Khanra S, Dhamija P, Sharma A, Kumar A, Handu S. Role of structural and non-structural proteins and therapeutic targets of SARS-CoV-2 for COVID-19. *Cells* 2021;10:821.,
- [22]. Lamers MM, Haagmans BL. SARS-CoV-2 pathogenesis. *Nat Rev Microbiol* (2022) 20(5):270–84
- [23]. Duan L, Zheng Q, Zhang H, Niu Y, Lou Y, Wang H. The SARS-CoV-2 spike glycoprotein biosynthesis, structure, function, and antigenicity: implications for the design of spike-based vaccine immunogens. *Front Immunol* (2020) 11:576622.

- [24]. Glowacka I, Bertram S, Müller MA, et al. Evidence that TMPRSS2 activates the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein for membrane fusion and reduces viral control by the humoral immune response. *J Virol* 2011;85(9): 4122–34
- [25]. Qi H, Liu B, Wang X, Zhang L. The humoral response and antibodies against SARS-CoV-2 infection. *Nat Immunol* (2022) 23(7):1008–20.
- [26]. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell* (2020) 181(2):271–280.e8.
- [27]. Peacock TP, Goldhill DH, Zhou J, Baillon L, Frise R, Swann OC, et al. The furin cleavage site in the SARS-CoV-2 spike protein is required for transmission in ferrets. *Nat Microbiol* (2021) 6(7):899–909.
- [28]. Zhou S, Lv P, Li M, Chen Z, Xin H, Reilly S, et al. SARS-CoV-2 e protein: pathogenesis and potential therapeutic development. *Biomedicine Pharmacotherapy*. (2023) 159:114242.
- [29] Ou, X. et al. Characterization of spike glycoprotein of SARS-CoV-2 on virus entry and its immune cross-reactivity with SARS-CoV. *Nat. Commun.* 11, 1620 (2020).
- [30] [https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-](https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2)
- [31] Galloway SE, Paul P, MacCannell DR, Johansson MA, Brooks JT, MacNeil A, Slayton RB, Tong S, Silk BJ, Armstrong GL, Biggerstaff M, Dugan VG. Emergence of SARS-CoV-2 B.1.1.7 Lineage - United States, December 29, 2020-January 12, 2021. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2021 Jan 22;70(3):95-99.
- [32]. Davies NG, Abbott S, Barnard RC, Jarvis CI, Kucharski AJ, Munday JD, Pearson CAB, Russell TW, Tully DC, Washburne AD, Wenseleers T, Gimma A, Waites W, Wong KLM, van Zandvoort K, Silverman JD, CMMID COVID-19 Working Group. COVID-19
- [33]. Davies NG, Barnard RC, Jarvis CI, Russell TW, Semple MG, Jit M, Edmunds WJ; Centre for Mathematical Modelling of Infectious Diseases COVID-19 Working Group; ISARIC4C investigators. Association of tiered restrictions and a second lockdown with COVID-19 deaths and hospital admissions in England: a modelling study. *Lancet Infect Dis.* 2021 Apr;21(4):482-492.

- [34]. Challen R, Brooks-Pollock E, Read JM, Dyson L, Tsaneva-Atanasova K, Danon L. Risk of mortality in patients infected with SARS-CoV-2 variant of concern 202012/1: matched cohort study. *BMJ*. 2021 Mar 09;372:n579.
- [35]. Wibmer CK, Ayres F, Hermanus T, Madzivhandila M, Kgagudi P, Oosthuysen B, Lambson BE, de Oliveira T, Vermeulen M, van der Berg K, Rossouw T, Boswell M, Ueckermann V, Meiring S, von Gottberg A, Cohen C, Morris L, Bhiman JN, Moore PL. SARS-CoV-2 501Y.V2 escapes neutralization by South African COVID-19 donor plasma. *bioRxiv*. 2021 Mar 01
- [36]. Wang P, Casner RG, Nair MS, Wang M, Yu J, Cerutti G, Liu L, Kwong PD, Huang Y, Shapiro L, Ho DD. Increased Resistance of SARS-CoV-2 Variant P.1 to Antibody Neutralization. *bioRxiv*. 2021 Apr 09
- [37]. Faria NR, Mellan TA, et al. Genomics and epidemiology of a novel SARS-CoV-2 lineage in Manaus, Brazil. *medRxiv*. 2021 Mar 03
- [38]. Callaway E. Heavily mutated Omicron variant puts scientists on alert. *Nature*. 2021 Dec;600(7887):21.
- [39]. Yue C, Song W, Wang L, Jian F, Chen X, Gao F, Shen Z, Wang Y, Wang X, Cao Y. ACE2 binding and antibody evasion in enhanced transmissibility of XBB.1.5. *Lancet Infect Dis*. 2023 Mar;23(3):278-280.
- [40]. Taguchi T, Mukai K. Innate immunity signalling and membrane trafficking. *Curr Opin. Cell Biol*. 2019;59:1–7.
- [41]. Weber F. *Encyclopedia of Virology*. Elsevier; Amsterdam, The Netherlands: 2021. Antiviral Innate Immunity: Introduction; pp. 577–583.
- [42]. Janeway, C.A., Jr. Approaching the asymptote? Evolution and revolution in immunology. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol*. 1989, 54, 1–13
- [43]. Brubaker, S.W.; Bonham, K.S.; Zanoni, I.; Kagan, J.C. Innate immune pattern recognition: A cell biological perspective. *Annu. Rev. Immunol*. 2015, 33, 257–290.
- [44]. Gasteiger, G.; D’Ousaldo, A.; Schubert, D.A.; Weber, A.; Bruscia, E.M.; Hartl, D. Cellular Innate Immunity: An Old Game with New Players. *J. Innate Immun*. 2017, 9.
- [45]. Kawai, T.; Akira, S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: Update on Toll-like receptors. *Nat. Immunol*. 2010, 11, 373–384.

- [46]. Amarante-Mendes, G.P.; Adjemian, S.; Branco, L.M.; Zanetti, L.C.; Weinlich, R.; Bortoluci, K.R. Pattern Recognition Receptors and the Host Cell Death Molecular Machinery. *Front. Immunol.* 2018, 9, 2379.
- [47]. Sonnenberg, G.F.; Hepworth, M.R. Functional interactions between innate lymphoid cells and adaptive immunity. *Nat. Rev. Immunol.* 2019, 19, 599–613.
- [48]. Karki R, Sharma BR, Tuladhar S, Williams EP, Zalduondo L, Samir P, Zheng M, Sundaram B, Banoth B, Malireddi RKS, Schreiner P, Neale G, Vogel P, Webby R, Jonsson CB, Kanneganti TD. Synergism of TNF- α and IFN- γ Triggers Inflammatory Cell Death, Tissue Damage, and Mortality in SARS-CoV-2 Infection and Cytokine Shock Syndromes. *Cell.* 2021 Jan 7;184(1):149-168.e17.
- [49]. Brubaker S.W., Bonham K.S., Zanoni I., Kagan J.C. Innate Immune Pattern Recognition: A Cell Biological Perspective. *Annu. Rev. Immunol.* 2015;33:257–290.
- [50]. Schulz KS, Mossman KL. Viral Evasion Strategies in Type I IFN Signaling - A Summary of Recent Developments. *Front Immunol.* 2016 Nov 11;7:498.
- [51]. Schneider WM, Chevillotte MD, Rice CM. Interferon-stimulated genes: a complex web of host defenses. *Annu Rev Immunol.* 2014;32:513-45.
- [52]. Oeckinghaus A, Ghosh S. The NF-kappaB family of transcription factors and its regulation. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2009 Oct;1(4):a000034
- [53]. Liu T, Zhang L, Joo D, Sun SC. NF- κ B signaling in inflammation. *Signal Transduct Target Ther.* 2017;2:17023
- [54]. Kumar R, Khandelwal N, Thachamvally R, Tripathi BN, Barua S, Kashyap SK, Maherchandani S, Kumar N. Role of MAPK/MNK1 signaling in virus replication. *Virus Res.* 2018 Jul 15;253:48-61.
- [55]. Takaoka A., Yamada T. Regulation of Signaling Mediated by Nucleic Acid Sensors for Innate Interferon-Mediated Responses during Viral Infection. *Int. Immunol.* 2019;31:477–488.
- [56]. -Anaigoudari A., Mollaei H.R., Arababadi M.K., Nosratabadi R. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2: The Role of the Main Components of the Innate Immune System. *Inflammation.* 2021;44:2151–2169.

- [57]. Ivashkiv, L.B.; Donlin, L.T. Regulation of type I interferon responses. *Nat. Rev. Immunol.* 2014, 14, 36–49.
64. Blander, J.M. A long-awaited merger of the pathways mediating host defence and programmed cell death. *Nat. Rev. Immunol.* 2014, 14, 601–618
- [58]. Lazear H.M., Schoggins J.W., Diamond M.S. Shared and Distinct Functions of Type I and Type III Interferons. *Immunity.* 2019;50:907–923.
- [59]. Schindler C., Levy D.E., Decker T. JAK-STAT Signaling: From Interferons to Cytokines. *J. Biol. Chem.* 2007;282:20059–20063.
- [60]. Samuel CE. Antiviral actions of interferons. *Clin Microbiol Rev.* 2001 Oct;14(4):778-809.
- [61]. Verburg SG, Lelievre RM, Westerveld MJ, Inkol JM, Sun YL, Workenhe ST. Viral-mediated activation and inhibition of programmed cell death. *PLoS Pathog.* 2022 Aug 11;18(8):e1010718.
- [62]. Schoggins J.W. Interferon-Stimulated Genes: What Do They All Do? *Annu. Rev. Virol.* 2019;6:567–584.
- [63]. Mechanisms of action of interferon and nucleoside analogues Thomas, Howard et al. *Journal of Hepatology*, Volume 39, 93 – 98
- [64]. Diamond, M., Farzan, M. The broad-spectrum antiviral functions of IFIT and IFITM proteins. *Nat Rev Immunol* 13, 46–57 (2013)
- [65]. George CX, Gan Z, Liu Y, Samuel CE. Adenosine deaminases acting on RNA, RNA editing, and interferon action. *J Interferon Cytokine Res.* 2011 Jan;31(1):99-117.
- [66]. Gokhale NS, Smith JR, Van Gelder RD, Savan R. RNA regulatory mechanisms that control antiviral innate immunity. *Immunol Rev.* 2021 Nov;304(1):77-96
- [67]. Freed EO, Gale M Jr. Antiviral innate immunity: editorial overview. *J Mol Biol.* 2014 Mar 20;426(6):1129-32.
- [68] Perng, YC., Lenschow, D.J. ISG15 in antiviral immunity and beyond. *Nat Rev Microbiol* 16, 423–439 (2018)
- [69]. Sajid M, Ullah H, Yan K, He M, Feng J, Shereen MA, Hao R, Li Q, Guo D, Chen Y, Zhou L. The Functional and Antiviral Activity of Interferon Alpha-Inducible IFI6 Against

Hepatitis B Virus Replication and Gene Expression. *Front Immunol.* 2021 Apr 1;12:634937.

[70]. Lisa M. Sedger, Donna M. Shows, Rebecca A. Blanton, Jacques J. Peschon, Ray G. Goodwin, David Cosman, Steven R. Wiley; IFN- γ Mediates a Novel Antiviral Activity Through Dynamic Modulation of TRAIL and TRAIL Receptor Expression. *J Immunol* 15 July 1999; 163 (2): 920–926.

[71]. Channappanavar, R.; Fehr, A.R.; S. Dysregulated Type I Interferon and Inflammatory Monocyte-Macrophage Responses Cause Lethal Pneumonia in SARS-CoV-Infected Mice. *Cell Host Microbe* 2016, 19, 181–193.

[72]. Lee, J.S.; Park, S.; Jeong, H.W.; Ahn, J.Y.; Choi, S.J.; Lee, H.; Choi, B.; Nam, S.K.; Sa, M.; Kwon, J.S.; et al. Immunophenotyping of COVID-19 and influenza highlights the role of type I interferons in development of severe COVID-19. *Sci. Immunol.* 2020, 5, eabd1554.

[72]. Schultze JL, Aschenbrenner AC. COVID-19 and the human innate immune system. *Cell.* 2021 Apr 1;184(7):1671-1692.

[73]. Shin, D.; Mukherjee, R.; Grewe, D.; Bojkova, D.; Baek, K.; Bhattacharya, A.; Schulz, L.; Wiedera, M.; Mehdipour, A.R.; Tascher, G.; et al. Papain-like protease regulates SARS-CoV-2 viral spread and innate immunity. *Nature* 2020, 587, 657–662.

[74]. Liu, Y.; Qin, C.; Rao, Y.; Ngo, C.; Feng, J.J.; Zhao, J.; Zhang, S.; Wang, T.Y.; Carriere, J.; Savas, A.C.; et al. SARS-CoV-2 Nsp5 Demonstrates Two Distinct Mechanisms Targeting RIG-I and MAVS To Evade the Innate Immune Response. *mBio* 2021, 12, e0233521.

[75]. Fung, S.Y.; Siu, K.L.; Lin, H.; Yeung, M.L.; Jin, D.Y. SARS-CoV-2 main protease suppresses type I interferon production by preventing nuclear translocation of phosphorylated IRF3. *Int. J. Biol. Sci.* 2021, 17, 1547–1554

[76]. Suleman M, Ishaq I, Khan H, Ullah Khan S, Masood R, Albekairi NA, Alshammari A, Crovella S. Elucidating the binding mechanism of SARS-CoV-2 NSP6-TBK1 and structure-based designing of phytocompounds inhibitors for instigating the host immune response. *Front Chem.* 2024 Jan 16;11:1346796.

- [77]. Minkoff, J.M., tenOever, B. Innate immune evasion strategies of SARS-CoV-2. *Nat Rev Microbiol* 21, 178–194 (2023).
- [78]. Wang, W., Zhou, Z., Xiao, X. et al. SARS-CoV-2 nsp12 attenuates type I interferon production by inhibiting IRF3 nuclear translocation. *Cell Mol Immunol* 18, 945–953 (2021).
- [79]. Devarkar, S.C.; Wang, C.; Miller, M.T.; Ramanathan, A.; Jiang, F.; Khan, A.G.; Patel, S.S.; Marcotrigiano, J. Structural basis for m7G recognition and 2'-O-methyl discrimination in capped RNAs by the innate immune receptor RIG-I. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2016, 113, 596–601.
- [80]. Wilamowski, M.; Sherrell, D.A.; Minasov, G.; Kim, Y.; Shuvalova, L.; Lavens, A.; Chard, R.; Maltseva, N.; Jedrzejczak, R.; Rosas-Lemus, M.; et al. 2'-O methylation of RNA cap in SARS-CoV-2 captured by serial crystallography. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2021, 118, e2100170118
- [81]. Fu, Y.Z.; Wang, S.Y.; Zheng, Z.Q.; Yi, H.; Li, W.W.; Xu, Z.S.; Wang, Y.Y. SARS-CoV-2 membrane glycoprotein M antagonizes the MAVS-mediated innate antiviral response. *Cell Mol. Immunol.* 2021, 18, 613–620.
- [202]. Chen, K.; Xiao, F.; Hu, D.; Ge, W.; Tian, M.; Wang, W.; Pan, P.; Wu, K.; Wu, J. SARS-CoV-2 Nucleocapsid Protein Interacts with RIG-I and Represses RIG-Mediated IFN-beta Production. *Viruses* 2020, 13, 47. .
- [82]. Shin D., Mukherjee R., Grewe D., Bojkova D., Baek K., Bhattacharya A., Schulz L., Widera M., Mehdipour A.R., Tascher G., et al. Papain-like Protease Regulates SARS-CoV-2 Viral Spread and Innate Immunity. *Nature*. 2020;587:657–662.
- [83]. Konno, Y.; Kimura, I.; Uriu, K.; Fukushi, M.; Irie, T.; Koyanagi, Y.; Sauter, D.; Gifford, R.J.; Consortium, U.-C.; Nakagawa, S.; et al. SARS-CoV-2 ORF3b Is a Potent Interferon Antagonist Whose Activity Is Increased by a Naturally Occurring Elongation Variant. *Cell Rep.* 2020, 32, 108185, 28344–28354.
- [84]. Konno, Y.; Kimura, I.; Uriu, K.; Fukushi, M.; Irie, T.; Koyanagi, Y.; Sauter, D.; Gifford, R.J.; Consortium, U.-C.; Nakagawa, S.; et al. SARS-CoV-2 ORF3b Is a Potent Interferon Antagonist Whose Activity Is Increased by a Naturally Occurring Elongation Variant. *Cell Rep.* 2020, 32, 108185, 28344–28354.

- [85]. Han, L.; Zhuang, M.W.; Deng, J.; Zheng, Y.; Zhang, J.; Nan, M.L.; Zhang, X.J.; Gao, C.; Wang, P.H. SARS-CoV-2 ORF9b antagonizes type I and III interferons by targeting multiple components of the RIG-I/MDA-5-MAVS, TLR3-TRIF, and cGAS-STING signaling pathways. *J. Med. Virol.* 2021, 93, 5376–5389
- [86]. Cortese, M.; Lee, J.Y.; Cerikan, B.; Neufeldt, C.J.; Oorschot, V.M.J.; Kohrer, S.; Hennies, J.; Schieber, N.L.; Ronchi, P.; Mizzon, G.; et al. Integrative Imaging Reveals SARS-CoV-2-Induced Reshaping of Subcellular Morphologies. *Cell Host Microbe* 2020, 28, 853–866
- [87]. Xia, H.; Cao, Z.; Xie, X.; Zhang, X.; Chen, J.Y.; Wang, H.; Menachery, V.D.; Rajsbaum, R.; Shi, P.Y. Evasion of Type I Interferon by SARS-CoV-2. *Cell Rep.* 2020, 33, 108234.
- [88]. Lin, J.W.; Tang, C.; Wei, H.C.; Du, B.; Chen, C.; Wang, M.; Zhou, Y.; Yu, M.X.; Cheng, L.; Kuivanen, S.; et al. Genomic monitoring of SARS-CoV-2 uncovers an Nsp1 deletion variant that modulates type I interferon response. *Cell Host Microbe* 2021, 29, 489–502.
- [89]. Russo, L.C.; Tomasin, R.; Matos, I.A.; Manucci, A.C.; Sowa, S.T.; Dale, K.; Caldecott, K.W.; Lehtio, L.; Schechtman, D.; Meotti, F.C.; et al. The SARS-CoV-2 Nsp3 macrodomain reverses PARP9/DTX3L-dependent ADP-ribosylation induced by interferon signaling. *J. Biol. Chem.* 2021, 297, 101041.
- [90]. Hayn, M.; Hirschenberger, M.; Koepke, L.; Nchioua, R.; Straub, J.H.; Klute, S.; Hunszinger, V.; Zech, F.; Prelli Bozzo, C.; Aftab, W.; et al. Systematic functional analysis of SARS-CoV-2 proteins uncovers viral innate immune antagonists and remaining vulnerabilities. *Cell Rep.* 2021, 35, 109126.
- [91]. Yuen, C.K.; Lam, J.Y.; Wong, W.M.; Mak, L.F.; Wang, X.; Chu, H.; Cai, J.P.; Jin, D.Y.; To, K.K.; Chan, J.F.; et al. SARS-CoV-2 nsp13, nsp14, nsp15 and orf6 function as potent interferon antagonists. *Emerg. Microbes Infect.* 2020, 9, 1418–1428.
- [92]. Li, J.Y.; Liao, C.H.; Wang, Q.; Tan, Y.J.; Luo, R.; Qiu, Y.; Ge, X.Y. The ORF6, ORF8 and nucleocapsid proteins of SARS-CoV-2 inhibit type I interferon signaling pathway. *Virus Res.* 2020, 286, 198074

- [93]. Zhang, K.; Miorin, L.; Makio, T.; Dehghan, I.; Gao, S.; Xie, Y.; Zhong, H.; Esparza, M.; Kehrer, T.; Kumar, A.; et al. Nsp1 protein of SARS-CoV-2 disrupts the mRNA export machinery to inhibit host gene expression. *Sci. Adv.* 2021, 7, eabe7386.
- [94]. Burke, J.M.; St Clair, L.A.; Perera, R.; Parker, R. SARS-CoV-2 infection triggers widespread host mRNA decay leading to an mRNA export block. *RNA* 2021, 27, 1318–1329.
- [95]. Koepke L, Hirschenberger M, Hayn M, Kirchhoff F, Sparrer KM. Manipulation of autophagy by SARS-CoV-2 proteins. *Autophagy*. 2021 Sep;17(9):2659-2661.
- [96]. Zhang, Y.; Chen, Y.; Li, Y.; Huang, F.; Luo, B.; Yuan, Y.; Xia, B.; Ma, X.; Yang, T.; Yu, F.; et al. The ORF8 protein of SARS-CoV-2 mediates immune evasion through down-regulating MHC-Iota. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2021, 118, e2024202118.
- [97] Rajah MM, Bernier A, Buchrieser J, Schwartz O. The Mechanism and Consequences of SARS-CoV-2 Spike-Mediated Fusion and Syncytia Formation. *J Mol Biol.* 2022 Mar 30;434(6):167280.
- [98].. Harvey, W.T.; Carabelli, A.M.; Jackson, B.; Gupta, R.K.; Thomson, E.C.; Harrison, E.M.; Ludden, C.; Reeve, R.; Rambaut, A.; Consortium, C.-G.U.; et al. SARS-CoV-2 variants, spike mutations and immune escape. *Nat. Rev. Microbiol.* 2021, 19, 409–424
- [99]. Ragab D, et al. The COVID-19 cytokine storm; what we know so far. *Front Immunol.* 2020;11:1446.
- [100]. Channappanavar R, Perlman S. Pathogenic human coronavirus infections: causes and consequences of cytokine storm and immunopathology. *Semin Immunopathol* 2017; 39:529–39.
- [101]. Prompetchara E, Ketloy C, Palaga T. Immune responses in COVID-19 and potential vaccines: lessons learned from SARS and MERS epidemic. *Asian Pac J Allergy Immunol* 2020; 38:1–9.
- [102]. Wei WE, Li Z, Chiew CJ, Yong SE, Toh MP, Lee VJ. Presymptomatic transmission of SARS-CoV-2—Singapore, January 23–March 16, 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2020; 69:411–5.

- [103]. Ruan Q, Yang K, Wang W, Jiang L, Song J. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China. *Intens Care Med* 2020; 46:846–8.
- [104]. Ye Q, Wang B, Mao J. The pathogenesis and treatment of the 'Cytokine Storm' in COVID-19. *J Infect.* 2020 Jun;80(6):607-613
- [105]. Chen CH, Lin SW, Shen CF, Hsieh KS, Cheng CM. Biomarkers during COVID-19: mechanisms of change and implications for patient outcomes. *Diagnostics (Basel)* (2022) 12(2):509.
- [106]. Ferrara JL, Abhyankar S, Gilliland DG. Cytokine storm of graft-versus-host disease: a critical effector role for interleukin-1. *Transplant Proc.* 1993 Feb;25(1 Pt 2):1216-7.
- [107]. Clark IA. The advent of the cytokine storm. *Immunol Cell Biol.* 2007 Jun;85(4):271-3.
- [108]. Osterholm MT. Preparing for the next pandemic. *N Engl J Med.* 2005 May 5;352(18):1839-42.
- [109]. Coley WB. The treatment of malignant tumors by repeated inoculations of erysipelas. With a report of ten original cases. 1893. *Clin Orthop Relat Res.* 1991 Jan;(262):3-11.
- [110]. Huang KJ, Su IJ, Theron M, Wu YC, Lai SK, Liu CC, Lei HY. An interferon-gamma-related cytokine storm in SARS patients. *J Med Virol.* 2005 Feb;75(2):185-94.
- [111]. Haque A, Hober D, Kasper LH. Confronting potential influenza A (H5N1) pandemic with better vaccines. *Emerg Infect Dis.* 2007 Oct;13(10):1512-8.
- [112]. Chatenoud L, Ferran C, Bach JF. The anti-CD3-induced syndrome: a consequence of massive in vivo cell activation. *Curr Top Microbiol Immunol.* 1991;174:121-34.
- [113]. Morgan RA, Yang JC, Kitano M, Dudley ME, Laurencot CM, Rosenberg SA. Case report of a serious adverse event following the administration of T cells transduced with a chimeric antigen receptor recognizing ERBB2. *Mol Ther.* 2010 Apr;18(4):843-51.

- [114]. Zoller EE, Lykens JE, Terrell CE, Aliberti J, Filipovich AH, Henson PM, Jordan MB. Hemophagocytosis causes a consumptive anemia of inflammation. *J Exp Med*. 2011 Jun 6;208(6):1203-14
- [115]. Perez N, Virelizier JL, Arenzana-Seisdedos F, Fischer A, Griscelli C. Impaired natural killer activity in lymphohistiocytosis syndrome. *J Pediatr*. 1984 Apr;104(4):569-73.
- [116]. Sallusto F. Heterogeneity of Human CD4(+) T Cells Against Microbes. *Annu Rev Immunol*. 2016 May 20;34:317-34.
- [117]. Jordan MB, Hildeman D, Kappler J, Marrack P. An animal model of hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH): CD8+ T cells and interferon gamma are essential for the disorder. *Blood*. 2004 Aug 1;104(3):735-43.
- [118]. Kumar R, Thompson EB. Gene regulation by the glucocorticoid receptor: structure: function relationship. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2005;94:383–94.
- [119]. Grad I, Picard D. The glucocorticoid responses are shaped by molecular chaperones. *Mol Cell Endocrinol*. 2007;275:2–12.
- [120]. Pratt WB, Toft DO. Steroid receptor interactions with heat shock protein and immunophilin chaperones. *Endocr Rev*. 1997;18:306–60.
- [121]. Ramamoorthy S, Cidlowski JA. Exploring the molecular mechanisms of glucocorticoid receptor action from sensitivity to resistance. *Endocr Dev*. 2013;24:41-56.
- [122]. Uhlenhaut NH, Barish GD, Yu RT, Downes M, Karunasiri M, Liddle C, et al. Insights into negative regulation by the glucocorticoid receptor from genome-wide profiling of inflammatory cistromes. *Mol Cell*. 2013;49:158–71.
- [123]. Rogatsky I, Ivashkiv LB. Glucocorticoid modulation of cytokine signaling. *Tissue Antigens*. 2006;68:1–12.26
- [124]. Groeneweg FL, Karst H, de Kloet ER, Joels M. Mineralocorticoid and glucocorticoid receptors at the neuronal membrane, regulators of nongenomic corticosteroid signaling. *Mol Cell Endocrinol*. 2012;350:299–309.
- [125]. Immunosuppression by Glucocorticoids: Inhibition of NF- κ B Activity Through Induction of I κ B Synthesis. *Science* 270,286-290(1995).

- [126]. Barnes PJ. How corticosteroids control inflammation: Quintiles Prize Lecture 2005. *Br J Pharmacol*. 2006 Jun;148(3):245-54.
- [127]. Rhen, Turk & Cidlowski, John. (2005). Antiinflammatory Action of Glucocorticoids — New Mechanisms for Old Drugs. *The New England journal of medicine*. 353. 1711-23. 10.1056/NEJMr050541.
- [128]. Hämäläinen M, Lilja R, Kankaanranta H, Moilanen E. Inhibition of iNOS expression and NO production by anti-inflammatory steroids. Reversal by histone deacetylase inhibitors. *Pulm Pharmacol Ther*. 2008;21(2):3319
- [129]. Perretti, M., D'Acquisto, F. Annexin A1 and glucocorticoids as effectors of the resolution of inflammation. *Nat Rev Immunol* 9, 62–70 (2009).
- [130]. Auphan N, DiDonato JA, Rosette C, Helmberg A, Karin M. Immunosuppression by glucocorticoids: inhibition of NF-kappa B activity through induction of I kappa B synthesis. *Science*. 1995 Oct 13;270(5234):286-90.
- [131]. Smith SF. Lipocortin 1: glucocorticoids caught in the act? *Thorax*. 1996 Oct;51(10):1057-9.
- [132]. Adcock IM, Ito K. Molecular mechanisms of corticosteroid actions. *Monaldi Arch Chest Dis*. 2000 Jun;55(3):256-66. 24) Li LB, Leung DY, Martin RJ, Goleva E. Inhibition of histone deacetylase 2 expression by elevated glucocorticoid receptor beta in steroid-resistant asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010 Oct 1;182(7):877-83.
- [133]. Newton R. Molecular mechanisms of glucocorticoid action: what is important? *Thorax*. 2000 Jul;55(7):603-13
- [134]. Russell CD, Millar JE, Baillie JK. Clinical evidence does not support corticosteroid treatment for 2019-nCoV lung injury. *The Lancet* 2020;395:473–5.
- [135]. World Health Organization. Clinical management of severe acute respiratory infection when novel coronavirus (nCoV) infection is suspected, 2020.
- [136]. Implementation of corticosteroids in treatment of COVID-19 in the ISARIC WHO Clinical Characterisation Protocol UK: prospective, cohort study Närhi, FiinaBaillie, J Kenneth et al. *The Lancet Digital Health*, Volume 4, Issue 4, e220 - e234 5

- [137]. WHO Rapid Evidence Appraisal for COVID-19 Therapies (REACT) Working Group; Sterne JAC, Marshall JC. et al. Association Between Administration of Systemic Corticosteroids and Mortality Among Critically Ill Patients With COVID-19: A Meta-analysis. *JAMA*. 2020 Oct 6;324(13):1330-1341.
- [138]. Liu M, Guo S, Hibbert JM, Jain V, Singh N, Wilson NO, Stiles JK. CXCL10/IP-10 in infectious diseases pathogenesis and potential therapeutic implications. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2011 Jun;22(3):121-30.
- [139]. Luster AD, Unkeless JC, Ravetch JV. Gamma-interferon transcriptionally regulates an early-response gene containing homology to platelet proteins. *Nature* 1985;315:672–6.
- [140]. Luster AD, Ravetch JV. Biochemical characterization of a gamma interferon-inducible cytokine (IP-10). *J Exp Med* 1987;166:1084-97.
- [141]. Booth, V., et al., (2002). The CXCR3 binding chemokine IP-10/CXCL10: structure and receptor interactions. *Biochemistry*, 41: 10418-10425.
- [142]. Luster AD, Jhanwar SC, Chaganti RS, Kersey JH, Ravetch JV. Interferon-inducible gene maps to a chromosomal band associated with a (4;11) translocation in acute leukemia cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987;84:2868–71.
- [143]. Loetscher, M., et al. (1998). Lymphocyte-specific chemokine receptor CXCR3: regulation, chemokine binding and gene localization. *Eur J Immunol*, 28: 3696-3705.
- [144]. Liu, M. et al. (2011). The emerging role of CXCL10 in cancer (Review). *Oncology Letters*, 2: 583-589.
- [145]. Fink, A. L. (1999). Chaperone-Mediated Protein Folding. *Physiol. Rev.*, 79(2): 425-449.
- [146]. Colvin, R. A., Campanella, G. S., Sun, J. and Luster, A. D., (2004). Intracellular domains of CXCR3 that mediate CXCL9, CXCL10, and CXCL11 function. *J Biol Chem*, 279: 30219-30227.
- [147]. Rotondi, M., et al. (2007). Role of chemokines in endocrine autoimmune diseases. *Endocrine Reviews*, 28(5): 492-520.
- [148]. Colvin RA, Campanella GS, Sun J, Luster AD. Intracellular domains of CXCR3 that mediate CXCL9 CXCL10, and CXCL11 function. *J Biol Chem* 2004;279:30219–27.

- [149] Neville LF, Mathiak G, Bagasra O. The immunobiology of interferon-gamma inducible protein 10 kDa (IP-10): a novel, pleiotropic member of the C–X–C chemokine superfamily. *Cytokine Growth Factor Rev* 1997;8:207–19.
- [150]. Enderlin M, Kleinmann EV, Struyf S, Buracchi C, Vecchi A, Kinscherf R, et al. TNF- α and the IFN-gamma-inducible protein 10 (IP-10/CXCL-10) delivered by parvoviral vectors act in synergy to induce antitumor effects in mouse glioblastoma. *Cancer Gene Ther* 2009;16:149–60.
- [151]. Romagnani S. The Th1/Th2 paradigm. *Immunol Today* 1997;18:263–6
- [152]. Aksoy MO, Yang Y, Ji R, Reddy PJ, Shahabuddin S, Litvin J, et al. CXCR3 surface expression in human airway epithelial cells: cell cycle dependence and effect on cell proliferation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2006; 290:L909–918.
- [153]. Lo BK, Yu M, Zloty D, Cowan B, Shapiro J, McElwee KJ. CXCR3/ligands are significantly involved in the tumorigenesis of basal cell carcinomas. *Am J Pathol* 2010;12.
- [154.] Ji R, Lee CM, Gonzales LW, Yang Y, Aksoy MO, Wang P, et al. Human type II pneumocyte chemotactic responses to CXCR3 activation are mediated by splice variant A. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2008;294:L1187–1196.
- [155]. Shen Q, Zhang R, Bhat NR. MAP kinase regulation of IP10/CXCL10 chemokine gene expression in microglial cells. *Brain Res* 2006;1086:9–16.
- [156]. Giuliani N, Bonomini S, Romagnani P, Lazzaretti M, Morandi F, Colla S, et al. CXCR3 and its binding chemokines in myeloma cells: expression of isoforms and potential relationships with myeloma cell proliferation and survival. *Haematologica* 2006;91:1489–97.
- [157]. Sato E, Fujimoto J, Tamaya T. Expression of interferon-gamma-inducible protein 10 related to angiogenesis in uterine endometrial cancers. *Oncology* 2007;73:246–51.
- [158]. Aronica SM, Raiber L, Hanzly M, Kisela C. Antitumor/antiestrogenic effect of the chemokine interferon inducible protein 10 (IP-10) involves suppression of VEGF expression in mammary tissue. *J Interferon Cytokine Res* 2009;29:83–92.

- [159]. Romagnani P, Lasagni L, Annunziato F, Serio M, Romagnani S. CXC chemokines: the regulatory link between inflammation and angiogenesis. *Trends Immunol* 2004;25:201–9.
- [160]. Sui Y, Potula R, Dhillon N, Pinson D, Li S, Nath A, et al. Neuronal apoptosis is mediated by CXCL10 overexpression in simian [364]. Zhang B, Patel J, Croyle M, Diamond MS, Klein RS. TNF- α -dependent regulation of CXCR3 expression modulates neuronal survival during West Nile virus encephalitis. *J Neuroimmunol* 2010;224:28–38. human immunodeficiency virus encephalitis. *Am J Pathol* 2004;164:1557–66.
- [161]. Yang LL, Ping C, Luo S, Li J, Liu K, Hu HZ, et al. CXCL10 gene therapy efficiently inhibited the growth of cervical carcinoma based on the antiangiogenic and antiviral activity. *Biotechnol Appl Biochem* 2009;3:3.
- [162]. Rice D, Barone Jr S. Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: evidence from humans and animal models. *Environ Health Perspect* 2000;108(Suppl 3):511–33.
- [163]. Feldman ED, Weinreich DM, Carroll NM, Burness ML, Feldman AL, Turner E, et al. Interferon gamma-inducible protein 10 selectively inhibits proliferation and induces apoptosis in endothelial cells. *Ann Surg Oncol* 2006;13:125–33.
- [164]. Angiolillo AL, Sgadari C, Taub DD, Liao F, Farber JM, Maheshwari S, et al. Human interferon-inducible protein 10 is a potent inhibitor of angiogenesis in vivo. *J Exp Med* 1995;182:155–62.
- [165]. Ruhwald M, Bjerregaard-Andersen M, Rabna P, Eugen-Olsen J, Ravn P. IP-10, MCP-1, MCP-2 MCP-3, and IL-1RA hold promise as biomarkers for infection with *M. tuberculosis* in a whole blood based T-cell assay. *BMC Res Notes* 2009;2:19.
- [166]. Nagarajan UM, Ojcius DM, Stahl L, Rank RG, Darville T. *Chlamydia trachomatis* induces expression of IFN- γ -inducible protein 10 and IFN- β independent of TLR2 and TLR4, but largely dependent on MyD88. *J Immunol* 2005;175:450–60.
- [167]. Lettinga KD, Weijer S, Speelman P, Prins JM, Van Der Poll T, Verbon A. Reduced interferon- γ release in patients recovered from Legionnaires' disease. *Thorax* 2003;58:63–7.

- [168]. Lowanitchapat A, Payungporn S, Sereemasapun A, Ekpo P, Phulsuksombati D, Poovorawan Y, et al. Expression of TNF-alpha, TGF-beta IP-10 and IL-10 mRNA in kidneys of hamsters infected with pathogenic *Leptospira*. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2009;25:25.
- [169]. Armah HB, Wilson NO, Sarfo BY, Powell MD, Bond VC, Anderson W, et al. Cerebrospinal fluid and serum biomarkers of cerebral malaria mortality in Ghanaian children. *Malar J* 2007;6:147.
- [170]. Dyer KD, Percopo CM, Fischer ER, Gabryszewski SJ, Rosenberg HF. Pneumoviruses infect eosinophils and elicit MyD88-dependent release of chemoattractant cytokines and interleukin-6. *Blood* 2009;114:2649–56.
- [171]. Chen J, Subbarao K. The immunobiology of SARS*. *Annu Rev Immunol* 2007;25:443–72.
- [172]. Sin J, Kim JJ, Pachuk C, Satishchandran C, Weiner DB. DNA vaccines encoding interleukin-8 and RANTES enhance antigen-specific Th1-type CD4(+) T-cell-mediated protective immunity against herpes simplex virus type 2 in vivo. *J Virol* 2000;74:11173–80.
- [173]. Lane BR, King SR, Bock PJ, Strieter RM, Coffey MJ, Markovitz DM. The C–X–C chemokine IP-10 stimulates HIV-1 replication. *Virology* 2003;307:122–34. M. Liu et al. / *Cytokine & Growth Factor Reviews* 22 (2011) 121–130
- [174]. Peterson KE, Du M. Innate immunity in the pathogenesis of polytropic retrovirus infection in the central nervous system. *Immunol Res.* 2009;43(1-3):149-59.
- [175]. Thiel V, Weber F. Interferon and cytokine responses to SARS-coronavirus infection. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2008 Apr;19(2):121-32.
- [176]. Roe B, Coughlan S, Hassan J, Grogan A, Farrell G, Norris S, et al. Elevated serum levels of interferon-gamma-inducible protein-10 in patients coinfecting with hepatitis C virus and HIV. *J Infect Dis* 2007;196:1053–7.
- [177]. Coperchini F, Chiovato L, Ricci G, Croce L, Magri F, Rotondi M. The cytokine storm in COVID-19: Further advances in our understanding the role of specific chemokines involved. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2021 Apr;58:82-91

- [178]. Elemam NM, Talaat IM, Maghazachi AA. CXCL10 Chemokine: A Critical Player in RNA and DNA Viral Infections. *Viruses*. 2022 Nov 3;14(11):2445.
- [179]. Cameron, M.J.; Ran, L.; Xu, L.; Danesh, A.; Bermejo-Martin, J.F.; Cameron, C.M.; Muller, M.P.; Gold, W.L.; Richardson, S.E.; Poutanen, S.M.; et al. Interferon-mediated immunopathological events are associated with atypical innate and adaptive immune responses in patients with severe acute respiratory syndrome. *J. Virol*. 2007, 81, 8692–8706.
- [180]. Zhou, J.; Chu, H.; Li, C.; Wong, B.H.; Cheng, Z.S.; Poon, V.K.; Sun, T.; Lau, C.C.; Wong, K.K.; Chan, J.Y.; et al. Active replication of Middle East respiratory syndrome coronavirus and aberrant induction of inflammatory cytokines and chemokines in human macrophages: Implications for pathogenesis. *J. Infect. Dis*. 2014, 209, 1331–1342.
- [181]. Chu, H.; Chan, J.F.; Wang, Y.; Yuen, T.T.; Chai, Y.; Hou, Y.; Shuai, H.; Yang, D.; Hu, B.; Huang, X.; et al. Comparative replication and immune activation profiles of SARS-CoV-2 and SARS-CoV in human lungs: An ex vivo study with implications for the pathogenesis of COVID-19. *Clin. Infect. Dis*. 2020, 71, 1400–1409
- [386].Elemam N.M., Hammoudeh S., Salameh L., Mahboub B., Alsafar H., Talaat I.M., Habib P., Siddiqui M., Hassan K.O., Al-Assaf O.Y., et al. Identifying immunological and clinical predictors of COVID-19 severity and sequelae by mathematical modeling. *Front. Immunol*. 2022;13:865845
- [182]. Hue S., Beldi-Ferchiou A., Bendib I., Surenaud M., Fourati S., Frapard T., Rivoal S., Razazi K., Carteaux G., Delfau-Larue M.H., et al. Uncontrolled Innate and Impaired Adaptive Immune Responses in Patients with COVID-19 Acute Respiratory Distress Syndrome. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 2020;202:1509–1519.
- [183]. Imai Y., Kuba K., Neely G.G., Yaghubian-Malhami R., Perkmann T., van Loo G., Ermolaeva M., Veldhuizen R., Leung Y.H., Wang H., et al. Identification of oxidative stress and Toll-like receptor 4 signaling as a key pathway of acute lung injury. *Cell*. 2008;133:235–249.
- [184]. Ichikawa A., Kuba K., Morita M., Chida S., Tezuka H., Hara H., Sasaki T., Ohteki T., Ranieri V.M., dos Santos C.C., et al. CXCL10-CXCR3 enhances the development of

neutrophil-mediated fulminant lung injury of viral and nonviral origin. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2013;187:65–77.

[185]. Cinatl J., Jr., Michaelis M., Morgenstern B., Doerr H.W. High-dose hydrocortisone reduces expression of the pro-inflammatory chemokines CXCL8 and CXCL10 in SARS coronavirus-infected intestinal cells. *Int. J. Mol. Med.* 2005;15:323–327.

[186]. Yang Y., Shen C., Li J., Yuan J., Wei J., Huang F., Wang F., Li G., Li Y., Xing L., et al. Plasma IP-10 and MCP-3 levels are highly associated with disease severity and predict the progression of COVID-19. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2020;146:119–127.e114.

[187]. Lorè N.I., De Lorenzo R., Rancoita P.M.V., Cugnata F., Agresti A., Benedetti F., Bianchi M.E., Bonini C., Capobianco A., Conte C., et al. CXCL10 levels at hospital admission predict COVID-19 outcome: Hierarchical assessment of 53 putative inflammatory biomarkers in an observational study. *Mol. Med.* 2021;27:129.

[188]. Xu Z.S., Shu T., Kang L., Wu D., Zhou X., Liao B.W., Sun X.L., Zhou X., Wang Y.Y. Temporal profiling of plasma cytokines, chemokines and growth factors from mild, severe and fatal COVID-19 patients. *Signal Transduct. Target. Ther.* 2020;5:100.

[189]. Başsar, E.Z.; Sönmez, H.E.; Uzuner, H.; Karadenizli, A.; Güngör, H.S.; Akgün, G.; Yetimakman, A.F.; Öncel, S.; Babaoğlu, K. CXCL10/IP10 as a Biomarker Linking Multisystem Inflammatory Syndrome and Left Ventricular Dysfunction in Children with SARS-CoV-2. *J. Clin. Med.* 2022, 11, 1416

[190]. Shafiek HK, El Lateef HMA et al. Cytokine profile in Egyptian children and adolescents with COVID-19 pneumonia: A multicenter study. *Pediatr Pulmonol.* 2021 Dec;56(12):3924-3933.

[191]. Rizzi M, Costanzo M, Tonello S, Matino E, Casciaro FG, Croce A, Rizzi E, Zecca E, Pedrinelli A, Vassia V, Landi R, Bellan M, Castello LM, Minisini R, Mallela VR, Avanzi GC, Pirisi M, Lilleri D, Sainaghi PP. Prognostic Markers in Hospitalized COVID-19 Patients: The Role of IP-10 and C-Reactive Protein. *Dis Markers.* 2022 Feb 28;2022:3528312.

[192]. Lev S, Gottesman T, Sahaf Levin G, Lederfein D, Berkov E, Diker D, Zaidman A, Nutman A, Ilan Ber T, Angel A, Kellerman L, Barash E, Navon R, Boico O, Israeli Y, Rosenberg M, Gelman A, Kalfon R, Simon E, Avni N, Hainrichson M, Zarchin O, Gottlieb

- TM, Oved K, Eden E, Tadmor B. Observational cohort study of IP-10's potential as a biomarker to aid in inflammation regulation within a clinical decision support protocol for patients with severe COVID-19. *PLoS One*. 2021 Jan 12;16(1):e0245296.
- [193]. Wiley SR, Schooley K, Smolak PJ, Din WS, Huang CP, Nicholl JK, Sutherland GR, Smith TD, Rauch C, Smith CA, Goodwin RG. *Immunity*. 1995; 3:673–82.
- [194]. Kimberley FC, Screaton GR. Following a TRAIL: update on a ligand and its five receptors. *Cell Res*. 2004 Oct;14(5):359-72.
- [195]. Broker LE, Kruyt FA, Giaccone G. *Clin Cancer Res*. 2005; 11:3155–62.
- [196]. Cha SS, Kim MS, Choi YH, Sung BJ, Shin NK, Shin HC, Sung YC, Oh BH. *Immunity*. 1999; 11:253–61.
- [197]. Wajant H, Moosmayer D, Wuest T, Bartke T, Gerlach E, Schonherr U, Peters N, Scheurich P & Pfizenmaier K (2001) Differential activation of TRAIL-R1 and -2 by soluble and membrane TRAIL allows selective surface antigen-directed activation of TRAIL-R2 by a soluble TRAIL derivative. *Oncogene* 20, 4101–4106.
- [198]. Chaudhary PM, Eby M, Jasmin A, Bookwalter A, Murray J & Hood L (1997) Death receptor 5, a new member of the TNFR family, and DR4 induce FADD-dependent apoptosis and activate the NF-kappaB pathway. *Immunity* 7, 821–830.
- [199]. Pan G, O'Rourke K, Chinnaiyan AM, Gentz R, Ebner R, Ni J & Dixit VM (1997) The receptor for the cytotoxic ligand TRAIL. *Science* 276, 111–113.
- [200]. Sheridan JP, Marsters SA, Pitti RM, Gurney A, Skubatch M, Baldwin D, Ramakrishnan L, Gray CL, Baker K, Wood WI et al. (1997) Control of TRAIL-induced apoptosis by a family of signaling and decoy receptors. *Science* 277, 818–82.
- [201]. John G. Emery, Peter McDonnell, Michael Brigham Burke, Keith C. Deen, Sally Lyn, Carol Silverman, Edward Dul, Edward R. Appelbaum, Chris Eichman, Rocco DiPrinzio, Robert A. Dodds, Ian E. James, Martin Rosenberg, John C. Lee, Peter R. Young. Osteoprotegerin Is a Receptor for the Cytotoxic Ligand TRAIL.. *Journal of Biological Chemistry*, 273, 23,1998, 14363-14367.
- [202]. Sag D, Ayyildiz ZO, Gunalp S & Wingender G (2019) The role of TRAIL/DRs in the modulation of immune cells and responses. *Cancers (Basel)* 11, 1–34.

- [203]. Voskoboinik I, Whisstock JC & Trapani JA (2015) Perforin and granzymes: function, dysfunction and human pathology. *Nat Rev Immunol* 15, 388–400.
- [204]. Sacks JA, Bevan MJ. TRAIL deficiency does not rescue impaired CD8+ T cell memory generated in the absence of CD4+ T cell help. *J Immunol*. 2008 Apr 1;180(7):4570-6.
- [205]. Ashkenazi A, Pai RC, Fong S, Leung S, Lawrence DA, Marsters SA, Blackie C, Chang L, McMurtrey AE, Hebert A et al. (1999) Safety and antitumor activity of recombinant soluble Apo2 ligand. *J Clin Invest* 104, 155–162.
- [206]. Sträter J, Hinz U, Walczak H, Mechtersheimer G, Koretz K, Herfarth C, Möller P & Lehnert T (2002) Expression of TRAIL and TRAIL receptors in colon carcinoma: TRAIL-R1 is an independent prognostic parameter. *Clin Cancer Res* 8, 3734–3740.
- [207]. Spierings DC, de Vries EG, Timens W, Groen HJ, Boezen HM & de Jong S (2003) Expression of TRAIL and TRAIL death receptors in stage III non-small cell lung cancer tumors. *Clin Cancer Res* 9, 3397–3405.
- [208]. Herbst RS, Eckhardt SG, Kurzrock R, Ebbinghaus S, O'Dwyer PJ, Gordon MS, Novotny W, Goldwasser MA, Tohny TM, Lum BL et al. (2010) Phase I dose-escalation study of recombinant human Apo2L/TRAIL, a dual proapoptotic receptor agonist, in patients with advanced cancer. *J Clin Oncol* 28, 2839–2846. .
- [209]. Lim B, Allen JE, Prabhu VV, Talekar MK, Finnberg NK, El-Deiry WS. Targeting TRAIL in the treatment of cancer: new developments. *Expert Opin Ther Targets*. 2015;19:1171–85.
- [210]. Roy S, Nicholson DW. Cross-talk in cell death signaling. *J Exp Med*. 2000;192: F21–5
- [211]. Wilson NS, Yang A, Yang B, Couto S, Stern H, Gogineni A, et al. Proapoptotic activation of death receptor 5 on tumor endothelial cells disrupts the vasculature and reduces tumor growth. *Cancer Cell*. 2012;22:80–90.
- [212]. Zhong, Hh., Wang, Hy., Li, J. et al. TRAIL-based gene delivery and therapeutic strategies. *Acta Pharmacol Sin* 40, 1373–1385 (2019).

- [213]. Truneh A, Sharma S, Silverman C, Khandekar S, Reddy MP, Deen KC, et al. Temperature-sensitive differential affinity of TRAIL for its receptors. DR5 is the highest affinity receptor. *J Biol Chem*. 2000;275:23319–25.
- [214]. 25. Sessler T, Healy S, Samali A, Szegezdi E. Structural determinants of DISC function: new insights into death receptor-mediated apoptosis signalling. *Pharmacol Ther*. 2013;140:186–99.
- [215]. Singh D, Tewari M, Singh S, Narayan G. Revisiting the role of TRAIL/TRAIL-R in cancer biology and therapy. *Future Oncol*. 2021 Feb;17(5):581-596.
- [216]. von Karstedt, S., Montinaro, A. & Walczak, H. Exploring the TRAILs less travelled: TRAIL in cancer biology and therapy. *Nat Rev Cancer* 17, 352–366 (2017).
- [217]. Kalb ML, Glaser A, Stary G, Koszik F & Stingl G (2012) TRAIL(+) human plasmacytoid dendritic cells kill tumor cells in vitro: mechanisms of imiquimod- and IFN- α -mediated antitumor reactivity. *J Immunol* 188, 1583–1591.
- [218]. Kemp TJ, Moore JM & Griffith TS (2004) Human B cells express functional TRAIL/Apo-2 ligand after CpG-containing oligodeoxynucleotide stimulation. Achard C, Guillerme JB, Bruni D, Boisgerault N, Combredet C, Tangy F, Jouvenet N, Grégoire M & Fonteneau JF (2017) Oncolytic measles virus induces tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)-mediated cytotoxicity by human myeloid and plasmacytoid dendritic cells. *Oncoimmunology* 6, e1261240.
- [219]. Mirandola P, Ponti C, Gobbi G, Sponzilli I, Vaccarezza M, Cocco L, Zauli G, Secchiero P, Manzoli FA & Vitale M (2004) Activated human NK and CD8⁺ T cells express both TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) and TRAIL receptors but are resistant to TRAIL-mediated cytotoxicity. *Blood* 104, 2418–2424.
- [220]. Peppas D, Gill US, Reynolds G, Easom NJ, Pallett LJ, Schurich A, Micco L, Nebbia G, Singh HD, Adams DH *et al.* (2013) Up-regulation of a death receptor renders antiviral T cells susceptible to NK cell-mediated deletion. *J Exp Med* 210, 99–114.
- [221]. Liguori M, Buracchi C, Pasqualini F, Bergomas F, Pesce S, Sironi M, Grizzi F, Mantovani A, Belgiovine C, Allavena P. Functional TRAIL receptors in monocytes and tumor-associated macrophages: A possible targeting pathway in the tumor microenvironment. *Oncotarget*. 2016 Jul 5;7(27):41662-41676.

- [222]. Truneh A, Sharma S, Silverman C, Khandekar S, Reddy MP, Deen KC, et al. Temperature-sensitive differential affinity of TRAIL for its receptors. DR5 is the highest affinity receptor. *J Biol Chem*. 2000;275:23319–25.
- [223]. Wang, X., Wang, L., Liu, W. et al. Dose-related immunomodulatory effects of recombinant TRAIL in the tumor immune microenvironment. *J Exp Clin Cancer Res* 42, 216 (2023).
- [224]. Zhang Y, Cheng G, Xu ZW, Li ZL, Song CJ, Li Q, Chen LH, Yang K, Yang AG, Jin BQ. Down regulation of TRAIL and FasL on NK cells by Cyclosporin A in renal transplantation patients. *Immunol Lett*. 2013 Apr;152(1):1-7.
- [225]. Harmon C, Sanchez-Fueyo A, O'Farrelly C & Houlihan DD (2016) Natural killer cells and liver transplantation: orchestrators of rejection or tolerance? *Am J Transplant* 16, 751–757.
- [226]. Steinwede K, Henken S, Bohling J, Maus R, Ueberberg B, Brumshagen C, Brincks EL, Griffith TS, Welte T & Maus UA (2012) TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) exerts therapeutic efficacy for the treatment of pneumococcal pneumonia in mice. *J Exp Med* 209, 1937–1952.
- [227]. Shrestha B, Pinto AK, Green S, Bosch I & Diamond MS (2012) CD8+ T cells use TRAIL to restrict West Nile virus pathogenesis by controlling infection in neurons. *J Virol* 86, 8937–8948.
- [228]. Stegmann KA, Björkström NK, Veber H, Ciesek S, Riese P, Wiegand J, Hadem J, Suneetha PV, Jaroszewicz J, Wang C *et al.* (2010) Interferon-alpha-induced TRAIL on natural killer cells is associated with control of hepatitis C virus infection. *Gastroenterology* 138, 1885–1897.
- [229]. Verma S, Loewendorf A, Wang Q, McDonald B, Redwood A & Benedict CA (2014) Inhibition of the TRAIL death receptor by CMV reveals its importance in NK cell-mediated antiviral defense. *PLoS Pathog* 10, e1004268.
- [230]. Thome M, Schneider P, Hofmann K, Fickenscher H, Meinel E, Neipel F, Mattmann C, Burns K, Bodmer JL, Schröter M, Scaffidi C, Krammer PH, Peter ME, Tschopp J. Viral FLICE-inhibitory proteins (FLIPs) prevent apoptosis induced by death receptors. *Nature*. 1997 Apr 3;386(6624):517-21 .

- [231]. Guasparri I, Keller SA, Cesarman E. KSHV vFLIP is essential for the survival of infected lymphoma cells. *J Exp Med*. 2004;199:993–1003.
- [232]. Cuconati A, White E. Viral homologs of BCL-2: role of apoptosis in the regulation of virus infection. *Genes Dev*. 2002 Oct 1;16(19):2465–78.
- [233]. Hiscott J, Kwon H, Génin P. Hostile takeovers: viral appropriation of the NF-kappaB pathway. *J Clin Invest*. 2001 Jan;107(2):143–51.
- [234]. Hiscott J, Nguyen TL, Arguello M, Nakhaei P, Paz S. Manipulation of the nuclear factor-kappaB pathway and the innate immune response by viruses. *Oncogene*. 2006 Oct 30;25(51):6844–67.
- [235]. Kotelkin A, Prikhod'ko EA, Cohen JI, Collins PL & Bukreyev A (2003) Respiratory syncytial virus infection sensitizes cells to apoptosis mediated by tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand. *J Virol* 77, 9156–9172.
- [236]. Bem RA, Bos AP, Wösten-van Asperen RM, Bruijn M, Lutter R, Sprick MR, van Woensel JB. Potential role of soluble TRAIL in epithelial injury in children with severe RSV infection. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2010 Jun;42(6):697–705.
- [237]. Marfè G, Tafani M, Fiorito F, Pagnini U, Iovane G, De Martino L. Involvement of FOXO transcription factors, TRAIL-FasL/Fas, and sirtuin proteins family in canine coronavirus type II-induced apoptosis. *PLoS One* (2011) 6(11):e27313.
- [238]. Chen J, Xie YQ, Zhang HT, Wan JW, Wang DT, Lu ZH, et al. Lung pathology of severe acute respiratory syndrome. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao* (2003) 25(3):360–2.
- [239]. Krähling V, Stein DA, Spiegel M, Weber F, Mühlberger E. Severe acute respiratory syndrome coronavirus triggers apoptosis via protein kinase r but is resistant to its antiviral activity. *J Virol* (2009) 83(5):2298–309.
- [240]). Lau SK, Lau CC, Chan KH, Li CP, Chen H, Jin DY, et al. Delayed induction of proinflammatory cytokines and suppression of innate antiviral response by the novel Middle East respiratory syndrome coronavirus: implications for pathogenesis and treatment. *J Gen Virol* (2013) 94(Pt 12):2679–90.

[241].World health Organization (2022).WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard. <https://covid19.who.int/>.

[242].Karakike E., Giamarellos-Bourboulis E.J., Kyprianou M., Fleischmann-Struzek C., Pletz M.W., Netea M.G., et al. Coronavirus Disease 2019 as cause of viral sepsis: a systematic review and meta-analysis. *Crit. Care Med.* 2021;49:2042–2057.

[243]. N. Rovina, K. Akinosoglou, J. Eugen-Olsen, S. Hayek, J. Reiser, E.J. Giamarellos-Bourboulis

Soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) as an early predictor of severe respiratory failure in patients with COVID-19 pneumonia. *Crit. Care*, 24 (2021), p. 187

[244].Kyriazopoulou E., Panagopoulos P., Metallidis S., Dalekos G.N., Poulakou G., Gatselis N., Karakike E.,

Saridaki M., Loli G.,StefosA., Prasianaki D., Georgiadou S., Tsachouridou O., Petrakis V., Tsiakos K., Kosmidou M., Lygoura V., Dareioti M., Milionis H., Papanikolaou I.C., Akinosoglou K., Myrodia D.-M., Gravvani A., Stamou A., Gkavogianni T., Katrini K., Marantos T., Trontzas I. P.,Syrigos K., Chatzis L., Chatzis S., Vechlidis N., Avgoustou C., Chalvatzis S., Kyprianou M., van der Meer J.WM., Eugen-Olsen J., Netea M.G., Giamarellos-Bourboulis E.J. An open label trial of anakinra to prevent respiratory failure in COVID-19. *Elife.* 2021;10:e66125

[245]. E. Kyriazopoulou, G. Poulakou, H. Milionis, S. Metallidis, G. Adamis, K. Tsiakos, A. Fragkou, A. Rapti, C. Damoulari, M. Fantoni, I. Kalomenidis, G. Chrysos, A. Angheben, I. Kainis, Z. Alexiou, F. Castelli, F.S. Serino, M. Tsilika, P. Bakakos, E. Nicastrì, V. Tzavara, E. Kostis, L. Dagna, P. Koufargyris, K. Dimakou, S. Savvanis, G. Tzatzagou, M. Chini, G. Cavalli, M. Bassetti, K. Katrini, V. Kotsis, G. Tsoukalas, C. Selmi, I. Bliziotis, M. Samarkos, M. Doumas, S. Ktena, A. Masgala, I. Papanikolaou, M. Kosmidou, D.-M. Myrodia, A. Argyraki, C.S. Cardellino, K. Koliakou, E.-I. Katsigianni, V. Rapti, E. Giannitsioti, A. Cingolani, S. Micha, K. Akinosoglou, O. Liatsis-Douvitsas, S. Symbardi, N. Gatselis, M. Mouktaroudi, G. Ippolito, E. Florou, A. Kotsaki, M.G. Netea, J. Eugen-Olsen, M. Kyprianou, P. Panagopoulos, G.N. Dalekos, E.J. Giamarellos-Bourboulis. Early treatment of COVID-19 with anakinra guided by soluble urokinase plasminogen

receptor plasma levels: a double-blind, randomized controlled phase 3 trial. *Nat. Med.*, 27 (10) (2021), pp. 1752-1760

[246]. European Medicines Agency (2021). EMA recommends approval for use of Kineret in adults with COVID-19. <https://www.ema.europa.eu/en/news/ema-recommends-approval-use-kineret-adults-covid-19>

[247]. Fact sheet for healthcare providers: emergency use authorization for kineret <https://www.fda.gov/media/163075/download>. [505]. Gatselis N.K.,

Lygoura V., Lyberopoulou A., Giannoulis G., Samakidou A., Vaiou A., Vavidis G., Antoniou K., Stefos A., Georgiadou S., Sagris D., Sveroni D., Stergioula D., Gabeta S., Ntaios G., Dalekos G.N. Soluble IL-2R Levels at baseline predict the development of severe respiratory failure and mortality in COVID-19 patients. *Viruses*. 2022;14(4):787.

[248]. E.J. Giamarellos-Bourboulis, G. Poulakou, A. de Nooijer, H. Milionis, S. Metallidis, M. Ploumidis, P. Grigoropoulou, A. Rapti, F.V. Segala, E. Balis, E. Giannitsioti, P. Rodari, I. Kainis, Z. Alexiou, E. Focà, B. Lucio, N. Rovina, L. Scorzolini, M. Dafni, S. Ioannou, A. Tomelleri, K. Dimakou, G. Tzatzagou, M. Chini, M. Bassetti, C. Trakatelli, G. Tsoukalas, C. Selmi, C. Samaras, M. Saridaki, A. Pyrpassopoulou, E. Kaldara, I. Papanikolaou, A. Argyraki, K. Akinosoglou, M. Koupetori, P. Panagopoulos, G.N. Dalekos, M.G. Netea

Development and validation of SCOPE score: A clinical score to predict COVID-19 pneumonia progression to severe respiratory failure *Cell Rep. Med.*, 3 (3) (2022), p. 100560.

[249]. N.K. Gatselis, V. Lygoura, A. Lyberopoulou, G. Giannoulis, A. Samakidou, A. Vaiou, G. Vavidis, K. Antoniou, A. Stefos, S. Georgiadou, D. Sagris, D. Sveroni, D. Stergioula, S. Gabeta, G. Ntaios, G.N. Dalekos

Soluble IL-2R Levels at baseline predict the development of severe respiratory failure and mortality in COVID-19 patients. *Viruses*, 14 (4) (2022), p. 787

[250]. Kassianidis G., Siampanos A., Poulakou G., Adamis G., Rapti A., Milionis H., Dalekos G.N., Petrakis V., Sympardi S., Metallidis S. Alexiou Z., Gkavogianni T., Giamarellos-Bourboulis E.J., Theoharides T.C. Calprotectin and imbalances between

acute-phase mediators are associated with critical illness in COVID-19. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23(9):4894

[251]. M, Hainrichson, N, Avni, E, Eden, P, Feigin, A, Gelman, S, Halabi et al. A point-of-need platform for rapid measurement of a host-protein score that differentiates bacterial from viral infection: Analytical evaluation. *Clin Biochem* 2022: S0009-9120(22)00115-1.

[252]. van der Does Y., Rood P.P.M., Ramakers C., Schuit S.C.E., Patka P., van Gorp E.C.M., et al. Identifying patients with bacterial infections using a combination of C-reactive protein, procalcitonin, TRAIL, and IP-10 in the emergency department: a prospective observational cohort study. *Clin. Microbiol. Infect.* 2018;24:1297–1304.

[253]. Ashkenazi-Hoffnung L., Oved K., Navon R., Friedman T., Boico O., Paz M., et al. A host-protein signature is superior to other biomarkers for differentiating between bacterial and viral disease in patients with respiratory infection and fever without source: a prospective observational study. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2018;37:1361–1371.

[254]. Kesmez Can F., Özkurt Z., Öztürk N., Sezen S. Effect of IL-6, IL-8/CXCL8, IP-10/CXCL 10 levels on the severity in COVID 19 infection. *Int. J. Clin. Pract.* 2021;75:e14970.

[255]. Haroun R.A., Osman W.H., Eessa A.M. Interferon- γ -induced protein 10 (IP-10) and serum amyloid A (SAA) are excellent biomarkers for the prediction of COVID-19 progression and severity. *Life Sci.* 2021;269

[256]. Yang Y., Shen C., Li J., Yuan J., Wei J., Huang F., et al. Plasma IP-10 and MCP-3 levels are highly associated with disease severity and predict the progression of COVID-19. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2020;146:119–127.e4.

[257]. Hanley J.A., McNeil B.J. A method of comparing the areas under receiver operating characteristic curves derived from the same cases. *Radiology.* 1983;148:839–843.

[258]. Dufour J.H., Dziejman M., Liu M.T., Leung J.H., Lane T.E., Luster A.D. IFN- γ -inducible protein 10 (IP-10; CXCL10) - deficient mice reveal a role for IP-10 in effector T cell generation and trafficking. *J. Immunol.* 2002;168:3195–3204.

- [259]. Thorburn A. Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) pathway signaling. *J. Thorac. Oncol.* 2007;2:461–465.
- [260]. M.G.P. van der Wijst M.G.P., Vazquez S.E., Hartoularos G.C., Bastard P., Grant T., Bueno R., et al. Type I interferon autoantibodies are associated with systemic immune alterations in patients with COVID-19. *Sci. Transl. Med.* 2021;13:eabh2624.]
- [261]. Tegethoff S.A., Danziger G., Kühn D., Kimmer C., Adams T., Heintz L., et al. TNF-related apoptosis-inducing ligand, interferon gamma-induced protein 10, and C-reactive protein in predicting the progression of SARS-CoV-2 infection: a prospective cohort study. *Int. J. Infect. Dis.* 2022;122:178–187.
- [262]. Schenck E.J., Ma K.C., Price D.R., Nicholson T., Oromendia C., Gantzler E.R., et al. Circulating cell death biomarker TRAIL is associated with increased organ dysfunction in sepsis. *JCI Insight.* 2019;4:e127143.
- [263]. Lev S., Gottesman T., Sahaf Levin G., Lederfein D., Berkov E., Diker D., et al. Observational cohort study of IP-10's potential as a biomarker to aid in inflammation regulation within a clinical decision support protocol for patients with severe COVID-19. *PLoS One.* 2021;16:e0245296.
- [264]. Howe H.S., Ling L.M., Elangovan E., Vasoo S., Abdad M.Y., Thong B.Y.H., et al. Plasma IP-10 could identify early lung disease in severe COVID-19 patients. *Ann. Acad. Med. Singap.* 2021;50:856–858.
- [265]. Chan R.W., Leung C.Y., Nicholls J.M., Peiris J.S., Chan M.C. Proinflammatory cytokine response and viral replication in mouse bone marrow derived macrophages infected with influenza H1N1 and H5N1 viruses. *PLoS One.* 2012;7:e51057.
- [266]. Zhou J., Chu H., Li C., Wong B.H., Cheng Z.S., Poon V.K., et al. Active replication of Middle East respiratory syndrome coronavirus and aberrant induction of inflammatory cytokines and chemokines in human macrophages: implications for pathogenesis. *J. Infect. Dis.* 2014;209:1331–1342
- [267]. Liang W., Liang H., Ou L., Chen B., Chen A., Li C., et al. Development and validation of a clinical risk score to predict the occurrence of critical illness in hospitalized patients with COVID-19. *JAMA Intern. Med.* 2020;180:1081–1089.

[268].Wynants L., Van Calster B., Collins G.S., Riley R.D., Heinze G., Schuit E., et al. Prediction models for diagnosis and prognosis of Covid- 19: systematic review and critical appraisal. BMJ. 2021;369

